



А.Д. Таганович, Е.А. Девина

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ В СТОМАТОЛОГИИ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ



А.Д. ТАГАНОВИЧ

Е.А. ДЕВИНА

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ В СТОМАТОЛОГИИ

*Допущено
Министерством образования Республики Беларусь
в качестве учебного пособия для студентов
учреждений высшего образования
по специальности «Стоматология»*



МИНСК «НОВОЕ ЗНАНИЕ» 2022

УДК 577.1:616.31(075.8)

ББК 28.707.2я73

T13

Рецензенты:

кафедра биологической химии Гродненского государственного медицинского университета (зав. кафедрой — доктор медицинских наук, профессор *В.В. Лелевич*);

проректор по учебной работе Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета, доктор биологических наук, профессор *Н.Ю. Коневалова*

Таганович, А.Д.

T13 Биологическая химия в стоматологии : учеб. пособие / А.Д. Таганович, Е.А. Девина. — Минск : Новое знание, 2022. — 540 с. : ил.
ISBN 978-985-24-0354-2.

Написано в соответствии с Государственным образовательным стандартом Республики Беларусь, типовыми и рабочими программами по биологической химии для обучения по специальности 1-79 01 07 «Стоматология». Включает 16 глав, самой большой по объему из которых является «Биохимия тканей зуба и жидкостей полости рта». Особенностью данного пособия является изложение материала традиционных разделов в соответствии со спецификой специальности «Стоматология».

Для студентов и аспирантов, обучающихся по специальности «Стоматология». Может быть полезно клиническим ординаторам и другим учащимся системы последипломного образования, а также практическим врачам.

УДК 577.1:616.31(075.8)
ББК 28.707.2я73

ISBN 978-985-24-0354-2

© Таганович А.Д., Девина Е.А., 2022

© Оформление. ООО «Новое знание», 2022

Оглавление

Вместо предисловия.....	13
-------------------------	----

1. ФЕРМЕНТЫ — БИОЛОГИЧЕСКИЕ КАТАЛИЗАТОРЫ

1.1. Белки — основа структуры и функционирования ферментов.....	14
1.2. Структурная организация белков.....	18
1.3. Изоферменты.....	23
1.4. Растворимость в воде и денатурация белков.....	24
1.5. Свойства ферментов.....	25
1.6. Взаимосвязь структуры и функции ферментов.....	26
1.7. Коферменты.....	28
1.8. Номенклатура и классификация ферментов.....	31
1.9. Общее представление о катализе.....	34
1.9.1. Основы кинетики ферментативного катализа.....	36
1.9.2. Факторы, определяющие активность ферментов.....	37
1.9.3. Активаторы и ингибиторы активности ферментов.....	41
1.10. Регуляция скорости ферментативных реакций.....	43
1.10.1. Аллостерическая регуляция.....	44
1.10.2. Регуляция активности ферментов с помощью белок-белковых взаимодействий.....	46
1.10.3. Обратимая ковалентная модификация структуры ферментов.....	47
1.10.4. Необратимая ковалентная модификация структуры ферментов.....	47
1.11. Ферментные препараты в стоматологии. Медицинские аспекты энзимологии.....	48

2. ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И СВОБОДНОЙ ЭНЕРГИИ В КЛЕТКАХ

2.1. Клеткам необходима свободная энергия	51
2.2. АТФ — универсальный макроэрг в клетках.....	52
2.3. Понятие о метаболизме.....	55
2.4. Этапы катаболизма	60
2.5. Биологическое окисление	61
2.5.1. Пути использования кислорода при биологическом окислении.....	62
2.5.2. Дегидрогеназные реакции — основной источник энергии в клетке. Виды дегидрогеназ	64
2.6. Общие пути катаболизма.....	66
2.6.1. Окислительное декарбоксилирование пирувата	67
2.6.2. Цикл трикарбоновых кислот (цикл лимонной кислоты, цикл Кребса)	69
2.7. Тканевое дыхание.....	73
2.8. Дыхательная цепь переноса электронов.....	74
2.8.1. Компоненты дыхательной цепи	74
2.8.2. Структурная организация цепи переноса электронов	78
2.8.3. Функционирование дыхательной цепи.....	78
2.8.4. Сопряжение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования	81
2.8.5. Окислительное фосфорилирование — основной механизм синтеза АТФ в клетке.....	81
2.8.6. Теория окислительного фосфорилирования.....	83
2.8.7. Коэффициент фосфорилирования и расчет энергетической ценности окисления различных субстратов	84
2.8.8. Разобщение окислительного фосфорилирования и тканевого дыхания	84
2.8.9. Ингибиторы переноса электронов в дыхательной цепи и окислительного фосфорилирования	86
2.9. Гипоэнергетические состояния	87

