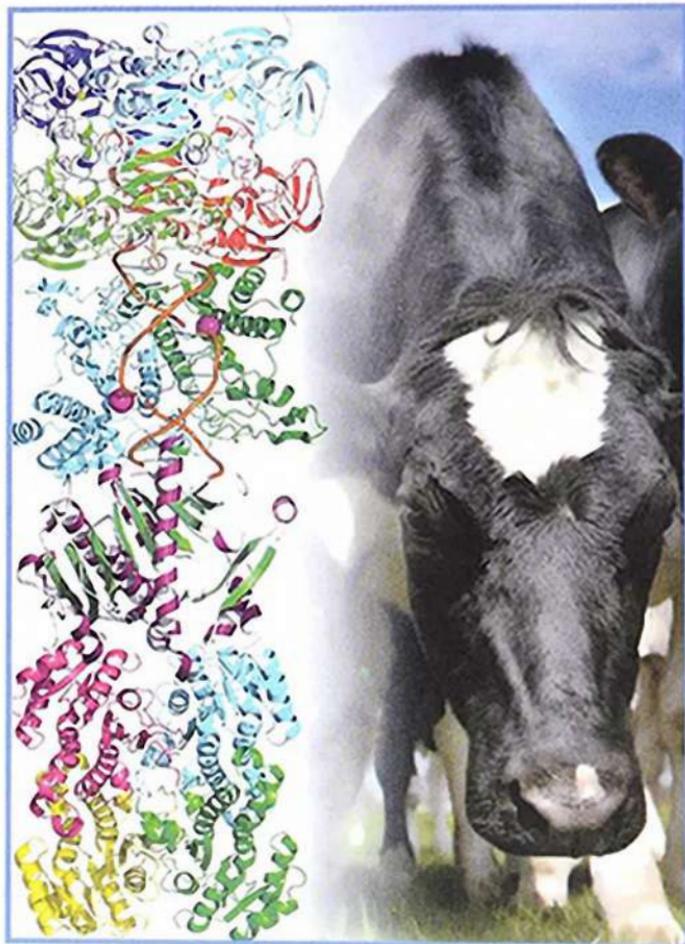


# БИОХИМИЯ ЖИВОТНЫХ

ВЕТЕРИНАРНАЯ  
МЕДИЦИНА



Ю. В. Конопатов, С. В. Васильева



<http://chemistry-chemists.com>



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ  
МОСКВА  
КРАСНОДАР  
2015

**КОНОПАТОВ Ю. В.,  
ВАСИЛЬЕВА С. В.**

# **БИОХИМИЯ ЖИВОТНЫХ**

**ДОПУЩЕНО**  
Министерством сельского хозяйства РФ  
в качестве учебного пособия для студентов  
высших учебных заведений,  
обучающихся по направлению  
«Ветеринарная медицина»



ББК 28.672я73

К 64

**Конопатов Ю. В., Васильева С. В.**

**К 64** Биохимия животных: Учебное пособие. — СПб.: Издательство «Лань», 2022. — 384 с.: ил. — (Учебники для вузов. Специальная литература).

**ISBN 978-5-8114-1823-7**

Учебное пособие составлено на основе современных знаний развития биологической химии — активно развивающейся области естествознания, с использованием огромного материала отечественных и зарубежных исследователей. Биохимия является одной из фундаментальных наук биологического цикла. Без знаний основ биохимии невозможно понимание функционирования живой клетки, органов и систем. Превращения белков, жиров, углеводов являются основой энергетического и пластического обмена любой живой системы, который регулируется с участием гормонов, витаминов, ферментов. Учебное пособие составлено с использованием теоретического материала, известного современной отечественной и зарубежной науке на сегодняшний день.

Пособие предназначено для студентов, обучающихся по направлениям «Ветеринарно-санитарная экспертиза», «Зоотехния», «Биотехнология», «Ветеринария», «Водные биоресурсы и аквакультура», а также для аспирантов ветеринарных, биологических и экологических факультетов.

**ББК 28.672я73**

**Рецензенты:**

**А. Я. БАТРАКОВ** — доктор ветеринарных наук, профессор Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины;  
**С. П. КОВАЛЕВ** — доктор ветеринарных наук, профессор Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины.

**Обложка**

**Е. А. ВЛАСОВА**

*Охраняется Законом РФ об авторском праве.  
Воспроизведение всей книги или любой ее части  
запрещается без письменного разрешения издателя.*

*Любые попытки нарушения закона  
будут преследоваться в судебном порядке.*

- © Издательство «Лань», 2022
- © Ю. В. Конопатов, С. В. Васильева, 2022
- © Издательство «Лань»,  
художественное оформление, 2022

## ПРЕДИСЛОВИЕ

---

**Биохимия** — наука о молекулярных основах жизни — изучает химию живой природы во всех ее проявлениях. Она начала свое активное развитие с конца XIX в. и сегодня является фундаментальной дисциплиной, решающей современные проблемы биологии, биохимии человека и ветеринарной биохимии. Биохимия организма животного имеет статус обязательной дисциплины в подготовке специалистов ветеринарного и биологического профилей.

Структура данного учебного пособия включает вопросы биологической химии в соответствии с рекомендациями Примерной программы по изучению биохимии в вузах Минсельхоза РФ.

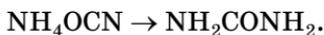
Жизнедеятельность целого организма является результатом функций отдельных клеток и их групп. Поэтому в первой главе пособия рассматривается клетка как основа жизни. Последующие главы, раскрывающие метаболизм углеводов, липидов, белков, представлены таким образом, чтобы показать целостность функционирования организма животного. Представленные главы о роли витаминов, ферментов, гормонов в обменных процессах дополняют рассмотрение биохимического единства организма. Каждой главе соответствуют химические реакции, схемы и рисунки, которые лапидарно дополняют текстовый материал, значительно облегчают его восприятие, усвоение и объективный анализ.

## ГЛАВА 1. ХИМИЯ КЛЕТКИ

---

Активность внутриклеточных процессов, по мнению М. К. Campbell, О. Sh. Farrell, 2010, подобна транспортной системе города. Такси, автобусы, грузовики соответствуют молекулам, вступающим в реакции внутри клетки. Каждый из участников имеет свой маршрут движения. При этом отдельные участники транспорта имеют один путь, тогда как другие передвигаются по нескольким дорогам. В клетке также определенные молекулы участвуют в различных реакциях, тогда как другие выполняют лишь специфические реакции. В сложных клетках больших организмов выявляются структурные особенности по сравнению с мелкими клетками, такими как бактерии.

Структуры клеток живых организмов представляют собой соединения углерода и водорода и их производных. В начале XIX столетия существовала теория «жизненной силы», утверждавшая, что все компоненты живых организмов не могут быть получены в условиях лаборатории. Однако в 1928 г. немецкий химик Ф. Wohler синтезировал мочевины, известный продукт метаболизма животного:



Таким образом, было показано, что биомолекулы могут быть получены методами органического синтеза. Эти методы основаны на знаниях функциональных групп органических соединений.

Большинство функциональных групп (табл. 1) содержат кислород и азот, электроотрицательные элементы. Поэтому многие функциональные группы являются полярными, что и определяет решающую роль в их реактивности.

Как появилась жизнь на Земле? Наша планета Земля согласно космологической теории появилась в результате Большого взрыва. До взрыва Вселенная представляла собой сравнительно небольшое пространство. После взрыва Вселенная имела чрезвычайно высокую температуру, которая постепенно

Таблица 1

Важнейшие функциональные группы

Класс соединений	Структура	Функциональная группа
Алкены	$R-CH=CH_2$	$C=C$
Алкоголи	$R-OH$	$-OH$
Эфиры	$R-O-R$	$-O-$
Амины	$R-NH_2$	$-N-$
Тиолы	$R-SH$	$-SH$
Альдегиды	$\begin{array}{c} R-C=O \\   \\ H \end{array}$	$\begin{array}{c} -C=O \\   \\ H \end{array}$
Кетоны	$\begin{array}{c} R-C=O \\   \\ R \end{array}$	$\begin{array}{c} -C=O \\   \\ R \end{array}$
Кислоты	$R-COOH$	$\begin{array}{c} -C=O \\   \\ OH \end{array}$
Эфиры сложные	$\begin{array}{c} R-C-O-R \\    \\ O \end{array}$	$\begin{array}{c} -C-O-R \\    \\ O \end{array}$
Амиды	$\begin{array}{c} R-C=O \\   \\ NH_2 \end{array}$	$\begin{array}{c} -C=O \\   \\ NH_2 \end{array}$
Эфиры фосфорной кислоты	$\begin{array}{c} OH   \\ R O \\ - PO=   \\ OH \end{array}$	$\begin{array}{c} OH   \\ O PO \\ - - =   \\ OH \end{array}$

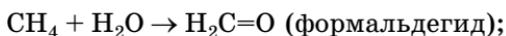
понижалась, что приводило к появлению звезд и планет. На ранних стадиях Земля представляла очень простой состав: водород, гелий и литий (три наиболее простейших элемента периодической системы). Другие химические элементы формировались в трех направлениях:

- 1) термоядерные реакции, протекающие в звездах;
- 2) взрывы звезд;
- 3) действие космических лучей.

В частности, большинство изотопов биологически важных элементов, таких как С, О, N, P, были получены в результате ядерных реакций звезд первой генерации.

На основе методов радиологии установлено, что возраст Земли составляет 4–5 млрд лет. На ранних стадиях Земля имела очень мало свободного кислорода и при отсутствии озона (O<sub>3</sub>) были возможны химические реакции биомолекул. В атмосфере появились NH<sub>3</sub>, CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O. Последние исследования указывают, что CO<sub>2</sub> появился на Земле раньше, чем CH<sub>4</sub>, а N<sub>2</sub> стал необходимым для образования белков и нуклеиновых кислот.

Академик А. И. Опарин (1894–1980), биохимик, в 1922 г. выдвинул материалистическую теорию возникновения жизни на Земле. Он полагал, что все химические процессы, происходившие в примитивной атмосфере Земли, могли приводить к самопроизводному получению простых органических соединений, таких как аминокислоты, сахара, из воды, NH<sub>3</sub>, CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>. Эти газы могли быть активированы грозowymi разрядами или солнечным излучением с последующими реакциями конденсаций и растворением в океане. В те времена большая часть Земли была покрыта водой. Излучение солнца не фильтровалось слоем озона, поэтому оно включало в основном ультрафиолетовые лучи высокой энергии. В этих условиях оказались возможными следующие реакции:



Синтез формальдегида и цианистого водорода в дальнейшем привел к появлению основных составляющих жизни — нуклеиновых кислот и белковых молекул. Первые живые клетки, по мнению автора, могли самопроизвольно возникнуть из растворов первичных органических соединений. С появлением кислорода и  $\text{CO}_2$  в атмосфере и могли возникнуть первые фотосинтезирующие клетки, способные трансформировать световую энергию и  $\text{CO}_2$  в сахара и другие клеточные соединения.

Простейшие микроорганизмы оказались способными экстрагировать энергию из органических соединений или солнечных лучей, которую они использовали для построения комплексных биомолекул из простых элементов и соединений земной поверхности. Бактерии являются простейшими организмами внешней среды; их размеры составляют лишь несколько микрометров. Они могут быстро делиться каждые 20 минут и давать до 5 млрд клеток менее чем за 11 ч, адаптируясь к изменениям окружающей среды. При этом каждая бактерия является точной копией оригинала.

Несмотря на большое разнообразие в формах и функциях, клетки и организмы имеют в биохимии много общего. Их общность и разнообразие объясняется нуклеотидной последовательностью внутри молекул ДНК любого организма. Это относится как к древним одноклеточным (*Mycobacterium genitalium*, например), так и к современным представителям жизни (*Homo sapiens*) на Земле.

Единство и разнообразие организмов наблюдается на клеточном уровне. Мельчайшие организмы представляются единственной клеткой и являются микроскопическими. Многоклеточные организмы содержат многие типы различных клеток, которые различаются по размерам, формам и функциям. Однако, несмотря на очевидные различия, все клетки, как простейших, так и сложных организмов, обладают определенными фундаментальными свойствами, которые могут быть выявлены на биохимическом уровне.

Клетки современных живых организмов включают очень большие молекулы, такие как белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды. Сотни и тысячи этих молекул, или мономеров, могут формировать макромолекулы (полимеры). При этом важной представляется многосторонность четырехвалентного

углерода, который способен образовывать связи между собой и со многими другими элементами.

Белки и нуклеиновые кислоты играют ключевую роль в жизненных процессах. Последовательность аминокислот в белках определяется последовательностью нуклеотидов в нуклеиновых кислотах. ДНК служит кодирующим материалом. Генетический код отражает взаимосвязь между последовательностью нуклеотидов в структуре нуклеиновой кислоты и последовательностью аминокислот в белках. Как результат этой взаимосвязи, информация структуры и функции живых организмов передается на генерацию следующих.

Все клетки содержат ДНК. Общая ДНК клетки представляет собой геном. Ген — участок ДНК, единица наследственного материала. Совокупность всех генов организма составляет его генетическую конституцию — генотип.

Древние ископаемые свидетельствуют, что первые одноклеточные организмы появились на Земле около 3,5 млрд лет назад. Ранние клетки должны были быть очень простыми, имея минимальный аппарат, необходимый для жизненных процессов. В их структуре насчитывалось не более 30 различных органических соединений.

Вероятно, ранние клетки представляли собой прокариоты, или безъядерные клетки. Прокариоты включают бактерии и цианобактерии (сине-зеленые водоросли). Прокариоты — одноклеточные организмы. Но их группы могут существовать в ассоциации, формируя колонии с определенной дифференциацией клеточных функций. Диаметр типичной прокариотической клетки составляет 1–3 мкм, тогда как размер типичной эукариотической клетки равен 10–100 мкм.

Понадобилось еще около 2,5 млрд лет, чтобы появились первые многоклеточные организмы. Почему так медленно развивались многоклеточные организмы? Вероятно, возникла необходимость объединения множества клеток в единый комплекс с помощью различных сигнальных механизмов, которые могли бы координировать все функции этого организма одновременно. Важность такого контроля сегодня становится очевидной на уровне деления клеток, когда этот контроль нарушается, развивается рак с последующей смертью многоклеточного организма.

С развитием технических приемов исследований клеток стали более понятными сигнальные системы многоклеточных организмов. Эти системы включают поверхностные и внутриклеточные белки-рецепторы, протеинкиназы, протеинфосфатазы, ГТФ-связанные белки и многие другие внутриклеточные белки.

Для построения первых клеток было достаточно иметь 20 аминокислот, 5 пуриновых и пиримидиновых оснований, одной жирной кислоты, глюкозы. Сегодня в составе одноклеточных простейших организмов выявлено большое разнообразие органических молекул. Например, *E. coli* содержит около 3 тыс. различных белков, 5 тыс. других органических соединений. При этом каждая простая молекула выполняет в клетке несколько функций. Таким образом, проявляется изначальная простота организации живой клетки на основе принципа молекулярной экономии.

У многоклеточных организмов появилась возможность использовать ресурсы питания, которые одноклеточные организмы были не способны эффективно использовать. Так, многоклеточные растения стали физически большими, появились их корни в земле, откуда клетки могли извлекать воду и питательные вещества, а из воздуха улавливать солнечную энергию. Другие специализированные клетки растений формировали слой эпидермиса, чтобы предупредить потерю воды. При этом растения не конкурировали напрямую с одноклеточными организмами за их экологические ниши.

Вероятно, что первыми шагами в эволюции многоклеточных организмов были ассоциации одноклеточных организмов для формирования колоний. Простейший путь к этому состоял в том, что дочерние клетки оставались вместе после каждого клеточного деления. Для формирования многоклеточного организма клетки должны были иметь различные связи (цитоплазматические мосты), что, в конечном счете, привело к формированию многоклеточного покрывала или эпителия. Формирование эпителия имело огромное значение в эволюции многоклеточных организмов; появились слои эпителия — эктодерма и эндодерма. Клетки почти каждого многоклеточного организма порождались повторяющимися делениями от одной клетки-прекурсора и составляли клон.

Эукариоты являются более сложными организмами и могут быть многоклеточными или одноклеточными. Хорошо

оформленное ядро, окруженное мембраной, является основным отличием эукариотов от прокариотов.

Прокариоты не имеют хорошо оформленного ядра, но ДНК этих клеток сконцентрирована в области, названной ядерной областью. Эта область направляет работу клетки, так как это осуществляет ядро эукариотов.

У прокариотов цитозоль часто имеет грануляцию, включающую РНК и белки, поэтому она получила название рибонуклеопротеиновых частиц, выполняющих функцию рибосом, которые являются местами синтеза белков.

Основным различием между эукариотами и прокариотами является наличие субклеточных органелл. Важнейшие органеллы клеток-эукариотов — ядро, митохондрии и хлоропласт. Каждая из них отделена от оставшейся части клетки двойной мембраной. Ядро содержит ДНК клетки и является местом синтеза РНК. Митохондрии содержат ферменты, катализирующие важные энергообразующие реакции. Хлоропласты, которые имеются в зеленых растениях и зеленых водорослях, являются местами фотосинтеза. Митохондрии и хлоропласты содержат ДНК, которая отличается от таковой ядра.

Растительные клетки, подобно бактериям, имеют клеточные стенки, которые включают целлюлозу, обеспечивающую форму и механическую прочность этим клеткам.

Клетки различных типов оформлены очень тонкой клеточной (плазматической) мембраной, которая отделяет ее содержимое от окружающей среды. Мембрана состоит из двух слоев молекул липидов с внедрением в них разнообразных специфических белков и характеризуется избирательной проницаемостью. Плазматическая мембрана и мембраны органелл содержат 40–80% липидов, среди которых преобладают фосфолипиды. В клеточной мембране, которая содержит 50% фосфолипидов, на одну молекулу белка приходится 50 молекул фосфолипидов. В их числе: лецитин, кефалин, фосфатидилсерин и фосфатидилинозитол (Goodman S. R., 1998).

Фосфолипиды клеточных мембран обычно содержат жирные кислоты с четным числом атомов углерода ( $C_{16}$ ,  $C_{18}$ ,  $C_{20}$ ) и одну ненасыщенную жирную кислоту с одной *цис*-двойной связью. Состав жирных кислот различных фосфолипидов мембран значительно варьирует, но все они формируют бислои липидов.

Фосфолипиды сохраняют структуру и поверхности разделов мембран.

Холестерин является основным компонентом мембран клеток. Гидроксильная полярная группа и гидрофобный стероидный цикл позволяют холестерину фиксироваться между молекулами фосфолипидов мембраны.

Путем пассивной диффузии различные незаряженные молекулы способны пройти через липидный бислой мембраны (жирные кислоты, кислород, мочеви́на, этанол и др.). Однако заряженные молекулы, например глюкоза, для диффузии через мембрану требуют наличия белков — транспортеров (транслоказ).

Внутри мембраны оказываются гидрофобные группы липидов, что приводит к нерастворимости ее в воде. При этом поверхностные гидрофильные группы белковых молекул позволяют активно взаимодействовать мембране с водной средой и осуществлять различные транспортные процессы. Так, транспортные белки мембраны обеспечивают проход отдельных ионов и молекул; белки-рецепторы обеспечивают передачу сигналов в клетку; ферменты мембраны участвуют в химических реакциях.

Липидные и белковые компоненты плазматической мембраны не связаны ковалентно, а поэтому ее структура является удивительно подвижной, позволяющей изменять как форму, так и размер клетки, а рост и деление клетки осуществляются без потери мембранной целостности. Размеры клеток млекопитающих составляют в длину 10–30 мкм (размер бактерий не превышает 1–2 мкм). Эти небольшие размеры клеток обеспечивают быструю диффузию молекул и взаимосвязи их между собой внутри клеток.

Внутренний объем, окруженный плазматической мембраной, является цитоплазмой или водным раствором (цитозоль) с многочисленными субстанциями со специфическими функциями. Цитозоль — высококонцентрированный раствор, содержащий ферменты и РНК и наборы аминокислот для биосинтеза белка, сотни мелких молекул-метаболитов, посредников в реакциях анаболизма и катаболизма, коферменты — участники многих ферментативных реакций, неорганические ионы, рибосомы, состоящие из белка и молекул РНК.

Характерной особенностью эукариотических клеток является наличие в них оформленного двумя мембранами ядра —

носителя генома в виде ДНК. Мембраны ядра имеют поры, которые обеспечивают поступление в цитоплазму молекул РНК (матричной, транспортной и рибосомальной), синтезируемых в ядре. Отметим, все высшие животные, растения, грибы состоят только из эукариотических клеток (*греч.* карион — имеющие ядро). Помимо ядра, эукариотические клетки содержат ряд окруженных мембранами внутриклеточных органелл, выполняющих специфические функции: митохондрии, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, лизосомы.

Ядро клетки включает ядрышко, в котором происходит синтез РНК. Внутри ядра находится также хроматин, содержащий ДНК, РНК и отдельные специфические белки. Перед делением клетки хроматин формируется в хромосомы. Хромосомы — это молекулы ДНК, а гены представляют собой сегменты этой молекулы. В каждой соматической клетке число генов в 23 парах хромосом (или 46 молекул ДНК) составляет несколько тысяч. Благодаря наличию большого генетического материала в ядре клеток — эукариотов — на Земле существуют миллионы эукариотических организмов, в отличие от прокариот.

Митохондрии (длина их равна 1,5–2,0 мкм) — важнейшее место синтеза АТФ, поэтому они рассматриваются как энергетические установки клеток. Они потребляют более 95% кислорода, поступающего в организм. В каждой клетке печени содержится более тысячи митохондрий. Окружающая митохондрию внешняя мембрана (рис. 1) гладкая, а внутренняя мембрана имеет много складок — крист. Процессы получения энергии происходят на поверхности внутренней мембраны (в кристах). В митохондриях имеются рибосомы, что указывает на возможность синтеза в них белков. Внутренняя мембрана митохондрий

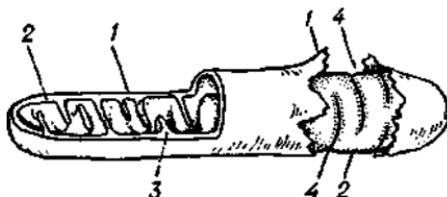


Рис. 1

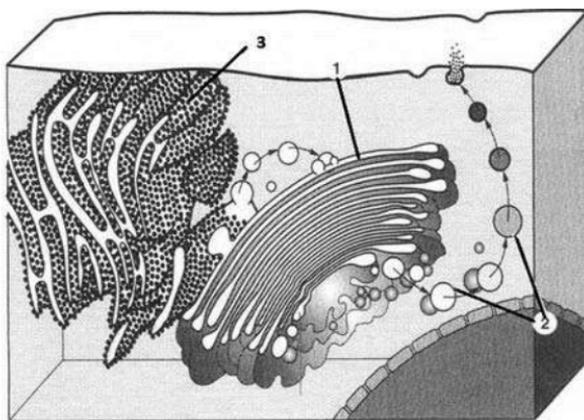
Строение митохондрии:

1 — внешняя мембрана; 2 — внутренняя мембрана; 3 — впячивания внутренней мембраны-кристы; 4 — места впячиваний, вид с поверхности внутренней мембраны.

очень богата белками-транспортёрами, которые обеспечивают передвижение метаболитов в митохондриальном матриксе.

Молекулярный транспорт и метаболические взаимосвязи между цитозолем и митохондриями являются исключительно комплексными и интенсивными. Эти связи и их комплементарность являются необходимыми для клеточной активности.

Цитоплазма всех эукариотических клеток содержит сложный трехмерный лабиринт мембранных каналов — эндоплазматический ретикулум, который занимает значительное внутриклеточное пространство. По этим каналам осуществляется транспорт различных веществ из клетки во внеклеточное пространство. Различают два типа эндоплазматического ретикулума: шероховатый и гладкий. Мембрана шероховатого ретикулума наполнена множеством рибосом, которые участвуют в синтезе белков. В клетках мышц эндоплазматический ретикулум участвует в депонировании и транспорте ионов кальция. На рисунке 2 представлена схема строения эндоплазматического ретикулума и комплекса Гольджи. По своей ультраструктуре эти два органоида имеют много общего, однако у них совершенно различные функции. Кроме того, они изолированы друг от друга и не имеют прямого сообщения.



**Рис. 2**  
*Схематическое изображение  
гранулярной эндоплазматической сети и комплекса Гольджи:*

1 — комплекс Гольджи; 2 — пузырьки, формирующиеся из мембраны комплекса Гольджи; 3 — гранулярная эндоплазматическая сеть.

*Аппарат Гольджи* — скопления пузырьков стопкообразной формы, окруженных мембранами с гладкой поверхностью. В аппарат Гольджи поступают белки из эндоплазматического ретикулума с последующей их упаковкой в плотные гранулы. Эти пузырьки способны разрываться с выходом из клетки продуктов ее жизнедеятельности во внеклеточную среду (экзоцитоз).

*Лизосомы* — это окруженные мембранами сферические пузырьки в цитоплазме клеток. Их размеры не превышают размеры митохондрий. Они содержат разнообразные ферменты в неактивной форме. Белки, жиры, полисахариды, которые подлежат разрушению, поступают в лизосомы, где и гидролизуются, с последующим использованием продуктов их гидролиза в цитоплазме в общем метаболизме клетки.

Другой тип окруженных мембранами органелл в цитоплазме получил название пероксисом. Пероксисомы, или микротельца, имеют одиночную мембрану с содержанием белков часто в кристаллическом виде. В их составе различные ферменты, из которых преобладающим является каталаза, расщепляющая токсичную для клеток перекись водорода ( $H_2O_2$ ) до  $H_2O$  и  $O_2$ . Ферменты, образующие перекись водорода, как каталаза, находятся внутри пероксисом, что обеспечивает защиту содержимого клетки от разрушающего действия перекисей. Пероксисомы находятся во всех клетках эукариотов. Это *органеллы* — пузырьки (0,1–0,5 мкм в диаметре), окруженные одиночной мембраной, происходят от гладкого эндоплазматического ретикулума. *Пероксисомы* — важнейшее место утилизации кислорода. В древние времена, кислород, продуцируемый фотосинтезирующими бактериями, вначале начинал накапливаться в атмосфере и являлся высокотоксичным для многих клеток. Поэтому пероксисомы были призваны снижать внутриклеточную концентрацию кислорода.

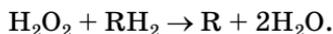
Сегодня известно, что пероксисомы имеют ферменты, которые используют молекулярный кислород для удаления атомов водорода из специфических органических субстратов в окислительно-восстановительных реакциях с образованием перекиси водорода.

Внутри пероксисом находятся ферменты, образующие и использующие  $H_2O_2$ , отсюда и происходит их название — перокси-

сомы. Эти ферменты способны отрывать атомы водорода от органических субстратов и передавать их на  $O_2$  с образованием  $H_2O_2$ :

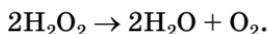


Каталаза, составляя около 40% всех белков пероксисом, использует пероксид водорода для окисления таких субстратов, как алкоholes, формальдегид, муравьиная кислота, защищая таким образом клетку от этих ядов в реакции:



Этот тип окислительной реакции очень важен в клетках печени и почках, пероксисомы которых нейтрализуют различные токсические молекулы, поступающие из крови. Около четверти алкоголя, который выпивает человек, окисляется в ацетальдегид таким путем.

При избытке пероксида водорода каталаза может конвертировать его в воду:



Пероксисомы не имеют собственного генома или рибосом, а поэтому все их белки должны быть импортированы.

Важнейшей функцией пероксисом является их участие в окислении жирных кислот по типу  $\beta$ -окисления.  $\beta$ -окисление в клетках млекопитающих имеет место как в митохондриях, так и в пероксисомах. В растительных клетках эти реакции окисления протекают исключительно в пероксисомах.

В цитоплазме клеток имеются также многочисленные гранулярные элементы, не ограниченные мембранами, — рибосомы. *Рибосомы* — структуры, обеспечивающие биосинтез белков в клетках.

*Мономеры* — субъединицы белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов, которые внутри клеток связаны ковалентными связями. В форме макромолекул, или в форме супрамолекулярных комплексов, имеют место многочисленные нековалентные связи, индивидуально много слабее ковалентных связей. Среди них: водородные связи (между полярными группами), ионные взаимосвязи (между заряженными группами), гидрофобные взаимосвязи (между неполярными группами в водной среде), взаимосвязи Ван-дер-Ваальса. Наличие большого числа

этих связей стабилизирует супрамолекулярные комплексы, обеспечивая сохранение их единой структуры.

Биологические системы от макромолекулярного уровня до клеточного оперируют через специфические молекулярные механизмы узнавания, основанные на структурной комплементарности: белок узнает его специфический метаболит, нуклеотидная нить ДНК узнает свою комплементарную нить, спермий узнает яйцеклетку. Все эти взаимосвязи вовлекают структурную комплементарность между молекулами.

Хлоропласты (в фотосинтезирующих клетках) имеют двойную мембрану, внутренний объем которой называется стромой, в которой заключена мембранная система, богатая тилакоидными мембранами. Хлоропласты высших растений имеют форму двояковыпуклой линзы, их длина — 5–10 мкм. Их число в клетке насчитывает одну тысячу. Хлоропласты значительно крупнее, чем митохондрии. Хлоропласты имеют обычно округлые формы; у отдельных водорослей они могут достигать больших размеров. В клетках коллоиды хлоропласта тесно связаны с хлорофиллом, защищая его против воздействия различных факторов среды. Внутренняя мембрана хлоропластов включает специальные белки-транспортёры. Она окружает большое пространство, называемое стромой, которое является аналогом митохондриального матрикса и содержит различные ферменты, рибосомы, РНК и ДНК.

Хлоропласты являются местами фотосинтеза, в реакциях которого световая энергия трансформируется в метаболически используемую химическую энергию в форме АТФ. Эти реакции протекают на тилакоидных мембранах. Синтез углеводов из  $\text{CO}_2$  протекает в строме. Хлоропласты являются основным источником энергии на свету.

*Лейкопласты* — бесцветные органеллы растительных клеток различной формы (шаровидные, округлые, чашевидные и др.). Лейкопласты ограничены двумя мембранами. Наружная мембрана гладкая, внутренняя образует тилакоиды. В строме имеются кольцевая «голая» ДНК, рибосомы 70S-типа, ферменты синтеза и гидролиза запасных питательных веществ. Лейкопласты являются пластидами, которые присутствуют во многих эпидермальных и внутренних тканях и не становятся зелеными и фотосинтезирующими. Сравнительно много лейкопластов имеют клетки подземных органов растений (корни,

клубни, корневища). Функция лейкопластов — синтез, накопление и депонирование запасных питательных веществ. В некоторых растениях, таких как картофель, амилопласты могут иметь размеры средней клетки животного.

В зависимости от функциональной специализации лейкопласты подразделяют на следующие виды:

- амилопласты (синтезируют и накапливают крахмал);
- элайопласты (синтезируют и накапливают жиры);
- протеинопласты (синтезируют и накапливают белки).

*Хромопласты* — бимембранные органоиды, содержащие пигменты. Наружная мембрана гладкая, внутренняя может быть гладкой или образует единичные тилакоиды. В строме имеются кольцевая ДНК и пигменты — каротиноиды, придающие хромопластам желтую, красную или оранжевую окраску. Форма накопления пигментов различная: в виде кристаллов, растворены в липидных каплях. Эти органеллы содержатся в клетках зрелых плодов, лепестков, осенних листьев. Хромопласты считаются конечной стадией развития пластид.

Функция хромопластов: окрашивание цветов и плодов и тем самым привлечение опылителей и распространителей семян. Все виды пластид могут образовываться из пропластид. Поскольку пластиды имеют общее происхождение, между ними возможны взаимопревращения. Лейкопласты могут превращаться в хлоропласты (позеленение клубней картофеля на свету), хлоропласты — в хромопласты (пожелтение листьев и покраснение плодов). Превращение хромопластов в лейкопласты или хлоропласты считается невозможным.

Хлорофиллы и каротины широко распространены в пигментах, называемых каротиноидами. Каротиноиды всегда присутствуют в хлоропластах, но отдельно они находятся в хромопластах, окрашивающих отдельные фрукты (мандарины, лимоны, томаты) и цветы (нарциссы, ноготки). Цвет морских водорослей зависит от наличия в них натурального хлорофилла (0,8%) —  $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ , желтого ксантофилла —  $C_{40}H_{56}O_2$ , каротинов —  $C_{40}H_{56}$ . В отличие от хлорофиллов, каротиноиды способны поглощать свет в ином диапазоне длин волн, поэтому они являются световыми рецепторами, дополняющими функции хлорофиллов.

Ученые полагают, что хлорофилл существует в живых системах уже более 550 млн лет (Николаев Л. А., 1973). Древние бак-

терии-автотрофы содержали восстановленную форму порфирина, а последующая эволюция привела к внедрению магния в структуру порфирина, который укрепил связи хлорофилла с белком.

Световая энергия, удерживаемая хлорофиллом, не полностью трансформируется в потенциальную химическую энергию синтезируемых органических соединений. Организмы с активным фотосинтезом (одноклеточные зеленые растения) способны трансформировать 30% световой энергии в химическую энергию, тогда как в природе этот показатель составляет лишь 1–2%. Однако, несмотря на низкий показатель фотосинтеза (1–2%) и содержание  $\text{CO}_2$  в атмосфере (0,03%), 35 млрд тонн углерода ежегодно фиксируются зелеными растениями на поверхности земли, 80–100 млрд тонн органических соединений производятся благодаря световой энергии и хлорофилла, из них половина приходится на земную поверхность и половина — на поверхностные воды морей и океанов. Благодаря фотосинтезу вся наземная и водная растительность в течение года производит свыше 300 млрд тонн кислорода.

Растения без хлорофилла (грибы, например), многие бактерии, животные не способны синтезировать органические соединения исключительно из минеральных компонентов, не могут использовать атмосферный  $\text{CO}_2$  и должны получать углерод из окружения в форме сравнительно сложных органических соединений, таких как глюкоза. Они обязаны поглощать одновременно органические соединения и минералы: это гетеротрофы (*греч.* heteros — другой, trophe — пища), в отличие от автотрофов. Люди, как и все многоклеточные животные, многие бактерии, вирусы, грибы, некоторые растения являются гетеротрофами. Они представлены плотоядными (зоофаги), растительноядными (фитофаги) и всеядными (эврифаги) формами.

Гетеротрофные организмы существуют за счет использования энергии и веществ, являющихся продуктами автотрофного или гетеротрофного биосинтеза. Среди гетеротрофов выделяются биофаги и сапрофиты. Биофаги используют необходимые им вещества из тел живых организмов, тогда как сапрофиты используют продукты биосинтеза, содержащиеся в телах погибших организмов.

Автотрофы (как фотосинтезирующие бактерии) могут использовать  $\text{CO}_2$  из атмосферы как единственный источник уг-

лерода, из которого они создают все свои углеродсодержащие биомолекулы. Такие автотрофы, как цианобактерии (сине-зеленые водоросли), также могут использовать азот для синтеза своих азотсодержащих веществ.

Фотосинтезирующие автотрофы получают свою энергию из солнечных лучей, тогда как гетеротрофы получают энергию за счет разложения органических веществ, продуцируемых автотрофами. В нашей биосфере автотрофы и гетеротрофы живут совместно в зависимом цикле, в котором автотрофы используют  $\text{CO}_2$  атмосферы для строительства своих органических биомолекул.

Напротив, гетеротрофы используют органические продукты автотрофов как нутриенты и возвращают  $\text{CO}_2$  в атмосферу. Отдельные окислительные реакции, продуцирующие  $\text{CO}_2$ , также потребляют кислород, конвертируя его в молекулы воды. Таким образом, углерод, кислород и вода постоянно обмениваются между гетеротрофами и автотрофами с участием солнечной энергии как главенствующей силы в данном круговороте.

В метаболических процессах и во всех трансформациях энергии имеется потеря используемой (свободной) энергии и неизбежное увеличение неиспользованной энергии (тепло). Углерод, кислород и азот рециклируют все время, при этом энергия постоянно трансформируется в неиспользуемую форму, такую как тепло.

Отдельные растения без хлорофилла и многие бактерии живут в зависимости от других организмов: они являются паразитами (грибы, повилика, патогенные бактерии). Другие организмы используют мертвые органические вещества — это сапротиты (*греч.* *sapros* — гнилой, *phuton* — растение). К ним относятся плесени, бактерии; они разлагают растительные трупы, трипаносомы. Следовательно, в природе существуют настоящие пищевые цепи. В частности, высшие животные, растения без хлорофилла, многие бактерии зависят прямо или косвенно от растений с хлорофиллом.

Биохимия объясняет все биологические формы и функции на основе химических воззрений. В первой половине XX в. биохимическими исследованиями было установлено единство катаболизма глюкозы в различных организмах животного мира. Поэтому Ж. Моно (1910–1976), французский биохимик и микробиолог, суммировал: «что есть истина для *E. coli*, есть истина и для слона». Сегодня есть понимание, что все живые организмы

имеют единую эволюционную природу и универсальность химических посредников и их трансформаций.

Около 30 из более чем 90 встречающихся природных химических элементов являются необходимыми для организмов. В количественном плане четыре элемента: H, O, C, N вместе составляют более 99% массы клеток.

Химия живых организмов организована вокруг углерода. Атом углерода способен формировать ковалентные связи с атомами углерода, водорода и азота. Ковалентные связи являются преобладающим типом связей органических соединений. Они образуются двумя электронами, которые попадают на общую орбиталь. Ковалентно связанные атомы углерода в биомолекулах могут формировать линейные цепи, разветвленные цепи и циклические структуры. К этим основам добавляются группы других атомов (функциональные группы), которые придают молекулам специфические химические свойства. Только углерод способен формировать в клетках молекулы таких различных размеров и объемов или иметь такое разнообразие функциональных групп.

Растворенные в цитозоле органические молекулы составляют коллекцию мелких и центральных метаболитов клетки. Эта коллекция включает аминокислоты, нуклеотиды, углеводы и различные карбоновые кислоты. Их молекулы являются полярными, водорастворимыми и присутствуют в клетках в микромолярных или миллимолярных концентрациях.

Многие молекулы в клетках являются макромолекулами, образованными из сравнительно простых предшественников. Так, белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды являются продуктами полимеризации простых структур. Синтез макромолекул связан с высокой энергетической активностью клеток. В свою очередь макромолекулы могут формировать супрамолекулярные комплексы, такие, например, как рибосомы.

Следует напомнить, что Ф. Мишер (1844–1895) в Базеле в 1869 г. открыл в клетках «нуклеин», который в 1899 г. был назван биохимиком Р. Альтманом нуклеиновой кислотой.

**Единицы длины, используемые в биологии клетки и биохимии.**

$$1 \text{ нм (нанометр)} = 10^{-9} \text{ м} = 10^{-6} \text{ мм} = 10^{-3} \text{ мкм.}$$

$$1 \text{ мкм (микрометр)} = 10^{-6} \text{ м} = 10^{-3} \text{ мм} = 1000 \text{ нм.}$$

$$1 \text{ микрон} = 1 \text{ мкм.}$$

## ГЛАВА 2. ФЕРМЕНТЫ

---

Большая часть истории биохимии является историей изучения ферментов. Подавляющее большинство химических реакций в организме требует участия белков-энзимов (термин «энзим» в 1875 г. предложил F. W. Khune), обладающих свойствами катализаторов. В литературе на русском языке более часто используется термин «фермент» (от *лат.* fermentum — закваска). Живые организмы используют ферменты, чтобы ускорить и контролировать степень жизненно важных биохимических реакций.

Открытие немецким биохимиком Э. Бухнером (1860–1917) в 1897 г. превращения сахара в алкоголь под действием дрожжевого экстракта явилось основой начала ферментологии (энзимологии). С 1935 г. белковая природа ферментов является общепризнанной. Однако сегодня это утверждение поставлено под сомнение, так как выявлена небольшая группа молекул РНК (рибозимы), которые также обладают основными каталитическими свойствами.

А. Я. Данилевский (1838–1923), организовавший первую в России кафедру физиологической химии при Медико-хирургической академии в Санкт-Петербурге, впервые используя метод адсорбции, доказал раздельное существование в поджелудочном соке амилазы и трипсина.

Американский биохимик Дж. В. Самнер в 1926 г. получил в кристаллическом виде уреазу из бобов. В 1929 г. Д. Нортроп закристаллизовал пепсин при  $\text{pH} = 3$  в насыщенном растворе

сульфата магния, а позднее получил килограммы этого фермента в форме кристаллов. Первым ферментом, полипептидная структура которого полностью была выяснена в 1965 г., явился лизоцим (мурамидаза), содержащий 129 аминокислотных остатков. За последние 80 лет из всех типов организмов выявлено свыше 3 тыс. ферментов.

Ферменты являются разносторонними биохимическими катализаторами, которые имеют три общие характеристики: каталитическую активность, специфичность и регуляцию.

Каталитическая активность ферментов основана на их натуральной белковой конформации. Наличие первичной, вторичной, третичной и четвертичной структур белков-ферментов — обязательное условие для их каталитической активности.

Ферменты выполняют специфические функции ускорения химических реакций. Имея уникальные свойства, они представляют самые эффективные катализаторы в природе (одна молекула каталазы расщепляет 5 млн молекул  $\text{H}_2\text{O}_2$  в течение одной минуты при  $0^\circ\text{C}$  и  $\text{pH}$  6,8). Обеспечивая скорость реакций, ферменты поддерживают жизнь организма.

Есть важные показатели фермента: во-первых, фермент не изменяется, вступая в реакцию, не расходуется в процессе реакции; во-вторых, фермент не изменяет постоянства равновесия и направления реакции, он лишь ускоряет течение химической реакции. Фермент ускоряет реакцию без изменения термодинамических свойств системы, с которой он взаимодействует. В-третьих, для большинства ферментов является характерной специфичность действия, так как любая химическая реакция осуществляется специальным ферментом. И, наконец, действие большинства ферментов контролируется, переходя от состояния с низкой активностью к состоянию с высокой активностью и обратно.

Молекулы, с которыми взаимодействуют ферменты, получили название субстратов, а молекулы, получаемые в результате ферментативной реакции, называются продуктами. Фермент и молекулы субстрата «узнают» друг друга посредством структурной комплементарности. Субстрат связывается с ферментом на основе сравнительно слабых водородных связей, ионных связей и взаимодействий Ван-дер-Ваальса.

Все ферменты относятся к белкам типа глобулинов. Подобно другим белкам ферменты имеют молекулярную массу от 2 тыс. до

миллиона. Ферменты могут быть простыми или сложными белками. Структура простых ферментов (однокомпонентных) включает лишь аминокислоты. При этом ряд функциональных групп определенных аминокислот формирует активный центр молекулы фермента, который обеспечивает ее непосредственное взаимодействие с субстратом. Часто активный центр ферментов представлен такими аминокислотами, как серин, тирозин, аргинин, гистидин, лизин, цистеин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты.

Количество активных центров у разных ферментов может быть различным. Аминокислоты, образующие активные центры, располагаются в различных местах полипептидной цепи, но в пространственной близости друг к другу с заданной определенной конформацией. Это доказывается потерей ферментативной активности при денатурирующих воздействиях, когда нарушается вторичная и третичная структура белковой молекулы. Активный центр составляет сравнительно небольшую часть от общего объема молекулы фермента.

В активном центре фермента выделяют каталитический участок, который непосредственно участвует в осуществлении реакции, и якорный, или связывающий, обеспечивающий взаимосвязь и ориентацию субстрата в активном центре.

С помощью рентгеноструктурного анализа установлено, что многие ферменты обладают четвертичной структурой, а значит, их молекула состоит из нескольких идентичных или различных по структуре и составу белковых субъединиц. Это уже надмолекулярный уровень организации белковых структур.

У сложных ферментов различают апофермент, или белковый компонент, и небелковый компонент — кофермент. В отдельности оба компонента фермента не обладают ферментативной активностью. Только в виде комплекса они приобретают характерные свойства фермента. Комплекс апофермента и кофермента получил название холофермента. Часто кофермент прочно связан с белковым компонентом и их трудно отделить друг от друга, такие коферменты рассматриваются как простетические группы фермента. Коферменты, или простетические группы сложных ферментов, выступают как временные переносчики специфических функциональных групп.

Связь апофермента и кофермента осуществляется в основном за счет водородных и ионных связей. Связь между апоферментом

и простетической группой имеет ковалентный характер и обычно более прочная, чем связь между белком и коферментом. Небелковый компонент осуществляет контакт между апоферментом и субстратом, непосредственно участвуя в катализе. Структура коферментов сегодня хорошо изучена, однако структура апоферментов детально выяснена только для отдельных ферментов. Например, выяснена последовательность аминокислот фермента лизоцима, папаина, рибонуклеазы.

Коферменты могут быть представлены органическими веществами (витамины, нуклеотиды) или металлами (цитохромы, каталаза- $\text{Fe}^{2+}$ ,  $-\text{Fe}^{3+}$ , цитохромоксидаза- $\text{Cu}$ ,  $-\text{Cu}^{2+}$ , уреазы- $\text{Ni}^{2+}$ , пропионил- $\text{CoA}$ -карбоксилаза- $\text{Co}^{2+}$ , угольная ангидраза- $\text{Zn}^{2+}$ ). Роль металла в ферментной системе часто заключается в образовании комплекса между ферментом и субстратом:  $\text{Mg}^{2+}$ , например, необходим для фиксации АТФ на ферментах. В других случаях металл в реакциях играет роль транспортера электронов.

Известны более 150 сложных ферментов, в составе которых роль коферментов выполняют витамины. Как правило, витамины синтезируются в растительных клетках, а потому в рационе человека и животных обязательно должны присутствовать овощи, фрукты, зеленые корма.

## МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТА

Почему фермент ускоряет химическую реакцию? Для осуществления контакта двух реагирующих веществ в химической реакции необходимым условием является наличие в этих веществах достаточного запаса кинетической энергии. По своим энергетическим характеристикам все молекулы вещества обладают различной кинетической энергией. Для большей части молекул вещества характерна средняя величина энергии, тогда как другая часть молекул имеет величину энергии меньше средней, что, естественно, затрудняет контакт реагируемых веществ. Повысить количество активированных молекул можно было бы, увеличив температуру среды, внося, таким образом, энергию извне. Однако такой путь ускорения химической реакции неприемлем для организма животного с постоянной температурой тела. Поэтому в условиях организма

снижение требуемой для реакции энергии активации осуществляется при помощи белков-катализаторов (ферментов).

Для осуществления химической реакции необходимо, чтобы реагирующие вещества имели суммарную энергию выше энергетического барьера этой реакции.

Каждая химическая реакция имеет определенную энергию активации ( $E_A$ ). *Энергия активации* — это энергия, необходимая для перевода молекул в активированное состояние: чем выше энергия активации, тем медленнее протекает реакция. В ферментативной реакции энергетический барьер снижается по причине образования фермент-субстратного комплекса. При этом снижение энергии активации приводит к ускорению хода реакции, так как во взаимодействие может вступать большее число молекул.

На представленном графике (рис. 3) наглядно показан процесс разбивки реакции на два этапа, однако этих этапов внутри фермент-субстратного комплекса может быть много больше. Прямая реакция идет только при преодолении энергетического барьера с высоким показателем энергии активации ( $E_A$ ), и на графике мы видим кривую с одной вершиной. Для течения реакции с участием фермента молекуле субстрата достаточно иметь гораздо меньшую внутреннюю энергию, вполне вероятную в обычных условиях.

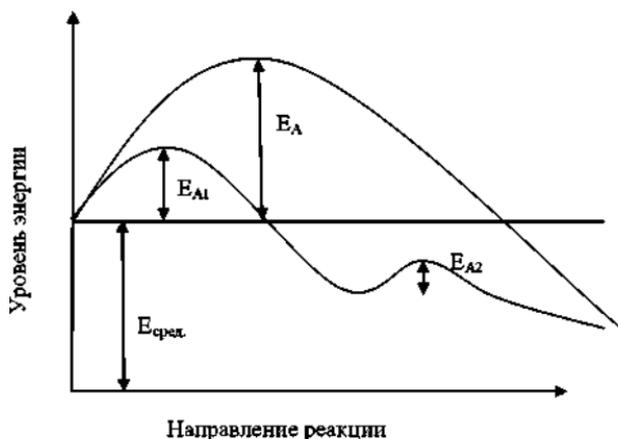


Рис. 3  
Роль фермента в реакции

В процессе взаимодействия субстрата с ферментом образуется первое промежуточное вещество (с использованием энергии  $E_{A1}$ ), которое посредством еще одной реакции затем превращается (согласно графику) в продукт реакции. Вторая реакция внутри фермент-субстратного комплекса также требует относительно небольшой величины энергии активации ( $E_{A2}$ ). Таким образом, фермент многократно повышает скорость реакции за счет направления реакции по альтернативному пути с меньшей энергией активации. Действие фермента может проиллюстрировать такой пример: если из точки *A* взобраться на вершину горы в точку *B* по прямому (кратчайшему) пути крайне тяжело, то проход по обходным тропам дает возможность без видимой сложности достигнуть цели.

Фермент снижает  $E_A$  и тем самым повышает скорость реакции при относительно низкой температуре. Следует отметить, что белки-ферменты снижают  $E_A$  данной реакции в большей мере, чем неорганические катализаторы. Например, в реакции разложения  $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$   $E_A$  без катализатора составляет 18,0 ккал/моль перекиси; в присутствии коллоидной платины  $E_A$  снижается до 11,7 ккал/моль; в присутствии фермента каталазы  $E_A$  составляет лишь 5,5 ккал/моль. За счет снижения  $E_A$ , или энергетического барьера, ферменты позволяют части молекул, неактивных в обычных условиях, преодолеть этот более низкий барьер и принять участие в реакции.

Снижение энергетического барьера обеспечивается превращением одностадийной реакции без катализатора в двухстадийную при ферментативном катализе, причем сумма ( $E_{A1} + E_{A2}$ ) этих двух этапов оказывается меньше  $E_A$  в реакции без фермента. Данное представление основывается на образовании комплекса между активными центрами и молекулами субстрата. Молекулы субстрата в этом комплексе находятся в нестабильном переходном состоянии с необычной ориентацией связей. Это нестабильное состояние приводит в дальнейшем к образованию конечных продуктов реакции и выходу фермента из реакции в исходном состоянии, что позволяет ферменту реагировать с новыми молекулами субстрата.

Скорость реакции или скорость появления конечного продукта реакции очевидно пропорциональна концентрации фермент-субстратного комплекса. Можно полагать, что скорость

реакции также пропорциональна числу активных центров фермента, вовлекаемых молекулами субстрата. Конформация активного центра фермента такова, что она стереохимически комплементарна субстрату. Таким образом, существует определенное сродство фермента к определенному субстрату. Впервые это утверждение высказал в 1890 г. Э. Фишер, немецкий химик-органик, который считал, что пространственные структуры активного центра фермента и его субстрата должны иметь стерическое соответствие, чтобы произошла химическая реакция. С этого времени появилась формулировка о соответствии фермента и субстрата, как ключа и замка. Однако в настоящее время активные центры многих ферментов не рассматриваются как жесткие структуры. Форма их активного центра становится комплементарной лишь после связывания с субстратом.

Установлено, что при образовании фермент-субстратного комплекса молекулы фермента и субстрата, сближаясь, определенным образом ориентируются относительно друг друга. В присутствии субстрата происходят конформационные изменения молекулы фермента, что обеспечивает ориентацию в пространстве функциональных групп активного центра, оптимальным образом подходящую к взаимодействию с соответствующими группами субстрата. Эти конформационные изменения получили название «индуцированного соответствия» субстрата и фермента. Вероятно, индуцированное соответствие увеличивает скорость ферментативной реакции (гипотеза Д. Кошланда). Сущность этой гипотезы может быть выражена формулой «перчатка — рука».

Для химических ферментативных реакций важное значение имеет и электрофильно-нуклеофильный катализ. Активные центры ряда ферментов имеют электрофильные и нуклеофильные группировки, принимающие участие в химическом катализе. Электрофильные группировки — это акцепторы электронных пар, а нуклеофильные — это доноры электронных пар. В реакциях нуклеофильного замещения происходит образование ковалентных промежуточных соединений. При этом нуклеофильная группировка занимает место замещаемой группы, образуя ковалентный интермедиат, который неустойчив и легко распадается на конечные продукты реакции.

Механизм связывания субстрата и механизм действия изучены у таких ферментов, как лизоцим, РНК-аза, ацетилхолин-

эстераза. Механизм действия фермента на субстрат можно видеть на примере действия фермента папаина на пептидные связи. Известно, что в тропических районах издавна используется сок папайи в кулинарии для размягчения жесткого мяса: папаин, содержащийся в соке, гидролизует пептидные связи белков мяса. Этот фермент выделен в кристаллическом виде, установлена его третичная структура (1968 г.), определена серия аминокислот, входящих в его активный центр (цистеин и аспарагиновая кислота), которые играют определяющую роль в катализе.

*Папаин* — белок, включающий 211 аминокислот. В отсутствие субстрата водородная связь связывает атом водорода HS-группы цистеина с атомом кислорода аспарагиновой кислоты активного центра фермента (схема 1).

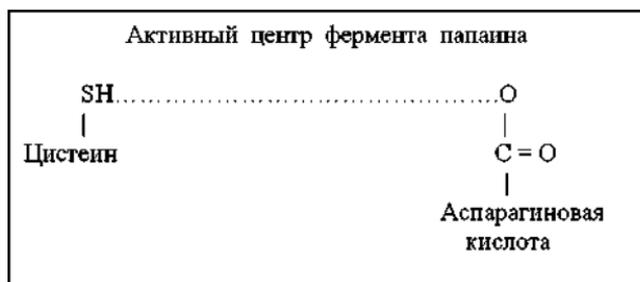


Схема 1

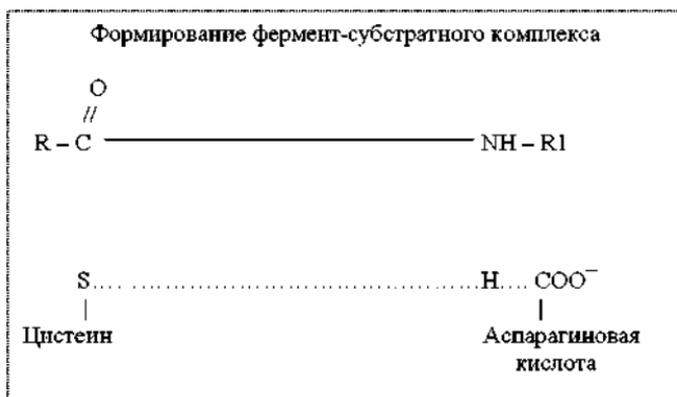


Схема 2

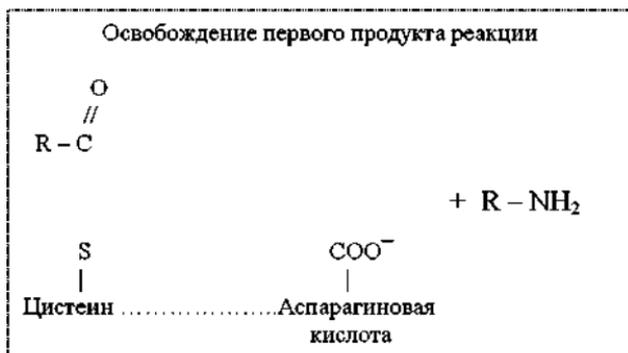


Схема 3



Схема 4

В присутствии субстрата, имеющего пептидные связи, водородная связь активного центра разрушается, но появляется тиозфирная связь атома серы цистеина и карбоксильной группы аспартата (схема 2).

Эта связь устанавливается легко сразу же после распределения электрических зарядов на различных участках молекулярного комплекса. В результате этой трансформации происходит освобождение первого продукта реакции R-NH<sub>2</sub> (схема 3).

Последующее участие молекулы воды в реакции позволяет регенерировать активный центр фермента и освободить второй продукт (схема 4).

Представленные схемы показывают, как функционирует фермент: молекула субстрата занимает определенное положение по отношению к активному центру фермента. Перераспределение электрических зарядов приводит к образованию комплекса «фермент — субстрат», что облегчает последующее течение реакции. Начальная скорость ферментативной реакции зависит от концентрации субстрата. При увеличении концентрации субстрата начальная скорость реакции увеличивается до полного насыщения активных центров фермента субстратом.

Скорость реакции также зависит от концентрации фермента. Скорость удваивается в случае двукратного повышения концентрации фермента. При низкой концентрации фермента равновесие реакции достигается более поздно, чем при высокой концентрации. Таким образом, скорость ферментативной реакции зависит как от концентрации субстрата, так и от концентрации фермента.

## КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

*Кинетика* — это учение о влиянии различных факторов на скорость ферментативной реакции. Скорость такой реакции в первую очередь зависит от активности и механизма действия фермента.

Когда количество субстрата не ограничено (значительно больше) по отношению к числу молекул фермента, скорость реакции в этом случае зависит от концентрации субстрата, но не зависит от концентрации фермента. Исходя из теории об образовании в процессе ферментативной реакции промежуточного комплекса между ферментом и субстратом, было введено уравнение, характеризующее зависимость скорости реакции от ряда факторов (уравнение Л. Михаэлиса и М. Ментен):

$$V = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_M + [S]},$$

где  $V$  — скорость реакции при данной концентрации субстрата;  $S$  — концентрация субстрата;  $K_M$  — константа Михаэлиса — Ментен, моль/л;  $V_{\max}$  — максимальная скорость при полном насыщении фермента субстратом.

Таким образом, скорость ферментативной реакции зависит от концентрации субстрата и степени сродства фермента и субстрата, которую характеризует величина  $K_M$ . Чем выше эта величина, тем меньше сродства и наоборот.

Если концентрация субстрата велика, а  $K_M$  мала, значит, в данном случае фермент полностью насыщен субстратом и при этом скорость ферментативной реакции уже не зависит от концентрации субстрата. Скорость реакции может возрасти только при увеличении концентрации фермента.

Реакции, скорость которых не зависит от концентрации субстрата, получили название реакций нулевого порядка. При низкой концентрации субстрата скорость реакции пропорциональна концентрации субстрата в каждый данный момент:

$$V = K \cdot [S],$$

где  $[S]$  — молярная концентрация субстрата;  $K$  — константа скорости реакции.

Эти реакции называют реакциями первого порядка. В них за каждый равный промежуток времени распадается один и тот же процент оставшегося количества субстрата.

$K_M$  представляет собой концентрацию субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной скорости ( $V_{\max}$ ). Эту величину выражают в молях на литр. Для большинства ферментативных реакций она колеблется в пределах  $10^{-2}$ – $10^{-5}$  М. Чем выше  $K_M$ , тем слабее сродство фермента к субстрату. На основании уравнения Лайнуивера — Бэрка можно определить  $K_M$ :

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{\max} [S]} + \frac{1}{V_{\max}},$$

где  $K_M$  и  $V_{\max}$  — постоянные величины при заданных условиях определения;  $V$ ,  $S$  — переменные.

Можно заключить, что при недостатке субстрата скорость ферментативной реакции зависит как от концентрации субстрата, так и от концентрации фермента.

Следует помнить, однако, что в большинстве ферментативных реакций две, а иногда и более различных молекул субстратов вступают в связь с ферментом и участвуют в этой реакции. Например, в реакции, катализируемой гексокиназой,

АТФ и глюкоза являются молекулами-субстратами, а АДФ и глюкоза-6-фосфат являются продуктами этой реакции:



Ферментативные реакции с участием двух субстратов обычно осуществляют перенос атома или функциональной группы от одного субстрата на другой.

## АЛЛОСТЕРИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Аллостерическая регуляция является характерной для белков, состоящих из более чем одной субъединицы. Ферментативная активность может быть активирована или ингибирована посредством нековалентных взаимосвязей фермента с мелкими молекулами (метаболитами) помимо субстрата. Этот вид контроля назван аллостерической регуляцией, так как активатор или ингибитор связываются с ферментом на другом участке (allos — другой, stereos — пространственный), чем активный центр (рис. 4). Более того, такие аллостерические регуляторы, или эффекторы, стерически являются очень отличительными от субстрата.

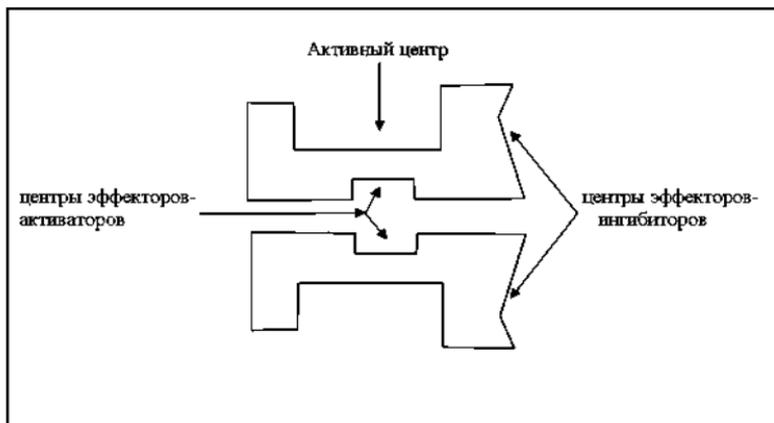


Рис. 4  
Схема расположения центров эффекторов-активаторов и эффекторов-ингибиторов на молекуле фермента

Аллостерические центры служат для связывания эффекторов, модуляторов (лигандов) — реагентов, регулирующих активность ферментов. *Аллостерический центр* — центр регуляции активности фермента, пространственно отделен от активного центра и имеет место не у всех ферментов. При связывании фермента с эффектором происходит изменение скорости ферментативной реакции и конформации белка с изменением третичной структуры белковой молекулы, что сопровождается увеличением или снижением каталитической активности фермента.

*Метаболит* — регулятор, модулирующий активность фермента подобным образом, получил название аллостерического эффектора. Аллостерические эффекторы являются продуктами нормального метаболизма клетки, и их эффект зависит лишь от концентрации того или иного эффектора в условиях организма животного. Эффекторами могут быть небольшие органические молекулы, такие как АТФ, или белковые молекулы. Эффекторы, вызывающие изменение активности фермента, рассматриваются как модуляторы. Они могут выступать как активаторы или как ингибиторы. Эффекторы-активаторы повышают сродство фермента к субстрату, тогда как эффекторы-ингибиторы вызывают обратный эффект.

Эффекторы не имеют структурного сходства с субстратом, а фермент имеет высокую специфичность к молекуле эффектора. Поэтому субстрат и эффекторы не конкурируют за определенный участок молекулы фермента. Как правило, аллостерические ферменты являются олигомерами, а значит, состоят из нескольких отдельных белковых мономеров (протомеров). Каждый мономер может быть представлен одной или более пептидными цепями. Как следствие олигомерной природы аллостерических ферментов, связывание эффектора с одним мономером может вызывать эффект связывания эффектора с другим мономером белковой молекулы. Такое явление носит название кооперативного. При связывании субстрата изменяется конформация мономера аллостерического фермента, с которым он взаимодействует, тогда как конформация другого мономера существенно не меняется. Изменения формы, вызванные связыванием субстрата с одним мономером, могут привести к повышению или снижению сродства к субстрату другого мономера молекулы фермента.

В частности, гемоглобин — наиболее изученный аллостерический белок, для которого характерны аллостерические эффекты. Молекула гемоглобина имеет четыре связывающих центра для лиганда (кислорода).

## АКТИВАТОРЫ И ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ

На активность ферментов может оказывать влияние присутствие различных химических веществ, которые способны повышать активность или, напротив, угнетать активность ферментов.

Многие ферменты синтезируются в организме в неактивном состоянии. Они получили название зимогенов. Синтез зимогенов имеет место на рибосомах эндоплазматического ретикулаума особыми секреторными клетками. Это относится к протеолитическим ферментам, синтез которых непосредственно в активном состоянии вызвал бы расщепление белков, синтезирующего эти ферменты органа. Например, гидролиз полипептидной цепи пепсиногена под действием HCl желудочного сока открывает активный центр фермента для доступа белка-субстрата; при этом пепсиноген трансформируется в пепсин. Следовательно, соляная кислота выступает в роли активатора фермента. Другой пример — неактивный трипсиноген поджелудочной железы в тонком кишечнике под действием энтеропептидазы превращается в активный трипсин.

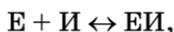
Существуют и другие пути изменения активности ферментов. Одним из таких путей является фосфорилирование и дефосфорилирование. Примером могут служить ферменты синтеза и распада гликогена — гликогенсинтаза и гликогенфосфоорилаза.

Часто активаторами ферментов служат металлы, которые обеспечивают должную конформацию молекулы фермента, необходимую для его активности. Иногда металлы участвуют непосредственно в формировании активного центра, в других случаях они выполняют роль кофермента. При этом можно назвать такие металлы, как  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  и др.

Большой интерес представляют ингибиторы-вещества, которые способны полностью или частично приостановить фер-

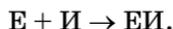
ментативную активность. По итоговому эффекту ингибитор может взаимодействовать обратимо или необратимо с ферментом. Обратимые ингибиторы взаимодействуют с ферментом через нековалентные взаимосвязи. Напротив, необратимые ингибиторы обычно вызывают устойчивые, ковалентные изменения в структуре фермента, которые снижают активность фермента.

Обратимые ингибиторы по механизму ингибирования могут быть конкурентными и неконкурентными. Как и субстрат, ингибитор образует с ферментом комплекс. При обратимом ингибировании происходит как образование комплекса, так и его распад:



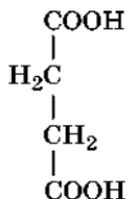
где E — фермент; I — ингибитор; EI — фермент-ингибиторный комплекс.

Подавление активности фермента зависит от концентрации ингибитора и степени сродства ингибитора к ферменту. Для сравнения активности ингибитора используется величина, показывающая концентрацию ингибитора, необходимую для 50% ингибирования. Уравнение необратимого ингибирования может быть представлено в следующем виде:

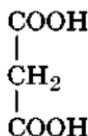


Как видно, оно сравнимо с уравнением обратимого ингибирования с различием в том, что реакция идет только слева направо, а значит, комплекс фермента и ингибитора не распадается. Примером такого ингибирования является действие фосфорорганических веществ (ФОС) на фермент ацетилхолинэстеразу.

При конкурентном ингибировании и субстрат, и ингибитор стремятся взаимодействовать с активным центром фермента. Это возможно при наличии определенного структурного сходства между ними. Классическим примером конкурентного ингибирования является ингибирование сукцинатдегидрогеназы малоновой кислотой. Сукцинатдегидрогеназа в организме превращает янтарную кислоту путем отнятия двух атомов водорода в fumarовую. Однако малоновая кислота, имея структурное сходство с янтарной кислотой, конкурирует с последней за обладание активным центром сукцинатдегидрогеназы. Как видно, структурное сходство этих двух кислот очевидно.



Янтарная  
кислота



Малоновая  
кислота

*Малоновая кислота* — сильный ингибитор; даже при отношении концентраций ингибитора и субстрата 1:50 активность сукцинатдегидрогеназы, или скорость реакции, подавляется на 50%. Конкурентное ингибирование в данном случае является обратимым и может быть снято избытком субстрата.

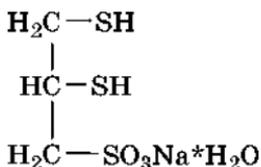
Однако конкурентное ингибирование может быть и необратимым. Это наблюдается в случае, когда комплекс ингибитора и фермента прочен и не распадается. Добавление субстрата при этом неэффективно. Ингибирование не наступает, если субстрат в избытке добавляется до или одновременно с ингибитором.

При неконкурентном ингибировании ингибитор связывается с различными участками молекулы фермента вне активного центра. Поэтому этот вид ингибирования не снимается избытком субстрата. Степень ингибирования зависит лишь от концентрации ингибитора. Механизм действия неконкурентных ингибиторов состоит в изменении конформации и структуры активного центра, что и затрудняет нормальное связывание субстрата.

К числу таких ингибиторов относятся тяжелые металлы (Ag, As, Hg, Pb). Эти ионы могут связываться с HS-группами белков-ферментов, способны образовывать ковалентные связи и с функциональными группами активного центра. Однако следует признать определенную условность классификации ингибиторов.

Рассмотрим отдельные примеры ингибирования ферментативных реакций, в частности отравления животных солями тяжелых металлов. Эти соли изменяют конформацию молекулы фермента и затрудняют взаимодействие фермента и субстрата. На основе выяснения биохимического механизма отравлений тяжелыми металлами создан лечебный препарат унитиол:

За счет наличия в его структуре HS-групп унитиол вытесняет тяжелые металлы из соединений с HS-группами фермента

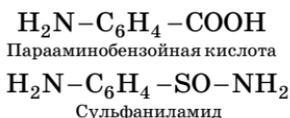


и таким образом освобождает эти группы, делая их вновь активными. Унитиол вошел в арсенал антидотно-лечебных средств при отравлениях солями ртути, мышьяка, кадмия, хрома, кобальта.

Не менее важным является знание механизма отравления фосфорорганическими соединениями, которые являются специфическими ингибиторами холинэстераз. ФОС действуют в организме по типу конкурентного торможения. Фермент холинэстераза, как гидролаза, катализирует расщепление ацетилхолина (нервного медиатора) на холин и ацетат. В случае попадания в организм ФОС, среди которых многочисленны инсектициды, происходит блокирование активного центра холинэстеразы. При такой ситуации ацетилхолин уже не способен взаимодействовать с активным центром фермента и происходит накопление ацетилхолина, вызывающее тяжелое отравление организма животного или человека. При этом активность холинэстеразы в сыворотке крови значительно снижается.

ФОС избирательно связываются с гидроксильной группой серина активного центра холинэстеразы, а поэтому были предложены препараты, содержащие активные аналогичные группы. В случаях отравлений введение этих препаратов в организм приводит к взаимодействию ФОС с ОН-группами препарата и освобождению гидроксильной группы активного центра холинэстеразы.

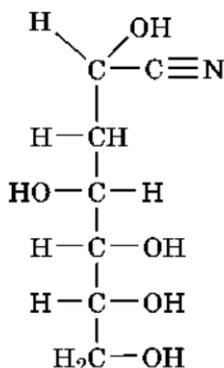
Антибактериальный эффект сульфамидных препаратов также основан на ингибировании активных центров бактериальных ферментов. В частности, для роста и развития многих микроорганизмов необходима фолиевая кислота, в структуре которой имеется парааминобензойная кислота, а подобную структуру имеют сульфаниламиды:



Сульфаниламиды блокируют синтез фолиевой кислоты в микробных клетках и тем самым препятствуют их росту. Аналогично действует по типу конкурентного торможения и группа антибиотиков, проявляя свой бактериостатический эффект.

Примером неконкурентного торможения являются цианистые соединения. Цианиды способны вступать в организме в прочное соединение с  $Fe^{3+}$  активного центра фермента цитохромоксидазы. В результате фермент выпадает из цепи реакций биологического окисления, возникает состояние тканевой гипоксии.

Глюкоза способна обезвреживать цианиды, включая синильную кислоту (HCN); соединяясь с синильной кислотой, глюкоза образует нетоксичное соединение — циангидрин глюкозы:



Циангидрин глюкозы

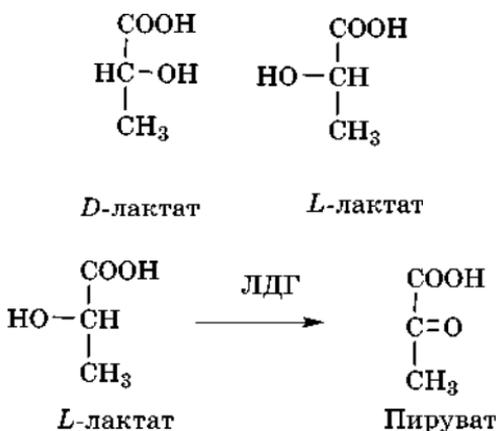
## СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ

Ферменты обладают всеми свойствами, присущими катализаторам: специфичность действия, зависимость от pH и температуры среды, активность в чрезвычайно малых концентрациях. Специфичность ферментов проявляется как способность катализировать определенный тип химической реакции, так и способность взаимодействовать с определенным субстратом или группой субстратов, близких по химическому строению. По признаку специфичности действия ферменты можно разделить на две группы: ферменты, обладающие абсолютной специфичностью, и ферменты, обладающие относительной специфичностью.

Абсолютная специфичность наблюдается в случае, если фермент действует лишь на единственный субстрат и катализирует лишь одно определенное превращение данного вещества. Примером фермента, обладающего абсолютной специфичностью, является фумараза, которая участвует лишь в превращении фумаровой кислоты в яблочную:



К абсолютной специфичности следует отнести и стереохимическую (оптическую) специфичность. В этом случае ферменты способны различать конфигурацию оптических изомеров (*D*- или *L*-форму). Например, лактатдегидрогеназа (ЛДГ) катализирует реакцию окисления только *L*-молочной кислоты:



Большая группа ферментов в организме обладает относительной или групповой специфичностью. Например, различные протеолитические ферменты способны расщеплять пептидные

связи любых полипептидов. Другим примером ферментов с относительной специфичностью является липаза. Этот фермент способен катализировать расщепление любого жира, поскольку относится к эстеразам, катализирующим расщепление сложноэфирных связей различных видов жиров.

Свойство специфичности ферментов широко используется в лабораторной практике для определения концентрации в крови различных веществ. Ферментативные методы определения концентраций веществ в биологических жидкостях являются в настоящее время наиболее точными.

Скорость ферментативной реакции зависит от температуры среды. Оптимальная активность реакции для большинства ферментов наблюдается при температуре тела животного (37–42°C). При повышении температуры до 50°C, согласно закону ускорения химических реакций, увеличивается активность большинства ферментов. Дальнейшее повышение температуры до 80°C приводит к резкому снижению скорости реакции вплоть до полного прекращения. Это объясняется тем, что при высокой температуре наступает тепловая денатурация белка-фермента, который теряет свою активность. При температуре 100°C почти все ферменты полностью денатурируют, теряя свою активность. Однако отдельные ферменты составляют исключение из этого правила; так каталаза активна при 0–10°C, а мышечная миокиназа, чистый пепсин, выдерживают нагревание до 100°C.

При низких температурах (0°C и ниже) ферменты теряют свою активность, но этот феномен остается обратимым. Учет температурного режима и его влияния на активность ферментов строго учитываются, в частности при организации искусственного осеменения животных.

Влияние величины рН на активность ферментов является многосторонним процессом. Большинство ферментов активно лишь в строгом интервале рН.

Следует полагать, что влияние рН на активность ферментов связано с влиянием концентрации водородных ионов в среде на степень ионизации свободных карбоксильных и аминогрупп белка-фермента и ионизацию субстрата. В свою очередь это оказывает влияние на прочность взаимосвязей фермента и субстрата, без чего невозможна реакция, катализируемая фер-

ментами. У сложных ферментов изменение рН сказывается и на степени диссоциации кофермента и апофермента, действующих как единый комплекс. В случае отрыва кофермента от белка наступает инактивация фермента.

Ферменты имеют оптимум рН, при котором их активность является максимальной; при высокой или низкой величине рН активность фермента снижается. Большинство ферментов имеет оптимум рН, близкий к нейтральной среде (рН крови в среднем 7,1–7,4). Однако отдельные ферменты требуют для своей активности других определенных интервалов рН. Например, фермент желудочного сока пепсин активен при рН 1,0–2,5, ферменты поджелудочной железы (трипсин, химотрипсин) активны лишь при рН 7,5–8,0.

Учитывая несомненное влияние рН на активность ферментов, изучение различных иммунобиохимических показателей плазмы (сыворотки) крови выполняют с использованием буферных растворов с заранее заданной величиной рН.

## ИЗОФЕРМЕНТЫ

*Изоферменты* — это ферменты, обладающие одинаковой субстратной специфичностью, но различными физико-химическими свойствами и различной степенью сродства к субстрату и ингибитору, в связи с чем можно выполнить их электрофоретическое разделение. Они катализируют один и тот же тип реакции с одинаковым механизмом, но отличаются друг от друга кинетическими параметрами, связями апофермента и кофермента. Наличие изоферментов чаще всего обусловлено различиями в структуре генов, которые их кодируют. Поэтому изоферменты различаются по первичной структуре белковой молекулы и физико-химическим свойствам.

Более 60 изоферментов изучено в тканях человека. В их числе — лактатдегидрогеназа, гексокиназа, креатинфосфокиназа, холинэстераза, альдолаза, щелочная фосфатаза, малатдегидрогеназа и др.

Изоферменты состоят из одного или разных типов полипептидных субъединиц. Классическим примером является лактатдегидрогеназа (ЛДГ), которая в тканях млекопитающих существует в виде пяти различных изоферментов — ЛДГ<sub>1</sub>, ЛДГ<sub>2</sub>,

ЛДГ<sub>3</sub>, ЛДГ<sub>4</sub>, ЛДГ<sub>5</sub>. Все они являются тетрамерами. Каждый орган (сердечная мышца, скелетная мускулатура, печень, почки) имеет свой изоферментный спектр ЛДГ. ЛДГ<sub>1</sub> и ЛДГ<sub>2</sub> наиболее активны оказываются в сердечной мышце и почках, ЛДГ<sub>4</sub> и ЛДГ<sub>5</sub> — в печени и скелетных мышцах.

Различают: мономер М (мышечный), мономер Н (сердечный). Чистый мышечный тип — тетрамер М<sub>4</sub>, чистый сердечный тип — тетрамер Н<sub>4</sub>, другие три изофермента — гибриды (М<sub>3</sub>Н<sub>1</sub>, М<sub>2</sub>Н<sub>2</sub>, М<sub>1</sub>Н<sub>3</sub>). Молекула ЛДГ имеет четыре активных центра, включающих обязательно по тиоловой группировке, вступающей в связь с пиридиновым коферментом. Синтез мономеров М и Н контролируется двумя разными генами.

Изменения в распределении изоферментов ЛДГ в сыворотке крови свидетельствуют о состоянии органов и тканей организма. Например, повышение активности ЛДГ<sub>1</sub> и ЛДГ<sub>2</sub> может указывать на начало (12–48 ч) развития инфаркта миокарда, увеличение активности ЛДГ<sub>3</sub> и ЛДГ<sub>4</sub> наблюдается в случаях паренхиматозного гепатита. При многих злокачественных опухолях отмечается повышение активности изофермента ЛДГ<sub>5</sub>. Активность ЛДГ может быть также повышена при гемолитической анемии, когда эритроциты распадаются более быстро, чем обычно. Таким образом, выявление уровня активности определенного изофермента способствует диагностике местонахождения патологического процесса в организме животного.

## КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

В настоящее время выяснена роль более 2500 ферментов в животном организме, что потребовало введения их единой международной классификации. Международный биохимический съезд в 1961 г. в Москве утвердил шесть классов ферментов на основе типа химической реакции, которую они катализируют:

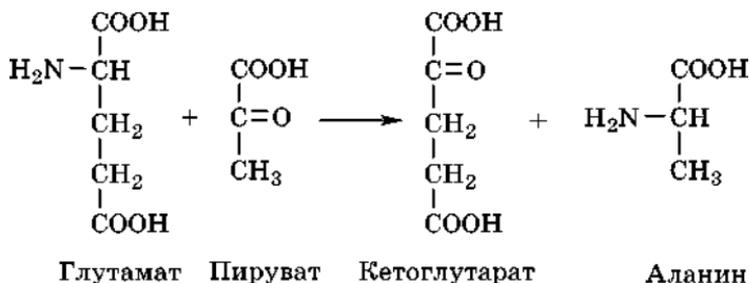
- 1) оксидоредуктазы;
- 2) трансферазы;
- 3) гидролазы;
- 4) лиазы;
- 5) изомеразы;
- 6) лигазы (синтетазы).

**1. Оксидоредуктазы.** Они составляют около 20% от общего числа изученных ферментов. Эти ферменты катализируют обратимые окислительно-восстановительные реакции, осуществляющие перенос восстановительных эквивалентов (двух атомов водорода, электронов) от донора к акцептору. Окисление представляет собой отнятие атома водорода (электронов) от субстрата, тогда как восстановление — это присоединение атомов водорода (электронов) к акцептору. К оксидоредуктазам отнесены: дегидрогеназы, оксидазы, оксигеназы, цитохромы, пероксидазы, каталазы. Например, фермент алкоголь: НАД-дегидрогеназа катализирует реакцию перехода спирта в альдегид:



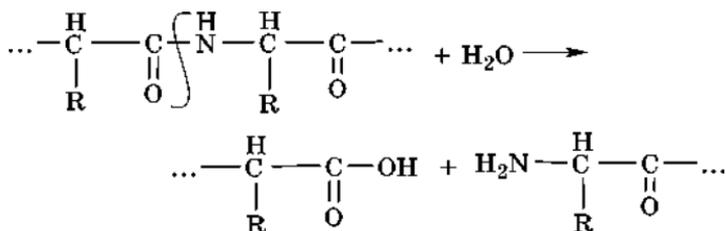
Оксидоредуктазы, переносящие атом водорода или электроны непосредственно на атомы кислорода, называются аэробными дегидрогеназами (оксидазами), тогда как оксидоредуктазы, переносящие атом водорода или электроны на промежуточный продукт, но не на кислород, называются анаэробными дегидрогеназами. Оксидоредуктазы являются двухкомпонентными (сложными) ферментами, у которых один и тот же кофермент может связываться с различными апоферментами. Классическим примером окислительно-восстановительного процесса в клетках является окисление атомов водорода субстрата при участии оксидоредуктаз.

**2. Трансферазы.** Эти ферменты катализируют перенос какой-либо группировки (исключая водород) от одного вещества (донора) на другое (акцептор). Например, фермент аланинаминотрансфераза (КФ 2.6.1.2) осуществляет реакцию трансаминирования:

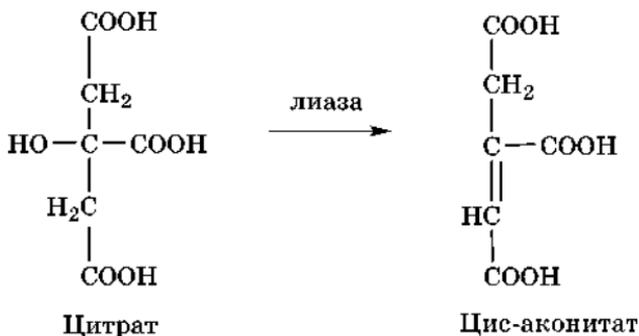


Трансферазы — сложные ферменты, насчитывающие свыше 500 белков, роль кофермента у многих из них выполняет производное витамина пиридоксина (ПФ). Многие трансферазы участвуют в промежуточном обмене веществ, среди них фосфотрансферазы, аминотрансферазы, ацилтрансферазы, метилтрансферазы, формилтрансферазы, гликозилтрансферазы и др.

**3. Гидролазы.** Этот класс ферментов катализирует гидролитическое расщепление субстрата с участием воды (эстеразы, гликозидазы, пептидазы, фосфоэстеразы и др.). Часто реакции этого типа носят необратимый характер. Гидролазы расщепляют молекулы углеводов, жиров, белков, нуклеиновых кислот. К этому классу относятся ферменты пищеварительных соков (амилаза, пепсин, липаза и др.). В частности, уреаза бактерий, осуществляющая гидролиз мочевины до  $\text{CO}_2$  и  $\text{NH}_3$ , явилась одним из первых ферментов, полученных в кристаллическом виде. Лизосомы также содержат десятки различных гидролаз, где они участвуют в реакциях внутриклеточного переваривания. Примером действия гидролаз является реакция расщепления пептидной связи белков:

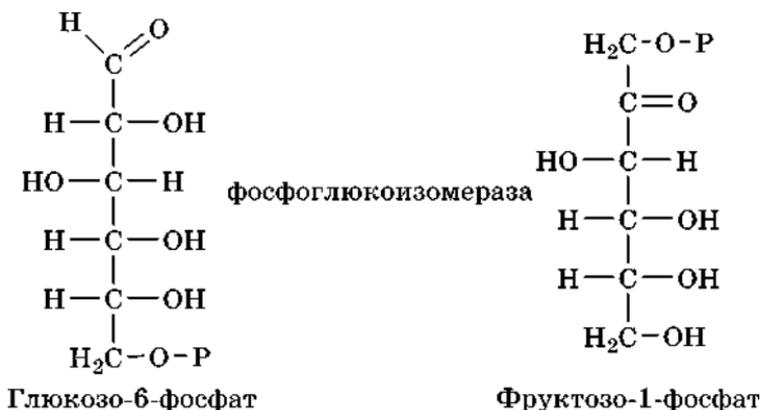


**4. Лиазы.** Ферменты этого класса расщепляют внутримолекулярные связи (углерод — углерод, углерод — кислород, уг-



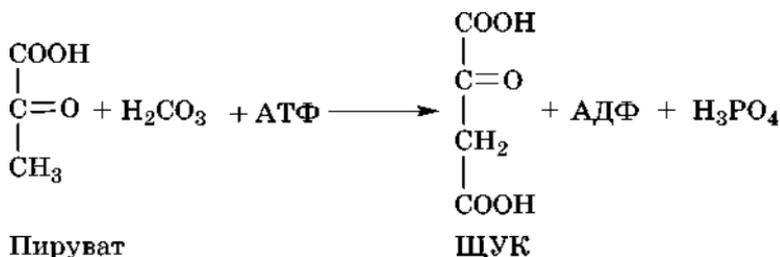
лерод — азот и др.) в молекулах субстратов с удалением  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ , без участия воды, с образованием веществ с двойными связями. Например, цитратдегидратаза (КФ 4.2.1.4) превращает лимонную кислоту в *цис*-аконитовую.

**5. Изомеразы.** Это ферменты, катализирующие реакции внутримолекулярной изомеризации различных типов. Например, фосфоглюкоизомераза осуществляет реакцию превращения глюкозо-6-фосфата во фруктозо-1-фосфат:



Известно, что глюкоза и фруктоза являются обычными изомерами.

**6. Лигазы (синтетазы).** Эти ферменты катализируют реакции синтеза вещества из двух веществ (образование новых связей) с затратой обычно энергии АТФ. Лигазы подразделяются по типу образуемых связей. Например, пируваткарбоксилаза (КФ 6.4.1.1) участвует в реакции карбоксилирования пирувата в щавелево-уксусную кислоту (ЩУК):



## НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТОВ

Номенклатура ферментов не носит строгого характера. Отдельные из них сохраняют тривиальные (древние) названия, например пепсин (от *греч.* *pepto* — варю), папаин (от дынного дерева *Carica papaya*). Наибольшее распространение получила рациональная номенклатура, согласно которой название фермента составляется из названия субстрата и прибавления суффикса «-аза», например, липаза (от *греч.* *lipos* — жир), амилаза (от *греч.* *amylon* — крахмал).

Однако иногда в литературе один и тот же фермент получал два и более названий, или два различных фермента имели одинаковое название. Поэтому возникла необходимость введения Международной классификации и номенклатуры ферментов.

Эта международная номенклатура ферментов широко используется при проведении научно-исследовательской работы в области ферментологии. Согласно этой номенклатуре название фермента составляют из химического названия субстрата и названия той реакции, которая осуществляется этим ферментом. При этом каждый фермент имеет шифр из четырех цифр. Первая цифра обозначает класс фермента, вторая — подкласс (указывает на катализируемую реакцию), третья цифра шифра обозначает подподкласс (например, в случае гидролаз она уточняет природу гидролизуемой связи), четвертая цифра обозначает порядковый номер в пределах подподкласса.

Например, НАД-содержащий фермент алкогольдегидрогеназа имеет шифр КФ 1.1.1.1. Шифр указывает, что это оксидоредуктаза (первая цифра «1»), при этом ее эффект направлен на гидроксильную группу (вторая цифра «1») с использованием НАД в качестве акцептора водорода (третья цифра «1»). Четвертая цифра «1» обозначает порядковый номер данного фермента в подподклассе.

## РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Регуляция активности ферментов является постоянным и необходимым условием для интеграции и регуляции метаболизма. В клеточном метаболизме группы ферментов функционируют совместно последовательными путями, чтобы

завершить определенный метаболический процесс, такой как мультиферментный катаболизм глюкозы или мультиферментный синтез белка из простых предшественников. В таких ферментных системах продукт реакции одного фермента становится субстратом для следующего.

Не существует единого правила для управления различными типами регуляции в различных ферментных системах. Количество фермента может быть изменено за счет увеличения (индукция) или снижения (репрессия) его синтеза или распада. Регуляция активности ферментов включает ковалентную модификацию молекулы белка (присоединение, например, фосфатной группы к полипептидной цепи), взаимопревращения активной и неактивной формы фермента, конкурентное и неконкурентное ингибирование, регрессию генов, аллостерические модуляторы. В частности, фосфорилирование является главенствующим типом регуляторной модификации: 30–50% всех белков клеток эукариотов подвергаются фосфорилированию.

Индукция синтеза белка-фермента может инициироваться субстратом. Субстрат-индуктор связывается с репрессором, полимером белковой природы, оставляя, таким образом, ген-оператор свободным. В этих условиях структурные гены (участки ДНК, определяющие порядок чередования аминокислот в молекуле белка) свободно переносят свою информацию на иРНК, в результате чего скорость синтеза РНК и синтезируемого фермента увеличивается (рис. 5).

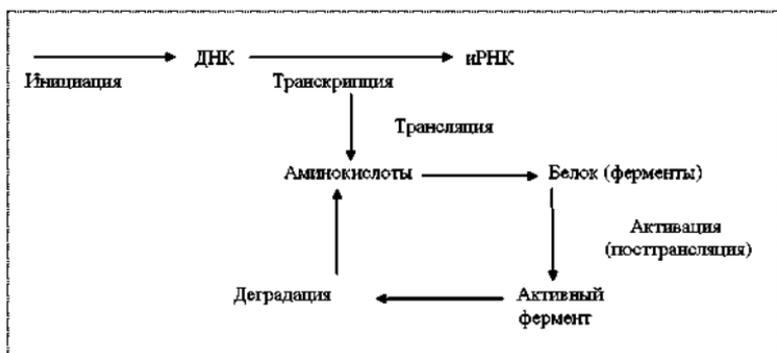


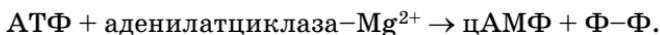
Рис. 5  
Схема биосинтеза и биодеградации фермента

Более быстрой реакцией изменения активности фермента является изменение активности уже существующих молекул фермента. В этом случае конечные продукты ферментативной реакции по принципу обратной связи ингибируют начальные этапы этой реакции, являясь отрицательными эффекторами. Например, фермент пируватдегидрогеназа участвует в превращении пирувата в ацетил-КоА; при этом накопление последнего ингибирует активность фермента.

Главнейшей функцией цикла трикарбоновых кислот является снабжение клетки восстановительными эквивалентами для биосинтеза АТФ. Это достигается за счет АДФ; при снижении концентрации АТФ концентрация АДФ увеличивается и служит сигналом для синтеза АТФ. АДФ регулирует одну из ранних реакций цикла трикарбоновых кислот (изоцитратдегидрогеназа) и способствует повышению ее активности.

Регуляция активности ферментов осуществляется и с участием гормонов. Клетки могут варьировать свою активность за счет повышения или снижения синтеза белков-ферментов. Этот синтез может быть эффективно контролируемым на стадии инициации, транскрипции, трансляции, посттрансляционной модификации и деградации, каждая из которых может быть мишенью действия гормона. Более часто такими мишенями гормонального контроля являются стадии инициации и транскрипции (Devlin T., 1986).

Гормоны следует рассматривать как эффекторы, активизирующие или ингибирующие ферменты. В частности, изучено влияние адреналина, внеклеточного посредника, на реакции гликогенолиза, объясняющее активацию аденилатциклазы, связанной с плазматической мембраной. Активация аденилатциклазы приводит к повышению уровня внутриклеточного циклического аденозинмонофосфата (цАМФ):



В свою очередь цАМФ вызывает увеличение скорости гликогенолиза и понижение скорости гликогенеза за счет непосредственной активации цАМФ — зависимой протеинкиназы. Поэтому цАМФ рассматривается как вторичный посредник, передающий сигнал от гормона, первого посредника, на внут-

риклеточную протеинкиназу. При этом адреналин не проникает в клетку, чтобы оказать метаболический эффект.

Уровень фермента зависит от потребности в нем. Например, при недостатке у крыс молибдена уровень в печени ксантин-дегидрогеназы незначителен, так как этот фермент активен лишь в присутствии молибдена. Также дефицит пиридоксина приводит к снижению синтеза декарбоксилаз аминокислот. В отдельных случаях субстрат может угнетать синтез фермента. Так, глюкоза подавляет синтез пируваткарбоксикиназы — ключевого фермента, необходимого для перевода пирувата в глюкозу.

Изучен феномен синтеза фермента приспособительного характера по отношению к микробной клетке. В частности, пенициллиназа индуцируется у микроорганизмов в ответ на пенициллин, что является причиной образования резистентных патогенов к данному антибиотику.

Продолжительность жизни ферментов зависит от скорости их синтеза и распада. Так, период полураспада таких ферментов печени, как аргиназа и тирозинтрансминаза, составляет пять дней и два часа соответственно.

## ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

Клетка является высокоорганизованной системой, в которой осуществляются строго определенные биохимические процессы. В структурах клетки ферменты распределены гармонично, что обеспечивает строгую координацию их функций. Отдельные клетки организма содержат до тысячи различных ферментов. Установлены различия во внутриклеточной локализации ряда ферментов. Методом дифференциального центрифугирования установлено, что ферменты локализованы неравномерно в цитоплазме, ядре, митохондриях, лизосомах, эндоплазматическом ретикулуме, аппарате Гольджи, пероксисомах.

Так, в цитоплазме сосредоточены ферменты гликолиза, гликогенеза, гликогенолиза, синтеза жирных кислот, катаболизма азотсодержащих оснований, в ядре находятся ферменты синтеза ДНК и РНК. В рибосомальном аппарате клетки сосредоточены ферменты процесса биосинтеза белка. Митохондрии включают

ферменты реакций цикла трикарбоновых кислот, окисления жирных кислот, синтеза мочевины, реакций биологического окисления и сопряженного с ними окислительного фосфорилирования. В лизосомах находят свыше 60 ферментов, обеспечивающих протеолитические функции (гидролазы, щелочная фосфатаза, лизоцим). В эндоплазматическом ретикулуме имеют место НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup>-редуктазы, глюкозо-6-фосфатазы, эстеразы, ферменты синтеза стероидных структур. В аппарате Гольджи — галактозил- и глюкозил-трансфераза, глюкозо-6-фосфатаза, в пероксисомах — урат-оксидаза, каталаза. Эти отдельные строго координированные циклы реакций обеспечивают функции клеток, органов и организма в целом.

Отдельные ферменты имеют преимущественную локализацию в определенных органах. Обнаруживаемая активность ферментов при повреждении клеток обычно стабильна в течение сравнительно длительного времени по сравнению с нормой. Любые повреждения клеток приводят к выходу ферментов в кровь.

Выделяют ферменты из тканей при низких температурах методами, используемыми для выделения других белков. Получил распространение адсорбционный метод и его модификация — аффинная хроматография, метод ионообменной хроматографии, электрофорез и изоэлектрофокусирование. В настоящее время более 1500 ферментов выделено, третья часть их закристаллизована, для нескольких сотен ферментов выяснена первичная, а для нескольких десятков — третичная структура.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Во многих случаях истинное молярное количество фермента неизвестно. Поэтому принято о количестве фермента судить по скорости реакции, которую он катализирует в определенных условиях измерения. Определение активности фермента — это косвенное определение его количества, так как скорость ферментативной реакции пропорциональна концентрации действующего фермента.

По решению Комиссии по ферментам Международного биохимического союза (1961) за международную единицу актив-

ности фермента принимается такое его количество, которое катализирует превращение 1 микромоля субстрата в одну минуту при 30°C (мкмоль/мин). Удельную активность выражают в единицах активности фермента на 1 мг белка или на 1 мг препарата.

Согласно международной системе мер (1972) рекомендована новая международная единица активности фермента — катал. Катал соответствует количеству фермента, способному вызвать превращение 1 моль субстрата в продукт в одну секунду (моль/с).

**Отношение прежней единицы активности фермента к каталу составляет мкмоль/мин — 60 мкмоль/с — 16,67 нмоль/с. Следовательно, единица активности фермента соответствует 16,67 ккат.**

Нормальное функционирование органов и тканей организма является отражением координированного функционирования всех регуляторных систем, включая ферментные. Можно полагать, что изменение активности одного фермента или его отсутствие приводит к нарушению постоянства метаболизма. При любой этиологии болезни, инфекционной или инвазионной, возникают изменения активности ферментных систем, и в этом смысле все болезни рассматриваются как метаболические.

По причине нарушений определенных ферментных систем в организме выявлены многие болезни животных и человека. Так, известны анемии, вызываемые недостатком в эритроцитах пируваткиназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, метгемоглобинредуктазы. Часто патогенез патологического процесса нелегко определить. Чтобы выяснить, какая ферментная система нарушена, следует изучить многие факторы; необходима тканевая биопсия, выбор соответствующих диагностических реакций, активаторов или ингибиторов фермента.

Необходимость определения активности сывороточных ферментов основана на предположении, что изменения их активности отражают изменения, происходящие в определенном органе. Можно выявить в сыворотке ферменты двух типов: один является специфическим для сыворотки, выполняя конкретную роль, тогда как другой тип фермента обычно присутствует в сыворотке в очень низкой концентрации и не несет определенной функции.

При ряде патологий (инсульт) возможны изменения клеточной проницаемости и увеличение числа разрушенных клеток, что приводит к выходу внутриклеточных ферментов в плазму. В этих случаях первыми в плазме обнаруживаются ферменты низкой молекулярной массы.

В диагностике патологии отдельного органа было бы идеально определить активность фермента, характерного для данного органа. Однако это невозможно осуществить, поскольку метаболизм в разных органах протекает одинаково. И все же можно установить тканевые или органоспецифические ферменты, активность которых отражает функцию определенных тканей или органов. Например, повышение активности кислой фосфатазы в крови характеризует наличие опухоли простаты; повышение активности лактатдегидрогеназы и креатинфосфокиназы в сыворотке крови является весьма информативным диагностическим тестом, который отражает повреждение сердечной мышцы. Увеличение активности изоферментов ЛДГ<sub>1</sub> и ЛДГ<sub>2</sub> в сыворотке крови указывает на инфаркт миокарда, повышение активности ЛДГ и аспартатаминотрансферазы свидетельствует о распаде клеточных элементов в костном мозге. Связь между активностью ферментов и патологическим процессом не всегда объяснима, но эти данные, несомненно, имеют большой клинический интерес.

## ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ

С каждым годом ферменты находят все большее применение в народном хозяйстве. Так, ферменты широко используются в клинико-биохимических лабораториях в качестве готовых реактивов для количественного определения в крови различных соединений (глюкозы, холестерина, жира и др.).

Для нужд животноводства и ветеринарии в настоящее время используются около 50 ферментных препаратов. В их числе препараты протеолитического действия (трипсин, химотрипсин, фибринолитические препараты (фибринолизин); препараты деполимеризации нуклеиновых кислот (рибонуклеаза, дезоксирибонуклеаза); коферментные препараты (кокарбоксилаза); препараты, уменьшающие вязкость гиалуроновой кислоты (лидаза); препараты из поджелудочной железы (панкреатин).

Многие годы используется пепсин в сочетании с соляной кислотой при лечении диспепсий и трудно заживающих язв. Протеолитический фермент лизосубтилин успешно используется при лечении желудочно-кишечных болезней молодняка животных. Находит применение и лизоцим при лечении бактериальных инфекций.

Ферментные препараты бактериального и грибного происхождения вошли также в практику кормления животных с целью улучшения переваримости и усвоения питательных веществ рационов. В основном используются ферменты класса гидролаз — амилолитические, протеолитические. В частности, простой ферментной добавкой является пророщенное зерно, содержащее комплекс карбогидролаз, позволяющих частично расщеплять пентозаны и бета-глюканы растительных кормов.

Иммобилизованные ферменты, зафиксированные на нерастворимых в воде структурах (окись алюминия, силикагель, активированный уголь, полисахариды, органические полимеры), используются для производства различных лекарственных препаратов, для синтеза аминокислот, антибиотиков, гормональных препаратов.

Для диагностики инфекционных болезней человека и животных широкое применение находит иммуноферментный метод, позволяющий обнаруживать вирусные и бактериальные антигены, иммуноглобулины, гормоны, пестициды.

## ГЛАВА 3. ВИТАМИНЫ

---

**В**итамины являются необходимыми в минимальных количествах компонентами рационов, которые не синтезируются в организме животного или синтезируются в неадекватных количествах.

Ключевые идеи о необходимости витаминов для организма были высказаны еще в 1880 г. русским врачом Н. И. Луниным (1853–1937) на основе его собственных экспериментов. Поэтому он по праву считается основоположником витаминологии.

В 1912 г. польский ученый К. Функ (1884–1967) впервые получил в кристаллическом виде витамин В<sub>1</sub> и предложил называть жизненно необходимые живому организму структурно неоднородные органические вещества, содержащие амины, витаминами.

*Витамины* — низкомолекулярные органические вещества (<1500 Da), которые, как правило, синтезируются в растениях или в организме животного или человека в недостаточных количествах. Витамины играют важнейшую роль в метаболизме белков, липидов и углеводов, поэтому они обязательно должны поступать в организм с компонентами рациона или за счет микрофлоры желудочно-кишечного тракта животного.

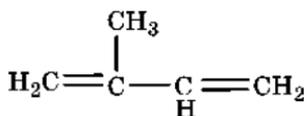
Витамины не связаны в единую группу органических веществ и совершенно различны по физиологическому эффекту. Отдельные витамины, например у жвачных, в достаточной мере синтезируются в желудочно-кишечном тракте, что, однако, не исключает вероятность возникновения у этих животных дефицита этих витаминов при подавлении микрофлоры сульфамидными препаратами или антибиотиками. Витамины не являются

истинными источниками энергии, но без должных их количеств организм не способен эффективно использовать с этой целью углеводы, жиры, белки. Витамины входят в структуру коферментов (например, НАД, ФАД), а также могут обладать каталитическими свойствами и вне структуры кофермента, находясь в свободном состоянии. В настоящее время все известные витамины могут быть получены методом органического синтеза.

Витамины легко разрушаются под влиянием физических (температура, влажность, свет), химических и других факторов внешней среды. Интенсификация промышленного животноводства повышает роль витаминов в кормлении животных. Недостаток витаминов в организме (гиповитаминоз) или полное отсутствие какого-либо витамина (авитаминоз) приводит к глубоким нарушениям обмена веществ. Причинами гиповитаминозов часто являются нарушения процессов всасывания витаминов в пищеварительном тракте животного или их недостаток в кормах. Предрасполагающим фактором дефицита витаминов в организме являются технологии кормления: клеточная система содержания птицы, термическая обработка кормов, снижение в рационах компонентов животного происхождения, введение в корма лекарственных препаратов (сульфаниламиды, нитрофураны), стрессовые ситуации. Возможные случаи гипervитаминозов сопровождаются интоксикациями, параличами, энтеритами, геморрагиями, переломами трубчатых костей. Все выявленные витамины разделены на две группы: жирорастворимые (растворимы в неполярных органических растворителях) и водорастворимые (могут быть экстрагированы из кормов водными растворителями).

## ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

К жирорастворимым витаминам отнесены: витамины А, D, Е, К, синтез которых основан на конденсации изопреноидных единиц:

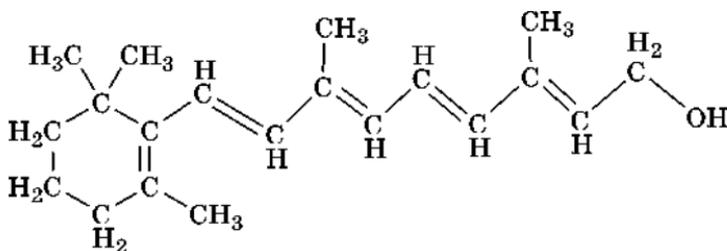


Изопрен

Характерной особенностью группы жирорастворимых витаминов является тот факт, что для их всасывания в пищеварительном тракте необходимо наличие жиров и солей желчных кислот. Эти витамины способны депонироваться в печени в значительных количествах.

### ВИТАМИН А

Различные растения синтезируют многочисленные  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -каротины, из которых  $\beta$ -каротин, желтый пигмент, является наиболее биологически активной формой предшественника витамина А. Впервые каротин был выделен в 1831 г. из моркови, откуда и произошло его название (carrot — морковь). Темно-зеленые и желтые растения являются богатыми источниками каротинов.



Витамин А

Структура витамина А включает иононовое кольцо и боковую цепь в виде конденсата из молекул изопрена и завершающейся спиртовой группой. Наличие двойных связей указывает на чувствительность витамина А к окислению. Поэтому для стабилизации структуры витамина А находят применение различные антиоксиданты. Животные не способны синтезировать каротин и витамин А. Микроорганизмы толстого кишечника скота синтезируют каротиноиды, которые, однако, не усваиваются организмом.

Молекула  $\beta$ -каротина кормов в тонкой кишке, а также в печени при участии фермента каротиназы и молекулярного кислорода распадается на две симметричные молекулы витамина А. Витамин А способен депонироваться в печени в виде сложных эфиров уксусной или пальмитиновой кислоты. Его транспорт кровью осуществляется специальным ретинолсвязывающим белком. Высокий уровень нитратов и нитритов в кор-

мах оказывает негативное влияние на абсорбцию и метаболизм витамина А.

Витамин А (ретинол) находится в тканях организма в форме ретинола, ретиналя и ретиноевой кислоты. Ретинол переходит в ретинол-фосфат, переносчик остатков маннозы и галактозы, необходимых для синтеза гликопротеинов и мукополисахаридов, которые обеспечивают нормальный рост эпителиальных клеток и секрецию слизи покровных оболочек. Это одна из ключевых функций витамина А, которая объясняет его участие в структурной целостности эпителиальных мембран.

Таким образом, витамин А играет определяющую роль в поддержании целостности эпителиальных и слизистых поверхностей, которые составляют первичную неспецифическую защиту организма. Случаи гиповитаминоза А приводят к уменьшению пролиферативной активности, задержке дифференцировки и снижению биосинтетической активности эпителиоцитов. Длительный дефицит витамина А вызывает метаплазию эпителия. Витамин А предупреждает синтез высокомолекулярных форм белка кератина; снижение синтеза слизи вызывает кератинизацию эпителия, что, в свою очередь, снижает устойчивость покровных оболочек, а поврежденные покровные ткани являются входными воротами для многих инфекционных агентов.

Витамин в различных его формах функционирует как гормон. В частности, проявляя свой эффект посредством рецепторов в ядрах клеток, витамин А в форме ретиноевой кислоты регулирует экспрессию генов, обеспечивающих развитие эпителиальных тканей, включая кожу. Поэтому ретинол и ретиноевая кислота рассматриваются как истинные гормоны (Nelson D. L., Cox M. M., 2005).

Витамин А принимает участие в синтезе специфических белков, участвующих в росте, делении клеток, а поэтому гиповитаминоз А сопровождается снижением роста и смертностью эмбрионов. Гиповитаминоз оказывает отрицательный эффект и на структуру, стабильность митохондриальных мембран, что в конечном счете приводит к снижению энергетического обмена за счет нарушения сопряжения между тканевым дыханием и окислительным фосфорилированием и к задержке роста животного. Недостаток витамина А в организме снижает активность биосинтеза стероидных структур надпочечников. Витамин А

связан и с репродуктивной функцией животных. При его недостатке выявляются изменения в строении сперматогенного эпителия, а также уменьшается активность сперматозоидов вследствие недостаточного их энергетического обеспечения, выражающегося в снижении содержания АТФ.

Витамин А в форме ретиналя является пигментом, инициирующим ответ палочек и колбочек сетчатки глаза на свет, обеспечивая передачу нервного сигнала в мозг. Сетчатка глаза имеет фоторецепторы — палочки и колбочки, содержащие тысячи молекул сложного белка родопсина (м.м. — 40 000) или зрительный пурпур.

Свет, проходящий через зрачок, фокусируется на высокоорганизованных светочувствительных нейронах двух типов: палочках (способны улавливать низкие уровни света, но не способны различать цвета) и на колбочках (которые менее чувствительны к свету, но могут различать цвета). Подобно другим нейронам, палочки и колбочки имеют трансмембранный электрический потенциал, производимый  $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -АТФ-азой плазматической мембраны. В темноте клетки палочек содержат достаточный уровень цГМФ, чтобы держать свои каналы открытыми.

В составе родопсина имеется опсин (белок) и ковалентно связанный с ним *цис*-ретиналь. Под влиянием света родопсин распадается на *транс*-ретиналь и опсин. *Транс*-ретиналь (альдегид) под действием НАДН восстанавливается в *транс*-ретинол (спирт). Эта изомеризация является актом процесса зрительного возбуждения, необходимого для генерации нервного импульса. Возможный при этом недостаток ретиналя приводит к снижению активности фоторецепторов: животное теряет способность видеть в вечернее время (куриная слепота). Человек не может синтезировать ретиналь из простых предшественников и должен получать его с пищей в форме витамина А.

Одним из признаков недостаточности витамина А в организме является прекращение роста костей. Первые признаки А-гиповитаминоза у животных отмечаются в форме сухости роговой оболочки глаза — ксерофтальмия (*греч.* *xerōs* — сухой, *ophthalmos* — глаз), как следствие закупорки слезного канала в результате ороговения эпителия с последующим развитием воспаления конъюнктивы. Развитию гиповитаминоза способствует недостаток белков в рационе: это связано с тем, что в крови

животного витамин А находится в комплексе со специфическим белком, транспортирующим его во все органы и ткани.

Снижение прироста животного не является специфическим признаком недостатка витамина А, тогда как наличие уратов в почечных канальцах, кератинизация эпителиальных тканей и атаксия являются более достоверными признаками, свидетельствующими о дефиците данного витамина. Большие количества витамина А в рационе токсичны для организма, что выражается в нарушении структуры костей, приводящем к переломам.

Витамин А является одним из наиболее нестабильных витаминов. Поэтому многие исследователи рекомендуют вводить его в рационы в количествах, превышающих истинную потребность в нем организма (что не всегда желательно по причине возможных гипервитаминозов), или использовать совместное введение антиоксидантов витамина. В больших концентрациях витамин А находится в печени морских рыб, рыбьем жире, желтке яиц, масле, молоке.

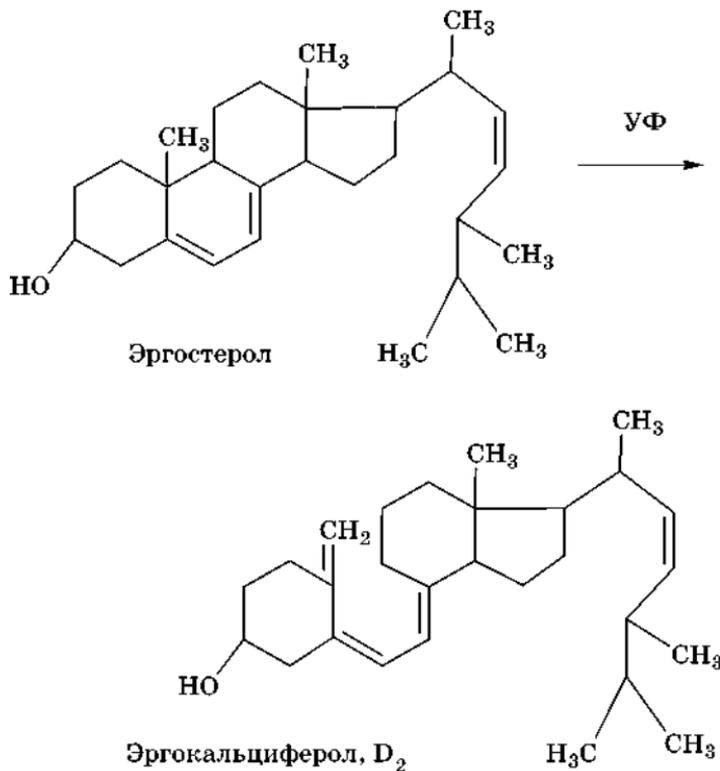
В ветеринарной практике часто о содержании витамина А в организме животного косвенно судят по определению концентрации каротина в сыворотке крови. Норма каротина в сыворотке крови крупного рогатого скота составляет 1,5–2,5 мг%. В летний период при наличии в рационе зеленых кормов уровень каротина в сыворотке крови жвачных является максимальным. Концентрация каротина в крови овец, лошадей и свиней, а также у телят до трехмесячного возраста незначительна. Следовательно, определение каротина у этих животных не дает представления о степени насыщенности организма витамином А. Это объясняется как полным превращением каротина в витамин А (свиньи), так и неспособностью организма усваивать его из корма (телята). Плотоядные животные вообще почти не используют каротин. Наиболее объективное представление о степени обеспеченности организма витамином А дает определение концентрации этого витамина в крови. Нормальными величинами уровня витамина А (мкг%) в крови являются: для крупного рогатого скота — 40–150, овец — 20–45, свиней 10–35, кур — 5–100.

Потребность животных в витамине А выражают в международных единицах (ИЕ): 1 ИЕ витамина А — 0,3 мкг витаминной активности кристаллического витамина А (ретинола) или 0,6 мкг β-каротина.

За последние годы бета-каротин зарекомендовал себя эффективным антиоксидантом в снижении риска развития новообразований, индуцированных радикалами кислорода. Животные с признаками А-гиповитаминоза более чувствительны к инфекционным болезням.

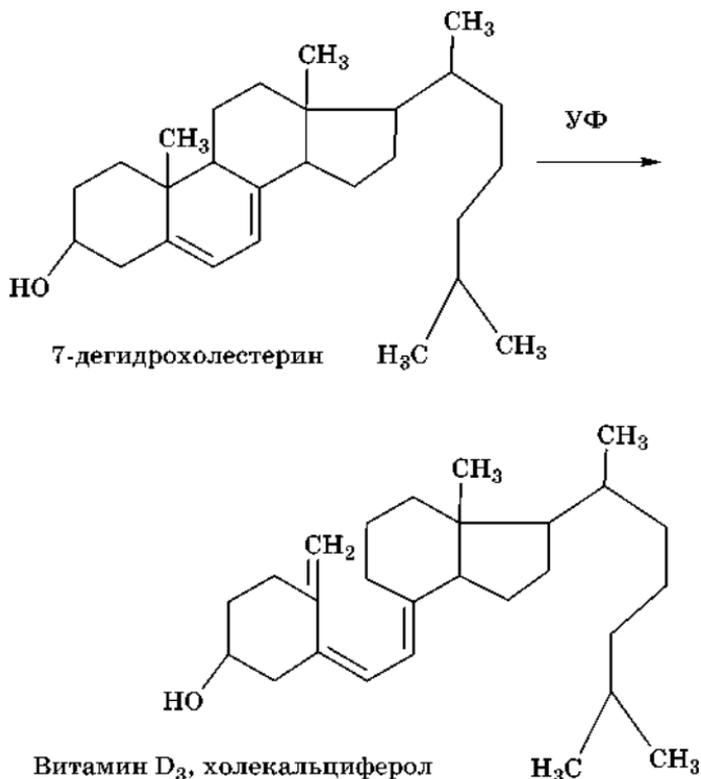
### ВИТАМИН D

Витамин D (кальциферол, кальцитриол, антирахитический) находится в природе в виде предшественников стероидной структуры. Биологически активными являются витамины D<sub>2</sub> и D<sub>3</sub>. В частности, предшественник витамина D<sub>2</sub> (растительный стерол-эргостерол) под влиянием ультрафиолетовых лучей (УФ) способен трансформироваться в активный витамин D<sub>2</sub>. Витамин D<sub>2</sub> — коммерческий продукт, получаемый УФ-облучением эргостерола дрожжей.



Витамин D<sub>2</sub> в сравнительно больших количествах находится в пекарских дрожжах, масле, молоке.

Другой стероид — 7-дегидрохолестерол, находящийся в коже животного, под влиянием ультрафиолетового облучения из предшественника трансформируется в витамин D<sub>3</sub> (холекальциферол).



Образовавшийся в коже или поступивший с кормами витамин D<sub>3</sub> поступает в печень, где превращается с участием НАДН и O<sub>2</sub> в реакции гидроксирования в 25-гидроксихолекальциферол (основная циркулирующая форма витамина D). Поступая затем в почки, 25-гидроксихолекальциферол вновь подвергается гидроксированию, превращаясь в 1,25-дигидроксихолекальциферол (1,25(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>), который и является наиболее активной формой витамина D.

По механизму действия витамин D проявляет свой эффект как типичный стероидный гормон (кальцитриол), регулируя экспрессию гена для индукции синтеза иРНК, необходимой для синтеза Са-связывающего белка — переносчика  $\text{Ca}^{++}$  через слизистую оболочку тонкой кишки. Этот метаболит способствует также выходу депонированного кальция в костях. Поэтому основной эффект действия витамина D состоит в обеспечении транспорта Са и Р из кишечника через мембраны эпителия. Дополнительно витамин D способствует реабсорбции Са и Р в почечных канальцах, уменьшая их выведение с мочой.

Недостаточное поступление кальция и фосфора из кишечника приводит к нарушению минерализации органического матрикса кости, представленного в основном белком коллагеном. Поэтому понятно, что недостаточная обеспеченность организма витамином D проявляется в первую очередь снижением концентрации кальция и фосфора в крови. Витамин D и паратгормон оказывают синергический эффект на костную ткань. При должном уровне витамина D и кальция в корме потери кальция из костной ткани не происходит. Однако в случаях низкого содержания кальция в кормах витамин D и паратгормон вызывают деминерализацию костей для поддержания должного уровня кальция в крови.

Большинство случаев дефицита витамина D в организме являются результатом отсутствия ультрафиолетового облучения животных, недостаточного всасывания жиров и производных холестерина или патологии печени и почек. Хронический недостаток витамина D в организме молодняка вызывает нарушения нормальной структуры кости, что приводит к искривлению позвоночника и конечностей (рахит). У взрослых животных это состояние получило название остеомаляции.

У поросят при гиповитаминозе D вначале появляются нервные расстройства, снижение аппетита, у овец отмечают замедление роста шерсти, ухудшение ее качества.

При гиповитаминозе у птиц развивается остеоидистрофия. При недостатке витамина D яйца кур-несушек в первое время имеют тонкую скорлупу, а затем отмечают снижение продукции яиц и большой их процент без скорлупы. Обычно эмбрионы яиц погибают на 18–19-е сутки инкубации с признаками нарушений развития клюва. Если влияние витамина D на со-

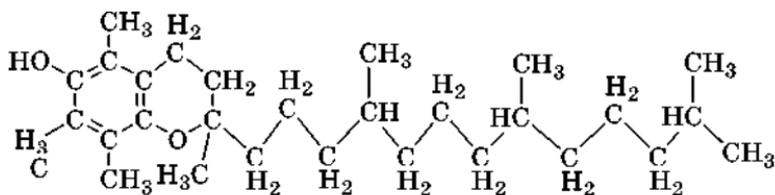
стояние костной ткани изучено достаточно хорошо, то еще не выяснены ферментативные реакции общего метаболизма витамина. Избыток витамина D токсичен для организма; при этом отмечают деминерализацию костей с повышением концентрации в крови кальция и фосфора. Косвенно недостаток витамина D в организме животного оценивают по повышению концентрации пирувата и снижению уровня лимонной кислоты в крови.

Избыток витамина D в организме может привести к гипервитаминозу D, который характеризуется избыточным отложением солей кальция в различных тканях и остеопорозом с частыми переломами костей.

Потребность организма в витамине D выражают в международных единицах (ИЕ). Одна ИЕ витамина D равна 0,025 мкг витамина D. В частности, в 1 мл жира палтуса содержится до 60 тыс. ИЕ витамина A и 25 тыс. ИЕ витамина D. Поэтому рыбий жир широко используется в медицинской и ветеринарной практике для профилактики нарушений обменов Ca и P. Рекомендуемая норма витамина D для человека составляет 400 ИЕ независимо от возраста (Stryer L., 1995).

### ВИТАМИН E

Витамин E — токоферол (от *греч.* *tocos* — плод, *phero* — несу), витамин размножения, антистерильный. Гетероциклическая структура токоферола представлена кольчатой группировкой (хроман) и производного спирта фитола. В природе существует несколько различных токоферолов. Среди них более активный —  $\alpha$ -токоферол или 5,7,8-триметил-токол:



Витамин E ( $\alpha$ -токоферол)

Витамин E содержится во всех зеленых кормовых растениях, его синтез также происходит за счет микрофлоры пищеварительного тракта. Кишечная абсорбция витамина E активна

при участии желчи и сока поджелудочной железы. Витамин депонируется в печени, жировой ткани, мышцах, селезенке.

Витамин Е выступает в организме как антиоксидант, защищающий непредельные жирные кислоты мембран клеток от окисления. Взаимодействуя с непредельными жирными кислотами фосфолипидов, витамин Е способствует упрочению мембран клеток, поддерживает структуры мембран митохондрий. Важнейшим свойством витамина Е является его способность легко вступать во взаимодействие со свободными пероксильными радикалами липидов, инактивируя последние. Образующиеся при этом радикалы токоферола более стабильны за счет своей химической структуры. Эта особенность витамина Е определяет в определенной мере его антиоксидантные свойства служить «ловушкой» свободных радикалов и тормозить свободнорадикальные процессы.

При недостатке витамина Е ненасыщенные жирные кислоты окисляются с образованием перекисей, что приводит к нарушению мембран лизосом с выходом гидролаз. Под влиянием этих гидролаз происходит разрушение мышечных волокон; это подтверждается усилением выделения креатина с мочей. При такой ситуации развиваются признаки мышечной дистрофии с глубокими структурными нарушениями скелетной мускулатуры и миокарда с обесцвечиванием ткани (беломышечная болезнь). Эта болезнь имеет место среди ягнят и телят в возрасте от нескольких дней до трех месяцев.

Роль витамина Е в поддержании нормальной структуры и функции мембран клеток подтверждается тем, что при авитаминозе наблюдают развитие гемолитической анемии. Поэтому устойчивость эритроцитов используется в качестве теста для суждения о степени насыщенности организма витамином Е.

Витамин Е проявляет влияние на синтез цитохромов. Недостаток витамина Е снижает их уровень, что связано с прямой потребностью в нем структур типа гема. Структура гема также входит в состав молекул гемоглобина, миоглобина. Отсюда очевидна роль витамина Е в синтезе транспортеров кислорода.

Известны антиокислительные свойства витамина Е. В частности, он предохраняет витамин А, каротин и каротиноиды от окисления различными окислителями, включая кислород и витамин С. Структура витамина Е имеет некоторое сходство с

коэнзимом Q, что позволяет предполагать его участие в процессе биологического окисления. Возможно, что витамин E выполняет роль коэнзима Q или является транспортером электронов на этот коэнзим.

В предохранении мембран клеток от повреждений наряду с витамином E участвует и селен. Так, глутатионпероксидаза, селенсодержащий фермент, разрушает гидроперекиси жирных кислот клеток (линолевой, линоленовой), нуклеиновых кислот, превращая их в малотоксические вещества. Благодаря этому ферменту, клеточные мембраны и другие легко окисляющиеся компоненты клетки предохраняются от повреждения. Это свидетельствует о наличии эффекта синергизма между витамином E и селеном.

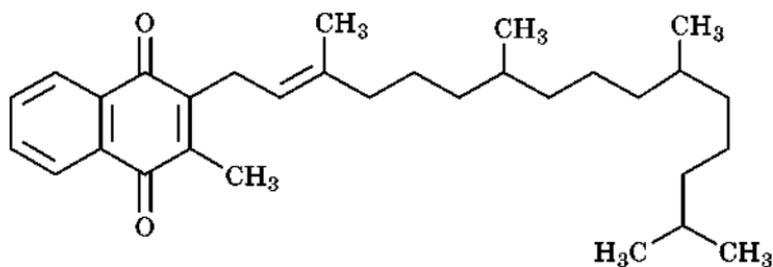
У различных видов животных гиповитаминозы E проявляются по-разному. У ягнят наблюдается развитие мышечной дистрофии, так как овцематки с молоком не передают им витамин E. У телят недостаток витамина проявляется совместно с недостатком селена, что приводит к дегенерации мышц. Недостаточность витамина E у птиц может проявляться в виде энцефаломалации, экссудативного диатеза, мышечной дистрофии. Обычно при недостатке витамина E продукция яиц не нарушена, но выводимость цыплят из этих яиц значительно снижена; высокую смертность эмбрионов отмечают уже в первые четыре дня инкубации яиц. У коров недостаток витамина E вызывает нарушения эмбриогенеза с дегенеративными изменениями репродуктивных органов, что приводит к стерильности, скрытым абортam. В силу благоприятного влияния на половую функцию и на течение беременности витамин E получил название витамина воспроизводства. Витамин E — наименее токсичный из всех витаминов жирорастворимой группы. У коров недостаточность витамина E вызывает нарушение эмбриогенеза с дегенеративными изменениями репродуктивных органов, что приводит к стерильности.

### **ВИТАМИН К**

Витамин K, антигеморрагический, филлохинон (K<sub>1</sub>). Группа витаминов K включает несколько производных структур нафтохинона с боковыми цепями в виде изопреновых звеньев. В природе различают витамины K<sub>1</sub> и K<sub>2</sub>. Наибольшей биологической

активностью обладает витамин  $K_1$ . Он активно синтезируется в зеленых растениях (в частности, в люцерне, крапиве). Его синтез имеет место в пищеварительном тракте травоядных за счет микрофлоры. В кишечнике витамин  $K_1$  под влиянием ферментов микрофлоры трансформируется в витамин  $K_2$  (менахинон).

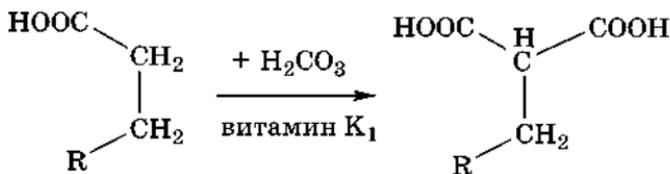
Всасывание витамина К происходит в тонкой кишке при участии желчных кислот с последующим депонированием в клетках печени, миокарда, селезенки. Вероятно, можно ожидать случаев гиповитаминозов К у птиц при их клеточном содержании. Возможен недостаток витамина К у животных в случаях добавок в корма кокцидиостатиков, сульфаниламидов, при наличии в кормах дикумарола — антивитамина К.



Витамин  $K_1$

Витамин К не проходит плацентарный барьер, а новорожденные (ягнята, телята) еще не имеют активной микрофлоры желудочно-кишечного тракта. Поэтому молоко их матерей не является для новорожденных должным источником витамина К.

Витамин К участвует в механизме свертывания крови. Он является активатором протромбина (фактор II), проконвертина (фактор VII), факторов IX и X, синтезируемых в неактивной форме. При этом витамин К необходим для перехода протромбина в активную форму. Это превращение связано с карбоксилированием глутаминовой кислоты молекулы протромбина в  $\gamma$ -карбоксиглутаминовую кислоту. Как видно, витамин К-зависимая реакция карбоксилирования превращает глутаминовую кислоту протромбина в сильный комплексон кальция —  $\gamma$ -карбоксиглутаминовую кислоту:



Неактивная форма  
протромбина

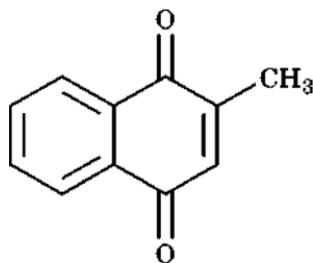
Активная форма  
протромбина

$\gamma$ -Карбоксиглутаминовая кислота является анионом при физиологическом значении pH и выполняет функцию связи  $\text{Ca}^{2+}$  с белком кровяного сгустка. Комплекс протромбина и кальция фиксируется с фосфолипидами мембран тромбоцитов, что обеспечивает дальнейшее превращение фибриногена в фибрин. Поскольку протромбин является участником механизма свертывания крови, то дефицит витамина К приводит к значительному удлинению времени образования сгустка крови и, как следствие, к кровотечению (геморрагии). Отсюда и второе название витамина К — антигеморрагический.

Недостаток витамина К в кормах или нарушение его абсорбции в кишечнике приводят к множественным мелким кровоизлияниям в органах и тканях птиц, к смертности эмбрионов птиц при инкубации яиц. Такие цыплята склонны к кровоизлияниям при физических нагрузках, например при взмахах крыльев.

Классическим антивитамином витамина К является дикumarол загнивающего клевера, который в организме угнетает синтез протромбина и проконвертина (7-го фактора механизма свертывания крови), что приводит к появлению кровоизлияний. Этот эффект проявляют в организме животного также салициловая кислота и зоокумарин — препарат, используемый для борьбы с грызунами.

Синтетическим путем получен витамин  $\text{K}_3$  (викасол) — бисульфидное производное нафтохинона, аналог витамина К, который оказался активным и без боковой цепи.



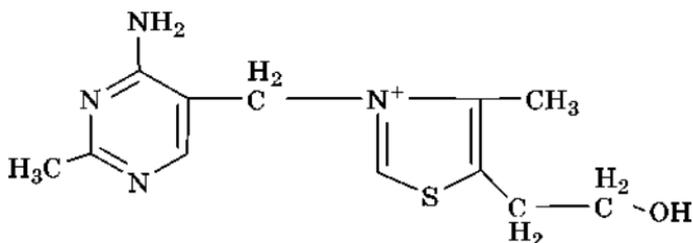
Витамин  $\text{K}_3$

## ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

Особенностью этих витаминов является то, что они не депонируются в тканях животного и их поступление с кормами должно быть постоянным. За исключением витамина С, все витамины этой группы являются коферментами сложных ферментов, хорошо растворимы в воде и неустойчивы к изменениям рН среды. Коферменты могут также действовать как переносчики специфических функциональных групп, таких как метильная группа и ацилы. Механизм действия витаминов водорастворимой группы представляется более понятным, чем таковой жирорастворимой группы.

### ВИТАМИН В<sub>1</sub>

Витамин В<sub>1</sub> (тиамин, аневрин), впервые выделенный из рисовых отрубей К. Функом в 1911 г., в своей структуре содержит пиридиновый и тиазоловый гетероциклы, связанные метиленовым мостиком, и остаток этанола:



Витамин В<sub>1</sub>

Тиамин нестоек к нагреванию в щелочной среде, при рН = 9 он полностью разрушается за 5 мин. В кислой среде витамин В<sub>1</sub> устойчив при кипячении. Зеленая трава, фуражное зерно, пекарские дрожжи являются хорошими источниками витамина В<sub>1</sub>. Активный синтез тиамин микрофлорой происходит в рубце жвачных. Абсорбция тиамин имеет место в тонкой кишке, откуда он поступает в различные органы и ткани организма.

Биологическая функция тиамин связана в первую очередь с его коферментной функцией. В форме тиаминпирофосфата (ТПФ) тиамин находится в составе более чем 30 различных фер-

ментов. В форме кофермента он обеспечивает течение ключевых реакций углеводного обмена в печени и ткани мозга.

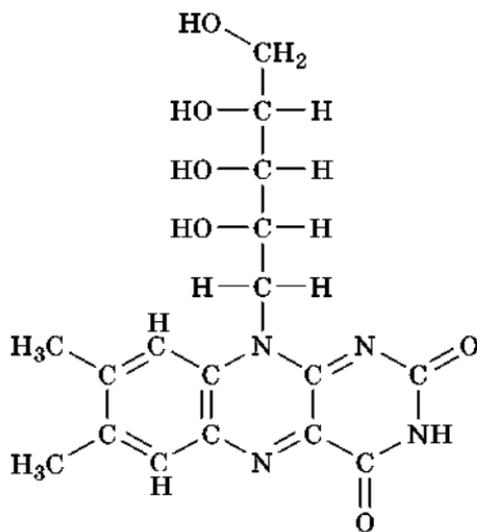
Так, тиамин в составе ферментативной системы осуществляет окислительное декарбоксилирование кетокислот — пировиноградной и  $\alpha$ -кетоглутаровой. Поэтому дефицит тиамин в составе пируват-дегидрогеназного комплекса, содержащего ТПФ в качестве кофермента, приводит к накоплению пирувата в организме и его отрицательному влиянию на нервную ткань, функции головного мозга. При этом повышение пирувата в крови животного особенно заметно после приема глюкозы. В этом случае определение концентрации пирувата в крови может служить объективным показателем обеспеченности организма животного тиамином.

Недостаток тиамин в организме не позволяет полностью использовать глюкозу мозговой тканью, тогда как известно, что именно нервная система получает энергию исключительно за счет окисления углеводов. В результате дефицита тиамин развиваются параличи и парезы (болезнь бери-бери у человека, от сингалезского слова «бери» — не могу). У цыплят дефицит тиамин вызывает признаки патологии уже спустя две недели: полиневриты, анорексия. Поэтому тиамин называют также антиневрическим. У крупного рогатого скота гиповитаминоз  $B_1$  характеризуется развитием коматозного состояния, потерей аппетита, энцефалопатией; у свиней — судороги, нервные явления.

Тиамин в форме ТПФ входит также в состав фермента транскетолазы, катализирующего переход рибулозо-5-фосфата в рибозо-5-фосфат в пентозном превращении гексоз. Торможение пентозного пути приводит к снижению уровня НАДФН +  $H^+$ , необходимого для синтеза жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов. Поэтому определение активности транскетолазы эритроцитов используется в практике выяснения статуса тиамин в организме. ТПФ локализуется также в мембранах периферических нервов и, вероятно, требуется для синтеза ацетилхолина. Тиаминаз — фермент, катализирующий тиамин, находится в сравнительно большом количестве в свежей морской рыбе. Поэтому возможно ожидать развитие авитаминоза  $B_1$  у пушных зверей при длительном скармливании им мяса рыб. 1 МЕ витамина  $B_1$  равна 3 г кристаллического витамина. Суточная потребность тиамин кошки 0,2 мг на голову, собаки — 0,02 мг/кг живой массы.

## ВИТАМИН В<sub>2</sub>

Химическая структура витамина В<sub>2</sub> (рибофлавин) представляет собой комплекс диметил-изоаллоксазинового гетероцикла и спирта рибитола:



Витамин В<sub>2</sub>

Флавины имеют характерный ярко-желтый цвет и поэтому для названия витамина взято латинское слово flavus — желтый. Структура рибофлавина сравнительно термостабильна, она устойчива в кислой среде при 120°C, но легко разрушается в нейтральной и щелочной среде, а также при УФ-облучении. Зеленоватый цвет альбумина куриного яйца связан с наличием в нем рибофлавина.

Синтез рибофлавина активно происходит в зеленых растениях. В значительных количествах он присутствует в зерновых продуктах, однако в корнеклубнеплодах практически отсутствует. Богаты витамином мясокостная и рыбная мука, кормовые дрожжи, молоко. Частично потребность в витамине обеспечивается за счет его синтеза микрофлорой в желудочно-кишечном тракте животных. Поэтому дефициты рибофлавина среди домашних животных являются редкими. После абсорб-

ции витамина В<sub>2</sub> в тонкой кишке он фосфорилируется в различных тканях, формируя два кофермента — флавиномононуклеотид (ФМН) и флавинадениндинуклеотид (ФАД), которые играют центральную роль в окислительно-восстановительных реакциях.

Флавиновые коферменты имеют место в реакциях переноса одного и двух электронов в биологических системах с участием НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup>, хинонов, цитохромов.

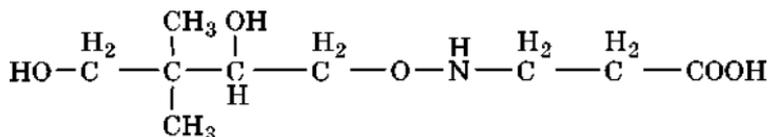
В организме животных выявлено более 60 различных флавиновых ферментов. Отдельные из них способны передавать водород другим акцепторам системы биологического окисления, например коэнзиму Q или непосредственно кислороду с образованием перекиси водорода. Примером такого фермента является ксантиноксидаза, окисляющая ксантин в мочевую кислоту при катаболизме пуриновых оснований. В тканях имеется и необычный акцептор электронов, когда донором является флавиновый фермент, а акцептором НАД, хотя в классической цепи биологического окисления имеет место обратная передача от НАД к ФАД. Примером является участие НАД и ФАД в комплексе, осуществляющем окислительное декарбоксилирование пирувата и α-кетоглутаровой кислоты в обмене углеводов. Все это указывает на участие витамина В<sub>2</sub> в энергетике клетки.

Снижение энергетического обмена отражается на продуктивности животных при уменьшении скорости роста. У млекопитающих развиваются дерматиты, у птиц выражена слабость ног, скручивание пальцев. Часто цыплята передвигаются на скакательных суставах без опоры на пальцы ног. Как правило, отмечается высокая смертность эмбрионов куриных яиц на вторую неделю инкубации.

Витамин В<sub>2</sub> занимает важное место в стабилизации функций зрения. Признаки авитаминоза у млекопитающих — конъюнктивиты, кератиты, анемия. Суточная потребность человека составляет около 2 мг витамина В<sub>2</sub>.

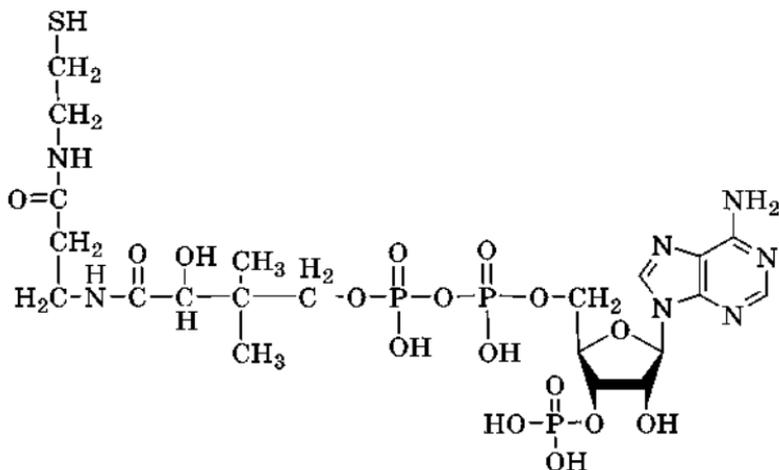
### **ВИТАМИН В<sub>3</sub>**

Витамин В<sub>3</sub>, пантотеновая кислота (от *греч.* *pantothea* — всюду находящийся), в своей структуре представлен β-аланином и производным масляной кислоты:



Витамин В<sub>3</sub>

Витамин В<sub>3</sub> широко представлен в природе, его синтезируют различные растения: горох, капуста, овес, гречиха. Сравнительно много витамина находят в зерновых кормах, жмыхах, шротах, печени, дрожжах. Известно около 70 ферментных систем, где используются сложные коферментные комплексы, такие как кофермент А (HS-кофермент А), ацилпереносящий белок (АПБ), содержащие в своей структуре витамин В<sub>3</sub>. Кофермент А необходим для перевода жирных кислот и аминокислот в активное состояние (ацилы-КоА и аминоацилы). АПБ необходим в реакциях синтеза жирных кислот. Поэтому вправе считать, что витамин В<sub>3</sub> является незаменимым фактором в метаболизме жиров, белков и углеводов.



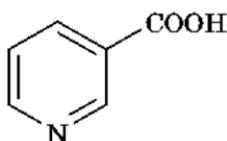
Структура-HS-КоА

Гиповитаминоз В<sub>3</sub> приводит к карликовой болезни у цыплят. При недостатке этого витамина в рационе продукция яиц у кур-несушек может быть не нарушена, однако цыплята, полученные из яиц этих кур, рождаются слабыми и погибают.

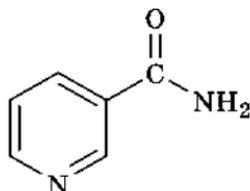
Дефицит витамина  $B_3$  у млекопитающих приводит к поражению кожных покровов, выпадению волос, исхуданию, поражениям нервной системы. У человека суточная потребность витамина  $B_3$  составляет около 5–7 мг.

### ВИТАМИН $B_3$

Витамин  $B_3$ , ниацин, никотиновая кислота, никотинамид, витамин PP, антипеллагрический. Витамин  $B_3$  в организме представлен двумя пиридиновыми производными — никотиновой кислотой и ее амидом:



Никотиновая кислота



Никотинамид

Структура ниацина устойчива при 120°C в течение двух часов. Ниацин синтезируется в зеленых растениях. Его активно синтезирует микрофлора желудочно-кишечного тракта. Биологическая роль ниацина связана с его коферментными функциями. Никотинамид (НАД) является коферментом дегидрогеназ-окислительных ферментов, принимающих участие во многих окислительно-восстановительных реакциях. Поэтому недостаток витамина  $B_3$  приводит к нарушению окисления субстратов, обеспечивающих выход энергии для организма. Кофермент НАДФН<sup>+</sup> является восстановителем в анаболических реакциях. К этим реакциям относятся, например, синтез жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов.

Витамин  $B_3$  известен также под названием антипеллагрического витамина (PP — preven tive pellagra). Пеллагра (от *grec. pella agre* — шершавая кожа) характеризуется развитием дерматитов, диареи, деменции. Однако трудно объяснить эти признаки авитаминоза. Недостаток витамина  $B_3$  вызывает у собак и цыплят появление синдрома «черный язык», воспаление слизистой языка и ротовой полости, что также наблюдается у собак. По сравнению с цыплятами утята, индюшата и гусята

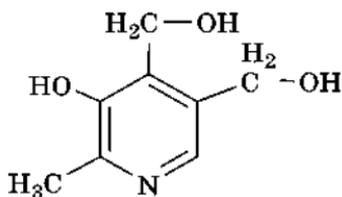
имеют большую потребность в этом витамине. Недостаток ниацина у этих видов птиц может вызвать слабость ног, поражения суставов. У свиней отмечают гастроэнтериты.

Интересно, что в организме человека и многих животных ниацин может быть синтезирован из аминокислоты триптофана (из 60 мг триптофана выход ниацина составляет 1 мг). Следовательно, ниацин не является абсолютно необходимым в рационе. Гиповитаминоз В<sub>5</sub> может возникнуть при отсутствии в рационе зеленых кормов, при длительном кормлении животных кукурузой, содержащей витамин В<sub>5</sub> в неусвояемой форме.

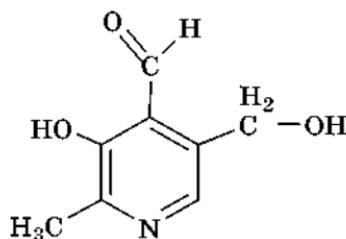
Отметим, что никотиновая кислота структурно связана с никотином, высокотоксичным алкалоидом табака.

### ВИТАМИН В<sub>6</sub>

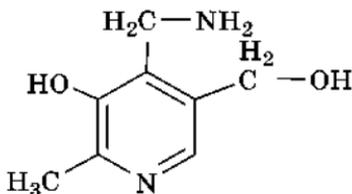
Витамин В<sub>6</sub>, пиридоксин, включает три натуральных формы — производные пиридина:



Пиридоксол



Пиридоксаль



Пиридоксамин

Структура витамина В<sub>6</sub> устойчива к действию кислот и щелочей, но чувствительна к свету. Потребность животных в ви-

тамине полностью удовлетворяется за счет потребления растительных кормов и синтеза микрофлорой в желудочно-кишечном тракте.

Биологически активная форма витамина В<sub>6</sub> — пиридоксаль-5-фосфат, являющийся коферментом ряда сложных ферментов, таких как трансаминазы, декарбоксилазы. Следует сказать, что механизм реакции трансаминирования впервые был изучен отечественными учеными-биохимиками А. Е. Браунштейном и М. Г. Крицман в 1937 г. Реакции переаминирования в организме обеспечивают синтез заменимых аминокислот.

Пиридоксальфосфат необходим для синтеза гема на стадии синтеза аминолевулиновой кислоты. Поэтому при недостатке витамина В<sub>6</sub> следует ожидать наличия развития анемии. Пиридоксальфосфат как кофермент нужен для окисления триптофана. Тест определения триптофана в крови является одним из чувствительных индикаторов статуса витамина В<sub>6</sub> в организме. Наконец, пиридоксальфосфат выступает в роли кофермента фосфорилаз, расщепляющих молекулы гликогена:



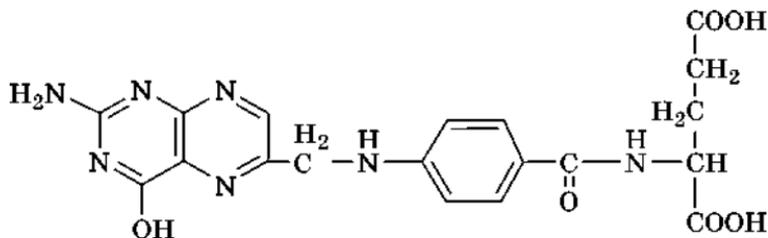
Витамин В<sub>6</sub> необходим и для синтеза нейромедиаторов — адреналина, норадреналина, серотонина, сфинголипидов. Это объясняет раздражимость, нервозность и депрессию животного при средней степени дефицита витамина В<sub>6</sub> и периферическую нейропатию, конвульсии при выраженном дефиците витамина.

Авитаминоз В<sub>6</sub> у кур-несушек характеризуется быстрым снижением массы тела. У цыплят развиваются неврологические симптомы, которые включают повышенное возбуждение, неконтролируемые движения, сопровождающиеся конвульсиями, в течение которых птицы ложатся на спину и начинают быстро грести ногами, взмахивают крыльями или вращаются на шее. Часто возникают конвульсивные движения головы вверх и вниз. Эти признаки могут завершиться смертью птицы.

Сравнительно много витамина В<sub>6</sub> находится в мясе, овощах, зерне, желтке яиц кур. В практике ветеринарии широко используется препарат пиридоксин гидрохлорид. Суточная потребность человека в витамине В<sub>6</sub> равна 2 мг, для кошки — 0,2 мг на голову, для собаки — 0,02 мг на кг массы тела.

## ВИТАМИН В<sub>С</sub>

Витамин В<sub>С</sub>, витамин В<sub>9</sub>, фолиевая кислота, фолацин, антианемический. Представляет собой комплекс, содержащий производное птеридина, *p*-аминобензойной кислоты и глутаминовой кислоты:



Фолиевая кислота

Название витамина происходит от латинского слова *folium* — лист. Второе название — витамин В<sub>С</sub> — взято от английского слова *chicken* — цыпленок, так он является фактором роста цыплят. Активный синтез витамина В<sub>С</sub> имеет место в зеленых растениях, а также микрофлорой желудочно-кишечного тракта животных. Его находят в люцерне, картофеле, мясе, молоке, в пивных дрожжах. При тепловой обработке разрушается свыше 90% фолиевой кислоты.

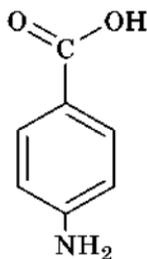
Активной формой витамина В<sub>С</sub> является 5,6,7,8-тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК) — продукт гидрирования птеринового циклической группировки. Присоединение к фолацину четырех атомов водорода протекает с участием ферментов, содержащих НАДФН<sub>2</sub>. В этом виде витамин выполняет свои коферментные функции, выражающиеся в транспорте одноуглеродных радикалов (—СН<sub>3</sub>, —НС=О, —СН<sub>2</sub>ОН, —СН<sub>2</sub>— и др.), которые используются в синтезе холина, серина, глицина, гомоцистеина, метионина, пуринов. Эти радикалы ковалентно фиксируются в положении 5 и 10 активных атомов азота молекулы витамина. При этом все эти реакции протекают с участием витамина В<sub>12</sub>.

Дефицит в организме витамина В<sub>С</sub> вызывает снижение синтеза пуриновых оснований, что приводит к угнетению синтеза ДНК клеток. Блокирование синтеза ДНК проявляется в замедлении созревания эритроцитов. Появляются ненормально боль-

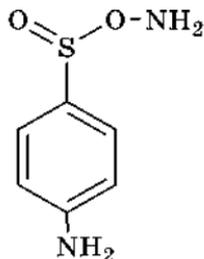
шие «макроцитарные» эритроциты с хрупкими мембранами. Мегалобластная анемия является довольно характерной для дефицита фолиевой кислоты в организме. Уровень витамина  $B_{12}$  в крови быстро падает при недостатке его в рационе и является хорошим индикатором статуса витамина в организме животного.

Наиболее часто недостаток витамина  $B_{12}$  встречается среди птиц. При этом у цыплят отмечают задержку роста, плохое оперение с потерей его пигментации. Эти симптомы сопровождаются анемией, снижением числа эритроцитов и уровня гемоглобина в крови. Индюшата с недостатком витамина  $B_{12}$  становятся нервными, с опущенными крыльями, шейными параличами. Спустя два дня после появления этих признаков обычно наблюдается смерть. Индейки при дефиците витамина  $B_{12}$  имеют нормальную продукцию яиц, но увеличивается смертность эмбрионов этих яиц при наличии геморрагий и дефектов развития клюва на 26–28-й день инкубации.

Сульфаниламиды являются структурными антагонистами парааминобензойной кислоты в составе витамина  $B_{12}$ , необходимого фактора роста бактерий. Поэтому эта группа лечебных препаратов широко используется в борьбе с бактериальными болезнями животных. Фолиевая кислота активно используется для снятия послеродовой депрессии.



Парааминобензойная  
кислота



Сульфаниламид

Во многих процессах с участием витамина  $B_{12}$  принимает участие и витамин  $B_{12}$ , а поэтому трудно объективно установить конкретную роль каждого из этих двух витаминов в определенных метаболических процессах. Суточная потребность в фолиевой кислоте человека составляет 0,4–1,0 мг.

## ВИТАМИН В<sub>12</sub>

Витамин В<sub>12</sub>, цианкобаламин, антианемический фактор, синтезируется исключительно анаэробными микроорганизмами, в частности микрофлорой желудочно-кишечного тракта млекопитающих и птиц. Витамин В<sub>12</sub> присутствует в стоячих и сточных водах, в навозе, подстилках.

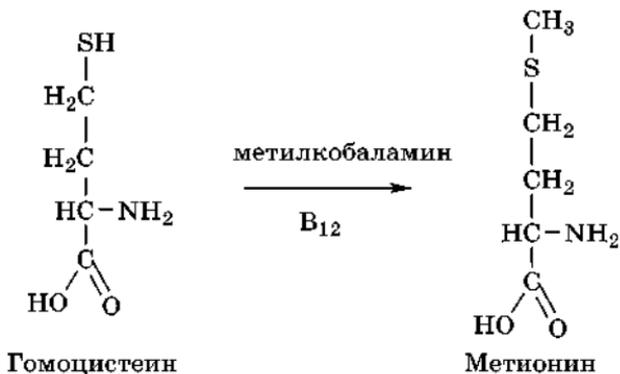
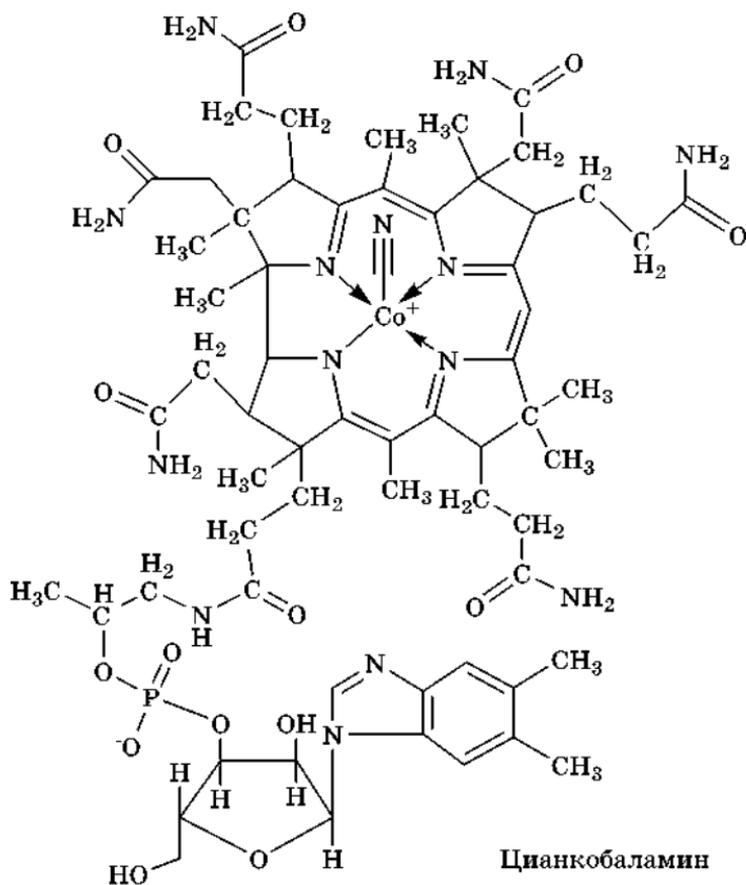
Молекула цианкобаламина в своем составе имеет нуклеотидную часть (5,6-диметилбензимидазол + рибоза + фосфорная кислота) и хромофорную, представленную четырехпиррольной структурой, в центре которой располагается кобальт (Co<sup>++</sup>).

Чтобы использовать витамин В<sub>12</sub> корма, его вначале необходимо «оторвать» от белка под влиянием HCl желудочного сока или трипсина в тонкой кишке. Затем он связывается с «внутренним фактором» (гастроукопротеином) желудочного сока и в виде этого комплекса абсорбируется в тонкой кишке, поступая затем в кровь портальной системы. Витамин В<sub>12</sub> депонируется в печени в количествах, достаточных на период нескольких лет, а поэтому реального дефицита витамина В<sub>12</sub> в организме человека практически нет (Devlin T. M., 1986).

Транскобаламины I, II, III являются белками-транспортёрами витамина В<sub>12</sub>. Витамин В<sub>12</sub> находится в печени в форме коферментов — метилкобаламина, 5-дезоксаденозилкобаламина, и печень является хорошим пищевым источником этого витамина.

Коммерческой формой витамина В<sub>12</sub> является цианкобаламин. Функции этих коферментов заключаются в переносе метильной группы, а также в осуществлении внутримолекулярных перестроек. Примером реакции участия витамина В<sub>12</sub> является образование метионина из гомоцистеина в присутствии доноров метильных групп.

При недостатке витамина В<sub>12</sub> в клетках накапливается N<sup>5</sup>-метил-ТГФ, что и приводит к развитию пернициозной анемии. Одним из признаков пернициозной анемии и дефицита витамина В<sub>12</sub> является экскреция метилмалоната с мочой. Пернициозная анемия — это разрушительный процесс, который без лечения пациента приводит к смерти. В случае этой анемии объем эритроцитов на 25–50% больше нормальных (клетки-макроциты). При этом повышение активности ЛДГ и аминотрансфераз

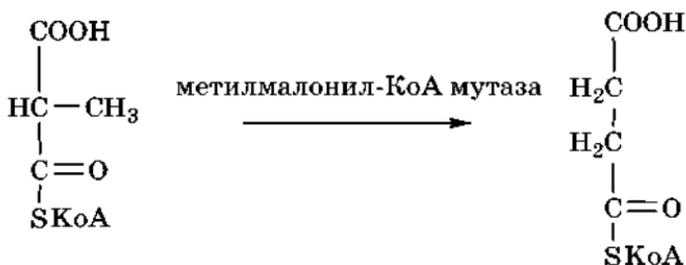


свидетельствует о распаде клеточных элементов в костном мозге. Однако классическая пернициозная анемия не связана с недостатком витамина В<sub>12</sub>; в первую очередь это свидетельство дефицита абсорбции витамина В<sub>12</sub>. Причины прекращения синтеза «внутреннего фактора» желудочного сока не известны.

В практике витамин В<sub>12</sub> применяют для поддержания гомеостаза костного мозга животного, формирования миелоидных волокон, для защиты печени от ожирения, сохранения функций поджелудочной железы. Витамин В<sub>12</sub> необходим для выводимости, роста цыплят и предупреждения эрозий желудка. Установлена передача витамина от кур-несушек цыплятам. Смертность может быть высокой среди эмбрионов яиц с множественными кровоизлияниями при недостатке витамина в период их инкубации.

У жвачных в рубце происходит активный синтез витамина В<sub>2</sub> при наличии кобальта. При авитаминозе В<sub>12</sub> у скота отмечают выраженную задержку роста, истощение (сухотка), пониженный аппетит, дегенеративные изменения в печени.

Примером мутазной реакции является трансформация метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА:



Метилмалонил-КоА

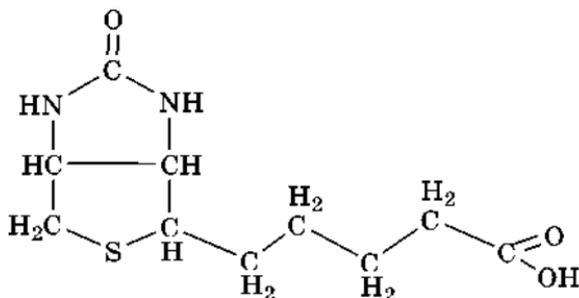
Сукцинил-КоА

В данной реакции метилмалонил-КоА мутаза является В<sub>12</sub>-зависимым ферментом. У лошадей микрофлора толстого кишечника синтезирует витамин В<sub>12</sub>, но животные не способны его использовать, так как абсорбция происходит в тонком кишечнике.

Так как растения не синтезируют витамин В<sub>12</sub>, симптомы пернициозной анемии иногда могут наблюдаться у истинных вегетарианцев.

## БИОТИН

Биотин — витамин Н (от нем. haut — кожа), является гетероциклом, в своей структуре имеет тиофеновое кольцо, мочевины и валериановую кислоту.

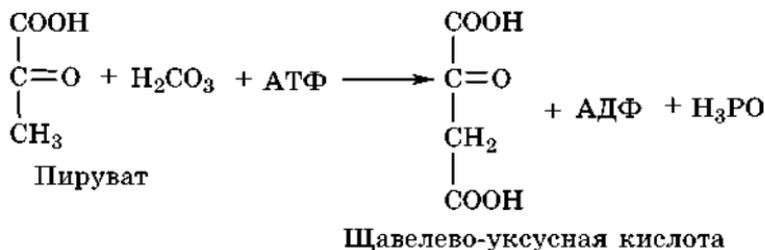


Биотин

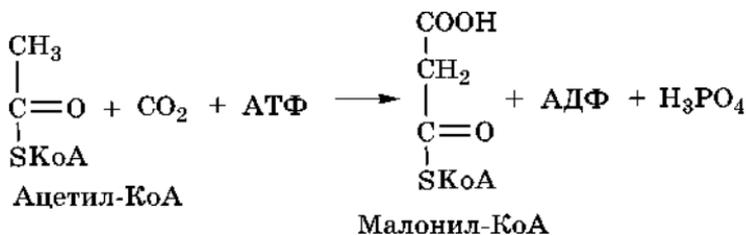
Биотин синтезируется бактериями желудочно-кишечного тракта и растениями. Сравнительно много биотина в арахисе, куриных яйцах, муке люцерны, шротах, молоке. Сырые куриные яйца содержат белок авидин (м.м. — 70 000), который связывает биотин в кишечнике и таким образом блокирует его абсорбцию. В белке куриного яйца содержание авидина составляет 2 мг.

Биотин является активным переносчиком карбоксильных групп в различных реакциях карбоксилирования (присоединение  $\text{CO}_2$ ). В каждой из них он ковалентно связывается с ферментом в качестве протетической группы посредством аминогруппы лизина белка.

Так, пируваткарбоксилаза (КФ 6.4.1.1), содержащая биотин, необходима для синтеза щавелево-уксусной кислоты в глюконеогенезе:



Вторым примером реакции карбоксилирования с участием ацетил-КоА карбоксилазы, содержащей биотин, является синтез малонил-КоА из ацетил-КоА и  $\text{CO}_2$  в синтезе жирных кислот:



Синтез мочевины на первом этапе также требует наличия в среде фермента карбамоилфосфатсинтазы, содержащего биотин в качестве кофермента. Реакции карбоксилирования и транскарбоксилирования важны при синтезе жирных кислот, белков и пуриновых оснований. В обычных условиях дефицит биотина может иметь место лишь в птицеводстве. Недостаток биотина в рационе птиц вызывает синдром ожирения печени и почек в первую очередь у бройлеров 10–30-дневного возраста. При этом у цыплят развиваются дерматиты, подобные дерматитам при дефиците пантотеновой кислоты. Однако дерматиты не наблюдаются при недостатке биотина у кур-несушек. Подошва ступни цыплят становится красной, появляются геморрагии, пальцы некротизируются.

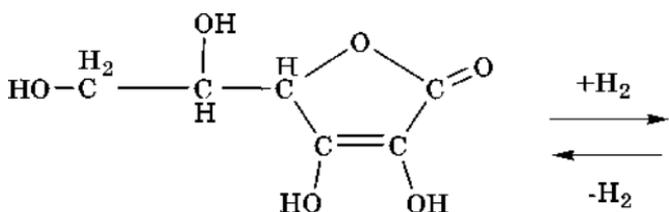
Биотин необходим для предупреждения перозиса у цыплят и индеек. Недостаточность биотина в рационе кур-несушек вызывает снижение выводимости яиц, но продукция яиц обычно не нарушается. Это указывает на то, что потребность в биотине для продукции племенного яйца выше, чем для поддержания здоровья птицы. Недостаток биотина вызывает искривление клюва у эмбрионов яиц кур, хондродистрофию. Недостаток биотина в организме животного может быть при длительной антибиотикотерапии.

Суточная потребность человека в биотине 30–100 мкг.

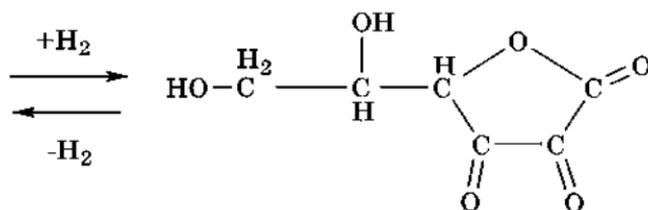
### ВИТАМИН С

Витамин С (аскорбиновая кислота) синтезируется у большинства видов млекопитающих и птиц, поэтому для них витамин С формально не должен рассматриваться как классический

витамин. Исключением являются обезьяны, морские свинки, человек, отдельные виды рыб (каarp, например), которые не имеют в печени конечного фермента для синтеза витамина С (*L*-гулоно- $\gamma$ -лактон-оксидазы), который превращает гулонолактон в аскорбиновую кислоту, а значит, должны удовлетворять свои потребности в этом витамине за счет приема с пищей.



Аскорбиновая кислота



Дегидроаскорбиновая кислота

Аскорбиновая кислота в организме способна превращаться в дегидроаскорбиновую. Наличие двух форм аскорбиновой кислоты как эффективной окислительно-восстановительной системы свидетельствует о том, что этот витамин принимает участие в реакциях биологического окисления, хотя и не является прямым участником основной цепи тканевого дыхания. Синтез витамина С происходит в печени из продукта окисления глюкозы — глюкуроновой кислоты. Рекомендуемая норма витамина С для человека составляет 1 мг/кг массы тела ежедневно. Животные, способные синтезировать собственный витамин С, поддерживают его уровень, если потребляют витамин в сотни раз больше рекомендованных количеств. Почти все свежие фрукты, помидоры, картофель являются хорошими источниками витамина С.

Витамин С участвует в формировании коллагена в реакциях гидроксирования аминокислот пролина и лизина. Как известно, коллаген является основным белком соединительной ткани стенок кровеносных сосудов. Гидроксипролин играет важнейшую роль в поддержании структуры коллагена, которая представлена повторяющимися трипептидами — глицин-пролин-гидроксипролин или 4-гип. Пептид из 10 блоков типа глицин-пролин-пролин формирует тройную спираль коллагена, выдерживающую 41°C. Если структура коллагена включает трипептиды типа глицин-пролин-4-гип, то коллаген выдерживает 69°C.

Так как коллаген является составным компонентом стенок капилляров, дефицит витамина С в организме проявляется в виде хрупкости капилляров, кровоточивости десен, разрушения и выпадения зубов (признаки цинги: по латыни — skorbut). Как восстанавливающий агент, витамин С способствует абсорбции железа, восстанавливая его в желудке животного в  $Fe^{3+}$ . Витамин С предупреждает витамины Е, А, каротин от окисления, выступая в роли сильного антиоксиданта. Витамин С повышает использование фолиевой кислоты за счет конверсии фолата в ТГФ или путем образования производных ТГФ. С этих позиций объяснимо появление анемии при дефиците витамина С. Кроме того, витамин С способствует использованию депонированного в форме ферритина железа для синтеза молекул гемоглобина.

Витамин С в наибольшей концентрации находится в надпочечниках, печени. Будучи в надпочечниках, витамин С угнетает активность 21-гидроксилазы и  $\beta$ -гидроксилазы в биосинтезе кортикостероидов. В результате кора надпочечников оказывается защищенной от истощения, особенно в стрессовых ситуациях.

Витамин С играет важную роль в активности фагоцитарных клеток, участвует в регуляции физиологии лимфоидных клеток и тканей в целом. Высокая клеточная концентрация витамина С и ее колебания при инфекционных болезнях указывают на эту взаимосвязь. Действительно, симптомы респираторных болезней птиц сглаживаются при профилактических добавках в рацион витамина С. Это свидетельствует, что эндогенный синтез витамина С у птиц в определенных ситуациях является недостаточным.

Симптомы умеренной недостаточности витамина С включают появление петехий — мелких точечных кровоизлияний в коже, обусловленных слабостью капилляров. Имеют место остеопороз и анемии. Остеопороз — результат нарушений органического матрикса и последующей деминерализации костей. При сильном стрессе или травме запасы витамина С организма мобилизуются в надпочечниках и в месте травмы, однако этот факт трудно интерпретировать. Клинические проявления гиповитаминоза С у крупного рогатого скота характеризуются снижением концентрации аскорбиновой кислоты в крови и моче и повышением уровня продукта метаболизма витамина С в организме — дикетогулоновой кислоты.

В растениях витамин С необходим как субстрат для фермента аскорбат-пероксидазы, который превращает  $H_2O_2$  в воду. Витамин С также является прекурсором оксалата и тартрата в растениях и вовлекается в гидроксилирование пролина в экстенсины — белки стенок клеток. Витамин С находится во всех органеллах клеток растений, а поэтому почти все растения — хорошие источники витамина С.

Витамин С, как один из мощных антиоксидантов, применяется в пищевой промышленности в качестве антиоксиданта (Е300–Е505), предотвращающего окисление продуктов питания.

Заканчивая обзор витаминов, следует отметить, что между составными компонентами рационов должно быть определенное количественное равновесие. В частности, отношение «витамины группы В — углеводы» не должно быть ниже установленного уровня. Поэтому спонтанные авитаминозы могут часто иметь место как следствие дефицита не только витаминов, но и по причине нарушения уровня углеводов в рационе, и авитаминоз В<sub>1</sub> и пеллагра являются типичными в данном случае.

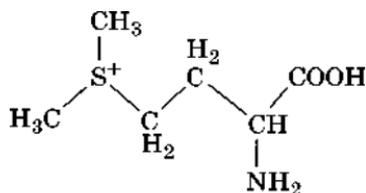
С другой стороны, нельзя рассматривать эффекты какого-либо витамина как независимые от других витаминов; между отдельными витаминами существуют явления синергизма и антагонизма. Характерным примером для этого являются витамины А и D: дефицит витамина А проявляется подобно избытку витамина D, и, напротив, гиповитаминоз D имеет эффект, подобный эффекту гипervитаминоза А. Очевидно, что отрицательный эффект высокого уровня в рационе одного витамина может быть снижен по причине повышения уровня другого

витамина. Рыбий жир является примером должного соотношения витаминов А и D. Подобные отношения существуют и между витамином D и витаминами группы В: рацион с высоким содержанием витамина D должен содержать больше витаминов группы В. Наконец, обычный уровень витамина С в рационе будет недостаточным при избытке витамина А.

## ВИТАМИНОПОДОБНЫЕ ВЕЩЕСТВА

### ВИТАМИН U

Витамин U (от *лат.* *ulcus* — язва), или противоязвенный фактор, представляет собой метилметионин:



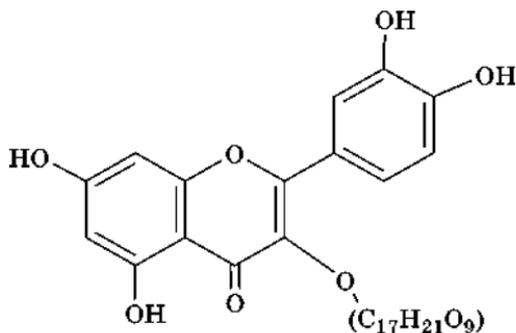
Витамин U

Витамин U — белый кристаллический порошок, сладковатый на вкус, с запахом капусты, хорошо растворимый в воде. Его структура включает метильные группы, необходимые для процессов, связанных с регенерацией эпителия слизистых оболочек пищеварительного тракта и, в частности, желудка. Метильные группы используются для биосинтеза холина, креатина. Способствует удалению холестерина из организма.

В клинической практике используется в виде его соли — S-метилметионинсульфоний хлорида для предупреждения и лечения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Богаты витамином U листья капусты, томаты, морковь, лук, репа.

### ВИТАМИН P

Понятие витамин P включает группу растительных биофлавоноидов — флавононы, флавоны, катехины. Эти соединения влияют на проницаемость стенок кровеносных сосудов, повышая их прочность (от *лат.* *permeabilitas* — проницаемость).



Витамин Р

Биофлавоноиды — участники окислительно-восстановительных процессов. Они подавляют активность фермента гиалуронидазы, расщепляющего гиалуроновую кислоту в составе коллагена соединительной ткани стенок капилляров. Поэтому биофлавоноиды дополняют биохимический механизм действия витамина С. При недостатке витамина Р в организме появляются мелкие множественные кровоизлияния в коже, мышцах, суставах. Витамин Р содержится в яблоках, цитрусовых, чайном листе, овощах.

### ХОЛИН

Структура холина представляет собой аминоэтанол, который синтезируется в организме в недостаточных количествах из этаноламина путем его метилирования, а поэтому его относят к группе витаминов. Донором метильных групп в первую очередь служит метионин.



В процессе синтеза холина необходимы также витамины В<sub>6</sub> и В<sub>12</sub>. В организме животного холин является обязательным компонентом синтеза лецитина. Обычно в рационах холин находится в структуре лецитина. Первым признаком дефицита холина в организме является ожирение печени, что у собак, обезьян, крыс приводит к циррозу (Kaneko J. J. et al., 2008).

Добавки холина в виде холинхлорида в рационы птицы, свиней оказывают положительный эффект.

## ГЛАВА 4. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ — ОСНОВНОЙ ПРОЦЕСС ОБЕСПЕЧЕНИЯ ОРГАНИЗМА ЭНЕРГИЕЙ

---

**А** для большинства представителей животного и растительного мира для поддержания жизни необходима метаболическая энергия, которую они запасают преимущественно в форме липидов и углеводов, используя эту энергию на различные биосинтезы, мембранные транспорты, механические движения. Однако эти экзогенные субстраты (углеводы, липиды и белки) предварительно в пищеварительном тракте животного должны быть гидролизованы: углеводы — до моносахаров, липиды — до глицерина и жирных кислот, белки — до аминокислот. Сохраняемая в этих субстратах энергия будет получена путем окислительного фосфорилирования в форме АТФ (аденозинтрифосфата).

Роль АТФ состоит в том, что он отдает концевую фосфатную группу и ее энергию другим молекулам, превращаясь при этом в АДФ. АДФ способен вновь трансформироваться в АТФ, аккумулируя внутриклеточную энергию. Эти реакции протекают лишь при наличии АДФ и фосфата и одновременном потреблении АТФ. В этом и состоит сущность процесса биологического окисления, или тканевого дыхания. При этом активная роль в синтезе АТФ принадлежит АТФ-азе.

подавляющее количество АТФ в тканях образуется за счет окислительного фосфорилирования, протекающего в митохондриях клеток. Число митохондрий в одной клетке млекопитающих может достигать 2500. Типичная митохондрия имеет размер от 0,5 до нескольких микрон. Все реакции биологи-

ческого окисления у эукариотов протекают в виде высокоупорядоченного ансамбля на внутренней мембране митохондрий клеток.

Ферменты биологического окисления относятся к классу оксидоредуктаз (это первый класс по международной классификации ферментов).

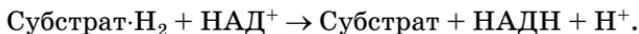
Используя тот или иной субстрат, организм обеспечивает себя «метаболической энергией» в форме аденозинтрифосфата (АТФ) или других фосфатсодержащих соединений (ГТФ, ЦТФ, УТФ, енолфосфаты, ), которые получили общее название «макроэрги».

Особенностью окисления в организме животного является то, что этот процесс не осуществляется прямым присоединением кислорода к окисляемому субстрату. Окисление начинается с отнятия от субстрата водорода, который через ряд акцепторов переносится на конечный акцептор электронов у аэробов — кислород, с образованием низкоэнергетического восстановленного продукта.

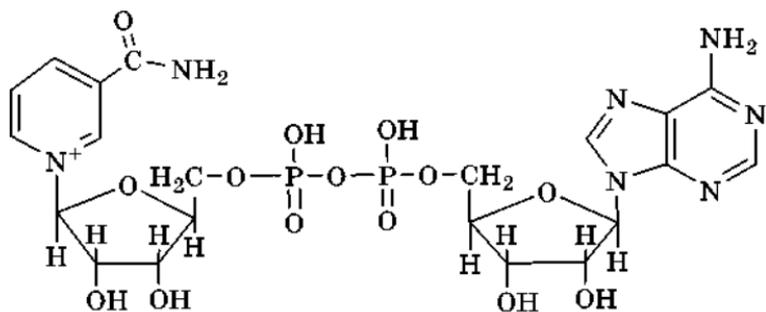
Отдельные акцепторы этой цепи транспортируют протоны и электроны, другие способны передавать лишь электроны. Принимая электроны, акцептор восстанавливается, а затем, отдавая их, вновь переходит в окисленное состояние.

Рассмотрим последовательно этапы перехода пары электронов по цепи ферментов-переносчиков, опускающихся на более низкие энергетические уровни до конечного восстановления молекулы воды в аэробных условиях. Последовательность реакций биологического окисления носит название «дыхательной цепи» или «тканевого дыхания». Действительно, в результате окислительно-восстановительных реакций в тканях поглощается кислород и выделяется  $\text{CO}_2$ .

На первом этапе восстановленный субстрат передает два атома водорода (2 протона и 2 электрона) на кофермент НАД<sup>+</sup> (никотинамидадениндинуклеотид) фермента дегидрогеназы:



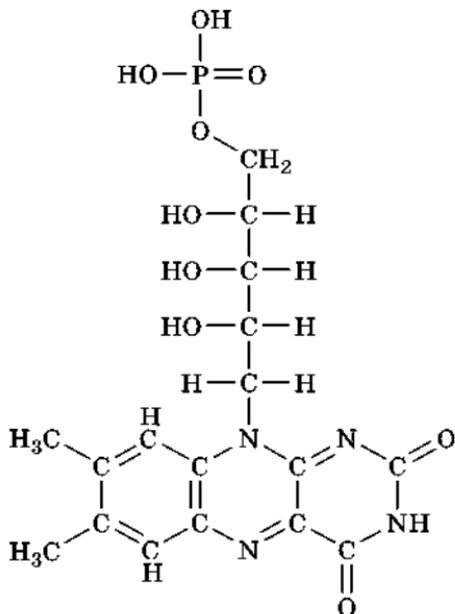
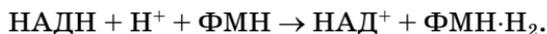
Отметим, что структура НАД<sup>+</sup> содержит никотинамид (витамин В<sub>5</sub>). В данной реакции на первом атоме углерода в структуре витамина В<sub>5</sub> фиксируется один атом водорода и электрон, тогда как другой свободный ион Н<sup>+</sup> остается в цитозоле (поэтому



Структура НАД<sup>+</sup>

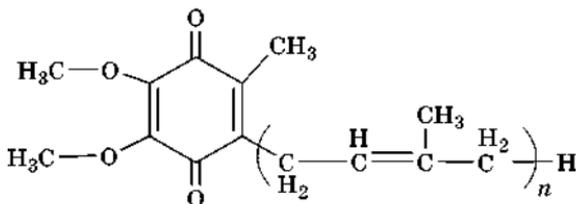
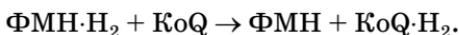
восстановленная форма данного кофермента в настоящее время изображается как НАДН + H<sup>+</sup>, а не НАДН<sub>2</sub>).

Если первым транспортером атомов водорода является НАД<sup>+</sup>, то следующим переносчиком служит флавинонуклеотид (ФМН) — производное витамина В<sub>2</sub>:



Структура ФМН

Однако возможен перенос атомов водорода с субстрата, минув НАД<sup>+</sup>, на ФАД (флавинадениндинуклеотид). Активной частью структуры ФМН и ФАД является изоаллоксазиновое кольцо, атомы которого способны присоединять два атома водорода. В обоих случаях на следующем этапе дыхательной цепи восстановленный ФМН или ФАД передают атомы водорода на кофермент Q (КоQ), (убихинон):

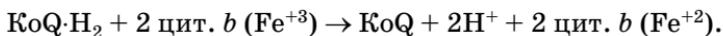


Структура кофермента Q

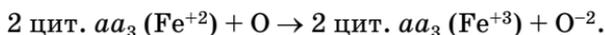
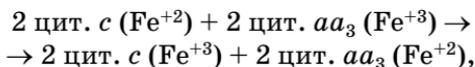
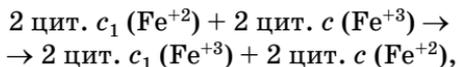
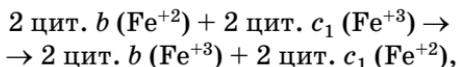
С позиции органического строения КоQ является хиноном и представляет собой 2,3-диметокси-5-метил-1,4-бензохинон с наличием изопреновой цепи в шестом положении бензольного кольца. У млекопитающих часто число изопреновых единиц равно 10.

Следующий этап дыхательной цепи составляют белки-ферменты семейства цитохромов, находящиеся в митохондриальных мембранах и эндоплазматическом ретикулуме эукариотических клеток. В природе выявлено около 30 различных цитохромов. Ключевая роль ярко окрашенных цитохромов в процессе биологического окисления была установлена в 1925 г. Все они оказались гемопroteинами. Они не связывают и не переносят кислород. Характерной особенностью гемов цитохромов является перенос ими только электронов атомов водорода, тогда как протоны переходят в окружающую среду. Акцептором и донором электронов служит железо гема, изменяющее свою валентность (восстановленная форма +2 и окисленная форма +3) при транспорте электронов.

Вначале восстановленная форма КоQ передает два электрона на две молекулы цитохрома *b*, имеющие в составе гема железо +3:

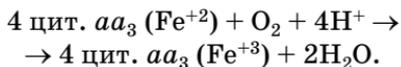


Затем эта пара электронов переходит последовательно на другие молекулы цитохромов:



Наличие отрицательно заряженного кислорода обеспечивает его взаимодействие с двумя протонами, образовавшимися при окислении восстановленной формы КоQ.

Установлено, что комплекс  $aa_3$  (цитохромоксидаза) имеет в своей структуре специальный биметаллический центр, включающий атом железа и меди, который связывает одновременно два атома кислорода, что приводит к образованию двух молекул воды:



Каждый транспортер дыхательной цепи в восстановленном состоянии является более высокоэнергетическим соединением по сравнению с восстановленной формой последующего транспортера. Таким образом, последовательно электроны переходят на более низкий энергетический уровень, что сопровождается парциальным выделением энергии.

В процессе тканевого дыхания кроме воды образуется  $\text{CO}_2$  и выделяется химическая энергия. На различных этапах дыхательной цепи образуется неодинаковое количество энергии. Высвобождающаяся свободная энергия субстрата не может быть полностью использована организмом. Около 50% ее рассеивается в организме в виде тепла. Другая часть энергии окисления субстрата преобразуется в макроэргические соединения, из которых важнейшим в количественном плане является АТФ (аденозинтрифосфат).

Образование АТФ, используя энергию дыхательной цепи, получило название окислительного фосфорилирования. АТФ — основной используемый донор свободной энергии в тканях организма.

Стандартная свободная энергия гидролиза одной фосфоэфирной связи молекулы АТФ составляет около 7,3 ккал/моль, и поэтому данное соединение является энергетически богатым макроэргом. Отметим, что соединения, стандартная свободная энергия гидролиза которых ниже этой величины, являются энергетически бедными. Этой свободной энергии достаточно для образования АТФ из АДФ при переносе фосфатного остатка ряда высокоэнергетических фосфатов.

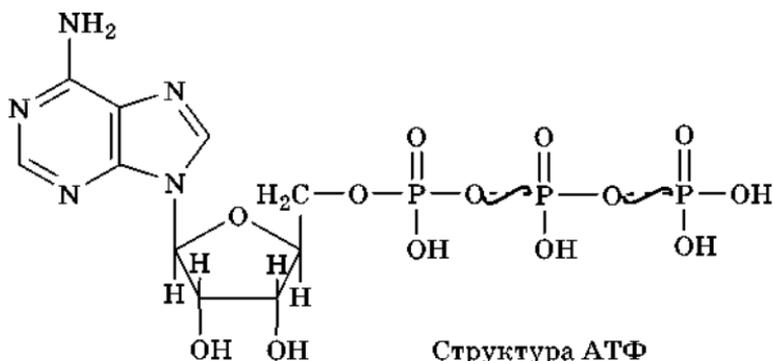
Зная, что энергия, получаемая в результате переноса одной пары электронов с НАДН на кислород, составляет 52 ккал с получением трех молекул АТФ, можно произвести энергетический баланс окислительного фосфорилирования:

1) свободная энергия трех молекул АТФ составляет  $7,3 \times 3 = 21,9$  ккал;

2)  $21,9 : 52 \times 100 = 42\%$ .

Следовательно, коэффициент полезного действия процесса окислительного фосфорилирования в живой клетке значительно выше такового современных термических машин (около 10%) (Berkaloff A. et al., 1978).

АТФ — молекула, богатая энергией, поскольку содержит две макроэргические (фосфоангидридные) связи, обозначаемые символом тильда (~), предложенным американским биохимиком Ф. Липманом (1946):



АТФ играет центральную роль в клеточном метаболизме. АТФ обеспечивает основную долю химической энергии, которая может быть использована для выполнения химической, осмотической и механической работы. Все формы жизни используют АТФ как фундаментальную единицу биохимической энергии.

Перенос электронов по дыхательной цепи приводит к выбросу протонов из митохондриального матрикса и генерированию мембранного потенциала. В результате возникающей разности потенциалов по обе стороны внутренней мембраны возникает электрохимический потенциал, который обеспечивает синтез молекул АТФ из АДФ и неорганического фосфата. Таким образом, протонный градиент обеспечивает сопряжение процесса биологического окисления и окислительного фосфорилирования (хемиосмотическая теория П. Митчелла, 1961).

Макроэргические фосфоангидридные связи присутствуют также в таких нуклеотидах, как ГТФ, ИТФ, УТФ, ЦТФ, однако эти структуры имеют место в организме в значительно меньших количествах по сравнению с уровнем АТФ. Молекула АТФ распадается обычно в течение одной минуты после ее синтеза в митохондриях. Расчеты показывают, что в организме взрослого человека как синтез, так и разрушение АТФ в течение суток достигает свыше 60 кг.

Отметим, что незначительный синтез АТФ возможен и в цитоплазме за счет субстратного фосфорилирования АДФ (фосфоенолпируват, 1,3-дифосфоглицериновая кислота).

Разность потенциалов начального и конечного этапов дыхательной цепи составляет 1,3 В. Определив величину потенциала, соответствующего энергии одной фосфоангидридной связи (0,2 В), и разность потенциалов между соседними этапами биологического окисления, которая должна превышать 0,2 В (7,3 ккал), можно выявить этапы, где возможен синтез молекул АТФ. Такая разность потенциалов имеет место между НАД<sup>+</sup> и ФМН, между КоQ и цитохромом *b*, и, наконец, при окислении цитохромоксидазы кислородом.

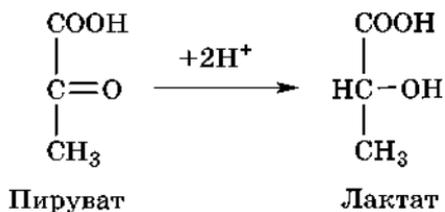
Поэтому при образовании молекулы воды, если первым акцептором водорода при окислении субстрата является НАД<sup>+</sup>, то происходит сопряженное окислительное фосфорилирование с образованием трех молекул АТФ. В случае, если первичным акцептором водорода является не НАД, а ФАД, то разность по-

тенциалов будет меньше и в результате окисления субстрата выход энергии составит не три, а две молекулы АТФ.

Процесс окислительного фосфорилирования протекает в митохондриях. Внутренняя митохондриальная мембрана содержит все компоненты дыхательной системы, участвующие в синтезе АТФ. До 90% кислорода, поступающего в организм, метаболизируется внутри митохондрий.

Таким образом, электроны, запасаемые в форме восстановленных коферментов (НАДН или ФАД), проходят по высокоорганизованной цепи белков и коферментов (цепь переноса электронов), достигая  $O_2$  — конечного акцептора электронов. Каждый компонент этой цепи может существовать в двух формах и последовательно восстанавливается и реокисляется по мере передвижения электронов от НАДН или ФАДН<sub>2</sub> к кислороду. По мере транспорта протонов к одной стороне мембраны и электронов на другую сторону внутренней мембраны митохондрии возникает протонный градиент, который и обеспечивает необходимую энергию для синтеза АТФ.

Окисление субстратов, рассмотренное в случае аэробных условий, свидетельствует, что оно возможно и в анаэробных условиях, когда в тканях имеет место дефицит кислорода. Однако в этих условиях конечным акцептором водорода будет не свободный кислород, а кислород при двойной связи какого-либо соединения, например пировиноградной кислоты. Пировиноградная кислота, реагируя при этом с водородом, превращается в молочную кислоту.



Однако следует подчеркнуть, что биологическое окисление в анаэробных условиях энергетически менее эффективно по сравнению с аэробным окислением.

Потоки электронов на различных этапах дыхательной цепи могут быть ингибированы отдельными химическими агентами,

антибиотиками. Условно ингибиторы могут быть разделены на три группы: ингибиторы собственно дыхательной цепи на уровне цитохромоксидазы (барбитураты, цианиды, сероводород, окись углерода); ингибиторы окислительного фосфорилирования (олигомицин); разобщители окислительного фосфорилирования (2,4-динитрофенол). Ингибиторы способны переносить протоны в матрикс, минуя протонные каналы АТФ-синтазы. При этом исчезает электрохимический потенциал и блокируется синтез АТФ.

Из рассмотренных этапов биологического окисления понятна роль и значение кислорода для организма. Однако в организме кислород вступает и в другие реакции окисления, количественная значимость которых незначительна, но их биологическая роль представляется очень важной. В частности, изучены укороченные пути окисления некоторых субстратов, в которых используется молекулярный кислород, что приводит к образованию перекиси водорода:



Укороченные пути окисления субстратов не являются поставщиками энергии для организма, но служат для его защиты путем окисления вредных веществ, а также синтеза полезных для организма соединений (стероидных гормонов, простагландинов и др.).

В ряде реакций с участием молекулярного кислорода его восстановление сопровождается поэтапным переносом одного электрона. При этом происходит образование промежуточных реактивных форм кислорода, в частности супероксидного аниона ( $\text{O}_2^-$ ). Образование супероксида имеет место спонтанно в реакции с  $\text{Fe}^{+2}$ .

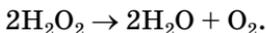
Супероксид является потенциально деструктивным ионом, который может вызывать модификации клеточных белков, нуклеиновых кислот, липидов мембран клеток. Фермент супероксиддисмутаза (СОД) с участием протонов катализирует превращение супероксида в молекулярный кислород и пероксид:



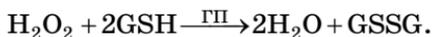
Таким образом, СОД играет определяющую роль в защите клеток против токсичности радикалов кислорода. Этот фермент находится во всех аэробных микроорганизмах. Клетки содер-

жат два вида СОД: цитозольный фермент имеет две субъединицы с атомами  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  в каждой, тогда как митохондриальный фермент содержит два атома  $\text{Mn}$  в каждой субъединице. В строгих анаэробах СОД отсутствует, что, вероятно, является основной причиной токсичности кислорода для таких микроорганизмов.