3. ХИМИЯ И ОБМЕН УГЛЕВОДОВ

3.1. Биологическая роль углеводов	88
3.2. Классификация углеводов	89
3.2.1. Моносахариды	89
3.2.2. Олигосахариды	92
3.2.3. Полисахариды	94

3.2.4. Полисахариды, синтезируемые микроорганизмами в ротовой полости	96
3.3. Обмен углеводов	98
3.3.1. Переваривание углеводов	98
3.3.2. Патология переваривания углеводов	100
3.3.3. Функции неперевариваемых полисахаридов	101
3.4. Всасывание глюкозы	101
3.5. Превращение углеводов в тканях	103
3.6. Гликоген — резервный полисахарид	105
3.6.1. Синтез гликогена (гликогенез)	106
3.6.2. Распад или мобилизация гликогена (гликогенолиз)	107
3.7. Дихотомический распад глюкозы — основной путь получения энергии в клетке	110
3.7.1. Гликолиз	111
3.7.2. Аэробное окисление глюкозы	117
3.7.3. Челночные механизмы переноса восстановительных эквивалентов через митохондриальные мембраны	118
3.8. Глюконеогенез	119
3.9. Глюкозо-лактатный цикл (цикл Кори)	123
3.10. Спиртовое брожение глюкозы	124
3.11. Восстановительный путь обмена глюкозы	125
3.12. Пентозофосфатный путь окисления глюкозы	125
3.13. Глюкуроновый путь обмена глюкозы	129
3.14. Гормональная регуляция углеводного обмена	131
3.15. Нарушения углеводного обмена	132
3.16. Патогенетическая взаимосвязь углеводов пищи и кариеса. Химико-паразитарная теория	133

4. ХИМИЯ И ОБМЕН ЛИПИДОВ

4.1. Классификация липидов	137
4.1.1. Неомыляемые липиды	138
Жирные кислоты	138
Высшие спирты	141
Стероиды	141
Терпены (изопрены)	142
4.1.2. Омыляемые липиды	142
Нейтральные жиры (ацилглицеролы)	143
Воски	144
Фосфолипиды	145
Гликолипиды	149

4.2. Переваривание и всасывание липидов	150
4.2.1. Желчные кислоты	151
4.2.2. Ферментативный гидролиз липидов в кишечнике	152
4.2.3. Мицеллообразование и всасывание продуктов гидролиза липидов в желудочно-кишечном тракте	154
4.3. Ресинтез липидов в стенке кишечника	155
4.4. Липопротеины — транспортные формы липидов	157
4.4.1. Структура липопротеинов	157
4.4.2. Транспортная форма экзогенных липидов (хиломикроны)	158
4.4.3. Транспортные формы эндогенных липидов (ЛПОНП, ЛПВП, ЛППП, ЛПНП)	159
4.4.4. ЛПВП и обратный транспорт холестерина из периферических тканей к печени	162
4.4.5. Роль липопротеинов плазмы крови в развитии атеросклероза	164
4.5. Ацетил-КоА — центральный метаболит в обмене липидов	165
4.6. Биосинтез холестерина и его регуляция	166
4.7. Синтез и мобилизация триацилглицеролов	169
4.7.1. Синтез триацилглицеролов	169
4.7.2. Мобилизация триацилглицеролов	170
4.8. Внутриклеточный обмен жирных кислот	171
4.8.1. β -Окисление жирных кислот	171
4.8.2. β -Окисление ненасыщенных жирных кислот и жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов	175
4.8.3. Окисление жирных кислот в пероксисомах	176
4.8.4. Биосинтез насыщенных жирных кислот	176
4.8.5. Эйкозаноиды	182
4.9. Метаболизм кетоновых тел	184