Перекись водорода является токсичной реактивной субстанцией, которая способна модифицировать клеточные макромолекулы. В тканях перекись водорода быстро разрушается крупным ферментом — каталазой (например, каталаза из печени быка имеет молекулярную массу порядка 248 тыс.) до  $\text{O}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ :



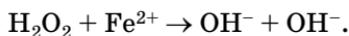
Перекись водорода может быть разрушена и с участием глутатиона (GSH) и Se-содержащего фермента глутатионпероксидазы (ГП), большое количество которой находится в эритроцитах животных:



Глутатион представляет собой трипептид, включающий глутаминовую кислоту, цистеин, глицин. Вероятно, что основной функцией глутатиона является поддержание ферментов, имеющих в активном центре сульфгидрильные группы, в восстановленной форме ( $\text{R-SH}$ ).

Отметим, что растворы  $\text{H}_2\text{O}_2$  используются в практике ветеринарии как дезинфектанты и для лечения инфицированных ран. Перекись водорода генерируется также лейкоцитами и макрофагами, способствуя уничтожению внедрившихся бактерий.

Третий и наиболее токсичный радикал кислорода — гидроксильный радикал ( $\text{OH}^-$ ) может быть образован в реакции перекиси водорода с  $\text{Fe}^{2+}$ :



Свободный радикал образуется и в результате радиолиза воды, вызываемого электромагнитной радиацией различных типов.  $\text{OH}^-$  характеризуется самой высокой в живой природе окислительной способностью, что позволяет ему разрушать практически все биомолекулы. Это наиболее мутагенный продукт

ионизирующей радиации. Продолжительность существования  $\text{OH}^-$  составляет 100 пкс, и за этот период он успевает пройти до 100 нм и деформировать азотистые основания или полностью произвести разрыв двойной спирали ДНК.

Радикалы кислорода (супероксидный анион, перекись водорода, гидроксильный радикал) являются естественными продуктами окислительного фосфорилирования и составляют около 1% всего кислорода организма. Основным источником генерации радикалов кислорода является дыхательная цепь между ФАД и КоQ и между КоQ и цитохромом *b*.

В отличие от органических соединений, у которых электроны элементов на внешней электронной оболочке располагаются парами, свободные радикалы на внешней электронной оболочке имеют один неспаренный электрон. Такое состояние делает эти радикалы химически чрезвычайно активными. В организме специализированные клетки-фагоциты (гранулоциты и моноциты крови) и тканевые клетки (макрофаги), контактируя с поверхностью клеток внедрившихся бактерий, активно выделяют свободные радикалы кислорода. Последние способны разрушать как сами клетки-фагоциты, так и бактериальные клетки.

Радикалы кислорода могут быть нейтрализованы витаминами С, Е, А, каротина, которые являются участниками антиоксидантной системы организма.

## ГЛАВА 5. ОБМЕН УГЛЕВОДОВ

---

Углеводы являются самым изобилующим и разносторонним классом органических соединений в природе. Энергия солнца, фиксируемая зелеными растениями, водорослями, отдельными бактериями в результате фотосинтеза, запасается в форме углеводов. В то же время углеводы являются предшественниками многих других молекул. Распад углеводов приводит к получению энергии, которая является основой жизни животного. Дополнительно углеводы ковалентно связываются с другими структурами (гликолипиды, гликопротеины, гликоконъюгаты), обеспечивая таким образом единство обмен веществ. Углеводы — участники процесса комплементарности между типами клеток или опознавания клеточных структур другими молекулами, что гарантирует нормальный рост клеток, их трансформацию, размножение.

Нерастворимые полимеры углеводов являются структурными и защитными элементами клеточных стенок бактерий и растений и соединительной ткани животных.

Все эти функции стали возможны благодаря характерным химическим свойствам углеводов: способности существовать в линейных или циклических формах; способности формировать полимерные структуры за счет гликозидных связей; способности образовывать множественные водородные связи с молекулами воды или другими молекулами, их окружающими.

Все углеводы классифицируют на три класса: моносахариды, олигосахариды (от *греч.* oligo — несколько) и полисахариды.

## ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ УГЛЕВОДОВ

В рационах разных видов животных углеводы составляют от 60 до 90% питательных веществ. В организм животного углеводы поступают с кормами в виде полисахаридов (крахмал, клетчатка, гликоген), дисахаридов (лактоза, сахароза), моносахаридов (глюкоза, галактоза, фруктоза).

Крахмал, полисахарид растений, в наибольшем количестве содержится в картофеле, кукурузе, пшенице, рисе (м. м. от  $5 \cdot 10^4$  до  $10^6$ ), включает линейные цепи молекул глюкозы, связанные  $\alpha$ -1,4-гликозидными связями (амилоза), и разветвленные цепи молекул глюкозы, образованные  $\alpha$ -1,6-гликозидными связями (амилопектин). Крахмал включает сотни тысяч остатков глюкозы. Отношение  $\alpha$ -1,4- и  $\alpha$ -1,6-гликозидных связей составляет в среднем 25:1.

Гликоген (м. м.  $3 \cdot 10^5$ – $10^8$ ) является животным полисахаридом, подобным амилопектину, но с бóльшим количеством в структуре (в среднем 10:1) разветвленных цепей. Клетчатка (м. м. равна  $10^6$  Da) — самый распространенный полисахарид растений, составляет 40–50% в растительных клетках.

В ротовой полости животного гидролиз гликогена и крахмала осуществляет  $\alpha$ -амилаза слюны (рН 6,8–7,0). Этот фермент выполняет разрыв  $\alpha$ -1,4-гликозидных связей полисахаридов.  $\alpha$ -Амилаза не атакует 1,6-гликозидные связи полисахаридов и гидролизует лишь небольшую часть углеводов, что важно для молодняка. Однако корма находятся в ротовой полости животного кратковременно, поэтому этот процесс не имеет большого значения для взрослых животных. К тому же у некоторых видов животных (собаки, кошки, лошади, крупный рогатый скот) амилаза слюны вообще отсутствует. Амилаза слюны не гидролизует гликозидные связи дисахаридов.

Поступая в желудок, где амилотические ферменты отсутствуют, амилаза слюны в кислой среде желудочного сока (рН 1,5–2,0) теряет свою активность. Последующий гидролиз полисахаридов, дисахаридов происходит в тонкой кишке, в которой амилотическая активность обусловлена поджелудочной  $\alpha$ -амилазой. Это относится к лошадям и другим моногастричным животным. У лошадей окончательный гидролиз клетчат-

ки происходит в толстой кишке под влиянием бактериальных ферментов.

Щелочной секрет поджелудочной железы (рН 7,5–8,0) и желчи нейтрализует кислое желудочное содержимое и обеспечивает ему щелочной характер, необходимый для проявления активности ферментов поджелудочной железы и кишечного сока. Панкреатическая амилаза расщепляет крахмал и гликоген с образованием дисахарида мальтозы, трисахарида мальтотриозы и декстринов, содержащих в среднем до 8 молекул глюкозы, объединенных  $\alpha$ -1,6-гликозидными связями.  $\alpha$ -1,6-гликозидные связи крахмала и гликогена панкреатическая амилаза не гидролизует. Эти связи расщепляются в кишечнике под действием амило-1,6-глюкозидазы и олиго-1,6-глюкозидазы. Под влиянием  $\alpha$ -глюкозидазы (мальтазы) в щеточной кайме эпителия слизистой кишечника (пристеночное пищеварение) мальтоза распадается на две молекулы глюкозы. Дисахарид лактозы гидролизуется при участии  $\beta$ -галактозидазы (лактазы) на глюкозу и галактозу. Сахароза под влиянием сахаразы распадается на глюкозу и фруктозу. Окончательный гидролиз углеводов приводит к образованию моносахаридов — основным является глюкоза, затем фруктоза, галактоза, манноза, ксилоза, арабиноза.

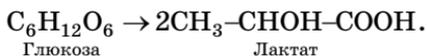
Негидролизованые дисахариды и полисахариды не способны абсорбироваться в тонкой кишке и поступают в толстую кишку, где подвергаются воздействию бактериальных ферментов с образованием молочной кислоты, низкомолекулярных жирных кислот и газов.

У жвачных животных кормовые массы в преджелудках перетираются, а затем отрыгиваются в ротовую полость, где подвергаются воздействию слюны и вновь поступают в преджелудки. В рубце коровы, вместимость которого составляет 100–200 л, происходит окончательный гидролиз клетчатки под влиянием ферментов бактериальных клеток, насчитывающих до 150 видов, с разрывом  $\beta$ -гликозидных связей. Освобождающиеся при этом молекулы  $\beta$ -глюкозы претерпевают различные пути превращений, что объясняется разнообразием микрофлоры в рубце.

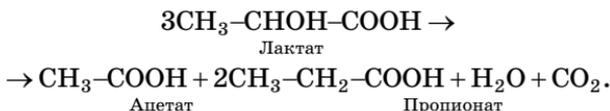
Молекулы глюкозы подвергаются брожению с образованием карбоновых кислот — уксусная (70%), пропионовая (18%), масляная (8%) и другие, названные «летучими жирными

кислотами» (ЛЖК), а также газов —  $\text{CO}_2$  (60–70%),  $\text{CH}_4$  (25%). ЛЖК объективно рассматриваются как основной энергетический материал жвачных животных.

Глюкоза вначале трансформируется в молочную кислоту:



Лактат способен трансформироваться в уксусную и пропионовую кислоты:

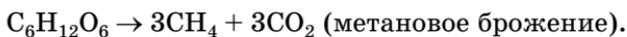


В обычных условиях кормления в рубце лактирующей коровы в течение суток образуются 2,5–4,0 кг ЛЖК, в рубце овцематки — 0,2–0,5 кг этих кислот.

Небольшое количество органических кислот в рубце представлено изомасляной, молочной, капроновой, валериановой, янтарной кислотами. При расщеплении клетчатки образуется больше уксусной кислоты, тогда как при сбраживании крахмала происходит накопление в рубце пропионовой кислоты. При распаде белков в рубце преобладает масляная кислота. При наличии в кормах большого количества крахмала общее количество ЛЖК на килограмм корма выше, чем при скармливании кормов с большим содержанием клетчатки.

Лигнин растений структурно связан с клетчаткой и препятствует воздействию ферментов микрофлоры на этот полисахарид. С возрастом растений содержание в них лигнина повышается. Поэтому с целью усиления гидролиза клетчатки уместной является предварительная обработка растительных кормов (измельчение, пропаривание, силосование, дрожжевание, обработка кислотами, добавки мочевины).

В процессе ферментации в рубце постоянно образуются газы:  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ :



В течение суток в рубце дойной коровы образуются 2–4 тыс. литров газов. Удаление газов из рубца через пищевод является

результатом совместного процесса сокращения рубца, сокращения мышц грудной клетки при закрытом входе в трахею и антиперистальтических сокращений пищевода. При этом некоторое количество газов выходит через ротовую полость, но большая часть газов вдыхается легкими с последующей экспирацией. Вдыхаемые пахучие вещества газов могут при этом проходить из альвеол в кровь, придавая определенный запах молоку.

При закупорке пищевода газы накапливаются в рубце, приводя к тимпани. Острая тимпания приводит к расширению объема рубца и сетки, оказывая давление на грудную клетку и нарушая функцию сердца и легких. Острая тимпания — это результат более активной продукции газов в преджелудках по сравнению с количеством газов, удаляемых из организма за счет отрыжки.

Превращение основной массы полисахаридов (клетчатки) в преджелудках жвачных в ЛЖК объясняет факт более низкой концентрации глюкозы в крови у этих видов животных по сравнению с другими видами. Большая часть ЛЖК абсорбируется в кровь из полости многокамерного желудка, тогда как в течение суток из кишечника коровы в кровь поступает не более нескольких граммов глюкозы. Однако глюкоза необходима корове как клеточное топливо для мозга, других органов и тканей, а также как предшественник для синтеза лактозы в период лактации. Откуда же поступает глюкоза у коровы, если полисахариды почти полностью метаболизируют до ЛЖК?

Эта потребность покрывается за счет участия ЛЖК в процессе глюконеогенеза, протекающего очень интенсивно в печени по схеме:

Пропионат → сукцинат → малат → глюкоза → гликоген.

ЛЖК у жвачных животных поставляют до 70% всей необходимой организму энергии. В крови жвачных животных уксусная кислота в активной форме (ацетил-кофермент А) составляет свыше 90% от общего количества ЛЖК.

Продукты гидролиза дисахаридов и полисахаридов в основном в форме *D*-глюкозы, *D*-галактозы, *D*-фруктозы хорошо всасываются в тонком кишечнике на основе двух механизмов:  $\text{Na}^+$ -зависимого трансмембранного активного транспорта с помощью  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP-азы}$  и  $\text{Na}^+$ -независимого трансмембранного

переноса облегченной диффузии с участием специальных переносчиков. Активный транспорт глюкозы и галактозы осуществляется при участии специальных белков мембран микроворсинок и ионов натрия. Следовательно, активный транспорт глюкозы представляет собой сопряженный транспорт глюкозы и натрия. За счет ворсинок и микроворсинок площадь слизистой кишечника составляет огромную всасывающую поверхность. Так, на 1 мм<sup>2</sup> поверхности тонкого кишечника у человека насчитываются 80–140 млн ворсинок (Северин Е. С. и др., 2011).

При повышении внеклеточной концентрации ионов натрия усиливается транспорт глюкозы. Трансмембранный транспорт ионов натрия требует энергии АТФ. Активный транспорт глюкозы и галактозы объясняет большую их скорость абсорбции по сравнению с фруктозой и пентозами. Глюкоза является основным в количественном плане моносахаридом в крови животных. Глюкоза находится в основном в плазме крови в свободном виде, тогда как фруктоза и пентозы — преимущественно в эритроцитах в фосфорилированной форме.

Возможные нарушения в переваривании лактозы у домашних животных и птиц могут быть связаны с недостаточностью лактазы и с неусвоением молока, обусловленным повышенной чувствительностью к белкам молока. При этом симптомы будут одинаковыми: метеоризм, спазмы брюшной полости, диарея по причине накопления лактозы, удерживающей воду в силу своей осмотической активности, и действия на сахар ферментов бактерий кишечника.

## ГЛИКОЛИЗ

Почти все клетки организма осуществляют реакции гликолиза, не требующего кислорода. Живые организмы появились вначале в условиях недостатка кислорода и гликолиз явился первым и важным процессом получения энергии из продуктов питания. Он играл центральную роль в анаэробном метаболизме на протяжении двух миллиардов лет биологической эволюции на Земле. Современные организмы еще используют гликолиз как предшественник для аэробного катаболизма и как кратковременный источник получения энергии при недостатке кислорода.

В первой фазе гликолиза серия реакций приводит к превращению глюкозы в две молекулы 3-фосфоглицеринового альдегида, которые во второй серии реакций трансформируются в две молекулы пировиноградной кислоты. У аэробных организмов пирuvat окисляется в ацетил-КоА, который в цикле трикарбоновых кислот метаболизирует с получением  $\text{CO}_2$ . При этом электроны последовательно переносятся через транспортную митохондриальную систему и используются в результате окислительного фосфорилирования для генерации молекул АТФ, включающих большую часть метаболической энергии молекул глюкозы.

Важнейшими источниками энергии для обеспечения физиологических процессов организма являются гликоген и глюкоза. Общий катаболизм глюкозы и получение энергии можно представить следующей реакцией:



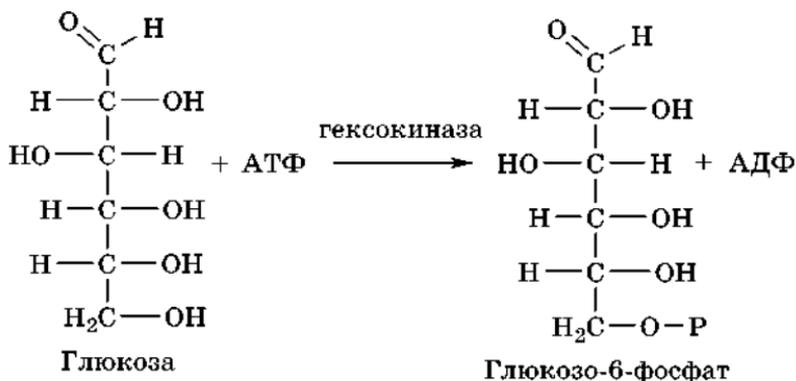
Если печень и мышцы способны обеспечить энергией различные биохимические процессы, протекающие в них, за счет распада гликогена (гликогенолиз), то другие органы, такие как мозг, используют в этих целях распад глюкозы (гликолиз). Гликоген мышц обычно распадается не до свободной глюкозы, а до глюкозо-6-фосфата и не может быть использован другими тканями. Поэтому различные ткани утилизируют в первую очередь глюкозу сахаров, поступивших в организм с кормами, а также глюкозу при распаде гликогена печени.

Анаэробный гликолиз представляет собой запасной путь, способный дать организму две молекулы АТФ, основного макроэргического соединения тканей, из молекулы глюкозы при отсутствии молекулярного кислорода. Это означает, что когда в тканях имеется дефицит кислорода, уровень АТФ может еще поддерживаться, по крайней мере на короткое время, за счет гликолиза. Так, во время родов, у новорожденного во всех органах, за исключением мозга, циркуляция крови снижается и энергетика тканей обеспечивается только за счет гликолиза до восстановления нормальной циркуляции крови. Это экономит кислород для мозга.

В других тканях гликолиз является основным механизмом продукции АТФ. В частности, эритроциты наделены небольшим количеством митохондрий, а значит, они не способны активно

превращать пируват в  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Роговица, хрусталик глаза имеют дефицит митохондрий, циркуляции крови, поэтому и для них гликолиз важен как источник энергии. Мозговая доля почек, тестикулы, лейкоциты, белые мышечные волокна также в целом зависят от гликолиза (они сравнительно бедны митохондриями), источника АТФ.

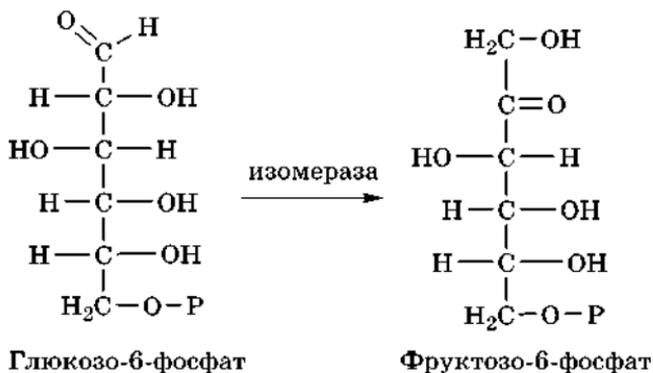
1. Первая реакция гликолиза — гексокиназная, в которой глюкоза переходит в активное состояние — в глюкозо-6-фосфат. Фермент гексокиназа — своеобразный клапан, снижающий чрезмерно высокий уровень свободной глюкозы в крови, поскольку глюкозо-6-фосфат не может преодолеть клеточную мембрану и остается в клетке. Эта реакция, использующая одну макроэнергетическую фосфатную связь АТФ, необратима в условиях клетки:



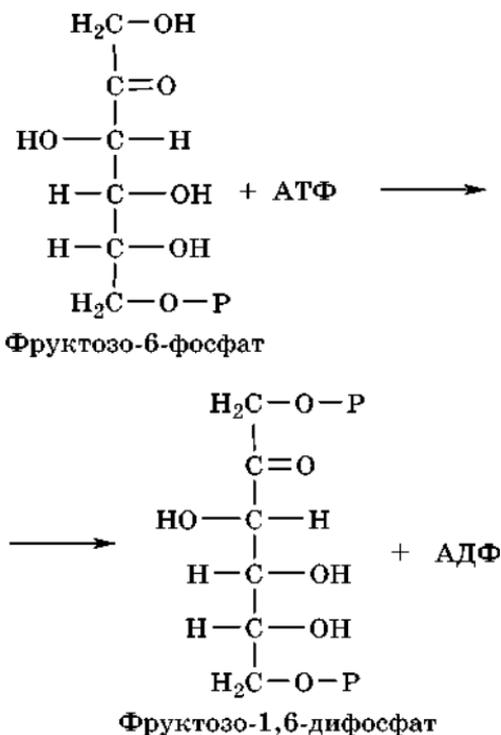
Фосфорилирование глюкозы является энергетически важной реакцией, в результате которой глюкоза сохраняется в клетке. Глюкоза является нейтральной молекулой и способна проходить сквозь клеточную мембрану, однако фосфорилирование обеспечивает отрицательный заряд глюкозе, при котором плазматическая мембрана непроницаема для глюкозо-6-фосфата.

Следует сказать, что любые превращения глюкозы в тканях начинаются с ее перехода в активное состояние — в форму глюкозо-6-фосфата.

2. Следующая реакция — обратимая, катализируется широко распространенным в мышечной ткани ферментом фосфоглюкоизомеразой (глюкозо-6-фосфатизомеразой), в которой глюкозо-6-фосфат переходит в свой изомер — фруктозо-6-фосфат:

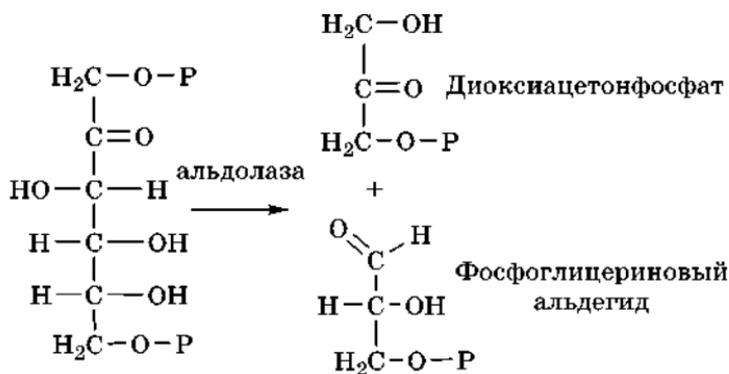


3. Полученная молекула фруктозо-6-фосфата подвергается фосфорилированию с образованием фруктозо-1,6-дифосфата с участием фермента фосфофруктокиназы и второй молекулы АТФ. Данный фермент наиболее активен из всех ферментов



гликолиза. Это ключевой фермент, определяющий скорость всего процесса. Он катализирует необратимую реакцию, которая осуществляет конверсию глюкозо-6-фосфата в гликоген, пентозофосфаты или пировиноградную кислоту. Таким образом, этот фермент является регуляторным и аллостерическим одновременно, так как АТФ выполняет роль аллостерического эффектора фосфофруктокиназной реакции. В случае высокой концентрации АТФ нет необходимости повышать катаболизм глюкозы в клетке. Это свидетельствует о роли концентрации АТФ в метаболическом контроле.

4. Фруктозо-1,6-дифосфат под влиянием фермента альдолазы (класс лиаз) распадается на две фосфотриозы — 3-фосфоглицериновый альдегид и диоксиацетонфосфат:



Фруктозо-1,6-дифосфат

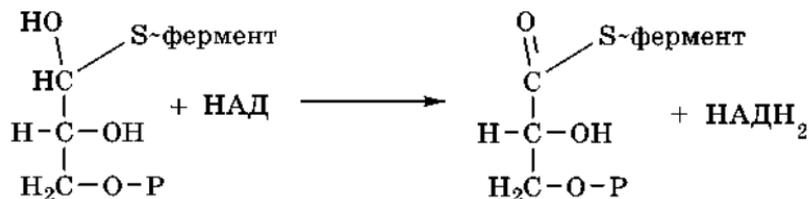
5. Молекула диоксиацетонфосфата под действием триозофосфатизомеразы трансформируется во вторую молекулу 3-фосфоглицеринового альдегида, а поэтому для расчета освобождающейся энергии можно считать, что фруктозо-1,6-дифосфат распадается на две молекулы 3-фосфоглицеринового альдегида. Эта реакция завершает первую фазу гликолиза.

Вторая фаза гликолиза включает реакции, которые конвертируют метаболическую энергию глюкозы в АТФ.

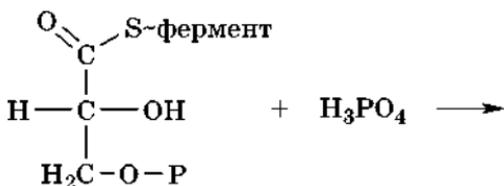
6. Следующий этап состоит в окислении 3-фосфоглицеринового альдегида при участии глицеральдегид-дегидрогеназы, содержащей в активном центре HS-группы. Вначале образуется фермент-субстратный комплекс:



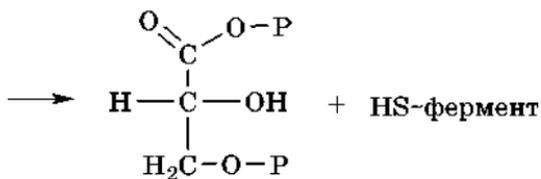
7. Затем фермент-субстратный комплекс отдает два атома водорода на акцептор, которым является НАД<sup>+</sup>:



8. В следующей реакции при участии неорганического фосфата происходит распад фермент-субстратного комплекса с образованием 1,3-дифосфоглицериновой кислоты.

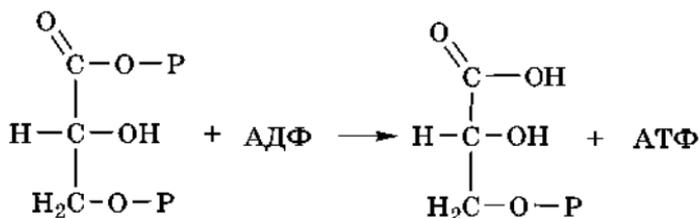


**Фермент-субстратный комплекс**



**1,3-Дифосфоглицериновая кислота**

9. Далее, 1,3-дифосфоглицериновая кислота передает один остаток фосфорной кислоты на АДФ с образованием молекулы АТФ и 3-фосфоглицериновой кислоты. Реакция катализируется фосфоглицераткиназой:

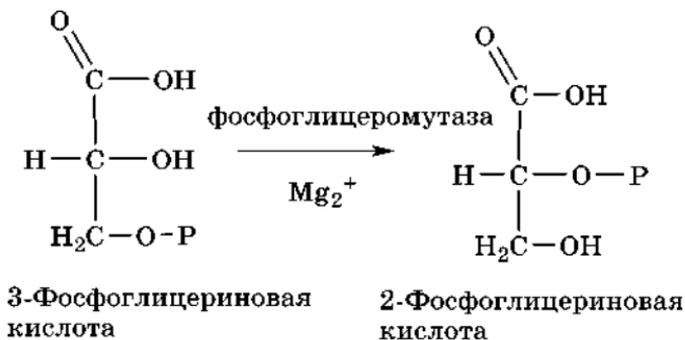


1,3-Дифосфоглицериновая кислота      3-Фосфоглицериновая кислота

Поскольку из одной молекулы глюкозы получены две молекулы 1,3-дифосфоглицериновой кислоты, следовательно, на этой стадии «возвращены» две ранее затраченные молекулы АТФ.

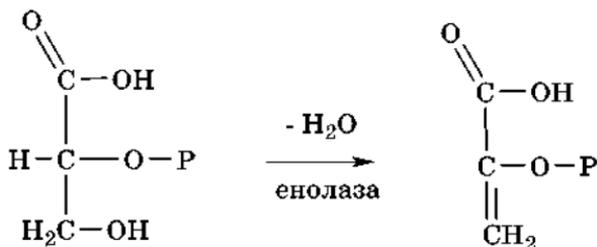
Эта реакция является примером субстратного фосфорилирования (когда фосфат переносится напрямую на АДФ), в отличие от окислительного фосфорилирования, где образование АТФ связано с транспортом протонов и электронов в цепи реакций биологического окисления на внутренней мембране митохондрий.

10. Полученная 3-фосфоглицериновая кислота под влиянием фермента фосфоглицеромутаза трансформируется в 2-фосфоглицериновую кислоту:



Термин «мутаза» относится к ферментам, которые катализируют миграцию функциональной группы внутри молекулы субстрата.

11. Фермент енолаза катализирует реакцию выделения воды из 2-фосфоглицериновой кислоты, превращая последнюю в фосфоенолпировиноградную кислоту:

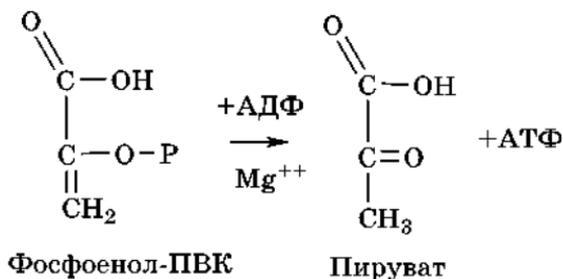


2-Фосфоглицериновая  
кислота

Фосфоенолпировиноградная  
кислота

Отметим, что фосфоенолпировиноградная кислота может быть использована как субстрат в процессе глюконеогенеза.

12. Следующая необратимая в условиях клетки реакция гликолиза, катализируемая пируваткиназой (КФ 2.7.1.40), сопровождается субстратным фосфорилированием с образованием очередной молекулы АТФ:



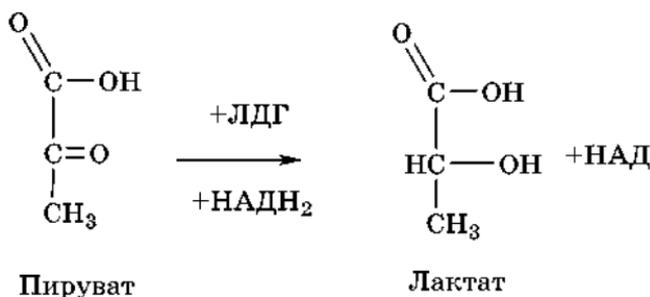
Фосфоенол-ПВК

Пируват

Таким образом, в дополнение к АТФ продуктами гликолиза являются НАДН и пируват. НАДН может быть использован в аэробных и анаэробных процессах, тогда как пируват в аэробных условиях может поступать в цикл трикарбоновых кислот, где он окисляется до  $\text{CO}_2$  с продукцией дополнительного НАДН

и ФАДН<sub>2</sub>. В анаэробных условиях пируват в дрожжах восстанавливается в этанол: вначале пируват декарбоксилируется в ацетальдегид при участии пируватдекарбоксилазы, а затем ацетальдегид восстанавливается с участием алкогольдегидрогеназы в этанол. Этот процесс получил название ферментации. В частности, алкогольная ферментация лежит в основе приготовления пива.

13. У животных пируват восстанавливается в лактат. Эта реакция анаэробного гликолиза имеет окислительно-восстановительный характер и катализируется ферментом лактатдегидрогеназой (ЛДГ), КФ 1.1.1.27. Пировиноградная кислота, реагируя с НАДН<sub>2</sub>, образовавшимся при окислении 3-фосфоглицеринового альдегида, восстанавливается в лактат:



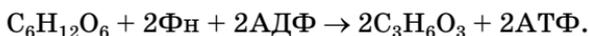
Эта реакция становится возможной потому, что в анаэробных условиях водород не переносится в реакциях биологического окисления на конечный акцептор — кислород, а поступает на неопредельное соединение — пировиноградную кислоту, образуя молочную кислоту.

Таким образом, реакции анаэробного гликолиза приводят к получению конечного продукта — молочной кислоты. Образование молочной кислоты является нормальным при функционировании мышечной ткани: накопление ее вызывает «усталость» мышц, снижение работоспособности. Большая часть молочной кислоты из мышечной ткани поступает в кровь и транспортируется в печень, где может быть ресинтезирована в глюкозу в процессе глюконеогенеза.

В присутствии кислорода под влиянием ЛДГ молочная кислота может быть реконвертирована в пировиноградную кисло-

ту для ее полного окисления в дальнейшем до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Следует отметить, что гликолиз может быть блокирован отдельными веществами, такими как мышьяк, фтор. Так, мышьяк, реагируя с 3-фосфоглицериновой кислотой, образует 1-арсено-3-фосфоглицерат. Следовательно, в присутствии мышьяка не происходит синтез АТФ, необходимого источника энергии для клетки. Это свидетельствует о токсичности мышьяка.

Окисление глюкозы до двух молекул молочной кислоты ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ ) в анаэробных условиях может быть представлено следующим образом:



Если определить разницу величин энергии глюкозы и двух молекул молочной кислоты, то она составит около 210 кДж/моль, тогда как распад двух молекул АТФ приводит к освобождению около 40 кДж/моль. Отсюда можно рассчитать, что в анаэробном гликолизе организм использует лишь около 40% энергии глюкозы. Это означает, что молочная кислота содержит еще значительное количество энергии. Большую часть этой энергии молочной кислоты организм затем превращает в печени в гликоген. Отметим, что только печень способна синтезировать гликоген из молочной кислоты.

В реакции анаэробного гликолиза может вступать и фруктоза. Вначале происходит переход фруктозы при участии фермента гексокиназы во фруктозо-1-фосфат. Затем фруктозо-1-фосфат распадается при участии специфической альдолазы на глицероальдегид и диоксиацетонфосфат. Глицероальдегид фосфорилируется за счет АТФ и переходит в 3-фосфоглицериновый альдегид, который способен вступать в реакции гликолиза.

Таким образом, гликолиз играет двоякую роль: он окисляет глюкозу, чтобы генерировать АТФ, и обеспечивает получение различных веществ для синтеза клеточных компонентов. Степень конверсии глюкозы в пировиноградную кислоту регулируется этими двумя потребностями клетки. В обычных условиях реакции гликолиза легко обратимы за исключением трех реакций, катализируемых гексокиназой (реакция 1), фосфофруктокиназой (реакция 3) и пируваткиназой (реакция 12).

Гексокиназа ингибируется глюкозо-6-фосфатом, который аккумулируется в случае наличия неактивной фосфофрукто-

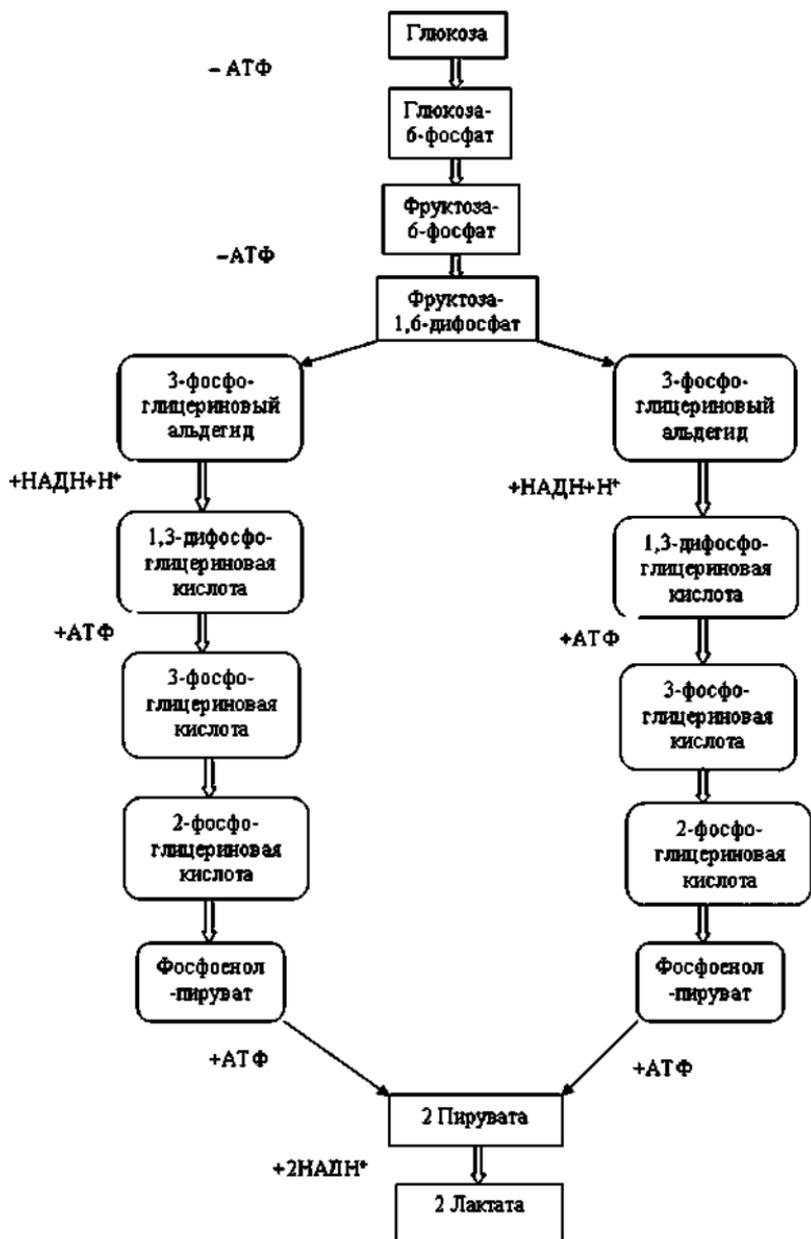


Схема гликолиза

киназы. Пируваткиназа аллостерически ингибируется АТФ и аланином и активируется фруктозо-1,6-дифосфатом. Пируваткиназа является максимально активной при низком уровне АТФ в клетке. Низкий уровень глюкозы в крови животного приводит к снижению активности пируваткиназы и, таким образом, уменьшается распад глюкозы в печени.

## ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ (ЦИКЛ КРЕБСА)

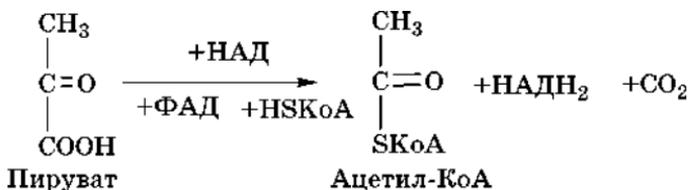
Гликолиз превращает глюкозу в пируват и продуцирует две молекулы АТФ из молекулы глюкозы — это небольшая часть потенциальной энергии этой молекулы.

При аэробных условиях пируват из гликолиза превращается в ацетил-КоА и окисляется в  $\text{CO}_2$  в цикле трикарбонных кислот (цикл лимонной кислоты). При этом электроны, освобождающиеся в реакциях этого цикла, проходят НАДН и ФАДН<sub>2</sub> на  $\text{O}_2$  — конечный акцептор. Электронный транспорт сопряжен с созданием протонного градиента мембраны митохондрий, энергия которого используется затем на синтез АТФ в результате окислительного фосфорилирования. Рассмотрим эти реакции.

В аэробных условиях пировиноградная кислота (1-й этап) подвергается окислительному декарбоксилированию, более эффективному, чем трансформация в молочную кислоту, с образованием ацетил-КоА (2-й этап), который может окисляться до конечных продуктов распада глюкозы —  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  (3-й этап). Г. Кребс (1900–1981), немецкий биохимик, изучив окисление отдельных органических кислот, объединил их реакции в единый цикл. Поэтому в его честь цикл трикарбонных кислот часто называют циклом Кребса.

Окисление пировиноградной кислоты до ацетил-КоА происходит в митохондриях при участии трех ферментов (пируватдегидрогеназа, липоамиддегидрогеназа, липоилацетилтрансфераза) и пяти коферментов (НАД, ФАД, тиаминпирофосфат, амид липоевой кислоты, коэнзим А). В составе этих четырех коферментов находятся витамины группы В ( $\text{B}_1$ ,  $\text{B}_2$ ,  $\text{B}_3$ ,  $\text{B}_5$ ), что свидетельствует о необходимости этих витаминов для нормального окисления углеводов. Под влиянием этой сложной ферментной системы пируват в реакции окислительного декарбоксилирования

превращается в активную форму уксусной кислоты — ацетил-коэнзим А:



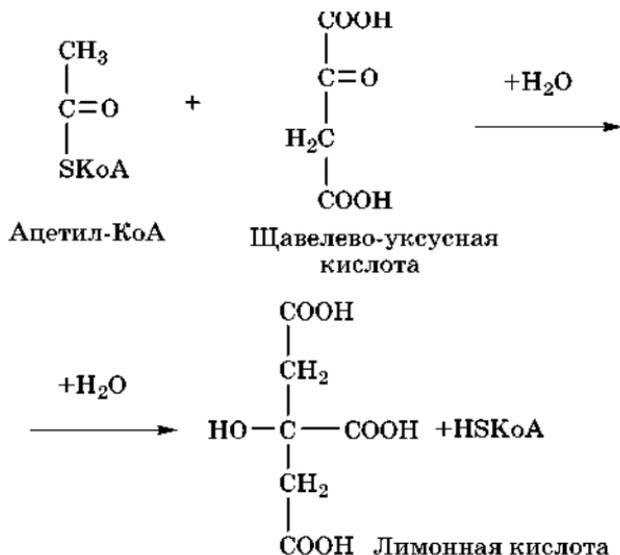
При физиологических условиях пируватдегидрогеназа — исключительно необратимый фермент, что объясняет невозможность конверсии жирных кислот в углеводы.

Наличие макроэргической связи в молекуле ацетил-КоА указывает на высокую реакционную способность этого соединения. В частности, ацетил-КоА может выступать в митохондриях для генерации энергии, в печени избыток ацетил-КоА поступает на синтез кетоновых тел, в цитозоле участвует в синтезах сложных молекул, таких как стериды и жирные кислоты.

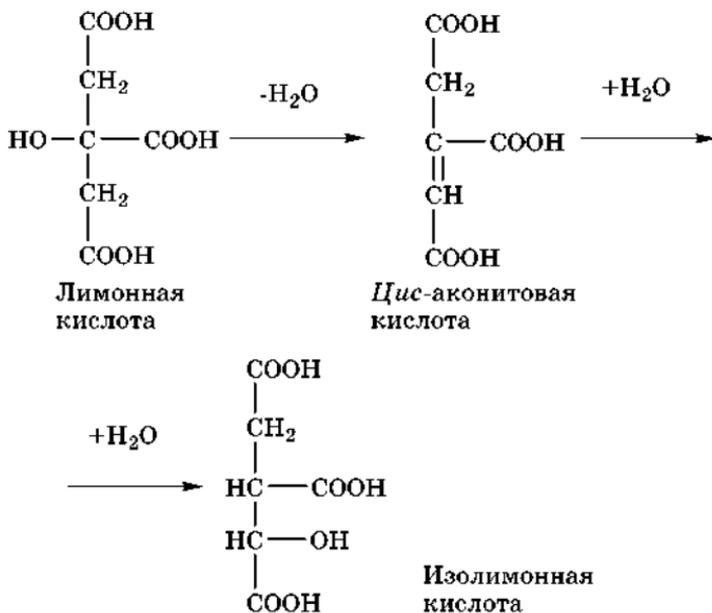
Полученный в реакции окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты ацетил-КоА вступает в цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса). Цикл Кребса — финальный катаболический путь окисления углеводов, жиров, аминокислот, является по существу «метаболическим котлом». Реакции цикла Кребса, протекающие исключительно в митохондриях, также носят название цикла лимонной кислоты или цикла трикарбоновых кислот (ЦТК).

Одной из важнейших функций цикла трикарбоновых кислот является генерация восстановленных коферментов (3 молекулы НАДН + H<sup>+</sup> и 1 молекула ФАДН<sub>2</sub>) с последующим переносом атомов водорода или их электронов к конечному акцептору — молекулярному кислороду. Этот транспорт сопровождается большим уменьшением свободной энергии, часть которой используется в процессе окислительного фосфорилирования для запасаания в форме АТФ. Понятно, что цикл трикарбоновых кислот является аэробным, зависимым от кислорода.

1. Начальная реакция цикла трикарбоновых кислот представляет конденсацию ацетил-КоА и щавелево-уксусной кислоты с участием фермента цитратсинтазы митохондриального матрикса с образованием лимонной кислоты.

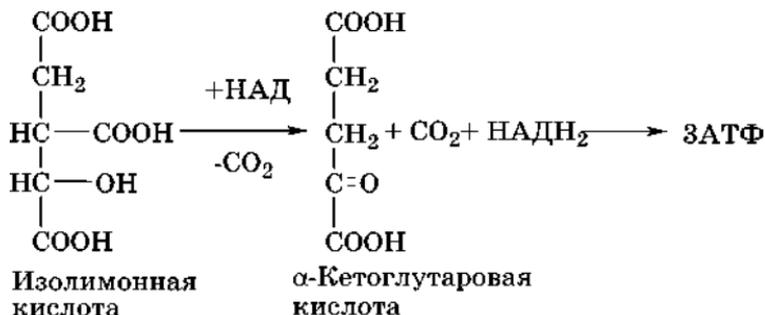


2. Под влиянием фермента аконитазы, катализирующего удаление молекулы воды из цитрата, последний превращается



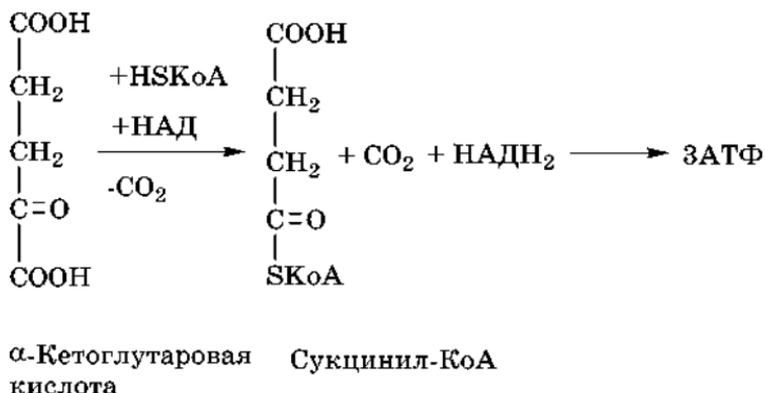
в *цис*-аконитовую кислоту. Вода комбинирует с *цис*-аконитовой кислотой, превращаясь в изолимонную.

3. Затем фермент изоцитратдегидрогеназа катализирует первую дегидрогеназную реакцию цикла лимонной кислоты, когда изолимонная кислота превращается в реакции окислительного декарбоксилирования в  $\alpha$ -кетоглутаровую:



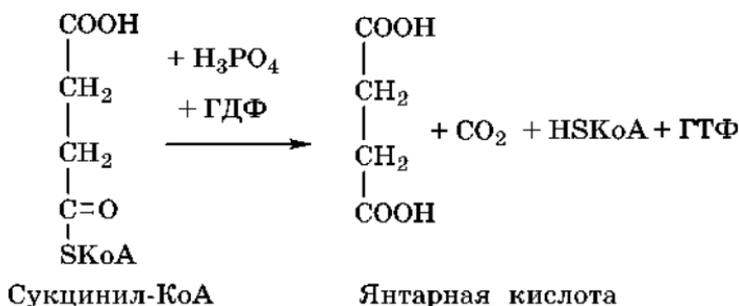
В этой реакции образуется первая молекула  $\text{CO}_2$  и первая молекула  $\text{НАДН} + \text{H}^+$  цикла.

4. Дальнейшее превращение  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты в сукцинил-КоА катализируется мультиферментным комплексом  $\alpha$ -кетоглутаровой дегидрогеназы. Эта реакция химически является аналогом пируватдегидрогеназной реакции. В ней участвуют липоевая кислота, тиаминпирофосфат,  $\text{HS-CoA}$ ,  $\text{НАД}^+$ , ФАД.



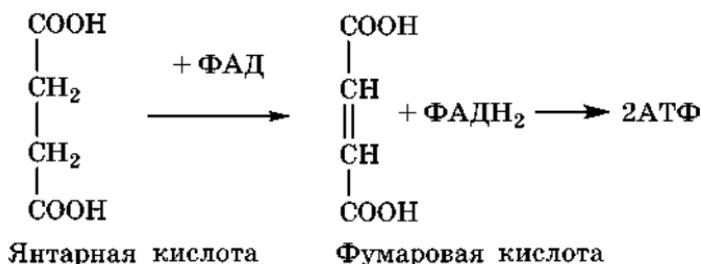
В результате этой реакции вновь образуется молекула НАДН + H<sup>+</sup> и CO<sub>2</sub>.

5. Молекула сукцинил-КоА имеет макроэргическую связь, энергия которой сохраняется в следующей реакции в форме ГТФ. Под влиянием фермента сукцинил-КоА-синтетазы сукцинил-КоА превращается в свободную янтарную кислоту. Отметим, что янтарная кислота также может быть получена из метилмалонил-КоА при окислении жирных кислот с нечетным числом атомов углерода.

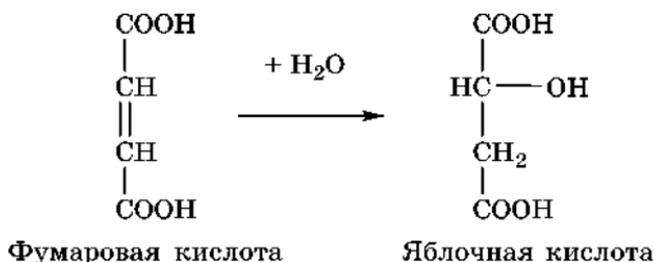


Эта реакция является примером субстратного фосфорилирования, так как макроэргическая молекула ГТФ в данном случае образуется без участия цепи транспорта электронов и кислорода.

6. Янтарная кислота окисляется в фумаровую кислоту в сукцинатдегидрогеназной реакции. Сукцинатдегидрогеназа, типичный железосеросодержащий фермент, коферментом которого является ФАД. Сукцинатдегидрогеназа — единственный фермент, фиксируемый на внутренней митохондриальной мембране, тогда как все другие ферменты цикла находятся в митохондриальном матриксе.



7. Затем следует гидратация фумаровой кислоты в яблочную кислоту под влиянием фермента фумаразы в обратимой реакции при физиологических условиях:

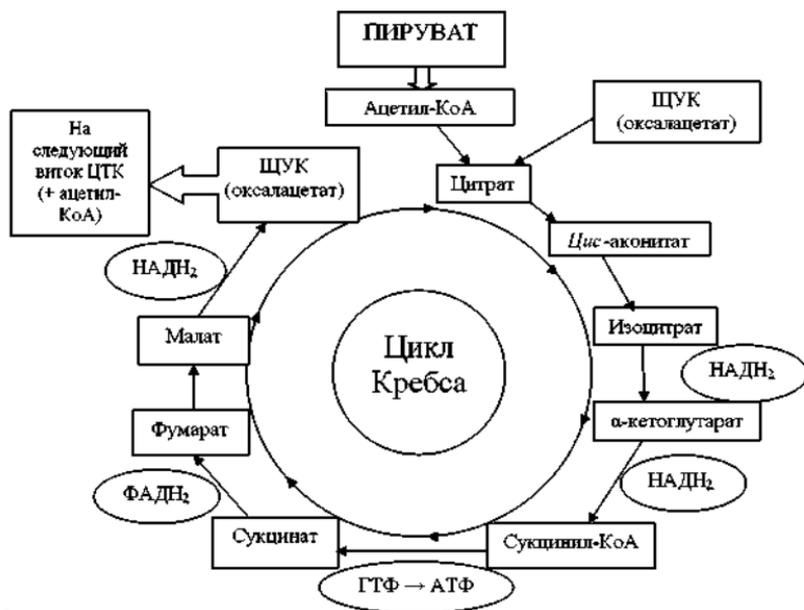


8. Финальной реакцией цикла трикарбоновых кислот является малатдегидрогеназная реакция с участием активного фермента митохондриальной НАД<sup>+</sup>-зависимой малатдегидрогеназы, в которой образуется третья молекула восстановленного НАДН + H<sup>+</sup>:



Образованием щавелево-уксусной кислоты (оксалоацетата) завершается один оборот цикла трикарбоновых кислот. Щавелево-уксусная кислота может быть использована в окислении второй молекулы ацетил-КоА, и этот цикл реакций может неоднократно повторяться, постоянно приводя к получению щавелево-уксусной кислоты.

Таким образом, окисление в ЦТК одной молекулы ацетил-КоА как субстрата цикла приводит к получению одной молекулы ГТФ, трех молекул НАДФ + H<sup>+</sup> и одной молекулы ФАДН<sub>2</sub>. Окисление этих восстановителей в цепи биологического окис-



Цикл трикарбоновых кислот в виде схемы

ления приводит к синтезу 12 молекул АТФ. Этот расчет понятен из темы «Биологическое окисление»: включение одной молекулы  $\text{НАД} + \text{H}^+$  в систему транспорта электронов сопровождается в конечном счете образованием 3 молекул АТФ, включение молекулы  $\text{ФАДН}_2$  обеспечивает образование 2 молекул АТФ и одна молекула ГТФ эквивалентна 1 молекуле АТФ.

Отметим, что два атома углерода ацетил-КоА вступают в цикл трикарбоновых кислот и два атома углерода покидают цикл в виде  $\text{CO}_2$  в реакциях декарбоксилирования, катализируемых изоцитратдегидрогеназой и альфа-кетоглутарат-дегидрогеназой.

При полном окислении молекулы глюкозы в аэробных условиях до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  образование энергии в форме АТФ составляет:

- 4 молекулы АТФ при конверсии молекулы глюкозы в 2 молекулы пировиноградной кислоты (гликолиз);
- 6 молекул АТФ, образующиеся в 3-фосфолицеральдегид-дегидрогеназной реакции (гликолиз);

- 30 молекул АТФ, образующиеся при окислении двух молекул пировиноградной кислоты в пируватдегидрогеназной реакции и в последующих превращениях двух молекул ацетил-КоА до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  в цикле трикарбоновых кислот.

Следовательно, общий выход энергии при полном окислении молекулы глюкозы может составлять 40 молекул АТФ. Однако следует принять во внимание, что при окислении глюкозы на стадии превращения глюкозы в глюкозо-6-фосфат и на стадии превращения фруктозо-6-фосфата во фруктозо-1,6-дифосфат затрачено две молекулы АТФ. Поэтому «чистый» выход энергии при окислении молекулы глюкозы составляет 38 молекул АТФ.

Можно сравнить энергетику анаэробного гликолиза и аэробного катаболизма глюкозы. Из 688 ккал энергии, теоретически заключенных в 1 грамм-молекуле глюкозы (180 г), 20 ккал находятся в двух молекулах АТФ, образующихся в реакциях анаэробного гликолиза, и 628 ккал теоретически остаются в форме молочной кислоты.

В аэробных условиях из 688 ккал грамм-молекулы глюкозы в 38 молекулах АТФ получено 380 ккал. Таким образом, эффективность использования глюкозы в аэробных условиях выше, чем в анаэробном гликолизе, примерно в 19 раз.

Следует указать, что все реакции окисления (окисление триозофосфата, пировиноградной кислоты, четыре реакции окисления цикла трикарбоновых кислот) конкурируют в синтезе АТФ из АДФ и  $\Phi_{\text{неор}}$  (эффект Пастера). Это значит, что образующаяся молекула НАДН +  $\text{H}^+$  в реакциях окисления имеет выбор между реакциями дыхательной системы, переносящими водород на кислород, и ферментом ЛДГ, передающим водород на пировиноградную кислоту.

На ранних стадиях цикла трикарбоновых кислот его кислоты могут выходить из цикла для участия в синтезе других соединений клетки без нарушений функционирования самого цикла. Различные факторы вовлекаются в регуляцию активности цикла трикарбоновых кислот. Среди них в первую очередь следует назвать поступление молекул ацетил-КоА, активность пируватдегидрогеназного комплекса, активность компонентов дыхательной цепи и сопряженное с ней окислительное фосфорилирование, а также уровень щавелево-уксусной кислоты.

Молекулярный кислород непосредственно не участвует в цикле трикарбоновых кислот, однако его реакции осуществляются только в аэробных условиях, так как НАД<sup>+</sup> и ФАД могут быть регенерированы в митохондриях лишь при переносе электронов на молекулярный кислород. Следует подчеркнуть, что гликолиз, в отличие от цикла трикарбоновых кислот, возможен и при анаэробных условиях, так как НАД<sup>+</sup> регенерируется при переходе пировиноградной кислоты в молочную.

Помимо образования АТФ, цикл трикарбоновых кислот имеет еще одно важное значение: цикл обеспечивает структурами-посредниками различные биосинтезы организма. Например, большинство атомов порфиринов происходит из сукцинил-КоА, многие аминокислоты являются производными  $\alpha$ -кетоглутаровой и щавелево-уксусной кислот, а фумаровая кислота имеет место в процессе синтеза мочевины. В этом проявляется интегральность цикла трикарбоновых кислот в обмене углеводов, жиров, белков.

Как показывают реакции гликолиза, способность большинства клеток генерировать энергию заключена в их митохондриях. Число митохондрий в различных тканях связано с физиологическими функциями тканей и отражает их возможность участия в аэробных условиях. Например, эритроциты не имеют митохондрий и, следовательно, не обладают способностью генерировать энергию, используя кислород как конечный акцептор электронов. Однако в сердечной мышце, функционирующей в аэробных условиях, половина объема цитоплазмы клеток представлена митохондриями. Печень также зависит от аэробных условий для своих различных функций, и гепатоциты млекопитающих содержат до 2 тыс. митохондрий в одной клетке.

Митохондрии включают две мембраны — внешнюю и внутреннюю. Внешняя мембрана более простая, состоящая из 50% жиров и 50% белков, имеет сравнительно мало функций. Внутренняя мембрана структурно и функционально представляется более сложной. Примерно 80% ее объема составляют белки. Она содержит большинство ферментов, участвующих в электронном транспорте и окислительном фосфорилировании, метаболические посредники и аденин-нуклеотиды между цитозолем и митохондриальным матриксом.

Различные нуклеотиды, вовлекаемые в окислительно-восстановительные реакции, такие как НАД<sup>+</sup>, НАДН, НАДФ<sup>+</sup>, ФАД и ФАДН<sub>2</sub>, не проникают сквозь внутреннюю митохондриальную мембрану. Ацетил-КоА не может поступать из митохондриального отдела в цитозоль, где он требуется для синтеза жирных кислот или стеролов. Поэтому внутримитохондриальный ацетил-КоА конвертируется в цитрат-синтазной реакции цикла трикарбоновых кислот и в таком виде поступает в цитозоль.

## ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ ОКИСЛЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ

Клетки организма постоянно требуют наличия НАДФН для восстановительных реакций биосинтезов. С этой целью важным и уникальным является пентозофосфатный путь или гексозомонофосфатный шунт.

*Пентозофосфатный путь* — это многофункциональный путь, главной целью которого является синтез НАДФН<sub>2</sub> (восстановленной формы НАДФ<sup>+</sup>). Если НАДН + Н<sup>+</sup> окисляется в дыхательной цепи, чтобы продуцировать АТФ, то НАДФН + Н<sup>+</sup> служит донором водорода и электронов в восстановительных биосинтетических реакциях. В частности, НАДФН + Н<sup>+</sup> может быть использован в синтезах жирных кислот, холестерина.

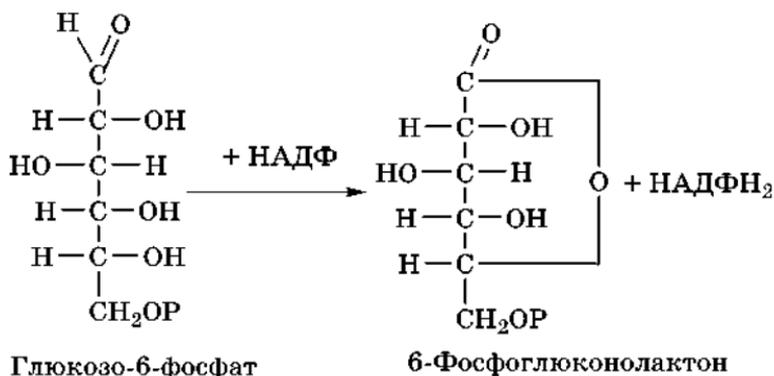
Пентозофосфатный путь также имеет место в эритроцитах, где НАДФН + Н<sup>+</sup> необходим для восстановления окисленного глутатиона и для поддержания нормальной клеточной структуры клеток. Ферменты, вовлекаемые в этот путь, локализуются в цитоплазме, свидетельствуя, что это окисление не связано с митохондриями или ЦТК.

Другой важной целью окислительной стадии пентозофосфатного пути является превращение гексоз в пентозы, в частности в рибозо-5-фосфат. Эта пентоза или ее производные являются компонентами АТФ, HS-КоА, ФАД, НАД, НАДФ<sup>+</sup>, РНК, ДНК. Модифицированный пентозофосфатный путь имеет место и в фотосинтезе при образовании глюкозы с участием СО<sub>2</sub>.

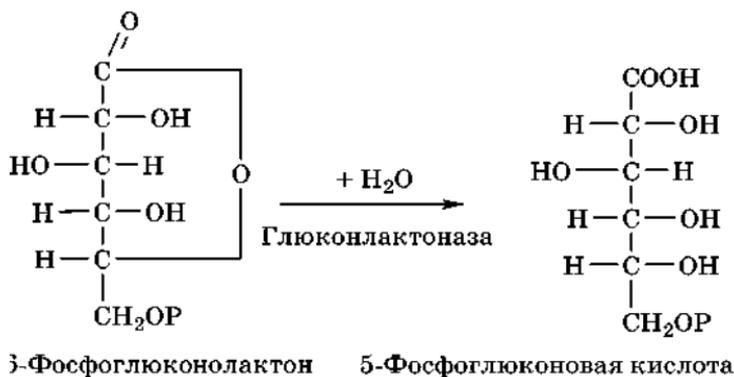
Использование изотопа <sup>14</sup>С показало, что уровень активности пентозофосфатного пути в щитовидной железе составляет 50%, в легких — 15%, в мозге — 10%, в печени — 5–10%. Этот

путь окисления глюкозы активен в молочной железе, семенниках, коре надпочечников, в которых интенсивно идут процессы синтеза жирных кислот, стероидов. Активность пентозофосфатного пути очень высокая в жировой ткани. Это является дополнительным свидетельством того, что основная роль пентозофосфатного пути заключается в получении НАДФН + H<sup>+</sup> для восстановительных синтезов.

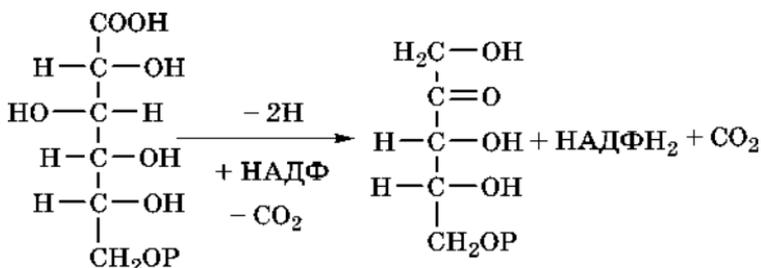
Пентозофосфатный путь начинается с глюкозо-6-фосфата, который претерпевает дегидрирование при участии фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и кофермента НАДФ<sup>+</sup>. Продуктом этой реакции является циклический эфир — 6-фосфоглюконолактон и НАДФН + H<sup>+</sup>:



Полученный 6-фосфоглюконолактон гидролизуется в 6-фосфоглюконовую кислоту:



Затем 6-фосфоглюконат-дегидрогеназа катализирует окислительное декарбоксилирование, что приводит к образованию рибулозо-5-фосфата (пентоза), НАДФН + H<sup>+</sup> и CO<sub>2</sub>:



**6-Фосфоглюконовая  
кислота**

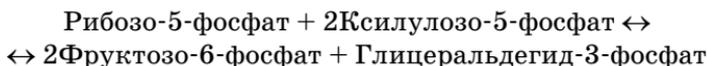
**Рибулозо-5-фосфат**

Таким образом, в окислительной стадии пентозофосфатного пути окисление одной молекулы глюкозо-6-фосфата приводит к получению двух молекул НАДФН + H<sup>+</sup>, одной молекулы рибулозо-5-фосфата и молекулы CO<sub>2</sub>.

Рибулозо-5-фосфат является субстратом для неокислительных реакций, являющихся окончанием этого пути.

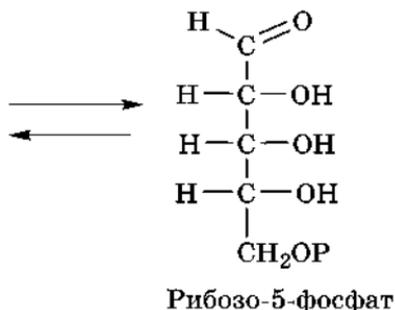
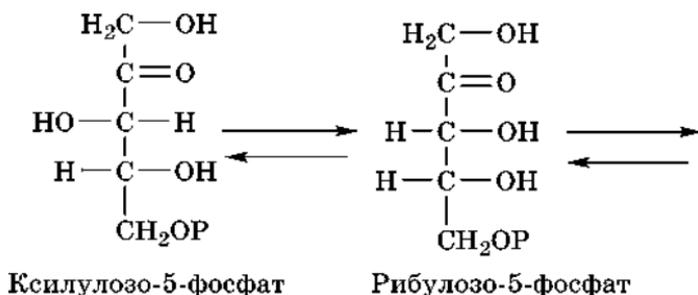
Неокислительная стадия пентозофосфатного пути является более сложной по сравнению с окислительной стадией. Она включает ряд обратимых реакций, которые приводят к превращению рибулозо-5-фосфата в рибозо-5-фосфат или ксилулозо-5-фосфат.

Эти три молекулы пентозофосфатов, производных трех молекул глюкозо-6-фосфата, могут быть превращены в две молекулы фруктозо-6-фосфата и одну молекулу глицеральдегид-3-фосфата:



В свою очередь фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат могут быть конвертированы в глюкозу. Поэтому неокислительный путь можно рассматривать как альтернативный для превращения пентоз в гексозы.

В скелетных мышцах, где нет активного синтеза жирных кислот и стероидных структур, отсутствует прямой синтез глюкозо-6-фосфата через пентозофосфатный путь. В этой ткани все



катаболические процессы осуществляются посредством гликолиза и цикла трикарбоновых кислот. В других тканях, например в печени, жировой ткани, имеет место пентозофосфатный путь и баланс между гликолизом и пентозофосфатным путем зависит от метаболических потребностей гепатоцитов. Ферменты пентозофосфатного пути локализируются в цитозоле, где имеет место синтез жирных кислот, зависимый от наличия НАДФН для восстановительных реакций.

### СИНТЕЗ ГЛИКОГЕНА (ГЛИКОГЕНЕЗ)

*Гликоген* — важнейший резерв энергии, быстро используемый в различных тканях организма, способных осуществлять его синтез и распад. Синтез и распад гликогена обеспечивают постоянство уровня глюкозы в крови. Гликоген запасается в цитоплазме в форме гранул от 10 до 40 нм в диаметре, которые содержат также ферментные системы его синтеза и распада. Активный синтез гликогена протекает в печени и мышцах.

При избытке углеводов в рационе животного глюкоза может быть быстро полимеризована в гликоген. В случаях потребности глюкозы ткани могут также быстро путем гликогенолиза освобождать глюкозу для гликолиза.

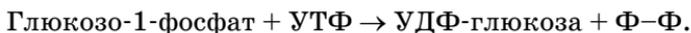
Гликоген — полисахарид, его молекула включает цепи остатков  $\alpha$ -глюкоз, связанных  $\alpha$ -1,4-гликозидными связями (при 1:10 ветвлениях альфа-1,6). Первая реакция синтеза гликогена из глюкозы катализируется глюкокиназой в печени и гексокиназой в периферических тканях:



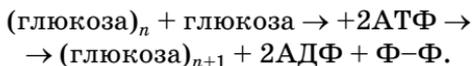
В следующей обратимой реакции глюкозо-6-фосфат превращается в глюкозо-1-фосфат с участием фосфоглюкомутазы:



Затем уникальная реакция, катализируемая УДФ-глюкопирофосфорилазой, приводит к получению активного комплекса — уридиндифосфоглюкозы (УДФ-глюкозы):



Гликогенсинтаза (1,4-глюкозилтрансфераза) обеспечивает присоединение молекулы глюкозы от УДФ-глюкозы на конец синтезируемой молекулы гликогена (глюкоза)<sub>n</sub>:



УДФ может быть обратно превращен в УТФ при участии фермента киназы:



В результате рассмотренных реакций молекула гликогена увеличивается на одно мономерное звено. Гликоген-синтазная реакция требует определенной биополимерной основы, к которой должны присоединяться гликозильные остатки. Начальный синтез каждой молекулы гликогена происходит с участием белка гликогенина, который и является такой «затравкой» или основой. Гликогенин реагирует с УДФ-глюкозой, чтобы образовать «гликозильный белок». При этом остатки глюкозы соединяются с тирозил-гидроксильными группами белка. Пос-

ле фиксации примерно 8 гликозильных остатков олигосахаридный белковый комплекс функционирует как органическая основа, к которой могут быть добавлены дополнительные гликозидные остатки, чтобы с участием гликоген-синтазы формировать окончательно макромолекулу гликогена.

Ветвление синтезируемой молекулы гликогена осуществляется под действием другого фермента — амило-(1,4-1,6)-глюкозилтрансферазы (фермента ветвления). Этот фермент катализирует перенос одного остатка глюкозы с конца растущей цепи на гидроксильную группу  $C_6$  в этой или другой цепи.

Концы цепей являются участками роста и распада молекул гликогена.

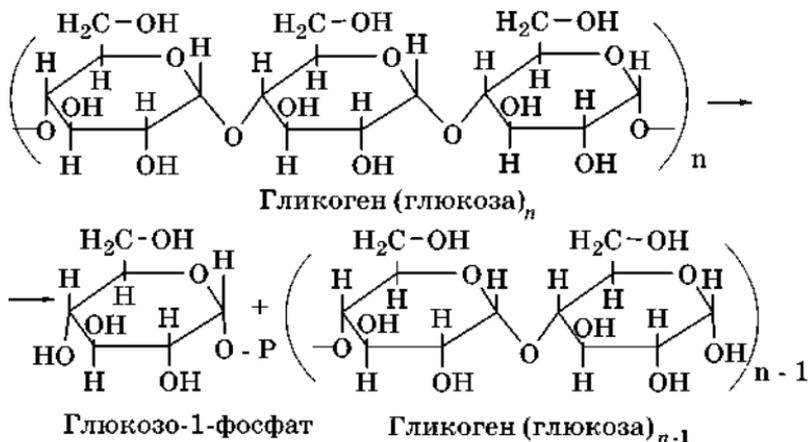
Гликоген — хороший источник энергии для различных тканей, поэтому организм синтезирует и депонирует его в основном в мышцах и печени. Однако почему глюкоза запасается в форме гликогена? Это объясняется тем, что, во-первых, жир в мышцах не может быть катаболизирован как источник энергии так быстро, как гликоген. Во-вторых, жир не может быть использован как источник энергии в анаэробных условиях. В-третьих, жир не может быть превращен в глюкозу обычным путем с целью поддержания уровня глюкозы для использования такой тканью, как мозг.

Почему глюкоза не депонируется в клетке в свободном виде? Глюкоза — осмотически активна, а значит, механизмом «помпы» она может поступать в клетки, достигая в них концентрации 400 мМ. Эта концентрация глюкозы в клетках печени вызвала бы значительное повышение содержания воды с последующим осмотическим лизисом гепатоцитов. Однако в форме внутриклеточного гликогена концентрация глюкозы составляет лишь 10 мМ, не изменяя осмотическое давление в клетках.

### РАСПАД ГЛИКОГЕНА (ГЛИКОГЕНОЛИЗ)

Для нормального метаболизма организма обычно достаточно глюкозы в кормах рациона животного. В противном случае могут быть мобилизованы резервы гликогена печени и мышечной ткани.

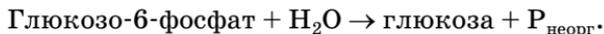
Распад гликогена осуществляется на основе последовательного удаления остатков глюкозы в виде глюкозо-1-фосфата. Первая реакция распада гликогена катализируется ферментом гликогенфосфорилазой. В ней участвует фосфат, а поэтому она носит название фосфорилаза. Реакция приводит к разрыву гликозидной связи  $\alpha$ -1,4 гликогена с получением глюкозо-1-фосфата:



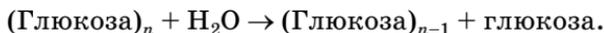
В следующей реакции происходит изомеризация глюкозо-1-фосфата под влиянием фермента фосфолюкомутазы с образованием глюкозо-6-фосфата:



В печени (но не в мышцах) глюкозо-6-фосфат, полученный в процессе распада гликогена, гидролизуется глюкозо-6-фосфатазой с выходом свободной глюкозы:



Общий баланс отрыва одного глюкозного остатка от молекулы гликогена в печени путем гликогенолиза можно представить следующим уравнением:



Следует отметить, что энергия в форме АТФ в процессе гликогенолиза не используется и не образуется. В периферических тканях глюкозо-6-фосфат, полученный в процессе гликолиза,

распадается до молочной кислоты в белой мышечной ткани и полностью окисляется до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  в красных мышцах.

Печень обладает огромной способностью запастись гликогеном. В печени человека содержание гликогена может достигать 10% сырой массы железы. Уровень гликогена в мышцах много меньше — 1–2% от общей их массы, однако количественно гликогена значительно больше в мышечной ткани животного, учитываемая отношение массы мышц к массе печени.

Гликоген мышц и печени выполняет различные роли. Мышечный гликоген служит резервом для синтеза АТФ для этой ткани, тогда как функция гликогена печени состоит в резерве глюкозы для поддержания концентрации свободной глюкозы в крови. Содержание гликогена в печени значительно варьирует в зависимости от уровня углеводов в рационе животного.

Процессы гликогенеза и гликогенолиза в печени функционируют как «буфер» уровня глюкозы в крови. Однако эта функция данных процессов малозначительна по отношению к мышечной ткани. Механическая работа является условием мобилизации мышечного гликогена в целях получения дополнительных количеств АТФ. Уровень использования гликогена зависит от типа (белый или красный) мышечного волокна. Красные мышечные волокна обладают богатой сетью кровеносных сосудов, содержат большое количество миоглобина и митохондрий. Внутри этих клеток гликоген трансформируется в пировиноградную кислоту, которая при наличии кислорода может быть окислена в  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

Процессы гликогенолиза и гликогенеза сопряжены с потребностями организма в глюкозе — источнике АТФ. Регуляция этих процессов представляется сложной. В ней участвуют аллостерические ферменты гликогенсинтаза и гликогенфосфорилаза. Их активность осуществляют гормоны — первые внеклеточные мессенджеры (глюкагон и адреналин) и циклический АМФ (цАМФ), вторичный внутриклеточный мессенджер.

Глюкагон обеспечивает гликогенолиз в печени за счет активации гликогенфосфорилазы. Глюкагон вызывает также угнетение активности гликогенсинтазы. Таким образом, глюкагон в печени обеспечивает распад гликогена для нормализации уровня глюкозы в крови. Адреналин, активируя гликогенфосфорилазу, стимулирует выведение свободной глюкозы из печени в кровь для нужд всех периферических органов организма.

## ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ

Запасов глюкозы и гликогена в организме животного достаточно лишь на 1–2 дня. Поэтому синтез глюкозы из общих метаболитов является очень важным для многих видов животных.

Синтез глюкозы из разнообразных не углеводной природы веществ (из молочной, пировиноградной и пропионовой кислот, глицерина, аминокислот, но не из гликогена), метаболизм которых способен привести к получению пировиноградной или щавелевоуксусной кислот, получил название глюконеогенеза. Глюконеогенез — это альтернативный путь синтеза глюкозы в организме.

Однако отметим, что жирные кислоты не являются субстратами для глюконеогенеза, так как при деградации конечным продуктом является ацетил-КоА, а животные не могут синтезировать сахара из ацетил-КоА. Аминокислоты лизин и лейцин также при распаде образуют ацетил-КоА и поэтому не участвуют в глюконеогенезе. Интересно, что важные потребители глюкозы — мозг и мышечная ткань — наделены очень низкой активностью синтеза глюкозы. Основные места глюконеогенеза — печень и почки, где активность этого процесса составляет 90 и 10% соответственно. Синтезированная в глюконеогенезе глюкоза поступает в кровь и используется в мозге, сердце, мышцах, эритроцитах на метаболические нужды. Напротив, пируват и лактат, получаемые в этих тканях, возвращаются в печень и почки как субстраты для глюконеогенеза.

Глюконеогенез — важнейший анаболический процесс для функционирования различных тканей. Уровень глюкозы должен быть постоянным для тканей, которые используют глюкозу как первичный энергетический субстрат. Это мозг, эритроциты, мозговая доля почек, хрусталик и роговица глаза, семенники и др. Даже в условиях, когда большая часть энергии обеспечивается за счет жиров, в организме всегда есть определенная потребность в глюкозе. Например, глюкоза является единственным источником энергии для работы скелетной мышцы в анаэробных условиях. Глюконеогенез является очень важным в период интенсивной физической нагрузки животного.

Глюконеогенез в печени осуществляется, в частности, из молочной кислоты, поступающей из мышц. Синтез глюкозы при

этом идет за счет обращения реакций гликолиза, из которых три являются необратимыми. В частности, иным путем идут реакции превращения пировиноградной кислоты в фосфоенолпировиноградную (реакция 12 гликолиза), фруктозо-1,6-дифосфата во фруктозо-6-фосфат (реакция 3) и глюкозо-6-фосфата в глюкозу (реакция 1).

Отдельным этапом в печени может служить конверсия молочной кислоты в пировиноградную, протекающую с участием ЛДГ; при этом генерируется НАДН + H<sup>+</sup>, необходимый для последующего этапа:



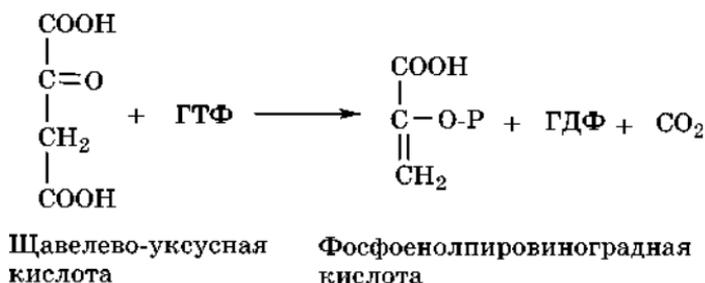
Превращение пировиноградной кислоты в фосфоенолпировиноградную кислоту начинается с взаимодействия пирувата с CO<sub>2</sub> и пируваткарбоксилазой при участии АТФ с образованием щавелево-уксусной кислоты:



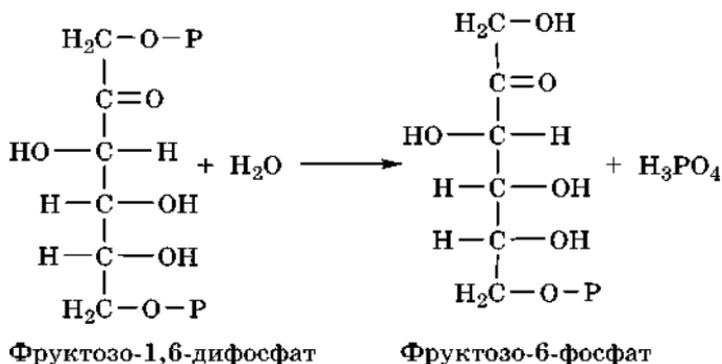
Фермент пируваткарбоксилаза содержит в своей структуре 4 молекулы витамина биотина, ковалентно связанные с апоферментом. Биотин в данном случае выполняет роль переносчика активного CO<sub>2</sub> на пировиноградную кислоту. Это аллостерический фермент, регуляция активности которого обеспечивается положительным модулятором ацетил-КоА.

Высокий уровень ацетил-КоА сопровождается повышением уровня щавелево-уксусной кислоты. При достатке АТФ последняя вступает в глюконеогенез, но при дефиците АТФ щавелево-уксусная кислота поступает в цикл трикарбонных кислот, конденсируясь с ацетил-КоА. Следовательно, активность пируваткарбоксилазы играет важную роль посредника в поддержании уровня лимонной кислоты для нужд цикла трикарбонных кислот.

Полученная щавелево-уксусная кислота декарбоксилируется и фосфорилируется при участии фосфоенолпируваткарбоксилазы и ГТФ, трансформируясь в фосфоенолпировиноградную кислоту:

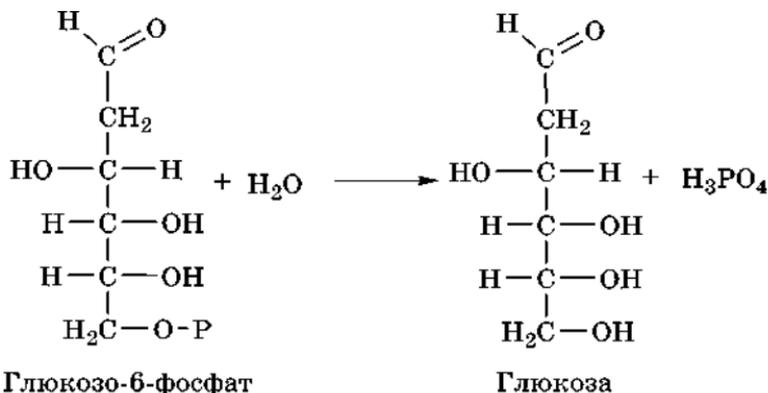


Дальнейшие реакции от фосфоенолпировиноградной кислоты до образования фруктозо-1,6-дифосфата представляют собой обратимые реакции гликолиза. Следующая необратимая реакция гликолиза — превращение фруктозо-1,6-дифосфата во фруктозо-6-фосфат протекает при участии фермента фруктозо-1,6-дифосфатазы:



Превращение фруктозо-6-фосфата в глюкозо-6-фосфат под влиянием фермента фосфоглюкоизомеразы является обратимой реакцией и протекает одинаково как в гликолизе, так и в глюконеогенезе.

Реакция перехода глюкозо-6-фосфата в глюкозу происходит при участии фермента глюкозо-6-фосфатазы вместо глюкокиназы в последней реакции:



Глюкозо-6-фосфатаза является уникальным ферментом глюконеогенеза. Фермент отсутствует в мозге и мышцах, а поэтому синтез свободной глюкозы в этих тканях невозможен. Генетические дефекты глюкозо-6-фосфатазы снижают активность глюконеогенеза, приводя к массивному отложению гликогена в печени.

Синтез глюкозы из лактата — энергозатратный процесс; на синтез одной молекулы глюкозы из двух молекул пировиноградной кислоты затрачивается 6 молекул АТФ, которые поступают в глюконеогенез за счет β-окисления жирных кислот.

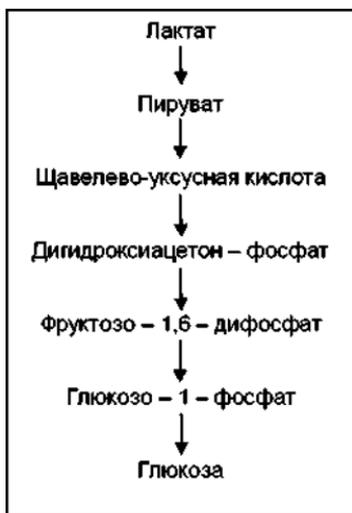
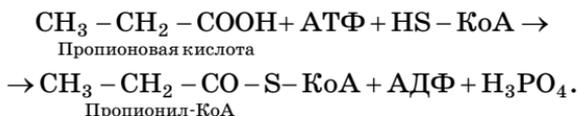


Схема глюконеогенеза с использованием лактата

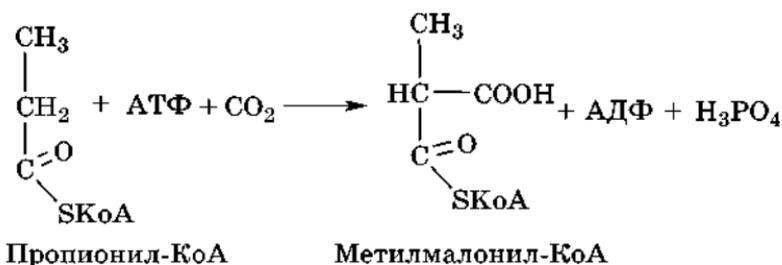
Глюконеогенез имеет важное значение для жвачных животных. Это объясняется тем, что в их рубце сбраживаются полисахариды с образованием летучих жирных кислот, которые и поступают в кровь. Поэтому из тонкой кишки в кровь поступает лишь небольшое количество свободной глюкозы. Однако отдельные органы, в частности молочная железа, требуют для синтеза лактозы наличия глюкозы. Источником глюкозы при этом и является процесс глюконеогенеза.

Глюконеогенез у жвачных животных активно протекает в печени из пропионовой кислоты, образующейся в рубце. Образование пропионовой кислоты имеет место при катаболизме валина и изолейцина и при конверсии холестерина в желчные кислоты.

На первом этапе глюконеогенеза пропионовая кислота переходит в свою активную форму — пропионил-КоА:



Затем пропионил-КоА при участии АТФ, угольной кислоты и биотин-зависимого фермента пропионил-КоА-карбоксилазы трансформируется в метилмалонил-КоА:



Метилмалонил-КоА под влиянием метилмалонил-КоА-мутазы (витамин В<sub>12</sub>-зависимый фермент) превращается в сукцинил-КоА, который в реакциях цикла трикарбоновых кислот переходит в щавелево-уксусную кислоту. В свою очередь щавелево-уксусная кислота дает образование фосфоенолпирувоградной кислоты, участника глюконеогенеза.

Большинство аминокислот могут участвовать в глюконеогенезе. Если катаболизм аминокислоты приводит к получению пирувата или щавелево-уксусной кислоты, то синтез глюкозы из этой аминокислоты возможен. Щавелево-уксусная кислота является главным посредником (метаболитом) глюконеогенеза, а пируват легко трансформируется в щавелево-уксусную кислоту под влиянием пируваткарбоксилазы.

Поскольку ацетил-КоА и другие метаболиты окисления «четных» жирных кислот не могут быть трансформированы в щавелево-уксусную кислоту или другие метаболиты глюконеогенеза, поэтому невозможен синтез глюкозы из жирных кислот. Однако синтез глюкозы в печени и почках возможен из глицерина, который является хорошим субстратом для глюконеогенеза. В этом случае глицерин переходит в диоксиацетонфосфат, который является компонентом гликолитической цепи; за счет прохождения реакций в обратном направлении он трансформируется в глюкозо-6-фосфат, вовлекаемый в синтез глюкозы.

Процесс гликолиза должен быть взаимосвязан с глюконеогенезом.

Поэтому при активном гликолизе глюконеогенез должен быть ингибирован, и напротив, при активном глюконеогенезе гликолиз ингибируется.

Метаболический путь глюконеогенеза находится в равновесии с распадом молочной кислоты. Гормональный контроль глюконеогенеза осуществляется в первую очередь за счет глюкагона и инсулина. В частности, глюкагон активирует аденилатциклазу, чтобы продуцировать цАМФ с последующей активацией протеинкиназы, пируваткиназы. Высокое глюкагон:инсулиновое отношение в крови животного повышает активность ферментов глюконеогенеза и снижает способность гликолиза в печени.

## РЕГУЛЯЦИЯ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

Глюкоза представляет собой основную форму углеводов, поступающих из пищеварительного тракта в кровотока. Она является специфическим субстратом, используемым отдельными специализированными клетками; в частности глюкоза — это основной источник энергии для мозга.

В организм животного с кормами поступают различные моно-, ди- и полисахариды, а в тканях происходит постоянный синтез и распад глюкозы. Однако концентрация глюкозы в крови остается относительно постоянной. Активная физическая нагрузка или углеводное голодание животного не сопровождаются значительными отклонениями концентрации глюкозы в крови от нормы. В условиях сбалансированного кормления животного концентрация глюкозы в крови и снабжение всех тканей поддерживаются в основном за счет синтеза и распада гликогена.

В целом углеводный обмен представляет собой большое количество ферментативных реакций, поэтому одной из возможностей его регуляции является путь изменения активности ферментов. Эти изменения могут быть достигнуты как в результате функционирующих молекул того или иного фермента, так и в результате активации или торможения биосинтеза новых молекул фермента. Таким образом, регуляция достигается по принципу обратной связи. Избыток субстрата, поступающего в клетку, инициирует синтез новых молекул фермента, необходимого для метаболизма этого субстрата. Накопление продуктов метаболизма субстрата в клетке приводит к торможению биосинтеза ферментов.

Следовательно, пусковым механизмом нейрогуморальной регуляции углеводного обмена является прежде всего концентрация глюкозы в крови животного. Установлено, что значительное падение концентрации глюкозы в крови приводит к рефлекторному возбуждению метаболических центров гипоталамуса. Возбуждение, возникающее в ЦНС, быстро распространяется по нервным путям спинного мозга, переходит в симпатическую нервную систему и достигает печени. Это вызывает распад части гликогена с образованием свободной глюкозы и повышением ее концентрации в крови.

Важную роль в регуляции обмена углеводов играют различные гормоны, выделение которых в кровь находится под контролем нервной системы. В этой регуляции следует отметить участие поджелудочной железы, надпочечников, щитовидной железы. В частности, инсулин — гормон поджелудочной железы, является единственным гормоном, снижающим уровень глюкозы в крови, благодаря усилению проницаемости клеточных мембран мышечных и жировых тканей и ускорению транспор-

та глюкозы внутрь этих клеток. Под влиянием инсулина усиливается превращение глюкозы в глюкозо-6-фосфат, центральный посредник дальнейшего метаболизма глюкозы. Инсулин воздействует на специфические рецепторы мембран клеток, а затем на запуск каскада реакций гликолиза.

Гормон поджелудочной железы глюкагон повышает концентрацию глюкозы в крови опосредованно, действуя на клетки различных органов через цАМФ. Последний активирует фосфоорилазу печени и таким образом повышает распад гликогена в этом органе и при этом ингибирует распад гликоген-синтазы, фермента синтеза гликогена. Оба эти механизма приводят к повышению концентрации глюкозы в крови. В случаях голодания глюкагон повышает активность глюконеогенеза в печени. Высокий уровень глюкозы в крови приводит к снижению секреции глюкагона и усилению секреции инсулина. Действие глюкагона менее выражено на клетки мышечной ткани.

Гормон мозгового слоя надпочечников адреналин, как и глюкагон, является гипергликемическим фактором. Под его влиянием происходит в конечном счете активизация фосфоорилазы и распад гликогена печени и мышц до глюкозы. Вероятно, адреналин и глюкагон воздействуют на различные рецепторы в клетках печени. В случаях «тревоги» адреналин активно обеспечивает мышечную ткань энергией за счет распада гликогена печени.

Глюкокортикоиды — гормоны коркового слоя надпочечников (кортизол и кортизон) индуцируют активность ключевых ферментов глюконеогенеза, что приводит к повышению уровня глюкозы в крови и гликогена в печени.

## НАРУШЕНИЯ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

В случаях неполноценного кормления, а также при различных болезнях животных наблюдаются нарушения основных обменов веществ, в том числе углеводного. Ряд нарушений углеводного обмена связан со стрессами, генетическими заболеваниями, недостаточностью отдельных ферментов (непереносимость лактозы, сахарозы).

Выраженные нарушения углеводного обмена наблюдаются, в частности, при кетозах крупного рогатого скота. При этом

отмечается снижение концентрации глюкозы в крови (гипогликемия) с повышением концентрации кетоновых тел (гиперкетонемия). Гипогликемия отмечается также и в случаях родильного пареза, атоний преджелудков у коров.

Гипогликемия имеет место при болезнях печени, гликогенной болезни, когда клетки печени теряют способность расщеплять гликоген с выходом глюкозы. Низкий уровень глюкозы в крови фиксируют при гипокортицизме, когда снижен синтез глюкокортикоидов коры надпочечников, а также при опухолях островковых клеток поджелудочной железы, синтезирующих инсулин, при передозировках противодиабетических препаратов, голодании, поражении почек, когда глюкоза выделяется с мочой.

Повышенное содержание глюкозы в крови (гипергликемия) часто указывает на наличие сахарного диабета (*diabetes mellitus*). У собак сахарный диабет наблюдается обычно в возрасте 7–9 лет, у кошек — старше 6 лет и в 3–4 раза чаще, чем у собак. При сахарном диабете нарушается поступление глюкозы в клетки, что приводит к гипергликемии. Причиной этого является неспособность поджелудочной железы выделять инсулин в кровь, или же неспособность инсулина связываться с соответствующими рецепторами и оказывать свой эффект (перенос глюкозы в клетки и последующее ее фосфорилирование). При этом низкий уровень инсулина сопровождается относительно высоким уровнем глюкагона; эта ситуация приводит к снижению гликолиза и стимуляции глюконеогенеза.

Высокое глюкагон:инсулиновое отношение в крови больных диабетом приводит к усилению распада гликогена. Экскреция глюкозы сопровождается выделением воды. Поэтому острая стадия диабета характеризуется голоданием и жаждой животного.

Нарушения углеводного обмена при сахарном диабете приводят к расстройствам жирового и белкового обменов. Жирные кислоты быстро поступают в митохондрии, так как карнитин-ацилтрансфераза является высокоактивной как следствие низкого уровня малонил-КоА. При этом происходит накопление молекул ацетил-КоА в результате  $\beta$ -окисления жирных кислот. Однако большинство молекул ацетил-КоА не может поступить в цикл трикарбонных кислот, так как проявляется дефицит щавелево-уксусной кислоты, что вызывает реакции конденсации (синтеза кетоновых тел).

## ГЛАВА 6. ОБМЕН ЛИПИДОВ

---

**Л**ипиды — химически разнообразные по структуре и функциям биомолекулы, плохо растворимые в воде и хорошо растворимые в органических растворителях (в хлороформе, спиртах).

Важнейшая функция липидов и в первую очередь триглицеридов — депонирование химической энергии: окисление 1 г липидов в организме приводит к получению 38,9 кДж (9,3 ккал), тогда как окисление 1 г углеводов дает 4,2 ккал (17 кДж). Запасов липидов (подкожный жир, жир брюшной полости) у человека как источников энергии достаточно на несколько месяцев, но энергии гликогена достаточно лишь на одни сутки. Другие группы липидов, хотя и в меньших количествах, участвуют в переносе электронов, являются «якорями» для белков, агентами эмульсии в пищеварительном тракте, внутриклеточными мессенджерами, аллостерическими активаторами ферментов мембран, а также структурными компонентами различных мембран всех клеток.

Простыми структурами липидов являются триглицериды (точнее — триацилглицериды). Их молекулы включают три жирные кислоты, каждая из которых связана в виде сложного эфира с единственной молекулой спирта глицерина. Большинство природных триглицеридов содержат две или более различных жирных кислот. Более часто жирная кислота в составе триглицеридов в положении С-2 является ненасыщенной. Большинство жирных кислот в организме животного имеет четное

число атомов углерода (14–24). Жирные кислоты являются насыщенными или ненасыщенными. Структура ненасыщенных жирных кислот представляется гибкой, в отличие от жесткой структуры насыщенных кислот. Ненасыщенные жирные кислоты преобладают в высших растениях. Число двойных связей в молекулах ненасыщенных жирных кислот варьирует от одной до четырех. При этом двойные связи натуральных жирных кислот почти всегда находятся в *цис*-конфигурации. Отметим, что *транс*-конфигурация двойных связей формируется при каталитической гидрогенизации растительных масел при производстве маргарина.

Триглицериды тканей животных содержат больше насыщенных жирных кислот по сравнению с растительными маслами. Исключение составляет кокосовое масло, содержащее около 86% насыщенных жирных кислот. Продукты с большим содержанием растительных масел под влиянием кислорода воздуха подвергаются прогорканию, что является результатом разрыва непредельных связей ненасыщенных жирных кислот с образованием альдегидов и карбоновых кислот. Отдельные непредельные жирные кислоты (линолевая, линоленовая) не синтезируются у млекопитающих, но являются необходимыми для их роста и развития. Непредельная арахидоновая кислота не синтезируется в растениях, но может синтезироваться у млекопитающих из линолевой кислоты. Непредельные жирные кислоты служат предшественниками эйкозаноидов — «внутриклеточных гормонов», участвующих во многих физиологических процессах.

## ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ ЛИПИДОВ

Жиры составляют большую часть рациона плотоядных, тогда как в рационах травоядных они представляют менее 10%. В дополнение к триглицеридам растительные корма содержат галакто-глицериды и фосфолипиды, а корма животного происхождения содержат эфиры холестерина и фосфолипиды.

Корма животных более чем на 90% представлены триглицеридами. Обычные триглицериды кормов — 16:0, 18:0, 18:1,

например, являются тристеарином, трипальмитином и триолеином соответственно.

Липиды кормов растительного и животного происхождения поступают в ротовую полость животного, где они не претерпевают каких-либо ферментативных превращений, так как слюна не содержит липолитических ферментов. У взрослых животных с однокамерным желудком липиды кормов в желудке подвергаются воздействию желудочной липазы, однако активность этого фермента при pH 1,5–2,0 низкая. Полагают, что желудочная липаза способна переваривать лишь липиды молока, находящиеся в высокоэмульгированном состоянии у новорожденных, у которых pH сока достигает 5,0, тогда как у взрослых животных она теряет эту способность. Следует отметить, что в молоке млекопитающих также есть специфическая липаза, расщепляющая триглицериды молока.

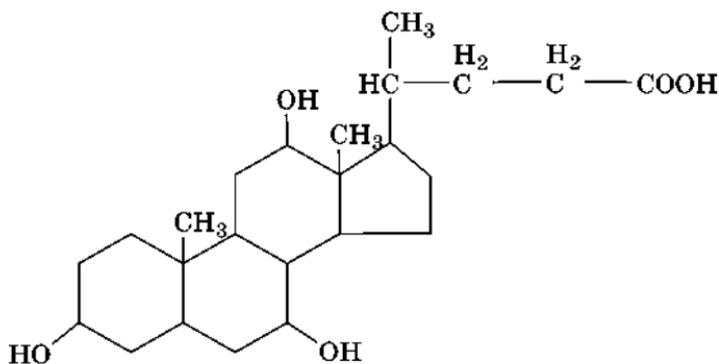
У жвачных животных липиды кормов подвергаются действию липолитических ферментов микрофлоры рубца. Из преджелудков как жиры кормов, так и продукты их гидролиза поступают в сычуг, затем в тонкий кишечник, где и происходит их окончательный распад, транспорт в эпителиоциты кишечника и всасывание. Гидролизу молекул жиров предшествует процесс эмульгирования. В тонком кишечнике имеются условия для эмульгирования жиров или смешивания их с водой.

Эмульгирование жиров ускоряет связи между водой и жиром, что увеличивает поверхность субстрата и его взаимодействие с ферментом, поджелудочной липазой. Помимо свойств эмульгирования капелек жиров, соли желчных кислот и продукты гидролиза жиров формируют мицеллы как транспортеры продуктов распада жиров. Мицеллы хорошо растворимы в водной фазе содержимого тонкого кишечника. Они поступают на уровень микроворсинок, откуда свободные жирные кислоты, холестерин, моноглицериды и жирорастворимые витамины диффундируют сквозь клеточные мембраны эпителия кишечника. Внутри эпителиальных клеток моноглицериды способны с жирными кислотами ресинтезировать триглицериды.

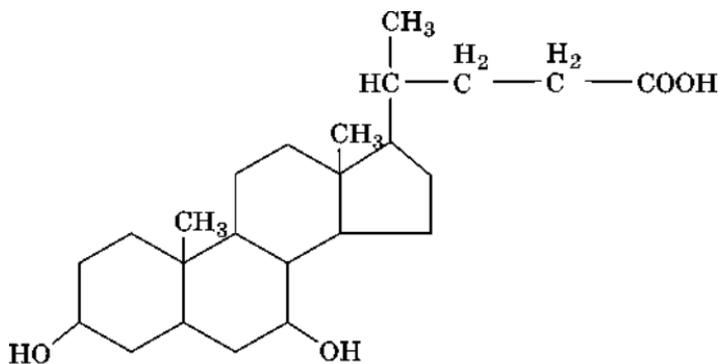
Для эмульгирования жиров в тонком кишечнике присутствует желчь, секрет печеночных клеток. Печень крупного рогатого скота вырабатывает 5–7 л желчи в сутки, у крупных собак — 0,2–0,3 л. При поступлении кормов в кишечник клетки

слизистой оболочки тонкого кишечника секретируют в кровь гормон холецистокинин, который стимулирует сокращение желчного пузыря и синтез поджелудочной липазы. В составе желчи 96–99% воды, а основу плотного остатка составляют желчные кислоты (0,5–1,5%), холестерол, фосфолипиды, гормоны, минеральные вещества.

Предшественником желчных кислот является холестерин. Первичные желчные кислоты — холевая и хенодезоксихолевая, являются конечными продуктами обмена холестерина в печени.

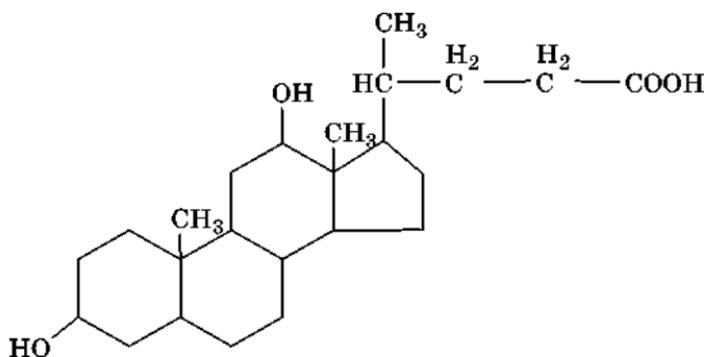


Холевая кислота

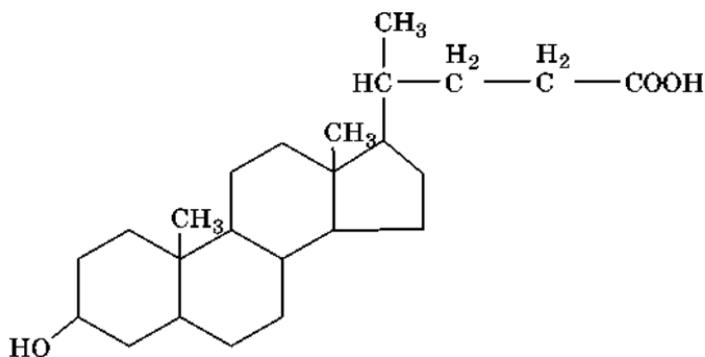


Хенодезоксихолевая кислота

Под влиянием бактерий кишечника эти кислоты трансформируются в дезоксихолевую и литохолевую кислоту соответственно.

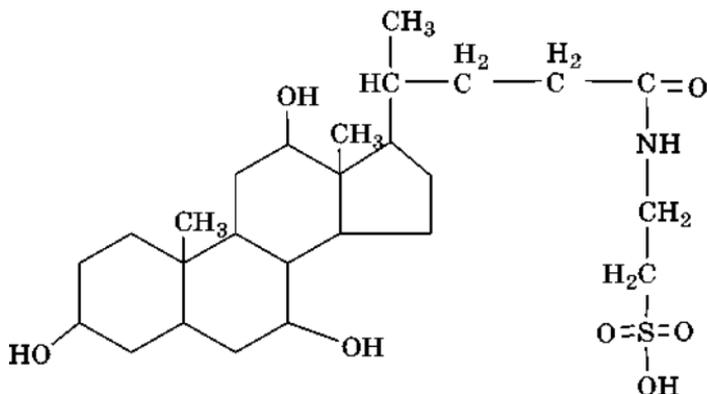


Дезоксихолевая кислота



Литохолевая кислота

Находящиеся в желчи желчные кислоты в виде натриевых солей конъюгируют с глицином ( $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$ ) или таурином ( $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-SO}_3\text{H}$ ). Данные комплексы, или парные соединения, конъюгаты, снижают поверхностное натяжение жировых капель и таким образом обеспечивают основную степень их эмульгирования. Основным конъюгатом желчи является таурохолевая кислота:



Таурохолевая кислота

Желчные кислоты не только увеличивают поверхность субстрата, но и оказывают активирующее воздействие на сам фермент, поджелудочную липазу. Тонко эмульгированные жиры (рыбий жир, молочный жир) способны всасываться через стенку кишечника без предварительного гидролиза и поступать в лимфатическую систему.

Желчь участвует в нейтрализации кислого химуса, что необходимо для проявления активности ферментов панкреатического и кишечного секретов. Кислое содержимое химуса из желудка стимулирует выделение пептидного гормона — секретина, который, в дополнение к увеличению секреции  $\text{HCO}_3^-$  поджелудочной железой, также повышает продукцию  $\text{HCO}_3^-$  в печени, способствуя нейтрализации кислого химуса, поступившего из желудка в тонкий кишечник. При этом гормон холецистокинин слизистой тонкого кишечника вызывает сокращение желчного пузыря. За счет щелочной среды тонкого кишечника жирные кислоты образуют поверхностно-активные вещества, которые также являются хорошими эмульгаторами жиров. Распад жировой эмульсии на мелкие частицы облегчает воздействие на них липазы поджелудочной железы.

Панкреатическая липаза (м. м. = 45 000–50 000) является основным липолитическим ферментом для гидролиза триглицеридов. Колипаза — низкомолекулярный белок (м. м. = 10 000), продуцируемый поджелудочной железой, является активатором панкреатической липазы. Липаза специфична в отноше-

нии гидролиза внешних эфирных связей молекулы триглицерида. Поэтому вначале гидролиз приводит к получению 2-моноголицирида (72%), который в результате медленного процесса изомеризации переходит в 1-моноголицирид (6%) и только менее одной четверти (22%) триглицерида полностью распадается на глицерин и свободные жирные кислоты. Таким образом, 2-моноголицирид, 1-моноголицирид и жирные кислоты в указанном соотношении и являются конечными продуктами переваривания глицеридов. Сок поджелудочной железы также содержит эстеразу, которая действует на моноголицириды, эфиры холестерина и эфиры витамина А.

Глицерин (трехатомный спирт) водорастворим и поэтому легко всасывается из кишечника, поступаая в воротную систему кровообращения. Жирные кислоты с короткой углеродной цепью ( $C_{10}$ ) также легко поступают в кровь, а затем в печень. Для абсорбции жирных кислот с более длинными углеродными цепями (свыше  $C_{12}$ ) необходимо участие желчных кислот, с которыми они образуют так называемые растворимые холеиновые комплексы. Холеиновые комплексы (1 молекула жирной кислоты и 2–3 молекулы желчных кислот) активно проникают в стенку тонкого кишечника, где и распадаются. При этом жирная кислота может использоваться на синтез собственных триглицеридов организма животного, а желчные кислоты поступают по системе воротной вены в печень, откуда в составе желчи вновь поступают в просвет кишечника. Рециркуляция желчных кислот между печенью и кишечником носит название кишечнопеченочной циркуляции. Одна молекула желчной кислоты способна циркулировать в кишечнопеченочном цикле 5–10 раз в течение суток.

Желчные кислоты — холевая, дезоксихолевая, хенодезоксихолевая и их конъюгаты, кроме литохолевой кислоты, постоянно участвуют в кишечнопеченочном цикле. Литохолевая кислота, продуцируемая за счет ферментов микрофлоры кишечника, взаимодействует с серной кислотой при следующем транзите сквозь печень и экскретируется с фекалиями. Потери с фекалиями составляют примерно 5% количества желчных кислот, экскретируемых печенью, а оставшиеся 95% повторно поступают в печень. Потери желчных кислот с фекалиями возмещаются за счет их синтеза в печени.

В эпителиальных клетках тонкого кишечника моноглицериды взаимодействуют с жирными кислотами, образуя собственные триглицериды. Этот процесс идет в эндоплазматическом ретикулуме клеток. Синтезированные в стенке кишечника молекулы триглицеридов образуют с белком стабильные комплексы — хиломикроны (от *греч.* chyle — сок). Поэтому хиломикроны являются липопротеинами. Хиломикроны содержат также холестерол, абсорбированный из кишечника, и фосфолипиды, синтезируемые в эпителиальных клетках кишечника. По причине сравнительно большого размера (0,004 мкм) хиломикроны, накапливаясь в аппарате Гольджи эпителиальных клеток, поступают не в кровь, а в лимфатические сосуды кишечника, откуда переходят в сосуды кровеносной системы жировой ткани без прохождения через печень. Жирорастворимые соединения, такие как витамины Е и К, абсорбируются вместе с жирами. У птиц триглицериды из энтероцитов поступают через порталную систему непосредственно в печень и общий кровоток.

Внутри клеток печени, а также на их поверхности триглицериды хиломикронов гидролизуются. Поступившие в жировую ткань триглицериды хиломикронов гидролизуются на поверхности эндотелия капилляров ткани. При этом часть образовавшихся жирных кислот запасается внутри жировых клеток, другая их часть связывается с альбуминами и покидает жировую ткань.

## БИОСИНТЕЗ ТРИГЛИЦЕРИДОВ

Триглицериды поступают в организм с кормами (экзогенный путь), но также образуются в самом организме из углеводов, белков, если они поступают в избытке в составе кормов.

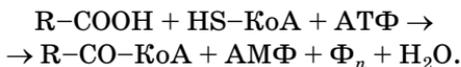
Триглицериды запасаются в адипоцитах жировой ткани, составляя энергетический резерв организма. Жировые клетки специализированы для синтеза триглицеридов, их мобилизации и транспорта кровью в другие ткани. Триглицериды составляют 99% массы всех липидов и около 15% массы тела животного.

Триглицериды — жиры, содержащие в своем составе глицерин, связанный с тремя жирными кислотами эфирными связями. Обычно в составе молекулы триглицерида находятся различные жирные кислоты, при этом жирная кислота во втором положении глицерина является ненасыщенной. Жиры рыб и растений содержат больше полиненасыщенных жирных кислот, чем кислоты млекопитающих и птиц. Исключение составляет кокосовое масло, которое содержит около 86% насыщенных жирных кислот (Roskoski R., 1996). Почти все жирные кислоты в природе содержат четное число атомов углерода.

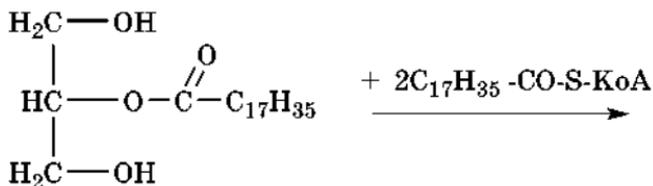
Примерно 20 различных жирных кислот находится в составе триглицеридов животных, из них 45% составляет олеиновая, 10% — линолевая, 20% — пальмитиновая, 6% — стеариновая. Состав жирных кислот в молекулах триглицеридов может меняться в зависимости от вида кормов рациона животного. Молоко млекопитающих содержит жиры также в форме триглицеридов, но с большим числом короткоцепных жирных кислот (4–12 атомов углерода). Активный синтез триглицеридов имеет место в эпителии тонкого кишечника, печени, адипоцитах и молочной железе в период лактации.

Различают два пути биосинтеза триглицеридов. Первый путь — биосинтез триглицеридов в кишечном эпителии с использованием 2-моноглицерида и жирных кислот, поступающих из кишечника, и жирных кислот, полученных в результате липолиза жировой ткани или за счет «печеночного» биосинтеза. При этом синтезируется жир, характерный по химическому составу для данного вида животного.

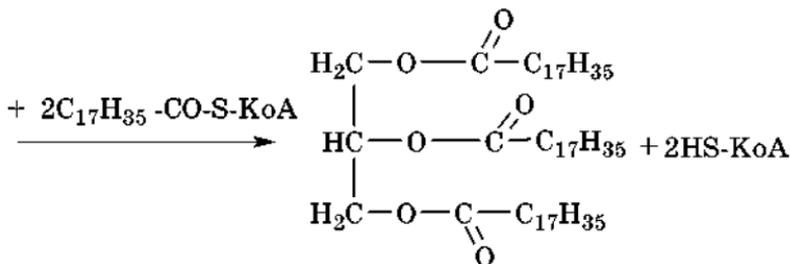
В реакцию этерификации должны вступать активированные жирные кислоты в виде производных HS–КоА. Поэтому вначале происходит реакция активации жирных кислот, катализируемая ацил-КоА-синтетазой:



При участии фермента ацилтрансферазы 2-моноглицерид вступает в реакцию с активированной жирной кислотой (R–CO–S–КоА):

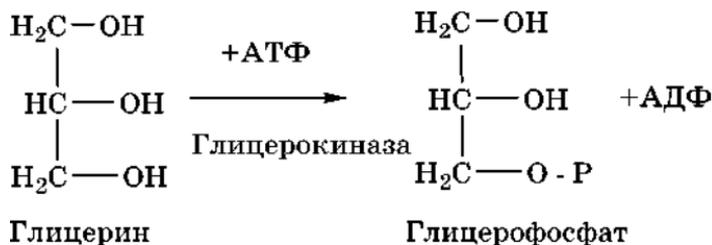


2-Моностеарин

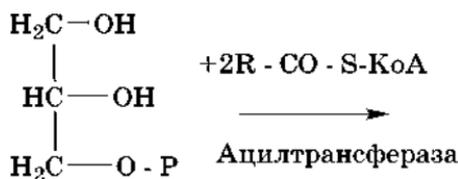


Тристеарин

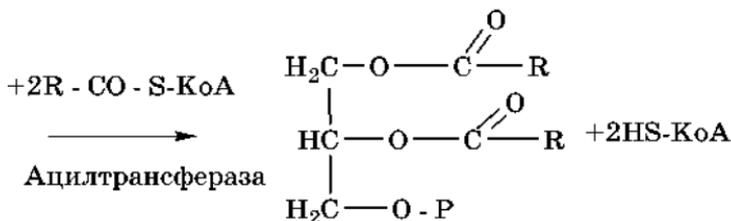
Второй путь синтеза триглицеридов активно протекает в печени, жировой ткани, почках через образование фосфатидной кислоты, ключевого посредника в синтезе других липидов. В первой реакции происходит синтез глицерофосфата:



Полученный глицерофосфат взаимодействует с двумя активированными молекулами жирных кислот, что приводит к получению диацилглицерида — фосфатидной кислоты:

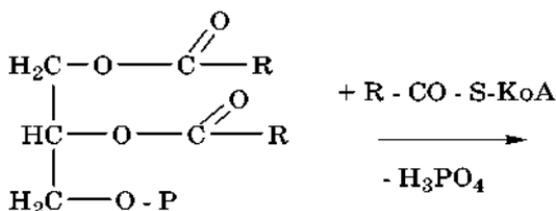


Глицерофосфат

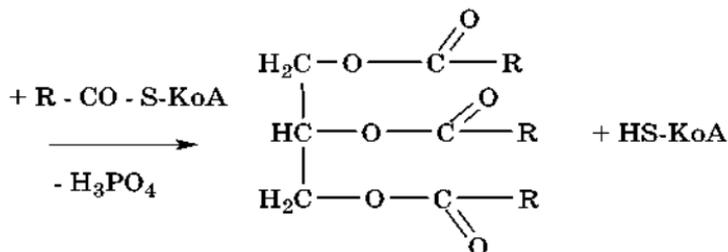


Фосфатидная кислота

В следующей реакции удаление фосфорной кислоты и присоединение к фосфатидной кислоте еще одной активированной молекулы жирной кислоты приводит к превращению фосфатидной кислоты в молекулу триглицерида:



Фосфатидная кислота



Триглицерид

Большинство тканей в организме способно превращать жирные кислоты в триглицериды, но печень и жировая ткань выполняют эту роль в наибольшей мере. Жировая ткань — специализированная соединительная ткань, обеспечивающая гомеостатическую ситуацию за счет постоянного синтеза и распада триглицеридов. Депонирование триглицеридов происходит также в скелетных и сердечной мышцах, но только для «местного» использования.

Триглицериды, синтезируемые в печени, используются в первую очередь для синтеза липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП), поступающих в кровь, хотя они могут служить и как источники энергии для других функций печени.

Процесс синтеза триглицеридов должен быть сбалансирован с процессом гидролиза триглицеридов (липолиз), чтобы избежать «ожирения» тканей и обеспечить адекватность запасов энергии в организме. Жирные кислоты и глицерин, полученные за счет гидролиза триглицеридов под влиянием тканевых липаз, используются в циркуляции крови, где они связываются с альбуминами и транспортируются в места их использования. Вновь синтезируемые триглицериды перед тем, как использоваться тканями, должны обязательно определенное время находиться в жировых депо.

В жировых депо триглицериды образуют крупные жировые капли в цитоплазме, которые являются компактной формой этого резерва энергии. Жировые депо в организме животного представлены подкожным жировым слоем и большим и малым сальниками в брюшной полости.

## ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ЛИПОЛИЗ

Транспорт холестерина и триглицеридов в организме требует создания липопротеиновой транспортной системы. Плотность липопротеинов обратимо связана с уровнем их липидов: при высоком содержании липидов снижается плотность липопротеинов. Основные функции липопротеинов — транспортировать липиды кормов из слизистой кишечника в другие ткани (экзогенный транспорт липидов); переносить триглицериды и холестерин из печени в другие ткани (эндогенный

транспорт липидов); переносить холестерин из периферических тканей в печень (обратный транспорт холестерина).

В крови липопротеинлипаза гидролизует триглицериды, находящиеся в составе липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) и хиломикронов, до глицерина и жирных кислот. Фермент локализуется на поверхности эндотелиальных клеток капилляров, где связан с гепарином. Липопротеинлипаза синтезируется в жировой и мышечной тканях, в легких, селезенке, клетках молочной железы. Липопротеинлипаза гидролизует триглицериды в составе ЛПОНП в сердечной мышце, и жирные кислоты используются этой тканью как источники энергии.

В печени отсутствует липопротеинлипаза, но есть другой фермент — печеночная липаза, гидролизующая триглицериды и фосфолипиды липопротеинов высокой плотности (ЛПВП).

Катаболизм запасных жиров начинается с гидролиза триглицеридов жировой ткани под влиянием специфических тканевых липаз, активность которых регулируется адреналином, глюкагоном и адренокортикотропным гормоном. Эти гормоны активируют аденилатциклазу в жировых клетках через адренэргические рецепторы. Повышение при этом уровня цАМФ приводит к стимуляции протеин-липазы А, которая активирует липазу за счет фосфорилирования. В конечном счете данные гормоны индуцируют липолиз. Однако инсулин угнетает липолиз: в результате действия инсулина на обмен жиров в печени происходит активация синтеза триглицеридов и транспорт их в кровь в составе ЛПОНП. ЛПОНП транспортируют триглицериды в капилляры жировой ткани, в которой липопротеинлипаза обеспечивает перевод жирных кислот в адипоциты, в которых они депонируются в составе триглицеридов.

При гидролизе триглицеридов жировой ткани под влиянием тканевых липаз глицерин возвращается в печень, где трансформируется в дигидроксиацетонфосфат и вступает в процесс гликолиза или глюконеогенеза.

Другим эндогенным источником жирных кислот как энергетического резерва являются фосфолипиды мембран клеток. Под действием тканевых фосфолипаз фосфолипиды гидролизуются с получением свободных жирных кислот. При этом спирт

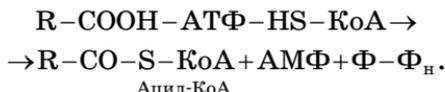
глицерин как водорастворимое вещество транспортируется кровью в свободном виде в печень, а гидрофобные жирные кислоты связываются с белком плазмы — альбумином.

## β-ОКИСЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Триглицериды в форме хиломикрон из эпителиальных клеток тонкого кишечника поступают в печень, легкие, сердце, мышцы и другие органы, где они гидролизуются на глицерин и жирные кислоты. Последние могут быть окислены в высокоэнергетическом метаболическом пути, известном как β-окисление.

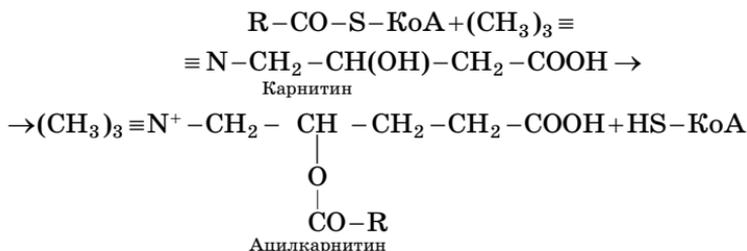
Основным органом окисления жирных кислот является печень животного. В составе жиров, как правило, находятся жирные кислоты с четным числом углеродных атомов. Важнейшим путем их окисления является путь β-окисления. Процесс окисления жирной кислоты с четным числом атомов углерода (гипотеза немецкого биохимика Кнопфа Ф., 1904 г.) включает последовательное удаление двууглеродных фрагментов кислоты, начиная с ее карбоксильного конца, с получением на конечном этапе двух молекул уксусной кислоты. Данный катаболический путь получил такое название (β-окисление), потому что основные реакции окисления жирной кислоты протекают в положении β-углеродного атома. β-окисление жирных кислот является основным процессом получения энергии из жиров для различных тканей организма животного (сердечная мышца, почки, красные скелетные мышцы).

Процесс β-окисления жирной кислоты происходит исключительно в аэробных условиях и начинается с образования тиолового эфира с участием жирной кислоты и HS-CoA, находящегося в цитозоле. Эта реакция активации жирной кислоты протекает при участии АТФ и фермента ацил-CoA-синтетазы (ацил-CoA-лигазы).



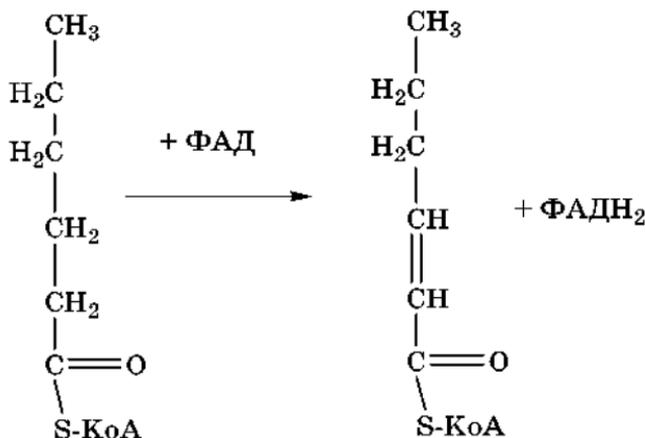
Полученный ацил-КоА имеет богатую тиоэфирную связь. Эта реакция с участием длинноцепочечной жирной кислоты протекает на внешней митохондриальной мембране, но может быть и на поверхности эндоплазматического ретикулума, поступаая затем в матрикс митохондрии. Реакция активации более коротких жирных кислот имеет место в матриксе митохондрии.

Для транспорта активной формы жирной кислоты (ацил-КоА) в матрикс митохондрии — место окисления жирной кислоты, в цитозоле имеется специальный переносчик — карнитин, который в комплексе с ацил-КоА способен проникать через внутреннюю мембрану внутрь митохондрий. Реакция образования ацилкарнитина катализируется карнитин-ацил-КоА-трансферазой I:



На внутренней мембране митохондрий карнитин-ацил-КоА-трансфераза II катализирует распад ацилкарнитина с получением ацил-КоА и свободного карнитина, который поступает обратно в цитозоль. Карнитин синтезируется в тканях из аминокислот лизина и метионина. В матриксе жирная кислота поступает на внутримитохондриальный HS-CoA и вступает в реакции β-окисления. Однако короткоцепные жирные кислоты (4–12 атомов углерода) могут поступать сквозь внутреннюю митохондриальную мембрану в матрикс без транспортера и быть активированными за счет HS-CoA в матриксе.

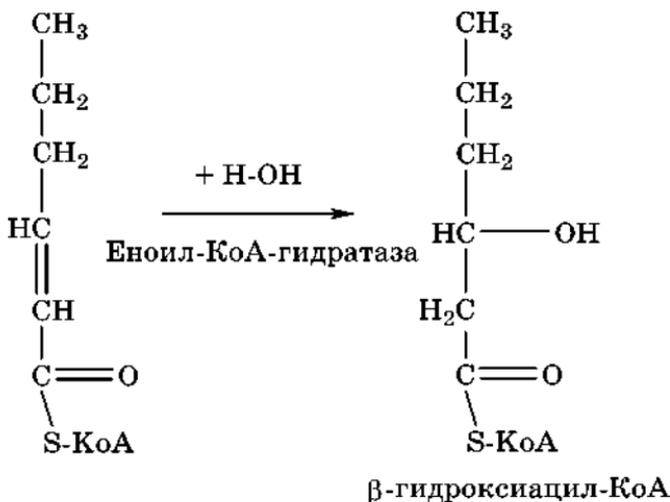
Рассмотрим процесс β-окисления на примере окисления активной формы капроновой кислоты. На первом этапе капронил-S-CoA подвергается ферментативному дегидрированию, взаимодействуя с ФАД-содержащим ферментом — ацил-КоА-дегидрогеназой:



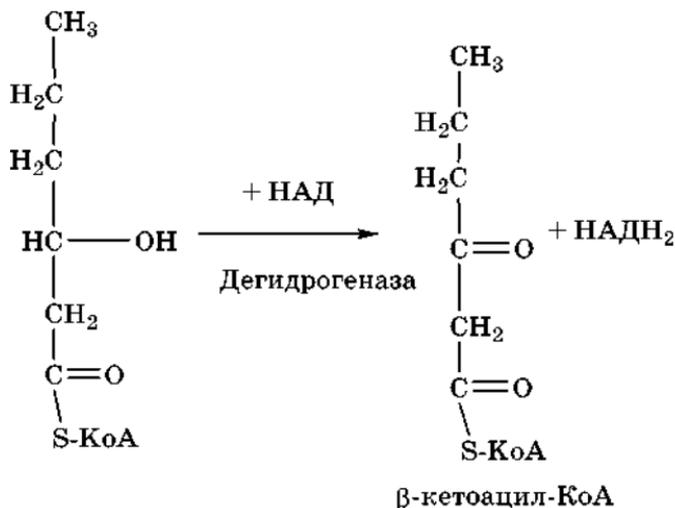
Капронил-КоА      КоА-эфир ненасыщенной кислоты

Восстановленный кофермент (ФАДН<sub>2</sub>) передает атомы водорода на коэнзим Q дыхательной цепи с последующими реакциями получения энергии в количестве двух молекул АТФ.

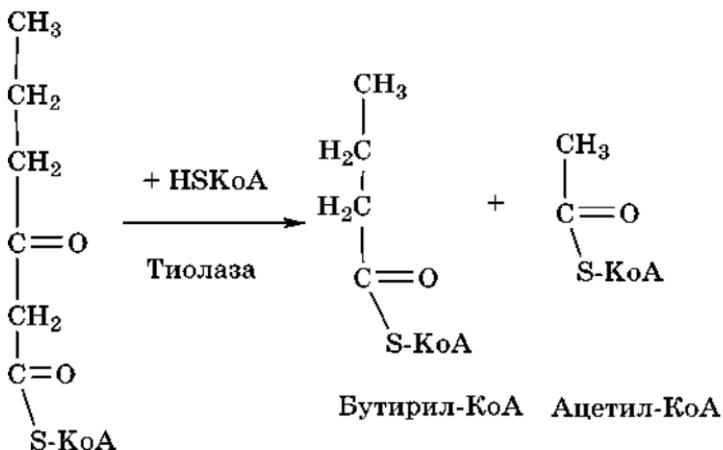
На следующем этапе происходит гидратация полученной ненасыщенной кислоты в β-положении при участии еноил-КоА-гидратазы:



Последующая реакция дегидрирования  $\beta$ -гидроксиацил-КоА протекает с участием  $\beta$ -оксиацил-КоА-дегидрогеназы с коферментом НАД:



При участии фермента тиолазы и HS-КоА происходит расщепление  $\beta$ -кетоацил-КоА с образованием бутирил-КоА и двухуглеродного остатка — ацетил-КоА; углеродный скелет капроил-КоА укорачивается на два атома углерода:



Полученный ацетил-КоА может окисляться в цикле трикарбоновых кислот с образованием энергии или использоваться в различных синтезах. В свою очередь полученный бутирил-КоА претерпевает все реакции  $\beta$ -окисления (дегидрирование, гидратация, отщепление ацетил-КоА), распадаясь в конечном счете до двух молекул ацетил-КоА.

Выполним расчет получения энергии в форме АТФ при  $\beta$ -окислении, например, молекулы стеариновой кислоты ( $C_{17}H_{35}COOH$ ). Следует напомнить, что участие в процессе восстановленного ФАД приводит к получению двух молекул АТФ, а участие каждого НАДН +  $H^+$  дает три молекулы АТФ при прохождении их в цепи транспорта электронов (см. главу «Биологическое окисление...»). При ее распаде происходят 8 указанных выше циклов с выходом 5 молекул АТФ в каждом. При этом образуется всего 40 молекул АТФ ( $5 \cdot 8 = 40$  молекул АТФ). Окисление стеариновой кислоты дает образование 9 молекул ацетил-КоА ( $18:2 = 9$ ). Сгорание всех 9 молекул ацетил-КоА в цикле трикарбоновых кислот (окисление одной молекулы ацетил-КоА в цикле сопровождается получением 12 молекул АТФ) дает выход 108 молекул АТФ ( $12 \cdot 9 = 108$  молекул АТФ).

Таким образом, при полном окислении одной молекулы стеариновой кислоты выход энергии составляет  $40 + 108 = 148$  молекул АТФ. Поскольку одна молекула АТФ затрачивается для первоначальной активации жирной кислоты, то всего образуется 147 молекул АТФ.

Если сравнить результат окисления стеариновой кислоты с полным окислением трех молекул глюкозы (18 атомов), то можно подсчитать, что при окислении глюкозы получают 114 молекул АТФ. Следовательно, более высокая степень восстановленности жирных кислот по сравнению с углеводами позволяет получить из них больший выход энергии в форме АТФ.

Скорость процесса  $\beta$ -окисления зависит от наличия в тканях карнитина и ключевого фермента карнитин-ацилтрансферазы.

Окисление жирных кислот с нечетным числом атомов углерода также включает описанные реакции  $\beta$ -окисления, но в этом случае последняя реакция приводит к образованию одной молекулы ацетил-КоА и одной молекулы пропионил-КоА. Пропионил-КоА через метилмалонил-КоА трансформируется в сукцинил-КоА, компонент цикла трикарбоновых кислот.

В организме животного значительная доля жирных кислот представлена ненасыщенными жирными кислотами.  $\beta$ -окисление ненасыщенных жирных кислот с четным числом атомов углерода при участии дополнительных ферментных систем происходит так же, как и насыщенных. В частности, необходим фермент еноил-КоА изомераза, который перемещает двойную связь из положения 3, 4 в положение 2, 3 и при этом изменяет *цис*-структуру двойной связи на *транс*-, необходимую для  $\beta$ -окисления. Также необходим перевод двойных связей ненасыщенной кислоты с участием НАДФН +  $H^+$ , что снижает выход энергии на три молекулы АТФ на каждую ненасыщенную связь. Например, наличие двух ненасыщенных связей в молекуле линолевой кислоты уменьшает выход АТФ на 6 молекул по сравнению с соответствующей насыщенной кислотой.

Липиды мозга (в частности, сфинголипиды) содержат жирные кислоты с углеродной цепью свыше 20 атомов углерода. Они окисляются по типу  $\alpha$ -окисления, когда от жирной кислоты отщепляется лишь по одному атому углерода в виде  $CO_2$ . Этот тип окисления не приводит к синтезу АТФ. Точный механизм  $\alpha$ -окисления жирных кислот не установлен. Он происходит в пероксисомах, которые, в отличие от митохондрий, способны окислять жирные кислоты, насчитывающие свыше 20 атомов углерода. Транспорт этих жирных кислот в пероксисомы происходит путем простой диффузии без участия карнитина.

Отметим, что жирные кислоты представляют высококонцентрированную форму метаболической энергии, а поэтому птицы-мигранты предпочитают их для длительных перелетов. Перед полетом масса жиров этих птиц может достигать 70% от общей массы их тела. Во-вторых, триглицериды являются гидрофобными структурами и поэтому менее гидрированными по сравнению с полисахаридами. В этом также проявляется преимущество жиров перед углеводами.

## МЕТАБОЛИЗМ КЕТОНОВЫХ ТЕЛ

Изучение обменов углеводов и жиров показывает, что катаболизм глюкозы, глицерина, жирных кислот приводит к получению промежуточного продукта — ацетил-КоА, основное количество которого поступает в цикл трикарбоновых

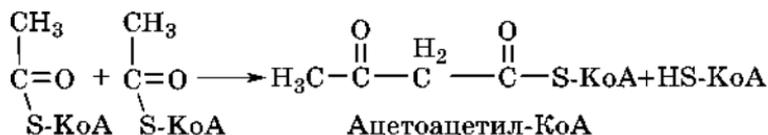
кислот, где окисляется до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , обеспечивая получение энергии.

Меньшее количество ацетил-КоА трансформируется в три важных метаболита: ацетон, ацетоуксусная,  $\beta$ -гидроксиасляная кислоты, традиционно известные как кетоновые тела. Этот процесс известен как кетогенез. Эти метаболиты синтезируются преимущественно в печени и являются источником энергии для многих тканей, включая мозг, сердце, скелетные мышцы. В период голодания кетоновые тела могут быть важным источником энергии для мозга, а ацетоуксусная и  $\beta$ -гидроксиасляная кислоты являются предпочитаемыми субстратами для коры почек и сердечной мышцы.

У жвачных животных синтез кетоновых тел имеет место в слизистой оболочке преджелудков. В крови животных концентрация кетоновых тел обычно составляет 5 мг%. Если ацетоуксусная и  $\beta$ -гидроксиасляная кислоты окисляются в митохондриях для получения энергии, то ацетон — метаболический «тупик», который выдыхается через почки или экскретируется в мочу; ацетон не является носителем энергии.

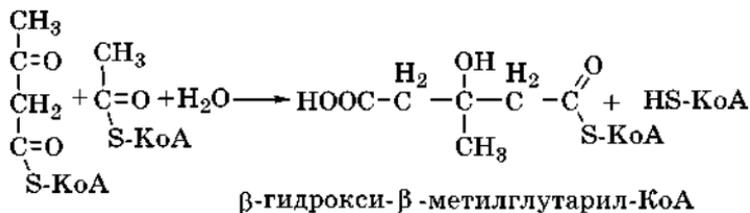
Если в рационе животного значительно преобладают жиры или в случаях длительного голодания, сахарного диабета в организме создаются условия для усиленного распада жирных кислот в печени, поскольку клетки тканей испытывают энергетический голод. В результате их окисления образуется большое количество молекул ацетил-КоА, которые не успевают окисляться до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Поэтому «излишек» молекул ацетил-КоА вовлекается в синтез кетоновых тел.

Основной путь синтеза кетоновых тел в матриксе митохондрий печени включает использование трех молекул ацетил-КоА. На первом этапе происходит конденсация двух молекул ацетил-КоА с образованием ацетоацетил-КоА:

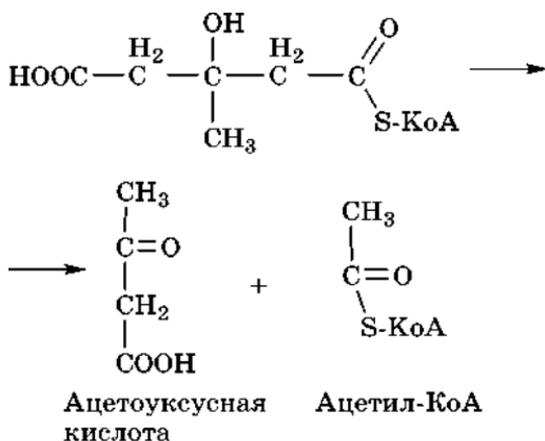


Полученный ацетоацетил-КоА взаимодействует с третьей молекулой ацетил-КоА, образуя  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилглутарил-КоА:

Молекула β-гидрокси-β-метилглутарил-КоА под действием лиазы способна расщепляться на ацетоуксусную кислоту и ацетил-КоА:



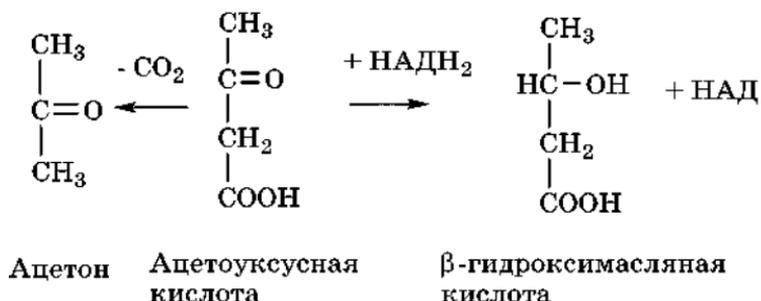
Ацетоуксусная кислота способна при участии очень активной в митохондриях НАД-зависимой дегидрогеназы восстанавливаться с образованием β-гидроксиимасляной кислоты или спонтанно декарбоксилироваться с образованием ацетона:



Следовательно, можно видеть, что печень является органом физиологического кетогенеза. Ацетоуксусная и β-гидроксиимасляная кислоты поступают из печени в периферические ткани, включая мышечную, сердечную и нервную, где конвертируются в ацетил-КоА с последующим образованием АТФ. Сердечная мышца и кора почек используют ацетоуксусную кислоту в большей степени, чем глюкозу. Глюкоза является основным источником энергии для мозга и эритроцитов, однако мозг адаптирован к использованию ацетоуксусной кислоты при голодании

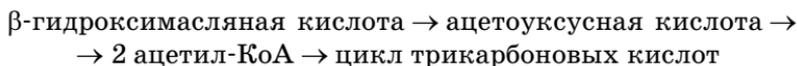
и сахарном диабете. У овец кетоновые тела являются обычным энергетическим продуктом для мозга (Ньюсхолм Э., Старт К., 1977). Следует отметить тот факт, что в период эмбрионального развития животного ацетоуксусная и  $\beta$ -гидроксиацетил-КоА кислоты служат важными предшественниками для синтеза липидов мозга.

В периферических тканях ацетоуксусная кислота переходит в активную форму — ацетоацетил-КоА. При этом она взаимодействует с сукцинил-КоА:



Данная реакция катализируется специальным ферментом трансферазой, который имеется лишь в клетках периферических органов. Ацетоацетил-КоА распадается на две молекулы ацетил-КоА, поступающие в цикл трикарбоновых кислот с освобождением энергии. За счет окисления этих двух кислот организм обеспечивается метаболической энергией на 5–8%.

Нервная ткань получает все количество требуемой энергии за счет окисления глюкозы, она не способна использовать жирные кислоты для синтеза АТФ. В случае голодания мозга его функции могут быть обеспечены в течение нескольких недель за счет синтеза кетоновых тел в печени. При этом кетоновые тела поступают в мозг, где последовательность реакций



переключает ткань мозга на кетоновые тела в качестве источника энергии. Это нормальный ответ организма на недостаток углеводов в организме. Следовательно, кетоновые тела являются обычными компонентами крови и важным энергетиче-

ским источником для сердечной и скелетных мышц и для почек. В результате окисление молекулы  $\beta$ -гидроксимасляной кислоты до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  сопровождается синтезом 27 молекул АТФ.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ КЕТОНОВЫХ ТЕЛ С МЕТАБОЛИЗМОМ УГЛЕВОДОВ, ЖИРОВ И АМИНОКИСЛОТ

На ранних стадиях голодания использование кетоновых тел мышцами сохраняет глюкозу для поддержания функций нервной системы. При более длительном голодании повышение в крови уровня ацетоуксусной и  $\beta$ -гидроксимасляной кислот обеспечивает их эффективное использование мозгом и эритроцитами. Следует отметить, что ацетоацетил-КоА выполняет также регуляторную роль. В случае его высокой концентрации в крови снижается степень липолиза в жировой ткани.

Значительное увеличение кетоновых тел в крови (в 2–5 раз) указывает на нарушение координации основных обменов веществ в организме, получившее название кетоза сельскохозяйственных животных. При этом концентрация кетоновых тел в крови (кетонемия, ацетонемия) может достигать 100 мг%. В этом случае кетоновые тела обнаруживаются в моче (кетонурия), в молоке, выдыхаемом воздухе, свидетельствуя о развитии кетоза, или патологического кетогенеза.

Причиной кетозов является нарушение сбалансированности рационов, в частности дефицит углеводов или избыток жира и белка. Механизм развития кетозов хорошо изучен (увеличение уровня свободных жирных кислот в крови, усиление их транспорта в митохондрии, повышенная продукция молекул ацетил-КоА). Чтобы вызвать кетоз у молочных коров, необходимо иметь одновременно фактор мобилизации липидов и дефицит глюкозы и глюкозообразователей, таких как пропионовая кислота, глицерин, аланин и др. Такая ситуация часто наблюдается при использовании рационов с низким содержанием углеводов. Кетоз не развивается у животного до тех пор, пока не происходит увеличение свободных жирных кислот в крови в результате липолиза триглицеридов в жировой ткани. Это приводит к значительному количеству молекул ацетил-КоА, тогда

как концентрация щавелево-уксусной кислоты понижается при дефиците глюкозы.

Щавелево-уксусная кислота синтезируется из пировиноградной кислоты, продукта гликолиза. При длительном голодании или в случае сахарного диабета щавелево-уксусная кислота расходуется на образование глюкозы путем глюконеогенеза, а значит, она недоступна для реакции с ацетил-КоА. В результате, без должного уровня щавелево-уксусной кислоты цикл трикарбоновых кислот не способен полностью окислять повышенное количество молекул ацетил-КоА, а поэтому они поступают в реакции синтеза кетоновых тел.

Образование кетоновых тел возможно и из отдельных аминокислот, получивших название кетогенных. В их числе: тирозин, лейцин, изолейцин, фенилаланин. Название кетогенных эти аминокислоты получили потому, что в процессе их катаболизма в организме образуются ацетил-КоА или ацетоацетил-КоА, из которых и происходит синтез кетоновых тел.

Так как ацетоацетат и  $\beta$ -гидроксibuтират являются кислотами, их наличие в организме в высокой концентрации нарушает буферную способность животного, вызывая сдвиг кислотно-щелочного равновесия в кислую сторону (ацидоз). В результате происходит выход  $H^+$  в мочу в сопровождении воды, ионов  $Na^+$  и  $K^+$ . Возникает дегидратация с сильной жаждой.



*Схема путей биосинтеза кетоновых тел*

Знание биохимического механизма развития кетоза позволяет рекомендовать в качестве лечебных препаратов пропионовую кислоту или пропиленгликоль. При метаболизме пропионовой кислоты в организме образуется янтарная, а затем и щавелево-уксусная кислота, которая, взаимодействуя с молекулами ацетил-КоА, использует их в цикле трикарбоновых кислот на синтез АТФ, что ограничивает синтез кетоновых тел.

Кетозы могут иметь место у коров и овцематок как низкой упитанности, так и у хорошо упитанных животных. Клинические кетозы молочных коров характеризуются гипогликемией, кетонемией и повышенным уровнем жирных кислот в крови. Гипогликемия часто достигает 40 мг%, поэтому при кетозах рекомендуются внутривенные введения растворов глюкозы.

### БИОСИНТЕЗ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Биосинтез жирных кислот включает серию реакций, которые не соответствуют процессу их деградации.

В частности, посредниками в синтезе жирных кислот являются специальные белки — АПБ (acyl carrier proteins). Напротив, при распаде жирной кислоты используется HS-КоА.

Синтез жирной кислоты происходит в цитозоле, а распад жирной кислоты — в митохондри.

Для синтеза жирной кислоты используется кофермент НАДФ<sup>+</sup>/НАДФН, тогда как распад жирной кислоты вовлекает кофермент НАД<sup>+</sup>/НАДН.

Жирные кислоты, входящие в состав липидов тканей, можно разделить на коротко- (2–6 атомов углерода), средне- (8–12 атомов углерода) и длинноцепочечные (14–20 и более атомов углерода в составе молекулы). Большинство жирных кислот в тканях животного являются длинноцепочечными. Подавляющее большинство жирных кислот в организме содержит четное число атомов углерода в молекуле (С: 16, 18, 20), хотя в жирах нервной ткани есть и более длинные молекулы жирных кислот, включающие 22 атома углерода с шестью двойными связями.

Кислота с одной двойной связью относится к мононенасыщенным жирным кислотам, тогда как кислоты с двумя или более двойными изолированными связями являются полиненасыщенными.

## Основные жирные кислоты организма млекопитающих

Название кислоты	Структура кислоты	Количество и позиция двойных связей
Масляная	$C_3H_7COOH$	0
Капроновая	$C_5H_{12}COOH$	0
Каприловая	$C_7H_{16}COOH$	0
Каприновая	$C_9H_{20}COOH$	0
Лауриновая	$C_{11}H_{24}COOH$	0
Миристиновая	$C_{13}H_{28}COOH$	0
Пальмитиновая	$C_{15}H_{32}COOH$	0
Стеариновая	$C_{17}H_{36}COOH$	0
Олеиновая	$C_{17}H_{34}COOH$	1 (9)
Линолевая	$C_{17}H_{32}COOH$	2 (9, 12)
Линоленовая	$C_{17}H_{30}COOH$	3 (9, 12, 15)
Арахидоновая	$C_{19}H_{38}COOH$	4 (5, 8, 11, 14)

Ненасыщенные жирные кислоты обычно находятся в *цис*-форме. Жиры растений и рыб содержат в своем составе больше полиненасыщенных жирных кислот, а в составе жиров млекопитающих и птиц преобладают насыщенные жирные кислоты.

Жирные кислоты рациона и их эндогенный биосинтез необходимы организму для получения энергии и формирования гидрофобных компонентов биомолекул. Избыток белков и углеводов в рационе активно конвертируется в жирные кислоты и запасается в форме триглицеридов.

Большинство тканей способно осуществлять синтез насыщенных жирных кислот. Важным в количественном плане является синтез жирных кислот в первую очередь в печени, кишечнике, жировой ткани, молочной железе, костном мозге, легких. Если окисление жирных кислот происходит в митохондриях клеток, то их синтез имеет место в цитоплазме.

Основной путь обеспечения организма жирными кислотами — их биосинтез из небольших молекул-посредников, производных катаболизма углеводов, отдельных аминокислот и других жирных кислот. Обычно насыщенная 16-карбоновая кислота — пальмитиновая — синтезируется в первую очередь,

а все другие жирные кислоты представляют собой модификацию пальмитиновой кислоты.

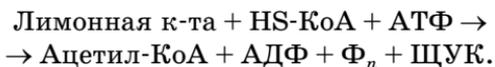
Все реакции синтеза жирных кислот катализируются мультиферментным комплексом — синтазой жирных кислот, который находится в цитозоле. Ацетил-КоА — прямой источник атомов углерода для этого синтеза. Основными поставщиками молекул ацетил-КоА являются: распад аминокислот, окисление жирных кислот, пируват гликолиза.

Необходимый для синтеза жирных кислот малонил-КоА поступает в результате карбоксилирования ацетил-КоА, а также необходимый НАДФН может быть получен в пентозофосфатном пути.

Молекулы ацетил-КоА в основном содержатся в митохондриях. Однако внутренняя митохондриальная мембрана непроницаема для такой сравнительно крупной молекулы, как ацетил-КоА. Поэтому для перехода из митохондрии в цитоплазму ацетил-КоА при участии цитратсинтазы вступает во взаимодействие со щавелево-уксусной кислотой, образуя лимонную:

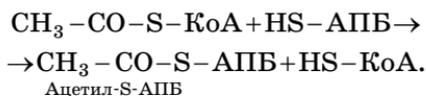


В цитоплазме лимонная кислота расщепляется под влиянием цитратлиазы:

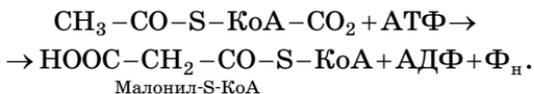


Таким образом, лимонная кислота выступает в роли транспортера ацетил-КоА. У жвачных животных вместо лимонной кислоты в цитоплазме клетки используется ацетат, образующийся в рубце из полисахаридов, который в клетках печени и жировой ткани превращается в ацетил-КоА.

1. На первом этапе биосинтеза жирной кислоты происходит взаимодействие ацетил-КоА со специальным ацилпереносящим белком (НС-АПБ), содержащим в своем составе витамин В<sub>3</sub> и сульфгидрильную группу (НС), напоминая структуру коэнзима А:

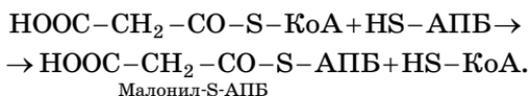


2. Обязательным промежуточным продуктом в синтезе является малонил-КоА, который образуется в реакции карбоксилирования ацетил-КоА с участием АТФ и биотин-содержащего фермента — ацетил-КоА-карбоксилазы:

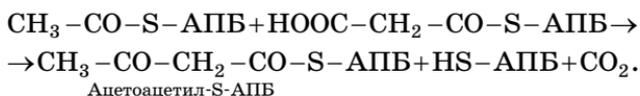


Биотин (витамин Н) в качестве кофермента карбоксилазы ковалентно связан с апоферментом для переноса одноуглеродного фрагмента. Ацетил-КоА-карбоксилаза — это мультифункциональный фермент, который регулирует скорость синтеза жирной кислоты. Инсулин стимулирует синтез жирной кислоты за счет активирования карбоксилазы, тогда как адреналин и глюкагон обладают обратным эффектом.

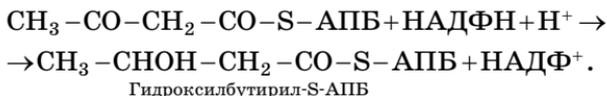
3. Полученный малонил-S-CoA взаимодействует с HS-АПБ при участии фермента малонил-трансацетилазы:



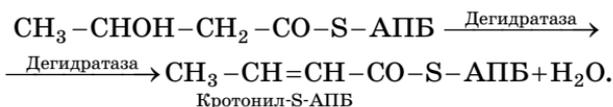
4. В следующей реакции конденсации под влиянием фермента ацил-малонил-S-АПБ-синтазы происходит взаимодействие малонил-S-АПБ и ацетил-S-АПБ с образованием ацетоацетил-S-АПБ:



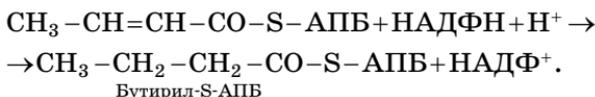
5. Ацетоацетил-S-АПБ при участии НАДФ<sup>+</sup>-зависимой редуктазы восстанавливается с образованием β-гидроксилбутирил-S-АПБ:



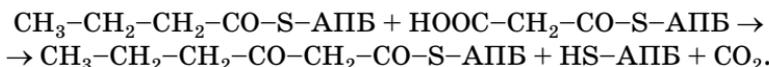
6. Далее реакция дегидратации β-гидроксилбутирил-S-АПБ приводит к образованию кротонил-S-АПБ:



7. В следующей реакции кротонил-S-АПБ восстанавливается НАДФ<sup>+</sup>-зависимой редуктазой с образованием бутирил-S-АПБ:

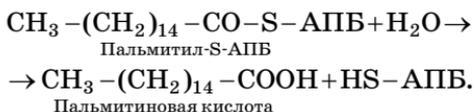


Далее рассмотренный цикл реакций повторяется: полученный бутирил-S-АПБ реагирует с другой молекулой малонил-S-АПБ с выделением молекулы CO<sub>2</sub>:



В случае синтеза пальмитиновой кислоты (C: 16) необходимо повторение еще шести циклов реакций, началом каждого будет присоединение молекулы малонил-S-АПБ к карбоксильному концу синтезируемой цепи жирной кислоты. Таким образом, присоединяя одну молекулу малонил-S-АПБ, углеродная цепь синтезируемой пальмитиновой кислоты увеличивается на два углеродных атома.

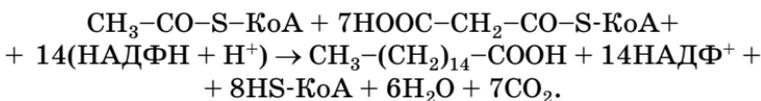
8. Синтез пальмитиновой кислоты завершается гидролитическим отщеплением HS-АПБ от пальмитил-S-АПБ при участии фермента деацилазы:



Синтез пальмитиновой кислоты является основой в синтезе других жирных кислот, включая мононенасыщенные кислоты (олеиновая, например). Свободная пальмитиновая кислота при участии тиокиназы превращается в пальмитил-S-КоА. Пальмитил-S-КоА в цитоплазме может использоваться в синтезе простых и сложных липидов или поступать с участием карнитина в митохондрии для синтеза жирных кислот с более длинной углеродной цепью.

В митохондриях и в гладком эндоплазматическом ретикулуме имеется система ферментов удлинения жирных кислот для синтеза кислот с 18 и более углеродными атомами за счет удлинения углеродной цепи жирных кислот от 12 до 6 атомов углерода. Если при этом используется пропионил-S-КоА вместо ацетил-S-КоА, то синтез приводит к получению жирной кислоты с нечетным числом атомов углерода.

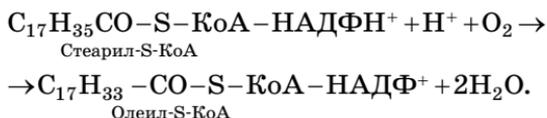
Суммарно синтез пальмитиновой кислоты можно представить следующим уравнением:



Ацетил-S-КоА в цитоплазме в данном синтезе служит источником атомов углерода молекулы пальмитиновой кислоты. АТФ необходим для активации ацетил-S-КоА, тогда как НАДФН + H<sup>+</sup> является обязательным восстановителем. НАДФН + H<sup>+</sup> в печени образуется в реакциях пентозофосфатного пути. Лишь при наличии указанных основных компонентов в клетке происходит синтез жирной кислоты. Следовательно, в биосинтезе жирных кислот необходима глюкоза, снабжающая процесс радикалами ацетилов, CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub> в форме НАДФН<sub>2</sub>.

Все ферменты биосинтеза жирных кислот, включая HS-АПБ, находятся в цитоплазме клетки в виде мультиферментного комплекса, получившего название синтетазы жирных кислот.

Синтез олеиновой (непредельной) кислоты с одной двойной связью происходит за счет реакции предельной стеариновой кислоты с НАДФН + H<sup>+</sup> в присутствии кислорода:



В гепатоцитах и в молочной железе лактирующих животных НАДФН<sub>2</sub>, необходимый для синтеза жирных кислот, обеспечивается за счет пентозофосфатного пути. Если у большинства эукариотов синтез жирных кислот происходит исключительно в цитоплазме, то синтез жирных кислот в фотосинтезирующих клетках растений имеет место в строме хлоропластов.

Полиненасыщенные жирные кислоты — линолевая ( $C_{17}H_{31}COOH$ ), линоленовая ( $C_{17}H_{29}COOH$ ), имея двойные связи вблизи метильного конца углеродной цепи, в организме млекопитающих не синтезируются по причине отсутствия необходимых ферментов (десатураз), обеспечивающих образование непредельных связей в молекуле. Однако арахидоновая кислота ( $C_{19}H_{31}COOH$ ) может быть синтезирована из линолевой кислоты. В свою очередь арахидоновая кислота является предшественником в синтезе простагландинов. Отметим, что растения способны синтезировать двойные связи в положении 12 и 15 углеродной цепи с участием необходимых ферментов в синтезе линолевой и линоленовой кислот.

Основная роль всех полиненасыщенных жирных кислот, вероятно, состоит в обеспечении свойства текучести в биологических мембранах. Это подтверждается тем, что низшие организмы обладают способностью изменять состав жирных кислот фосфолипидов благодаря их текучести, например при различных температурах внешней среды. Это достигается путем увеличения пропорции жирных кислот с двойными связями или увеличением степени ненасыщенности жирных кислот.

Метиленовый углерод любой двойной связи в структуре полиненасыщенной жирной кислоты очень чувствителен к удалению водорода и фиксации кислорода с образованием свободных радикалов. Образующиеся таким образом молекулы гидропероксида формируют диальдегиды в основном в форме малонового диальдегида. Последний способен вызывать кросс-связи, приводящие к цитотоксичности, мутагенности, разрушению мембран и модификации ферментов. Полимеризация малонового альдегида формирует нерастворимый пигмент липофусцин, который аккумулируется с возрастом в некоторых тканях.

Интерес к полиненасыщенным жирным кислотам на биохимическом уровне связан с исследованиями, которые свидетельствуют, что рационы с высоким уровнем полиненасыщенных жирных кислот по отношению к уровню насыщенных жирных кислот способствуют снижению уровня холестерина в организме.

В организме голодающего животного при последующем наличии рациона с высоким уровнем углеводов и низким уровнем жиров значительно усиливается активность ацетил-КоА-карбоксилазы за счет ковалентной модификации и синтез жирных

кислот в течение нескольких дней. Это адаптивный контроль регуляции жирового обмена. Синтез и окисление жирных кислот в организме являются взаимозависимыми процессами. При голодании животного уровень свободных жирных кислот в крови возрастает за счет повышения активности липазы жировых клеток под влиянием таких гормонов, как адреналин, глюкагон. Биосинтез жирных кислот, превращая молекулы НАДФН + H<sup>+</sup> в НАДФ<sup>+</sup>, вызывает распад глюкозы по пентозофосфатному пути. Таким образом, глюкоза является незаменимой в биосинтезе жирных кислот, поставляя не только радикалы ацетила, но и коферменты в форме НАДФН + H<sup>+</sup>.

Свободные жирные кислоты связываются с альбуминами сыворотки крови, которые являются основными транспортерами неэтерифицированных жирных кислот. В комплексе с альбуминами жирные кислоты представляют активный транспортный источник энергии для различных тканей в определенный период времени. Однако нервная ткань, получающая почти все количество энергии за счет глюкозы, не способна использовать жирные кислоты, связанные с альбуминами, для получения энергии.

Концентрация свободных жирных кислот в крови сравнительно постоянна (0,6 мМ). Период их полураспада составляет лишь две минуты. Печень интенсивно вовлекает жирные кислоты в синтез триглицеридов, связывая их в липопротеины низкой плотности (ЛПНП), которые поступают в циркуляцию крови. ЛПНП переносят холестерин плазмы крови в различные ткани, стенки кровеносных сосудов.

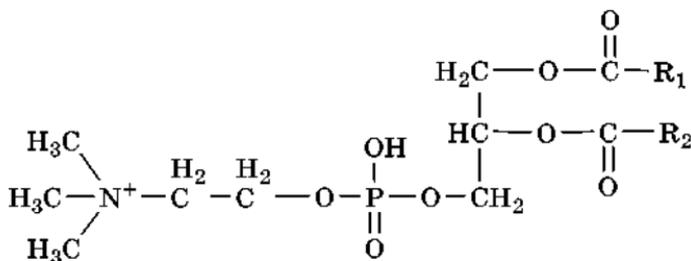
## ОБМЕН ГЛИЦЕРОФОСФОЛИПИДОВ

Глицерофосфолипиды (фосфолипиды) — это молекулы, в структуре которых две жирные кислоты связаны сложноэфирной связью с первым и вторым атомами глицерина, а в третьем положении обычно находится фосфорная кислота, связанная фосфоэфирной связью с аминоксипиртом. В составе фосфолипидов находятся самые разнообразные по строению жирные кислоты, включая непредельные. Структуры жирных кислот находят отражение в химических и физических свой-

ствах фосфолипидов и мембран, их содержащих. Часто в положении С-2 молекулы фосфолипида находится ненасыщенная жирная кислота (C<sub>18</sub>-C<sub>20</sub>).

Мембрана является липидным бислоем, содержащим белки, выполняя барьерную функцию при прохождении полярных ионов и молекул. Фосфолипиды, гликолипиды и холестерин являются основными компонентами мембран клеток. Однако мембраны не содержат свободных жирных кислот в роли структурных компонентов. Мембраны липидов — амфипатические, так как одновременно в них есть полярные гидрофильные группы и гидрофобные алифатические радикалы. Полярные группы аминокислот (холин, коламин) несут положительные заряды, которые определяют поверхностные свойства мембран.

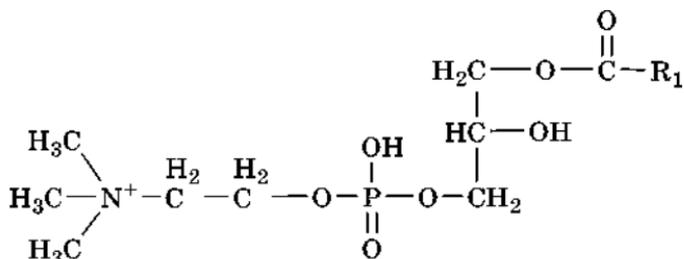
В мембранах клеток преобладают такие глицерофосфолипиды, как фосфатидилхолин (лецитин), фосфатидилэтаноламин (кефалин), фосфатидилсерин. Лецитин обычно содержит пальмитиновую или стеариновую кислоту в первом положении структуры глицерина и ненасыщенные жирные 18-углеродные кислоты (олеиновая, линолевая, линоленовая). Кефалин содержит больше полиненасыщенных жирных кислот (18:2, 20:4, 22:6) во втором положении структуры глицерина. Фосфолипиды в тканях могут взаимозаменяться: из фосфатидилсерина возможен синтез кефалина, который, в свою очередь, трансформируется в лецитин.



Структура глицерофосфолипида

Глицерофосфолипиды кормов (лецитин, кефалин, фосфатидилсерин и др.) в тонком кишечнике животного, как и триглицериды, подвергаются эмульгированию с последующим гидролизом на составные компоненты с участием специфических

фосфолипаз  $A_1$ ,  $A_2$ , C, D поджелудочной железы. Вначале под влиянием фосфолипазы  $A_2$  происходит гидролиз только одной внутренней эфирной связи молекулы фосфолипида с образованием, в частности, из лецитина — лизолецитина, который в свободном состоянии находится лишь в змеином яде и способен вызывать быстрый гемолиз эритроцитов. В организме млекопитающих лизолецитины могут участвовать в различных обменных реакциях с изменением состава жирных кислот.



Лизолецитин

Под влиянием фосфолипазы  $A_1$  лизолецитин распадается на свободную жирную кислоту и глицерофосфохолин, который при участии фосфолипазы C распадается до свободного глицерина и холинфосфата.

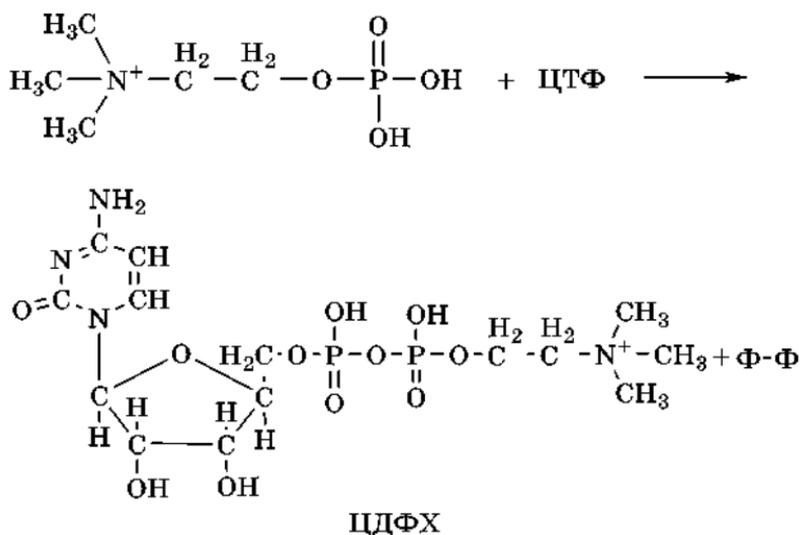
В свою очередь фосфолипаза D осуществляет гидролиз холинфосфата до свободного холина и фосфорной кислоты. Таким образом, под влиянием фосфолипаз поджелудочной железы глицерофосфолипиды распадаются на глицерин, высшие жирные кислоты, аминок спирты и фосфорную кислоту. Аминок спирты абсорбируются в виде своих активных форм в комплексе с нуклеотидами. В частности, холин при участии цитидинтрифосфата (ЦТФ) абсорбируется в форме комплекса цитидиндифосфохолина (ЦДФХ). Глицерофосфолипиды не являются запасными жирами, но играют важную роль в метаболизме жиров.

Глицерофосфолипиды синтезируются во всех клетках за исключением зрелых эритроцитов. Их активный синтез имеет место в стенке кишечника, печени, почках, мозге, мышечной ткани. Биосинтез глицерофосфолипидов происходит главным образом в эндоплазматической сети клетки. В частности,

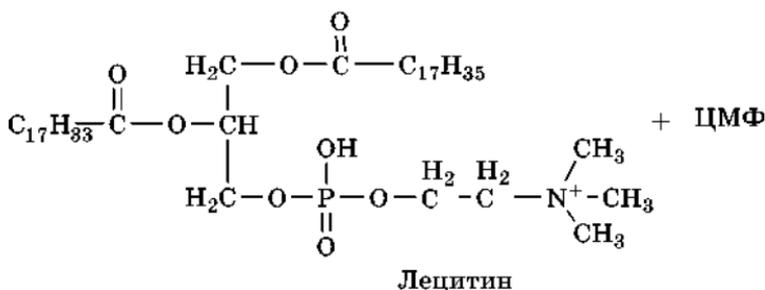
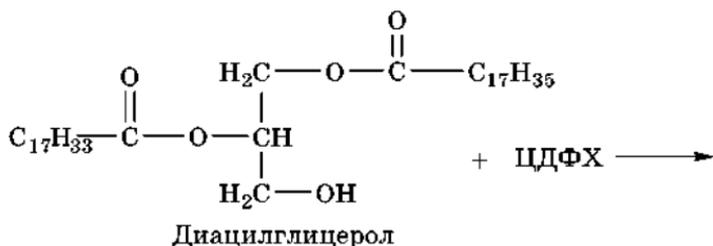
синтез лецитина может происходить на основе готового холина. В этом случае вначале имеет место активация холина за счет АТФ:



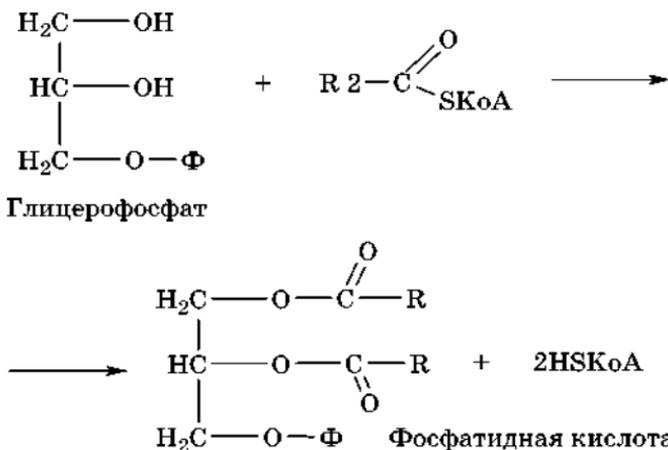
Полученный фосфорилхолин взаимодействует с цитидинтрифосфатом (ЦТФ) с образованием цитидиндифосфохолина (ЦДФХ):



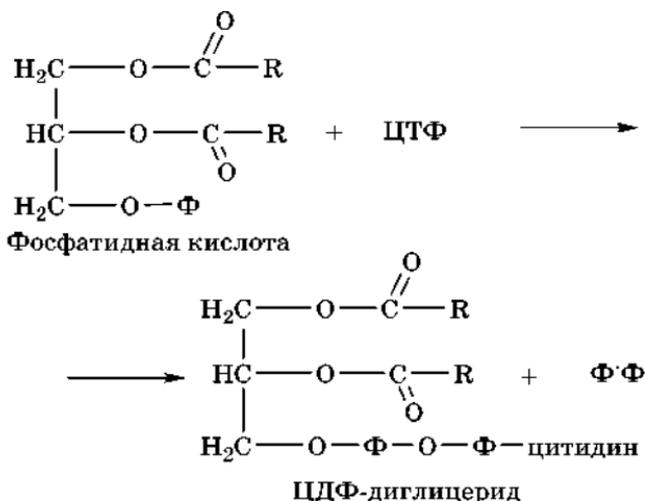
ЦДФХ взаимодействует с диацилглицеролом с образованием лецитина:



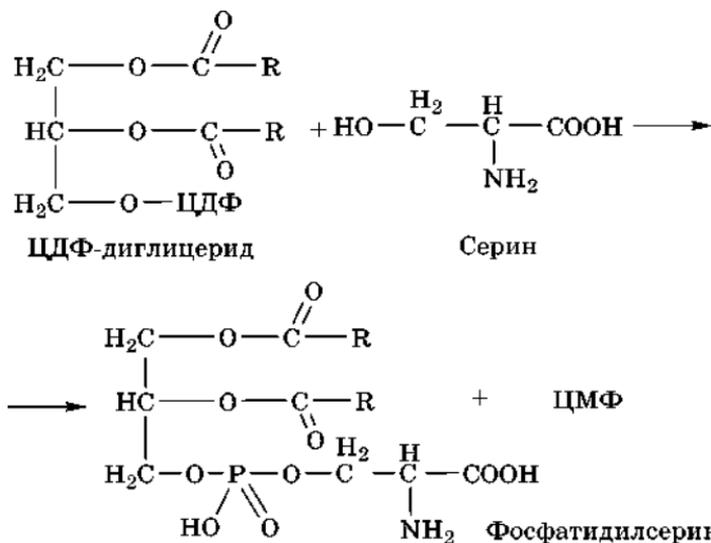
В случае отсутствия готового холина возможен синтез глицерофосфолипидов на основе фосфатидной кислоты. Холин не всегда синтезируется в организме в достаточном количестве. На первом этапе глицеролфосфат, или активная форма глицерина, присоединяет две молекулы активированных жирных кислот ( $\text{R}-\text{CO}-\text{S}-\text{KoA}$ ) и получается фосфатидная кислота:



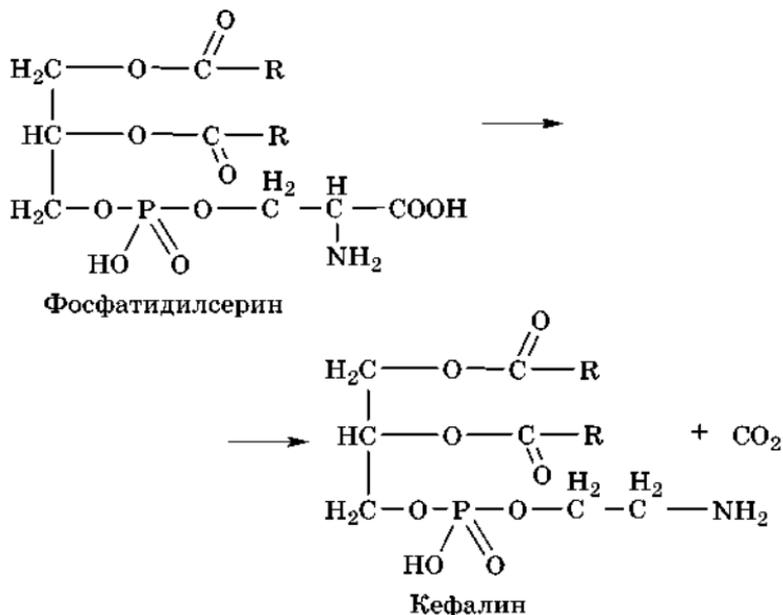
Фосфатидная кислота взаимодействует с ЦТФ с образованием цитидиндифосфо-диглицерида.



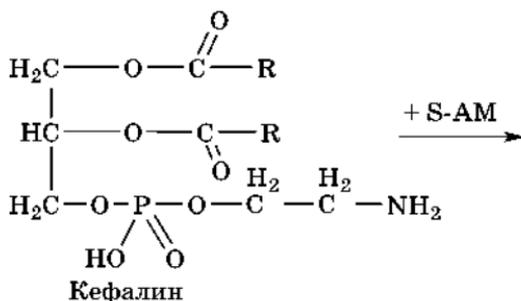
В последующих реакциях молекула ЦДФ-диглицерид теряет цитидинмонофосфат с включением молекулы серина, образуя фосфатидилсерин соответственно.

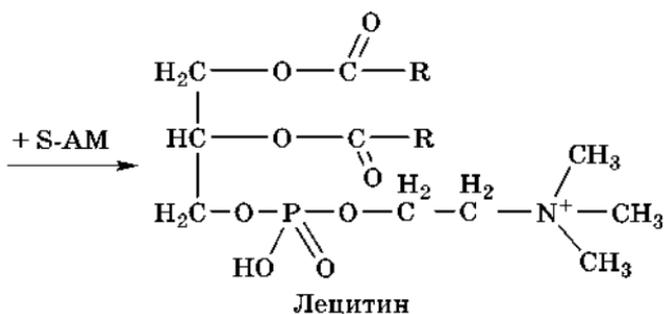


Фосфатидилсерин является второстепенным компонентом мембран клеток, однако он важнейший предшественник синтеза фосфатидилэтаноламина. В частности, декарбоксилирование фосфатидилсерина приводит к образованию фосфатидилэтаноламина (кефалина):

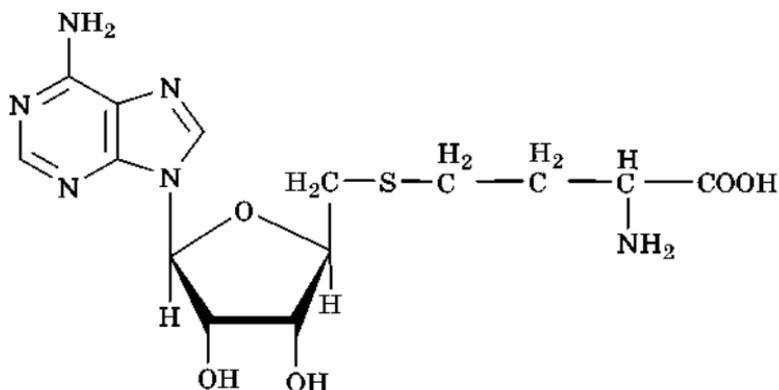


Кефалин может подвергаться метилированию и переходить в лецитин. В этом случае специальная метилтрансфераза катализирует перенос метильной группы от аденозилметионина в активной форме (S-AM) на молекулу кефалина:





В результате переноса трех метильных радикалов метионина на кефалин образуется лецитин. Понятно, что недостаток метионина приводит к нарушению синтеза лецитина и является причиной развития жировой дегенерации печени. Эта ситуация затем вызывает в печени интенсивный рост соединительной ткани (цирроз) с нарушениями функций этой железы.



Глицерофосфолипиды в больших концентрациях находятся в нервной ткани, мозге, желчи, плазме крови, яичном желтке, выполняя разнообразные функции. Они являются структурными компонентами мембран и клеточных органелл. Примерно половина мембран эритроцитов представлена фосфолипидами. Фосфолипиды играют важную роль в активации определенных ферментов. Нормальная функция легких также зависит от фосфолипидов типа сурфактантов на поверхности легочных

альвеол, предупреждающих слипание стенок альвеол во время выдоха (ателектаз).

Фосфолипиды, особенно лецитин, являются составными компонентами желчи, обеспечивая тем самым растворимое состояние холестерина. Поэтому нарушение продукции фосфолипидов и их секреции в составе желчи находит отражение в образовании нерастворимых солей холестерина в желчных камнях. Лецитин важен и как донор арахидоновой кислоты для синтеза простагландинов, тромбоксанов, лейкотриенов.

Процесс опознавания «клетка — клетка», фагоцитоз, отторжение трансплантированной ткани является феноменом участия клеточных мембран с включением фосфолипидов.

## МЕТАБОЛИЗМ ХОЛЕСТЕРОЛА

*Холестерол* — структура из 27 атомов углерода, включает кольца циклопентанпергидрофенантрена и восьмиуглеродную боковую цепь: это одноатомный, циклический, ненасыщенный спирт. Холестерол имеет низкую растворимость в воде, тогда как высокая его растворимость в крови животных объясняется присутствием липопротеинов плазмы, которые способны связывать и таким образом растворять большие количества этого спирта. В крови около 70% холестерина находится в форме его эфиров.

Концентрация холестерина в крови млекопитающих примерно в 2 раза превосходит концентрацию глюкозы. Сравнительно большая концентрация холестерина находится в желчи (до 400 мг%), но лишь 4% его присутствуют в ней в виде эфиров. Желчь не содержит достаточно значимых количеств липопротеинов, а растворимость свободного холестерина объясняется присутствием в желчи фосфолипидов. Поэтому хроническое нарушение метаболизма фосфолипидов в печени может быть причиной отложения холестерол-содержащих камней. Соли желчных кислот также способствуют поддержанию холестерина в растворенном состоянии в желчи.

Холестерол — основной стерол животного организма. Он является компонентом плазматических и внутриклеточных мембран, придавая им большую прочность и текучесть. Холестерол находится в животных жирах, но не в растительных. В больших концентрациях холестерол присутствует в миелиновых

структурах мозга и ЦНС, в малых концентрациях — во внутренних мембранах митохондрий. В отличие от холестерина плазмы, большая часть холестерина в клеточных мембранах находится в свободной, неэстерифицированной форме.

Другая важная роль холестерина состоит в том, что он является прямым предшественником желчных кислот, синтезируемых в печени и обеспечивающих абсорбцию триглицеридов кормов и жирорастворимых витаминов. Около 85% синтезируемого в печени холестерина используется для синтеза желчных кислот. Желчные кислоты являются формой переноса холестерина из печени в кишечник.

Холестерол является предшественником различных стероидных гормонов; в их числе гормоны коры надпочечников, андрогены, эстрогены, прогестерон яичников, за счет которых обеспечивается сперматогенез, беременность, лактация, минеральный метаболизм и баланс энергии. Наконец, эргостерин — предшественник холестерина, в коже конвертируется в витамин D (холекальциферол), обеспечивающий метаболизм кальция и фосфора.

Стероиды кормов (эферы холестерина, витамина А), поступающая в тонкий кишечник, подвергаются эмульгированию и под влиянием холестерол-эстераз поджелудочной железы распадаются на жирные кислоты и свободный холестерин. Холестерол, как и жирные кислоты, абсорбируется из просвета кишечника в комплексе с желчными кислотами. Плохо растворимый в воде холестерол абсорбируется в кишечнике лишь на 30–40%. Неабсорбированный холестерин выделяется в восстановленной форме с каловыми массами (копростерин). В отличие от холестерина, стерины растительного происхождения (фитостерины) в кишечнике животного не абсорбируются.

Холестерол, содержащийся во всех органах, является холестеролом кормов (экзогенный холестерол) и холестеролом, синтезированным в организме животного (эндогенный холестерол).

### **БИОСИНТЕЗ ХОЛЕСТЕРОЛА**

В организме животного синтез холестерина происходит в цитоплазме всех клеток, которые не утратили ядро (печень, кишечник, кора надпочечников, яичники, семенники, плацента). У млекопитающих около 90% холестерина организма син-

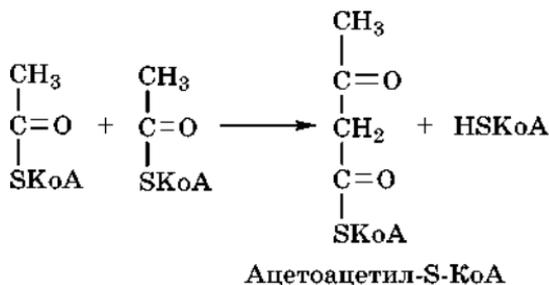
тезируются в печени, поступая затем на синтез желчных кислот, стероидных гормонов, витамина D. Все 27 атомов углерода холестерина происходят из уксусной кислоты. Предшественниками уксусной кислоты являются уксусный альдегид, ацетоуксусная кислота, ацетон, изовалериановая кислота.

На первой стадии синтеза холестерина происходит образование мевалоновой кислоты из активного ацетата ( $\text{CH}_3\text{-CO-S-CoA}$ ). Активный ацетат может быть получен за счет бета-окисления жирных кислот, или кетогенных аминокислот (лейцин, изолейцин), а также за счет пируватдегидрогеназной реакции, связывающей гликолиз с циклом трикарбоновых кислот. Открытие участия мевалоновой кислоты в биосинтезе холестерина показало основной путь синтеза этого спирта:

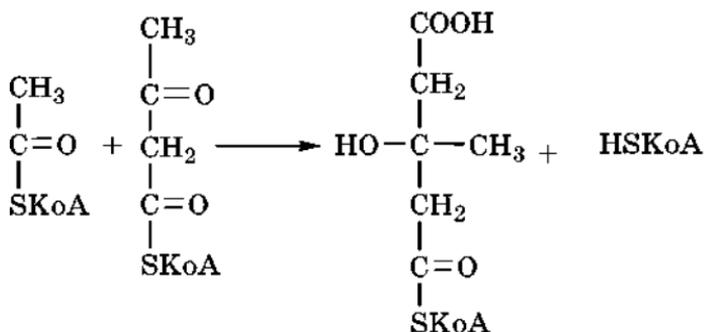


### I СТАДИЯ

1. Первая реакция синтеза холестерина представляет собой конденсацию двух молекул ацетил-S-CoA под влиянием тиолазы с образованием ацетоацетил-S-CoA.



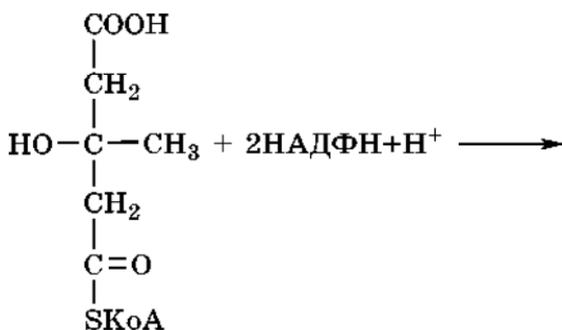
2. Полученный ацетоацетил-S-КоА конденсируется с третьей молекулой активного ацетата при участии специальной синтазы, образуя 3-метил-3-гидрокси-глутарил-S-КоА:



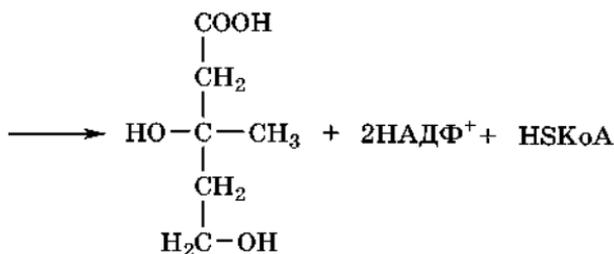
**3-метил-3-гидрокси-глутарил-S-КоА**

Отметим, что 3-метил-3-гидрокси-глутарил-S-КоА присутствует как в митохондриях, так и в цитоплазме гепатоцитов. В митохондриях он поступает на синтез кетонных тел, а в цитоплазме участвует в получении мевалоновой кислоты для синтеза холестерина.

3. Следующая реакция восстановления 3-метил-3-гидрокси-глутарил-S-КоА при участии специальной редуктазы с образованием мевалоновой кислоты:



**3-метил-3-гидрокси-глутарил-S-КоА**

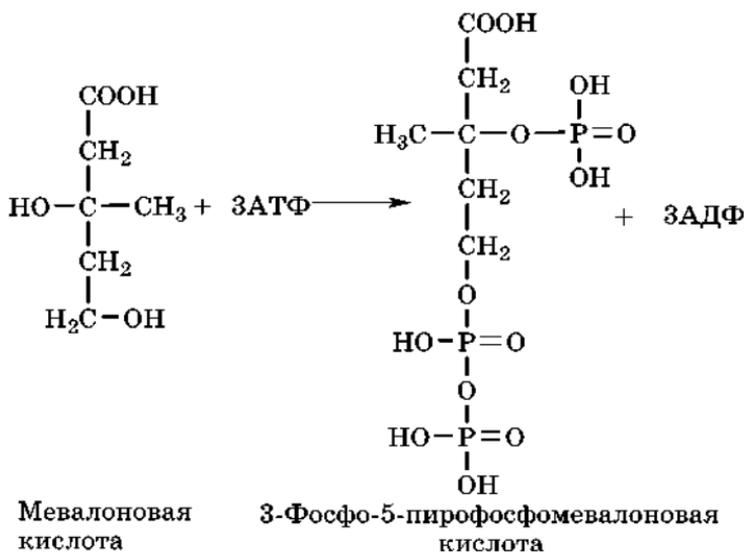


Мевалоновая кислота

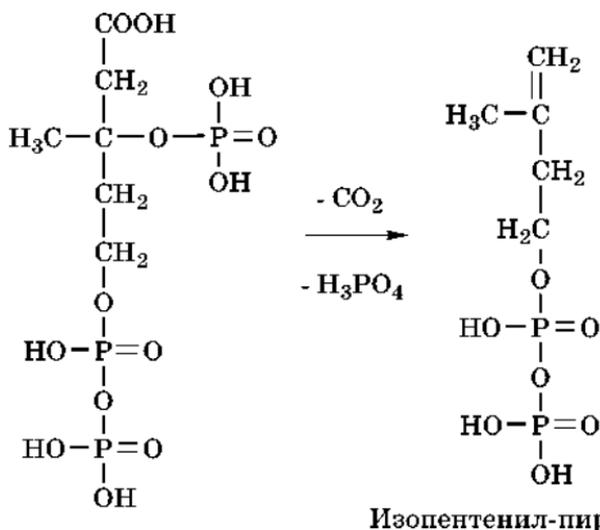
Данная редуктазная реакция образования мевалоновой кислоты является необратимой и рассматривается как лимитирующая скорость синтеза. Она требует затраты двух молекул НАДФН + H<sup>+</sup> из пентозофосфатного пути. В этом видна взаимосвязь обмена липидов и углеводов.