5. ОБМЕН ПРОСТЫХ БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ

5.1. Азотистый баланс и оценка обеспеченности организма белками	188
5.2. Виды протеолиза. Классификация протеаз	191
5.2.1. Внутриклеточный протеолиз	192
5.2.2. Ингибиторы протеолиза	193
5.3. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте	194
5.3.1. Превращения аминокислот в желудочно-кишечном тракте под действием микроорганизмов	198
5.3.2. Всасывание продуктов переваривания белков	200
5.4. Внутриклеточный обмен аминокислот	202
5.4.1. Трансаминирование	202
5.4.2. Дезаминирование аминокислот	204

5.4.3. Судьба безазотистого остатка аминокислот	206
5.4.4. Синтез аминокислот	207
5.4.5. Декарбоксилирование аминокислот	208
5.5. Обмен аммиака	212
5.5.1. Связывание аммиака, транспорт и обезвреживание в почках	213
5.5.2. Синтез мочевины	215
5.6. Остаточный азот крови	218

6. ХИМИЯ И ОБМЕН НУКЛЕОПРОТЕИНОВ

6.1. Мономеры нуклеиновых кислот	220
6.2. Структурная организация и функции нуклеиновых кислот	224
6.2.1. Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)	225
6.2.2. Типы рибонуклеиновых кислот	229
6.3. Переваривание нуклеиновых кислот	231
6.4. Катаболизм пуриновых нуклеотидов	232
6.5. Катаболизм пиримидиновых нуклеотидов.....	234
6.6. Биосинтез нуклеотидов	235
6.6.1. Пути повторного использования азотистых оснований и нуклеозидов.....	235
6.6.2. Синтез пуриновых нуклеотидов <i>de novo</i>	236
6.6.3. Синтез пиримидиновых нуклеотидов <i>de novo</i>	239
6.6.4. Биосинтез дезоксирибонуклеотидов	241

7. БИОСИНТЕЗ ДНК, РНК И БЕЛКОВ. МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

7.1. Репликация ДНК.....	245
7.2. Репарация ДНК.....	248
7.3. Транскрипция	250
7.3.1. Процессинг РНК.....	253
7.4. Синтез белка — трансляция	255
7.4.1. Генетический код и его свойства	256
7.4.2. Активирование аминокислоты (рекогниция) — начало трансляции.....	257
7.4.3. Инициация трансляции	258
7.4.4. Элонгация	261
7.4.5. Терминация трансляции	261
7.4.6. Модификация белковых молекул после трансляции.....	263
7.5. Механизмы регуляции количества белков в клетке	263
7.6. Ингибиторы биосинтеза белка.....	267

7.7. Методы молекулярной биологии. ДНК-технологии	268
7.7.1. Клонирование.....	270
7.7.2. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	271
7.7.3. Геномная дактилоскопия	273

8. ГОРМОНЫ. МЕХАНИЗМЫ ПЕРЕДАЧИ ГОРМОНАЛЬНЫХ СИГНАЛОВ

8.1. Гормоны — молекулы, действующие на расстоянии.....	274
8.2. Особенности биологического действия гормонов	275
8.3. Сигнальный путь	275
8.4. Классификация гормонов.....	276
8.5. Рецепторы и их классификация.....	277
8.5.1. 7-ТМС-рецепторы, сопряженные с G-белками.....	278
8.5.2. 1-ТМС-рецепторы	279
8.5.3. Лигандзависимые ионные каналы плазматической мембраны.....	279
8.5.4. Внутриклеточные рецепторы.....	280
8.6. G-Белки	281
8.7. Вторичные посредники	283
8.8. Протеинкиназы	284
8.9. Пути проведения гормонального сигнала	286
8.9.1. Рецепторы, сопряженные с тримерными $G\alpha_s$ -белками. Аденилатциклазная система	286
8.9.2. Рецепторы, сопряженные с тримерными $G\alpha_i$ - и $G\alpha_q$ -белками.....	287
8.9.3. 1-ТМС-рецепторы, обладающие тирозинкиназной активностью. МАП-киназный путь и инозитол-3-фосфаткиназная сигнальная система.....	290
8.9.4. 1-ТМС-рецепторы, не обладающие ферментативной активностью, но взаимодействующие с тирозинкиназами цитозоля.....	293
8.9.5. 1-ТМС-рецепторы с гуанилатциклазной активностью.....	294
8.9.6. Внутриклеточные рецепторы, расположенные в цитозоле.....	295
8.9.7. Группа внутриклеточных рецепторов, расположенная в ядре.....	296
8.10. Гормоны гипоталамуса и гипофиза	296
8.10.1. Гормоны задней доли гипофиза (нейрогипофиза).....	298
8.10.2. Гормоны передней доли гипофиза (аденогипофиза)	298
8.11. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы	300
8.12. Гормоны поджелудочной железы	304
8.13. Гормоны мозгового вещества надпочечников.....	305
8.14. Гормоны коры надпочечников и половых желез являются стероидами	306

9. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ

9.1. Незаменимые факторы питания	313
9.2. Гормоны, контролирующие пищевое поведение	317
9.3. Метаболизм энергетических субстратов после приема пищи	319
9.4. Особенности метаболизма натошак	320
9.5. Особенность метаболизма при длительном голодании.....	321
9.6. Витамины — незаменимые факторы питания.....	323
9.6.1. Классификация и номенклатура витаминов	325
9.6.2. Жирорастворимые витамины	325
Витамин А (ретинол)	325
Витамин Е (токоферол)	330
Витамин К (нафтохинон)	332
Витамин D (кальциферол)	332
9.6.3. Водорастворимые витамины.....	336
Витамин В ₁ (тиамин)	336
Витамин В ₂ (рибофлавин)	338
Витамин РР (никотиновая кислота (ниацин), никотинамид)	339
Пантотеновая кислота (витамин В ₅)	341
Витамин В ₆ (пиридоксин)	343
Фолиевая кислота (витамин В ₉ , В _С)	344
Витамин В ₁₂ (кобаламин)	347
Витамин Н (биотин)	350
Витамин С (аскорбиновая кислота)	351
9.7. Витаминоподобные вещества	353

10. ВОДНО-МИНЕРАЛЬНЫЙ ОБМЕН

10.1. Вода — важнейшая составная часть организма.....	355
10.2. Минеральные вещества также незаменимы для организма.....	357
10.2.1. Макроэлементы	357
Натрий	357
Калий	358
Хлориды	360
Магний	361
Кальций	363
Фосфор	364
Сера	365
10.2.2. Микроэлементы	366
Железо	366
Медь	369
Цинк	370

Селен.....	371
Марганец	371
Йод.....	372
Кобальт	372
Фтор	373
10.3. Регуляция водно-минерального обмена.....	374
10.4. Регуляция обмена кальция и фосфора.....	378

11. БИОХИМИЯ КРОВИ

11.1. Свойства и функции крови.....	380
11.2. Состав крови	381
11.2.1. Белки плазмы крови и их функции	382
11.3. Кислотно-основное состояние и буферные системы крови.....	385
11.3.1. Буферные системы крови	386
11.3.2. Нарушения кислотно-основного равновесия.....	387
11.4. Транспорт кислорода и углекислого газа кровью	389
11.5. Система гемостаза.....	394
11.5.1. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз	395
11.5.2. Коагуляционный гемостаз.....	397
11.5.3. Роль ионов кальция в гемокоагуляции.....	401
11.5.4. Витамин К и его роль в гемокоагуляции.....	402
11.6. Антикоагулянтная система	404
11.7. Фибринолитическая система	406
11.8. Коагулограмма	409

12. БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ

12.1. Роль печени в метаболизме белков.....	411
12.2. Роль печени в метаболизме липидов	412
12.3. Роль печени в метаболизме углеводов.....	413
12.4. Антитоксическая функция печени	414
12.5. Экскреторная функция печени и желчеобразование.....	417
12.6. Роль печени в депонировании участников метаболизма	417
12.7. Синтез и распад гема. Роль печени в обмене и обезвреживании желчных пигментов	417

13. БИОХИМИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

13.1. Структура мышечной ткани.....	423
13.2. Химический состав мышечной ткани.....	424
13.3. Молекулярный механизм мышечного сокращения.....	427
13.4. Источники энергии для обеспечения работы мышц.....	429

13.5. Особенности метаболизма в сердечной мышце.....	433
13.6. Особенности строения и функции гладких мышц.....	434
13.7. Заболевания мышц.....	436

14. БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

14.1. Белково-углеводные комплексы внеклеточного матрикса	438
14.1.1. Протеогликаны	439
14.1.2. Состав протеогликанов	442
14.1.3. Функции протеогликанов.....	445
14.1.4. Гликопротеины и мукопротеины	446
14.1.5. Нарушение распада белково-углеводных комплексов	446
14.1.6. Муцины — представители гликопротеинов (мукопротеинов)	447
14.2. Белки соединительной ткани.....	448
14.2.1. Коллаген — главный белок внеклеточного матрикса	448
14.2.2. Особый тип пространственной организации коллагенов	448
14.2.3. Образование коллагеновых волокон	450
14.2.4. Семейство эластина	456
14.2.5. Адгезивные белки	458
14.3. Базальные мембраны	460
14.4. Распад молекул межклеточного матрикса.....	462

15. БИОХИМИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ

15.1. Костная ткань — разновидность соединительной ткани.....	463
15.2. Образование костной ткани и ее разрушение осуществляют разные клетки.....	464
15.3. Состояние межклеточного матрикса — основная забота остеобластов и остеокластов.....	466
15.4. Минеральный компонент костной ткани	468
15.4.1. Между внутри- и внеклеточным пространствами существует градиент концентрации кальция	468
15.4.2. Фосфаты кальция — природные минералы и основа минерального компонента межклеточного матрикса	469
15.4.3. Апатиты	470
15.5. Принципы минерализации костной ткани.....	472
15.5.1. Изменение кристаллической решетки апатитов.....	472
15.5.2. Образование кристаллов начинается с нуклеации	472
15.5.3. Минерализация в тканях — постоянно протекающий процесс	473
15.6. Формирование и резорбция кости — сопряженные процессы.....	478
15.7. Локальные и системные факторы регуляции деятельности клеток в костной ткани	481

16. БИОХИМИЯ ТКАНЕЙ ЗУБА И ЖИДКОСТЕЙ ПОЛОСТИ РТА

А. Ткани зуба	486
16.1. Общая характеристика тканей зуба	486
16.2. Эмаль	487
16.2.1. Белки эмали	489
16.2.2. Молекулярная организация и формирование эмали (амелогенез)	492
16.2.3. Эмаль после прорезывания зубов	494
16.2.4. От компонентов к минерализации эмали	494
16.2.5. Поверхностные образования на эмали	497
16.3. Дентин	501
16.3.1. Механизмы дентиногенеза	502
16.3.2. Несовершенный дентиногенез	503
16.4. Периодонт	504
16.5. Цемент	504
16.6. Пульпа	506
Б. Биологические жидкости полости рта	507
16.7. Общая характеристика слюны и ротовой жидкости	507
16.7.1. Молекулярные механизмы образования слюны	507
16.7.2. Ротовая жидкость	512
16.7.3. Белки ротовой жидкости	515
16.7.4. Минерализующая функция слюны (ротовой жидкости)	518
16.7.5. Роль биохимического исследования слюны в диагностике заболеваний ротовой полости. Изменение состава жидкостей ротовой полости при различных патологических состояниях	521
16.8. Десневая жидкость	523
16.9. Эмалевая жидкость	524
Предметный указатель	525

Вместо предисловия

Настоящее учебное пособие завершает комплекс учебно-методических материалов для студентов стоматологического факультета, составленных на кафедре биологической химии БГМУ. Это не означает, что имеющиеся книги не будут подвергаться изменениям в будущем. Однако данный образовательный ресурс, включающий электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) и его составляющие — практикум, вспомогательный материал к лекциям и, наконец, это издание, — позволяет быть уверенными, что студенты, обучающиеся по специальности «Стоматология» оснащены всем необходимым для успешного освоения дисциплины.

Учебники и учебные пособия выпускались и ранее. Как и в предыдущих учебниках по биологической химии для студентов медицинских вузов, авторы основывались на изложении современных знаний общей биохимии клетки и особенностей метаболизма в специализированных тканях. При этом следовали хорошо известной истине о том, что без знаний молекулярных основ процессов жизнедеятельности невозможно понимание механизмов развития и лечения заболеваний челюстно-лицевой области.