## II СТАДИЯ

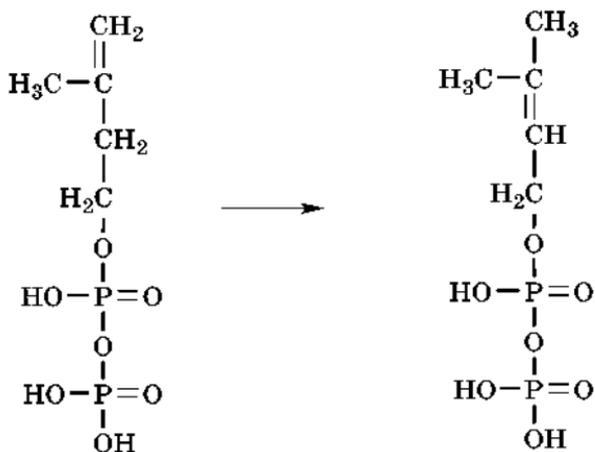
4. Во второй стадии синтеза холестерина мевалоновая кислота трансформируется в сквален. При этом мевалоновая кислота фосфорилируется с участием трех молекул АТФ, образуя 3-фосфо-5-пирофосфомевалоновую кислоту:



5. Нестабильная молекула 3-фосфо-5-пиропосфомевалоновой кислоты декарбоксилируется и дефосфорилируется, формируя неопределённое соединение — изопентенил-пиропосфат:

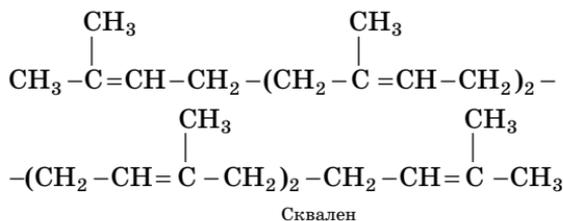


Изопентенил-пиропосфат изомеризуется, образуя 3,3-диметилаллил-пиропосфат:



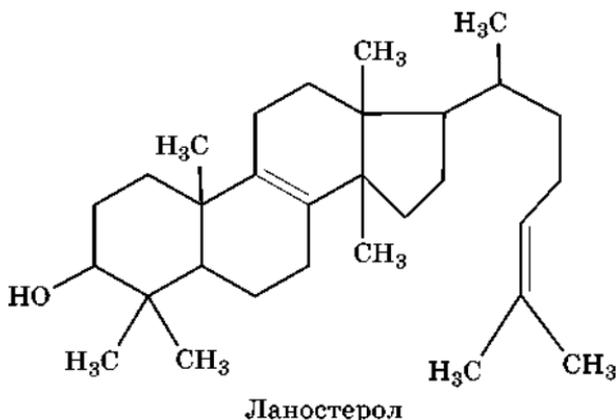
Изопентенил-пиропосфат    3,3-Диметилаллил-пиропосфат

Конденсация двух пятиуглеродных соединений (изопентенил-пирофосфат + 3,3-диметилаллил-пирофосфат) приводит к получению геранил-пирофосфата ( $C_5 + C_5 = C_{10}$ ). Дальнейшая конденсация геранил-пирофосфата с изопентенил-пирофосфатом ( $C_{10} + C_5 = C_{15}$ ) дает образование фарнезил-пирофосфата ( $C_5$ ). В свою очередь конденсация двух молекул фарнезил-пирофосфата по типу «хвост в хвост» заканчивается получением молекулы сквалена ( $C_{30}$ ):

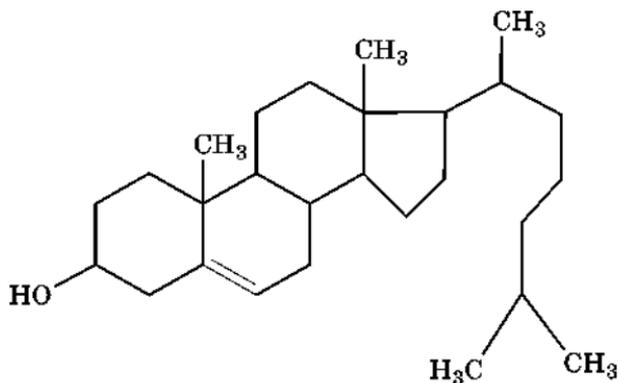


### III СТАДИЯ

На заключительной стадии биосинтеза холестерина следует циклизация сквалена при участии молекулярного кислорода, НАДФН<sup>+</sup> + Н<sup>+</sup> и фермента циклазы с образованием ланостерола ( $C_{30}$ ):



Ланостерол теряет три метильные группы, сохраняет одну двойную связь и конвертируется в молекулу холестерина ( $C_{27}$ ):



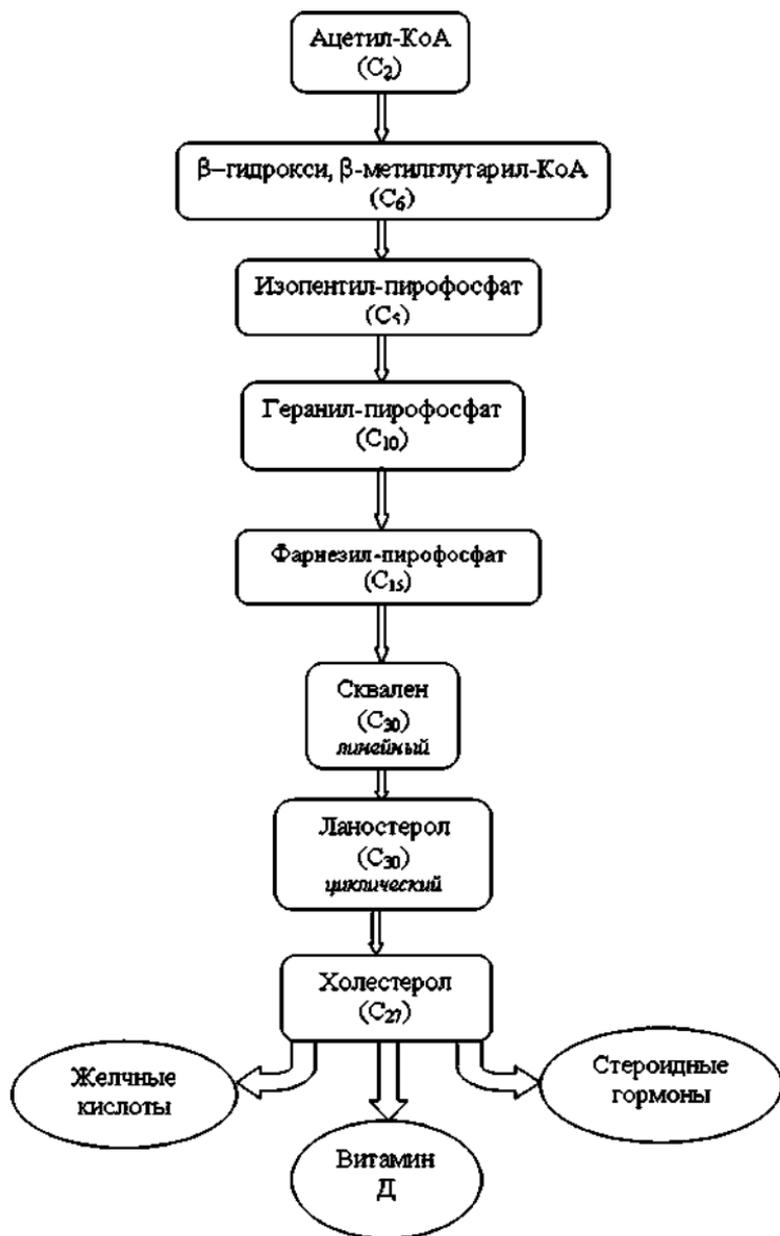
### Холестерол

Следует отметить, что трансформация ланостерола в холестерол — сложный процесс, требующий не менее 20 реакций для отрыва трех метильных групп.

Синтезированный в гладком эндоплазматическом ретикулуме холестерол может быть конвертирован в другие стероиды с различными физиологическими функциями. В печени, в основном месте биосинтеза холестерина у млекопитающих, холестерол в своей массе трансформируется в желчные кислоты (холевая, дезоксихолевая), необходимые для переваривания и всасывания липидов в кишечнике.

Дополнительно холестерол является предшественником важных стероидных гормонов (известных как половые гормоны), которые, поступая в клетки — мишени, регулируют в них метаболические процессы. В частности, прегненолон формируется из холестерола, а прогестерон — из прегненолона. Прогестерон является основой для синтеза других половых гормонов, таких как тестостерон и эстрадиол.

В кровеносном русле холестерол связывается с различными белками, образуя липопротеины, которые классифицируются обычно по степени их плотности. Помимо хиломикроннов, они включают липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП) и липопротеины высокой плотности (ЛПВП). С увеличением белка в комплексе его плотность возрастает. Так, содержание белка в хиломикронах



Наглядная схема биосинтеза холестерина

составляет лишь 2% сухого вещества и 8% холестерина, а поэтому они имеют наименьшую плотность, тогда как ЛПВП содержат 33% белка и 30% холестерина, имея наибольшую плотность. В крови около 80% холестерина находится в составе ЛПНП. Подавляющее количество холестерина организма выводится в виде желчных кислот.

Хиломикроны синтезируются в эндоплазматическом ретикулуме эпителиальных клеток тонкого кишечника, откуда поступают в лимфатическую систему, а затем в кровь. Хиломикроны вступают в транспорт пищевых липидов, тогда как другие липопротеины обычно содержат эндогенные липиды. Избыток жирных кислот продуктов питания может быть конвертирован в печени в ЛПОНП, которые поступают в мышцы и жировую ткань, где могут распадаться под влиянием липопротеинлипазы.

Удаление триглицеридов из ЛПОНП приводит к образованию ЛПНП. Имея большое содержание холестерина и его эфиров, ЛПНП переносят его в различные органы, имеющие специальные рецепторы для этих комплексов. Поэтому такой холестерол рассматривается как «плохой». Находясь в стенках кровеносных сосудов, поврежденные ЛПНП на уровне эпителия могут захватываться макрофагами, которые за счет нагрузки холестерином трансформируются в «пенистые клетки», представляющие собой раннюю форму атеросклеротических бляшек. При этом макрофаги продуцируют различные молекулы воспалительного процесса, в который вовлекаются тромбоциты, коллаген, эластин, соли кальция с образованием истинных бляшек. Распад бляшек приводит к появлению тромбов. Если они образуются в артериях миокарда, то возникает инфаркт миокарда.

ЛПНП распадаются в клетках на основе процесса эндоцитоза под влиянием лизосом. Белковая часть комплекса гидролизует до аминокислот, а эфиры холестерина распадаются до свободного холестерина и жирных кислот.

ЛПВП, образующиеся в печени и в тонком кишечнике, представляют собой богатые белком структуры, содержащие сравнительно небольшой процент холестерина. В отличие от ЛПНП, ЛПВП транспортируют холестерол обратно в печень для преобразования его в желчные кислоты. Поэтому желательно иметь низкий уровень холестерина и ЛПНП в крови. Известно, что

высокий уровень ЛПНП и низкий уровень ЛПВП коррелируют в процессе развития атеросклероза.

ЛПВП имеют больший период существования в организме (5–6 сут) по сравнению с другими липопротеинами. Функция ЛПВП состоит в возвращении холестерина и его эфиров в печень. Этот процесс очевидно объясняет корреляцию между высоким уровнем ЛПВП и снижением риска сердечно-сосудистых болезней (Garrett R., Grisham Ch., 2005).

Холестерол в комплексе с ЛПВП активно транспортируется из тканей и плазмы в печень — единственный орган, способный метаболизировать и эстерифицировать холестерол. ЛПВП, имея самый малый размер среди других липопротеинов, легко распадаются и удаляются из стенок кровеносных сосудов, предупреждая таким образом развитие атеросклеротических явлений.

Атеросклероз — это комплексный процесс: питание и генетические факторы влияют на его появление. Высокий уровень холестерина и насыщенных жиров, в частности в рационе, приводит к повышению концентрации холестерина в крови. При этом организм также синтезирует собственный (эндогенный) холестерол как компонент клеточных мембран. Вероятно, эндогенный холестерол является более важным, чем холестерол продуктов питания.

В плазме крови крупного рогатого скота концентрация холестерина составляет 50–150 мг% (1,3–3,9 ммоль/л), у лошадей — 70–120 мг% (1,8–3,1 ммоль/л), у человека — 150 мг%. Избыток холестерина выводится из организма в виде желчных кислот с каловыми массами. Некоторое количество холестерина под влиянием ферментов микрофлоры кишечника восстанавливается с образованием холестанола и копростанола. В сутки из организма человека выделяется до 1,3 г холестерина.

По причине низкой растворимости холестерина в водной среде его секреция сопровождается образованием камней холестерина в желчном пузыре. Обычно в желчи молекулы холестерина вступают в состав комплексов с фосфолипидами в соотношении 1:1, приобретая таким образом растворимость. Однако печень способна продуцировать желчь с более высоким уровнем холестерина по отношению к фосфолипидам, что способствует кристаллизации холестерина. Такая желчь рассматривается как камнеобразующая.

Избыток холестерина в желчи часто наблюдают при ожирении животного. Ожирение является результатом избыточного поступления липидов в жировую ткань и недостаточной их утилизации как источников энергии. Усиленное отложение жиров определяется рядом факторов, таких как их избыточный синтез из углеводов, генетические аномалии (липоматозы), описанные у коров. У больных животных отмечают характерные признаки нарушений основных обменов веществ с замедлением липолиза.

Ожирение животных сопровождается жировой инфильтрацией и жировой дистрофией печени. Особенно вредные последствия ожирения наблюдаются для молочного скота (лактующих животных). Однако повышение биосинтеза триглицеридов и их усиленное отложение в жировых депо может быть желательным при откорме животных (например, свиней).

В специализированных тканях, таких как надпочечники и яичники, холестерол ЛПНП служит прекурсором в синтезе стероидных гормонов пяти важных классов: глюкокортикоиды, минералокортикоиды, андрогены, эстрогены, прогестерон. Основные места синтеза этих классов гормонов — яичники (эстрогены), семенники (андрогены), кора надпочечников (глюкокортикоиды, минералокортикоиды), желтое тело и плацента (прогестерон).

## РЕГУЛЯЦИЯ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА

Очевидно, что метаболизм холестерина должен быть строго регулируемым. Липидный обмен регулируется как ЦНС, так и гуморальным путем. ЦНС оказывает влияние на обмен липидов через различные железы внутренней секреции. Регуляция обменных процессов гормонами осуществляется на основе изменения активности ферментов, катализирующих те или иные реакции. Это изменение активности может осуществляться как путем изменения активности уже существующих молекул ферментов, так и путем ускорения синтеза новых молекул. Оба эти механизма имеют место и при регуляции обмена липидов. В частности, в печени холестерол кормов снижает активность ключевого фермента биосинтеза холестерина —

3-гидрокси-3-метилглутарил-S-КоА редуктазы. При наличии высокого уровня холестерина внутри клеток новые рецепторы ЛПНП не синтезируются и дополнительные поступления в кровь ЛПНП блокируются. Таким образом, синтез холестерина в тканях зависит от его уровня в кормах.

Поступая в кровь, холестерол образует липопротеиновые комплексы, транспортируемые в различные ткани. Наличие мембранных рецепторов клеток к данным комплексам обеспечивает их проникновение внутрь клетки путем эндоцитоза с последующим освобождением холестерина под влиянием лизосомальной холестерол-эстеразы.

Усиление распада триглицеридов в жировой ткани, приводящее к повышению концентрации свободных жирных кислот в крови, осуществляется катехоламинами (адреналин), гормоном АКТГ передней доли гипофиза, глюкагоном — гормоном поджелудочной железы. Адреналин и АКТГ активируют липолиз, воздействуя на уже синтезированные ферментные структуры. Это достигается переводом неактивных молекул тканевых липаз в активные. Активной формой является фосфорилированная форма липазы, которая образуется при участии цАМФ.

Повышение уровня свободных жирных кислот в печени вызывает усиление активности глюконеогенеза. Главным фактором усиления глюконеогенеза является тканевая липаза. Все гормональные факторы, которые стимулируют липолиз в тканях, являются кетогенными факторами: адреналин, глюкагон, АКТГ, тироксин, кортизол. Напротив, антилиполитическими и антикетогенными являются: инсулин (угнетает активность тканевых липаз и снижает уровень цАМФ), простагландин  $E_1$ , глюкоза.

Гормон роста также активирует липолиз с повышением скорости окисления жирных кислот и уровня кетоновых тел в тканях. По типу обратной связи повышение уровня кетоновых тел в тканях приводит к снижению липолиза в жировой ткани. Для инсулина жировая ткань является основной мишенью. Инсулин усиливает липогенез с угнетением выхода свободных жирных кислот из жировой ткани, в результате чего снижается концентрация жирных кислот в крови. Подобным эффектом обладает и тироксин, гормон щитовидной железы. Другие железы внутренней секреции, например половые, также участвуют в регуляции липидного обмена.

## ГЛАВА 7. ОБМЕН БЕЛКОВ

---

Белки являются изобилующим классом биомолекул, составляющим более 50% сухого вещества клеток. Их разнообразие отражает центральную роль белков в клеточных структурах и функциях, в выражении генетической информации. Белки являются биополимерами только 20  $\alpha$ -аминокислот, связанных пептидными связями ( $-\text{CO}-\text{NH}-$ ). Все эти аминокислоты различаются по структуре и физико-химическим свойствам. Белки составляют 16–19% от общей массы животного.

Обычно термин «пептид» связывают с короткими полимерами аминокислот. Пептиды, содержащие от 10 до 20 остатков аминокислот, получили название олигопептидов. При наличии в цепи более нескольких десятков остатков аминокислот в длину используют термин «полипептиды». Типичная полипептидная цепь содержит от 100 аминокислот до 2 тыс. Однако возможны исключения: например, белок сердечной мышцы титин имеет 26 926 аминокислотных остатков с молекулярной массой 2 993 497 (Garrett R. H., Grisham Ch. M., 2005). На основе формы и растворимости все белки можно разделить на фибриллярные и глобулярные. Фибриллярные белки имеют сравнительно простые, регулярные, линейные структуры. Обычно они нерастворимы в воде или в растворах солей (это структурные белки соединительной, эластичных, сократительных тканей). Напротив, глобулярные белки имеют сферическую или эллипсоидную форму, составляя большинство из всех известных белков.

Глобулярные белки являются хорошо растворимыми в водных растворах.

Белки наделены определенными пространственными структурами или конформациями. Линейная последовательность остатков аминокислот в полипептидной цепи — это первичная структура белка. Сегодня первичная структура выяснена у более чем тысячи различных белков. Известно, что последовательность аминокислот в белках кодируется нуклеотидной последовательностью ДНК. Пространственная структура белковой молекулы в форме спирали за счет появления водородных связей вдоль оси спирали определяет ее вторичную структуру. Третичная структура — трехмерная форма, укладка полипептидной цепи в пространстве. Многие белки, состоящие из двух или более полипептидных цепей (субъединиц), объединенные совместно нековалентными слабыми ионными, гидрофобными и водородными связями, обладают четвертичной структурой. Например, четвертичная структура характерна для молекулы гемоглобина.

Белки выполняют важные и удивительно разнообразные функции в клетке и в живом организме в целом. Эти функции можно условно разделить на две группы: структурные (статические) и динамические.

Структурные функции белков связаны прежде всего с обеспечением основы опорно-соединительной ткани, поддержанием структуры и формы организма, ростом и дифференцировкой клеток. Динамические функции белков включают катализ химических реакций (все ферменты являются белками), метаболический контроль, транспорт ионов и молекул, «генерирование» и передачу нервных импульсов, неспецифическую и специфическую защиту. Белки принимают участие в регуляторных процессах, так как ряд важнейших гормонов имеют белковую природу (например, инсулин, глюкагон, кальцитонин, гормон роста и другие гормоны гипофиза и гипоталамуса).

Белки обеспечивают координацию различных химических превращений, сохраняют целостность всего организма. Белкам также присуща и энергетическая роль. При окислении 1 г белка в организме освобождается 4,2 ккал (17,2 кДж) энергии. Однако организм получает энергию в первую очередь за счет более выгодных процессов окисления углеводов и липидов,

а энергетическая роль белков становится заметной только при неполноценном питании животных.

Белковый обмен по праву является главенствующим среди обменных процессов организма, обеспечивая непрерывность распада и обновления всего многообразия белковых структур. Все другие обмены веществ (углеводный, липидный, «нуклеиновый», минеральный) в организме в значительной степени направлены на сохранение динамичности обмена белков. На основе указанных обменов веществ в организме создаются условия для полноценного воспроизводства необходимых белков. В организме многих видов млекопитающих за 6–7 месяцев обновляется около половины всех белков.

Белки животного происхождения, как правило, в своем составе содержат все важнейшие аминокислоты, а поэтому рассматриваются как полноценные. Для синтеза белков в организме животного необходимо наличие одновременно всех 20 аминокислот. Биологическая ценность белков животного происхождения составляет 70–90%, а белков растительного происхождения — 60–65%.

Растительные корма, как правило, не имеют полного набора требуемых  $\alpha$ -аминокислот, поэтому они относятся к неполноценным. Дело в том, что организм животного не имеет возможности синтезировать некоторые аминокислоты со скоростью, достаточной для обеспечения метаболизма, или вовсе не синтезирует их, и они должны быть в кормах рациона. Эти аминокислоты называются незаменимыми и составляют около половины из 20 важнейших  $\alpha$ -аминокислот. В течение суток в организме человека распадается около 100 г аминокислот.

Для большинства видов животных к незаменимым аминокислотам относятся: валин, гистидин, лейцин, изолейцин, треонин, метионин, лизин, аргинин, триптофан, фенилаланин. Однако биологическая ценность одного и того же аминокислотного состава белка рациона может быть неодинаковой для разных видов животных. Так, для птиц нужны корма, белки которых включают достаточно высокое содержание таких аминокислот, как аргинин, лизин, метионин, тогда как для жвачных животных эти аминокислоты могут присутствовать в рационах в значительно меньших количествах. Другим примером может служить глицин, заменимая аминокислота для млекопитающих, но незаменимая

для птиц, поскольку ее синтез ограничен, а расход глицина у птиц особенно велик в процессе синтеза пуриновых оснований, гема. Крупный рогатый скот испытывает повышенную потребность не только в метионине, но и в цистеине, хотя последняя рассматривается как заменимая аминокислота. Казеин молока рассматривается как эталон полноценного белка, так как в его структуре присутствуют все незаменимые аминокислоты.

Кроме участия в синтезе тканевых белков, отдельные незаменимые аминокислоты выполняют в организме животного многочисленные специфические функции. Поэтому дефицит даже одной незаменимой аминокислоты приводит как к дисбалансу других аминокислот и белков, так и к определенным патологическим процессам. В частности, при дефиците фенилаланина в организме снижается синтез ряда гормонов щитовидной железы, мозгового вещества надпочечников; при недостатке триптофана нарушается функция центральной нервной системы. Важное значение имеет также природный источник белков рациона. Например, белки шерсти, копыт, пера практически не гидролизуются пептидазами кишечника животного и, следовательно, не могут усваиваться организмом.

## ПРОЦЕССЫ ПЕРЕВАРИВАНИЯ БЕЛКОВ В ЖЕЛУДОЧНО–КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ

Белки кормов животного и растительного происхождения в желудочно-кишечном тракте животного должны быть гидролизваны до стадии получения свободных аминокислот или (в отдельных случаях) до мелких пептидов. Протеолитические ферменты секретируются железами слизистой (желудок, тонкий кишечник) и поджелудочной железой.

В ротовой полости отсутствуют ферменты, способные гидролизовать белки кормов. Из ротовой полости кормовые массы поступают в желудок (у жвачных в сычуг), в котором они перерабатываются желудочным соком. У крупного рогатого скота в течение суток выделяется до 30 л, у лошадей — до 20 л, у собак — до 3 л желудочного сока. Желудочный сок содержит 99,5% воды и 0,5% составляет плотный остаток, включающий такие ферменты, как пепсин, ренин, гастрин, различные простые белки, минеральные вещества и их соли.

Обкладочные клетки желудочных желез слизистой оболочки желудка из хлоридов натрия и угольной кислоты синтезируют соляную кислоту, а поэтому рН желудочного сока в норме составляет 1,5–2,5% и является оптимальной для активности пепсина, основного протеолитического фермента желудочного сока.

Пепсин вырабатывается слизистой желудка в неактивной форме в виде пепсиногена. Под влиянием HCl от пепсиногена (м. м. порядка 42 тыс.) отщепляется часть молекулы, которая служит ингибитором фермента, после чего открываются активные центры и молекула становится активной (м. м. около 35 тыс.). Дополнительно соляная кислота разрушает микроорганизмы, поступающие в желудок с кормами. Под влиянием пепсина из белков кормов образуются пептиды, содержащие в среднем 5–10 аминокислот.

Пепсин (от *греч.* *pepto* — варю) — эндопептидаза, относится к классу гидролаз, активно проявляет свое каталитическое действие на уровне внутренних пептидных связей ( $-CO-NH-$ ) ароматических аминокислот (фенилаланин, тирозин) полипептидной цепи, приводя таким образом к получению полипептидов. Под влиянием пепсина легко гидролизуются белки животного происхождения. Каталитическая активность пепсина высокая: 1 г кристаллического пепсина способен гидролизовать за 1 ч до 25 кг денатурированного яичного белка.

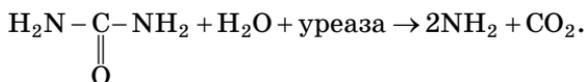
В желудочном соке новорожденных телят есть сычужный фермент ренин (химозин), м. м. = 30 тыс., створаживающий в менее кислой среде в присутствии солей кальция казеиноген молока в казеиноген кальция, который нерастворим и выпадает в осадок в виде творога.

У взрослых жвачных животных ренин отсутствует, поскольку по своей специфичности действия он аналогичен пепсину, но имеет рН-оптимум только в области 5,0–5,3, что соответствует рН желудочного сока у новорожденных. У взрослых особей молоко створаживается под влиянием пепсина и HCl. Кислотность желудочного сока поддерживается белком гастрином — «пищеварительным гормоном» слизистой желудка. Это стимулятор продукции желудочного сока.

Биохимические процессы переваривания белков у жвачных животных имеют важные особенности. Желудок у них многокамерный и включает рубец, сетку, книжку и сычуг. Сычуг по

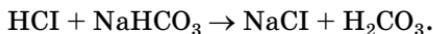
своим функциям является железистым желудком, где вырабатывается сок, содержащий HCl, пепсин, куда поступает около трети белков корма. В преджелудках большая часть белков корма подвергается воздействию ферментов бактерий, инфузорий и грибов, обладающих протеолитической активностью, с образованием свободных аминокислот, часть из которых используется на синтез белков микробных клеток, тогда как другая их часть распадается с освобождением аммиака. Аммиак может служить субстратом для синтеза аминокислот в преджелудках животного или поступать в печень для синтеза мочевины.

Мочевина может также поступать в рубец с кормом, со слюной, из крови через стенку рубца. Под влиянием фермента уреазы бактерий мочевина гидролизуется с образованием  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$  и воды:



При распаде в рубце мочевина служит источником для синтеза как заменимых, так и незаменимых аминокислот микрофлоры, заменяя таким образом определенный процент аминокислот кормов и повышая содержание бактериального белка. С учетом этого в корма жвачных животных добавляют небольшие количества мочевины. В рубце коровы синтезируется до 700 г бактериального белка в сутки. Таким образом, в сычуге жвачных расщепляются как белки кормов, так и белки микрофлоры.

Основные процессы переваривания белков кормов происходят в тонком кишечнике, где завершается окончательный гидролиз белков. В них участвуют ферменты поджелудочной железы и слизистой тонкого кишечника. При этом соляная кислота нейтрализуется гидрокарбонатом поджелудочной железы:



В тонком кишечнике гидролиз белков происходит как в полости кишок, так и на поверхности слизистой оболочки (пристеночное пищеварение).

Сок поджелудочной железы богат проферментами экзо- и эндопептидаз, которые активируются лишь при их поступле-

нии в просвет кишечника. Поджелудочная железа продуцирует такие протеолитические ферменты, как трипсин, химотрипсин, карбоксипептидазы, эластаза, коллагеназа. Все эти ферменты имеют в активном центре аминокислоту серин, поэтому их часто называют сериновыми протеазами.

Трипсин (м. м. = 26 тыс.) — эндопептидаза поджелудочной железы, вырабатывается в виде трипсиногена. Под влиянием энтеропептидазы (старое название энтерокиназа) 12-перстной кишки трипсиноген превращается в трипсин, активный при рН 8,0. Трипсин расщепляет в молекулах белков примерно 30% пептидных связей, образованных основными аминокислотами — лизином и аргинином. Более чувствительными к трипсину являются денатурированные белки по сравнению с нативными. В случае острого панкреатита в сыворотке крови появляется трипсин, что служит важным диагностическим тестом при патологии поджелудочной железы. Трипсин выполняет главенствующую роль среди ферментов поджелудочной железы. Сок поджелудочной железы в норме содержит низкомолекулярный пептид, который выступает как ингибитор трипсина и нейтрализует трипсин, образующийся преждевременно внутри клеток поджелудочной железы.

Химотрипсин (м. м. = 25 тыс.) — эндопептидаза поджелудочной железы, также вырабатывается в форме неактивного предшественника — химотрипсиногена. Под влиянием трипсина химотрипсиноген превращается в активный химотрипсин, который гидролизует около 50% пептидных связей остатков ароматических и гидрофобных аминокислот. Так, химотрипсин гидролизует связи типа тирозил —CO—NH—, хотя тирозин может быть замещен другими аминокислотами, такими как фенилаланин, триптофан, лейцин. Следовательно, химотрипсин имеет достаточно широкую субстратную специфичность при рН оптимуме порядка 8,0.

Химотрипсин — это одна полипептидная цепь, содержащая 245 аминокислотных остатков. В настоящее время последовательность аминокислот в молекулах химотрипсинов различного типа и их активных центров хорошо изучена.

Эластаза (м. м. = 25 тыс.) — эндопептидаза поджелудочной железы, вырабатывается в форме проэластазы. В тонком кишечнике проэластаза под действием трипсина превращается

в эластазу. Эластаза — фермент, активный в отношении белков соединительной ткани типа эластина. Эластаза имеет широкую специфичность и активнее гидролизует пептидные связи, образованные аминокислотами с небольшими гидрофобными радикалами, такими как глицин, аланин, серин. По структуре эластаза является близким аналогом  $\alpha$ -химотрипсина, включает также 245 аминокислотных остатков и содержит в активном центре серин-195 и гистидин-57.

Коллагеназа вырабатывается клетками поджелудочной железы и гидролизует пептидные связи коллагена костной и хрящевой ткани. Коллагеназа по строению и свойствам также является близким аналогом эластазы и  $\alpha$ -химотрипсина.

Карбоксипептидазы-А и В — экзопептидазы поджелудочной железы вырабатываются в неактивной форме — в форме прокарбоксипептидаз (м. м. = 90 тыс.). Под влиянием трипсина они переходят в активную форму. Карбоксипептидазы разрывают пептидные связи белковых молекул со стороны свободной (концевой) карбоксильной группы, причем радикалом для этого концевого аминокислотного остатка должна служить объемная ароматическая или алифатическая группа. Так, максимальная активность карбоксипептидазы-А наблюдается, если радикал концевого аминокислотного остатка представлен фенилаланином или другими ароматическими аминокислотами. В структуре молекулы карбоксипептидазы есть атом цинка. Карбоксипептидаза-А содержит 305 аминокислотных остатков и включает в активном центре Glu-270, Tyr-248, Glu-72, His-69, Arg-145. Карбоксипептидаза-В активна, если пептиды оканчиваются лизином или аргинином.

Аминопептидазы тонкого кишечника расщепляют пептидные связи полипептидных цепей со стороны свободных (концевых) аминогрупп. Эти ферменты активнее действуют на белки и пептиды, в которых радикалы концевого аминокислотного остатка представлены аланином или лейцином. Процесс переваривания белков кормов завершают трипептидазы и дипептидазы, действие которых приводит к получению свободных аминокислот из трипептидов и дипептидов соответственно. Поверхность эпителиальных клеток тонкого кишечника богато представлена аминопептидазами и различными три- и дипептидазами.

Таким образом, совместное действие различных пептидаз поджелудочной железы, желудка и тонкого кишечника приводит к образованию как свободных аминокислот, так и мелких пептидов. Отдельные белки, такие как кератины (белки волос, рогов, копыт, перьев), устойчивы к действию протеолитических ферментов. Это связано со спецификой их структуры, где присутствует большое число дисульфидных связей.

Полученные в результате переваривания белков свободные природные L-изомеры аминокислот и, возможно, мелкие пептиды быстро всасываются различными транспортными системами в стенку тонкого кишечника при участии ионов натрия, витамина B<sub>6</sub>. Вероятно, это активный энергозависимый процесс с передвижением аминокислот против градиента концентрации. При этом важна всасывающая способность ворсинок кишечника, обеспечивающая транспорт аминокислот через мембраны клеток кишечника и поступление их через воротную систему печени непосредственно в печень.

Аминокислоты не обладают антигенными свойствами и не вызывают иммунных реакций. Однако чужеродные белковые молекулы при поступлении в кровь вызывают реакции образования антител. Тонкий кишечник новорожденных животных способен абсорбировать нативные белки кормов (пиноцитоз). Процесс пиноцитоза является важным также для абсорбции материнских антител ( $\gamma$ -глобулинов). В результате обеспечивается формирование в организме новорожденного, например теленка, молозивного (колострального) иммунитета. Это особенно важно, учитывая, что собственный синтез иммуноглобулинов у новорожденных еще не активен, он формируется лишь к 2–3-месячному возрасту.

Отметим, что у приматов и грызунов плод получает антитела организма матери через плаценту. У домашних животных отсутствует плацентарный перенос антител.

## СУДЬБА АМИНОКИСЛОТ В ТОЛСТОМ КИШЕЧНИКЕ

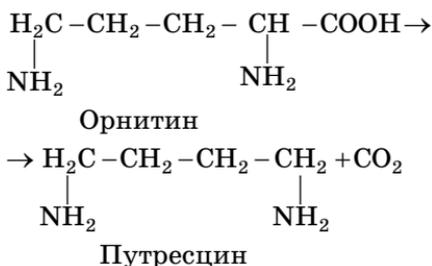
Некоторое количество белков и их производные, не подвергшиеся распаду в тонком кишечнике, поступают в толстый кишечник, где под влиянием ферментов различных микроорганизмов подвергаются процессам гниения и брожения

с освобождением  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ , аминов, уксусной, пропионовой, масляной кислот. Эти ядовитые продукты поступают в кровеносную и лимфатическую системы, вызывая негативные эффекты в органах и тканях организма.

Причем если у плотоядных животных (свиньи, собаки, кошки и др.) в толстом кишечнике преобладают процессы гниения, то у травоядных животных (крупный и мелкий рогатый скот, лошади, кролики и др.) — различные виды брожения избытка клетчатки и других углеводов. Большинство аминокислот в толстом кишечнике под влиянием декарбоксилаз бактерий подвергается декарбоксилированию с выделением  $\text{CO}_2$  и образованием аминов. Так, при декарбоксилировании лизина образуется диамин-кадаверин:

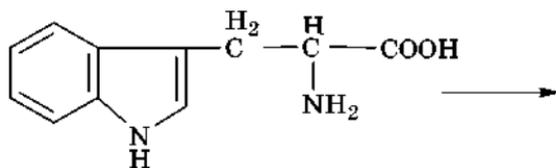


При декарбоксилировании орнитина образуется диамин-путресцин:

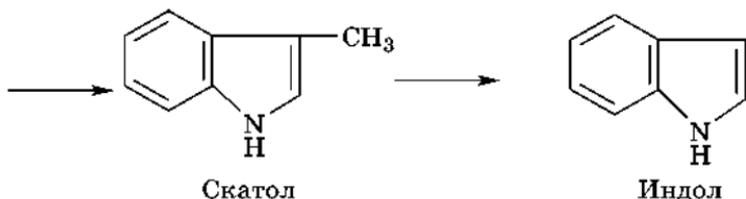


Кадаверин и путресцин относятся к трупным ядам, так как они активно образуются при разложении трупов. Они легко всасываются в кровь и могут выделяться с мочой из организма.

При гнилостном распаде циклических аминокислот образуются ядовитые продукты обмена. В частности, триптофан превращается в скатол и индол:



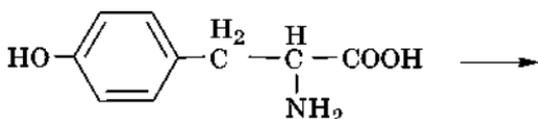
Триптофан



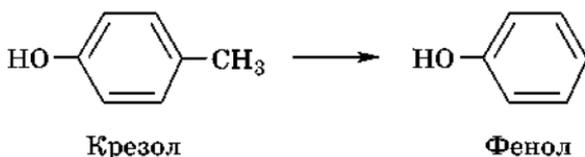
Скатол

Индол

При распаде тирозина образуются крезол и фенол:



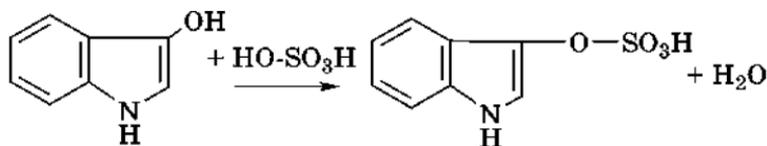
Тирозин



Крезол

Фенол

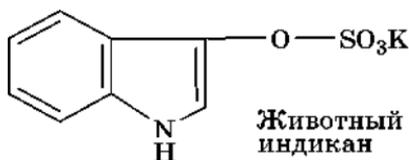
Все эти циклические продукты через систему воротной вены достигают печени, где взаимодействуют с активной формой серной или глюкуроновой кислот, образуя нетоксичные «парные» соединения, которые выводятся из организма через почки. Например, индол предварительно трансформируется в индоксил, который взаимодействует с УДФ-глюкуроновой кислотой:



Индоксил

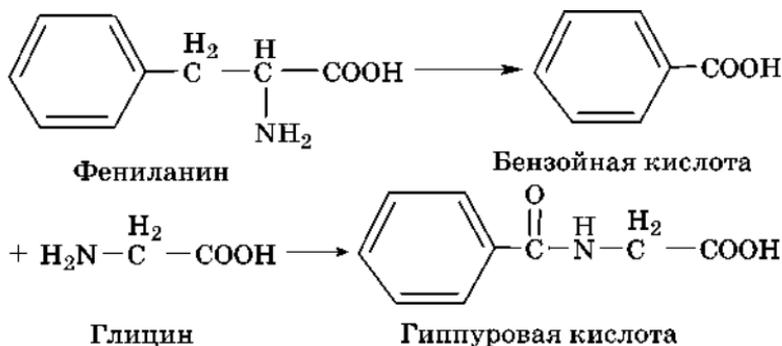
Индоксилсерная кислота

Индоксилсерная кислота в почках, реагируя с гидрокарбонатом калия или натрия, переходит в калиевую или натриевую соли, которые получили название животного индикана:



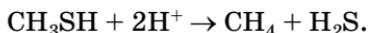
Животный индикан выделяется из организма с мочой. Его количество в моче свидетельствует об интенсивности гниения белков в толстом кишечнике. Часто повышенный уровень животного индикана в моче животного имеет место при различных травмах, воспалительных процессах, при избытке триптофана в кормах рациона.

Фенилаланин в кишечнике под влиянием бактериальных ферментов трансформируется в бензойную кислоту, которая в печени, взаимодействуя с глицином, образует гиппуровую кислоту:



По уровню образования и выведения гиппуровой кислоты в моче после приема бензойной кислоты судят о функциональном состоянии печени.

При распаде серосодержащей аминокислоты цистеина образуется ряд веществ, включая метилмеркаптан ( $\text{CH}_3\text{SH}$ ), который восстанавливается до метана и сероводорода:



Рассмотренные примеры реакций свидетельствуют о наличии в организме защитных механизмов нейтрализации ядовитых продуктов, образующихся в кишечнике животного. Процессы гниения белков и распада аминокислот в толстом кишечнике усиливаются при кормлении животных недоброкачественными кормами, при атониях преджелудков у жвачных, при инфекционных и инвазионных болезнях.

## СУДЬБА АМИНОКИСЛОТ ПОСЛЕ ВСАСЫВАНИЯ

Аминокислоты являются элементами первичной структуры белков организма, которые постоянно обновляются. Белки рационов и обновление  $\alpha$ -аминокислот в тканях составляют резерв аминокислот, используемых в катаболизме для продукции энергии и в важных синтезах: синтез гема, аминов, нуклеотидов, глутатиона, пептидов и белков. Аминокислоты также служат прекурсорами для синтеза глюкозы, кетонных тел, жирных кислот. Белки, как и аминокислоты, в отличие от углеводов и жиров, не депонируются в организме, а поэтому должны быть постоянно в рационе. В случаях длительного дефицита в рационе животного углеводов, жиров аминокислоты могут быть использованы и как источник энергии, окисляясь при этом до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

Другим источником аминокислот в организме является эндогенный гидролиз белков под влиянием активных тканевых протеиназ. Благодаря поступлению аминокислот белков рациона и эндогенному распаду белков тканей в организме поддерживается баланс аминокислот. Поскольку белки рациона не соответствуют точно потребностям организма, определенные аминокислоты синтезируются в тканях из других компонентов рациона. При этом углерод, водород и кислород могут быть использованы организмом как из других аминокислот, так и предшествующих углеводов и жиров, тогда как азот почти полностью поступает от распавшихся ранее аминокислот.

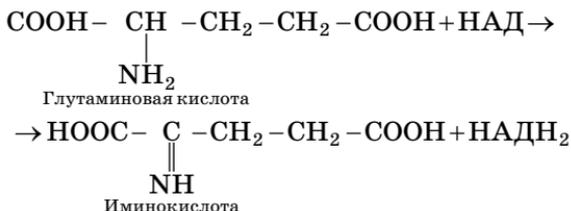
Если рационы включают аминокислоты сверх количеств, необходимых для синтеза белков или других клеточных элементов, то в этом случае избыток аминокислот или окисляется для получения энергии, или запасается в форме жиров или гликогена.

При распаде аминокислот азот освобождается в форме аммиака, часть которого вновь используется на синтез аминокислот, на другие биосинтетические реакции, экскретируется в мочу, но большая часть его трансформируется в мочевины, которая покидает организм через почки.

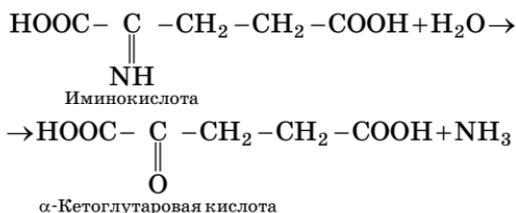
Белки тканей организма сравнительно активно обновляются. Так, белки печени обновляются наполовину за 8–12 сут, простые белки плазмы крови — альбумины и глобулины — за 18–45 сут. В то же время часть аминокислот претерпевает различные структурные превращения, которые носят как общие, так и специфические особенности. К общим реакциям превращений аминокислот относятся реакции дезаминирования, переаминирования (трансаминирования) и декарбоксилирования.

### ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

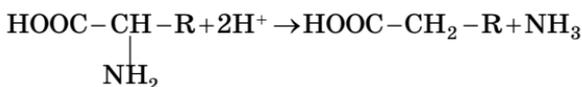
Сущность реакции дезаминирования аминокислоты состоит в удалении  $\alpha$ -аминогруппы аминокислоты в виде свободного аммиака с получением соответствующей  $\alpha$ -кетокислоты. При этом большая часть полученных молекул аммиака выводится из организма в виде мочевины. Принято классифицировать реакции дезаминирования на несколько видов (окислительное, восстановительное, гидролитическое). Наиболее часто в тканях осуществляются реакции окислительного дезаминирования аминокислот, которые протекают с участием глутаминовой кислоты в виде двух стадий. Первая стадия реакции с участием НАД-зависимой дегидрогеназы (глутаматдегидрогеназа) приводит к получению иминокислоты:



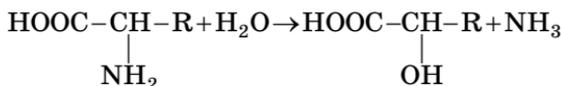
Неустойчивая иминокислота без участия фермента и в присутствии воды распадается на аммиак и  $\alpha$ -кетокислоту:



Вторым типом реакций дезаминирования является восстановительное дезаминирование аминокислоты до насыщенной органической кислоты и аммиака по следующей схеме:

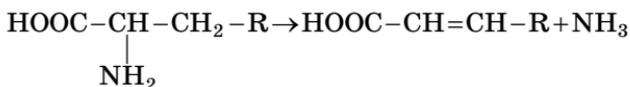


Третьим типом реакции дезаминирования аминокислот является гидролитическое дезаминирование аминокислот до гидроксикислоты и аммиака:



Второй и третий типы реакций дезаминирования аминокислот характерны для бактерий (включая микрофлору желудочно-кишечного тракта животных, в первую очередь жвачных животных).

Возможен и четвертый тип реакции дезаминирования аминокислот, представляющий внутримолекулярное дезаминирование аминокислоты с образованием ненасыщенной органической кислоты и аммиака:



Этот тип реакции дезаминирования аминокислот характерен как для растений, так и для ряда бактерий. Однако в организме млекопитающих такая реакция протекает только на первой стадии катаболизма гистидина под действием фермента гистидазы с образованием уроканата.

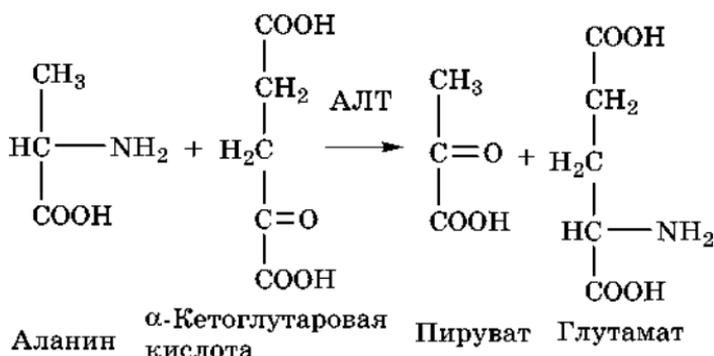
## ТРАНСАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

Большинство аминокислот вступает в реакции трансаминирования с участием аминотрансфераз (трансминаз). В количественном плане эта наиболее важная реакция непрямого пути дезаминирования представляет собой реакцию переноса  $\alpha$ -аминогруппы аминокислоты на  $\alpha$ -кетокислоту с образованием новой кетокислоты и новой аминокислоты.

Реакция трансаминирования — легко обратимая — включается в синтез заменимых аминокислот, в распад многих аминокислот. Аминокислоты, за исключением лизина, треонина и пролина, могут вступать в реакции трансаминирования с участием сложных ферментов — трансминаз (аминотрансфераз). Большинство реакций трансаминирования протекает с участием таких аминокислот, как глутаминовая, аспарагиновая, аланин и соответствующих им кетокислот —  $\alpha$ -кетоглутаровой, щавелево-уксусной, пировиноградной.

Все трансминазы переносят аминогруппы с участием в качестве кофермента пиридоксаль-фосфата (ПФ — производное витамина B<sub>6</sub>), который необходим для перегруппировки электронов реагирующих функциональных групп (включая перенос аминогруппы от аминокислоты на кетокислоту).

Приведенная ниже реакция катализируется ферментом аланинаминотрансферазой (АЛТ):



Этот тип химической реакции имеет большое значение в метаболизме аминокислот. Он объясняет понятие «заменимые

и незаменимые аминокислоты». Действительно, при наличии кетокислоты посредством реакции трансаминирования можно получить соответствующую аминокислоту, которая будет отнесена к заменимым аминокислотам. Незаменимые аминокислоты не синтезируются в организме животных, так как для них в тканях нет соответствующих кетокислот.

В клинической практике получила широкое использование активность двух трансаминаз сыворотки крови — аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ). Активность этих трансаминаз наиболее выражена в клетках печени, сердца. Активность их в сыворотке крови в норме невелика по сравнению с их активностью в указанных органах. При нарушениях целостности соответствующих клеточных мембран трансаминазы выявляют в крови. Значительное повышение активности этих ферментов в крови свидетельствует о наличии патологического процесса в определенных органах, что является проверенным и широко используемым в ветеринарной практике диагностическим тестом.

Соотношение активности АСТ/АЛТ сыворотки крови получило название коэффициента де Ритиса, который в норме равен  $1,33 \pm 0,42$ . В частности, при инфаркте миокарда значительно возрастает активность АСТ в сыворотке крови; при гепатитах в большей мере возрастает активность АЛТ в сыворотке крови по сравнению с активностью АСТ.

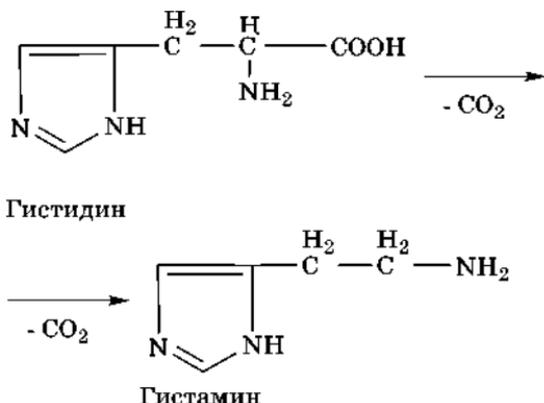
### **ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ**

Отдельные аминокислоты могут претерпевать декарбоксилирование — удаление карбоксильной группы с образованием аминов.

Реакции декарбоксилирования являются необратимыми и катализируются сложными ферментами — декарбоксилазами, простетические группы которых представлены пиридоксальфосфатом (витамин В<sub>6</sub>). В значительных количествах декарбоксилазы аминокислот находятся в надпочечниках, в центральной нервной системе.

В частности, декарбоксилирование гистидина в тучных клетках соединительной ткани приводит к получению гистамина:

При повреждении ткани гистамин секретируется в кровь.



Гистамин обладает сосудорасширяющим эффектом (снижает артериальное давление), особенно в местах воспалений, что вызывает усиленный приток лейкоцитов и повышение защитных реакций организма. Роль гистамина связывают также с продукцией соляной кислоты желудочного сока, аллергическими реакциями. Гистамин является медиатором боли.

Активную биологическую роль в организме играет и другой амин — серотонин, получаемый при декарбоксилировании 5-гидрокситриптофана:





## КЕТОГЕННЫЕ И ГЛИКОГЕННЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ

При катаболизме важнейших аминокислот большинство из них превращаются в конечном счете в метаболиты цикла трикарбоновых кислот (щавелево-уксусная, кетоглутарат, сукцинил-КоА) и пируват, а через него — в ацетил-КоА.

Поскольку эти указанные метаболиты могут быть использованы клетками организма для синтеза углеводов (в частности, глюкозы), то такие аминокислоты, как Гли, Ала, Сер, Тре, Цис, Асп, Глу, Гли, Арг, Гис, Про, Вал, Иле, Мет, называются гликогенными. Пять других аминокислот (Лей, Лиз, Тир, Три, Фен), являющиеся предшественниками кетоновых тел (в частности, ацетоацетата) — рассматриваются как кетогенные.

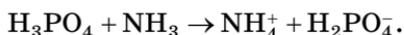
Разделение аминокислот на гликогенные и кетогенные является достаточно условным, поскольку отдельные участки углеродного скелета Лиз, Фен, Тир и Три могут включаться и в метаболиты, из которых потенциально может синтезироваться и глюкоза. Например, при катаболизме как Фен, так и Тир, кроме одной молекулы ацетоацетил-КоА, образуется одна молекула фумарата (метаболита цикла трикарбоновых кислот). В ряде известных работ по биохимии можно встретить замечание о том, что только Лей является истинной кетогенной аминокислотой, поскольку при ее катаболизме образуется по одной молекуле ацетоацетил-КоА и ацетил-КоА.

Однако детали метаболизма отдельных аминокислот до сих пор не установлены (даже для человека и домашних животных, не говоря уже о редких видах). Поэтому считаем уместным для студентов ветеринарных и зоотехнических факультетов сохранить традиционные деления аминокислот на гликогенные и кетогенные в общем виде, представленном выше. Кроме того, обмен каждой из аминокислот не является отдельным вопросом программы курса биохимии для студентов указанных факультетов.

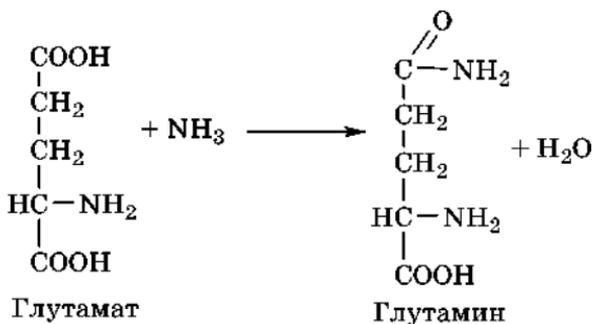
## ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ АММИАКА

Реакции дезаминирования аминокислот и азотистых оснований, окисления биогенных аминов приводят к образованию в тканях аммиака. Другая часть аммиака образуется в кишечнике в результате гниения в нем белков.

Образовавшийся в тканях аммиак может быть частично использован на синтез аминокислот посредством восстановительного аминирования  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты при участии глутаматдегидрогеназы и трансаминаз. Аммиак может быть также трансформирован в мочевины и пиримидиновые основания. В почках дезаминирование аминокислот приводит к образованию свободного  $\text{NH}_3$ , который нейтрализует кислоты и таким образом экономит для организма ионы калия и натрия, поддерживая щелочной резерв:



В крови следовые количества аммиака представлены в виде иона аммония ( $\text{NH}_4^+$ ). Свободный аммиак очень токсичен для организма. Легко проникая через мембраны мозга, аммиак снижает концентрацию глутамата, что нарушает метаболизм аминокислот и нейромедиаторов (в частности, гамма-аминомасляной кислоты — основного тормозного медиатора). Следовательно, в тканях должен быть активный акцептор и донор групп —  $\text{NH}_2$  или  $\text{NH}_3$ . Такими веществами являются глутаминовая кислота и глутамин. Во всех тканях аммиак способен связываться с глутаминовой кислотой при участии глутаминсинтетазы и АТФ, образуя глутамин:



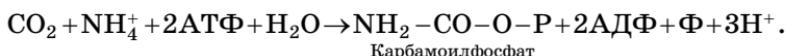
Роль глутамина в метаболизме аммиака очень важна. Он присутствует в крови в концентрации 5–10 мг%, количественно превышая уровень других амидов аминокислот, например аспарагина. Глутамин является основной формой транспорта аммиака в печень для синтеза мочевины. Глутамин нетоксичен, слабо диссоциирует и поэтому участвует в регуляции pH мочи за счет

гидролиза под влиянием глутаминазы. В печени глутамин распадается на свободную глутаминовую кислоту и аммиак.

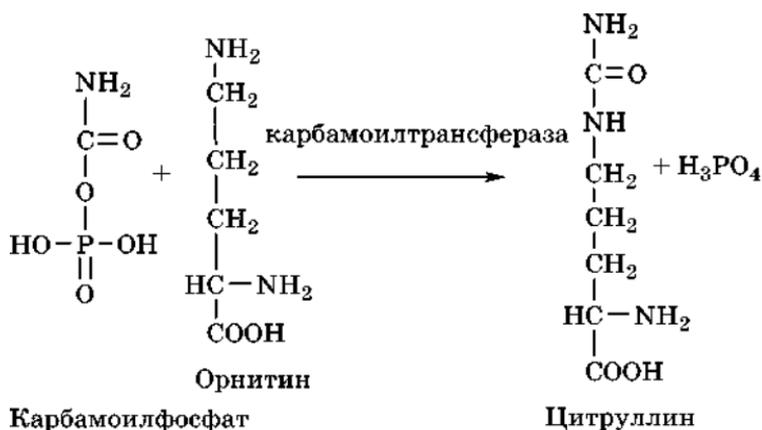
Образование глутамина следует рассматривать как важнейший тканевой механизм временного связывания и обезвреживания аммиака. При этом многие органы (мозг, почки, мышцы, кишечник и др.) освобождаются от аммиака. При распаде глутамина аммиак поступает на синтез мочевины, пуринов и пиримидинов, других соединений. У жвачных животных аммиак для синтеза мочевины поступает также из рубца в результате распада аминокислот кормов ферментами микрофлоры.

Около 80% экскретируемого азота из организма наземных млекопитающих представлено в форме мочевины, поэтому синтез мочевины можно рассматривать как основной механизм обезвреживания аммиака (уреотелические организмы).

Основной синтез мочевины протекает в печени. В 1932 г. Ганс Кребс и студент-медик Курт Хенселейт впервые описали реакции синтеза мочевины. В первой сложной необратимой реакции используется  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_4^+$ , 2АТФ,  $\text{H}_2\text{O}$  и карбамоилфосфатсинтетаза:

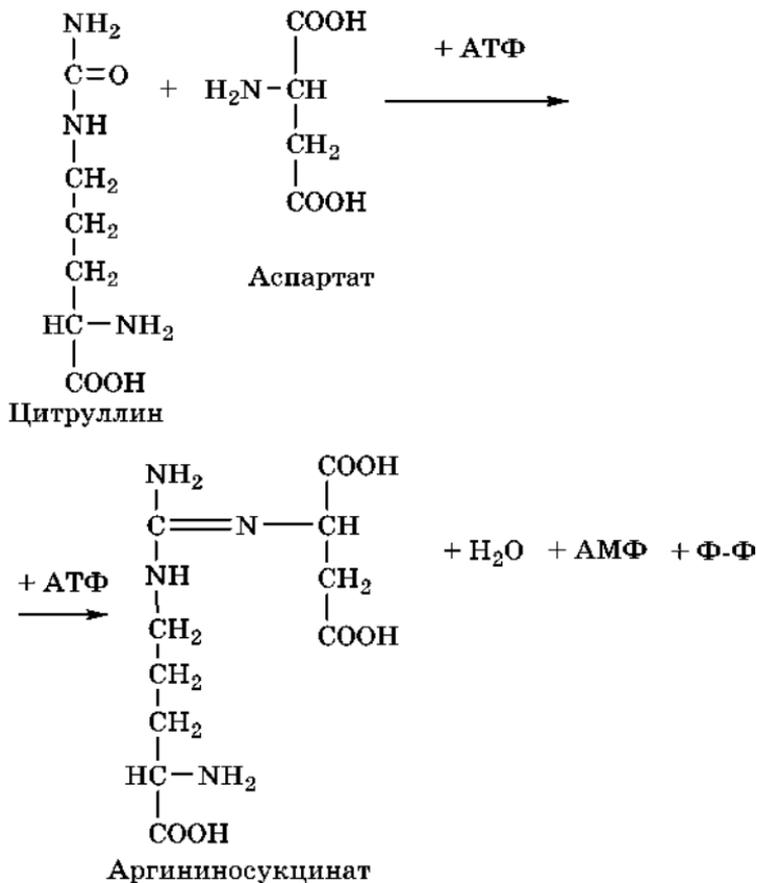


Во второй реакции перенос карбамоильной группировки с карбамоилфосфата на  $\alpha$ -аминокислоту орнитин приводит к образованию другой  $\alpha$ -аминокислоты — цитруллина:



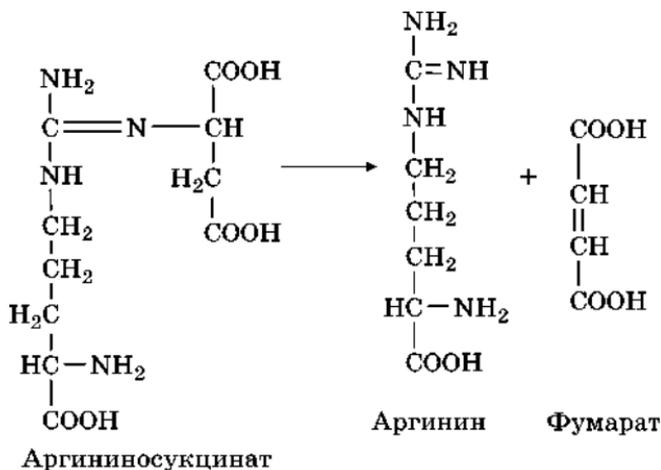
Полученный цитруллин из митохондрий переходит в цитозоль клетки, где имеют место следующие реакции.

Затем аргининосукцинатсинтетаза с участием ионов магния катализирует конденсацию цитруллина и аспарагиновой кислоты, образуя аргининянтарную кислоту (аргининосукцинат).



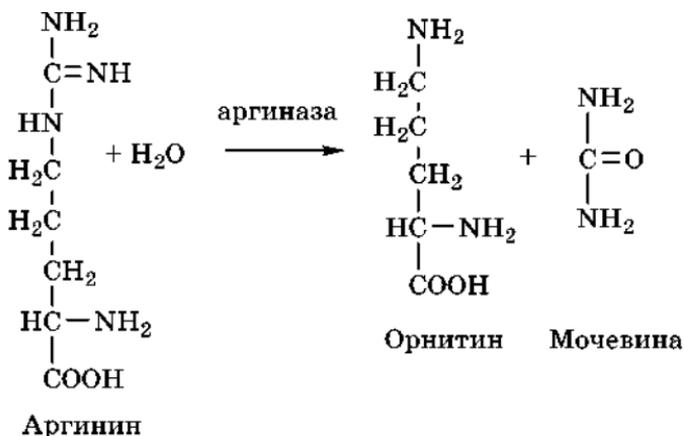
Эта реакция протекает с участием фермента аргининосукцинатсинтетазы и требует затраты энергии двух макроэргических связей (при распаде АТФ на АМФ и Ф-Ф и дальнейшего распада Ф-Ф на две молекулы неорганического фосфата под влиянием пирофосфатазы).

Аргининосукцинат при участии фермента аргининосукцинатлиазы распадается на свободный аргинин и фумаровую кислоту. При этом аминогруппа аспарагиновой кислоты оказывается в молекуле аргинина:



Фумарат при участии воды переходит в яблочную кислоту, которая трансформируется в щавелево-уксусную кислоту.

Цикл мочевины завершается в цитозоле клетки гидролизом аргинина на орнитин и мочевину под влиянием фермента аргиназы:

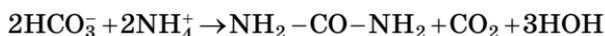
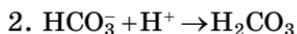
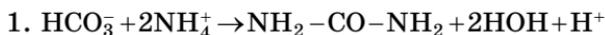


Аргиназа- $Mn^{2+}$  обнаруживается в мозге, почках, печени, молочной железе, семенниках, в других органах, где синтез орнитина из аргинина может иметь большую физиологическую значимость, чем синтез мочевины.

Полученная молекула орнитина вновь переходит в митохондрию, где вступает в реакцию с карбамоилфосфатом и реакции повторяются в виде циклического процесса, получившего название орнитинового цикла. Следует подчеркнуть, что один атом азота молекулы мочевины происходит от аммиака, другой — от аминогруппы аспартата.

Представленные реакции показывают, что на синтез одной молекулы мочевины затрачивается 4 макроэргические связи или 4 молекулы АТФ.

Таким образом, орнитиновый цикл нейтрализует токсический для организма аммиак и дополнительно в нем происходит синтез незаменимой аминокислоты аргинина. Однако орнитиновый цикл представляет также механизм экскреции избытка ионов  $HCO_3^-$ , появляющихся в результате реакций декарбоксилирования аминокислот, что иллюстрируют следующие реакции:



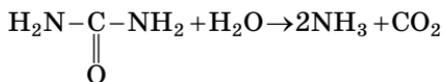
Таким образом, в этом процессе потенциально токсические продукты: аммиак и бикарбонат, представляются безвредными и экскретируются из организма.

Мочевина — постоянный компонент крови животного; это основной продукт конечного распада белков у большинства видов млекопитающих.

В норме содержание мочевины в крови составляет 20–40 мг% (3,5–6,6 ммоль/л). Уровень мочевины в крови увеличивается при избыточном белковом кормлении, физических нагрузках, патологических состояниях, сопровождающихся распадом белков в организме.

Мочевина из печени поступает в кровь и выделяется из организма через почки. Избыток мочевины, полученный

в орнитиновом цикле, проходит в кишечник, где под влиянием фермента уреазы бактерий гидролизуется до  $\text{NH}_3$  и  $\text{CO}_2$ :



Поскольку фумаровая, щавелево-уксусная и  $\alpha$ -кетоглутаровая кислоты являются метаболитами цикла трикарбоновых кислот, то оба циклических процесса, предсказанные Г. Кребсом (цикл трикарбоновых кислот и орнитиновый цикл), оказываются взаимосвязанными.

По данным А. И. Кононского (1992), суточное количество мочевины в моче у крупного рогатого скота составляет 60–100 г, у лошадей — 75–50 г.

## ОБМЕН ХРОМОПРОТЕИНОВ

Хромопротеины — сложные белки, содержащие белковую часть и простетическую группу, представленную гемом. К ним относятся: гемоглобин, миоглобин, цитохромы, ферменты — каталаза, ксантиноксидаза. Эти белки синтезируются во всех клетках организма, исключая эритроциты.

Гемоглобин представляет собой структурно-функциональный комплекс, включающий: четвертичную структуру, простетическую группу (гем) и аллостерическую регуляцию.

Гем включает четыре пиррольные структуры, связанные между собой метеновыми мостиками. В центре этих структур находится железо в восстановленной форме ( $\text{Fe}^{2+}$ ), которое фиксируется двумя ковалентными связями и двумя координационными связями с атомами азота пирролов. Гем связан с глобином через аминокислоту гистидин полипептидной цепи. Гем придает окраску белкам за счет наличия сопряженных двойных связей.

Способность гема образовывать комплексы с ионами железа является ключевым фактором для правильного функционирования белка гемоглобина по транспорту кислорода и углекислого газа в организме животного. Отметим, что главным хромопротеином растений выступает хлорофилл, в котором тетрапиррольная структура включает магний ( $\text{Mg}^{2+}$ ) вместо железа.

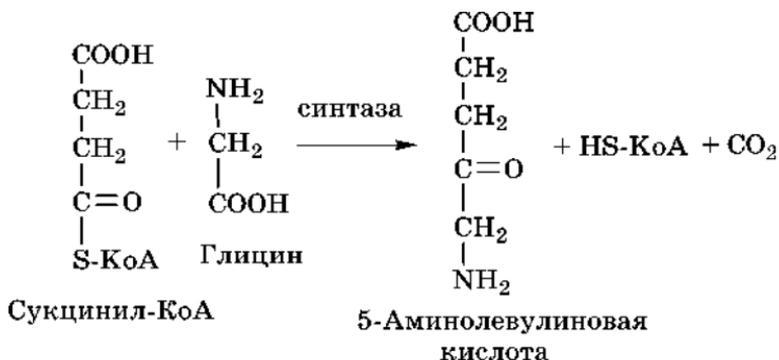
Хромопротеины поступают в пищеварительный тракт животного в составе кормов животного и растительного происхождения. В желудке они распадаются под действием соляной кислоты на простой белок и гем. Белок в тонком кишечнике полностью гидролизуется под влиянием протеолитических ферментов до свободных аминокислот. Гем под влиянием соляной кислоты желудка окисляется, образуя гематин ( $\text{Fe}^{3+}$ ), который (как и хлорофилл) удаляется из организма с каловыми массами.

Поэтому простетическая группа хромопротеинов кормов не может быть использована для синтеза гемопротеинов организма животного. Клетки тканей организма животного способны самостоятельно синтезировать эти сложные белки.

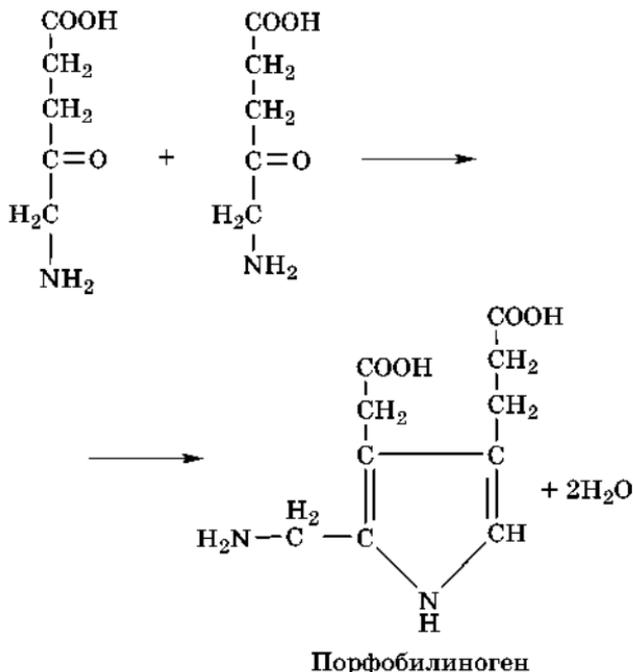
### БИОСИНТЕЗ ГЕМА

Гем синтезируется во всех тканях. В красном костном мозге гем синтезируется в процессе эритропоэза и присутствует в ретикулоцитах.

Активный синтез гема из низкомолекулярных предшественников имеет место в костном мозге и печени, где он необходим для синтеза гемоглобина и цитохромов, и в других тканях, за исключением эритроцитов, которые не имеют белоксинтезирующей системы. Механизм синтеза тетрапиррольной структуры гема изучен с использованием изотопов ( $^{14}\text{C}\text{H}_3\text{-COOH}$ ). Первой реакцией в биосинтезе является конденсация сукцинил-КоА и глицина с участием фермента синтазы в матриксе митохондрий:



Последующая конденсация двух молекул 5-аминолевулиновой кислоты с выделением двух молекул воды приводит к образованию порфобилиногена — монопиррольного соединения. Реакция катализируется ферментом 5-аминолевулинатдегидратазой:



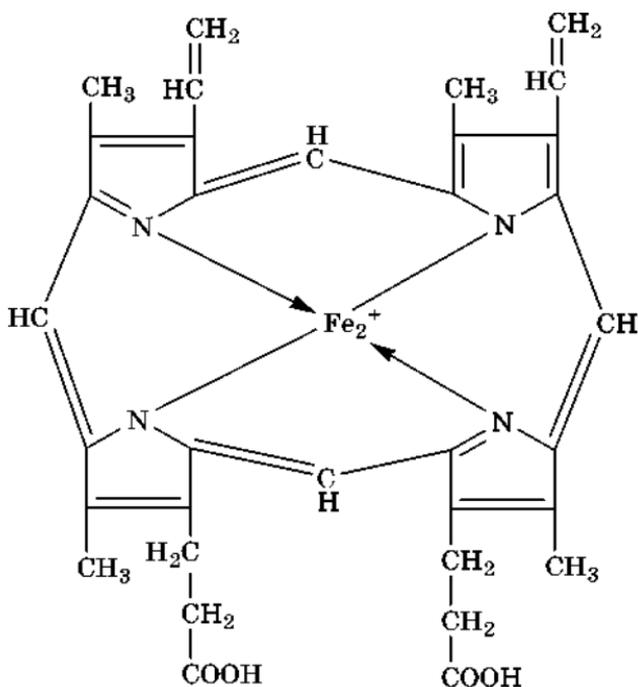
Как видно, структура порфобилиногена содержит кольцо пиррола. Конденсация четырех молекул порфобилиногена приводит к получению линейной структуры тетрапиррола — уропорфириногена, последующая циклизация которой через ряд реакций формирует структуру протопорфирина. Затем включение в протопорфирин железа при участии фермента феррохелатазы превращает его в гем. Источником железа при этом служит белок ферритин, который в наибольшем количестве содержится в красном костном мозге, печени и селезенке, а также железо кормов. Не более 10% железа кормов всасывается в пищеварительном тракте животных. Танины, фитаты, фосфаты кормов блокируют абсорбцию железа.

Синтезированный таким образом гем может связываться с двумя  $\alpha$ - (по 141 аминокислотному остатку) и двумя  $\beta$ - (по 146 аминокислотным остаткам) полипептидными цепями, образуя гемоглобин. Каждая полипептидная цепь нековалентно связана с гемом, а значит, одна молекула гемоглобина содержит четыре гема.

Молекулярная масса молекулы гемоглобина составляет около 68 тыс.

Если синтез гема снижен, то снижается и скорость синтеза глобина в ретикулоцитах.

Гемоглобин — главенствующий белок эритроцитов. В крови только гемоглобин наделен способностью связывать кислород. Поэтому благодаря наличию в эритроцитах гемоглобина они в 70 раз больше и активнее связывают кислород, чем плазма крови. В одном эритроците насчитывается до 340 млн молекул гемоглобина. Эритроциты составляют основную часть крови (45%).



Структура гема

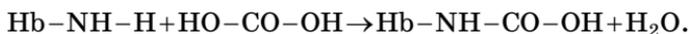
Атом железа в гемоглобине может быть в состоянии  $\text{Fe}^{2+}$  или  $\text{Fe}^{3+}$ , но только  $\text{Fe}^{2+}$  способен связывать кислород. Связывая кислород, атом железа не подвергается химическим изменениям.

Зрелый эритроцит млекопитающих лишен ядра, митохондрий, эндоплазматического ретикулума, поэтому синтез белка в нем невозможен. Концентрация гемоглобина в крови млекопитающих составляет 70–150 г/л.

Гемоглобин способен активно взаимодействовать с различными газами. Так, присоединяя молекулу кислорода, гемоглобин переходит в оксигемоглобин ( $\text{HbO}_2$ ). При понижении парциального давления в тканях оксигемоглобин легко распадается на свободный гемоглобин и кислород.

Гемоглобин также легко присоединяет окись углерода (CO) с образованием карбоксигемоглобина ( $\text{HbCO}$ ), вытесняя молекулу кислорода. Воздействие на оксигемоглобин отдельных окислителей (окислы азота, метиленовая синь) приводит к образованию  $\text{Fe}^{3+}$  в тетрапиррольном цикле (так называемый метгемоглобин, не способный связывать и транспортировать кислород).

Гемоглобин связывается также с  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , образуя карбогемоглобин:



Карбогемоглобин

В тканях карбогемоглобин легко распадается с выделением  $\text{CO}_2$  и удалением его с выдыхаемым воздухом.

В крови гемоглобин связывается с гаптоглобином, белком фракции  $\alpha_2$ -глобулина, синтезируемым в печени. Взаимосвязь этих белков приводит к образованию гемоглобин-гаптоглобинового комплекса, который по своим сравнительно большим размерам не может быть отфильтрован через почечные каналцы, предупреждая таким образом потерю части гемоглобина с мочой при внутрисосудистом гемолизе. Определение уровня гаптоглобина сыворотки крови используется в клинической практике в качестве индикатора степени внутрисосудистого гемолиза. При значительном внутрисосудистом гемолизе уровень гаптоглобина оказывается, как правило, очень низким. Макрофаги осуществляют распад этих комплексов.

Гаптоглобин — белок острой фазы; он обеспечивает защиту организма против бактериальной инфекции, блокируя доступность железа для роста микроорганизмов. Отметим, что у беспозвоночных роль транспортера кислорода выполняет медьсодержащий белок негеминовой природы — гемоцианин.

## РАСПАД ХРОМОПРОТЕИНОВ

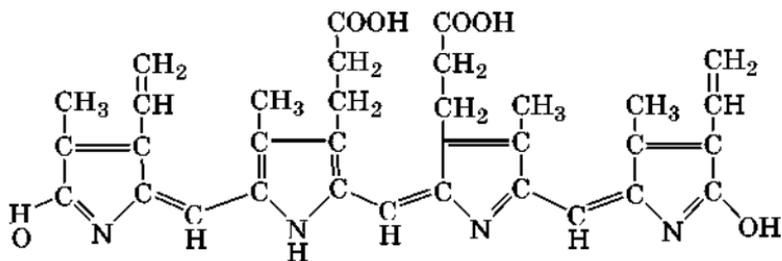
Рассмотрим распад хромопротеинов на примере распада гемоглобина, который количественно превосходит все другие белки этой группы. В норме около 70% всего железа в организме животного находится в эритроцитах. От 3 до 7% железа приходится на миоглобин в организме лошадей, скота, собак.

Хотя железо запасается в основном в клетках в форме ферритина, макрофаги запасают железо в форме гемосидерина. У лошадей и скота селезенка рассматривается как наиболее важный орган депонирования железа.

Продолжительность существования эритроцитов в крови животного составляет 90–120 сут, а затем они разрушаются с освобождением молекул гемоглобина. Основными органами, в которых происходит распад гемоглобина, являются селезенка, костный мозг, гистиоциты соединительной ткани, тогда как печень активно участвует в экскреции продуктов распада гема. В течение суток в организме животного разрушается 1–2% эритроцитов крови. В одну секунду в организме животного разрушаются 3 млн эритроцитов крови (Sjaastad O. V. et. al., 2003).

При распаде молекулы гемоглобина его белковая часть (глобин) гидролизуеться до свободных аминокислот. Распад гема начинается с разрыва одного метинового мостика между двумя пиррольными кольцами с сохранением на этой стадии атома железа, глобина и циклической структуры. Это приводит к получению вердоглобина.

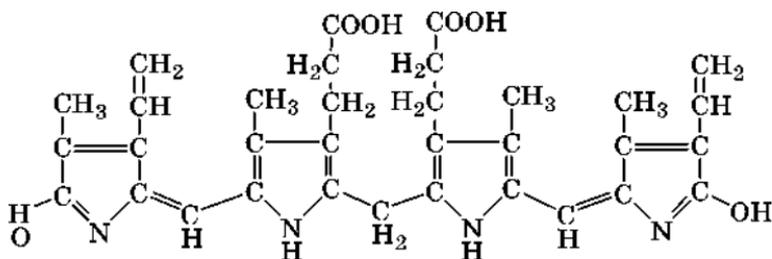
При последующем отрыве от вердоглобина глобина и железа происходит трансформация гема в линейную структуру желчного пигмента биливердина. Эта реакция катализируется ферментом гемоксигеназой с участием  $2O_2$  и НАДФН +  $H^+$ :



**Биливердин**

В этой же реакции углерод метинового мостика оказывается в молекуле окиси углерода (CO), которая может служить вторичным посредником в мозге, подобно окиси азота.

Под влиянием биливердин-редуктазы биливердин при участии НАДФН + H<sup>+</sup> восстанавливается в другой желчный пигмент — билирубин:



**Билирубин**

От соотношения биливердина и билирубина зависит цвет желчи. В составе желчи птиц преобладает биливердин. Образовавшийся в селезенке билирубин поступает в кровь, откуда в комплексе с альбумином сыворотки крови транспортируется в печень. В печени основная масса билирубина переходит в связанную форму (свыше 97%) с глюкуроновой или серной кислотами (конъюгация) по месту расположения остатков пропионовой кислоты и поступает в виде моно- или диконъюгата (диглюкуронида) в желчь.

В нормальной желчи диглюкуронид является основной формой экскреции билирубина. Конъюгированный билирубин растворим в воде, что облегчает его экскрецию в желчь. Он спосо-

бен непосредственно реагировать с diazoreaktivom, а поэтому называется прямым билирубином. У млекопитающих билирубин в составе желчи секретируется в кишечник преимущественно в виде билирубин-диглюкуронида, где под влиянием бактериальных ферментов ( $\beta$ -глюкуронидаз) гидролизуется.

Свободный билирубин затем восстанавливается бактериальной флорой в бесцветный уробилиноген. Уробилиноген в толстом кишечнике может вновь присоединять четыре атома водорода и переходить в стеркобилин.

Небольшая часть уробилиногена в кишечнике частично абсорбируется слизистой, поступает в циркуляцию и экскретируется в мочу в форме уробилина, придавая моче янтарный цвет.

В физиологических условиях билирубин-диглюкуронид плохо абсорбируется слизистой кишечника, поэтому плазма крови не содержит прямой билирубин. Он появляется в плазме в случаях, когда экскреция желчи затруднена по причине закупорки желчевыводящих протоков печени (камни, опухоли). При этом билирубин выходит в мочу, придавая ей выраженную желто-коричневую окраску.

В плазме крови билирубин не конъюгирован, но связан с альбуминами. Он нерастворим в воде, и для его взаимодействия с diazoreaktivom (реакция Ван-ден-Берга) нужно добавление алкоголя. Поэтому неконъюгированный билирубин называют еще непрямой, несвязанным, свободным. Его концентрация в плазме крови млекопитающих не превышает 1,0 мг% (у лошадей — 2–3,0 мг%). По причине плохой растворимости в воде непрямой билирубин в желчном пузыре выпадает в осадок, образуя вместе с холестерином желчные камни.

В плазме крови концентрация и соотношение прямого и непрямой билирубина значительно варьируют при различных болезнях животного, что важно для клинической диагностики. Часто повышение концентрации общего билирубина плазмы крови наблюдается при гемолитических процессах за счет непрямой фракции билирубина, тогда как болезни печени сопровождаются подъемом в плазме крови уровня прямого билирубина.

Если концентрация билирубина в плазме крови превышает 1,0 мг%, то имеет место состояние гипербилирубинемии. Обладая большой красящей способностью, желчные пигменты в этом

случае проникают в различные ткани, включая кожу, слизистые оболочки, окрашивая их в желтый цвет (желтуха).

Расчеты показывают, что из 1 г гемоглобина в организме образуются 35 мг билирубина. Следует помнить, что билирубин является продуктом распада не только гемоглобина, но и других гемсодержащих белков, в частности цитохромов, миоглобина.

Если у млекопитающих конечным продуктом распада гема является билирубин, то у птиц и рептилий конечным продуктом катаболизма гема является биливердин. Билирубин в 10 раз является более эффективным антиоксидантом по сравнению с аскорбиновой кислотой.

## ОБМЕН НУКЛЕОПРОТЕИНОВ

Нуклеопротейны — сложные белки, в структуре которых нуклеиновые кислоты связаны с простыми белками (гистонами, протаминами). В зависимости от вида нуклеиновой кислоты (РНК или ДНК) в составе нуклеопротейнов различают рибонуклеопротейны и дезоксирибонуклеопротейны.

Являясь биополимерами, нуклеиновые кислоты состоят из множества мононуклеотидов, каждый из которых, в свою очередь, состоит из пуринового (аденин, гуанин) или пиримидинового (тимин — для ДНК, урацил — для РНК, цитозин — как для ДНК, так и для РНК) основания, углеводного остатка пентозы (рибоза или дезоксирибоза) и остатка фосфорной кислоты. Все типы клеток — животные, бактериальные, растительные — содержат наряду с ДНК и РНК также различные мононуклеотиды в сравнительно большой концентрации, что связано с нормальным ростом клеток и их функциями.

Кроме участия в структуре нуклеиновых кислот, мононуклеотиды выполняют роль источников энергии (АТФ, ГТФ), регуляторов активности химических реакций (цАМФ, цГМФ), входят в состав коферментов (НАД<sup>+</sup>, ФАД, ФМН, НАДФ<sup>+</sup>, HS-CoA), переносят метильные группы (S-аденозилметионин), являются посредниками в различных синтезах (УДФ-глюкоза в синтезе гликогена). Многие этапы метаболических цик-

лов контролируются внутриклеточной концентрацией нуклеотидов.

Концентрация дезоксирибонуклеотидов имеет большие колебания в течение клеточного цикла, тогда как концентрация рибонуклеотидов носит сравнительно постоянный характер. В структуре нуклеиновых кислот, помимо указанных выше пуриновых и пиримидиновых оснований, могут быть видоизмененные (минорные) азотистые основания (7-метилгуанин, 5-метилцитозин) в небольших количествах.

Поступающие в составе кормов нуклеопротеины распадаются в желудке животного под влиянием соляной кислоты и пепсина на белковую часть и нуклеиновую кислоту. В тонком кишечнике нуклеиновые кислоты под влиянием нуклеаз (рибонуклеаза и дезоксирибонуклеаза) поджелудочной железы и фосфоэстераз кишечника гидролизуются до мононуклеотидов. Затем под влиянием фосфатаз кишечника мононуклеотиды гидролизуются до свободных нуклеозидов и фосфорной кислоты. Нуклеозиды состоят из азотистого основания и пентозы. Таким образом, основными продуктами всасывания являются нуклеозиды, отдельные мононуклеотиды и фосфаты.

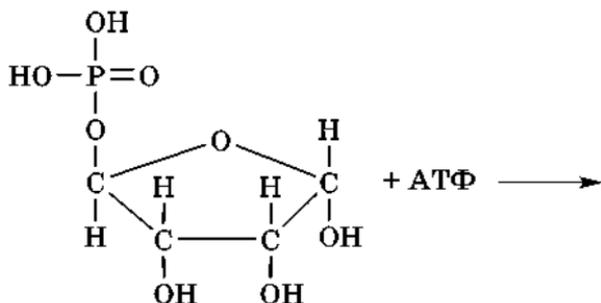
Животные не используют готовые пуриновые и пиримидиновые основания нуклеопротеинов кормов для синтеза собственных нуклеиновых кислот. Их ткани способны синтезировать азотистые основания нуклеотидов из промежуточных метаболитов организма. Поэтому животные могут длительное время обходиться без приема нуклеопротеинов в составе кормов.

Основным путем синтеза нуклеотидов является синтез из низкомолекулярных веществ, имеющих в тканях в результате различных обменных процессов. Это доказывается тем, что синтез значительного количества нуклеиновых кислот происходит, например, у рыб в период движения к месту нереста без потребления кормов.

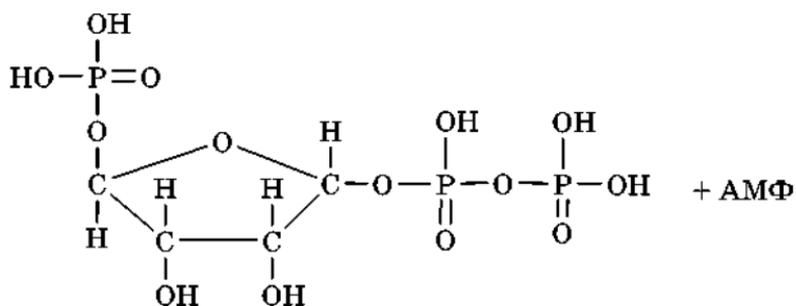
### **СИНТЕЗ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ**

Начальным компонентом синтеза пуриновых оснований является рибозо-5-фосфат, образующийся в процессе превращения глюкозы по пентозофосфатному пути, который при участии

АТФ и соответствующей киназы превращается в 5-фосфорибозил-1-пирофосфат (ФРПФ):

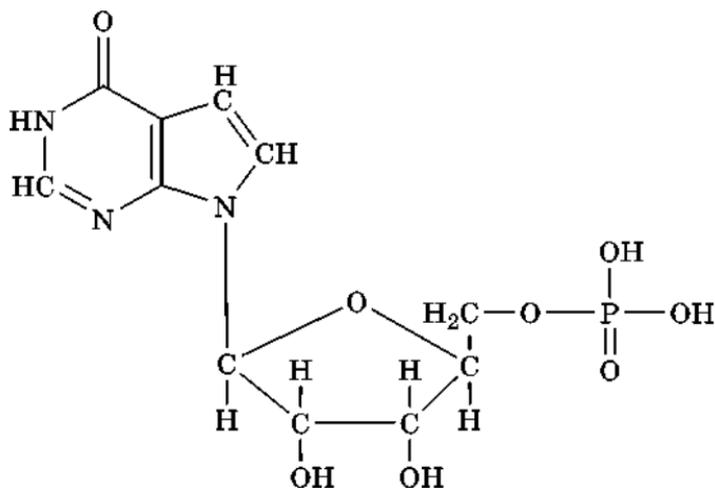


Рибозо-5-фосфат



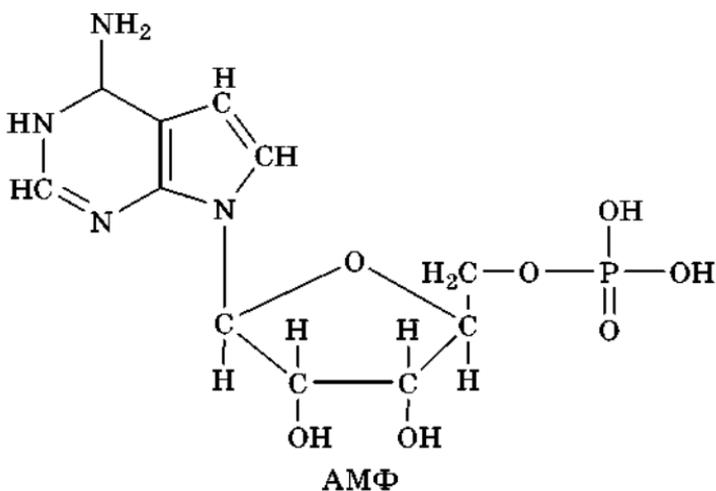
ФРПФ

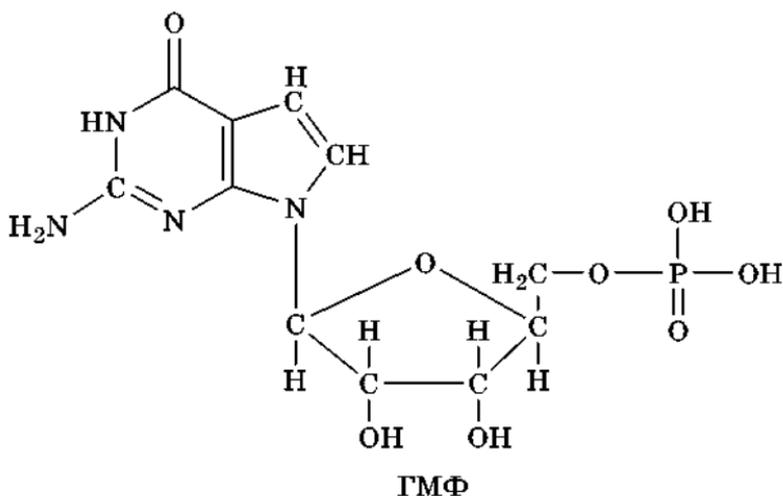
На основе полученного ФРПФ (как на краеугольном камне) происходит построение циклической структуры пурина. В этом синтезе участвует углекислота, аспарагиновая кислота, муравьиная кислота, глицин, глутамин, которые являются донорами атомов азота и углерода для синтезируемого гетероцикла. В синтезе пуриновых оснований необходима и фолиевая кислота для переноса радикала муравьиной кислоты. В результате 10 последовательных ферментативных реакций происходит образование не свободного пуринового основания, а мононуклеотида — инозиновой кислоты:



### Инозиновая кислота

Инозиновая кислота является основой для синтеза адениловой (АМФ) и гуаниловой (ГМФ) кислоты. При этом для синтеза АМФ используется  $\text{NH}_2$  — группа аспарагиновой кислоты, а для синтеза ГМФ — аминогруппа глутамина.

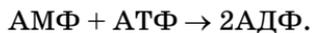




Для синтеза нуклеиновых кислот (полимеров) используются не мононуклеотиды, а соответствующие нуклеозидтрифосфаты, которые образуются за счет реакции перефосфорилирования с АТФ. В частности, образование ГТФ происходит следующим образом:



В свою очередь АМФ также фосфорилируется, сначала превращаясь в АДФ:

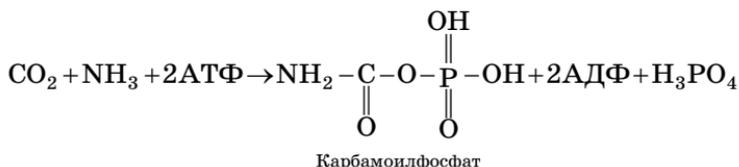


За счет реакции сопряженного с окислением фосфорилирования АДФ превращается в АТФ.

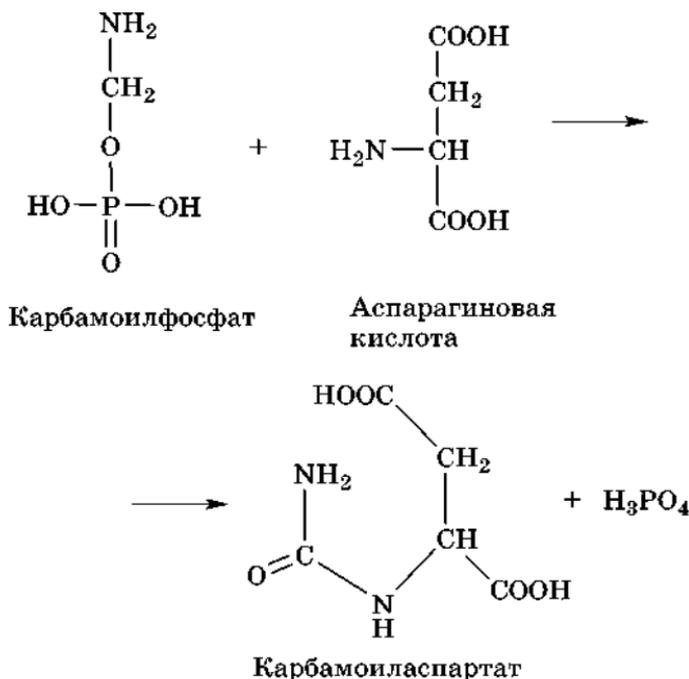
У млекопитающих пуриновые основания активно синтезируются в печени. Клетки головного мозга, эритроциты, нейтрофилы особенно зависят от поступления пуринов. Синтез нуклеотидов, используя готовые пуриновые основания, осуществляется только в эмбриональной, регенерирующей, опухолевой ткани. Все ферменты синтеза и распада пуриновых нуклеотидов находятся в цитозоле клеток.

## СИНТЕЗ ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ

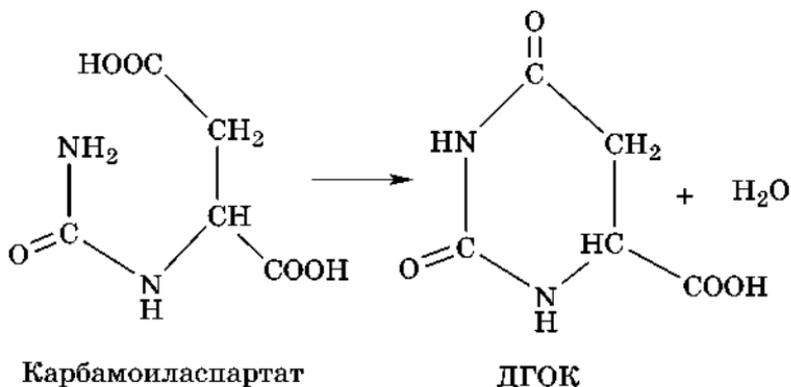
Особенностью синтеза пиримидиновых нуклеотидов является то, что пентоза присоединяется уже к синтезированному пиримидиновому основанию. Синтез пиримидинового основания начинается с образования карбамоилфосфата из  $\text{CO}_2$  и  $\text{NH}_3$  при участии АТФ:



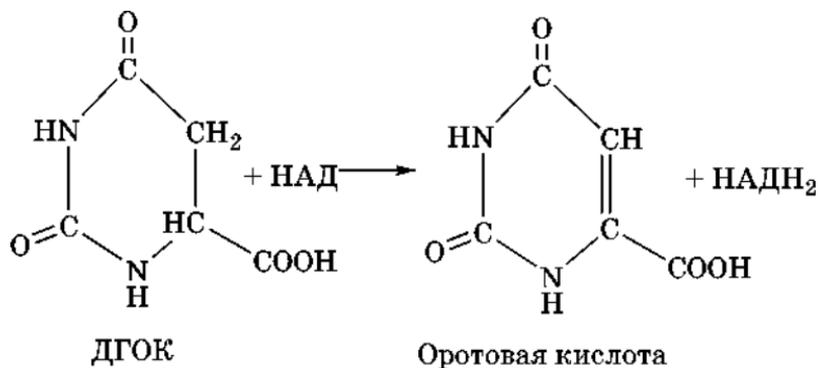
Полученный карбамоилфосфат взаимодействует с аспарагиновой кислотой при участии фермента карбамоиласпартат-трансферазы, образуя карбамоиласпартат:



Карбамоилфосфат при участии фермента дигидрооротазы выделяет молекулу воды с образованием кольцевой структуры дигидрооротовой кислоты (ДГОК):

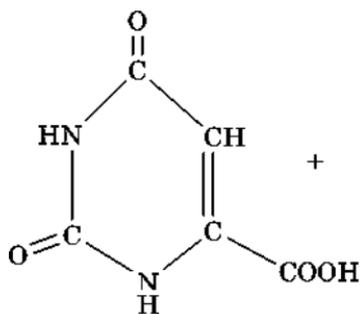


Последующее окисление ДГОК с участием НАД-содержащего фермента дигидрооротатдегидрогеназы приводит к образованию оротовой кислоты — основного промежуточного продукта биосинтеза пиримидинов:

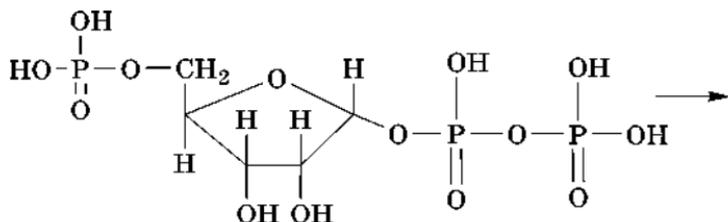


Оротовая кислота взаимодействует с ФРПФ, от которого принимает рибозо-5-фосфат с образованием оротидин-5-фосфата.

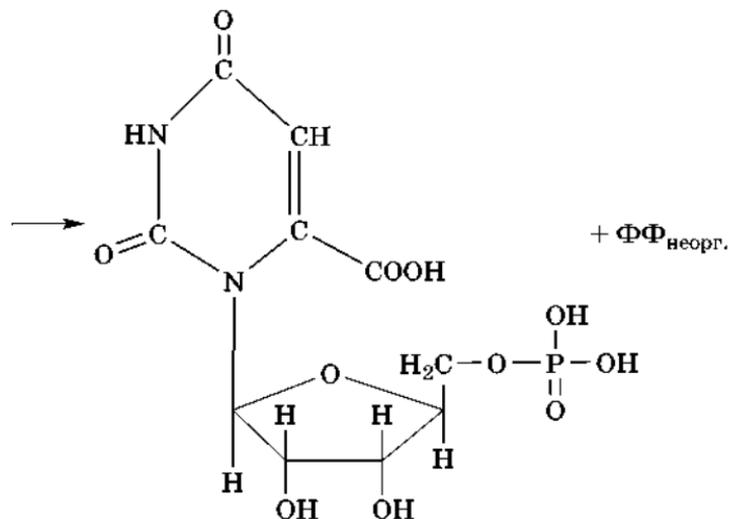
Декарбоксилирование оротидин-5-фосфата приводит к образованию уридин-5-фосфата (УМФ).



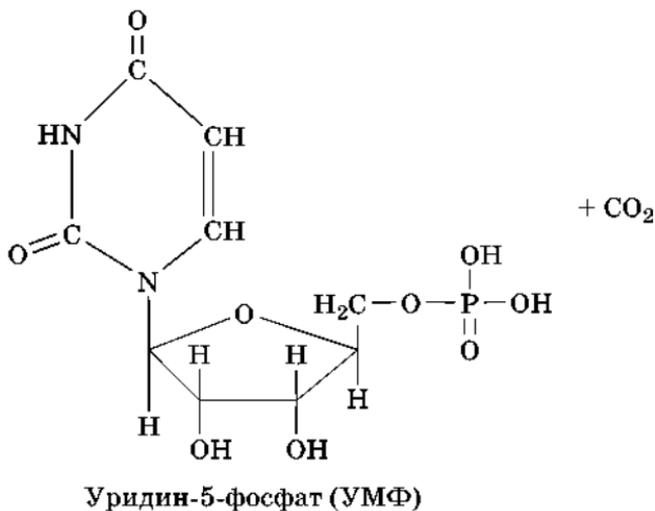
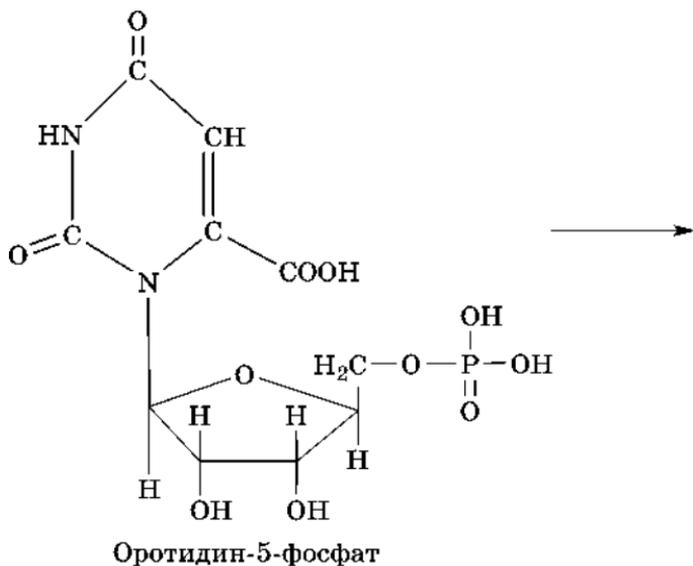
Оротовая кислота



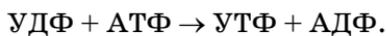
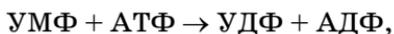
ФРПФ



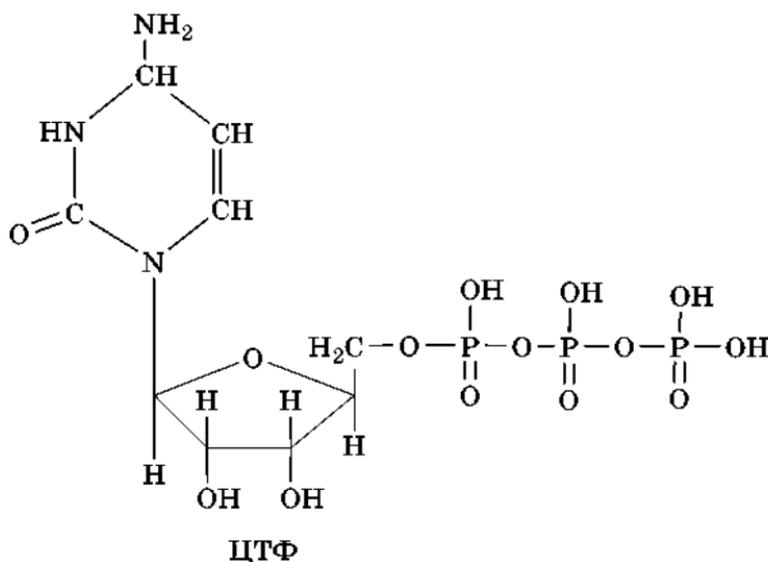
Оротидин-5-фосфат



УМФ может превращаться в УТФ при участии АТФ путем реакции перефосфорилирования:



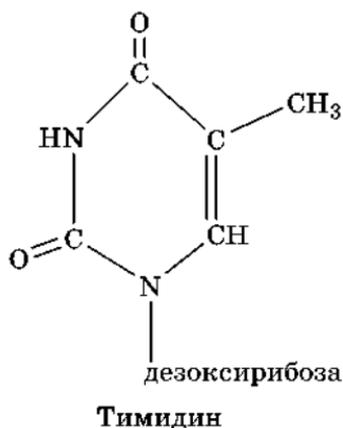
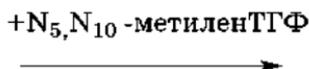
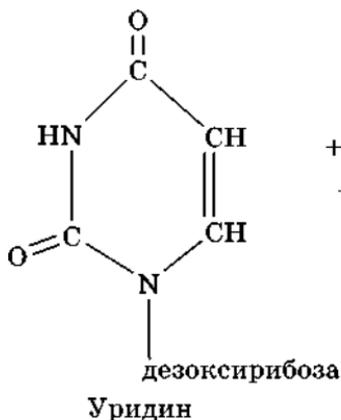
УТФ за счет реакции аминирования с участием глутамина и фермента ЦТФ-синтетазы может быть трансформирован в цитидинтрифосфат (ЦТФ):



Рассмотрим биосинтез нуклеотидов, входящих в состав ДНК. Известно, что структура ДНК отличается от структуры РНК пентозой и наличием свойственного лишь ей пиримидинового основания тимина. Синтез дезоксирибонуклеотидов ДНК происходит на основании уже имеющихся рибонуклеотидов. В них осуществляется превращение рибозы в дезоксирибозу, что достигается восстановлением рибозы в составе рибонуклеотидов за счет восстановленной формы кофермента (НАДФН + H<sup>+</sup>).

В случае синтеза тимидинмонофосфата (ТМФ) требуется участие метильной группы донора, которым является N<sub>5</sub>, N<sub>10</sub>-метилентетрагидрофолат. При этом дезокси-УМФ метилируется с образованием ТМФ:

Следовательно, для синтеза как пуриновых, так и пиримидиновых оснований всех нуклеозидтрифосфатов главным метаболитом является 5-фосфорибозил-1-пирофосфат (ФРПФ).



Скорость синтеза всех нуклеозидтрифосфатов зависит от уровня АТФ в клетке. Из нуклеозидтрифосфатов при участии РНК- и ДНК-полимераз и различных матриц (затравок) синтезируются соответствующие полинуклеотиды — нуклеиновые кислоты. При этом мононуклеотиды входят в состав нуклеиновой кислоты, а от нуклеозидтрифосфатов отщепляется соответствующее количество молекул пиррофосфорной кислоты.

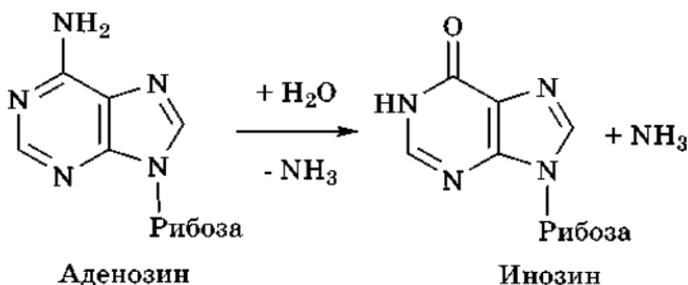
Концентрация дезоксирибонуклеотидов является очень низкой в «отдыхающих» клетках. Только во время репликации ДНК (S-фаза) уровень дезоксирибонуклеотидов значительно повышается для обеспечения требуемого синтеза ДНК.

Отметим, что молекулы нуклеиновых кислот всех живых организмов являются линейными полимерами. В клетках нуклеиновые кислоты обычно связаны с основными белками, образуя нуклеопротеины.

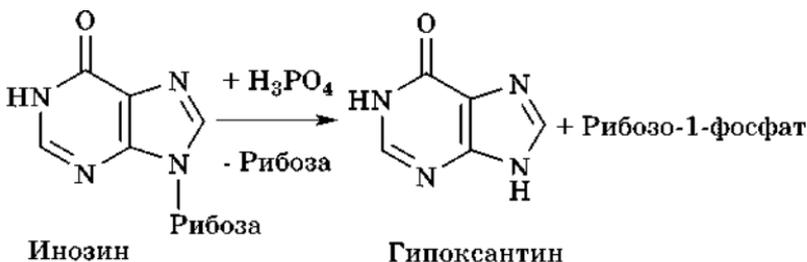
### РАСПАД ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ

Вначале нуклеиновые кислоты при участии соответствующих ферментов (ДНК- и РНК-азы) деполимеризуются с образованием пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Нуклеотиды под действием нуклеотидаз гидролитически распадаются до нуклеозидов. Процесс распада пуриновых мононуклеозидов (аденозина и гуанозина) активно протекает в печени, почках, слизистой кишечника животного. Рассмотрим распад АМФ.

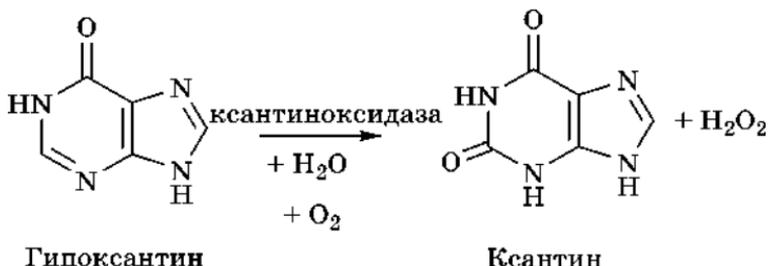
АМФ переходит в аденозин — нуклеозид, включающий аденин и рибозу. Аденозин претерпевает гидролитическое дезаминирование при участии адениндезаминазы, образуя инозин:



Инозин передает рибозу на фосфорную кислоту с образованием рибозофосфата и гипоксантина:

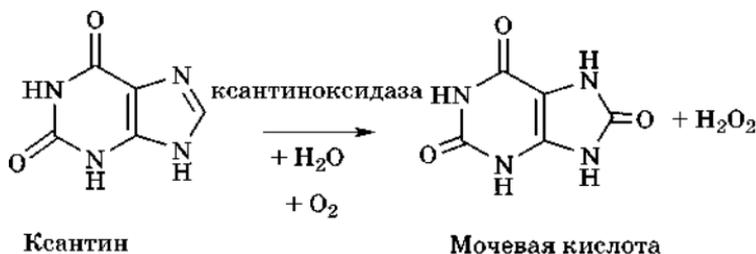


Гипоксантин при участии Mo- и Fe-содержащего фермента ксантиноксидазы с протетической группой ФАД окисляется в ксантин:



Данная реакция — пример сокращенного пути биологического окисления, когда атомы водорода от субстрата с участием ксантиноксидазы передаются прямо на молекулярный кислород, образуя перекись водорода, но не молекулу воды, как в случае при классическом биологическом окислении.

Под влиянием этого же фермента (ксантиноксидазы) ксантин окисляется в мочевую кислоту:

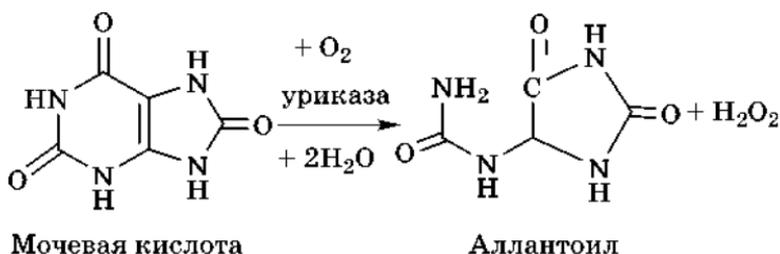


Ксантиноксидаза играет важнейшую роль, особенно в почках и печени птиц, которые экскретируют мочевую кислоту как основной конечный азотсодержащий продукт метаболизма пуринов. Ксантиноксидаза в больших количествах присутствует в печени, слизистой кишечника и в молоке. Мочевая кислота у человека, птиц является также основным продуктом азотистого обмена, соответствуя мочеvine у других видов животных.

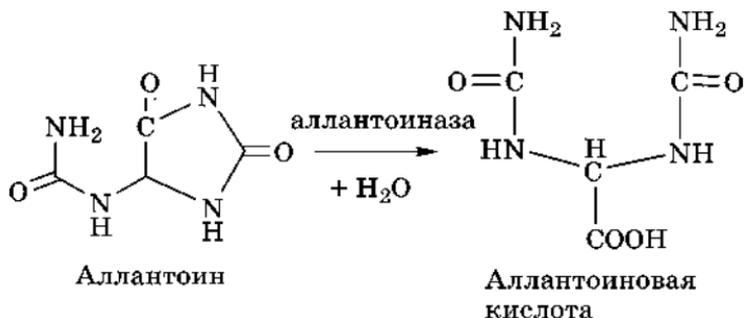
У птиц избыток аминного азота идет на синтез пуринов, которые расщепляются затем до мочевой кислоты, очень плохо

растворимой в воде. Такой обходной путь выведения азота сохраняет гомеостаз воды в организме птицы. Кислая моча птиц представляет собой суспензию кристаллов мочевой кислоты, которые экскретируются из организма с минимальным количеством воды. Мочевая кислота составляет основу сухого вещества мочи птиц (70–80%). Поэтому в промышленных целях мочевую кислоту получают из экскрементов морских птиц.

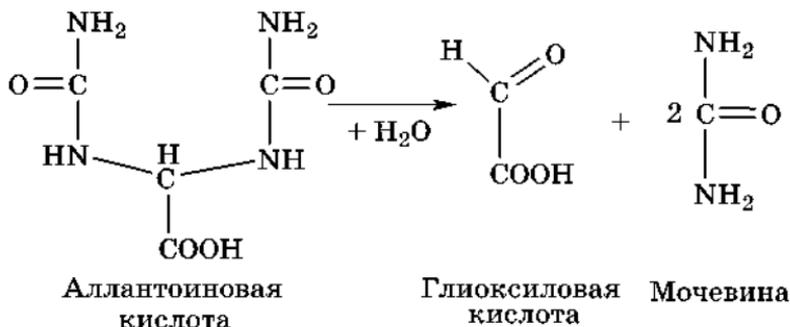
У млекопитающих (крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, лошади, собаки) при участии фермента уриказы мочевая кислота превращается в аллантаин, конечный продукт распада пуриновых оснований:



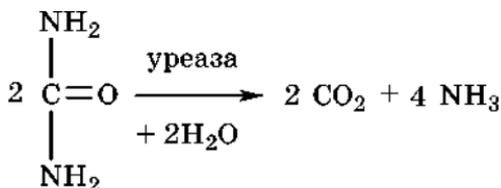
У рыб фермент аллантаиназа осуществляет разрыв имидазольного цикла аллантаина, что приводит к получению аллантаиновой кислоты:



У хрящевых рыб (акулы и скаты) и амфибий аллантаиновая кислота далее распадается при участии фермента аллантаиназы и воды на две молекулы мочевины и глиоксильную кислоту:



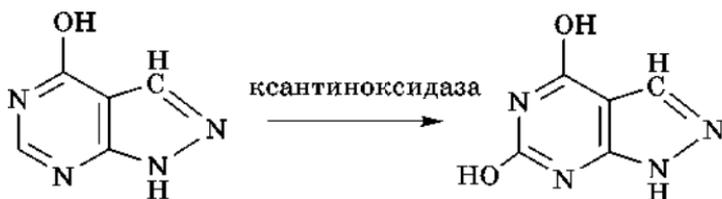
Большинство морских беспозвоночных (и ракообразных) с участием фермента уреазы разлагают мочевину на воду и  $\text{CO}_2$ :



Другой пурин — гуанин — по аналогичной схеме под действием фермента гуаназы превращается в ксантин и далее в точности повторяется катаболический путь ксантина.

Одним из характерных нарушений нуклеинового обмена является подагра (поражения суставов и почек) — болезнь, сопровождающаяся резким повышением концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови. Воспаление суставов связано с осадением в них кристаллов натриевой соли мочевой кислоты. Вероятно, подагра — результат различных врожденных нарушений метаболизма с избыточным синтезом уратов. Такое состояние возможно при нарушении механизмов выведения кислоты через почки и при условии ее усиленного синтеза. Подагра характеризуется отложением в суставах, слизистых сумках, почках, коже, мышцах узелков кристаллов мочевой кислоты и ее натриевой соли.

Икра рыб (богата нуклеиновыми кислотами) в рационе человека может обострять болезнь. Для снижения синтеза мочевой кислоты в организме используют аллопуринол — аналог гипоксантина, который является ингибитором ксантиноксида-



Аллопуринол

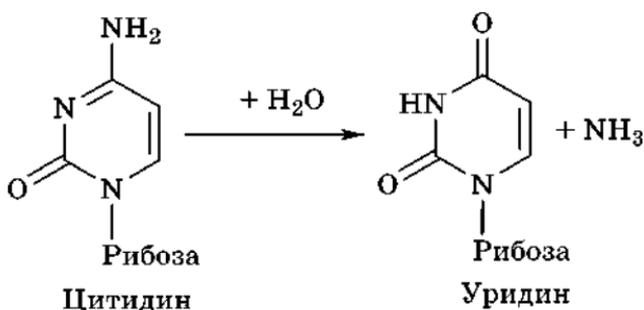
Гипоксантин

зы. Гипоксантин и ксантин не аккумулируются в больших концентрациях, так как они более растворимы и легко экскретируются из организма.

### РАСПАД ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ

Распад пиримидиновых нуклеотидов, как и в случае распада пуриновых нуклеотидов, начинается с превращения нуклеотидов в нуклеозиды, т. е. происходит образование нуклеозидов — цитидина, уридина, тимидина. Превращение пиримидиновых нуклеотидов в нуклеозиды катализируется различными фосфатазами.

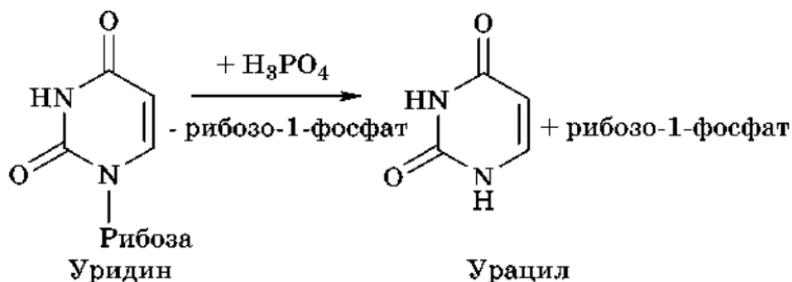
На первом этапе цитидин дезаминируется с образованием уридина:



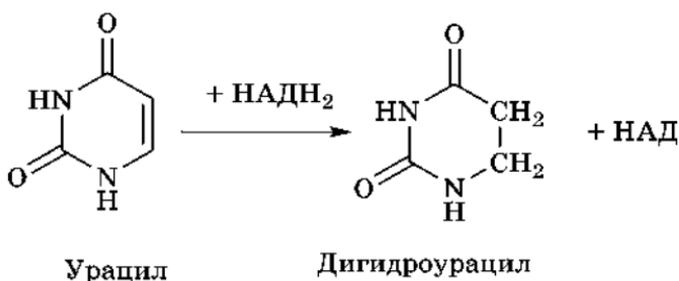
Цитидин

Уридин

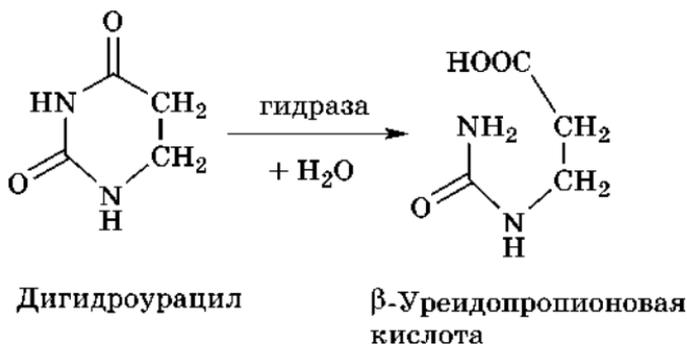
Следующим этапом является передача углеводного компонента нуклеозида уридина на фосфорную кислоту с получением свободного урацила и рибозо-1-фосфата:



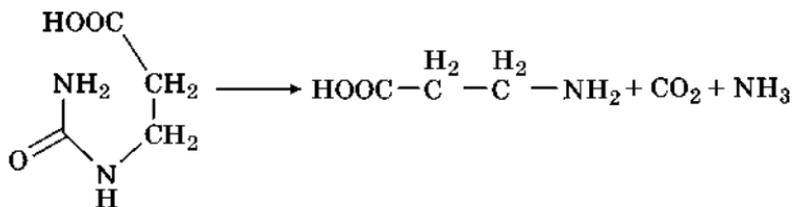
Урацил при участии дегидрогеназы ( $НАДФН + H^+$ ) восстанавливается в дигидроурацил:



Дигидроурацил под влиянием гидразы с разрывом пиримидинового кольца трансформируется в  $\beta$ -уреидопропионовую кислоту:



$\beta$ -Уреидопропионовая кислота с участием уреидопропионазы распадается с образованием  $NH_3$ ,  $CO_2$  и  $\beta$ -аланина:

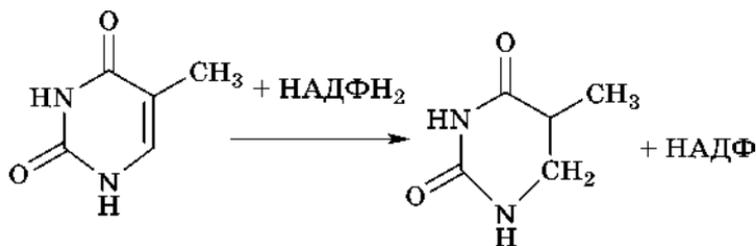


$\beta$ -Уреидопропионовая  
кислота

$\beta$ -аланин

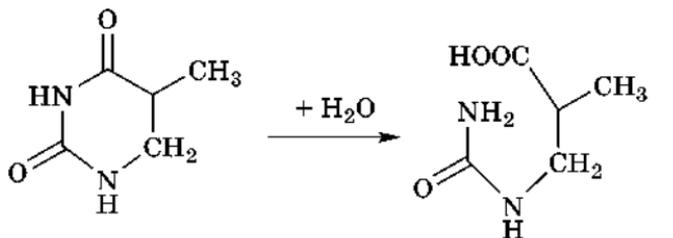
$\beta$ -аланин играет важную физиологическую роль в тканях, поскольку является составной частью структуры коэнзима А.  $\beta$ -аланин может быть использован и для синтеза ансерина и карнозина — имидазолсодержащих дипептидов мышечной ткани, участвующих в мышечном сокращении,  $\text{CO}_2$  и  $\text{NH}_3$  включаются в биосинтез мочевины.

Схема распада тимина:



Тимин

Дигидротимин



Дигидротимин

$\beta$ -Уреидоизомасляная  
кислота



β-Аминоизомасляная кислота экскретируется с мочой из организма. Повышение концентрации этой кислоты в моче наблюдается после приема кормов, богатых ДНК, или у «раковых» больных после химиотерапии или физиотерапии, при которых разрушается большое число клеток. Часть β-аминоизомасляной кислоты через ряд реакций трансформируется в сукцинил-КоА (компонент цикла трикарбоновых кислот).

## БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

Биосинтез белков (полипептидов) является чрезвычайно сложным и удивительным процессом. Биосинтез белков активно протекает во всех органах и тканях, исключая эритроциты. Многие клетки синтезируют белки на «экспорт» (клетки печени, поджелудочной железы), и в этом случае они содержат очень большое число рибосом. В животной клетке число рибосом достигает  $10^5$ , диаметр рибосомы равен 20 нм.

Процесс синтеза белка происходит внутри клеток на поверхности рибосом, которые представляют собой комплексы из двух субъединиц с константой седиментации 60S и 40S, функционирующих как единое целое. В рибосоме белок составляет 30–35% и рибосомальная РНК — 65–70%. В рибосоме различают аминоацильный и пептидилный участки. Первый служит для фиксации поступающего на рибосому комплекса активной аминокислоты и тРНК, а второй фиксирует полипептидную цепь, связанную с другой тРНК. Субъединицы рибосом синтезируются в ядрышке ядра на матрице ДНК.

Сущность процесса синтеза белка представляет схема:



Белоксинтезирующая система включает рибосомы, нуклеиновые кислоты, набор из 20 аминокислот, различные ферменты, АТФ, ГТФ, ионы магния, около 200 различных некаталитических белковых факторов.

Молекула белка — длинная цепь аминокислотных остатков, насчитывающая в среднем от 100 до 500 аминокислот. Программа синтеза каждого белка хранится в молекуле дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Молекула ДНК — полимер, мономерами которого служат нуклеотиды. Последовательность азотистых оснований в молекуле ДНК определяет последовательность аминокислот в молекуле белка.

В молекуле ДНК имеются четыре вида азотистых оснований: аденин (А), гуанин (Г), цитозин (Ц) и тимин (Т). Последовательность из трех оснований (триплет) составляет кодон, которому соответствует одна определенная аминокислота.

Нуклеиновые кислоты — ДНК и РНК — обязательные компоненты биосинтеза белков. ДНК отвечает за сохранение генетической информации, тогда как РНК определяет передачу этой информации и реализацию в виде молекул белка. Можно утверждать, что главная функция ДНК — это сохранение генотипа, а РНК — выражение этого генотипа.

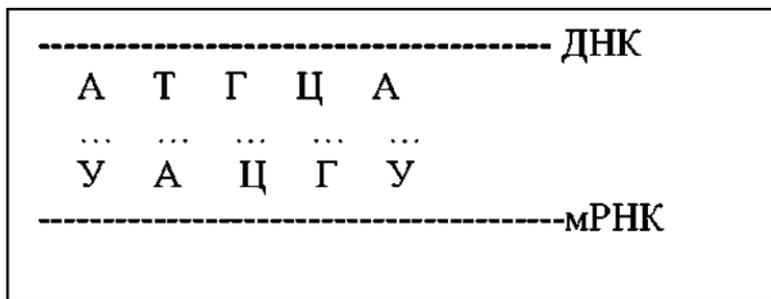
В количественном плане в клетке преобладает рибосомальная РНК (рРНК). рРНК имеет спирализованные участки, содержит модифицированные нуклеотиды (например, 2-метилрибоза). рРНК составляет около 80% от общего количества РНК в клетке. Второй вид РНК в клетке представлен транспортной РНК (тРНК), которая, как и все другие виды РНК, синтезируется в ядре. На ее долю приходится 10–15% общего количества РНК в клетке. Выявлено свыше 60 различных тРНК. Поэтому для транспорта отдельных аминокислот существует несколько разных тРНК. Для каждой аминокислоты в клетке есть по крайней мере одна специфическая тРНК. Молекулы тРНК сравнительно мелкие. В их структуре 75–93 рибонуклеотидов.

Аминокислота присоединяется к свободной 3-ОН-группе концевого мононуклеотида тРНК, представленной всегда адениловой кислотой. тРНК имеет и другой важный участок — антикодон, с помощью которого комплекс аминокислоты и тРНК узнает определенную последовательность из трех нуклеотидов

в матричной РНК (кодон). Антикодон и кодон комплементарно соединяются посредством водородных связей.

Если носителем наследственной информации в клетке является ДНК, которая сосредоточена в ядре, но синтез белка происходит в цитоплазме, то, следовательно, должен быть определенный посредник, передающий эту информацию в цитоплазму клетки. Этим посредником оказалась информационная или матричная РНК (мРНК). На долю мРНК приходится 2% общего количества РНК клетки. Молекулы мРНК самые длинные (включают до 5 тыс. нуклеотидов). мРНК также содержит четыре вида азотистых оснований. Из них три (А, Г, Ц) такие же, как в ДНК, а четвертое — урацил.

Информация, закодированная в мРНК, необходима для синтеза молекулы белка, который происходит на рибосомах. Синтез мРНК в ядре клетки очень быстрый, что необходимо для активного биосинтеза белковых молекул. мРНК образуется на одной из нитей ДНК ядра. При этом двухспиральная структура ДНК раскручивается и при участии ДНК-зависимой РНК-полимеразы по принципу комплементарности происходит синтез мРНК:



*Схема синтеза мРНК*

Принцип комплементарности означает, что аденину на спирали ДНК соответствует урацил мРНК, тимину — аденин, а гуанину — цитозин. Следовательно, мРНК считывает информацию с ДНК.

Стадия ДНК → РНК, таким образом, определяет синтез молекулы мРНК, в которой нуклеотидная последовательность

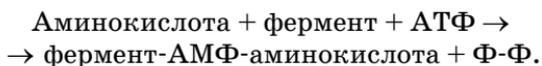
комплементарна определенному участку (гену) ДНК. Этот процесс носит название транскрипции. Затем мРНК поступает на рибосому, объединяясь с ее субъединицами. Одна молекула мРНК фиксируется на множестве рибосом одновременно, образуя так называемые полисомы. Наличие полисом повышает эффективность и скорость использования мРНК.

Синтез полипептидной цепи определенного состава происходит на матрице мРНК. Процесс передачи информации с мРНК на белок получил название трансляции. Стадия «РНК → белок» представляет процесс синтеза белка, направляемый мРНК. Таким образом, передача информации всегда идет в направлении ДНК → РНК → белок.

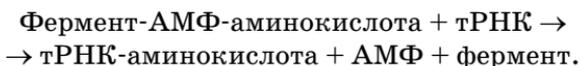
Процесс трансляции включает следующие этапы:

- 1) активация аминокислот и их фиксация на тРНК;
- 2) инициация синтеза полипептидной цепи;
- 3) элонгация синтезируемой полипептидной цепи;
- 4) терминация полипептидной цепи и ее освобождение;
- 5) посттрансляционная модификация полипептидной цепи.

1. Активация аминокислот требует фермента аминоацил-тРНК-синтетазы и затраты энергии в виде АТФ:



Этот же фермент участвует в фиксации предварительно активированной аминокислоты в положение 2 или 3 рибозы последнего нуклеотида тРНК:



В виде данного комплекса аминокислота транспортируется на рибосому, на которой происходит синтез белковой молекулы. Аминоацил-тРНК-синтетаза специфична, она способна узнавать как аминокислоту, так и тРНК. В клетке, таким образом, имеется не менее 20 различных синтетаз, в соответствии с числом  $\alpha$ -аминокислот.

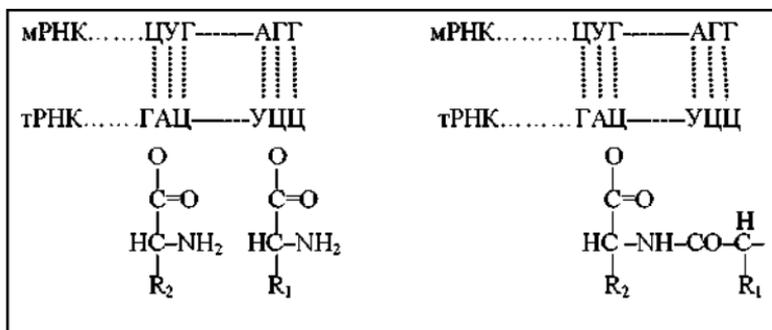
2. тРНК, связанная эфирной связью с определенной аминокислотой, поступает на рибосому и взаимодействует с мРНК по типу комплементарности между специфическим триплетом нуклеотидов мРНК, названным кодоном, и ей комплементарным

специфическим триплетом нуклеотидов (антикодоном) тРНК, переносящей определенную аминокислоту. Таким образом, каждый кодон мРНК соответствует специфической фиксации одной аминокислоты в пептидной цепи посредством антикодона тРНК. Рибосома передвигается вдоль молекулы мРНК, считывая последовательно все кодоны, устанавливая таким образом порядок расположения всех аминокислот, доставляемых к месту синтеза.

Синтез молекулы белка идет по направлению от свободной аминогруппы к свободной карбоксильной группе аминокислоты. Обычно начальной аминокислотой в синтезе полипептидной цепи является метионин, для которой кодоном служит нуклеотидная последовательность АУГ мРНК.

Инициация синтеза полипептида начинается при фиксации двух антикодонов тРНК по соответствующим кодонам мРНК. Процесс требует наличия источника энергии, которым служит ГТФ, а также участия целого ряда белковых факторов инициации и пептидилтрансферазы.

При участии данного фермента скорость образования ковалентных связей достигает 1200 аминокислот/мин/рибосому.



*Схема инициации синтеза полипептида*

3. После образования дипептида «ненагруженная» тРНК покидает рибосому и способна доставлять новые молекулы аминокислот, а мРНК продвигается относительно рибосомы (полисомы) на три нуклеотида. В результате перемещения (транслокации) свободный кодон занимает положение для узнавания

очередной молекулы тРНК. Следовательно, в стадии элонгации происходит последовательное присоединение по одной аминокислоте к полипептидной цепи в строгом соответствии с порядком кодонов молекулы мРНК.

Удлиняющаяся полипептидная цепь с одной молекулой тРНК фиксируется с большой субъединицей рибосомы. Присоединение каждой дополнительной аминокислоты к полипептидной цепи происходит за счет взаимосвязи аминогруппы присоединяющейся аминокислоты в комплексе с тРНК и карбоксильной группы пептида.

4. Терминация, или завершение синтеза полипептидной молекулы, вовлекает определенные кодоны терминации «без смысла» и белковые факторы терминации. Известны три кодона (УАГ, УГА, УАА), которые не кодируют, не связывают какую-либо аминокислоту, так как в клетке не существует антикодонов тРНК, комплементарных к ним. Теоретически лишь один кодон «без смысла», узнаваемый полисомой во время прохождения в направлении 5–3 мРНК, должен остановить синтез молекулы белка.

Наличие терминирующего кодона в любом участке мРНК означает окончание белкового синтеза. В результате полисома распадается, неиспользованная мРНК гидролизуеться полинуклеотидфосфорилазой, а субъединицы рибосом готовятся к началу синтеза новой молекулы белка.

мРНК может неоднократно участвовать в процессе биосинтеза белка. Продолжительность функционирования молекулы мРНК неодинакова у различных организмов. Она может колебаться от нескольких минут до нескольких суток.

5. В ДНК закодирована лишь первичная структура белка. Поэтому синтезированные на рибосомах молекулы белков еще не имеют окончательно завершеного состояния. Они представляют первичные полипептиды, которые затем претерпевают многочисленные модификации (ассоциации мономеров с образованием олигомеров, присоединения коферментов, химические превращения), изменяющие структуру белков и, значит, их активность.

Вторичная и третичная структуры не кодированы, они определяются свойствами первичной структуры, а это значит, что та или иная форма белковой молекулы зависит от последовательности аминокислот и возможностей их взаимодействия

между собой. Структурные модификации синтезируемых белков имеют место еще на уровне рибосом или после завершения синтеза в результате присоединения различных функциональных групп.

Рассмотренная схема передачи информации в виде

$\text{ДНК} \rightarrow \text{РНК} \rightarrow \text{белок}$

может в отдельных случаях изменяться. Так, у вирусов, не содержащих ДНК, информация заложена в РНК. При проникновении вируса в клетку эта информация передается на ДНК клетки, а последняя уже синтезирует мРНК, на матрице которой синтезируются вирусные белки. Такой процесс носит название обратной транскрипции, и схема передачи информации в этом случае будет следующей:

$\text{РНК} \rightarrow \text{ДНК} \rightarrow \text{РНК} \rightarrow \text{белок}$ .

Пока сохраняется последовательность нуклеотидов ДНК и, следовательно, мРНК, характер вновь синтезируемого белка остается неизменным.

Необходимая генетическая информация для синтеза белка может быть представлена аналогично записи человеческого языка, которая состоит из последовательности букв, формирующих слова и предложения. В генетическом языке, однако, есть только четыре буквы — четыре основания (аденин, гуанин, урацил, цитозин).

Генетический код включает трехбуквенные слова. Четыре основания в данном случае (4<sup>3</sup>) дают 64 варианта (слова), которых более чем достаточно, чтобы кодировать 20 аминокислот. Таким образом, 64 кодона и составляют генетический код (табл. 3).

Анализ генетического кода показывает, что для различных аминокислот имеется различное число кодонов. Например, метионин и триптофан имеют только один кодон, тогда как аргинин, лейцин, серин имеют по шесть кодонов. Наличие нескольких кодонов для одной аминокислоты отражает «вырожденность» кода. Следовательно, одна и та же аминокислота может кодироваться несколькими по своему строению нуклеотидными триплетами. В то же время каждому триплету соответствует вполне определенная аминокислота в синтезируемой полипептидной цепи.

Генетический код

Первый нуклеотид	Второй нуклеотид				Третий нуклеотид
	У	Ц	А	Г	
У	Фен	Сер	Тир	Цис	У
	Фен	Сер	Тир	Цис	Ц
	Лей	Сер	—	—	А
	Лей	Сер	—	Трп	Г
Ц	Лей	Про	Гис	Арг	У
	Лей	Про	Гис	Арг	Ц
	Лей	Про	Глн	Арг	А
	Лей	Про	Глн	Арг	Г
А	Иле	Тре	Асн	Сер	У
	Иле	Тре	Асн	Сер	Ц
	Иле	Тре	Лиз	Арг	А
	Мет	Тре	Лиз	Арг	Г
Г	Вал	Ала	Асп	Гли	У
	Вал	Ала	Асп	Гли	Ц
	Вал	Ала	Глу	Гли	А
	Вал	Ала	Глу	Гли	Г

Генетический код универсален и одинаков у видов разного уровня развития (человек, животные, растения, микроорганизмы). Универсальность кода свидетельствует, что все живые организмы в прошлом имели единого предка.

Отдельные аминокислоты (оксипролин, оксализин), например, не имеют кодона и образуются с помощью химических реакций уже после синтеза полипептидной цепи. Этот процесс получил название посттрансляционной модификации и очень важен для правильного функционирования каждого белка.

Бессмысленные кодоны (УАА, УАГ, УГА) не кодируют аминокислоты, однако реально служат сигналом окончания синтеза белковой молекулы.

Таким образом, мРНК является непосредственным переносчиком генетической информации из ядра на рибосому

цитоплазмы. Одна рибосома занимает на мРНК участок длиной около 80 нуклеотидов и способна катализировать примерно 100 пептидных связей в минуту (Северин Е. С. и др., 2011).

Синтезированные белковые молекулы могут подвергаться структурным модификациям еще на уровне рибосом или после завершения синтеза в результате присоединения различных функциональных групп. В цитоплазме мРНК имеет сравнительно короткий период существования. Некоторое количество мРНК синтезируется и запасается в неактивной форме, будучи готовой для быстрого синтеза белка. Поскольку информация мРНК связана с линейной последовательностью нуклеотидов, целостность этой последовательности чрезвычайно важна. Любая потеря или изменение порядка нуклеотидов может видоизменить синтез белка. На сегодня установлен целый ряд ингибиторов репликации ДНК в клетках организма (антибиотики, химические яды, противовирусные препараты). Повреждения в последовательности пуриновых или пиримидиновых оснований в гене получили название мутации.

Замена лишь одного нуклеотида в кодоне (мутация) приводит к смене кодирования одной аминокислоты на другую. Например, мутация, связанная с заменой глутаминовой кислоты на валин в молекуле гемоглобина, приводит к синтезу гемоглобина, вызывающего серповидную анемию. Сегодня известно более 200 мутаций полипептидной цепи молекулы гемоглобина человека. Часто мутагенами являются вещества (нитрозамины, например), изменяющие структуру азотистых оснований, что приводит к изменению характера комплементарности оснований. Ультрафиолетовое облучение вызывает конденсацию остатков тимина с образованием тиминовых димеров. К счастью, от вредного действия ультрафиолетовых лучей животные защищены слоем озона атмосферы.

Многие антибиотики, используемые в ветеринарной практике, ингибируют бактериальный синтез белка (линкомицин, эритромицин, хлорамфеникол) еще на стадии трансляции. При этом микробная клетка погибает или приостанавливает свое развитие. Такие антибиотики, как тетрациклины, не влияют на рибосомальный синтез в клетках высших животных. Пенициллины не являются прямыми ингибиторами синтеза белка, однако их эффекты ингибирования бактерий связаны с блоки-

рованием синтеза гексапептидов клеточной стенки. Следует отметить, что синтез белка происходит не только на рибосомах, но и в митохондриях. Митохондрии имеют полный и независимый аппарат синтеза белка для своих нужд, хотя не все митохондриальные белки синтезируются в этих органеллах. РНК митохондрий составляют лишь 3% от всего количества РНК клетки. Рибосомы митохондрий меньше по размерам, чем цитоплазматические. Кодон УГА, как терминатор синтеза белка в цитоплазме, используется в митохондриях наряду с кодоном УГГ для кодирования аминокислоты.

Синтезированные на рибосомах белки еще не имеют окончательно законченного состояния. Они представляют первичные полипептиды, которые затем претерпевают многочисленные модификации (ассоциации мономеров с образованием олигомеров, присоединения коферментов, химические превращения), модифицирующие структуру белка и, значит, его активность.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СИНТЕЗА БЕЛКА

В организме происходит как активный синтез, так и распад белков. Живая клетка способна полностью контролировать биосинтез белков. Клетка синтезирует различные белки, однако разнообразие и количество синтезируемых белков в клетке определяется потребностью в них организма. Следовательно, различные факторы приспособливают процесс синтеза белков для нужд организма в данный конкретный период времени.

По гипотезе Ф. Жакоба и Ж. Моно (1961–1964), в организме должны быть механизмы ускорения (индукции) и механизмы торможения (репрессии) синтеза белков. Нуклеотидная цепь ДНК функционально неоднородна. В ней выявлены структурные гены, гены-операторы и гены-регуляторы. Структурный ген образует мРНК для синтеза какого-либо белка. Однако этот синтез идет только при нахождении в активном состоянии гена-оператора. Ген-оператор может направлять деятельность не только одного, но и группы структурных генов. Ген-регулятор содержит информацию в форме мРНК для синтеза белка-репрессора, блокирующего работу гена-оператора.

В клетке в каждый конкретный момент реализуется далеко не вся информация ДНК. Некоторые гены начинают функционировать только при появлении специфического индуктора — вещества, активизирующего выдачу информации. Вопросы регуляции биосинтеза белка можно рассмотреть на примере индукции и репрессии ферментов.

Если в клетке какой-либо субстрат содержится в незначительной концентрации, то и активность соответствующего этому субстрату фермента мала, что свидетельствует о незначительном синтезе соответствующих белков-ферментов. При наличии значительных количеств этого субстрата он выступает в роли индуктора. Индуктор связывается с репрессором в форме комплекса, и ничто не мешает гену-оператору направлять деятельность соответствующего структурного гена, синтезирующего мРНК, которому соответствует полипептидная цепь фермента. Индуктор стимулирует именно синтез новых белковых молекул фермента, но не активирует уже существующие. Это доказывается отсутствием эффекта индуктора при наличии ингибитора биосинтеза белка. Структурные аналоги субстрата также могут выступать в роли индуктора.

Одним из факторов, регулирующих обмен веществ, являются гормоны. Многие из них влияют на синтез белка, воздействуя на уровне гена. К их числу, в частности, относятся стероидные гормоны. Так, эстрадиол, женский половой гормон, повышает синтез белка в матке, а у птиц стимулирует синтез белков яйца.

Механизм контроля скорости синтеза белка существует, в частности, на уровне трансляции. Фактором снижения скорости трансляции может стать недостаточное количество тРНК, изменение активности аминоацил-тРНК-синтетаз, пептидил-трансфераз. Важным фактором контроля синтеза белка является модуляция активности рибосом, которая связана с ингибированием или активацией белковых факторов трансляции.

Генная инженерия как новое направление науки дает возможность непосредственно вмешиваться в генетический аппарат клетки и эффективно на него влиять. Генетическая инженерия — это искусственная модификация генетического аппарата клетки. Она включает систему методов, с помощью которых создаются рекомбинантные молекулы ДНК, представляющие

собой искусственные генные структуры. Генная инженерия позволяет манипулировать генами, что дает возможность передавать генетическую информацию от одного организма другому, не родственному ему по генетическим свойствам. На основе генной инженерии получены рекомбинантные вакцины против бешенства, чумы крупного рогатого скота. Генная терапия способна обеспечивать исправление наследственных и опухолевых генных дефектов человека.

Отметим, что препятствием генной инженерии является так называемая «избыточная» ДНК в хромосоме. Известно, что 95% ДНК эукариот не проявляют никаких генетических функций (Ванюшин Б. Ф., Бердышев Г. Д., 1977).

## НЕКОТОРЫЕ НАРУШЕНИЯ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА

Нарушения белкового обмена у животных связаны с неполноценным кормлением, заболеваниями различных органов, нейроэндокринными расстройствами.

Белковая недостаточность может наступить не только при уменьшении поступления белков с кормами, но и при нарушении их переваримости. Неиспользованные белки кормов поступают в толстый кишечник, где аминокислоты под влиянием бактерий распадаются до избыточных количеств токсических аминов, газов. В этих условиях печень не способна выполнять обезвреживающую функцию и в результате развиваются токсикозы.

При белковой недостаточности нарушаются общие реакции аминокислотного обмена, а также специфические реакции обмена отдельных аминокислот. Белковая недостаточность проявляется развитием отрицательного азотистого обмена с резким снижением интенсивности процессов дезаминирования, переаминирования и биосинтеза аминокислот, синтеза мочевины.

При дефиците аминокислот нарушаются многие ферментативные системы, синтез пептидных и белковых гормонов. При этом в первую очередь снижается белоксинтезирующая функция печени, поставляющей белки на «экспорт». В результате уменьшения концентрации белков в крови снижается коллоидно-осмотическое давление тканей и водно-солевой обмен

с появлением отеков. При этом уровень мочевины, мочевой кислоты, креатинина, аллантаина и других продуктов катаболизма белков в организме снижается.

Нарушения белкового обмена сопровождаются нарушениями углеводного, липидного, витаминного, минерального обменов, защитных механизмов. Имуногенез и естественная резистентность животных обусловлены функциями белков специализированных органов и тканей. Поэтому при нарушениях белкового обмена иммунная система не способна осуществлять эффективную защиту организма от потенциально болезнетворных агентов.

Дефицит белка или аминокислот в рационе в отношении клеточного иммунитета проявляется в угнетении синтеза структурных белков на уровне лимфоидных органов с появлением незрелых Т-лимфоцитов. Клетки лимфоидных тканей задерживаются в развитии на первых этапах митотического цикла. В конечном счете имеют место иммунодефицитные состояния животных. Белковый обмен неразрывно связан с другими обменами веществ организма животного.

## ГЛАВА 8. ВЗАИМОСВЯЗЬ ОБМЕНОВ УГЛЕВОДОВ, ЛИПИДОВ И БЕЛКОВ

---

В целях более детального изложения сложного биохимического материала вопросы обмена углеводов, липидов и белков представлены нами обособленно. В действительности, однако, биохимические процессы обмена углеводов, липидов и белков в живом организме представляют собой единый комплекс. Общность основных обменов выражается в наличии одних и тех же метаболитов. Например, глицерин и жирные кислоты — компоненты нейтрального жира — образуются из продуктов метаболизма глюкозы.

Основная стратегия клеточного метаболизма состоит в получении макроэргических соединений (носителей химической энергии) и метаболитов для различных биосинтезов. Так, большое количество молекул АТФ образуется при окислении глюкозы, жирных кислот, аминокислот. Общим посредником в большинстве этих окислений является ацетил-КоА, атомы углерода которого полностью окисляются до  $\text{CO}_2$  в цикле трикарбоновых кислот с образованием НАДН +  $\text{H}^+$  и ФАДН<sub>2</sub>, что в конечном счете приводит к образованию АТФ.

Анаэробный гликолиз также приводит к получению АТФ, но в значительно меньших количествах, чем реакции окислительного фосфорилирования. Анаэробное окисление глюкозы в лактат приводит к получению лишь двух молекул АТФ против 38 молекул АТФ, образующихся при полном аэробном окислении глюкозы до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

Глюкоза и аминокислоты из эпителиальных клеток тонкого кишечника поступают непосредственно в кровь, а затем в печень. Жиры в форме хиломикронов секретируются из эпителиальных клеток кишечника преимущественно в лимфатическое русло, которое пронизывает стенку кишечника. Из лимфатической системы хиломикроны достигают системной циркуляции через грудной проток.

В клетках печени находятся биологические циклы, интегрирующие углеводный, липидный, белковый обмены. Печень является первым органом, который имеет возможность использовать глюкозу кормов. Глюкоза может быть превращена в гликоген в результате гликогенеза и в пировиноградную и молочную кислоты путем гликолиза или может быть использована в пентозофосфатном пути для генерации НАДН + H<sup>+</sup> для восстановительных процессов.

Пируват может быть окислен в ацетил-КоА, который, в свою очередь, способен конвертироваться в липиды или окисляться до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O в цикле трикарбоновых кислот. Однако ацетил-КоА не может быть трансформирован в организме в пируват, а потому клетки животных не способны превращать липиды в углеводы.

Мозг является основным потребителем глюкозы и почти полностью зависит от этого субстрата для продукции АТФ. Другими важными потребителями глюкозы являются эритроциты, которые способны превращать глюкозу только в лактат и пируват, и жировая ткань, трансформирующая глюкозу в липиды.

Скелетные мышцы, как и другие ткани, также имеют способность использовать глюкозу, превращая ее в гликоген, или использовать в анаэробном гликолизе и цикле трикарбоновых кислот. Лактат и пируват, полученные в периферических тканях, поступают в печень и могут превращаться через ацетил-КоА в липиды за счет липогенеза.

Белки кормов гидролизуются в тонком кишечнике, клетки которого используют небольшое количество аминокислот как источник энергии. Большинство же аминокислот кормов через воротную вену поступают в печень. В печени аминокислоты могут быть полностью окислены до CO<sub>2</sub> и NH<sub>3</sub> или до промежуточных веществ, которые затем рассматриваются как субстраты для липогенеза, кетогенеза или глюконеогенеза. Избыток

аминокислот, не использованный для протеосинтеза, конвертируется в кетоновые тела, глюкозу или липиды, тогда как аммиак поступает на синтез мочевины.

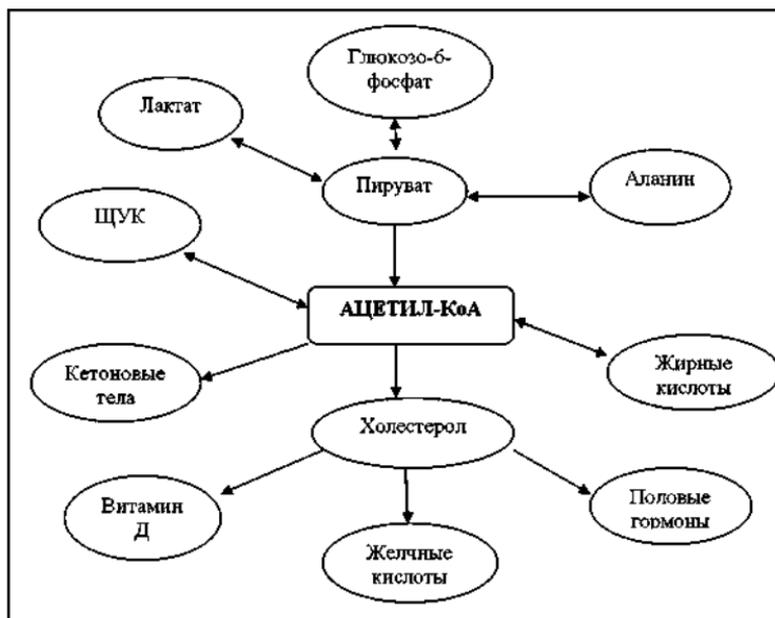
Аминокислоты, которые покидают печень, могут быть направлены на протеосинтез или для получения энергии в других тканях. Скелетные и сердечная мышцы имеют высокую способность для трансаминирования или полного окисления получаемых  $\alpha$ -кислот. Разветвленные аминокислоты (лейцин, изолейцин и валин) при участии активных трансаминаз являются основными источниками азота в синтезе аланина и глутамина в скелетных мышцах.

Глюкоза, лактат, пируват, аминокислоты могут быть использованы на цели печеночного липогенеза. Липиды, полученные из этих субстратов в печени, могут поступать на синтез липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП). Эти липопротеины циркулируют в крови до взаимодействия со специальным внеклеточным ферментом эндотелиальных клеток капилляров различных тканей.

Фермент липопротеинлипаза (ЛПЛ) особенно активен в капиллярах жировой ткани. Он оказывает свое действие как на ЛПОНП, так и на хиломикроны, освобождая жирные кислоты в результате гидролиза триглицеридов.

В адипоцитах жирные кислоты вместе с 3-фосфоглицерином образуют триглицериды, которые и запасаются в виде больших жировых капель в этих клетках. Глицерин, необходимый для синтеза триглицеридов в жировой ткани, получается в результате восстановления продуктов гликолиза — глицероальдегидфосфата и дигидроксиацетонфосфата при удалении  $H_3PO_4$ .

В случае прекращения поступления в организм питательных веществ как источников энергии важную роль для поддержания уровня глюкозы в крови животного играет процесс глюконеогенеза. При этом снижается активность липогенеза, а лактат, пируват, аминокислоты, используемые в этом процессе, направляются на образование глюкозы в печени. В этих условиях глюкоза затем конвертируется обратно в лактат за счет гликолиза в периферических тканях и, в частности, в эритроцитах. Аланин в данном случае также является важным субстратом для поддержания уровня глюкозы в крови.



*Метаболизм ацетил-КоА*

При голодании животного энергетические субстраты не поступают из кишечника и в печени имеет место минимум гликогена. Ткани, которые используют глюкозу, являются полностью зависимыми от печеночного глюконеогенеза, особенно из лактата, пирувата, аланина. Жирные кислоты не могут быть использованы на синтез глюкозы, так как ацетил-КоА, полученный в катаболизме жирных кислот, не может быть конвертирован в метаболиты глюконеогенеза. Глицерин в этих условиях, как продукт липолиза в жировой ткани, является важнейшим субстратом для синтеза глюкозы.

Белки гидролизуются в мышечных клетках (протеолиз) с получением свободных аминокислот. Многие из них метаболизируются различными путями, чтобы дать пируват и  $\alpha$ -кетоглутарат, которые могут быть трансформированы в аланин и глутамин. Эти аминокислоты поступают в кровь, а затем в печень для синтеза глюкозы.

Пируват, полученный в тканях за счет гликолиза, может быть превращен в аланин. Большинство глутамина мышц кон-

вертируется в аланин в эпителии кишечника. Глутамин частично окисляется в этих клетках для получения энергии этой ткани. Этот путь, вероятно, включает образование малата из глутамата через цикл трикарбонных кислот и превращение малата в щавелево-уксусную кислоту с последующим превращением этой кислоты в фосфоенолпируват, а фосфоенолпирувата в пируват.

Прямое декарбоксилирование малата в пируват также возможно. Пируват затем трансаминируется в аланин; аланин является количественно более важной глюкогенной (гликогенной) аминокислотой в печени при голодании животного.

Глицин мышечной ткани трансформируется частично в серин почками, который последовательно превращается в глюкозу в печени или в почках.

Синтез глюкозы в печени при голодании животного тесно связан с синтезом мочевины. Так, метаболизм большинства аминокислот может привести к получению аммиака и аспарагиновой кислоты — компонентов синтеза мочевины. Дополнительным важным источником аммиака является слизистая оболочка кишечника, где происходит превращение глутамина в аланин и аммиак. Печень также обеспечивает синтез мочевины предшественником орнитина, таким как цитруллин.

При голодании животного и жировая ткань является метаболически важной. В этих условиях снижается инсулин-глюкагоновое отношение с резким усилением липолиза. Это приводит к подъему уровня жирных кислот в крови, которые могут рассматриваться как альтернативный источник энергии для многих тканей. В сердечной и скелетных мышцах окисление жирных кислот угнетает гликолиз. Мозг не окисляет жирные кислоты, так как они не способны проходить через гематоэнцефалический барьер.

Жирные кислоты играют важнейшую роль в печени, обеспечивая за счет бета-окисления получение больших количеств АТФ, необходимых для глюконеогенеза. Ацетил-КоА, образующийся за счет бета-окисления жирных кислот, конвертируется в кетоновые тела в митохондриях клеток печени; кетоновые тела поступают в кровь и являются источником энергии для различных тканей.

В отличие от жирных кислот, кетоновые тела легко проникают через гематоэнцефалический барьер и являются хорошим альтернативным источником энергии для мозга. Однако кетоновые тела не способны полностью заменить глюкозу для функций мозга. Высокий уровень кетоновых тел в крови при активном бета-окислении жирных кислот в печени снижает потребность в глюкозе, в гликогенных аминокислотах и протеолиз в мышечной ткани.

Следует указать, что уровень глюкозы в крови поддерживается в узких границах, тогда как концентрация жирных кислот и кетоновых тел может варьировать в значительных пределах. Постоянный уровень глюкозы в крови животного связан с абсолютной потребностью в ней мозга. Если концентрация глюкозы в крови окажется ниже  $1,5 \text{ ммоль/л}$  ( $1 \text{ ммоль/л} = 18 \text{ мг\%}$ ), то животное впадает в кому от недостатка продукции АТФ. С другой стороны, следует избегать гипергликемии как возможного риска развития гипергликемической комы.

Источником энергии скелетных мышц в раннюю стадию голодания являются жирные кислоты, мобилизованные из жировой ткани, которые снижают потребность ткани в глюкозе и ее окислении. Жирные кислоты обеспечивают 50–60% энергии, необходимой скелетной мышце в период отдыха и при сокращении. В отличие от глюкозы, использование жирных кислот мышцей практически не зависит от инсулина.

Источником метаболической энергии скелетной мышцы в поздней стадии голодания являются кетоновые тела, синтезируемые в печени. Использование жирных кислот и кетоновых тел мышцами экономит глюкозу для тканей, которые потребляют ее как основной источник энергии.

Разветвленные аминокислоты при голодании животного распадаются для обеспечения энергией периферических тканей, особенно скелетных и сердечной мышц. Жирные кислоты и адреналин стимулируют окисление указанных аминокислот мышщ. Эффект адреналина при использовании аминокислот скелетными мышцами может быть связан и с его влиянием на липолитическую активность в жировой ткани.

Первым этапом в катаболизме аминокислот часто является их реакция трансаминирования с участием  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты для получения глутамина и трансаминирование глу-

тамина с пируватом для образования аланина. Аланин, в свою очередь, через процесс глюконеогенеза превращается в глюкозу в печени и почках.

Сердечная мышца использует различные субстраты для получения энергии, но 60–90% энергии для ее функций образуются при окислении жирных кислот. Глюкоза, пируват, лактат используются сердечной мышцей в первую очередь после приема корма животным, когда еще уровень свободных жирных кислот в крови остается низким. При этом пируват и лактат, а также лейцин, изолейцин, валин угнетают уровень и окисление свободных жирных кислот.

Жирные кислоты, мобилизованные из жировой ткани, являются основным метаболическим источником энергии сердца при голодании; при этом липопротеинлипаза сердца усиливает гидролиз триглицеридов плазмы крови. При длительном голодании кетоновые тела являются более предпочтительным субстратом в качестве источника энергии сердца.

Следует отметить, что ацетат, присутствующий в крови в значительных количествах только после приема алкоголя, также служит источником энергии для сердечной мышцы человека.

Поскольку химические реакции в организме в подавляющем большинстве являются ферментативными, то регуляция метаболизма в целом осуществляется путем изменения активности ферментов. Активность регуляторных ферментов может контролироваться несколькими механизмами. В частности, регуляция ферментов может осуществляться ковалентной модификацией и нековалентно аллостерическими агентами. Уровень активности ферментов может регулироваться также степенью их синтеза (индукция) или распада (репрессия). Ковалентная модификация и аллостерическая регуляция протекают быстро — секунды и минуты, тогда как изменение активности ферментов через их синтез-распад составляет минуты и часы.

Молекулярная логика подсказывает, когда данный метаболит будет повышать или снижать активность метаболического пути. Например, по типу обратной связи АТФ будет угнетать «энергия-производящие» пути, тогда как АДФ или АМФ будут активировать эти пути.

Кроме ферментативного контроля, общий метаболизм координируется органами и тканями. Продукты распада кормов

распределяются по различным тканям. В частности, углеводы и аминокислоты транспортируются системой воротной вены в печень. Жиры, напротив, транспортируются из пищеварительного тракта в форме хиломикроннов посредством лимфатической системы в кровяное русло.

Гормоны наделены ключевой ролью в интеграции метаболизма. Среди них инсулин и глюкагон играют определяющую роль в метаболизме гомеостаза глюкозы. Эти два гормона имеют противоположные биохимические эффекты; инсулин является анаболическим гормоном, ускоряющим синтез гликогена, триглицеридов, белков. Глюкагон — катаболический гормон, который способствует распаду белков и жиров. Глюкагон стимулирует распад гликогена и угнетает синтез этого полисахарида посредством цАМФ. Глюкагон повышает уровень цАМФ в жировых клетках, который активирует липазу для распада триглицеридов.

Этот весьма краткий обзор свидетельствует о сложности метаболических взаимосвязей в организме животного. Понимание метаболических превращений в их единстве совершенно необходимо для объективной оценки как физиологического состояния, так и патологического процесса. Следует помнить, что именно через биохимические показатели организма, отражающие течение метаболических реакций на молекулярном уровне, возможно своевременно диагностировать те или иные нарушения обмена веществ в организме, а следовательно, и принять необходимые меры к их устранению.

## ГЛАВА 9. БИОХИМИЯ КРОВИ

---

**К**ровь — жидкая соединительная ткань, обеспечивающая постоянство внутренней среды организма. Масса крови у различных видов животных составляет от 6,2 до 8,0% массы тела, причем у молодых животных относительный объем крови несколько больше.

Биохимические характеристики крови занимают особое место и очень важны как для оценки физиологического статуса животного, так и для своевременной диагностики патологических состояний. Кровь, обеспечивая взаимосвязь обменных процессов, выполняет при этом трофическую, транспортную, регуляторную, защитную, дыхательную, терморегулирующую и другие функции.

Кровь состоит из плазмы (50–60%) и взвешенных в ней форменных элементов — эритроцитов (39–44%), лейкоцитов (1%) и тромбоцитов (0,1%). Благодаря наличию в крови белков и эритроцитов ее вязкость в 4–6 раз выше вязкости воды. При стоянии крови в пробирке или центрифугировании с малыми скоростями форменные элементы ее осаждаются.

Самопроизвольное осаждение форменных элементов крови получило название реакции осаждения эритроцитов (РОЭ, ныне — СОЭ). Величина СОЭ (мм/ч) для разных видов животных колеблется в широких пределах: если для собаки СОЭ практически совпадает с интервалом значений для человека (2–10 мм/ч), то для свиньи и лошади СОЭ достигает 30 и 64 мм/ч соответственно. Напомним, что плазма крови, лишенная белка фибриногена, носит название сыворотки крови.

Величина рН крови для большинства видов животных находится в пределах 7,2–7,6. Осмотическое давление плазмы крови (7,0–8,0 атм) определяется количеством растворимых в ней минеральных веществ (NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, фосфатов) и белков. Растворы солей, имеющие осмотическое давление, равное таковому нормальной сыворотки крови, называются изотоническими растворами (например, 0,9% раствор NaCl).

Незначительная часть осмотического давления плазмы крови (несколько процентов) определяется белками и называется онкотическим давлением. Однако его роль важна для поддержания водного обмена организма: белки плазмы, удерживая воду в кровяном русле, предупреждают развитие тканевых отеков. Растворы с низким осмотическим давлением называются гипотоническими, а с высоким — гипертоническими; при введении в пробирку с кровью они вызывают гемолиз и плазмолиз эритроцитов соответственно.

## ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КРОВИ

Плазма крови животных представляет собой жидкость с плотностью 1,02–1,06. Повышение плотности плазмы крови может наблюдаться в случаях обезвоживания организма, вызванного длительными диареями, отсутствием питьевой воды. На долю сухого (плотного) остатка плазмы крови приходится менее 10%, а остальное — вода. Основную массу сухого остатка составляют простые белки (альбумины и глобулины), общая концентрация которых в плазме составляет 60–80 г/л. Сумма концентраций альбуминов и глобулинов составляет концентрацию общего белка плазмы крови. Повышение концентрации общего белка плазмы наблюдается при обезвоживании организма. Снижение концентрации общего белка плазмы может быть следствием самых разнообразных причин — низкий уровень белков в рационе, нарушения абсорбции питательных веществ в кишечнике, болезни печени, почек, при которых теряется белок с мочой. Период существования белков плазмы крови составляет от нескольких часов до нескольких недель.

Качественный состав белков плазмы крови очень разнообразен; в плазме различают до 100 белковых компонентов.

В клинической биохимии часто общий белок подвергают электрофорезу — методу, основанному на разделении белковых фракций по признаку различной величины массы и конкретно-го заряда определенного белка. При электрофоретическом разделении в зависимости от носителя количество белковых фракций общего белка неодинаково. Меньшее число белковых фракций плазмы получают при электрофорезе на бумаге (4–5 фракций), тогда как при электрофорезе на агаровом или полиакриламидном геле число белковых фракций может достигать 17. Используя метод иммуноэлектрофореза, можно разделить белки плазмы до 30 фракций.

Независимо от вида электрофореза всегда выделяют основные фракции — альбумины и глобулины. Альбумины синтезируются в печени и являются простыми белками, содержащими в молекуле до 600 аминокислотных остатков. Они хорошо растворимы в воде, а поэтому способны легко проникать сквозь стенки сосудов в ткани. Функция альбуминов состоит в поддержании коллоидно-осмотического давления плазмы, постоянства концентрации ионов водорода, а также в транспорте различных веществ, включая жирные кислоты, билирубин, минеральные компоненты и лекарственные препараты.

Альбумины плазмы крови могут рассматриваться и как определенный резерв аминокислот для синтезов жизненно необходимых специфических белков организма в условиях дефицита белков в рационе. Альбумины удерживают воду в кровяном русле, а поэтому при гипоальбуминемиях могут быть отеки мягких тканей. При нефритах в мочу из плазмы крови проникают в первую очередь альбумины, как самые низкомолекулярные белки (м. м. альбуминов составляет около 60–66 тыс.). В норме на долю альбуминов приходится 35–45% от общего количества белков плазмы крови.

Глобулины плазмы — это множество различных белков, которые при электрофорезе перемещаются вслед за альбуминами. Как правило, в плазме глобулины находятся в комплексе с углеводами, фосфатидами или стероидами. Взаимосвязь с липидами обеспечивает комплексам глобулинов растворимое состояние и транспорт в различные ткани. На основе электрофоретической подвижности глобулины подразделяются на  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулины.  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобулины синтезируются в печени

и являются активными переносчиками различных веществ крови. В период интенсивного роста животного в крови отмечается относительное снижение уровня альбуминов и соответствующее повышение уровня  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобулинов.  $\beta$ -глобулины активно взаимодействуют с липидами крови.

$\gamma$ -глобулины — наименее подвижная и наиболее тяжелая фракция из всех глобулинов, синтезируется происходящими из части стволовых клеток костного мозга В-лимфоцитами или образующимися из них плазматическими клетками. Они выполняют главным образом функцию защиты, являясь защитными антителами (иммуноглобулинами). У птиц изучены три класса иммуноглобулинов: IgG, IgM, IgA, у млекопитающих их пять — IgG, IgM, IgE, IgD, IgA. В количественном плане в крови преобладает IgG (80%). Все иммуноглобулины состоят из двух тяжелых полипептидных цепей (м. м. 53–75 тыс.) и двух легких цепей (м. м. 22 500), связанных тремя дисульфидными мостиками. Каждый тип иммуноглобулинов способен специфически взаимодействовать лишь с одним определенным антигеном.

Сыворотка крови новорожденных телят, ягнят, козлят, поросят, жеребят практически не содержит антител. Новорожденные животные не способны в первые дни жизни синтезировать собственные антитела. Самостоятельный синтез этих защитных белков в костном мозге, селезенке, лимфатических узлах происходит с трех- или четырехнедельного возраста животного. Поэтому важно напоить новорожденного молозивом, которое содержит в 10–20 раз больше иммуноглобулинов, чем обычное молоко. Иммуноглобулины молозива способны без расщепления проникать путем пиноцитоза в стенку кишечника и поступать в кровь, создавая защиту организма (молозивный или колостральный иммунитет).

Т-лимфоциты кооперируют с В-лимфоцитами в синтезе иммуноглобулинов. В крови Т-лимфоциты составляют 70%, В-лимфоциты — около 30%. Для синтеза иммуноглобулинов необходима и третья популяция клеток — макрофаги. Макрофаги выступают как первичные факторы неспецифической защиты благодаря способности захватывать и переваривать микроорганизмы, антигены, иммунные комплексы, передавать информацию о них Т- и В-лимфоцитам. Макрофаги выступают в роли

посредников между всеми участниками процесса с помощью выработываемых клетками цитокинов.

В-лимфоциты образуют антитела лишь против определенных, поступивших в организм антигенов, бактерий, вирусов. Для этого структура антигена и глобулинового рецептора на поверхности лимфоцита должна соответствовать друг другу как ключ замку. В этом случае лимфоцит начинает делиться и синтезировать антитела против вида антигена, вызвавшего ответную реакцию. Концентрация  $\gamma$ -глобулинов увеличивается в плазме крови при хронических инфекционных болезнях, при иммунизации, беременности животных.

Антитела представляют собой глобулины — высокомолекулярные белки, осаждающиеся из растворов при 50% -ном насыщении серноокислым аммонием. Эти белки составляют около 1% массы крови (в одном литре крови их содержится около 10 г). Иммуноглобулины продуцируются только в результате стимуляции лимфоидных систем организма антигенами.

Целый ряд белков плазмы крови выполняет специфические функции. Среди них следует выделить такие белки, как трансферрин, церулоплазмин, гаптоглобин, пропердин, система комплемента, лизоцим, интерферон.

Трансферрин является  $\beta$ -глобулином, синтезируемым в печени, связывает окисленное железо ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Связывая два атома железа на молекулу белка, трансферрин транспортирует этот элемент в различные ткани, регулируя его концентрацию и удерживая в организме. Железо в клетках используется для синтеза железосодержащих белков или депонируется в виде белка ферритина.

По величине заряда белковой молекулы, аминокислотному составу различают 19 типов трансферринов, которые связаны с наследственностью. Трансферрины могут оказывать и прямой бактериостатический эффект. Концентрация трансферринов в сыворотке крови составляет около 2,9 г/л. Низкое содержание трансферринов в сыворотке крови может быть связано с недостатком белков в рационе животного.

Гаптоглобин входит в состав  $\alpha_2$ -глобулиновой фракции плазмы крови. Он образует комплексы с гемоглобином при внутрисосудистом гемолизе эритроцитов. В форме таких комплексов железо из разрушенных эритроцитов не выделяется из организма

в составе мочи, так как эти комплексы, имея большую молекулярную массу, не способны проходить через гломерулы. Гаптоглобин выполняет также защитную функцию, участвуя в процессах детоксикации. При гемолитической анемии концентрация гаптоглобина в плазме крови снижена.

Церулоплазмин —  $\alpha_2$ -глобулин, синтезируемый в печени, имеет в своем составе медь (0,3%). Связывая медь, церулоплазмин обеспечивает должный уровень этого микроэлемента в тканях. На долю церулоплазмينا приходится 3% всего количества меди в организме животного. Церулоплазмин является оксидазой адреналина, аскорбиновой кислоты. Важной характеристикой церулоплазмينا является его способность окислять железо в тканях до  $Fe^{3+}$ , депонируя его в таком виде.

Система комплемента — это комплекс сывороточных белков глобулиновой природы, который рассматривается как система проэнзимов, активация которых приводит к цитолизу, разрушению антигена. Синтез системы комплемента, насчитывающей до 25 разных белков, осуществляется преимущественно мононуклеарными фагоцитами, а также гистиоцитами. Это сложная эффекторная система белков играет важную роль в регуляции иммунного ответа и поддержании гомеостаза; в плане фило- и онтогенеза она возникла раньше иммунной системы. В составе системы комплемента детально изучены 11 компонентов. Каскад ферментативных реакций, запускаемый комплексом «антиген — антитело» и приводящий к последовательной активации всех компонентов комплемента, начиная с первого, назван классическим путем активации. Обходной путь, который характеризуется активацией более поздних компонентов комплемента, начиная с  $C_3$ , называется альтернативным. Разрушение микробной клетки наступает только после активации компонента  $C_4$ . Терминальные белки системы комплемента, последовательно реагируя один с другим, внедряются в двойной слой липидов, повреждая клеточную мембрану с образованием мембранных каналов, что приводит к осмотическим нарушениям, проникновению внутрь клетки антител, комплемента, с последующим лизисом внутриклеточных мембран. Содержание белков системы комплемента в сыворотке крови представляет один из наиболее объективных показателей состояния неспецифической защиты организма животного.

Пропердин — гликопротеин типа  $\gamma$ -глобулина (м. м. 84 тыс.). Он составляет 0,3% от уровня общего белка сыворотки крови. Обладая высокой термостабильностью, пропердин разрушается за 30 мин при 56°C. Место синтеза пропердина окончательно не выяснено. Вероятно, в его синтезе принимает участие лимфоидная ткань. Пропердин проявляет в первую очередь бактерицидное действие в отношении грамотрицательных бактерий. Для проявления активности пропердина требуется обязательное присутствие первых четырех компонентов комплемента и ионов магния, составляющих пропердиновую систему. Установлена связь между уровнем пропердиновой системы и степенью резистентности организма животного.

Интерферон — низкомолекулярный белок-гликопротеин плазмы крови (м. м. 24–36 тыс.), синтезируется и экскретируется различными клетками тканей в ответ на проникновение в них вирусов. Из клеток интерферон легко проникает в кровяное русло, распределяясь по всем органам и тканям. После проникновения вируса в клетку происходит освобождение одноцепочечной РНК и на ее основе синтез двухцепочечной РНК. Полученная таким путем РНК индуцирует синтез интерферона. На плазматической мембране зараженных клеток интерфероны стимулируют синтез ингибиторов и ферментов, разрушающих иРНК вирусов, и, следовательно, размножение вирусов. Различают три разновидности интерферонов:  $\alpha$ -интерферон (лейкоцитарный, продуцируется лейкоцитами), обладающий противовирусным и антипролиферативным, противоопухолевым действием;  $\beta$ -интерферон (фибробластный, продуцируется фибробластами), обладающий в основном противоопухолевым и антивирусным действием;  $\gamma$ -интерферон (лимфоцитарный или иммунный), обладающий преимущественно иммуномодулирующими свойствами.  $\gamma$ -интерферон подавляет пролиферацию клеток и рост опухолей, усиливает функции макрофагов. Соматические клетки организма обладают рецепторами для интерферонов. Антивирусный эффект интерферонов распространяется на все виды вирусов. Для лечения вирусных инфекций сегодня получены интерфероны промышленным путем на основе техники клонирования генов.

Лизоцим — альбумин, выполняющий функцию фермента (мурамидаза). Молекула лизоцима представляет собой одну полипептидную цепь, которая содержит 129 аминокислотных

остатков. Лизоцим присутствует в слюне, лейкоцитах, в различных тканях. Лизоцим вызывает распад полисахаридов клеточных мембран бактерий, что приводит к их лизису. У грамположительных микроорганизмов мукополисахарид составляет единственный слой клетки, поэтому лизоцим по отношению к ним самостоятельно проявляет свое бактерицидное действие. Грамотрицательные клетки лизоцим способен разрушать лишь в синергизме с комплементом, который, расширяя отверстия в наружных полипептидных слоях, обеспечивает доступ фермента к его субстрату. Основными продуцентами лизоцима являются макрофаги, нейтрофилы, моноциты. Поэтому лизоцим плазмы крови характеризует не только гуморальную неспецифическую защиту, но и состояние клеточного неспецифического иммунитета организма животного.

## ФЕРМЕНТЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ

В основе многих патологических и предпатологических состояний организма лежат нарушения функционирования ферментных систем. Многие ферменты локализуются внутри клеток тканей, а в сыворотке (плазме) крови их активность низка или вообще отсутствует. Поэтому, анализируя внеклеточные жидкости (кровь), по активности определенных ферментов можно выявить изменения, происходящие внутри клеток различных органов и тканей организма. Другие ферменты постоянно содержатся в крови в известных количествах и имеют определенную функцию (например, ферменты систем свертывания крови).

Активность ферментов в сыворотке крови отражает сбалансированность скорости синтеза ферментов внутри клеток и выхода их из клеток. Увеличение активности ферментов крови может быть результатом ускорения процессов синтеза, понижения скорости выведения, повышения проницаемости клеточных мембран, действия активаторов, некроза клеток. Уменьшение активности ферментов вызывается повышением скорости выведения фермента, действием ингибиторов, угнетением синтеза.

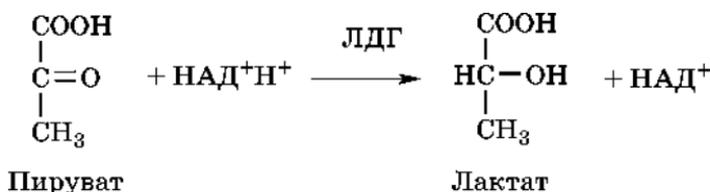
Часто уровень активности ферментов в сыворотке крови коррелирует со степенью повреждения клеток ткани. Повыше-

ние активности в крови того или иного фермента является весьма ранним диагностическим тестом. Дополнительное определение изоферментного спектра позволяет уточнить локализацию патологического процесса, так как каждый орган имеет свой определенный изоферментный спектр.

В клинической биохимии привлекает внимание показатель активности аспартатаминотрансферазы (АСТ), КФ 2.6.1.1 и аланинаминотрансферазы (АЛТ), КФ 2.6.1.2. Эти трансаминазы содержатся в митохондриях и растворимой фракции цитоплазмы клеток. Роль трансаминаз сводится к передаче аминок групп аминокислот на кетокислоту. Коферментом трансаминаз служит пиридоксальфосфат, производное витамина В<sub>6</sub>. В крови животных активность обоих ферментов очень мала по сравнению с их активностью в других тканях. Наибольшее количество трансаминаз обнаружено в клетках печени и сердечной мышце.

Однако при патологиях, сопровождающихся деструкцией клеток, трансаминазы выходят через мембраны клеток в кровь, где их активность значительно увеличивается по сравнению с нормой. Несмотря на отсутствие строгой органной специфичности этих ферментов, повышение их активности наблюдают при гепатитах, мышечных дистрофиях, травмах, при чрезмерных физических нагрузках, в частности у спортивных лошадей. Поэтому активность АСТ и АЛТ сыворотки крови определяют для диагностики болезней печени, сердца, скелетных мышц. В печени количество АЛТ значительно превышает количество АСТ. При гепатитах активность АЛТ сыворотки крови повышается в 8–10 раз. Напротив, при инфаркте миокарда в такой же мере возрастает активность АСТ сыворотки крови.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ), КФ 1.1.1.27 — гликолитический фермент, катализирующий обратимую реакцию восстановления пировиноградной кислоты в молочную.



ЛДГ состоит из четырех субъединиц и включает пять изоферментов (ЛДГ<sub>1</sub>, ЛДГ<sub>2</sub>, ЛДГ<sub>3</sub>, ЛДГ<sub>4</sub>, ЛДГ<sub>5</sub>), которые отличаются различными физико-химическими свойствами, в частности, подвижностью в электрическом поле, чувствительностью к температуре. Каждый орган имеет свой изоферментный спектр. Поэтому поражение какого-либо органа вызывает не только повышение общей активности фермента, но и изменение соотношения его молекулярных форм в сыворотке крови. В мышечной ткани и печени преобладают ЛДГ<sub>4</sub> и ЛДГ<sub>5</sub> (при паренхиматозном гепатите), в сердечной мышце — ЛДГ<sub>1</sub> и ЛДГ<sub>2</sub>, в частности при остром инфаркте миокарда. Отметим, что активность ЛДГ в цельной крови существенно выше активности фермента в плазме крови. Поэтому даже минимальный гемолиз крови значительно изменяет активность фермента в плазме, что следует учитывать в лабораторной практике.

Креатинфосфокиназа (КФК), КФ 2.7.3.2, катализирует реакцию образования креатинфосфата:



КФК играет важную роль в энергетическом обмене. Фермент необходим для ресинтеза АТФ за счет трансфосфорилирования АДФ с креатинфосфатом. Креатинфосфат — богатое энергией фосфатное соединение, которое обеспечивает сокращение мышечного волокна, его расслабление, транспорт метаболитов в мышечную ткань.

Креатинфосфокиназа состоит из двух субъединиц — М и В, образующих три изофермента: ММ (мышечный тип), МВ (сердечный тип) и ВВ (мозговой тип). Анализ тканей свидетельствует, что значительная активность КФК имеет место в миокарде, скелетной мышце, мозге. Сердечная мышца содержит в основном изофермент МВ. Повышение активности изофермента МВ в сыворотке крови пациента свидетельствует о развитии инфаркта миокарда. Определение изоферментов КФК сыворотки крови является лучшим методом диагностики при наследственной мышечной дистрофии у цыплят, при недостатке селена у крупного рогатого скота, при паралитической миоглобинурии у лошадей.

Щелочная фосфатаза (ЩФ), КФ 3.1.3.1 — гидролитический фермент, синтезируемый в основном в печени; выделяется из организма в составе желчи. Оптимум активности ЩФ находит-

ся при pH 8–9. Это неспецифический фермент, катализирующий гидролиз многих фосфорных эфиров и присутствующий в сыворотке крови в виде изоферментов. Основным источником ЩФ у молодых растущих животных — костная ткань. Активность ЩФ сыворотки крови значительно повышается при болезнях печени и костей, в частности при рахитах и остеомалациях. Основная роль ЩФ, вероятно, связана с отложением фосфатов кальция в костной ткани. Установлено повышение активности ЩФ сыворотки крови при новообразованиях костей, в частности при остеосаркомах.

Амилаза (КФ 3.2.1.1) продуцируется слюнными железами и в больших количествах — поджелудочной железой. Амилаза обладает специфическим действием на разрыв  $\alpha$ -1,4-гликозидных связей крахмала и декстринов. Повышение активности амилазы сыворотки крови отмечают при развитии острого панкреатита. Умеренное повышение активности данного фермента сыворотки крови свидетельствует о воспалении слюнных желез животного.

Холинэстераза — фермент, участвующий в процессе передачи нервного импульса, гидролизует ацетилхолин на ацетат и холин. Холинэстераза сыворотки крови включает два вида холинэстераз, основной субстрат которых ацетилхолин. Ацетилхолинэстераза (АХЭ), гидролизующая ацетилхолин в синапсах, называется истинной (КФ 3.1.1.7). Она присутствует в печени, эритроцитах, и лишь малое ее количество локализовано в плазме. Холинэстераза сыворотки крови является псевдохолинэстеразой (КФ 3.1.1.8), она гидролизует бутирилхолин в четыре раза активнее, чем ацетилхолин. Этот фермент находится также в печени, поджелудочной железе, слизистой оболочке кишечника. Синтез АХЭ сыворотки крови происходит в печени, а поэтому при патологии этой железы наблюдается снижение активности фермента.

Определение активности холинэстеразы сыворотки крови используется при выяснении отравлений фосфорорганическими соединениями (ФОС) и оценки функции печени. В частности, при тяжелых формах гепатита отмечают понижение активности холинэстеразы сыворотки.

ФОС являются необратимыми ингибиторами АХЭ. Так, ФОС-инсектициды (хлорофос, фосфамид, карбофос, октаметил)

избирательно связывают активные центры молекулы АХЭ и тем самым блокируют ее активность. Вследствие высокой липотропности ФОС способны проникать в организм животного через неповрежденную кожу и слизистые оболочки. При отравлении ФОС отмечают беспокойство животного, чувство страха, возбуждение, судороги, которые развиваются на фоне приступов удушья и кашля из-за спазма бронхов. Характерными при этом являются изменения со стороны глаз: резко суживается зрачок, начинается слезотечение, нарушается аккомодация. Чаще всего непосредственной причиной гибели животного, отравленного ФОС, является паралич дыхательного центра.

### АЗОТСОДЕРЖАЩИЕ НЕБЕЛКОВЫЕ И БЕЗАЗОТИСТЫЕ ВЕЩЕСТВА СЫВОРОТКИ КРОВИ

Наряду с белками плазма (сыворотка) крови содержит различные азотсодержащие небелковые вещества, которые получили название остаточного азота. Эти вещества остаются в плазме крови в растворенном состоянии после осаждения белков 20–40% -ными растворами трихлоруксусной кислоты. В состав остаточного азота входит азот мочевины, мочевой кислоты, креатин, креатинин, билирубин, алантоин, глутамин, серотонин, гистамин, свободные аминокислоты и др. Основным компонентом остаточного азота у млекопитающих является мочевина, у птиц — мочевая кислота. В целях диагностики используют определение как суммарного количества остаточного азота, так и отдельных веществ его составляющих.

Мочевина в норме составляет до 70% от общего уровня остаточного азота плазмы крови млекопитающих.

Пониженный уровень мочевины в плазме крови указывает на нарушение функции печени, тогда как увеличение этого показателя свидетельствует о нарушении функции почек животного. Мочевая кислота в плазме крови является продуктом распада пуриновых оснований.

Общее количество остаточного азота плазмы крови и его отдельных компонентов может при определенных болезнях животного меняться, и в первую очередь при нарушениях выделительной функции почек, когда особенно резко увеличивается

содержание мочевины. Это состояние носит название уремии. У взрослых животных повышение концентрации общего азота в плазме крови связано с усилением распада белков тканей. Повышенный уровень остаточного азота в плазме крови наблюдается и при высоком содержании белков в рационе. Содержание мочево́й кислоты в плазме крови повышено при подагре, лейкемии, пневмонии.

Среди свободных аминокислот плазмы крови преобладает аланин, глицин, лейцин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, глутамин. Эти аминокислоты могут быть использованы организмом на синтетические цели. Креатин играет важную роль в энергетическом обмене, так как необходим для синтеза в мышцах и клетках мозга креатинфосфата. В результате дефосфорилирования креатинфосфат превращается в креатинин. Количество креатинина, поступающего из крови в мочу, в норме является величиной постоянной (5 мг/кг мышечной ткани). Так как уровень креатинфосфата в целом пропорционален мышечной ткани организма, то у растущих животных уровень креатина в плазме крови всегда выше, чем уровень креатинина.

Билирубин является конечным продуктом распада гема гемоглобина в селезенке и печени. В крови билирубин транспортируется в комплексе с альбумином. Имея две карбоксильные группы, молекула билирубина может взаимодействовать с двумя молекулами глюконовой кислоты, образуя растворимый в воде конъюгат — прямой билирубин. Прямой билирубин является основной формой экскреции билирубина в желчь. Определение количества билирубина плазмы крови используется для оценки функции печени или интенсивности гемолитических процессов в организме. Концентрация билирубина плазмы крови может быть повышена при поражении клеток печени и, в частности, за счет его прямой фракции, по причине повышения проницаемости клеточных мембран. При гемолитических процессах, например в случаях гемоспоридиозов крупного рогатого скота, происходит повышение концентрации общего билирубина плазмы без повышения уровня фракции прямого билирубина.

Безазотистые вещества плазмы крови включают также метаболиты углеводного, жирового и минерального обменов. В частности, концентрация глюкозы в крови обычно варьирует

в пределах физиологической нормы. Нормальный уровень глюкозы в крови является результатом баланса функций регулирующих ее гормонов. Глюкоза — нестойкое органическое соединение: спустя сутки после получения пробы крови (плазмы) концентрация в ней глюкозы падает на 30–40%, что необходимо учитывать в диагностической работе. В крови всегда присутствуют метаболиты глюкозы — пировиноградная и молочная кислоты.

При «углеводном» рационе в крови животного значительно возрастает концентрация глюкозы, которая под влиянием глюкокиназы печени (или гексокиназы) приводит к формированию глюкозо-6-фосфата. Уровень глюкозо-6-фосфата контролируется глюкагоном и инсулином. Высокий уровень глюкозы в крови приводит к снижению синтеза глюкагона и повышению уровня инсулина. Это гормональное соотношение является прямым аллостерическим действием самой глюкозы. Снижение использования глюкозы мышцами и жировой тканью способствует поддержанию уровня глюкозы в крови. Поступление глюкозы в мышцы и жировую ткань снижается при низком уровне инсулина в крови.

Временная глюкозурия в течение 1–1,5 ч может наблюдаться у собаки после обильной углеводной пищи, однако выраженная глюкозурия в течение 2 ч и более является прямым свидетельством сахарного диабета. При кетозах высокопродуктивных молочных коров и токсемии беременности у овцематок наблюдают состояние гипогликемии. Большие количества трудно перевариваемых углеводов (клетчатка) у жвачных животных ферментируются в летучие жирные кислоты (уксусная — 65%, пропионовая — 20%, масляная — 10%) микрофлорой рубца. Меньшие количества переваримых углеводов (крахмал) кормов избегают подобной ферментации. Уксусная кислота используется для энергетических потребностей организма и на синтетические цели. Пропионовая кислота, как и молочная, является активным предшественником в процессе глюконеогенеза у жвачных животных.

В составе общих липидов в крови находятся триглицериды, фосфолипиды, свободные жирные кислоты, холестерин, кетоновые тела. Важное диагностическое значение имеет определение в крови концентрации кетоновых тел (ацетон, ацетоуксус-

ная и бета-оксимасляная кислота). В норме их содержание в крови не превышает 10 мг%. Повышенная концентрация кетонных тел в крови наблюдается при кетозах, вызванных преобладанием в рационах концентратов, богатых белками и жирами, при голодании животного, при сахарном диабете.

Значение минеральных веществ в крови разнообразно; они поддерживают осмотическое давление и постоянство pH среды, определяют активность ферментов, являются структурными элементами органических веществ, участвуют в различных защитных процессах организма.

Из минеральных веществ крови следует в первую очередь отметить важную роль постоянства уровня кальция и неорганического фосфора. В норме соотношение Са и фосфора неорганического составляет 2:1, у кур-несушек — 3:1. Уровень Са и Р плазмы крови регулируется паратгормоном, кальцитонином и кальцитриолом (витамин D). При недостатке кальцитриола в организме накапливаются пируват и лактат и снижается синтез лимонной кислоты. Поэтому определение уровня пировиноградной и лимонной кислот в крови является косвенным показателем обеспеченности животного витамином D. Концентрация Са в плазме крови обычно снижена при рахите и остеомаляции, когда нарушается структура костной ткани. Снижение концентрации неорганического фосфора характерно для рахита, а повышение — для гиперавитаминоза D.

## ДЫХАТЕЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ

Дыхательная функция крови — это транспорт кислорода от легких к тканям и обратный транспорт углекислоты. Гемоглобин является основным переносчиком кислорода к тканям, так как кислород недостаточно растворим в плазме крови, чтобы обеспечить в такой транспортной форме ткани организма. К системе переноса кислорода предъявляются требования: гемоглобин должен связывать кислород в количестве, достаточном для удовлетворения потребностей в нем тканей, и, кроме того, должен освобождать этот кислород в тканях, где он необходим.

При 38°C 1 л плазмы крови растворяет лишь 2,3 мл кислорода. В то же время 1 л крови содержит 150 г гемоглобина

и каждый грамм гемоглобина связывает в среднем 1,34 мл кислорода. Следовательно, цельная кровь в 87 раз активнее связывает кислород, чем плазма крови.

При парциальном давлении кислорода в окружающей среде (100 мм рт. ст.) почти весь гемоглобин находится в форме оксигемоглобина. Так как молекула гемоглобина содержит четыре гема, то она способна присоединить четыре молекулы кислорода, причем присоединение кислорода происходит постепенно и кооперативно. Вначале первая молекула кислорода присоединяется к одному гему, что меняет конформацию молекулы гемоглобина таким образом, что присоединение второй молекулы кислорода ко второму гему облегчается. В свою очередь это обеспечивает активное присоединение последующих молекул кислорода; четвертая молекула кислорода связывается с гемом в 300 раз легче, чем первая. Так, 1 г гемоглобина свиньи связывает 1,68 мл кислорода, коровы — 1,25 мл. Произведение этой величины на количество гемоглобина в 100 мл крови позволяет определить кислородную емкость крови.

Присоединение кислорода к железу гема не является окислением последнего, так как валентность железа при этом не изменяется. Истинное окисление гемоглобина, когда железо переходит из двухвалентного состояния ( $\text{Fe}^{2+}$ ) в трехвалентное ( $\text{Fe}^{3+}$ ) — метгемоглобин, приводит к потере способности гемоглобина соединиться с кислородом. При переходе железа в трехвалентное состояние изменяется конформация молекулы гемоглобина и участок присоединения кислорода оказывается занятым гидроксильной группой. В результате ткани испытывают состояние гипоксии, что и наблюдается при отравлении животных нитритами.

Отметим, что небольшие количества метгемоглобина постоянно образуются в эритроцитах, в которых имеется фермент метгемоглобин-редуктаза, восстанавливающий железо в  $\text{Fe}^{2+}$ . Большинство случаев отравлений жвачных на пастбище происходит при поступлении больших количеств нитратов в рубец, где они конвертируются в нитриты. Нитриты из рубца поступают в кровь, вызывая образование больших количеств метгемоглобина.

Оксигемоглобин легко отдает кислород при снижении парциального давления кислорода в среде до 40–55 мм рт. ст. Имен-

но такое давление имеет место в тканях организма. На прочность связи между гемоглобином и кислородом в оксигемоглобине влияют температура и величина рН. Повышение температуры и концентрации водородных ионов ослабляют связь и кислород начинает освобождаться при более высоком парциальном давлении. Такие условия имеют место в интенсивно работающем органе, где лактат,  $\text{CO}_2$  и другие кислые продукты метаболизма понижают рН крови, что позволяет ему получать большее количество кислорода. В данном случае по аналогии с ингибиторами регуляторных ферментов ион водорода называют отрицательным модулятором функции гемоглобина.

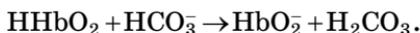
Снижение рН может уменьшить и максимальную способность гемоглобина связывать кислород за счет понижения сродства гемоглобина к кислороду. В регуляции сродства гемоглобина к кислороду участвуют также низкомолекулярные вещества, образующиеся внутри эритроцитов. Так, в эритроцитах млекопитающих сродство гемоглобина к кислороду уменьшается с увеличением концентрации 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ). 2,3-ДФГ — отрицательный модулятор функции гемоглобина, образующийся в результате особой незаконченной последовательности анаэробных гликолитических реакций и встречающийся только в эритроцитах млекопитающих.

Недостаточное снабжение тканей кислородом может наблюдаться также и в присутствии окиси углерода. Окись углерода взаимодействует как с гемоглобином, так и с оксигемоглобином. Сродство окиси углерода к гемоглобину и прочность связи между ними примерно в 300 раз выше, чем гемоглобина с кислородом. В этом случае вместо оксигемоглобина образуется карбоксигемоглобин ( $\text{CO-Hb}$ ). Поэтому при отравлении окисью углерода организм также испытывает кислородную недостаточность.

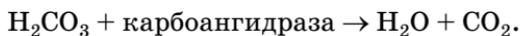
Источником углекислоты в тканях являются реакции декарбоксилирования органических кислот в цикле трикарбоновых кислот, а также декарбоксилирование аминокислот. Эти реакции идут в тканях, в которых парциальное давление углекислоты выше, чем в крови. При этом различают три формы транспорта углекислоты кровью: в форме растворенного в жидкости газа, в форме соединения с гемоглобином (карбгемоглобин), в форме бикарбонатов плазмы крови.



Оксигемоглобин по своим кислотным свойствам является более сильной кислотой, чем угольная кислота, а поэтому взаимодействует с бикарбонатным ионом, образуя слабую  $\text{H}_2\text{CO}_3$ :



Под действием карбоангидразы угольная кислота распадается на воду и углекислый газ, который из эритроцитов поступает в плазму крови:



Низкое парциальное давление в просвете альвеол способствует диффузии  $\text{CO}_2$  из плазмы в легкие. Таким образом, гемоглобин обеспечивает не только транспорт кислорода в ткани, но и защиту тканей от постоянного поступления  $\text{H}^+$  за счет ионизации угольной кислоты.

В результате указанных реакций концентрация бикарбонатных ионов внутри эритроцитов снижается, поэтому новые количества этих ионов поступают из плазмы в эритроцит. Переход бикарбонатных ионов из эритроцита в плазму и обратно из плазмы в эритроцит в легочных капиллярах компенсируется синхронным перемещением в противоположном направлении отрицательно заряженных ионов хлора, что обеспечивает нормальную функцию мембран эритроцитов.

## ФОРМЕННЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КРОВИ

### ЭРИТРОЦИТЫ

Составляют около 45% объема крови. Уникальная функция эритроцитов — транспорт кислорода и  $\text{CO}_2$ . Эритроциты составляют более 90% всех клеток крови, придавая крови вязкость. Размеры эритроцитов в крови животных варьируют от 4 до 8 мкм (0,004–0,008 мм). В крови домашних млекопитающих число эритроцитов составляет  $5\text{--}11 \times 10^{12}/\text{л}$ , у кур —  $2\text{--}3 \times 10^{12}/\text{л}$ . Козы имеют наибольшее количество эритроцитов в крови ( $15 \times 10^{12}/\text{л}$ ). Наиболее крупные эритроциты у птиц. Общая поверхность всех эритроцитов крови лошади массой тела 500 кг составляет около 30 тыс.  $\text{м}^2$ . Многие факторы влияют на количество эритроцитов в крови животных

(пол, возраст, рацион кормления, физическая активность, беременность, местность, эмоциональное состояние). Средняя продолжительность жизни эритроцита животных составляет 90–120 дней. В течение суток в нормальных условиях разрушается 1–2% от общего числа эритроцитов крови.

Эритроциты синтезируются в красном костном мозге из стволовых клеток в виде эритробластов, затем ретикулоцитов и, наконец, в виде зрелого эритроцита. Во время созревания эритроциты млекопитающих теряют ядро, митохондрии, эндотелиальный ретикулум и утрачивают способность к делению. Поэтому для эритроцитов характерен анаэробный метаболизм. При этом они не используют кислород «для себя». Эритроциты птиц имеют ядро и значительно больший размер.

Эритроциты имеют эластичную мембрану, которая позволяет им изменять конфигурацию формы и проходить сквозь узкие кровеносные сосуды. Так, эритроциты с диаметром 7–8 мкм проходят сквозь капилляры с диаметром 3–5 мкм. Объем и специфическая форма эритроцитов сохраняются за счет постоянного расхода энергии АТФ. АТФ обеспечивает выведение из эритроцитов ионов  $\text{Na}^+$  и сохранение внутри клетки высокого уровня  $\text{K}^+$  ( $\text{K}^+-\text{Na}^+$ -насос). Мембраны «старых» эритроцитов теряют эластичность, и поэтому эти клетки разрушаются, проходя сквозь узкие капилляры. Это наблюдается, в частности, в селезенке. Старые эритроциты фагоцитируются лейкоцитами и макрофагами селезенки. У человека разрушаются около 3 млн эритроцитов каждую секунду. Следовательно, такое же количество новых эритроцитов должно поступить в кровь.

У плодов животных эритроциты синтезируются в печени и селезенке. В период половой зрелости эритроциты формируются в ребрах, позвонках, грудной кости, в костях таза. Ретикулоциты содержат РНК, рибосомы и другие органеллы и могут синтезировать гемоглобин. Спустя 2–3 дня ретикулоциты становятся зрелыми эритроцитами, которые содержат около 34% гемоглобина. В одном эритроците насчитываются до 340 млн молекул гемоглобина. Ретикулоциты имеют большую степень поглощения глюкозы, чем зрелые эритроциты. Они имеют также фермент глицеролкиназу и могут использовать глицерин для получения энергии.

Зрелые эритроциты способны генерировать НАДФН +  $\text{H}^+$  по пути пентозофосфатного синтеза, который является активным

протектором против постоянной опасности реакций окисления различными веществами, включая транспортируемый кислород. НАДФН + H<sup>+</sup> превращает окисленный глутатион в восстановленный, играющий важную роль в антиоксидантной цепи для обезвреживания перекиси водорода. Необходимая энергия в форме АТФ и восстановленный потенциал в форме НАДН + H<sup>+</sup> и НАДФН + H<sup>+</sup> для нужд эритроцита генерируются за счет окисления глюкозы.

Помимо всех перечисленных, в эритроцитах имеются многочисленные ферменты, среди них: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, карбоангидраза, ацетилхолинэстераза.

Супероксидный ион, или свободный радикал кислорода с неспаренным электроном, находится в возбужденном состоянии и является очень токсичным для клетки. В реакции его нейтрализации используется СОД:



В случае избытка в эритроцитах перекиси водорода она нейтрализуется каталазой:



Радикалы кислорода способны вызывать образование гидроперекисей ненасыщенных жирных кислот фосфолипидов мембран клеток, их разрушение, гемолиз эритроцитов.

Мембраны эритроцитов проницаемы для воды мочевины, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>, H<sup>+</sup>. Содержание фосфора в эритроците в 50–100 раз выше, чем в плазме, и часто он представлен в форме органических соединений (гексозофосфат, АТФ и др.). Концентрация калия в эритроците в 20 раз выше, чем в плазме. Концентрация магния в эритроците в два раза выше, чем в плазме. Цинк эритроцита находится в составе карбоангидразы, которая отсутствует в плазме. Весь глутатион находится в эритроцитах.

Карбоангидраза осуществляет синтез угольной кислоты в капиллярах тканей, а в альвеолах легких обеспечивает распад этой кислоты на СО<sub>2</sub> и Н<sub>2</sub>О. Ацетилхолинэстераза участвует в регуляции проницаемости эритроцитов; выявлена зависимость между скоростью гемолиза эритроцитов и активностью в них этого фермента. Местом распада старых эритроцитов являются селезенка, печень, костный мозг.

Эритроциты обладают активным рецепторным аппаратом, который позволяет им принимать участие в процессах поддержания иммунологического гомеостаза. В частности, на своей поверхности эритроциты несут рецепторы для  $C_3$  компонента комплемента и Fc-фрагмента IgG, имеющих важное значение в иммунном процессе. Эритроциты пассивно абсорбируют большое количество антигенов, попадающих в циркуляцию крови, таких как бактериальные полисахариды, пенициллин и др. Этим самым в определенной степени предотвращается массивное поступление антигенов в органы иммуногенеза. Таким образом, эритроциты выполняют роль своеобразной буферной системы, регулирующей активность иммунного ответа.

Синтез эритроцитов требует наличия в рационе белков, железа, меди, витаминов  $B_2$ ,  $B_6$ ,  $B_c$ ,  $B_{12}$ . Около 70% железа организма находится в составе гемоглобина. Оставшиеся 30% железа запасаются в структуре ферритина в макрофагах печени, селезенки и костного мозга. В крови железо транспортируется трансферрином. При этом во всех клетках организма есть ферменты, содержащие железо.

При уменьшении концентрации гемоглобина в единице объема крови наступает состояние анемии. Анемия является симптомом определенного патологического процесса или болезни. Анемия часто сопровождается эритропенией — снижением числа эритроцитов в единице объема крови.

Полицитемия — аномально высокое число эритроцитов. Это состояние обычно связано с повышенным синтезом эритропоэтина в ответ на уменьшение кислорода в тканях. На большой высоте, например, число эритроцитов в организме животного повышено как компенсация на снижение кислорода, переносимого каждым эритроцитом.

## ЛЕЙКОЦИТЫ

Лейкоциты — непигментированные клетки крови; необходимо окрасить краской, чтобы выявить различные их типы под микроскопом. Все типы лейкоцитов имеют ядро, клеточные органеллы и цитоплазматические мембранные пузырьки. Различают пять типов лейкоцитов, из них три — гранулоциты или полиморфноядерные лейкоциты (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы). Два типа лейкоцитов (моноциты и лим-

фоциты) не выявляют зернистости при их окраске кислым или основным красителем (агранулоциты). Все лейкоциты крупнее эритроцитов.

Число лейкоцитов в крови животных в нормальных условиях значительно варьирует, в отличие от эритроцитов. Аномально высокое число лейкоцитов — лейкоцитоз, а снижение числа лейкоцитов крови — лейкопения. У лошадей и собак возможен как результат физической активности физиологический лейкоцитоз, который объясняется мобилизацией лейкоцитов, обычно находящихся в капиллярах и мелких венах.

Различные типы лейкоцитов имеют свои особенности обмена веществ. Так, если активно фагоцитирующие клетки (нейтрофилы) имеют выраженные окислительные и гидролитические процессы, то для лимфоцитов характерен интенсивный синтез белка, что связывает их с синтезом иммуноглобулинов (В-лимфоциты). Т-лимфоциты — «вечные странники», срок их жизни (месяцы и годы) способствует этому.

Гранулоциты имеют короткий срок жизни. При выходе из костного мозга они циркулируют в крови 4–8 ч, а затем живут 3–4 дня в периферических тканях. Нейтрофилы составляют более половины числа лейкоцитов крови. Нейтрофилы противостоят бактериальной инфекции, выступают в роли «десантников» и в этой борьбе разрушаются. Их число значительно возрастает при острых бактериальных инфекциях. В случае вирусной инфекции число нейтрофилов может быть уменьшено.

Эозинофилы мигрируют в места внедрения паразитов и в места аллергических реакций. Поэтому число эозинофилов увеличивается при аллергических реакциях и в ответ на паразитарные болезни. Токсические вещества, продуцируемые эозинофилами, направлены на разрушение паразитов.

Базофилы включают пузырьки, содержащие гистамин и гепарин. Гепарин ингибирует коагуляцию крови, способствует удалению жиров из крови после приема жирной пищи.

Моноциты, подобно гранулоцитам, остаются в циркуляции крови всего несколько часов, а затем мигрируют в ткани. В крови моноциты остаются еще незрелыми клетками, но в тканях их свойства меняются. Трансформированные моноциты называются макрофагами, и имеют важное значение в защите против инфекции. Некоторые макрофаги не очень мобильны

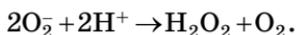
и могут выживать в течение нескольких лет (стационарные макрофаги). Макрофаги печени (купферовские клетки) важны в защите против бактерий пищеварительного тракта.

Большинство лимфоцитов локализуется в лимфоидной ткани, такой как лимфоузлы, селезенка, тимус. Лимфоциты переносятся лимфой в кровь, откуда вновь переходят в лимфу. Это означает, что лимфоциты всегда «патрулируют» ткани. Лимфоциты осуществляют важную защиту против всех видов микроорганизмов и против раковых клеток, однако лимфоциты атакуют лишь клетки-мишени, против которых они запрограммированы. Следовательно, лимфоциты — основа становления специфической иммунной защиты организма.

Контакт лейкоцитов (нейтрофилы и моноциты) с патогенным агентом сопровождается серией биохимических реакций, названных биохимическим дыхательным взрывом. При этом поглощение кислорода усиливается в 2–4 раза, как и синтез НАДФН + H<sup>+</sup>. Это создает условия для образования супероксидного аниона при участии ферментного комплекса-НАДФН-оксидазы фагосом:



Лейкоциты имеют защиту от супероксидного аниона в форме СОД. Супероксидный анион при участии СОД превращается в пероксид водорода:



Таким образом, вокруг поглощенной бактериальной клетки локально образуется высокая концентрация супероксидных ионов и перекиси водорода, оказывающих бактерицидное действие. Следует отметить, что у анаэробов СОД отсутствует, поэтому губительное действие на них кислорода объясняется именно отсутствием данного фермента.

Лейкоциты содержат также фермент миелопероксидазу (МПО)-гемсодержащий гликопротеин, который активно катализирует окисление ионов хлора в ионы гипохлорида:



МПО катализирует и другие реакции: дезаминирование, декарбоксилирование аминокислот, хлорирование, бромирова-

ние, иодирование чужеродных белков, что способствует их активному протеолизу.

Оксид азота (NO) в макрофагах также оказывает бактерицидное действие. NO образуется в клетках из аргинина под действием фермента NO синтазы. Взаимодействуя с супероксидным анионом, оксид азота образует пероксинитрил (ONOO<sup>-</sup>), обладающий большими бактерицидными свойствами, чем NO:



Таким образом, в ходе биохимических реакций в лейкоцитах происходит накопление различных активных форм кислорода, свободных радикалов (O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH<sup>-</sup>, NO), которые хотя и существуют очень короткий период времени, являются, однако, высокотоксичными для многих микроорганизмов.

Наличие указанных биохимических превращений позволяет лейкоцитам эффективно защищать свои клетки и нейтрализовать чужеродные агенты, иммунные комплексы, другие структуры. Обладая высокой реактивностью, кислородсодержащие радикалы оказывают не только микробицидное действие, но и выходя за пределы фагосом, могут повреждать различные структуры клеток. Так, продолжительность существования OH<sup>-</sup> составляет всего лишь 100 мкс, но за этот период он успевает пройти до 100 нм и деформировать азотистые основания или полностью вызвать разрыв двойной спирали ДНК. Однако за счет реакций с участием СОД, каталазы, МПО, витамина Е, аскорбиновой кислоты, каротина токсическое действие указанных радикалов кислорода предотвращается.

Контролируемое равновесие процессов образования свободных радикалов и их инактивации обеспечивает нормальное функционирование клетки, тогда как их дисбаланс ведет к накоплению продуктов свободнорадикального окисления, являясь причиной ее гибели.

## ТРОМБОЦИТЫ

Тромбоциты — кровяные пластинки, не имеют ядра и не способны к митозу. Это самые мелкие форменные элементы крови. Они синтезируются в костном мозге из крупных клеток — мегакариоцитов. Каждый мегакариоцит способен продуцировать до 6 тыс. тромбоцитов. Число тромбоцитов в 20–40 раз

превышает общее число лейкоцитов крови. Их количество в среднем составляет в крови домашних животных  $400 \times 10^9$ /л. В отличие от лейкоцитов, тромбоциты никогда не покидают циркуляцию крови. Кровеносные сосуды селезенки содержат большой запас тромбоцитов. После 10-суточного существования тромбоциты разрушаются макрофагами в основном в селезенке и печени.

Тромбоциты содержат различные клеточные органеллы и цитоплазматические ферменты. В их митохондриях протекают реакции гликолиза с образованием АТФ. При повреждении кровеносного сосуда тромбоциты поступают в места повреждений и благодаря наличию системы каналов содержащее их пузырьков выходит в окружающую среду для экзоцитоза. Тромбоциты богаты белками актином и миозином, которые обеспечивают их сокращение.

Синтез тромбоцитов стимулируется пептидным гормоном тромбopoэтином печени. Мегакариоциты и тромбоциты имеют рецепторы для тромбopoэтина, что позволяет регулировать концентрацию тромбopoэтина в плазме крови.

Снижение числа тромбоцитов в крови — тромбоцитопения — отмечается при различных острых инфекционных болезнях, гепатитах, энтеритах, гиповитаминозе А, интоксикациях, после химиотерапии. Недостаточное уплотнение сгустка пробы крови может указывать на тромбоцитопению. Тромбоцитоз — увеличение числа тромбоцитов в крови — может наблюдаться при анемиях, миоглобинурии, плевритах.

## БУФЕРНЫЕ СИСТЕМЫ КРОВИ

Кровь животного характеризуется относительным постоянством величины рН, учитывая, что активность ферментных систем находится в тесной связи с этим показателем. Действительно, многочисленные биохимические процессы в организме протекают при строго определенных величинах рН. Так, величина рН крови лошади равна 7,2–7,6; крупного рогатого скота — 7,3–7,5; свиней — 7,8–7,9; собак — 7,3–7,4.

В организм животного с кормами поступают соединения кислого и щелочного характера. Дополнительно в результате эндогенных химических реакций в организме постоянно образуются различные органические и минеральные кислоты

( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HCl}$ ), а также щелочнореагирующие соединения (аммиак, креатин, отдельные аминокислоты). Однако эта ситуация не изменяет величины рН тканей благодаря наличию в ней буферных систем крови, легких, почек.

Буферные системы крови являются первой линией защиты против изменений концентраций  $\text{H}^+$ . Межклеточные буферные системы, быстро реагируя, предупреждают падение рН в крови при усилении продукции  $\text{H}^+$  в результате метаболизма. Однако они не способны удалить избыток  $\text{H}^+$ .

Легкие представляют вторую линию защиты против изменения концентрации  $\text{H}^+$ . Дыхание стимулируется при падении в крови рН, в результате чего усиливается частота дыхательных движений и удаление  $\text{CO}_2$ . Однако избыток кислоты или основания не может быть удален через легкие.

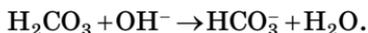
Почки представляют третью линию защиты против нарушений кислотно-щелочного отношения в организме. Почки нормализуют концентрацию  $\text{H}^+$  в тканях организма, экскретируя  $\text{HCO}_3^-$  при алкалозе, и экскретируя  $\text{H}^+$ , и продуцируя  $\text{HCO}_3^-$  при ацидозе. Для этого требуется несколько часов.

Наиболее важными буферными системами крови являются: бикарбонатная, фосфатная, система «гемоглобин — оксигемоглобин», белки плазмы крови. Обычно буферная система представлена слабой кислотой и солью этой кислоты. Буферная емкость (сила буферной системы) крови очень велика; для смещения рН крови к ней следует добавить в 320 раз больше кислоты, чем к такому же количеству воды.

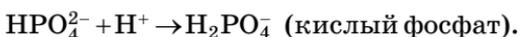
Бикарбонатная буферная система плазмы крови представлена углекислотой ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) и бикарбонатом натрия ( $\text{NaHCO}_3$ ) в соотношении 1:20. В количественном плане эта система составляет 53% от общей буферности крови. При поступлении в кровь более сильных кислот, которые теоретически могли бы вызвать существенный сдвиг величины рН, этого не происходит, так как кислота реагирует с бикарбонатом буфера, в результате чего наступает увеличение количества не этой сильной кислоты, а слабой угольной кислоты. Избыток угольной кислоты возбуждает дыхательный центр, и при поступлении ее с кровью в капилляры легких она разлагается на воду и углекислый газ:



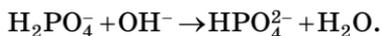
Таким образом, вместо  $H^+$  есть избыток слабой  $H_2CO_3$  и величина рН крови остается неизменной. В случае поступления основных продуктов, способных изменить величину рН крови, за счет участия в реакции угольной кислоты происходит увеличение содержания бикарбонатов:



Подобным образом действует и фосфатная буферная система, которая состоит из двух солей фосфорной кислоты с различной степенью выраженности кислотных свойств ( $NaH_2PO_4$  и  $Na_2HPO_4$ ) в соотношении 1:4. При этом с более кислыми продуктами реагирует  $Na_2HPO_4$  (двузамещенный фосфат):

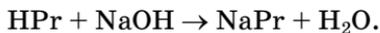


Со щелочными продуктами реагирует однозамещенный фосфат буфера —  $NaH_2PO_4$ . В результате реакции получают менее щелочной продукт — двузамещенный фосфат:



Обладая слабо выраженными кислыми или основными свойствами, эти фосфаты не накапливаются в тканях, а выделяются с мочой из организма.

Способность белков проявлять как кислые, так и основные свойства объясняет буферное действие белков плазмы крови. В составе полипептидных цепей белков молекул имеются остатки активно ионизирующих диамино- и дикарбоновых кислот. Основания подавляют диссоциацию боковых радикалов диаминокислот, и тогда белок ведет себя как кислота (HPr):



Кислоты подавляют диссоциацию боковых радикалов дикарбоновых аминокислот, и в этом случае белок выступает как соль:

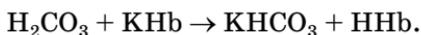


Буферные свойства гемоглобина объясняются как его белковой природой, так и способностью находиться в двух формах — в форме гемоглобина и оксигемоглобина. Оба белка являются слабыми кислотами ( $HNb$  и  $HNbO_2$ ), однако оксигемо-

глобин — более сильная кислота по сравнению с гемоглобином и угольной кислотой, тогда как гемоглобин, лишенный кислорода, как кислота является слабее угольной кислоты. Созданию буферных систем гемоглобина способствует высокое содержание в эритроцитах калия. В эритроцитах различают две буферные системы:



Взаимодействуя с угольной кислотой, калиевая соль гемоглобина приводит к образованию вместо более сильной углекислоты более слабой — гемоглобина, степень кислотности которого значительно ниже:



В этом видна связь буферного действия гемоглобина с его ролью в транспорте углекислоты от тканей к легким.

Организм животного постоянно продуцирует большие количества кислот; основной кислотой является угольная, которая в норме экскретируется через легкие. Неспособность легких выполнять эту функцию приводит к сдвигу рН тканей в кислую сторону (ацидоз) или в щелочную сторону (алкалоз). Ацидоз и алкалоз являются причиной дисбаланса между образованием и потерей ионов  $\text{H}^+$ .

Различают два типа ацидоза и алкалоза: респираторные и метаболические. Респираторный (газовый) ацидоз является результатом гиповентиляции легких (слабое удаление  $\text{CO}_2$ ), что приводит к аккумуляции кислот в тканях. Так, закупорка дыхательных путей, болезни центральной нервной системы вызывают острый респираторный ацидоз. Хронический респираторный ацидоз имеет место при хронических болезнях легких, например при эмфиземе. Примером метаболического ацидоза может быть накопление в организме молочной кислоты, образующейся в повышенном количестве при недостатке кислорода в тканях в результате снижения функции сердечно-сосудистой системы.

Типичны ацидозы и при кетозах, когда в тканях организма идет усиленный, но неполный распад жиров с накоплением кислых кетонных тел (ацетон, ацетоуксусная и  $\beta$ -гидроксимасляная кислоты). Ацидозы могут отмечаться при высоко-

концентрированном или силосно-жомовом кормлении, при диарее у молодняка, вследствие потери щелочного содержимого кишечника. При борьбе с ацидозами часто используется лактат натрия, в результате метаболизма которого образуется бикарбонат натрия:



Более частой причиной алкалозов является гипервентиляция легких в результате беспокойства животного, а также лихорадки, отравления салицилатами. Алкалозы могут возникнуть при частых рвотах с потерями больших количеств кислого желудочного содержимого. Алкалоз может быть при передозировке животному карбоната кальция. При гипервентиляции легких рН крови может достигать 7,8–8,0. Однако гипервентиляция не протекает длительно, чтобы стать критической для животного.

На кислотно-щелочное равновесие влияет характер кормления животного. Корма животного происхождения подкисляют организм. В мясных кормах сравнительно много фосфора и серы, при окислении которых образуются радикалы соответствующих кислот. Растительные корма содержат много органических солей, которые подщелачивают организм.

Для оценки кислотно-щелочного равновесия принято определять резервную щелочность крови. Резервная щелочность — это количество миллилитров углекислоты, которое может связаться в форме бикарбоната 100 мл плазмы крови. В норме величина резервной щелочности плазмы крови для крупного рогатого скота 46–66 об%  $\text{CO}_2$ , для свиней — 45–55, для лошадей — 56–80 об%  $\text{CO}_2$ . Снижение этих величин характерно для ацидозов, а увеличение — для алкалозов.

## БИОХИМИЯ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ И ФИБРИНОЛИЗ

Благодаря гемостазу — способности к свертыванию крови — организм предохраняет себя от кровопотери. Термин гемостаз включает все механизмы, которые участвуют в прекращении кровопотери (кровеносные сосуды, тромбоциты, моноциты, белки свертывания крови).

В гемостазе различают три этапа:

- 1) сокращение кровеносного сосуда;
- 2) образование фибринового тромба;
- 3) свертывание крови.

Кровь и ткани содержат до 50 различных субстанций, которые вовлекаются в процесс коагуляции (свертывания) крови. Многие из них ускоряют этот процесс, другие — ингибируют. Субстанции, которые ускоряют коагуляцию, циркулируют в крови в неактивной форме.

Процесс свертывания крови представляет собой каскад ферментативных реакций с участием специальных белков. В цепи этих превращений каждый образовавшийся фактор (белок) вызывает активацию следующего до формирования фибрина.

Основную роль в гемостазе играют тромбоциты. Два пути начинают процесс свертывания крови: внутренний (простой) и внешний (комплексный). Внутренний путь требует участия аномальной поверхности эндотелия кровеносного сосуда *in vivo* или поверхности стекла *in vitro*. При этом внешний путь требует участия экстравазкулярного компонента — тромбопластина или фактора III, который экспрессируется многими тканями. Оба пути объединяются на уровне фактора X в общий путь, который включает превращение протромбина в активный тромбин, серинпротеазу. Тромбин катализирует превращение фибриногена в фибрин.

В процессе свертывания принимают участие 13 факторов плазмы (см. табл. 4), обозначаемые римскими цифрами, и до 9 факторов тромбоцитов, нумеруемых арабскими цифрами. Номера отражают порядок открытия того или иного фактора, но не порядок их участия в процессе. Многие факторы коагуляции синтезируются в печени, где их синтез зависит от наличия витамина К. В частности, витамин К необходим для активации прокоагулянтов (факторов VII, IX, X, протромбина) в печени. Новорожденные животные не имеют в пищеварительном тракте достаточной микрофлоры для синтеза витамина К. Поэтому геморрагии более часто встречаются у новорожденных, чем у взрослых.

Факторы I, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII имеют белковую природу, для всех определена их молекулярная масса и концентрация в плазме крови. Наибольшая концентрация характерна

**Свойства факторов свертывания крови**

Фактор	Название	Путь	Функции
I	Фибриноген	Общий	Образование фибрина
II	Протромбин	Общий	Образование тромбина
III	Тромбопластин	Внешний	Активирует X
IV	Ионы кальция	Общий	Активирует II, VII, IX, X
V	Проакцелерин	Общий	Активирует II
VII	Проконвертин	Внешний	Активирует X
VIII	Антигемофильный	Внутренний	Активирует X
IX	Фактор Кристмаса	Внутренний	Активирует X
X	Фактор Стюарта	Общий	Активирует II
XI	Фактор Розенталя	Внутренний	Активирует IX
XII	Фактор Хагемана	Внутренний	Активирует XI
XIII	Трансглутамидаза	Общий	Стабилизирует фибрин
	Прекалликреин	Внутренний	Активирует XII
	Кининоген	Внутренний	Активирует XII
	Фактор фон Виллебранда	Внутренний	Стабилизирует VIII

для фибриногена (200–450 мг%) и протромбина (5–10 мг%). Концентрация для остальных не превышает мг%.

Пусковым моментом в системе свертывания крови является факт повреждения кровеносного сосуда, при этом клетки гладкой мышцы сосуда быстро сокращаются, что уменьшает кровотечение. Сокращение сосуда может продолжаться до 30 мин.

В место повреждения поступают тромбоциты, которые при участии фактора фон Виллебранда формируют с эпителиальными клетками мостики между рецепторами на поверхности тромбоцитов и коллагеновыми нитями соединительной ткани. Тромбоциты при этом начинают выделять активные субстанции, включая АДФ, который подавляет активность аденилат-

циклазы. Это приводит к мобилизации внутриклеточных ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и агрегации тромбоцитов.

В дополнение, тромбоциты участвуют в процессе формирования тромбосана  $\text{A}_2$  из арахидоновой кислоты в составе фосфолипидов клеточной мембраны. Тромбосан  $\text{A}_2$  повышает агрегацию тромбосанов и совместно с серотонином усиливает сокращение поврежденного сосуда.

Внешний путь начинается с действия фактора III, который в норме отсутствует в крови, но появляется из стенки пораженного сосуда. Внутренний путь начинается с адсорбции фактора XII на поверхности эндотелия сосуда, обеспечивая контакт крови с коллагеновыми нитями стенок пораженного сосуда. Фактор XII активируется с формированием фактора XIIa. Фактор XIIa вовлекает в реакции другие факторы, начиная с XI до V. Освобождающийся при травме фактор III (тканевой тромбопластин) при участии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  переводит протромбин (фактор II) в тромбин (фактор IIa). Под действием тромбина происходит активация фактора XIII, способствующего стабилизации нитей фибрина. Под влиянием тромбина фибриноген переходит в мономер фибрина. Поэтому тромбин обеспечивает образование и стабилизацию фибрина. Мономеры фибрина далее полимеризуются в нерастворимый фибриновый полимер при участии фактора XIII. В сложных нитях фибринового сгустка оседают форменные элементы крови, закрывая просвет поврежденного кровеносного сосуда.

Фибриновый сгусток (гель фибрина) вначале занимает значительный объем и содержит много жидкости. Затем он подвергается сжатию (ретракции) под действием тромбоцитарного фактора. В результате образуется сыворотка крови и окончательный нерастворимый фибриновый сгусток. Сгусток обычно формируется за 4–6 мин.

Факторы VIII и V коагуляции непосредственно не участвуют в каскаде реакций, но они необходимы для активации факторов X и III соответственно.

Протромбин, проконвертин, фактор Кристмаса и фактор Стюарта являются белками, синтезируемыми печенью, и требуют присутствия ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и витамина K для их синтеза.

Недостаток факторов VIII, IX, которые входят во внутренний путь процесса коагуляции, получил название гемофилии.

Большинство случаев гемофилии связано с недостатком фактора VIII (гемофилия А). Эта геморрагическая болезнь имеет место исключительно у самцов; даже мелкие царапины могут быть опасными для организма. Фактор VIII организма человека в настоящее время изготавливается с помощью рекомбинантной ДНК-технологии.

При длительном (до 24 ч) нахождении сгустка в пробирке вместе с сывороткой наблюдается его постепенное растворение (фибринолиз). Процесс растворения происходит и в организме животного. Фибринолиз, подобно коагуляции, является комплексным процессом, включающим серию ферментативных реакций, направленных на распад фибрина до растворимых пептидов, которые затем удаляются из крови с возможным вовлечением в фагоцитоз.

Происходит это при участии протеолитического фермента плазмина (фибринолизина). Плазмин находится в плазме в неактивном состоянии (плазминоген) и активируется киназами, которые находятся в тканях. Плазминоген синтезируется в печени, почках, костном мозге в виде полипептидной цепи из 840 аминокислотных остатков. При отдельных патофизиологических условиях плазмин способен вызывать распад фибриногена и фактора VIII.

Наряду с фибринолитической системой крови в организме имеется и система антифибринолитическая. Вещества, препятствующие свертыванию крови, получили название антикоагулянтов. К естественным антикоагулянтам прямого действия следует отнести гепарин, который является высокомолекулярным мукополисахаридом клеток эндотелия кровеносных сосудов. Его структура включает остатки глюкуроновой кислоты и глюкозамина, соединенных с серной кислотой. Характерно, что гепарин препятствует свертыванию крови как в пробирке, так и в организме. Механизм его действия сводится к торможению превращения протромбина в тромбин.

К антикоагулянтам непрямого действия относятся антагонисты витамина К. Они не оказывают прямого влияния на компоненты свертывания крови, но влияют на их синтез в печени. Наиболее широкое применение получил дикумарол, производное кумарина, который является антагонистом витамина К. Дикумарол блокирует необходимую реакцию карбоксилирова-

ния глутаминовой кислоты протромбина. В результате под его влиянием в крови животного появляется дефектный протромбин, который не способен связывать ионы кальция. Дикумарол образуется в загнивающем доннике, в клеверном сене, в которых кумарин при участии плесневых грибов переходит в дикумарол.

В ветеринарной практике для борьбы с грызунами используется антикоагулянт зоокумарин. При попадании его в организм животного происходят кровоизлияния, отравления, вследствие нарушения процесса свертывания крови. К антисвертывающим веществам относят также салициловую и ацетилсалициловую кислоту (аспирин). Они рассматриваются как антагонисты витамина К и как вещества, препятствующие склеиванию тромбоцитов, что приводит к их повреждению и выходу тромбоцитарных факторов.

В лабораторной практике для предупреждения свертывания крови в пробу крови добавляют гепарин, соли щавелевой и лимонной кислоты, которые удаляют из процесса кальций и тем самым нарушают течение ферментативных реакций системы свертывания крови, зависимой в этом элементе.

## ГЛАВА 10. ВОДНО-СОЛЕВОЙ ОБМЕН

---

Первые живые организмы появились в воде около 3 млрд лет тому назад, и до настоящего времени вода является главнейшим биорастворителем.

Вода — жидкая среда, которая является главным компонентом живого организма, обеспечивающая его жизненно важные физико-химические процессы: осмотическое давление, величину рН, минеральный состав. Вода составляет в среднем 65% общей массы тела взрослого животного и более 70% новорожденного. Более половины количества этой воды находится внутри клеток организма. Учитывая очень малую молекулярную массу воды, рассчитано, что около 99% всех молекул в клетке являются молекулами воды (Бохински Р., 1987).

Высокая теплоемкость воды (требуется 1 кал на нагревание 1 г воды на 1°C) позволяет организму поглощать значительное количество тепла без существенного повышения внутренней температуры. За счет высокой теплоты испарения воды (540 кал/г) организм рассеивает часть тепловой энергии, избегая перегрева.

Для молекул воды характерна сильная поляризация. В молекуле воды каждый атом водорода образует электронную пару с центральным атомом кислорода. Поэтому молекула воды имеет два постоянных диполя, так как высокая электронная плотность вблизи кислорода придает ему отрицательный заряд, тогда как каждый атом водорода характеризуется пониженной электронной плотностью и несет частичный положительный заряд. В результате возникают электростатические связи между атомом кислорода одной молекулы воды и водородом другой

молекулы, получившие название водородных связей. Эта структура воды объясняет ее высокие значения теплоты испарения и температуры кипения.

Водородные связи сравнительно слабые. Их энергия диссоциации (энергия разрыва связи) в жидкой воде равна 23 кДж/моль, по сравнению с 470 кДж для ковалентной связи O–H в молекуле воды. Время существования водородной связи составляет от 1 до 20 пикосекунд (1 пикосекунда =  $10^{-12}$  с). Однако водородные связи не являются уникальными для воды. Они могут возникать и между атомом водорода и азота в других структурах.

В состоянии льда каждая молекула воды образует максимально четыре водородные связи, формируя кристаллическую решетку. Напротив, в жидкой воде при комнатной температуре каждая молекула воды имеет водородные связи в среднем с 3–4 другими молекулами воды. Эта кристаллическая решетка льда делает его менее плотным, чем жидкая вода. Поэтому лед плавает на поверхности жидкой воды, оберегая ее от замерзания.

Таким образом, водородные связи между молекулами воды обеспечивают связующие силы, которые сохраняют воду в форме жидкости при комнатной температуре и трансформируют молекулы в кристаллы льда. Отметим, что, помимо водородных связей, для биомолекул характерными являются другие типы нековалентных связей: ионные, гидрофобные, вандерваальсовы силы, которые индивидуально являются слабыми, но совместно оказывают сильное влияние на структуры белков, нуклеиновых кислот, полисахариды и мембраны клеток.

Молекулы воды и продукты их ионизации ( $H^+$  и  $OH^-$ ) оказывают выраженное влияние на структуры и свойства компонентов клеток, включая нуклеиновые кислоты, белки, жиры. Помимо стабилизации структуры белков и нуклеиновых кислот, водородные связи участвуют в биохимической экспрессии генов.

Как основа внутренней среды клеток и тканей, вода определяет их химическую активность, являясь уникальным растворителем различных веществ. Вода повышает устойчивость коллоидных систем, участвует в многочисленных реакциях гидролиза и гидрирования в процессах окисления. Вода поступает в организм с кормами и питьевой водой.

Многие метаболические реакции в тканях приводят к образованию воды, которая получила название эндогенной (8–12% от

общего количества жидкости организма). Источниками эндогенной воды организма в первую очередь служат жиры, углеводы, белки. Так окисление 1 г жиров, углеводов и белков приводит к образованию 1,07; 0,55 и 0,41 г воды соответственно. Поэтому животные в условиях пустыни могут обходиться какое-то время без приема воды (верблюды даже достаточно долго). Собака погибает без приема воды через 10 дней, а без кормов — через несколько месяцев. Потеря 15–20% воды организмом влечет за собой смерть животного.

Низкая вязкость воды определяет постоянное перераспределение жидкости внутри органов и тканей организма. Вода поступает в желудочно-кишечный тракт, а затем почти все количество этой воды всасывается обратно в кровь.

Транспорт воды через клеточные мембраны осуществляется быстро: спустя 30–60 мин после приема воды животным наступает новое осмотическое равновесие между внеклеточной и внутриклеточной жидкостью тканей. Объем внеклеточной жидкости имеет большое влияние на кровяное давление; увеличение или уменьшение объема внеклеточной жидкости приводит к нарушениям циркуляции крови.

Повышение количества воды в тканях (гипергидрия) имеет место при положительном водном балансе (избыток поступления воды при нарушении регуляции водно-солевого обмена). Гипергидрия приводит к скоплению жидкости в тканях (отеки). Обезвоживание организма отмечают при недостатке питьевой воды или при избыточности потери жидкости (диарея, кровотечение, усиленное потоотделение, гипервентиляция легких). Потеря воды животным происходит за счет поверхности тела, системы пищеварения, дыхания, мочевого тракта, молока у лактирующих животных.

Обмен воды между кровью и тканями происходит за счет разности гидростатического давления в артериальной и венозной кровеносной системе, а также и за счет разности онкотического давления в крови и тканях. Вазопрессин, гормон задней доли гипофиза, удерживает воду в организме за счет обратного всасывания ее в почечных канальцах. Альдостерон, гормон коры надпочечников, обеспечивает задержку натрия в тканях, а вместе с ним сохраняется вода. Потребность животного в воде составляет в среднем 35–40 г на кг массы тела в сутки.

Отметим, что химические вещества в организме животного находятся в ионизированной форме, в виде ионов. Ионы, в зависимости от знака заряда, относятся к анионам (отрицательно заряженный ион) или к катионам (положительно заряженный ион). Элементы, которые диссоциируют в воде, образуя анионы и катионы, классифицируются как электролиты. Соли щелочных металлов ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ), соли органических кислот (лактат натрия, например) при растворении в воде диссоциируют полностью и являются электролитами. Легко растворяющиеся в воде сахара и спирты не диссоциируют в воде и не несут заряда, поэтому рассматриваются как неэлектролиты. Сумма анионов и катионов в тканях организма в целом одинакова.

Ионы диссоциирующих веществ, обладая зарядом, ориентируются вокруг диполей воды. Вокруг катионов диполи воды располагаются своими отрицательными зарядами, а анионы окружаются положительными зарядами воды. При этом возникает явление электростатической гидратации. По причине гидратации эта часть воды в тканях находится в связанном состоянии. Другая часть воды связана с различными клеточными органеллами, составляя так называемую иммобильную воду.

Ткани организма включают 20 обязательных из всех природных химических элементов. Углерод, кислород, водород, азот, сера являются незаменимыми компонентами биомолекул, из которых по массе преобладает кислород.

Химические элементы в организме формируют соли (минералы) и входят в состав биологически активных молекул. Биомолекулы имеют низкую молекулярную массу (30–1500) или являются макромолекулами (белки, нуклеиновые кислоты, гликоген), молекулярные массы которых составляют миллионы единиц. Отдельные химические элементы (Na, K, Ca, S, P, Cl) составляют в тканях около  $10^{-2}\%$  и более (макроэлементы), тогда как другие (Fe, Co, Cu, Zn, J, Se, Ni, Mo), например, присутствуют в значительно меньших количествах —  $10^{-3}$ – $10^{-6}\%$  (микроэлементы). В организме животного минеральные вещества составляют 1–3% от общей массы тела и распределяются чрезвычайно неравномерно. В отдельных органах содержание микроэлементов может быть значительным, например йод в щитовидной железе.

После абсорбции минералов в большей мере в тонком кишечнике они поступают в печень, где некоторые из них депони-

руются, а другие распределяются по различным органам и тканям организма. Выделяются минеральные вещества из организма главным образом в составе мочи и каловых масс.

Обмен ионами между клетками и межклеточной жидкостью происходит на основе как пассивного, так и активного транспорта через полупроницаемые мембраны. Возникающее осмотическое давление обуславливает тургор клеток, поддерживая эластичность тканей и форму органов. Активный транспорт ионов или передвижение их в среду с меньшей концентрацией (против осмотического градиента) требует затрат энергии молекул АТФ. Активный транспорт ионов характерен для ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  и сопровождается усилением окислительных процессов, генерирующих АТФ.

Роль минеральных веществ заключается в поддержании определенного осмотического давления плазмы крови, кислотно-щелочного равновесия, проницаемости различных мембран, регуляции активности ферментов, сохранении структур биомолекул, включая белки и нуклеиновые кислоты, в поддержании моторной и секреторной функции пищеварительного тракта. Поэтому при многих нарушениях функций пищеварительного тракта животного рекомендуются в качестве лечебных средств различные составы минеральных солей.

Важным является как абсолютное количество, так и должное соотношение в тканях между определенными химическими элементами. В частности, оптимальное соотношение в тканях  $\text{Na}:\text{K}:\text{Cl}$  составляет в норме 100:1:1,5. Выраженной особенностью является «асимметрия» в распределении ионов солей между клеткой и внеклеточной средой тканей организма.

## ХИМИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ В ОРГАНИЗМЕ

### НАТРИЙ

Натрий является основным катионом межклеточных жидкостей организма животного. В эритроцитах его концентрация меньше в семь раз по сравнению с концентрацией в плазме крови. Внутри клеток  $\text{K}^+$  и органические анионы составляют большую концентрацию, тогда как  $\text{Na}^+$  и анионы,

которые пассивно сопутствуют этому минералу, составляют более 90% концентрации во внеклеточной жидкости. Поэтому при поступлении в организм с кормами соли NaCl она быстро распределяется во внеклеточной среде.

В скелете животного содержится 35–45% всего количества натрия в организме. Соли натрия не обладают избирательной локализацией в каком-либо органе, хотя большие количества этого элемента находятся в водных растворах и органах, богатых водой (соединительная ткань, кожа). Высокая степень реабсорбции ионов натрия в почечных канальцах отражает пассивный переход воды из канальцев в кровь. Реабсорбция натрия в почечных канальцах, как и абсорбция его в кишечнике, находится под контролем альдостерона. Гомеостаз натрия в основном поддерживается через регуляцию его экскреции с мочой.

Поддержание постоянного объема внеклеточной жидкости зависит от способности организма сохранять постоянство концентрации ионов  $\text{Na}^+$ . Корма жвачных животных содержат небольшие количества натрия, однако они имеют хороший физиологический солевой аппетит, который составляет значительный компонент их гомеостаза этого элемента.

Хлористый натрий является важнейшим компонентом, регулирующим осмотическое давление биологических жидкостей. Величина осмотического давления зависит от общего количества недиссоциирующих молекул и ионов, а постоянство уровня поддерживается за счет обмена воды и электролитов между тканями и кровью и регулируется системой выделения (почки, потовые железы). Поступление в организм NaCl приводит к выходу воды из тканей в кровь, что нормализует осмотическое давление. Избыток соли выводится почками и потовыми железами. При избытке поступления воды в организм осмотическое давление нормализуется за счет выхода соли из тканей в кровь с последующим выведением из организма с мочой. Натрий имеет важнейшее значение в поддержании кислотно-щелочного баланса в организме.

Важной является и другая функция натрия в организме: он активизирует проведение импульсов по нервным волокнам, возбуждая мышцы. Натрий является активатором амилазы, фруктокиназы, но тормозит активность фосфорилаз. В клеточных мембранах различных тканей присутствует фермент  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ -аза,

обеспечивающий выведение из клетки ионов натрия и ввод ионов калия. Эти транспортные процессы происходят против градиента концентрации (от низкой концентрации к высокой), а поэтому требуют затрат АТФ. На поддержание этого ионного градиента ткани тратят около 25% всей энергии, используемой организмом. На каждую затрачиваемую молекулу АТФ фермент АТФ-аза переносит три иона натрия из клетки и два иона калия в клетку.

Признаками повышенного содержания натрия в организме служат отеки, гидратация тканей, хрупкость кровеносных сосудов. У животных отмечают повышенную жажду, вялость. У кур-несушек при этом снижается яйценоскость, появляются случаи каннибализма.

### КАЛИЙ

Калий является основным катионом в клетках животных, где составляет 98% от общего его количества в организме и лишь 2% этого элемента находятся во внеклеточной среде. Если в плазме крови концентрация калия составляет в среднем 3,5–5,5 мм, то в эритроцитах его примерно в 25 раз больше. Из тонкого кишечника калий абсорбируется и распределяется по всем тканям; большая его часть находится в мышечной ткани. Выделяется калий из организма через почки. Травоядные, такие как лошади, хорошо адаптированы к почечной экскреции дневного поступления калия в составе кормов.

Физиологическая роль калия велика: он участвует в регуляции кислотно-щелочного равновесия, в поддержании осмотического давления внутри клеток. Под влиянием раздражителя проницаемость мембран для ионов натрия мышечных волокон резко возрастает, превышая проницаемость для ионов калия. Поток натрия и хлора внутрь клетки превышает идущий из клетки поток калия, вызывая при этом перезарядку мембран клетки, что и объясняет появление разности потенциалов на внутренней и наружной поверхности сарколеммы.

Калий является частью  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{АТФ}$ -азной помпы, поддерживает гидратацию ионов и коллоидных структур, участвует в передаче нервного импульса. Он присутствует во всех тканях организма.

В регуляции обмена калия принимают участие минералокортикоиды коры надпочечников. Недостаток калия в организ-

ме вызывает задержку роста, мышечную слабость, нарушение сердечной деятельности и функции почек. Снижение уровня альдостерона приводит к задержке калия в организме и выведению натрия.

В кормовых культурах (луговые травы, картофель, свекла) содержание калия сравнительно высокое и его дефицита в организме домашних животных практически не наблюдается.

### **ХЛОР**

Это активный внеклеточный элемент, присутствующий в различных тканях в виде анионов солей (натрия, калия, кальция, магния).

Содержание хлора в организме человека составляет 100 г. Всасывается в тонком кишечнике. Хлориды используются для синтеза соляной кислоты в желудке животного. Хлор обеспечивает динамическое равновесие ионов водорода в тканях за счет активного перемещения сквозь мембраны клеток и таким образом участвует в регуляции осмотического давления плазмы крови и других жидкостей.

Ионы  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  являются важнейшими ионами жидкостей, которые транспортируются кишечником при абсорбции или секреции и в большинстве случаев транспорт этих двух ионов совмещается. При транспорте  $\text{Na}^+$  сквозь слизистую оболочку кишечника эквивалентные количества анионов ( $\text{Cl}^-$ ) должны быть транспортированы для поддержания электрической нейтральности. При определенных обстоятельствах ионы  $\text{Cl}^-$  поступают в клетки в обмен на  $\text{HCO}_3^-$ .

### **КАЛЬЦИЙ**

В количественном отношении кальций является главенствующим минералом организма животного. В организме лошади его количество достигает 6 кг. Всасывание кальция происходит в тонком кишечнике. Кальций — основной элемент костной ткани (99%), где он представлен в форме гидроксиапатита ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ). Гомеостаз кальция в организме определяет система органов; в их числе — кишечник, печень, почки, костная ткань.

Хотя кальций является в целом внеклеточным элементом (от 2,0 до 3,5 мМ), он играет важнейшую регуляторную роль

внутри клеток. В частности, кальций необходим для процесса свертывания крови, сокращения сердечной и скелетных мышц, для передачи нервных импульсов, секреции гормонов и активации ферментов. Кальций снижает возбудимость нервной системы. Ионы кальция принимают участие в более чем 30 химических реакциях организма.

Клетки многих тканей обладают транспортными системами, обеспечивающими перенос кальция через внутренние мембраны митохондрий. Уровень внутриклеточного кальция поддерживается за счет запасов элемента в эндоплазматическом ретикулуме; каналы кальция плазматических мембран также обеспечивают транзит внеклеточного кальция внутрь клеток.

Выявлены новые пути взаимодействия кальция с макромолекулами и рецепторами клеток, приводящие к повышению их функциональной активности. Так, поступление кальция в клетки и его мобилизация играет и центральную роль в активации и пролиферации лимфоцитов, подвижности и дегрануляции гранулоцитов. Ионизированный кальций повышает тонус симпатической нервной системы, благодаря чему усиливает фагоцитарную активность лейкоцитов и таким образом действует противовоспалительно.

Регуляторное действие ионов кальция на активность лимфоцитарных и фагоцитарных клеток связано с белком кальмодулином, содержащим 148 аминокислотных остатков; кальмодулин представляет собой своеобразное депо кальция, он составляет примерно 1% массы всех белков различных клеток. Кальмодулин функционирует как мультицелевой внутриклеточный  $\text{Ca}^{2+}$ -рецептор, регулируя многие  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимые процессы. Он участвует в передаче сигнала, вызывающего повышение концентрации ионов кальция в цитоплазме, путем образования комплекса  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулин.

Концентрация ионов кальция в цитозоле регулирует различные функции клетки, а поэтому ионы кальция, подобно цАМФ, играют регуляторную роль вторичного посредника. В частности, среди мишеней, регулируемых  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулином, следует назвать различные ферменты и транспортные мембранные белки. Многие эффекты ионов кальция в клетках опосредованы фосфорилированием белков, катализируемым семейством  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулин-зависимыми протеинкиназами.

Поддержание постоянного уровня кальция в крови является жизненно важным. Низкий уровень кальция в крови животного стимулирует образование кальцитриола (витамина D), который обеспечивает абсорбцию кальция из кишечника в кровь за счет синтеза специального белка-транспортера в стенке тонкого кишечника, если содержания кальция в кормах недостаточно для поддержания его уровня в плазме крови (2,25–2,80 ммоль/л), то кальцитриол и паратгормон стимулируют костную резорбцию этого элемента. Отметим, что кальцитонин способствует депонированию кальция в костной ткани.

При выраженной гипокальциемии содержание кальция в различных тканях снижается, в результате этого нарушается прежде всего функция нейромышечной системы организма. Клетки мышечной ткани содержат  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азный насос, который контролирует сокращение мышц. Пусковым сигналом для начала сокращения мышцы служит выход катионов  $\text{Ca}^{2+}$  из саркоплазматической сети в саркоплазму. При этом ионы кальция стимулируют Са-зависимую АТФ-азную активность актомиозина. Поэтому в возбужденной мышце происходит распад АТФ с освобождением энергии, используемой саркомерами при их сокращении. После прекращения электрического импульса из двигательного нерва ионы кальция под влиянием кальциевого насоса вновь поглощаются везикулами саркоплазматического ретикулума. Недостаток кальция в рационе вызывает гипокальциемию, которая часто сопровождается гиперфосфатемией, остеопорозом, рахитом, остеомалацией. Отметим, что корова выделяет с каждым литром молока 1,2 г кальция. Потребность организма в кальции трудно установить, так как существует множество факторов, влияющих на его статус. В частности, избыток белка в рационе может привести к более быстрой экскреции кальция из организма. Мышечные нагрузки требуют большой затраты кальция на образование костной ткани. Важным представляется и соотношение кальция и фосфора в кормах.

## ФОСФОР

Фосфор — универсальный компонент клеток организма животного.

Фосфор присутствует во всех органах и тканях как в виде минеральных солей, так и в виде различных органических

соединений. В костной ткани фосфор является вторым в количественном отношении элементом после кальция, где он представлен в виде гидроксиапатита. Содержание фосфора в скелете составляет 75–85% от общего его количества в организме животного.

Абсорбция фосфора кормовых масс происходит в тонком кишечнике в виде аниона  $\text{PO}_4^{3-}$ , который протупает в кровь и активно распределяется по всем тканям.

В клетках и межклеточной жидкости фосфор находится в составе фосфатных буферных систем, поддерживая рН и осмотическое давление. Важнейшей ролью фосфора является его участие в синтезе макроэргических соединений (в частности, АТФ, УТФ, ГТФ, ЦТФ, креатинфосфат), во многих реакциях фосфорилирования. Фосфор является составным компонентом фосфолипидов, коферментов ( $\text{НАД}^+$ , ФМН, ФАД,  $\text{НАДФ}^+$ , HS-CoA). Поэтому фосфор — прямой участник обмена углеводов, жиров, аминокислот, нуклеиновых кислот, белков, присутствуя в структурах эфиров.

Обмен фосфора в организме тесно связан с обменом кальция. Соотношение Ca и P в плазме крови млекопитающих составляет в норме 2:1, у птиц — 3:1. В плазме крови различают уровень общего фосфора, кислоторастворимого и неорганического фосфора. В клинической биохимии часто используется показатель неорганического фосфора плазмы (сыворотки) крови животного. Во многих тканях, включая печень и кости, присутствуют щелочная и кислая фосфатазы, которые катализируют гидролиз различных фосфорных эфиров.

Содержание фосфора в организме регулирует паратгормон, кальцитонин, кальцитриол. В регуляции обмена этого элемента участвуют также гормоны щитовидной железы, половые гормоны. В виде циклического АМФ (цАМФ) фосфор является активатором гормональной регуляции.

Гипофосфатемия является в первую очередь признаком дефицита в организме кальцитриола (витамина D). Первым симптомом гипофосфатемии у животных является мышечная слабость, задержка роста с возможным развитием рахита. «Клеточная» слабость птиц, сидящих на скакательных суставах, часто рассматривается как симптом фосфорной недостаточности. У таких птиц грудная кость и ребра деформированы; отме-

чают наличие переломов четвертого и пятого грудных позвонков в сочетании с компрессией и дегенерацией спинного мозга, что и является, очевидно, причиной развивающихся параличей.

### **МАГНИЙ**

Магний представлен в различных тканях организма в первую очередь как внутриклеточный элемент. В крови млекопитающих его концентрация составляет в норме от 0,5 до 1,5 мМ, у кур-несушек — до 2,0 мМ. Магний играет важную роль как двухвалентный катион, находящийся внутри клеток и в межклеточных жидкостях во много раз в больших концентрациях, чем другие элементы, такие как кобальт, марганец, медь.

Абсорбция магния происходит в желудке и тонком кишечнике. Депонируется магний в печени, откуда распределяется в мышцы и костную ткань. В крови присутствует в виде ионов, солей, комплексов с простыми белками. Из организма выделяется в виде солей с мочой, каловыми массами, потом.

В клетках основные количества АТФ находятся в виде комплексов  $Mg^{2+}$ -АТФ, так как пирофосфатные группы имеют выраженную способность связываться с ионами магния. Установлено, что магний активизирует более 60 химических реакций, в том числе реакции энергетического обмена. В частности, реакции переноса фосфатной группировки АТФ на глюкозу в процессе гликолиза осуществляются с участием фермента гексокиназы; все киназы обязательно нуждаются для проявления максимальной активности в ионах магния.

Низкий уровень антител в сыворотке крови животного при недостатке магния может отражать или слабый уровень синтеза антител, или их низкую специфичность. Прямое участие магния в иммунных реакциях может проявляться в его связи с пропердином и комплементом, система которых участвует в разрушении большинства грамотрицательных и грамположительных бактерий и нейтрализации ряда вирусов.

Магний необходим для проведения нейромышечных импульсов, поэтому основными признаками дефицита магния являются общая слабость, мышечная дрожь, сердечная аритмия. У лактирующих коров в весенне-летний период при переводе их на пастбище возможны случаи гипомагниемии или

«пастбищной тетании». При этом отмечают резкое снижение (ниже нормы) уровня магния в крови животного. Введение в организм магниевых солей при этом снимает признаки заболевания. Хроническая недостаточность магния в клетках может привести к увеличению его транспорта из ядер в цитоплазму, что, в свою очередь, вызывает хромосомные изменения и клеточные мутации. Ионы кальция являются антагонистами магния. Поэтому магний может предупреждать образование камней оксалата кальция в почках.

### **СЕРА**

Содержание серы в организме достигает 0,5% общей массы животного. Сера — весьма важный элемент организма. Основные количества серы находятся в составе серосодержащих аминокислот (метионин, цистеин, цистин), которых сравнительно много в покровных тканях (белки эпителия, шерсти, волос, пера, рога). Сера поступает в организм животного в виде органических и неорганических соединений.

Сульфаты, связываясь с белками, остаются с ними в комплексе на весь период их существования. Это подтверждает мнение, что сера выполняет в организме структурную роль, а не регуляторную. Сера является обязательным компонентом витамина В<sub>1</sub> и витамина В<sub>3</sub>, сульфоллипидов, гепарина, таурина, хондроитинсерной кислоты, ряда ферментов. Часть серы в организме окисляется до образования серной кислоты, которая участвует в печени для нейтрализации ядовитых продуктов распада аминокислот, таких как индол, скатол, крезол, фенол, переводя их в малотоксические парные соединения. При недостатке серы у животного наблюдается потеря аппетита, выпадение шерсти, слюнотечение. Потребность в сере у коров составляет 1 г на кг сухого вещества рациона.

### **МАРГАНЕЦ**

Поступающий в организм с кормами и питьевой водой марганец усваивается до 15% в тонком кишечнике и депонируется в печени. Марганец находят в различных тканях птиц в большей концентрации, чем у млекопитающих. Марганец активизирует в организме ряд ферментов — аргиназу, гликозилтрансферазу, тиаминазу, енолазу, ДНК-азу, супероксиддисмутазу,

ускоряет реакции гликолиза и цикла трикарбоновых кислот. Его эффекты на метаболические процессы проявляются в синергизме с эффектами меди и цинка.

Недостаток марганца в организме сказывается в первую очередь в виде нарушений костеобразования, поэтому костная ткань лучше отражает статус этого элемента, чем печень. Выяснена роль марганца в развитии перозиса или «скользящего» сухожилия (опухание и выравнивание тиботарсального сустава) у цыплят. При этом большеберцовая и плюсневая кости искривляются. Обычно поражается одна конечность, реже две.

Перозис-костная дистрофия молодняка птиц наблюдается при скармливании рационов, богатых кальцием и фосфором, но бедных марганцем. У кур-несушек недостаток марганца приводит к снижению яйцекладки и выводимости, снижается прочность скорлупы яиц. Во многих случаях мертвые эмбрионы птиц имеют признаки хондродистрофии, укорочение длинных костей скелета. Недостаток марганца у поросят вызывает «хромоту», которая напоминает изменения скелета, характерные для костей птиц при перозисе. Вероятно, этиология этих заболеваний связана с инактивацией щелочной фосфатазы. Для профилактики заболевания в рационы животных вводят корма, богатые марганцем: зерно овса, пшеничные отруби, свекольную ботву.

### ЖЕЛЕЗО

Железо обычно находится в кормах в виде иона  $Fe^{3+}$ , который связан с белками или органическими кислотами. При участии аскорбиновой кислоты в желудке животного  $Fe^{3+}$  восстанавливается в  $Fe^{2+}$ . Лишь около 10% железа кормов абсорбируется в тонком кишечнике, откуда оно поступает в печень, где частично депонируется в составе белка ферритина (депо  $Fe^{3+}$ ).

Ферритин синтезируется в печени, как гликопротеин, и способен связать более 4 тыс. атомов железа на одну молекулу белка. Производным ферритина является гемосидерин — нерастворимое соединение, которое вызывает токсический эффект и приводит к гемохроматозу, когда железо в больших количествах откладывается в различных тканях. Другая часть железа, поступившего в организм, в составе трансферрина ( $Fe^{3+}$ ) транспортируется в костный мозг, мышцы и другие ткани на синтез гема.

Роль железа в организме велика. Около 2/3 железа в организме находится в структуре гемоглобина, основного транспортера кислорода в крови. Железо входит в структуру костной ткани, скорлупы. Железо находится в составе каталазы, пероксидаз, активных участников реакций биологического окисления. Как компонент цитохромов и негеминных белков, железо необходимо для реакций окислительного фосфорилирования. Как компонент важного лизосомального фермента миелопероксидазы, железо участвует в фагоцитозе и разрушении бактерий нейтрофилами. Поэтому снижение доступности железа для данного фермента фагоцитов может нарушить переваривающую способность этих клеток в отношении бактерий. Поэтому дефицит железа в организме связывают со снижением иммунокомпетентности.

Железо необходимо для поддержания функций лимфоидных тканей, куда оно доставляется трансферрином, для связывания которого на наружной мембране клеток имеются специальные рецепторы; недостаток железа вызывает атрофию лимфоидных тканей средней степени.

Хорошо известен симптом дефицита железа — микроцитарная гипохромная анемия (малокровие). Более часто анемия этой этиологии наблюдается у новорожденных поросят, поскольку в молоке свиноматок обычно низкий уровень этого элемента. Уменьшение железа в крови наблюдается при отравлении животных гемолитическими ядами. У цыплят и индюшат недостаток железа, помимо гипохромной анемии, вызывает полную депигментацию оперения.

Хорошими кормовыми источниками железа являются: мясо, кровяная и рыбная мука, зеленые корма.

## **ЦИНК**

Абсорбция цинка происходит в сычуге и тонком кишечнике у жвачных и в мышечном желудке у птиц. Положительный эффект на всасывание цинка оказывают транспортный белок металлотионеин, триптофан, цистеин, гистидин, витамин В<sub>6</sub>. Цинк депонируется в печени. Максимальная концентрация цинка установлена в костной ткани, семенниках, поджелудочной железе. Щитовидная железа регулирует обмен цинка в организме.

Биологическая роль цинка в организме животного многообразна в связи с тем, что он выступает в качестве компонента

более чем 160 ферментов различных классов (дегидрогеназы, пептидазы, эстеразы) или выполняет функцию активаторов ряда ферментов (аргиназа, отдельные пептидазы). Цинк входит в структуру фермента карбоангидразы эритроцитов, что определяет его прямую роль с процессами дыхания.

Все больше накапливается данных в защиту концепции, что цинк имеет в организме в первую очередь структурную функцию, а затем уже каталитическую; он необходим для стабилизации структуры инсулина, глюкагона, РНК, активирует половые гормоны и гормоны передней доли гипофиза, задерживает свертываемость крови. Цинк наряду с витамином Е обеспечивает функционирование мембран клеток, поддерживая их целостность.

Недостаток цинка является причиной глубоких морфологических нарушений лимфоидных тканей животных, сопровождаясь гипоплазией тимуса, селезенки, их атрофией. Длительный дефицит цинка в рационе животных оказывает депрессирующее влияние на тимус, а следовательно, и на систему Т-лимфоцитов. Это, в свою очередь, приводит к развитию вторичных иммунологических дефектов как за счет угнетения функций самих Т-лимфоцитов, так и из-за нарушений кооперативных связей с В-лимфоцитами и макрофагами. Снижение массы тимуса обычно сопровождается снижением общего числа лейкоцитов.

Изучение скелета цыплят при недостатке цинка в кормах показало значительное нарушение синтеза коллагена при выраженном падении активности коллагеназы, что может быть результатом общего угнетения синтеза белка в организме за счет изменения активности РНК-полимеразы. Недостаток цинка вызывает задержку роста и нарушение оперения цыплят. При недостатке цинка у млекопитающих отмечают выпадение шерсти, дерматиты, анемию, диарею, снижение продуктивности.

Установлены конкурентные взаимоотношения цинка с кальцием, фосфором, медью, молибденом в вопросах формирования костной ткани. Цинк активирует щелочную фосфатазу и минеральный обмен костной ткани. Цинк угнетает активность каталазы и цитохромоксидазы, играющих важную роль в способности остеобластов к синтезу коллагена, что также может служить объяснением влияния микроэлемента на процессы ossификации. В значительных количествах цинк присутствует в зеленых кормах, сеной муке, рыбной муке.

## МЕДЬ

Поступая в организм животного с кормами и питьевой водой, медь всасывается в тонком кишечнике и депонируется в печени. В печени крупного рогатого скота уровень меди в 30–50 раз больше, чем в крови. Абсорбция меди, вероятно, зависит также от белка металлотионеина.

Химические свойства, благодаря которым медь играет важную роль в обменах веществ, выражены у нее в большей степени, чем у других микроэлементов. Это объясняется тем, что ионы меди по сравнению с ионами других металлов активнее взаимодействуют с белками, образуя устойчивые (хелатные) комплексы. К тому же медь легко переходит из одного валентного состояния в другое, являясь как донором, так и акцептором электронов. В клетках медь находится в виде свободных нейтральных атомов, в виде одно- и двухвалентных ионов.

Почти все количество меди в организме находится в составе белков. Известен лишь единственный медный порфирин — ярко-красный пигмент турацин, имеющийся только в крыльях африканской птицы турако. Участие меди в метаболических процессах сопряжено главным образом с функциональной нагрузкой медьсодержащих ферментов. Медьсодержащие ферменты играют регулируемую роль в окислительно-восстановительных процессах и тканевом дыхании (цитохромоксидаза), что важно как для эритроцитов, так и для клеток лимфоидно-макрофагальной системы. Отдельные дисмутазы фагоцитарных клеток содержат медь, а также цинк, железо, марганец. Эти ферменты играют ключевую роль в бактерицидной активности фагоцитов.

Достаточно хорошо изучен медьсодержащий белок церулоплазмин (ферроксидаза), находящийся в значительных количествах в печени. Церулоплазмин содержит 98% меди сыворотки крови. Он, как депо меди, участвует в синтезе железосодержащего белка плазмы крови трансферрина ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Последний может предоставлять железо клеткам костного мозга на синтез гемоглобина. Поэтому важнейшая функция меди — участие в эритропоэзе.

Интерес представляет Cu–Zn-супероксиддисмутаза — белок с молекулярной массой 31 тыс., состоящий из двух субъединиц,

каждая из которых содержит по одному атому цинка и меди. Активность данного фермента может быть использована в качестве индекса статуса меди в организме. Фермент катализирует в организме реакцию дисмутации токсических радикалов по отношению к молекулярному кислороду и перекиси водорода на активном центре, окружающем атом меди. Активное действие супероксиддисмутазы на супероксидные анионы приводит к уменьшению образования вредных для клеток гидроксильных радикалов. Наиболее активен этот фермент в клетках печени, почках, надпочечниках.

Медь является компонентом ряда других металлоферментов, включая полифенолоксидазу, аминоксидазу, дофамингидроксилазу, лизилоксидазу. Так, лизилоксидаза необходима для превращения остатков лизина в коллагене и эластине в десмозин, обеспечивающий эластичность и прочность стенки аорты. Ионы меди оказывают регулирующее влияние на остеогенные клеточные элементы и процессы оссификации, возможно, за счет усиления скорости синтеза коллагена кости.

Симптомы дефицита меди в организме — анемия, лейкопения, деминерализация костной ткани, хрупкость крупных артерий, демиелинизация нервных волокон. При недостатке меди у крупного рогатого скота наблюдается лизуха, у овец — энзоотическая атаксия, снижение качества шерсти, у цыплят отмечают гипохромную анемию, деформацию костей и депигментацию тканей (недостаток медьсодержащего фермента тирозиназы). При этом появляются аневризмы аорты как следствие падения активности фермента аминоксидазы, необходимого для синтеза эластина, основного белка стенки аорты. Медь выводится из организма в основном в составе желчи.

Отметим, что некоторые моллюски (осьминоги, улитки), членистоногие (скорпионы) содержат медьсодержащий белок (гемоцианин), являющийся переносчиком кислорода. Богаты медью животная мука, ботва свеклы, клевер, дрожжи.

## **ЙОД**

Йод в составе кормов и питьевой воды активно абсорбируется в желудке и тонком кишечнике и транспортируется в основном в щитовидную железу, где депонируется в комплексе с тиреоглобулином. Йод содержится в морских водорослях,

в рыбной муке, зернах злаков. Морские рыбы являются лучшим естественным источником йода.

Йод используется в организме для синтеза гормонов щитовидной железы — тироксина ( $T_4$ ) и трийодтиронина ( $T_3$ ). Регуляция обмена йода в организме осуществляется тиреотропным гормоном передней доли гипофиза. В ядрах клеток — мишеней йодтиронинов — имеются специфические рецепторы, которые вместе с гормонами взаимодействуют с ДНК. Поэтому  $T_3$  и  $T_4$  обеспечивают регуляцию роста и клеточной дифференциации, экспрессии генов. В целом гормоны щитовидной железы способствуют повышению использования кислорода клетками, что усиливает энергетический метаболизм. Нарушения функции щитовидной железы приводят к снижению активности тканевого дыхания, окислительного фосфорилирования, синтеза белков.

Недостаток йода в рационе человека может привести к гипотиреозу или эндемическому зобу. В этих случаях наблюдается выраженное компенсаторное увеличение объема щитовидной железы (гиперплазия).

Йодная недостаточность у животных проявляется падением продуктивности, нарушением воспроизводительной функции. У птиц при недостатке йода в кормах отмечают снижение яйценоскости, устойчивости к различным патогенным агентам. Из организма йод выделяется в основном с мочой.

## КОБАЛЬТ

Особенность метаболизма кобальта состоит в том, что его содержание в тканях животного в обычных условиях никогда не бывает высоким из-за очень низкой всасываемости в пищеварительном тракте и незначительной способности к удержанию в организме. Поэтому количество аккумулированного организмом кобальта невелико по сравнению с его количеством в кормах. Кобальт депонируется в печени.

Принято считать, что кобальт осуществляет свое влияние на метаболические реакции через посредство витамина  $B_{12}$  (кобаламина). Структура этого витамина включает ион  $Co^{2+}$  (4,5%). Это единственный витамин, который синтезируется только бактериями, актиномицетами в преджелудках у жвачных и в сле-

пой и ободочной кишках — у моногастричных животных. Наиболее богатыми витамином  $B_{12}$  в организме являются печень и почки.

Витамин  $B_{12}$  играет важную роль в синтезе нуклеиновых кислот, жировом, углеводном обменах. За счет своих подвижных метильных групп он участвует в синтезе пуриновых и пиримидиновых оснований, холина, метионина, принимает участие в переносе одноуглеродных радикалов для синтеза нуклеиновых кислот.

Известны ферменты, содержащие в своем активном центре кобальт — это 2-биотинпротеин-метилмалонил-КоА-карбоксилтрансфераза (КФ 2.1.3.1) и пропионил-КоА-карбоксилаза (КФ 6.4.1.3). Кобальт является активатором ряда ферментов (аргиназа, фосфатаза, каталаза, альдолаза, декарбоксилаза), обеспечивая связь кофермента с субстратом. С глицилглициндипептидазой кобальт образует хелатное соединение. Ионы кобальта тормозят активность уреазы, цитохромоксидазы, сукцинатдегидразы.

Участие кобальта в процессах кроветворения является одной из интересных сторон биологических эффектов этого микроэлемента. Кобальт блокирует сульфгидрильные группы отдельных оксидоредуктаз, что приводит к кислородному голоданию костного мозга. Эта ситуация побуждает усиление функции мозга через посредство синтеза эритропоэтина, обеспечивая нормальный активный синтез гемоглобина и ускорение созревания эритроцитов.

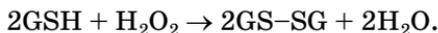
При акобальтозе в организме возникает болезнь «сухотка», береговая болезнь скота, которая характеризуется анемией, выраженным исхуданием, потерей аппетита, лихухой. Акобальтозы у жвачных животных встречаются чаще, чем у других видов животных. Эти видовые различия связаны с особенностями углеводного обмена. У жвачных основным источником энергии является не глюкоза, а летучие жирные кислоты — пропионовая, уксусная, масляная и другие, образующиеся в рубце при участии микрофлоры из полисахаридов кормов. Поэтому у жвачных особое значение приобретает фермент метилмалонил-КоА-мутаза, содержащий в качестве кофермента витамин  $B_{12}$  и превращающий метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА, участник цикла трикарбоновых кислот.

Учитывая, что метаболизм пропионовой кислоты связан с образованием метилмалонил-КоА, в отсутствие витамина В<sub>12</sub> эта кислота накапливается в крови, вызывая потерю аппетита, характерного признака для акальтоза. В связи с этим содержание метилмалонил-КоА в моче жвачных может служить одним из индикаторов недостаточности кобальта в рационе еще до появления характерных клинических признаков акальтоза.

### СЕЛЕН

Всасывание селена происходит активно во всех отделах пищеварительного тракта животного. Скармливание больших доз селена (свыше 10 мг/кг корма) приводит к снижению его абсорбции в кишечнике. Около 80% селена в организме находится в эритроцитах. Избыток селена выводится из организма с мочой и каловыми массами.

Селен является составным компонентом таких ферментов, как глутатионредуктаза, глутатионпероксидаза. Существует тесная корреляция между уровнем в организме селена и активностью фермента глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9), который обеспечивает с участием глутатиона (GSH) инактивацию пероксида водорода и гидропероксидов липидов:



Полученный окисленный глутатион (GS-SG) затем восстанавливается глутатионредуктазой.

Селен и витамин Е дополняют эффекты друг друга; оба входят в структуру мембран клеток, где витамин Е связан с арахидоновой кислотой фосфолипидов, а селен связан с белками, содержащими негеминное железо, предохраняя его от окисления.

Селен способствует нейтрализации перекисей жирных кислот за счет активации глутатионпероксидазы. В свою очередь витамин Е предохраняет окисление жирных кислот мембран клеток, выполняя таким образом роль антиоксиданта.

Недостаток селена в кормах приводит к снижению аппетита, истощению животного. Основным симптомом недостаточности селена в организме цыплят и индюшат — экссудативный диатез. Недостаток в организме телят и ягнят селена и витамина Е приводит к развитию беломышечной болезни, связанной с деструктивными изменениями, в первую очередь в мышечной тка-

ни. Однако позднее поражается и сердечная мышца, и животное неожиданно погибает от сердечной недостаточности.

Селен необходим для предупреждения миопатии мышечно-желудка и сердца у индеек. Фиброзы поджелудочной железы и снижение активности липазы, трипсинагена, химотрипсинагена также связаны с дефицитом этого микроэлемента в кормах. В целях профилактики недостаточности селена в рацион цыплят вводят селен из расчета 0,15–0,20 мг/кг корма в виде селенита натрия. При избыточном содержании селена в кормах наблюдают патологии эмбрионов, задержку роста, сроков половой зрелости птиц.

Водно-минеральный обмен имеет важное значение для нормальной жизнедеятельности всех органов и тканей организма животного. В условиях животноводства необходимы знания факторов окружающей среды, вопросов физиологии и рационального кормления животных.

## ГЛАВА 11. ГОРМОНЫ

---

**Обмен** веществ, его физиологические функции должны находиться под контролем, обеспечивающим их взаимосвязь между органами, тканями и отдельными клетками всего организма. Эту взаимосвязь осуществляют: центральная нервная система, гормональная (эндокринная) система, паракринная и аутокринная системы, иммунная система. Таким образом, речь идет о нейроэндокринной системе, обеспечивающей координацию метаболизма организма животного.

В предыдущих главах нами было показано, как метаболические процессы внутри клеток регулируются на уровне индивидуальных ферментных реакций на основе субстратной доступности, аллостерических механизмов, фосфорилирования или других ковалентных модификаций ферментов.

В сущности каждый процесс в организме животного регулируется одним или несколькими гормонами: поддержание давления крови, объем крови, электролитный баланс, эмбриогенез, половая дифференцировка, развитие, репродукция, голод, пищеварение. Индивидуальные клетки в одной ткани улавливают изменения обстоятельств в организме и отвечают секрецией химических мессенджеров, которые поступают в другую клетку или ткань, где они связываются с рецепторами, изменяя их метаболизм. В случае сигнала нервной системы химический мессенджер (ацетилхолин, например) может пройти лишь долю микрометра сквозь синаптическую щель в следую-

ций нейрон. При гормональном сигнале мессенджер-гормон поступает в дистантные органы и ткани, преодолевая расстояние метра или более, достигая их клетки-мишени. Исключением из этого анатомического различия являются адреналин и норадреналин, которые служат как нейротрансмиттеры в определенных синапсах мозга и гладкой мышце и как гормоны, которые регулируют метаболизм в печени и мышце.

Гормоны (от *греч.* *hormao* — возбуждаю) осуществляют интеграцию и координацию метаболической активности различных тканей. Гормоны — биологически активные вещества, выделяемые железами внутренней секреции или специализированными клетками в кровь и оказывающие целенаправленное (регулирующее и координирующее) действие на другие органы и ткани под влиянием соответствующих стимулов. Гормоны переносят информацию о необходимости изменения обмена веществ в соответствующие органы в ответ на изменение внешних условий или состава внутренней среды.

Железы внутренней секреции активно реагируют на изменения внутренних и внешних условий (режим содержания и характер кормления животного, температура окружающей среды, физиологическое состояние животного), изменяя секрецию гормонов и сохраняя гомеостаз. Гормоны синтезируются у всех видов животных, включая млекопитающих, птиц, рыб, насекомых, за исключением микроорганизмов.

Фактически каждый процесс организма животного регулируется одним или несколькими гормонами. Сфера влияния гормонов в организме включает процессы роста и развития, пищеварения, метаболизм белков, жиров, углеводов, водно-минеральный обмен, обмен витаминов, репродукции.

Можно выделить ряд общих свойств, характерных для гормонов:

- для гормонов характерен дистанционный характер действия — с током крови они переносятся от места синтеза к клеткам-мишеням;
- гормоны обладают строгой специфичностью действия;
- гормоны изменяют скорость обычных биохимических реакций в клетке (но не инициируют новые);
- гормоны оказывают свое действие в чрезвычайно малых концентрациях; в частности для получения тиреотропин-

рилизинг-гормона R. Guilleman (Нобелевская премия, 1977) использовал около 20 т гипоталамусов от 2 млн голов овец;

- для гормонов характерна генерализованность — распространенность по всему организму;
- для гормонов характерен сравнительно короткий период существования (30 мин–3 ч).

Выделяясь в кровь, многие гормоны связываются с белками-транспортёрами и лишь незначительная их часть находится в свободном состоянии (катехоламины, например).

Гормоны подвергаются биотрансформации в клетках-мишенях с помощью ферментов, а также с участием транспортных и ферментных систем печени и почек.

В ответ на сигналы центральной нервной системы (боль, испуг, инфекционный агент, гипогликемия, кровотечение) гормон вначале должен быть связан как лиганд со специфическим белком клетки, называемым рецептором (R). Взаимодействие гормона с рецептором клетки-мишени является обязательной характеристикой для нормального функционирования данного класса биологически важных веществ организма.

Каждый тип клеток имеет собственную комбинацию рецепторов гормонов, которая определяет диапазоны их активности. Более того, два типа клеток с одинаковым типом рецепторов могут иметь различные внутриклеточные мишени гормонального действия и поэтому могут по-разному отвечать на подобные гормоны. Специфичность действия гормонов является результатом структурной комплементарности между гормонами и их рецепторами; эта взаимосвязь является чрезвычайно избирательной. Поэтому структурно подобные гормоны могут иметь различные эффекты. Высокое сродство взаимосвязей позволяет клеткам отвечать на очень низкую концентрацию гормона.

Активность воздействия гормона на клетки-мишени определяется его концентрацией, связующей аффинностью к рецептору, числом рецепторов и продолжительностью взаимодействия.

Под влиянием гормонов происходят изменения клеточной активности с участием внеклеточных молекул-посредников,

которые включают химические и физические модификации простых веществ и макромолекул внутри клеток. При этом клеточная активность связана с повышением или снижением уровня ферментов или биосинтеза белка. Гормональная регуляция может проявляться на всех стадиях транскрипции и трансляции РНК, посттрансляционной модификации и деградации белковых молекул, поэтому любой биохимический процесс может быть «местом действия» гормона.

Клеточная активность изменяется потоком субстрата внутрь клетки на основе следующих механизмов:

- химическая модификация белков-ферментов за счет фосфорилирования и дефосфорилирования, как в случае фосфорилаза и гликогенсинтетазы;
- разрыв ковалентных связей в полипептидной цепи, например превращение трипсиногена в трипсин;
- объединение или диссоциация пептидных субъединиц, например отделение регуляторной субъединицы под действием цАМФ для активирования протеинкиназы;
- аллостерическая модификация, которая приводит к конформационным изменениям, например, эффект влияния концентрации АМФ и АТФ на активность фосфофруктокиназы и фруктозо-1,6-дифосфатазы;
- кофакторы, мелкие пептиды или ионы, действующие на ферментные комплексы, или активаторы, например  $\text{Ca}^{++}$  и кальмодулин.

Единой классификации гормонов не существует. Все гормоны классифицируют в определенной степени условно, по химическому строению, месту синтеза, механизму действия. Основные эндокринные железы: гипоталамус, гипофиз, щитовидная железа, паращитовидная железа, поджелудочная железа, тимус, семенники, яичники, желтое тело, плацента, желудочно-кишечный тракт, надпочечники.

Место встречи между гормоном и рецептором может быть вне клетки, внутри цитозоля или ядра, в зависимости от типа гормона.

По химическому строению гормоны делят на две группы: водорастворимые гормоны, являющиеся белками (или пептидами), и водонерастворимые гормоны (стероиды, ретиноиды, гормоны щитовидной железы).

## МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ

Первоначальный этап действия гормонов заключается в связывании со специфическим клеточным рецептором, что запускает каскад реакций, приводящих к изменению количества или активности ряда ферментов, формируя метаболический ответ клетки. Все гормональные рецепторы представляют собой белки, нековалентно связывающие гормоны. Полагают, что в основе аффинности (сродства) связи гормона с рецептором лежит комплементарность распределения электрических зарядов и водородных связей, а также конформативной структуры белка. Это означает, что гормон и рецептор подходят друг другу как ключ к замку. Ионные каналы клеточных мембран, а также помпы и транспортеры имеют участки для связывания гормонов. Следует отметить, что рецепторы способны взаимодействовать с иными веществами, в результате чего блокируется действие гормона. Степень гормонального воздействия на клетку зависит как от количества гормона, так и от числа специфических к нему рецепторов.

## МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ

Стероидные гормоны, ретиноевая кислота и гормоны щитовидной железы, в отличие от гормонов белковой (пептидной) природы, вызывают максимальные ответы в их клетках-мишенях только спустя часы или дни (Nelson D. L., Cox M. M., 2005).

Эти различия ответных реакций объясняются различиями механизмов действия. Быстродействующие гормоны приводят к изменению активности одного или нескольких ферментов в клетке за счет аллостерических механизмов или ковалентных модификаций. Медленнодействующие гормоны в основном изменяют экспрессию генов, тем самым вызывая синтез белков-регуляторов.

Стероидные гормоны являются производными холестерина. Это глюкокортикоиды, минералокортикоиды, андрогены, эстрогены, прогестерон, витамин D<sub>3</sub> (кальцитриол). Гормоны этой группы после секреции связываются с транспортными белками, что удлиняет период их нахождения в крови. Все они являются жирорастворимыми соединениями и легко проходят

сквозь плазматическую мембрану любой клетки, где связываются с соответствующими рецепторами цитоплазмы или ядра, образуя гормон-рецепторный комплекс. Поэтому механизм действия стероидных и тиреоидных гормонов классифицируют как внутриклеточный.

Рецепторы, взаимодействующие с гормонами, являются гликопротеинами. Этот комплекс подвергается активации с участием АТФ и, проникнув в ядро клетки, оказывает прямое влияние на экспрессию определенных генов, стимулируя синтез специфических мРНК и белков. Избирательно активируя или инактивируя конкретный ген (участок ядерной ДНК), гормон изменяет концентрацию соответствующей мРНК и белка, что находит отражение в процессах метаболизма. Обычно гормон в клетке-мишени изменяет не более 1% белков, но этого достаточно для проявления нового физиологического эффекта.

Внутриклеточный механизм действия стероидных гормонов



Стероидные гормоны индуцируют множество специфических для данной клетки белков в процессе ее дифференцировки, роста. Поэтому чувствительные к данному гормону клетки для нормального функционирования требуют постоянного поступления поддерживающих количеств гормона.

Стероидные гормоны продуцируются в специальных клетках коры надпочечников, яичников, семенников, плаценты. Биологически активные стероиды в относительно небольших количествах образуются также во внеэндокринных тканях из стероидных предшественников, циркулирующих в крови. Это кожа, печень, мозг, молочная железа, жировая ткань. Гормоны этой группы не запасаются в значительных количествах в эндокринных железах и секретируются в кровь, распределяясь по всем тканям организма.

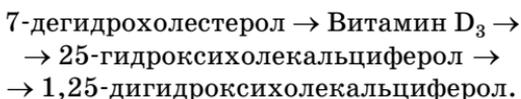
Общий метаболический путь образования всех стероидных гормонов включает превращение холестерина в прегненолон. Количество холестерина, конвертируемое в прегненолон, регулируется АКТГ в коре надпочечников и лютеинизирующим гормоном в интерстициальных клетках семенников и яичников. Прегненолон трансформируется гидроксиллазами и дегидрогеназами

в соответствующие стероидные гормоны, поступающие в циркуляцию крови.

Транспортерами стероидных гормонов в крови являются кортизол — связанный глобулин (транскортин), который связывает кортизол, кортикостерон, прогестерон, а также глобулин, транспортирующий тестостерон и эстрадиол.

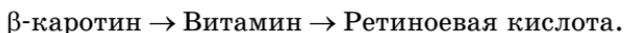
Период полураспада стероидных гормонов варьирует от 30 до 90 мин. Печень является первичным органом в катаболизме этих гормонов. Их биотрансформация осуществляется под влиянием дегидрогеназ, содержащих НАД в качестве кофермента. Метаболиты стероидных гормонов связываются (конъюгируют) в печени с глюкуроновой или серной кислотами и в таком виде быстро экскретируются в мочу.

Сегодня витамин D рассматривается как истинный гормон (кальцитриол). Кальцитриол является результатом гидроксилирования витамина D в печени и почках:



Витамин D поступает в организм с пищей или в результате фотолиза 7-дегидрохолестерина в коже под влиянием ультрафиолета солнца. Кальцитриол и паратгормон действуют однонаправленно в гомеостазе  $\text{Ca}^{2+}$ , регулируя баланс этого минерала в крови и костной ткани. Действуя посредством рецепторов ядра, кальцитриол активирует синтез Са-связывающего белка тонкого кишечника, который обеспечивает абсорбцию пищевого  $\text{Ca}^{2+}$ .

В печени (и в других тканях) витамин А трансформируется в ретиноевую кислоту — гормон, относящийся по механизму действия к стероидным гормонам:



Все ткани имеют ядерные рецепторы для ретиноевой кислоты. В их числе — роговица, кожа, эпителий трахеи и легких, ткани иммунной системы. Комплекс рецептора и ретиноевой кислоты, взаимодействуя с отдельными участками ДНК, стимулирует транскрипцию генов и синтез белков, что приводит к усилению эмбрионального развития, репродукции, роста организма животного.

## МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ БЕЛКОВЫХ (ПЕПТИДНЫХ) ГОРМОНОВ

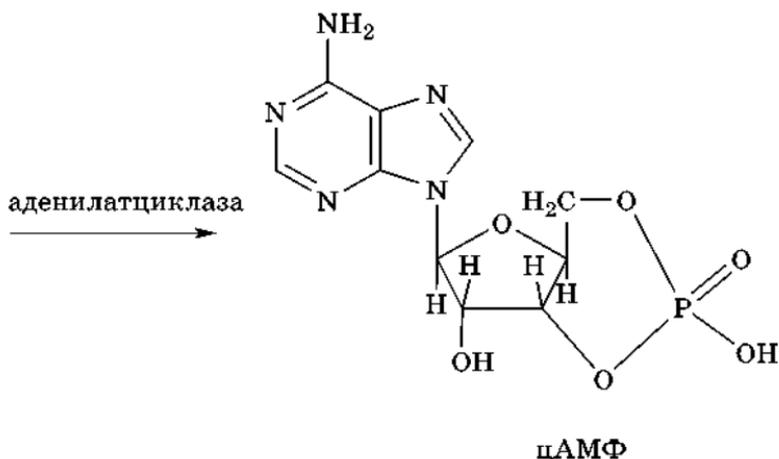
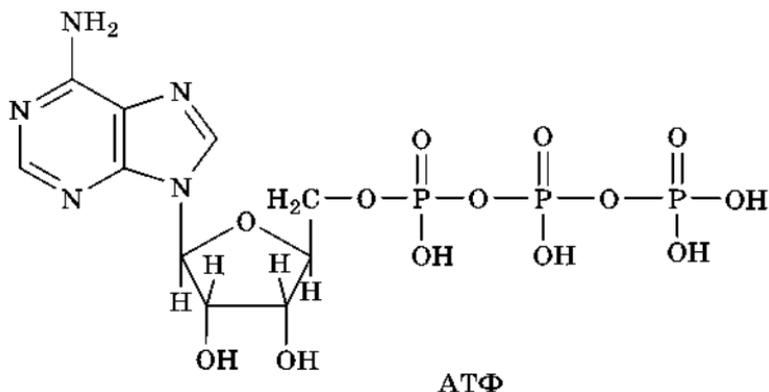
Гормоны этой группы могут иметь от двух до 200 и более аминокислотных остатков. В их числе — гормоны поджелудочной железы инсулин, глюкагон и соматостатин, паратгормон, кальцитонин, катехоламины и все гормоны гипоталамуса и гипофиза. Они синтезируются на рибосомах в форме крупных прогормонов, депонируясь в секреторных везикулах и трансформируясь в формы активных пептидов.

Белковые (пептидные) гормоны и производные отдельных аминокислот (исключая тиреоидные гормоны) являются водорастворимыми соединениями, они не имеют транспортных белков, и клеточные мембраны служат барьером для них. Первый контакт пептидных гормонов с клеткой-мишенью осуществляется на основе взаимосвязи с белком-рецептором, расположенным на наружной поверхности плазматической мембраны клетки. Механизм действия гормонов этой группы получил название «мембранного».

Механизм действия гормон-рецепторного комплекса гормонов этой группы протекает с обязательным участием посредников, которые индуцируют ответ клетки. Наиболее важными посредниками являются цАМФ, ИТФ, ионы кальция.

Через посредство различных рецепторов на наружной мембране клетки все гормоны этой группы взаимодействуют с ферментом аденилатциклазой (АЦ), локализованной на внутренней поверхности плазматической мембраны. При этом происходит активация АЦ, которая катализирует образование циклического АМФ (цАМФ) из АТФ. В этом процессе цАМФ синтезируется за счет циклизации АМФ в результате распада АТФ под влиянием АЦ. Аденилатциклаза — сложный мембранный белок с множественными трансмембранными сегментами. цАМФ гидролизует под влиянием фосфодиэстеразы в 5-АМФ.

цАМФ обеспечивает очень широкий круг клеточных процессов, таких как повышение распада запасов энергетических веществ, усиление секреции кислот слизистой желудка, снижение слипания тромбоцитов крови, индуцирование открытия каналов для хлоридов тканей. Сазерленд (Sutherland), биохимик из США, открывший в тканях цАМФ, назвал цАМФ «вторичным мессенджером», который передает внутри клетки



сигнал пептидного или белкового «первичного посредника», остающегося вне клетки.

В свою очередь цАМФ активирует протеинкиназу, тетрамерный белок (выделено около 20 различных протеинкиназ). Протеинкиназы (ПК) мышц в своем составе имеют две регуляторные субъединицы (Р), которые обладают высокой степенью сродства к цАМФ, и две каталитические субъединицы (К). В отсутствие цАМФ регуляторные и каталитические субъединицы формируют единый  $P_2K_2$ -комплекс, который ферментативно не активен. Связывание двух молекул цАМФ с каждой Р-субъединицей приводит к распаду  $P_2K_2$ -комплекса на

Р- и К-субъединицы. В этом случае свободные К-субъединицы будут являться ферментативно активными. Таким образом, взаимодействие цАМФ с Р-субъединицей уменьшает эффект угнетения каталитической субъединицы. Затем с участием активной формы ПК происходит фосфорилирование ряда ферментов с участием АТФ. Поэтому если гормон является первичным эффекторным посредником (от одной клетки к другой), то цАМФ — вторичный внутриклеточный мессенджер. цАМФ рассматривается как центральный мессенджер действия гормона на эффекторную клетку.

Гормоны белковой (пептидной) природы, действуя посредством внеклеточных рецепторов плазматических мембран, оказывают быстрый физиологический или биохимический ответы. В частности, спустя секунды после секреции адреналина мозговой долей надпочечников, скелетная мышца отвечает усилением распада гликогена. При этом через свои рецепторы адреналин активирует аденилатциклазу, в итоге которой происходит синтез многих молекул цАМФ в ответ на каждую молекулу рецептор-связанного гормона. цАМФ в свою очередь активирует цАМФ-зависимую протеинкиназу, которая активирует фосфорилазкиназу с последующей активацией гликогенфосфорилазы. В результате этого каскада реакций одна молекула адреналина вызывает продукцию многих тысяч молекул глюкозо-1-фосфата из гликогена.

Основное влияние гормонов белковой (пептидной) группы на активацию синтеза белка в обменных процессах проявляется прежде всего под действием протеинкиназ, которые посредством фосфатаз регулируют клеточный ответ путем изменения функциональной активности или количества белков (ферментов) и других белков, что приводит к изменению скорости метаболизма.

Число рецепторов на клеточной мембране достигает 10 тыс., но только 10–20% из них участвуют во взаимосвязи с гормонами, обеспечивая максимальный гормональный ответ.

Следует отметить роль ионизированного кальция как второго внутриклеточного мессенджера действия ряда гормонов. Роль кальция в действии гормонов доказывается тем, что эффект многих из них исчезает при снижении внутриклеточных запасов кальция и усиливается при увеличении концентрации

этого элемента в клетке. Ионы кальция ( $\text{Ca}^{++}$ ) повышают активность фосфатаз, обеспечивающих фосфорилирование белков. Для этого ионы кальция поступают из клеточных органелл при одновременном поступлении  $\text{Ca}^{++}$  внутрь клетки, либо необходимо торможение его выхода из клетки за счет  $\text{Ca}^{++}$ -насоса. Уместно назвать при этом белок кальмодулин, связывающий 4 атома кальция и повышающий активность фосфодиэстеразы, превращающей цАМФ в 5-АМФ.

Внутриклеточный уровень кальция ( $10^{-6}$ – $10^{-7}$  М) контролируется активной  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-азой, которая направляет  $\text{Ca}^{2+}$  во внеклеточное пространство, где концентрация этих ионов равна  $10^{-3}$  М. Концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  в плазме крови строго поддерживается паратгормоном, кальцитонином и кальцитриолом (витамином D).

## ГОРМОНЫ ГИПОТАЛАМУСА

Железы внутренней секреции взаимодействуют по типу синергизма или антагонизма. Например, существует тесная связь между нервной системой (гипоталамус) и эндокринной (гипофиз), что позволяет организму быстро реагировать на различные факторы внешней среды, и вследствие этого физиологические и биохимические проявления этих систем рассматриваются совместно как гипоталамо-гипофизарные. Для удобства понимания этого сложного материала следует рассмотреть вначале гормоны гипоталамуса.

Гипоталамус — небольшая область мозга, координирующий центр эндокринной системы. Гипоталамус обеспечивает единство взаимодействия отделов ЦНС и желез внутренней секреции. Сигналы, идущие от всех тканей организма, воспринимаются мозгом путем возбуждения афферентных (идущих к мозгу) нервных волокон. После анализа поступивших сигналов высшие отделы мозга направляют нервные стимулы в гипоталамус — интегральный центр, принимающий сигналы от ЦНС через нейромедиаторы, который в ответ секретирует гормоны или так называемые рилизинг-факторы. В настоящее время выделены и изучены семь гипоталамических гормонов, имеющих пептидную структуру:

- тиреотропин-рилизинг-гормон (тиреолиберин, ТРГ);
- гонадотропин-рилизинг-гормон (гонадолиберин, ГнРГ);
- соматотропин-рилизинг-гормон (соматолиберин, СРГ);
- соматостатин (соматостатин-ингибирующий гормон, СИГ);
- кортикотропин-рилизинг-гормон (кортиколиберин, КРГ);
- пролактолиберин (структура неизвестна);
- пролактостатин (ингибирует секрецию пролактина).

Гормоны гипоталамуса контролируют секрецию гормонов гипофиза. Не существует прямой нервной взаимосвязи между гипоталамусом и передней долей гипофиза. Гормоны гипоталамуса высвобождаются из гипоталамических нервных волокон и по богатой венозной системе достигают передней доли гипофиза, где они стимулируют или ингибируют секрецию гормонов этой доли.

Задняя доля гипофиза имеет прямую нервную связь с гипоталамическим ядром. Гормоны вазопрессин и окситоцин синтезируются в клетках гипоталамического ядра и по аксонам поступают и запасаются в задней доли гипофиза, составляя ее секрет. Ряд гормонов гипоталамуса (тиреолиберин, кортиколиберин, соматостатин) обнаруживаются и в других отделах нервной системы). Так, соматостатин (пептид из 14 аминокислотных остатков в ЦНС), помимо гипоталамуса, синтезируется в желудке, кишечнике, поджелудочной железе, надпочечниках, плаценте, где выполняет роль гормона и медиатора. Он тормозит секрецию глюкагона, инсулина, гормона роста, гастрина, секретина, холецистокинина, кальцитонина, ферментов поджелудочной железы, паратгормона, иммуноглобулинов, синтез желчи.

## ГОРМОНЫ ГИПОФИЗА

Гормоны гипофиза стимулируют синтез и секрецию соответствующих гормонов других эндокринных желез. При этом передача сигнала от ЦНС до эндокринных желез на каждом участке сопровождается возрастанием количества секретлируемого гормона. Так, 1 нг кортиколиберина гипоталамуса приводит к синтезу в гипофизе около 10 мкг АКТГ, который на уровне надпочечников вызывает образование нескольких мг кортизола.

Передняя доля гипофиза, находящаяся под контролем гипоталамуса, координирует многие клетки-мишени. Снижение функции передней доли гипофиза приводит к атрофии щитовидной железы, коры надпочечников, семенников.

### СОМАТОТРОПИН

Соматотропин (СТГ, гормон роста) — белок, м. м. = 22–46 тыс., синтезируется в соматотрофах — клетках гипофиза и является преобладающим гормоном в количественном плане; его содержание в 100–1000 раз превышает секрецию других гормонов передней доли гипофиза. Секреция СТГ носит пульсирующий характер; повышение концентрации СТГ отмечается в период наступления сна («кто не спит, тот не растет»). СТГ играет решающую роль в контроле роста животного в постнатальный период. Синтезируется генно-инженерными методами и используется в исследованиях для стимуляции роста животных и молокоотдачи у коров.

СТГ имеет широкий спектр биологических эффектов. Его действие зависит от соматостатина гипоталамуса. На физиологические эффекты СТГ оказывают влияние и гормоны щитовидной железы, действующие с ним синергически. СТГ часто действует опосредованно через пептиды-посредники, называемые соматомединами. СТГ активизирует ДНК-полимеразы и биосинтез мРНК. Он необходим для регуляции биосинтеза белков, особенно в печени в период роста организма, для усиления транспорта аминокислот в мышечные клетки.

Действуя на печень, СТГ повышает в ней содержание гликогена за счет усиления гликогенеза, снижает периферическую утилизацию глюкозы, а значит, является антагонистом инсулина. СТГ повышает содержание жирных кислот в крови и их окисление в печени, способствует положительному балансу натрия, калия и хлора, стимулирует рост хрящей, обеспечивая таким образом рост костей.

Избыток синтеза СТГ у молодого животного приводит к гигантизму, а у взрослого — к появлению акромегалии (от *греч.* *акрон* — конечность, *meGas* — большой), непропорциональному росту отдельных частей тела. При недостатке СТГ наблюдается карликовость или приостановка роста.

Однако имеются и другие гормоны, такие как инсулин и тиреотропин, которые оказывают выраженные стимулирующие

эффекты в период роста животного. В частности, СТГ и тиреотропин на рост животного действуют синергически. Оба вовлекаются в протеосинтез в печени в период роста и в индукцию трансаминаз в печени.

### ЛАКТОТРОПИН

Это белок с м. м. = 23–25 тыс., который синтезируется лактофорами — ацидофильными клетками передней доли гипофиза. Уровень пролактина повышается в конце беременности, в период лактации.

Действие пролактина на метаболические циклы разностороннее, хотя наиболее полно изучено его стимулирующее влияние на лактогенез в молочной железе, где он действует совместно с инсулином и глюкокортикоидами. Он стимулирует пролиферацию клеток молочной железы и секрецию ими молока. Показан его стимулирующий эффект на синтез казеина,  $\alpha$ -лактоальбумина молока. Прولاктин является антагонистом прогестерона, который ингибирует синтез данных белков молока. Прولاктин активизирует  $\text{Na}^{++}\text{-K}^+\text{-АТФ-азу}$ , синтез нуклеотидов, простагландинов. Прولاктин модулирует действие антидиуретического гормона и альдостерола в почках, действуя опосредованно на метаболизм электролитов. У многих видов животных пролактин способствует стимуляции и поддержанию функции желтых тел, отсюда его название «лютеотропный». Прولاктин получен в кристаллическом виде. Используется в животноводстве при пониженной секреции молочной железы коров.

### ТИРЕОТРОПИН

Тиреотропин, тиреотропный гормон (ТТГ) — сложный гликопротеин, содержащий по две  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицы, которые в отдельности биологической активностью не обладают. М. м. ТТГ = 30 тыс. Основная функция ТТГ — стимуляция синтеза и секреции йодтиронинов ( $\text{T}_3$  и  $\text{T}_4$ ) в щитовидной железе при участии цАМФ-зависимого механизма. Концентрация ТТГ регулируется тиролиберином гипоталамуса. За счет лучшего использования кислорода ТТГ вызывает дополнительно такие эффекты гормонов щитовидной железы, как усиление синтеза белков, нуклеиновых кислот, фосфолипидов. Недостаток ТТГ в организме снижает активность щитовидной железы.

### **ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩИЙ ГОРМОН**

Фолликулоstimулирующий гормон (ФСГ) относится к группе гонадотропных гормонов. ФСГ — гликопротеин, м. м. = 36–67 тыс., обеспечивает созревание фолликулов в яичниках самок и сперматогенез у самцов (рост семенных канальцев, семенников). Синтез ФСГ контролируется гонадолиберинем гипоталамуса. Особенно эффективен ФСГ при совместном действии с ЛГ, при котором они стимулируют биосинтез как женских, так и в меньшей мере выработку мужских половых гормонов.

Уровень ФСГ значительно возрастает в крови животного при кастрации. В ветеринарной практике используют аналог ФСГ — сывороточный гонадотропин крови жеребых кобыл для стимуляции овуляции у самок.

### **ЛЮТЕОНИЗИРУЮЩИЙ ГОРМОН**

Лютеонизирующий гормон (ЛГ) представляет собой гликопротеин гонадотропной группы гормонов с м. м. = 32–40 тыс. Обнаруживается в моче в первую половину беременности животного. ЛГ является основным регулятором синтеза стероидов в яичниках, в частности холестерина, прогестерона. ЛГ обеспечивает разрыв граафова пузырька и выход яйцеклетки из яичника. У самок ЛГ вызывает рост фолликулов, стимулирует овуляцию. ЛГ поддерживает также желтое тело яичников у самок, которое вырабатывает прогестерон, необходимый в течение первых недель беременности. Поэтому препараты на основе ЛГ используются для стимуляции овуляции у коров, при лечении фолликулярных кист яичников. У самцов ЛГ повышает образование тестостерона.

### **АДРЕНКОРТИКОТРОПНЫЙ ГОРМОН**

Адренкортикотропный гормон (АКТГ, кортикотропин) — полипептид, содержащий 39 аминокислотных остатков с м. м. = 4500. Его синтез находится под контролем кортиколиберина гипоталамуса. Секреция АКТГ составляет 5–25 мкг/сут, но при стрессовых ситуациях она возрастает во много раз. АКТГ регулирует рост и функции коры надпочечников, в первую очередь глюкокортикоидов. АКТГ активизирует аденилатциклазу в клет-

ках-мишенях, что приводит к превращению АТФ в цАМФ с последующей активацией специфической протеинкиназы. Последняя повышает активность холестеролэстераз, гидролизующих эфиры холестерина с его освобождением. Попадая в кровь, холестерол транспортируется переносщим белком и при участии митохондриального цитохрома Р-450 превращается в прегненолон, предшественник всех стероидов надпочечников.

АКТГ, минуя кору надпочечников, оказывает влияние на потребление глюкозы и выход жирных кислот из жировой ткани за счет повышения активности липаз. Дополнительно, под влиянием АКТГ установлено повышение активности реакций пентозофосфатного пути окисления глюкозы; при этом продукты этих реакций (молекулы НАДФН<sub>2</sub>) используются на синтез холестерола.

Интересным представляется влияние АКТГ на гонады: с одной стороны, гормон опосредованно способствует синтезу тестостерона в клетках Лейдига, а с другой стороны, он ингибирует его выделение. Этим объясняется феномен подавления секреции андрогенов у самцов в условиях нейрогенного стресса.

Повышенная секреция АКТГ часто приводит к усилению пигментации кожных покровов в результате влияния АКТГ на активность меланоцитстимулирующего гормона. АКТГ получен синтетически.

### **МЕЛАНОЦИТСТИМУЛИРУЮЩИЙ ГОРМОН**

В меланоцитах средней доли гипофиза, ответственных за синтез меланиновых пигментов, вырабатывается меланоцитстимулирующий гормон (МСГ, меланотропин). Это полипептид, содержащий от 13 до 22 аминокислотных остатков (например, α-МСГ у всех видов животных содержит 13 аминокислот, тогда как β-МСГ существенно отличается по аминокислотному составу у различных видов животных). Их синтез регулируется меланолиберином — гипоталамическим гормоном.

Эффект МСГ связан с пигментацией кожи, глаз, волос животного. Аминокислота тирозин под влиянием тирозингидроксилазы в ряде невыясненных детально последовательных реакций превращается в меланиновые пигменты. В случае генетически

обусловленной неспособности синтеза тирозингидроксилазы в меланоцитах уровень меланина снижается, что приводит к альбинизму.

Важную роль МСГ играет у рыб, рептилий и земноводных, выполняя роль цветомаскировки к условиям внешней среды. У этих видов животных клетки-меланоциты расположены на коже и в сетчатке глаз (иридофоры).

### ГОРМОНЫ ЗАДНЕЙ ДОЛИ ГИПОФИЗА

Задняя доля гипофиза, или нейрогипофиз, содержит два гормона-нонапептида — вазопрессин и окситоцин. Отнесение этих гормонов к гипофизу достаточно условное, так как они синтезируются в нейронах разных гипоталамических ядер, откуда с участием белка-транспортера нейрофизина поступают по аксонам в заднюю долю гипофиза, где и накапливаются в секреторных гранулах терминальных отделов аксонов до соответствующих импульсов, вызывающих их выброс. В крови период их полураспада составляет 2–4 мин.

Вазопрессин — циклический пептид, содержащий девять аминокислотных остатков:



Вазопрессин, получивший свое название за счет способности повышать артериальное давление в силу стимуляции сокращения гладких мышц кровеносных сосудов, известен также как антидиуретический гормон. Он активно стимулирует реабсорбцию воды в дистальных почечных канальцах. Недостаток вазопрессина как результат травмы, опухоли, инфекции вызывает развитие несахарного диабета (*Diabetes isipidus*), при котором образуется и выделяется чрезмерное количество мочи. Гормон воздействует на специальные каналы, называемые аквапорами, усиливая транспорт молекул воды из просветов канальцев в кровяное русло. Таким образом вазопрессин препятствует обезвоживанию организма.



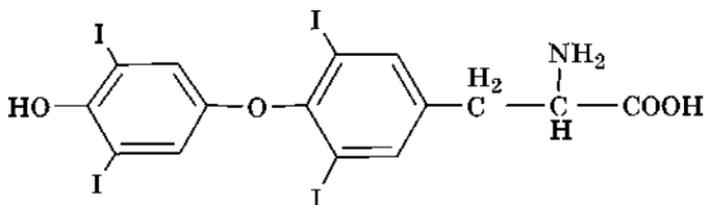
## ГОРМОНЫ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Размеры щитовидной железы у крупного рогатого скота достигают 6–7 см, масса 15–42 г. Железа синтезирует три гормона — трийодтиронин ( $T_3$ ) и тироксин ( $T_4$ ), которые по своей химической структуре являются производными аминокислоты тирозина, тогда как кальцитонин является полипептидом.  $T_3$  и  $T_4$  циркулируют в крови в соотношении 20:1 соответственно.

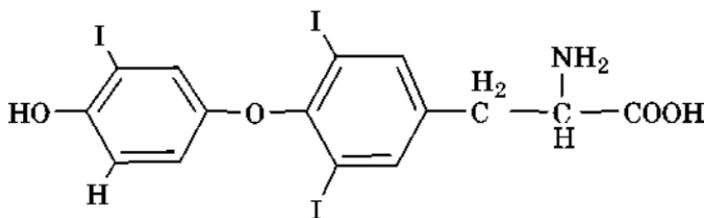
Щитовидная железа наделена в организме способностью кумулировать йод. Йод находится в основном в белке тиреоглобулине, который поступает на йодирование тирозина. Тиреоглобулин — большой гликопротеин, содержащий две полипептидные цепи, каждая имеет около 2800 аминокислот. Процесс йодирования вначале приводит к образованию монойодтирозина, затем дийодтирозина. Конденсация монойодтиромина с дийодтиронином приводит к получению  $T_3$ , а  $T_4$  — результат соединения двух молекул дийодтиромина. Около 70% йода в тиреоглобулине находится в составе неактивных моно- и дийодтироминов.

Из клеток щитовидной железы  $T_3$  и  $T_4$  поступают в кровь, где основное их количество связывается с белками, в комплексе с которыми эти гормоны транспортируются во все клетки организма, исключая мозг и семенники. Период полураспада  $T_3$  и  $T_4$  более продолжителен, чем других гормонов (для  $T_3$  — 2 дня, для  $T_4$  — 6 дней).

Необходимыми компонентами системы йодирования тирозина являются фермент тиропероксидаза и перекись водорода. Тиропероксидаза необходима для конденсации двух остатков



Тироксин ( $T_4$ )



Трийодтиронин ( $T_3$ )

йодтирозина в синтезе белок-связанных  $T_4$  и  $T_3$ . Перекись водорода в качестве окислителя необходима для тиропероксидазы, образуется за счет НАДФН и молекулярного кислорода.

Эти два гормона действуют через участие рецепторов ядра, стимулируя энергетический обмен, особенно в печени и мышцах, повышая экспрессию генов, кодирующих ключевые катаболические ферменты.

$T_3$  и  $T_4$  влияют на интенсивность метаболизма белков, жиров, углеводов, водно-минеральный обмен. Тиреоидные гормоны усиливают кишечную абсорбцию глюкозы. В обмене белков гормоны проявляют катаболическую активность в случае гипертиреоидного состояния. Под влиянием тиреоидных гормонов также усиливается использование тканями липидов и углеводов, что приводит к усилению энергетического обмена.

Тиреоидные гормоны представляют собой производное тирозина, однако, в отличие от механизма действия пептидных гормонов, они действуют иначе. Тиреоидные гормоны свободно проникают в клетку, где для них имеются рецепторы как в ядре, так и в мембране митохондрий, в белках цитоплазмы. Это и объясняет многосторонний эффект  $T_3$  и  $T_4$  на метаболические процессы.

Эпителиальные клетки щитовидной железы активно извлекают из крови неорганические йодиды, поступающие в организм с кормами и водой. Этот механизм связан с процессом активного транспорта и активностью  $Na^+-K^+-ATФ$ -азы. Отметим, что большая часть энергии, используемой клеткой, тратится на  $Na^+-K^+-ATФ$ -азный насос. Каждая клетка реагирует на гормоны щитовидной железы, усиливая при этом потребление АТФ за счет окислительного фосфорилирования. Поэтому под влиянием тиреоидных гормонов происходит усиление поглощения

клетками молекулярного кислорода, что свидетельствует об усилении основной функции митохондрий — энергетического обмена, особенно в печени и мышцах. В этом и состоит, вероятно, главная метаболическая функция тиреоидных гормонов щитовидной железы.

Тиреоидные гормоны оказывают также выраженное влияние на функции других эндокринных желез, в частности стимулируют функции коры надпочечников, нормализуют функции половых желез.

Тиомочевина, нитраты, перхлораты снижают образование тиреоидных гормонов за счет блокирования реакций окисления йода тиропероксидазой. В результате развивается гиподисфункция железы с признаками кретинизма (карликовый рост, задержка умственного развития). В этих случаях введение йода в форме йодистого калия приводит к положительным профилактическим результатам.

Нормальная функция щитовидной железы у самок важна для поддержания цикличности воспроизводства. При гиподисфункции щитовидной железы коровы не всегда приходят в охоту, телята рождаются нежизнеспособными, с низкой массой тела и нарушенным шерстным покровом, щитовидная железа увеличена в объеме.

Гипотиреоз может развиваться не только в результате болезней, связанных с нарушениями синтеза гормонов, но и по причине недостаточного поступления в организм йода с кормами и питьевой водой. Низкое содержание йода в почвах служит причиной возникновения гипотиреоза (эндемического зоба) у человека и животных.

В 1962 г. в щитовидной железе был открыт гормон тиреокальцитонин (кальцитонин), который синтезируется в К-клетках интерфолликулярных островков железы. В отличие от структуры тиреоидных гормонов, кальцитонин является полипептидом, включающим 32 остатка аминокислот с м. м. = 4500. Период полураспада кальцитонина составляет 2–15 мин.

Эффект кальцитонина не имеет ничего общего с рассмотренными тиреоидными гормонами. Синтез кальцитонина регулируется концентрацией ионизированного кальция в крови. Высокая концентрация кальция в крови вызывает усиление синтеза кальцитонина. В результате происходит нормализация

уровня минерала в кровяном русле. Таким образом, происходит регуляция по типу обратной положительной связи.

Действие кальцитонина опосредовано цАМФ. Кальцитонин угнетает остеолиз, блокирует выход кальция и фосфора из костной ткани, стимулируя при этом почечную элиминацию. Следовательно, уровень кальция в крови является определенным фактором собственной регуляции. Клинические признаки недостаточности кальцитонина у животных не выявлены.

Биотрансформация йодтиронинов в печени включает реакции дейодирования, дезаминирования, декарбоксилирования. Продукты их катаболизма конъюгируют с глюкуроновой или серной кислотами.

## ГОРМОН ПАРАЩИТОВИДНЫХ ЖЕЛЕЗ

Паращитовидные железы — небольшие эпителиальные образования, расположенные в виде двух пар на поверхности щитовидной железы. У крупного рогатого скота их размер составляет 8–12 мм. Паращитовидные железы синтезируют и выделяют паратгормон — один из основных регуляторов обмена кальция и фосфора в организме и кальцитонин.

Паратгормон — полипептид с м. м. = 9 тыс. D, содержащий 84 аминокислотных остатка, период полураспада которого составляет несколько минут, синтезируется на рибосомах главных клеток железы, в форме прогормона (90 аминокислот), который с потерей гексапептида переходит в активную форму.

Биосинтез и секреция паратгормона контролируются уровнем в крови общего и ионизированного кальция по механизму отрицательной обратной связи. Секреция гормона происходит в ответ на снижение концентрации кальция в крови.

Почки и костная ткань являются органами-мишенями для паратгормона. В их клетках локализованы специфические рецепторы, взаимодействующие с гормоном. Их взаимодействие приводит к активации аденилатциклазы с образованием цАМФ и мобилизации ионов кальция из внутриклеточных запасов.

Паратгормон оказывает прямое воздействие на функции почек, вызывая увеличение экскреции фосфора (при отсутствии паратгормона фосфор реабсорбируется почками). Увеличение

экскреции фосфора почками приводит к снижению концентрации этого элемента в крови. Дефицит паратгормона в организме снижает уровень кальция в крови.

В крови часть кальция связана с белками, другая часть (50%) находится в виде свободных ионов  $\text{Ca}^{++}$  и является физиологически активной. В костной ткани кальций находится в виде нерастворимой соли —  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . Костная ткань включает около 99% всего количества кальция в организме животного, являясь основным резервуаром для удовлетворения потребностей организма в этом элементе.

Прямым эффектом паратгормона является остеолиз. При снижении уровня кальция в крови происходит повышение секреции паратгормона; при этом усиливается выход кальция и фосфора (основного «союзника» кальция в организме) из костной ткани в кровь. Напротив, повышение уровня кальция в крови вызывает угнетение секреции паратгормона.

В остеокластах костной ткани паратгормон блокирует цикл трикарбоновых кислот на стадии образования лимонной кислоты. Сдвиг pH вследствие этого в кислую сторону активизирует фосфатазы, разрушающие фосфат кальция. Освободившийся  $\text{Ca}^{++}$  образует водорастворимые цитраты, которые вымываются из костной ткани, способствуя резорбции остеокластов. Кроме того, паратгормон усиливает транспорт ионов кальция в молоко и плаценту, а также повышает абсорбцию кальция в тонком кишечнике совместно с кальцитриолом.

Регуляция кальция во внеклеточной жидкости осуществляется кальцитонином, паратгормоном и кальцитриолом. Их органами-мишенями являются кишечник, почки, костная ткань. Паратгормон вызывает стимуляцию образования активной формы витамина D в почках  $25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$  за счет активации почечной  $1\text{-}\alpha$ -гидроксилазы. В свою очередь кальцитриол, активируя синтез Ca-связывающего белка-транспортера этого макроэлемента в стенке кишечника, стимулирует абсорбцию кальция. Увеличение концентрации кальция в крови по типу обратной связи снижает образование кальцитриола.

Хроническое увеличение уровня паратгормона в организме приводит к потере кальция костной тканью и отложению фосфата кальция в мягких тканях. При удалении парацитовидных желез у собак отмечают выраженную гипокальцемию (судорож-

ные титанические припадки) и повышение уровня фосфора в крови (нервно-мышечная возбудимость). Из паразитовидных желез крупного рогатого скота выделены полипептиды, обладающие аналогичной гормональной активностью.

## ГОРМОНЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Поджелудочная железа расположена в брыжейке двенадцатиперстной кишки. Железа осуществляет две важнейшие функции: экзокринную и эндокринную. Большая ее часть (95%) выполняет экзокринную функцию — обеспечение синтеза и секреции пищеварительных ферментов. Эндокринная функция осуществляет секрецию гормонов, участвующих в регуляции различных процессов.

Для поджелудочной железы характерным является клеточный полиморфизм. Островки Лангерганса выделяют четыре типа клеток железы, каждый из которых вырабатывает определенный гормон:  $\alpha$ -клетки (секретируют глюкагон),  $\beta$ -клетки (секретируют инсулин), D-клетки (секретируют соматостатин), F-клетки (секретируют панкреатический полипептид).

Уровень глюкозы в крови поддерживается сравнительно постоянным. Глюкоза в тканях трансформируется в глюкозо-6-фосфат, ключевой посредник, который может быть направлен на синтез гликогена, синтез энергии по пути гликолиза, на окисление по пентозофосфатному пути. Судьба глюкозо-6-фосфата определяется действием двух гормонов поджелудочной железы — инсулина и глюкагона. Высокий уровень глюкозы в крови приводит к увеличению секреции инсулина, а низкий уровень глюкозы стимулирует секрецию глюкагона.

**Инсулин.** Это первый белковый гормон, полученный в 1925 г. в кристаллическом виде и с выясненной Сэнджером Ф. (Нобелевская премия, 1958, 1981) в 1953 г. аминокислотной последовательностью. М. м. инсулина = 5800. Он синтезируется в форме проинсулина (84 аминокислотных остатка), а затем в результате протеолиза в аппарате Гольджи с отщеплением C-пептида из 33 аминокислотных остатков переходит в активную форму. Таким образом, молекула инсулина состоит из двух полипептидных цепей (A и B) с 21 и 30 аминокислотами

соответственно, связанных двумя дисульфидными связями. Из аппарата Гольджи инсулин поступает в везикулы, где связывается с цинком и депонируется в кристаллическом виде в секреторных гранулах  $\beta$ -клеток.

Под влиянием различных стимулов инсулин освобождается от цинка и поступает по системе воротной вены в печень, где часть инсулина, не разрушенного в печени, остается в свободном виде. Из печени инсулин поступает в клетки-мишени. В крови инсулин не связан с транспортными белками, а поэтому его период полураспада составляет лишь 3–5 мин.

Главным биологическим стимулятором продукции инсулина является глюкоза, вступающая во взаимодействие с рецепторами плазматической мембраны  $\beta$ -клеток. Связывание инсулина с его рецепторами на поверхности клеток-мишеней (печень, жировая ткань) без проникновения внутрь клетки вызывает образование в ней вторичных посредников, что приводит к активизации ферментов внутри клетки уже через несколько секунд или часов.

Механизм действия инсулина на обменные процессы детально еще не выяснен. При высоком содержании инсулина в крови число рецепторов гормона на поверхности мембран уменьшается и, таким образом, чувствительность тканей-мишеней к инсулину снижается. Жировая клетка, например, содержит 10 тыс. рецепторов, поэтому она более чувствительна к действию гормона, чем клетки печени.

Под влиянием притока к поджелудочной железе большого количества глюкозы секреция инсулина стимулируется: гликогенсинтаза дефосфорилируется и становится активной, а глюкоза ориентируется на синтез гликогена. Стимуляторами секреции инсулина являются также АКТГ, СТГ, глюкокортикоиды, глюкагон, аминокислоты и другие биологически активные вещества. Соматостатин является ингибитором выделения инсулина. Кроме того, в регуляции секреции инсулина принимают участие парасимпатическая (стимулирует) и симпатическая (подавляет) нервная система. Важную роль в регуляции высвобождения гормона играет блуждающий нерв.

Инсулин — единственный гормон, способный понижать уровень сахара в крови, тогда как целый ряд других гормонов в организме повышает уровень сахара в крови. Во всех органах внутри клеток концентрация глюкозы ниже, чем вне клетки.

Инсулин облегчает диффузию глюкозы и аминокислот внутрь клеток, а в клетках печени способствует усилению фосфорилирования глюкозы. В результате фосфорилирования внутри клеток поддерживается низкий уровень свободной глюкозы, что усиливает приток глюкозы внутрь клеток. Внутри клеток инсулин усиливает гликолиз, синтез липидов, белков, гликогена, ингибирует липолиз. Все это приводит к снижению концентрации глюкозы в крови животного.

Инсулин — важнейший анаболический агент в печени, жировой ткани, мышцах. Эти эффекты объясняются усилением образования АТФ, НАДФН + H<sup>+</sup>. Основным источником энергии в клетках — аэробный гликолиз, реакции которого активируются за счет влияния инсулина на клеточные ферменты этого процесса. Понижение в печени активности фермента фруктозо-1,6-дифосфатазы и пируваткарбоксилазы приводит к снижению глюконеогенеза.

Инсулин оказывает влияние на обмен липидов. Запасы липидов в организме увеличиваются за счет стимуляции транспорта глюкозы в клетки жировых депо, где глюкоза используется для синтеза триглицеридов. Инсулин ингибирует гормончувствительную липазу, которая обеспечивает гидролиз триглицеридов жировых депо, в результате уровень жирных кислот в крови снижается.

После приема животным кормов инсулин усиливает синтез жирных кислот:

- путем активации аэробного гликолиза и образования ацетил-КоА митохондрий, что повышает концентрацию в цитоплазме цитрата и ацетил-КоА;
- за счет прямой активации ацетил-КоА карбоксилазы, начального фермента синтеза жирных кислот;
- за счет усиления образования НАДФН<sub>2</sub> в пентозофосфатном пути.

Недостаток синтеза инсулина вызывает развитие в организме сахарного диабета (*Diabetes mellitus*) с признаками гипергликемии, глюкозурии, полиурии. Диабет характеризуется нарушениями метаболизма углеводов, жиров, белков. Гипергликемия при сахарном диабете связана с недостатком транспорта глюкозы внутрь клеток в силу снижения активности инсулина и высокой степени глюконеогенеза, так как действие глюкагона не сдерживается инсулином.

При инсулиновой недостаточности происходит усиление липолиза. Усиленный липолиз приводит к повышению уровня свободных жирных кислот и глицерина в крови и печени. Свободные жирные кислоты являются источником синтеза кетонных тел, которые, накапливаясь, способствуют развитию ацидоза, усиливают тканевую гипоксию. Гепатоциты инфильтрируются продуктами жирового обмена, и создаются условия для развития жировой инфильтрации печени (диабетический стеатоз).

При дефиците инсулина активируется глюконеогенез под действием глюкагона и гликогенолиз. Для синтеза глюкозы используются аминокислоты, образующиеся при усилении распада тканевых белков, в результате уровень белков в тканях снижается. В процессе глюконеогенеза активно используется аланин, поэтому в крови увеличивается содержание аминокислот с разветвленной цепью (валин, лейцин, изолейцин), утилизация которых мышечной тканью снижается. Таким образом, возникает гипергликемия и накопление продуктов распада белков — мочевины, азота, развивается гиперазотемия.

Инсулин также оказывает влияние на процессы репликации и транскрипции более чем 100 специфических мРНК в печени, сердечной и скелетных мышцах, жировой ткани, участвуя таким образом в клеточной пролиферации и дифференцировке. Инсулин ускоряет фосфорилирование белков, которые регулируют транспорт метаболитов и транскрипцию более 60 генов.

Вследствие гипергликемии происходит перераспределение воды в тканях, выход жидкости из клеток в кровяное русло, что приводит к тканевой дегидратации. Повышение уровня жирных кислот в печени вызывает усиление синтеза триглицеридов, липопротеинов, провоцируя ожирение печени.

В норме инсулин способствует транспорту аминокислот в клетки и синтезу белков. Однако у диабетиков повышение уровня аланина способствует усилению глюконеогенеза и гипергликемии. Повышение использования аминокислот приводит к увеличению синтеза мочевины в печени. В конечном счете усиление катаболизма аминокислот приводит к отрицательному азотистому балансу. При введении в организм инсулина указанные нарушения исчезают. При этом следует учитывать, что действие гормона по времени ограничено.

В настоящее время инсулин синтезирован химическим путем и методом геной инженерии. Препараты инсулина получают из поджелудочных желез свиней и крупного рогатого скота. По аминокислотному спектру из инсулинов животного происхождения наиболее близки к человеческому свиной и китовый инсулины, обладающие меньшей антигенной активностью. Человеческий инсулин впервые был получен в 1965 г., а его промышленный синтез осуществлен в 1980 г. Сегодня существуют два способа промышленного получения инсулина: биосинтетический и полусинтетический. Биосинтетический инсулин синтезирован путем геной инженерии (с использованием *E. coli*), а полусинтетический препарат получают путем замены аланина в 30-ом положении В-полипептидной цепи молекулы инсулина свиньи на треонин.

По продолжительности действия инсулины подразделяются на инсулины короткого (6–8 ч), промежуточного (10–12 ч) и длительного действия (8–22 ч). К наиболее частым осложнениям, вызываемым введением инсулина, относятся гипогликемия, аллергические реакции. Явления гипогликемического шока наступают при снижении концентрации глюкозы в крови человека до 45–50 мг%.

**Глюкагон.** Это полипептид,  $M_r = 3600–4200$ , содержит 29 аминокислотных остатков. Синтезируется в  $\alpha$ -клетках островков Лангерганса в форме проглюкагона в ответ на низкий уровень глюкозы в крови. В крови глюкагон не связан с белками-транспортёрами и период его полураспада составляет 3–5 мин. Печень и почки быстро инактивируют глюкагон. Клетки печени — основные мишени глюкагона. Действие глюкагона прямо противоположно эффектам инсулина.

Первостепенное действие глюкагона — активация цАМФ-зависимой фосфорилазной системы печени с превращением гликогена в глюкозу, которая поступает в кровь. Клетки печени содержат фермент глюкозо-6-фосфорилазу и могут обеспечивать поступление свободной глюкозы в кровь. Мышечная и другие ткани имеют дефицит этого фермента, а поэтому не способны к «экспорту» глюкозы. Глюкагон также усиливает глюконеогенез в печени за счет активации ряда ферментов и увеличения в печени концентрации предшественников глюкозы.

Глюкагон снижает активность пируваткиназы и ацетил-КоА-карбоксилазы, стимулирует цАМФ-зависимую липазную активность в клетках жировой ткани, печени с превращением триглицеридов в свободные жирные кислоты и глицерин, что способствует усилению синтеза кетоновых тел. Таким образом глюкагон стимулирует липолиз.

Под влиянием глюкагона происходит угнетение синтеза белка и усиление его распада, поэтому значительная часть свободных аминокислот вовлекается в глюконеогенез. Высокое отношение глюкагон:инсулин в крови повышает уровень глюконеогенеза и снижает активность гликолиза в печени. Низкое отношение глюкагон:инсулин имеет обратный эффект.

**Соматостатин.** Впервые выделен из гипоталамуса. Это циклический пептид из 14 аминокислотных остатков, синтезируемый также  $\beta$ -клетками поджелудочной железы в виде прогормона из 28 аминокислот. В настоящее время синтез соматостатина установлен и в разных отделах пищеварительного тракта.

Механизм действия соматостатина выяснен недостаточно. Вероятно, его эффекты связаны с блокированием поступления в клетки железы  $Ca^{++}$ , необходимого для секреции других гормонов поджелудочной железы. Соматостатин подавляет эффекты инсулина и глюкагона, тормозит секрецию гастрина и ферментов поджелудочной железы. Соматостатин снижает абсорбцию глюкозы в кишечнике, регулируя таким образом концентрацию сахара в крови. Соматостатин также блокирует высвобождение соматотропина гипофизом. Следует считать, что эффекты соматостатина проявляются не в подавлении синтеза других гормонов, а в торможении их секреции в кровь.

**Панкреатический полипептид.** Он включает 36 аминокислотных остатков, м. м. = 4200, синтезируется F-клетками поджелудочной железы. Панкреатический полипептид способен расщеплять гликоген подобно глюкагону, активизировать ферменты поджелудочной железы и желудка. Можно полагать, что клетками-мишенями для этого гормона являются клетки всех отделов желудочно-кишечного тракта. Биохимические процессы, связанные с панкреатическим полипептидом, не изучены. При сахарном диабете выявлена гиперплазия синтезирующих полипептид клеток.

## ГОРМОНЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ

С точки зрения эндокринологии, надпочечники представляют собой две самостоятельных в морфологическом и функциональном отношении железы внутренней секреции (корковый слой и мозговое вещество), которые объединены в одном органе.

Кора надпочечников синтезирует более 50 различных стероидных структур (кортикостероидов), являющихся производными холестерина, но только отдельные из них обладают биологической активностью. Часть стероидных структур поступает в железу в виде ЛПНП или ЛПВП, синтезируемых в печени. Около 25% всего количества синтезируемого холестерина в печени животного поступает на синтез стероидных гормонов в коре надпочечников и половых желез.

Стероидные гормоны играют исключительно важную роль в росте, развитии, регуляции метаболизма организма. В отличие от биологически активных белковых гормонов, стероидные гормоны практически нерастворимы в воде, они используются после синтеза и не запасаются в клетках.

Концентрация стероидных гормонов в плазме в определенный момент представляет собой разницу между уровнем образования и секреции гормона эндокринной железой и уровнем их метаболизма в печени и экскреции почками. Период полураспада стероидов в крови составляет от 30 до 90 мин. Печень является основным органом катаболизма стероидных гормонов. Их метаболиты конъюгируют с глюкуроновой или серной кислотами и поступают в кровь, а почки быстро экскретируют их в мочу.

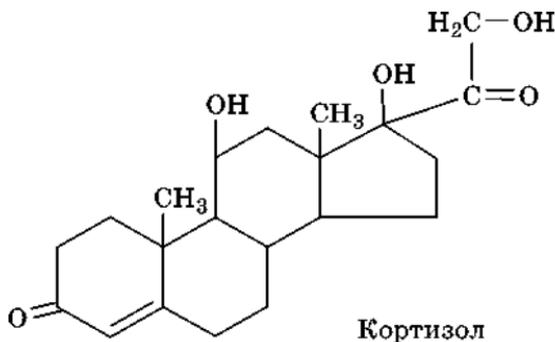
Для стероидных структур коры надпочечников, обладающих биологической активностью, общим свойством строения является, как правило, наличие 21 углеродного атома и гидроксила при  $C_{11}$ . Количество холестерина, конвертируемое в митохондриях в прегненолон, регулируется АКТГ в коре надпочечников и ЛТ в интерстициальных клетках семенников и яичников. При участии различных гидроксилаз, дегидрогеназ, изомераз, лиаз, НАДФН и  $O_2$ , их набора в клетке происходит синтез того или иного стероидного гормона.

Различают три группы биологически активных кортикостероидов: глюкокортикоиды, минералокортикоиды и андрогены.

**Глюкокортикоиды** — стероиды, имеющие гидроксил в положении  $C_{17}$  структуры, что указывает на наличие глюкокортикоидной активности соединения или участия в первую очередь в углеводном обмене. К ним относятся: кортизол (80%), кортизон, кортикостерон. Небольшая часть кортизола в печени конвертируется в кортизон.

Важнейший эффект глюкокортикоидов — стимуляция глюконеогенеза. Они повышают уровень глюкозы в крови и накопление гликогена в печени. Использование глюкозы мышечными клетками угнетается кортизолом. Этот эффект кортизола противоположен действию инсулина, который повышает проницаемость мембран мышечных клеток для глюкозы и аминокислот. Как результат активности кортизола, аминокислоты периферических тканей превращаются в кетокислоты, и через реакции глюконеогенеза происходит усиление синтеза глюкозы, часть которой используется на синтез гликогена. Синтез кортизола регулируется по типу обратной связи с участием гипоталамуса. При снижении уровня кортизола в крови гипоталамус секретирует кортиколиберин — фактор, стимулирующий секрецию гипофизом АКТГ, который, в свою очередь, стимулирует секрецию кортизола в надпочечниках. Стрессовые ситуации также вызывают освобождение кортиколиберина, который вызывает реакции, повышающие секрецию кортизола.

Повышение уровня глюкозы в крови связано также с усилением синтеза катехоламинов (гормонов мозгового вещества надпочечников) под влиянием глюкокортикоидов.



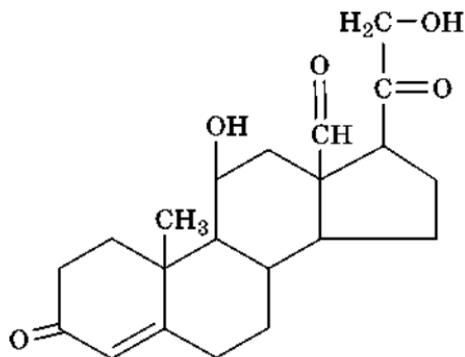
Имеются сообщения, свидетельствующие об участии глюкокортикоидов в регуляции пролиферативных процессов и активности иммунной системы. Сегодня имеется много аналогов кортизола, используемых в клинической практике в качестве противовоспалительных средств при местном применении.

Следует указать, что на каждом уровне каскада гормональных реакций небольшой сигнал вызывает больший ответ. Так, начальный электрический сигнал в гипоталамусе приводит к высвобождению нескольких нанограммов кортикотропин-рилизинг-гормона, который вызывает высвобождение нескольких микрограммов кортикотропина гипофиза. Кортикотропин, действуя на кору надпочечников, приводит к получению миллиграммов кортизола.

**Минералокортикоиды.** Наиболее значимые представители — альдостерон (имеет альдегидную группу в  $C_{13}$  положении), дезоксикортикостерон. Основная функция минералокортикоидов — регуляция гомеостаза  $Na^+$  и  $K^+$ . По влиянию на минеральный обмен альдостерон в 50–100 раз активнее кортикостерона и почти в 300 раз — кортизола. В продукции альдостерона участвует система «ренин — ангиотензин»,  $K^+$ , АКТГ. Увеличение в крови уровня калия усиливает секрецию альдостерона. Альдостерон не связан в крови с белком, а поэтому быстро удаляется через почки из организма. Мишенью действия альдостерона являются дистальные участки почечных канальцев с реабсорбцией  $Na^+$ , которая сопровождается удалением через почки  $K^+$ ,  $Ca^{++}$ ,  $H^+$ ,  $NH_4^+$ . При этом происходит и повышение абсорбции натрия в кишечном тракте, и выход его из соединительной ткани. Костная ткань теряет кальций, так как интенсивность синтеза белка снижается, а коллаген является инициатором формирования минерального кристалла кости. При недостатке белка кальций усиленно выделяется с мочой.

При недостатке минералокортикоидов наблюдается обратный процесс — снижение концентрации в крови натрия и увеличение концентрации калия и кальция. Реабсорбция натрия сопровождается возрастанием объема циркулирующей крови и уровня артериального давления, а значит, минералокортикоиды являются регуляторами объема внеклеточной жидкости.

Мозговой слой надпочечников является продолжением симпатической нервной системы — это специализированный



Альдостерон

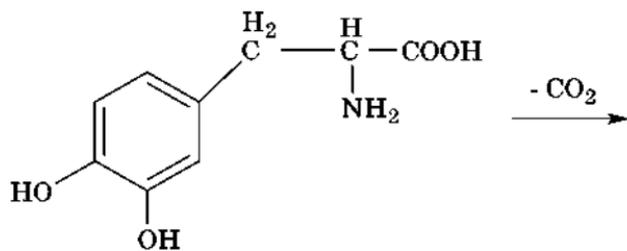
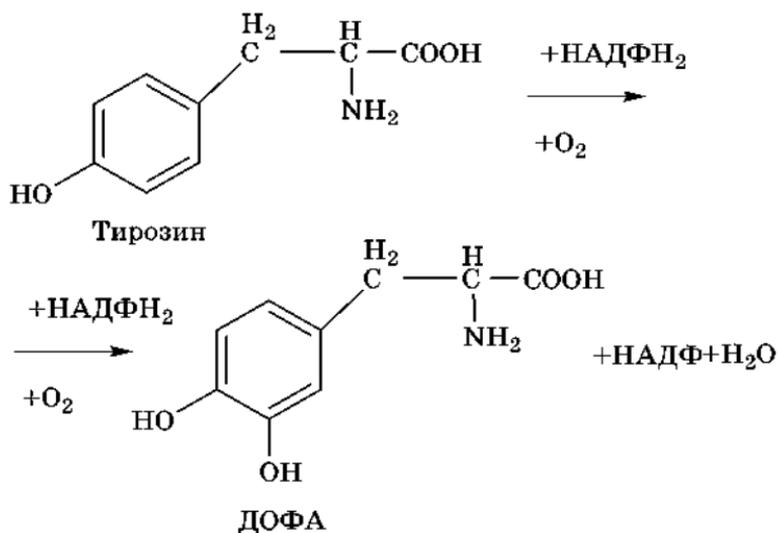
ганглий, лишенный продолжения в виде аксона. В хромоаффинных клетках мозгового вещества надпочечников и адренэргических симпатических волокнах постганглионарных нейронов синтезируются гормоны — адреналин и норадреналин. Оба являются производными аминокислоты тирозина. Путем метилирования норадреналин переходит в адреналин. В своей структуре они содержат 3,4-диоксифенольное кольцо (катехоловое), а поэтому названы катехоламинами.

Катехоламины синтезируются также в мозге и в других областях нервной системы, действуя как нейромедиаторы. Подобно белковым гормонам, катехоламины концентрируются внутри секреторных гранул и реализуются посредством экзоцитоза, действуя через рецепторы плазматических мембран и внутриклеточные вторичные сигнальные посредники.

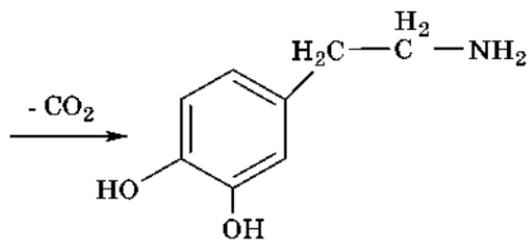
#### СХЕМА ПРЕВРАЩЕНИЯ ТИРОЗИНА В СТРУКТУРЫ КАТЕХОЛАМИНОВ

Из крови катехоламины поступают в различные органы и взаимодействуют с рецепторами клеток-мишеней. Такими мишенями для катехоламинов являются мышцы, печень, сердце, матка, слюнные железы. Последние отвечают на введение адреналина увеличением секреции амилазы. В крови катехоламины связываются с альбумином, но период их полураспада составляет лишь 10–30 с.

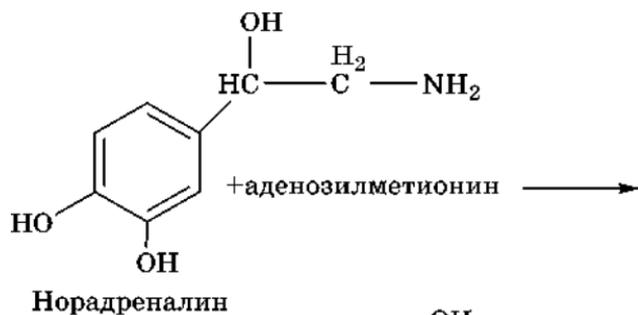
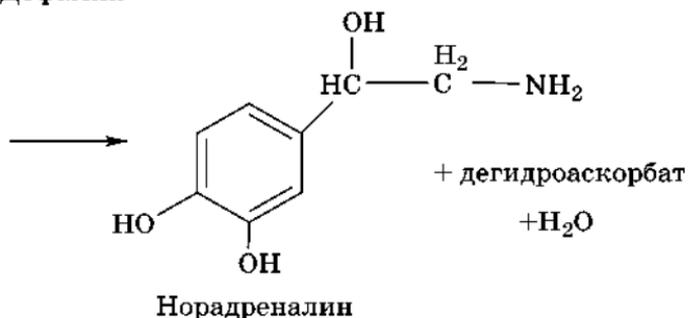
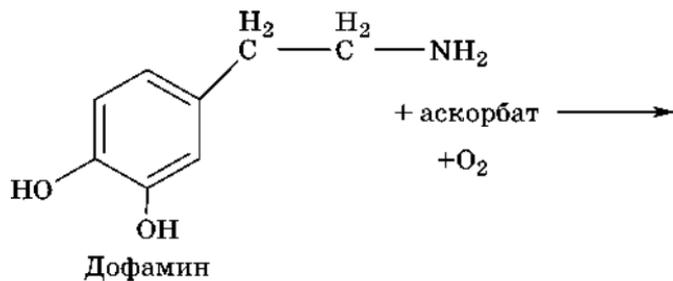
На долю адреналина приходится около 80% всех катехоламинов, которые синтезируются также в симпатической нервной



ДОФА



Дофамин



системе и поэтому рассматриваются как симпатомиметические нейромедиаторы. При этом симпатические нервы являются основным источником норадреналина крови.

В норме уровень катехоламинов в крови низкий, однако при эмоциональных возбуждениях, физических нагрузках их концентрация резко возрастает, обеспечивая таким образом мобилизационную готовность организма, защитные реакции. Катехоламины обеспечивают первую линию защиты к стрессам, реакцию «борьбы и бегства». Активность мозгового вещества надпочечников находится под контролем нервной системы. Спокойные животные секретируют в основном адреналин (кролик, морская свинка), тогда как животные агрессивные (лев, кошка домашняя) секретируют норадреналин.

Выраженный эффект адреналин проявляет на углеводный обмен, повышая концентрацию глюкозы и молочной кислоты в крови. Это объясняется усилением распада гликогена в печени, когда образующийся при этом глюкозо-6-фосфат под влиянием фосфатазы распадается до свободной глюкозы.

В мышцах эффект адреналина особенно ярко проявляется в ускорении гликогенолиза с накоплением лактата, который частично поступает в печень, конвертируясь в гликоген. Гликоген распадается до глюкозы, повышая ее концентрацию в крови.

Адреналин мобилизует гликоген печени по крайней мере тремя различными механизмами. Во-первых, через стимуляцию глюкагона. Во-вторых, адреналин связывается с рецепторами на поверхности клеток печени, что приводит к образованию цАМФ. Гормон не поступает в клетки печени, а все его эффекты опосредованы цАМФ. Адреналин служит, как и глюкагон, первым сигнальным посредником (от одной клетки к другой), а цАМФ выступает в роли второго сигнального посредника (внутри клетки). Повышение активности аденилатциклазы приводит к повышению уровня цАМФ. В процессе активации аденилатциклазы необходимо дополнительное участие ГТФ. Гуанил-нуклеотид — связывающий белок является посредником в процессе активации и получил название G-белка. Вероятно, активированный рецептор стимулирует G-белок, который и передает стимулирующий сигнал на аденилатциклазу.

В-третьих, мембраны клеток печени имеют особые места связывания адреналина —  $\alpha$ -адренэргические рецепторы.

Взаимодействие адреналина с этими рецепторами приводит к образованию инозитолтрифосфата, который стимулирует реализацию  $\text{Ca}^{++}$  из внутриклеточных запасов (эндоплазматический ретикулум), что вызывает активацию различных фосфорилаз, прежде всего фосфоорилазы гликогена.

В скелетных мышцах адреналин создает условия для повышения уровня глюкозо-6-фосфата, необходимого для гликолиза. АТФ, получаемый в результате гликолиза, используется затем в обменных процессах при стрессовых ситуациях животного.

Адреналин и норадреналин значительно стимулируют распад гликогена в мышцах и в меньшей мере в печени. Печень более чувствительна к действию глюкагона. Адреналин также стимулирует секрецию глюкагона и угнетает секрецию инсулина. Адреналин и норадреналин в равной степени увеличивают содержание в крови свободных жирных кислот, но резкое повышение содержания глюкозы и лактата характерно только для адреналина. Норадреналин стимулирует секрецию АКТГ в передней доле гипофиза. Различия эффектов адреналина и норадреналина объясняются тем, что адреналин оказывает влияние на  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторы различных тканей, тогда как влияние норадреналина распространяется лишь на  $\alpha$ -рецепторы.

Адреналин усиливает и учащает сердечные сокращения, повышает артериальное давление, расслабляет гладкую мускулатуру бронхов, кишечника, расширяет сосуды малого круга кровообращения, но суживает сосуды кожи, слизистых оболочек и органов брюшной полости.

Распад катехоламинов происходит в печени за счет реакций метилирования, окислительного дезаминирования, синтеза парных соединений с серной и глюкуроновой кислотами, выводимых из организма с мочой.

## ПОЛОВЫЕ ГОРМОНЫ

Половые железы (яичники у самок и семенники у самцов) синтезируют, как и кора надпочечников, множество стероидных структур. В отличие от кортикостероидов, в их структурах полностью отсутствует боковая углеродная цепь. Следует отметить, что в женских половых железах имеет место незначительный синтез мужских половых гормонов, а в муж-

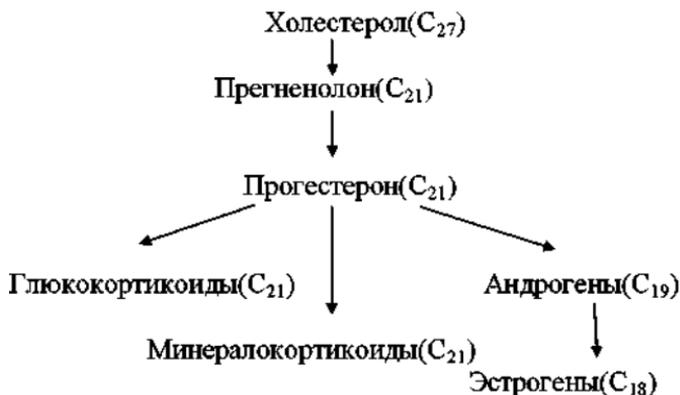


Рис. 6

*Схема превращения холестерина в биосинтезе стероидных гормонов*

ских половых железах синтезируются некоторые количества женских половых гормонов.

Все кортикоиды и половые гормоны, как мужские, так и женские, синтезируются из холестерина (рис. 6).

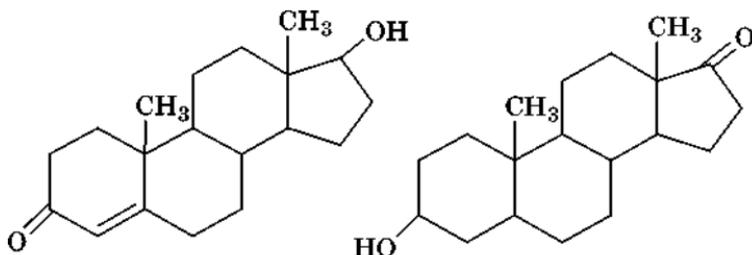
Основная функция половых гормонов — обеспечение роста, развития, регуляция репродуктивной системы. Половые гормоны классифицируются в соответствии с их биологической активностью. Андрогены — мужские половые гормоны, их структура включает 19 атомов углерода. Эстрогены — женские половые гормоны, их структура включает 18 атомов углерода и одно ароматическое ядро, а также прогестерон, представляющий собой  $C_{21}$ -стероид.

### **МУЖСКИЕ ПОЛОВЫЕ ГОРМОНЫ**

Андрогены продуцируются в основном в клетках Лейдига семенников (95%), в небольшом количестве — в яичниках, в коре надпочечников животных обоих полов. Андрогены влияют на развитие, поддержание и функции мужских репродуктивных органов, на развитие вторичных половых признаков. Андрогены оказывают широкое влияние на весь организм, а также на отдельные специфические ткани. Они проявляют выраженную анаболическую активность, приводящую к усвоению азота, увеличению мышечной и костной ткани.

Андрогены участвуют в формировании костной ткани и прекращении роста костей после полового созревания. Влияя на нервную систему, андрогены определяют характерное половое поведение. Рецепторы для андрогенов содержатся в семенниках, предстательной железе и ряде других органов.

Основной мужской половой гормон — тестостерон (от *лат. testis*), а из мочи самцов выделяют андростерон, который является продуктом распада тестостерона.



Тестостерон

Андростерон

Синтез тестостерона осуществляется из холестерина, поступающего из плазмы в составе ЛПНП, или синтезируется в самих железах. Транспорт тестостерона к органам-мишеням осуществляется специальным бета-глобулином крови. Синтез и выделение андрогенов железами происходят непрерывно. Тестостерон значительно активнее андростерона и, как другие стероидные гормоны, легко проникает через мембрану клетки, связывается с цитоплазматическими рецепторами и в виде гормон-рецепторного комплекса достигает ядра клетки. Тестостерон крови следует рассматривать как прогормон, так как он превращается в активное соединение — 5- $\alpha$ -дигидротестостерон в различных тканях (например, в предстательной железе) вне семенников.

Андрогены участвуют в половой дифференцировке, сперматогенезе, в регуляциях генов, анаболических процессах. Андрогены оказывают влияние на мозг, приводящее к характерному сексуальному поведению самцов. Выраженным эффектом андрогенов в метаболизме является повышение активности синтеза белков, роста костей. Недостаток активности тестостерона

приводит к снижению синтеза белков тканей, ожирению, утрачивается волосяной покров. Функции семенников находятся под контролем ЛГ и ФСГ передней доли гипофиза. В семенниках при участии тестостерона вырабатываются также 17-эстрадиол и прогестерон, женские половые гормоны. Поэтому эффекты тестостерона связаны не только с ним самим, но и с семейством его метаболитов.

Печень является основным органом метаболизма тестостерона. Период полураспада андрогенов составляет около 20 мин. Продукты их распада конъюгируют и экскретируются через почки в виде сульфатов и глюкуронидов.

Получил распространение в практике лечения недостаточностей мужских половых желез препарат метилтестостерон. Тестостерон — пропионат — эфир тестостерона, обладает более длительным биологическим действием, чем нативный гормон, так как медленнее рассасывается в тканях.

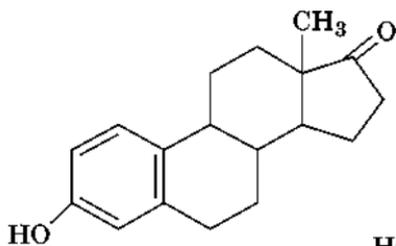
## **ЖЕНСКИЕ ПОЛОВЫЕ ГОРМОНЫ**

Женские половые гормоны — эстрогены и прогестерон, их синтез протекает в яичниках, плаценте, надпочечниках в возрастающих количествах во второй половине беременности и носит циклический характер. Эстрогены — эстрон, эстрадиол и эстриол; для их структур характерным является наличие фенольного кольца с гидроксигруппой в положении 3 и метильной группой в положении 18.

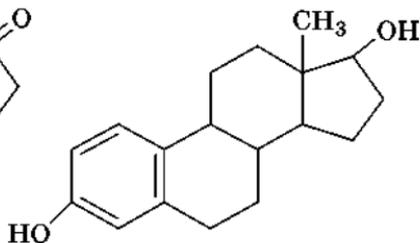
Наиболее активные эстрогены (от *греч.* oistros — страстное влечение) — эстрадиол, эстрон — образуются в яичниках, а плацента синтезирует как эти стероиды, так и эстриол.

Основная функция гормонов яичников — подготовка женской половой системы к размножению: созревание примордиальных зародышевых клеток, развитие тканей для имплантации бластоцисты, контроль времени овуляции, обеспечение регуляции родов и лактации. Они способствуют также росту и дифференцировке молочных желез, синтезу белков, задержке воды в тканях и определяют телосложение женского типа.

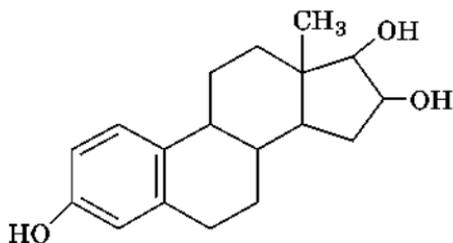
Эстрогены оказывают эффекты на основные обмены веществ организма, включая усиление липогенеза в жировой ткани, синтез ряда белков и мРНК в печени, включая трансферрин,



Эстрон



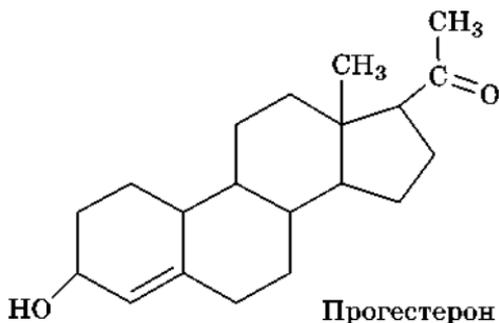
Эстрадиол



Эстриол

церулоплазмин. Эстрогены регулируют транскрипцию структурных генов, индуцируя синтез около 50 различных белков. Эстрогены, подобно андрогенам, оказывают влияние на формирование костной ткани, на сердечно-сосудистую систему, процесс свертывания крови. Места рецепторов для эстрадиола выявлены в матке, влагалище, молочной железе, мозге и в других тканях-мишенях. Образование эстрогенов находится под контролем гипоталамуса, ФСГ и ЛГ передней доли гипофиза.

Другим женским половым гормоном является прогестерон, продукцию которого стимулирует только ЛГ. Это гормон желтого тела яичника и плаценты. Повышение секреции ЛГ приводит к овуляции — освобождению яйцеклетки из разорванного фолликула, после чего клетки гранулы конвертируются в желтое тело, которое начинает секретировать эстрадиол и основной гормон лютеиновой фазы — прогестерон. В начале беременности желтое тело секретирует прогестерон, но во второй стадии беременности прогестерон в основном продуцируется плацентой. В случае если оплодотворения не происходит, жел-



тое тело разрушается и снижается продукция стероидов яичниками.

Прогестерон необходим для фиксации оплодотворенного яйца к слизистой матки и для развития эмбриона в первой половине беременности, стимулирует развитие ткани молочной железы. Органом-мишенью для прогестерона является и яйцевод кур, где он стимулирует синтез специфического белка — авидина. В период беременности холестерол крови является основным предшественником прогестерона в плаценте.

После овуляции на месте лопнувшего фолликула развивается желтое (лютеиновое) тело — временный эндокринный орган. Основная его функция — секреция прогестерона — гормона, поддерживающего беременность. У самок с различными видами половой цикличности желтое тело развивается после овуляции независимо от того, наступила беременность или нет. В связи с этим различают желтое тело беременности и желтое тело полового цикла. В обоих случаях лютеиновые клетки секретируют прогестерон, но отличается период существования желтого тела. Так, во время плодоношения этот временный орган функционирует вплоть до родов; при отсутствии беременности после пикового развития происходит его быстрая редукция. Время функционирования желтого тела полового цикла зависит от продолжительности последнего. Так, у коровы в среднем половой цикл возобновляется через 21 день, и желтое тело существует порядка 10 дней, т. е. половину цикла. Поэтому в разные фазы полового цикла концентрация прогестерона в крови значительно изменяется. Максимальные концентрации этого гормона выявляются после овуляции; в период угасания

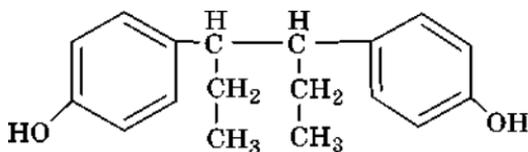
желтого тела уровень прогестерона постепенно снижается и достигает минимума в период диэструса, когда организм готовится к следующей течке. Измерение концентрации этого гормона проводят для диагностики беременности у полициклических животных (крупный и мелкий рогатый скот, лошади).

У нестельной коровы продукция прогестерона в крови в среднем составляет 3–5 мг в сутки, тогда как в конце беременности его уровень достигает 30–50 мг в сутки. Поэтому прогестерон рассматривается как гормон беременности. В плазме крови прогестерон циркулирует в виде комплекса с белком транскортином.

Мишенью для прогестерона являются и клетки молочной железы. Прогестерон тормозит синтез основных белков молока (казеина и альфа-лактальбумина). Это доказывается быстрым повышением синтеза белков молока после отторжения плаценты при родах, когда концентрация прогестерона резко снижается.

Во время беременности животного функционирует плацента, которая продуцирует хорионический гонадотропин, гликопротеин с молекулярной массой 100 тыс. Он обладает активностью ЛГ, но имеет иную аминокислотную последовательность и иммунологически отличается от ЛГ. Его основная функция — поддержка желтого тела до тех пор, пока плацента не начнет синтез прогестерона.

Определенные количества эстрогенов и прогестерона имеются в жировой ткани. Эти стероиды имеют также явную печеночно-кишечную циркуляцию. Они быстро появляются в желчи в конъюгированной форме и подобно холестерину поступают в кишечник, реабсорбируясь через воротную вену обратно в печень. В отличие от этих гормонов, андрогены и адrenoкортикоиды экскретируются в восстановленной форме в мочу.



Синэстрол

Для получения женских половых гормонов используют мочу жеребых кобыл, которая является наиболее богатым источником эстрадиола. В ветеринарной практике находят применение синтетический препарат синэстрол, обладающий эстрогенной активностью, для ускорения отделения последа у коров и при лечении эндометритов.

## БИОХИМИЯ ГОРМОНАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ТИМУСА

Тимус (вилочковая железа) — эпителиально-лимфоидный орган, состоящий из трех слоев: наружный субкапсулярный, корковый и мозговой. В тимусе из поступающих в него стволовых клеток костного мозга дифференцируются и созревают субпопуляции Т-лимфоцитов, обладающих хелперной, супрессорной или киллерной активностью. В процессе пролиферации и дифференцировки под влиянием веществ, выделяемых тимусом, образуются вначале предшественники — лимфоциты тимуса, а из них — Т-лимфоциты, поступающие в кровь.

Для созревания тимоцитам необходимо микроокружение, или физический контакт с различными нелимфоидными клетками тимуса, в частности с эпителиальными клетками-кормилицами, которые обнаруживаются как в корковом, так и в мозговом слое. Именно эти эпителиальные клетки служат источником сигналов, обеспечивающих селекцию клонов тимоцитов. Окончательно сформировавшиеся тимоциты способны узнавать антигены, иметь рецепторы, необходимые для межклеточных коопераций, и выполнять основные функции Т-лимфоцитов.

Посредством выделения медиаторов или индуцирования их синтеза Т-клетки определяют степень интенсивности клеточных иммунных реакций. Принимая участие и в регуляции синтеза антител, Т-лимфоциты, таким образом, представляют центральное звено в иммунологических реакциях организма животного. Из тимуса выделены пять биологически активных факторов: тимозин, гомеостатический тимусный гормон, тимопоэтин I, тимопоэтин II, тимусный гуморальный фактор. Определена их молекулярная масса, химическая структура. Все они оказались белками. Эти гормоны влияют на скорость развития и созревания лимфоидных клеток. Так, тимозин участвует в превращении

стволовых лимфоидных клеток в иммунокомпетентные Т-лимфоциты. В присутствии тимозина и антигенной стимуляции появляются «обученные» Т-лимфоциты. Тимопоэтин I и тимопоэтин II индуцируют дифференциацию Т-клеток, способствуют их созреванию и обучению в тимусе, усиливают активность лимфоцитов на различные митогены. Нарушения функции тимуса в раннем постнатальном периоде приводят к ослаблению или отсутствию как клеточного, так и гуморального иммунитета.

Выработка гормонов тимусом контролируется непосредственно гипофизом или косвенно через гормоны щитовидной железы, коры надпочечников, половые гормоны. Следует учитывать, что лимфоидная ткань является мишенью не только для гормонов тимуса, но и для гормонов ряда других эндокринных желез. Поэтому при удалении тимуса во взрослом организме нарушения иммунологической реактивности наблюдаются через значительный промежуток времени.

Наличие в тимусе нескольких гормонов объясняется тем, что популяция лимфоидных клеток неоднородна и разные гормоны оказывают влияние на определенный подкласс этих клеток. Вероятно, что каждый гормон тимуса имеет свою специфичность на клетки-мишени.

В настоящее время ряд биологически активных препаратов, полученных из тимуса (тималин), или их синтетические аналоги (тимоген) успешно используются в ветеринарной практике для коррекции тимусзависимых первичных и вторичных иммунодефицитных состояний животных.

## ГОРМОНЫ ДИФFUЗНОЙ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ

Синтез гормонов происходит и в органах, которые обычно не включаются в число эндокринных. Так, желудочно-кишечный тракт богат специализированными эпителиальными клетками, содержащими большое число различных биологически активных аминов или пептидов. Пептиды локализуются в гранулах, откуда выходят в интерстициальное пространство. Поэтому эти эпителиальные клетки классифицируются как эндокринные. Так, желудочно-кишечный тракт животного секретирует четыре основных пептидных гормона: гастрин,

соматостатин, секретин, холецистокинин. Желудочно-кишечный тракт содержит значительную часть всех гормонообразующих клеток организма, однако они не сконцентрированы, а разбросаны среди других клеток на всем протяжении тракта. Такое расположение имеет определенное значение, обеспечивая согласованную функцию различных отделов пищеварительной системы. Гастрин — мелкий пептидный гормон, состоящий из 17 (гастрин 17) или 34 (гастрин 34) аминокислот, вырабатывается слизистой оболочкой пилорической части желудка. Активная часть структуры гастринина включает лишь пять аминокислот, поэтому искусственный «пентагастрин» может использоваться для стимуляции секреции HCl и пепсина в желудке. Гастрин находят в G-клетках желудка и двенадцатиперстной кишки, но он может быть секретируем неопластическими клетками поджелудочной железы, вызывая синдром повышения кислотности.

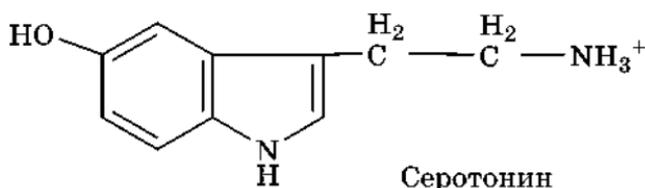
Мишенью действия гастринина служат обкладочные клетки слизистой оболочки желудка. Гастрин стимулирует секрецию соляной кислоты, индуцируя синтез фермента гистидиндекарбоксилазы, который превращает гистидин в гистамин. Гистамин активирует фермент АЦ с образованием цАМФ, который действует на протеинкиназу. Протеинкиназа, в свою очередь, фосфорилирует карбоангидразу, участвующую в образовании соляной кислоты. Однако следует полагать, что механизм действия гастринина более сложен и не может быть объяснен исключительно образованием гистамина. Гастрин стимулирует секрецию уже рассмотренных выше гормонов — инсулина, глюкагона и кальцитонина.

G-клетки слизистой желудка тесно связаны с клетками, продуцирующими соматостатин — ингибирующий фактор секреции гастринина. Стимуляция этих клеток, например холецистокинином, происходит по принципу обратной связи и блокирует высвобождение гастринина. Поступление белковых компонентов корма в желудок вызывает секрецию гастринина. Период полураспада гастринина составляет 6–15 мин. Гастрин является медиатором физиологических реакций начальной стадии переваривания кормов в ответ на нервные и химические стимулы. При очень выраженной кислотности среды желудка продукция гастринина снижается.

Антагонистом гастрина является секретин — гормон слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки. Этот гормон — пептид из 27 аминокислотных остатков, влияет на секрецию сока поджелудочной железы, богатого  $\text{NaHCO}_3$ . Бикарбонат натрия необходим для нейтрализации  $\text{HCl}$  желудочного сока, поступающей в двенадцатиперстную кишку, способствует выделению сока с обычным электролитным составом, но с недостаточной ферментативной активностью. Инициатором выделения секретина является наличие кислого содержимого в двенадцатиперстной кишке. Аналогичным эффектом обладает и соматостатин. Секретин действует синергически с холецистокинином.

Клетки двенадцатиперстной кишки наряду с секретинном выделяют и белковый гормон холецистокинин. Этот гормон стимулирует выработку сока, богатого ферментами. Кроме того, он способствует сокращению желчного пузыря, выделению инсулина и глюкагона, стимулирует сокращение желудка и перистальтику кишечника. Выработка холецистокинина происходит в ответ на поступление в просвет двенадцатиперстной кишки липидов, полипептидов и аминокислот.

Отдельные биогенные амины (гистамин, серотонин) пищеварительного тракта также являются стимуляторами секреции пищеварительного тракта. Например, серотонин присутствует в сравнительно больших количествах в желудочно-кишечном тракте, где вовлекается в стимуляцию секреции  $\text{NaCl}$  слизистой тонкой кишки.



Многие ткани организма животного в дополнение к эндокринным железам, печени, почкам содержат ферменты, которые метаболизируют стероиды. Эти ферменты являются дегидрогеназами и гидроксилазами. Так, превращение тестостерона в 5- $\alpha$ -дигидротестостерон осуществляется 5- $\alpha$ -редуктазой, а конверсия тестостерона в эстрадиол связана с ферментным комп-

лексом ароматазы. Эти реакции имеют место в коже, жировой ткани, мозге.

Наличие тесной связи между гипоталамо-гипофизарной системой, другими эндокринными железами и органами-мишенями, где непосредственно под влиянием гормонов или с помощью веществ-интермедиаторов изменяется ферментативная активность, и составляет биохимическую сущность понятия нейрогуморальной регуляции обмена веществ.

## ЭЙКОЗАНОИДЫ

Почти все клетки организма животного, за исключением эритроцитов, продуцируют эйкозаноиды — 20-углеродные соединения (от *греч.* eikosil — двадцать), к которым относятся: простагландины, тромбоксаны, лейкотриены, простациклины. Для их синтеза не требуются специализированные железы внутренней секреции.

Эйкозаноиды являются местными (тканевыми, внутриклеточными) гормонами. Продолжительность их существования не превышает одной минуты. Активность эйкозаноидов проявляется лишь вблизи мест синтеза, что отличает их от описанных гормонов эндокринных желез. В отличие от истинных гормонов, эйкозаноиды не запасаются в клетках. Эйкозаноиды постоянно синтезируются в клетках и поступают на их поверхность, где быстро распадаются под влиянием ферментных систем в межклеточной жидкости. Большинство клеток тканей млекопитающих отвечают на сигналы эйкозаноидов через посредство специфических рецепторов плазматических мембран.

Эйкозаноиды изменяют активность клеток, в которых они синтезируются в очень малых количествах ( $10^{-9}$  г). При активации клетки под влиянием какого-либо типа химического сигнала степень синтеза эйкозаноидов увеличивается.

Физиологические эффекты эйкозаноидов варьируют от одного типа клеток к другому. Они связаны с развитием лихорадки, сократительной деятельностью гладкой мускулатуры, секреторной функцией желудка, секрецией стероидных гормонов, гемодинамикой почек, активностью тромбоцитов, контролем транспорта ионов сквозь мембраны, функцией синапсов. Их продукция стимулируется активностью разнообразных рецепторов

на поверхности клеток для гормонов, факторов роста, нейромедиаторов, токсинов.

Арахидоновая жирная кислота (С 20:4), производная линолевой жирной кислоты (С 18:2), является основным предшественником молекул простагландинов. Поэтому метаболизм простагландинов полностью зависит от регулярного и постоянного наличия линолевой кислоты в рационе. В противном случае будет иметь место снижение синтеза простагландинов в тканях.

Большинство млекопитающих способно превращать линолевую кислоту в арахидоновую. Продукты животного происхождения (мясо, печень, желток яйца) являются хорошими источниками арахидоновой кислоты.

У взрослого человека ежедневный прием линолевой кислоты с пищей составляет около 10 г, однако ежедневная экскреция простагландинов и их метаболитов составляет лишь около 1 мг. Поэтому метаболизм эйкозаноидов полностью зависит от регулярности поступления в организм линолевой кислоты (Devlin T. M., 1986).

Выход арахидоновой кислоты происходит под действием фосфолипазы А<sub>2</sub> при гидролизе эфиров фосфолипидов цитоплазматических мембран или из диглицерида под действием липазы. Эфиры холестерина, содержащие арахидоновую кислоту, также могут служить источником этой кислоты. В зависимости от преобладания того или иного фермента арахидоновая кислота окисляется в цитозоле в определенный класс простагландинов.

## ПРОСТАГЛАНДИНЫ

Простагландины впервые были обнаружены в семенной плазме предстательной железы барана в 1930 г. Этим и объясняется их название (от *англ.* prostate gland — предстательная железа). Система ферментов биосинтеза простагландинов представлена простагландин-синтазным комплексом, который катализирует окислительную циклизацию полиненасыщенных жирных кислот в мембранах эндоплазматического ретикула. С точки зрения химического строения простагландины представляют монокарбоновую кислоту (С: 20) с кольцом циклопентана в углеродной цепи с одной или двумя двойными связями.

Будучи амфифильными, простагландины легко проходят сквозь двойной слой в межклеточную жидкость, где и взаимодействуют с определенными рецепторами поверхности клеток.

Образование простагландинов связано с действием различных специфических ферментов, присутствие которых варьирует в зависимости от типа клеток и тканей. Так, в почках и селезенке в основном вырабатываются простагландины  $E_2$  и  $F_2$ , тогда как кровеносные сосуды продуцируют простагландины  $I_2$ .

Нестабильный  $H_2$  быстро трансформируется в другие простагландины, тромбоксаны, простациклины.

Простагландины регулируют многие физиологические процессы в тканях. Часто их эффекты опосредованы действием циклических нуклеотидов (цАМФ, цГМФ). Наиболее изучено стимулирующее влияние простагландинов на сокращение гладких мышц матки, что обусловило использование простагландин  $F_2$  в качестве средства для прерывания беременности.

Простагландин  $E_2$  обладает хорошим эффектом при лечении отдельных язв желудка, снижая секрецию  $HCl$ . Он оказывает также стимулирующий эффект на двигательную активность кишечника животного. В инактивации простагландинов важную роль, вероятно, играют легкие. Простагландины, по всей видимости, являются естественными медиаторами воспаления. Воспалительные реакции часто вовлекают суставы (ревматоидные артриты), кожу. Эти патологии устраняются с использованием кортикостероидов (гидрокортизона), угнетающих синтез простагландинов, приводя к снижению степени воспаления.

Многие противовоспалительные средства оказывают ингибирующее влияние на синтез простагландинов. В частности, аспирин (ацетилсалицилат), как пироген, — эффективное противовоспалительное средство, нарушает синтез простагландинов, необратимо блокируя активность циклооксигеназы — фермента, необходимого для превращения арахидоновой кислоты в простагландины. Аспирин также широко используется для предупреждения интенсивного свертывания крови, что может приводить к сердечным приступам. Аспирин — антитромбный препарат, поскольку блокирует образование  $TXA_2$ , способствующего склеиванию тромбоцитов.

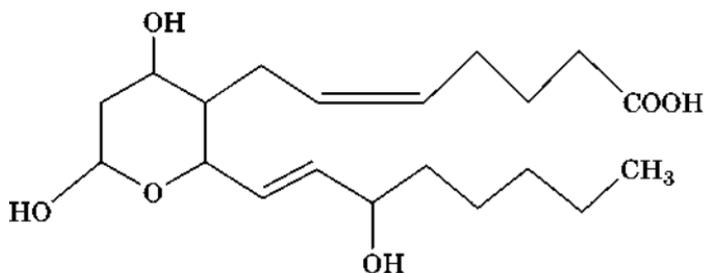
Синтетические простагландины, основанные на простагландине  $F_{2\alpha}$ , оказались очень эффективными в гинекологической

практике для родовспоможений, при задержании последа, для подавления персистентного желтого тела.

Простагландины играют важную роль в контроле артериального давления. Простагландины — вазодилататоры (ПГЕ, ПГА, ПГ<sub>2</sub>), понижают артериальное давление. Отдельные простагландины (ПГ<sub>2</sub>) ингибируют агрегацию тромбоцитов. ПГ<sub>2</sub> продуцируется тромбоцитами особенно в период их контактов с чужеродными агентами. Следует отметить, что сердечные приступы и инсульты часто обусловлены аномальным образованием тромбов.

### ТРОМБОКСАНЫ

Термин «тромбоксаны» происходит от факта, что эти вещества обладают тромбоформирующим потенциалом. В их структуре циклопентан заменен 6-членным кислородсодержащим (октан) циклом.



Тромбоксан А<sub>2</sub>

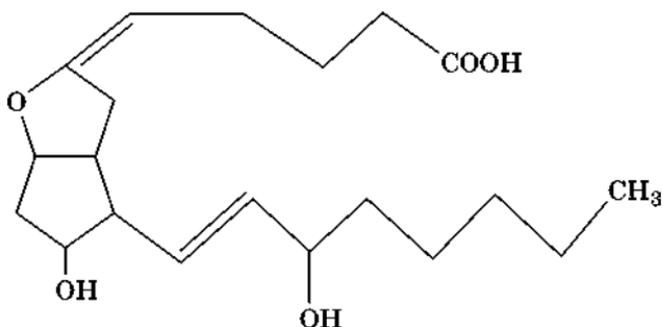
Период существования в воде тромбоксана А<sub>2</sub> очень короткий (1 мин), он быстро трансформируется в неактивный тромбоксан В<sub>2</sub>.

Тромбоксан А<sub>2</sub> — основной активный метаболит простагландинов, образующихся в тромбоцитах, способствует агрегации тромбоцитов крови, сужению артерий. Тромбоксаны и простагциклины оказывают противоположные биологические эффекты. Если тромбоксан сокращает гладкую мускулатуру сосудов и способствует агрегации тромбоцитов, то простагциклин расслабляет гладкую мускулатуру стенки кровеносного сосуда и

тормозит агрегацию тромбоцитов. Тромбоксан мобилизует внутриклеточные запасы ионов Са и через них стимулирует сокращение белков тромбоцитов.

### ПРОСТАЦИКЛИНЫ

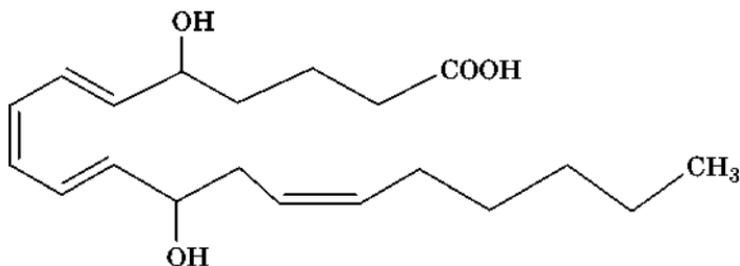
Простациклины синтезируются из простагландина H<sub>2</sub> при участии фермента простациклинсинтазы.



Простациклин I<sub>2</sub>

Свой эффект простациклин проявляет на уровне эндотелия кровеносных сосудов в ответ на адгезию тромбоцитов в местах повреждений тканей, поступая затем в почки.

Помимо фермента циклооксиганазы, который направляет полиненасыщенные жирные кислоты в синтез простагландинов, ткани имеют другой важный фермент — липоксигеназу,



Лейкотриен B<sub>4</sub>

трансформирующий альтернативно арахидоновую кислоту в лейкотриены (ЛТ). Лейкотриены в своей структуре имеют три сопряженные двойные связи; вначале они были обнаружены в лейкоцитах, поэтому и получили такое название.

Лейкотриены существуют в организме до 4 ч, хотя механизмы их деградации и элиминации неизвестны. ЛТВ<sub>4</sub> вовлекается в функции эозинофилов и нейтрофилов, стимулируя их миграцию (хемотаксис). Другие лейкотриены (ЛТС<sub>4</sub>, ЛТД<sub>4</sub>) являются гуморальными агентами, способствующими в большей мере, чем гистамин, сокращению гладких мышц, сжатию дыхательных путей, кишечника, вовлекаются в регуляцию капиллярной проницаемости. Однако терапевтическое использование фармакологических липооксигеназных ингибиторов сдерживается по причине их токсичности или недостатком специфичности.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

---

1. *Васильева, С. В.* Клиническая биохимия крупного рогатого скота : учеб. пособие / С. В. Васильева, Ю. В. Конопатов. — СПб. : Изд-во СПГАВМ, 2009. — 179 с.
2. *Зайцев, С. Ю.* Биохимия животных. Фундаментальные и клинические аспекты : учебник / С. Ю. Зайцев, Ю. В. Конопатов. — СПб. : Изд-во Лань, 2004. — 384 с.
3. *Кононский, А. И.* Биохимия животных. — М. : Колос, 1992. — 526 с.
4. *Николаев, Л. А.* Химия жизни. — М. : Просвещение, 1973. — 222 с.
5. *Потемкин, В. В.* Эндокринология. — М. : Медицина, 1999. — 640 с.
6. *Северин, Е. С.* Биохимия / Е. С. Северин, Л. В. Авдеева, Т. Л. Алейникова [и др.]. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. — 768 с.
7. *Холод, В. М.* Клиническая биохимия / В. М. Холод, А. П. Курдеко. — Витебск, 2005. — Ч. 1. — 187 с.
8. *Campbell, M. K.* Biochemistry / M. K. Campbell, Sh. O. Farrell. — Belmont : Brooks/Cole, 2012. — 714 p.
9. *Devlin, T. M.* Textbook of biochemistry with clinical correlation. — 2nd ed. — N. Y., 1986. — 1016 p.
10. *Garrett, R. H.* Biochemistry / R. H. Garrett, Ch. M. Grisham. — 3rd ed. — Thomson, Virginia, 2005. — 1086 p.
11. *Goodman, S. R.* Medical cell biology. — 2nd ed. — N. Y. : Lippincott-Raven, 1998. — 320 p.
12. *Hennen, G.* Biochimie. Approche bioenergetique et medicale. — 4th ed. — Paris : Dunod, 2006. — 455 p.
13. *Nelson, D. K.* Leninger principal of biochemistry / D. K. Nelson, M. M. Cox. — 4th ed. — N. Y., 2005. — 1119 p.
14. *Roskoski, R.* Biochemistry. — USA : W. B. Saunders company, 1996. — 530 p.
15. *Sjaastad, O. V.* Physiology of domestic animals / O. V. Sjaastad, K. Hove, O. Sand. — Oslo : Scandinavian Veterinary press, 2003. — 735 p.
16. *Suttle, N. F.* Mineral Nutrition of livestock. — 4th ed. — London, 2010. — 580 p.

# ОГЛАВЛЕНИЕ

---

Предисловие .....	5
<i>Глава 1</i>	
<b>Химия клетки</b> .....	6
<i>Глава 2</i>	
<b>Ферменты</b> .....	23
Механизм действия фермента .....	26
Кинетика ферментативных реакций .....	32
Аллостерическая регуляция активности ферментов .....	34
Активаторы и ингибиторы ферментов .....	36
Свойства ферментов .....	40
Изоферменты .....	43
Классификация ферментов .....	44
Номенклатура ферментов .....	48
Регуляция активности ферментов .....	48
Внутриклеточная локализация ферментов .....	51
Определение активности ферментов .....	52
Применение ферментов .....	54
<i>Глава 3</i>	
<b>Витамины</b> .....	56
Жирорастворимые витамины .....	57
Витамин А .....	58
Витамин D .....	62
Витамин E .....	65
Витамин K .....	67
Водорастворимые витамины .....	70
Витамин B <sub>1</sub> .....	70
Витамин B <sub>2</sub> .....	72
Витамин B <sub>3</sub> .....	73
Витамин B <sub>5</sub> .....	75
Витамин B <sub>6</sub> .....	76
Витамин B <sub>c</sub> .....	78

Витамин В <sub>12</sub> . . . . .	80
Биотин . . . . .	83
Витамин С . . . . .	84
Витаминоподобные вещества . . . . .	88
Витамин U . . . . .	88
Витамин Р . . . . .	88
Холин . . . . .	89

*Глава 4*

<b>Биологическое окисление — основной процесс обеспечения организма энергией . . . . .</b>	<b>90</b>
--	-----------

*Глава 5*

<b>Обмен углеводов . . . . .</b>	<b>101</b>
Переваривание и всасывание углеводов . . . . .	102
Гликолиз . . . . .	106
Цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса) . . . . .	117
Пентозофосфатный путь окисления глюкозы . . . . .	126
Синтез гликогена (гликогенез) . . . . .	129
Распад гликогена (гликогенолиз) . . . . .	131
Глюконеогенез . . . . .	134
Регуляция углеводного обмена . . . . .	139
Нарушения углеводного обмена . . . . .	141

*Глава 6*

<b>Обмен липидов . . . . .</b>	<b>143</b>
Переваривание и всасывание липидов . . . . .	144
Биосинтез триглицеридов . . . . .	150
Внутриклеточный липолиз . . . . .	154
β-окисление жирных кислот . . . . .	156
Метаболизм кетоновых тел . . . . .	161
Взаимосвязь кетоновых тел с метаболизмом углеводов, жиров и аминокислот . . . . .	165
Биосинтез жирных кислот . . . . .	167
Обмен глицерофосфолипидов . . . . .	174
Метаболизм холестерина . . . . .	182
Биосинтез холестерина . . . . .	183
I стадия . . . . .	184
II стадия . . . . .	186
III стадия . . . . .	188
Регуляция липидного обмена . . . . .	193

*Глава 7*

<b>Обмен белков . . . . .</b>	<b>195</b>
Процессы переваривания белков в желудочно-кишечном тракте . . . . .	198
Судьба аминокислот в толстом кишечнике . . . . .	203
Судьба аминокислот после всасывания . . . . .	207
Дезаминирование аминокислот . . . . .	208
Трансаминирование аминокислот . . . . .	210
Декарбоксилирование аминокислот . . . . .	211
Кетогенные и гликогенные аминокислоты . . . . .	214
Обезвреживание аммиака . . . . .	214
Обмен хромопротеинов . . . . .	220

Биосинтез гема	221
Распад хромопротеинов	225
Обмен нуклеопротеинов	228
Синтез пуриновых нуклеотидов	229
Синтез пиримидиновых нуклеотидов	233
Распад пуриновых нуклеотидов	239
Распад пиримидиновых нуклеотидов	243
Биосинтез белка	246
Молекулярные механизмы регуляции синтеза белка	255
Некоторые нарушения белкового обмена	257
<i>Глава 8</i>	
<b>Взаимосвязь обменов углеводов, липидов и белков</b>	259
<i>Глава 9</i>	
<b>Биохимия крови</b>	267
Химический состав крови	268
Ферменты сыворотки крови	274
Азотсодержащие небелковые и безазотистые вещества сыворотки крови	278
Дыхательная функция крови	281
Форменные элементы крови	285
Эритроциты	285
Лейкоциты	288
Тромбоциты	291
Буферные системы крови	292
Биохимия свертывания крови и фибринолиз	296
<i>Глава 10</i>	
<b>Водно-солевой обмен</b>	302
Химические элементы в организме	306
Натрий	306
Калий	308
Хлор	309
Кальций	309
Фосфор	311
Магний	313
Сера	314
Марганец	314
Железо	315
Цинк	316
Медь	318
Йод	319
Кобальт	320
Селен	322
<i>Глава 11</i>	
<b>Гормоны</b>	324
Механизм действия гормонов	328
Механизм действия стероидных гормонов	328
Механизм действия белковых (пептидных) гормонов	331
Гормоны гипоталамуса	334

Гормоны гипофиза . . . . .	335
Соматотропин . . . . .	336
Лактотропин . . . . .	337
Тиреотропин . . . . .	337
Фолликулостимулирующий гормон . . . . .	338
Лютеонизирующий гормон . . . . .	338
Адренокортикотропный гормон . . . . .	338
Меланоцитстимулирующий гормон . . . . .	339
Гормоны задней доли гипофиза . . . . .	340
Гормоны щитовидной железы . . . . .	342
Гормон паращитовидных желез . . . . .	345
Гормоны поджелудочной железы . . . . .	347
Гормоны надпочечников . . . . .	353
Схема превращения тирозина в структуры катехоламинов . . . . .	356
Половые гормоны . . . . .	360
Мужские половые гормоны . . . . .	361
Женские половые гормоны . . . . .	363
Биохимия гормональной функции тимуса . . . . .	367
Гормоны диффузной эндокринной системы . . . . .	368
Эйкозаноиды . . . . .	371
Простагландины . . . . .	372
Тромбоксаны . . . . .	374
Простациклины . . . . .	375
<b>Рекомендуемая литература . . . . .</b>	<b>377</b>

*Юрий Васильевич КОНОПАТОВ,  
Светлана Владимировна ВАСИЛЬЕВА*

**БИОХИМИЯ ЖИВОТНЫХ**

*Учебное пособие*

Зав. редакцией химической  
литературы *М. В. Макеева*  
Ответственный редактор *С. В. Макаров*  
Технический редактор *Е. С. Крюков*  
Подготовка иллюстраций *А. П. Маркова*  
Корректор *Т. А. Кошелева*  
Верстка *М. И. Хетерели*  
Выпускающие *О. В. Шилкова, Н. А. Крылова*

ЛР № 065466 от 21.10.97  
Гигиенический сертификат 78.01.07.953.П.007216.04.10  
от 21.04.2010 г., выдан ЦГСЭН в СПб

**Издательство «ЛАНЬ»**  
lan@lanbook.ru; www.lanbook.com 192029,  
Санкт-Петербург, Общественный пер., 5.  
Тел./факс: (812) 412-29-35, 412-05-97, 412-92-72.  
Бесплатный звонок по России: 8-800-700-40-71

Подписано в печать 15.01.22.  
Бумага офсетная. Гарнитура Школьная. Формат 84×108<sup>1/32</sup>.  
Печать офсетная. Усл. п. л. 20,16. Тираж 1000 экз.

Заказ № .

Отпечатано в полном соответствии  
с качеством предоставленных диапозитивов  
в ОАО «Издательско-полиграфическое предприятие «Правда Севера».  
163002, г. Архангельск, пр. Новгородский, д. 32.  
Тел./факс (8182) 64-14-54; www.ippps.ru