Что нового привносит данное пособие? Во-первых, оно составлено в соответствии с требованиями типовой программы для этой медицинской специальности и с типовым планом. Во-вторых, в каждой главе авторы пытались отразить прикладное значение материала в стоматологической практике. В-третьих, в пособии в полной мере нашли свое место темы специального характера, такие как биохимия соединительной и костной ткани, тканей зуба, жидкостей полости рта. Объем пособия снижен по сравнению с имеющимися учебниками, предназначенными для изучения студентами других специальностей, что вполне логично, учитывая меньшее количество учебных часов.

Авторы преследовали целью составить пособие так, чтобы оно служило настоящим путеводителем не только по биологической химии, как основе клинического мышления в целом, но и в будущей стоматологической практике в частности.

Выражаем глубокую признательность доценту кафедры биологической химии БГМУ Эдуарду Ивановичу Олецкому за помощь в поиске материала для книги и глубокую эрудицию в области биологической химии, которая была востребована в ходе создания данного пособия.

Будем благодарны за все конструктивные замечания и предложения, выраженные в адрес настоящего пособия.

1

Ферменты — биологические катализаторы

В клетках живых организмов осуществляются тысячи химических реакций, ведущих к превращению органических веществ. Эти реакции идут в присутствии катализаторов, роль которых выполняют ферменты.

Ферменты (энзимы) играют важнейшую роль во всех процессах жизнедеятельности. Только в ротовой жидкости обнаружено более 100 ферментов различного происхождения (железистого, лейкоцитарного, микробного). Под действием ферментов слюны (α -амилазы, мальтазы) в ротовой полости начинается переваривание углеводов. Ферменты кислая и щелочная фосфатазы, расщепляя моноэфиры фосфорной кислоты, участвуют в фосфорно-кальциевом обмене, в частности в процессах минерализации и деминерализации костей и зубов. Лизоцим оказывает антибактериальное действие за счет того, что гидролизует β -1,4-гликозидные связи в гетерополисахаридах клеточных мембран некоторых видов бактерий.

Ферменты находят широкое применение в медицинской практике с целью диагностики и лечения заболеваний, а также используются в научных исследованиях в качестве специфических аналитических реагентов.

1.1. Белки — основа структуры и функционирования ферментов

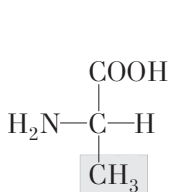
Ферменты — это белки, образующиеся в тканях животных и растительных организмов, обладающие способностью ускорять химические реакции. Известны также каталитически активные нуклеиновые кислоты — *рибозимы*. В настоящее время описано более 6000 различных ферментов. Многие ферменты получены в кристаллическом виде, расшифрованы их аминокислотные последовательности, изучается их структура и роль в метаболических превращениях.

Белки — высокомолекулярные природные полимеры, состоящие из аминокислотных остатков, соединенных пептидной связью. Именно аминокислотный состав определяет физико-химические и биологические свойства белков.

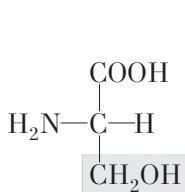
1.1. Белки — основа структуры и функционирования ферментов

Аминокислоты — это аминопроизводные карбоновых кислот. В природе встречаются главным образом α -аминокислоты. Они имеют общую формулу и различаются только по *строению радикала (R)*.

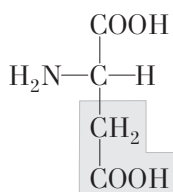
Аминокислоты, которые входят в состав белков, называются **протеиногенными**. Их 20, и они кодируются генетически.



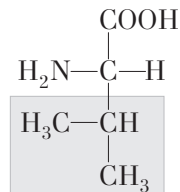
аланин



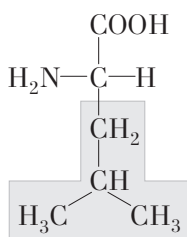
серин



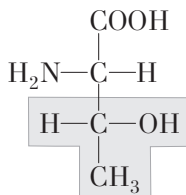
аспарагиновая
кислота



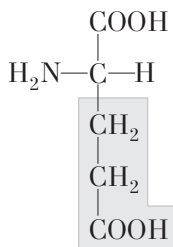
валин



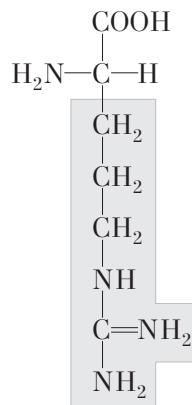
лейцин



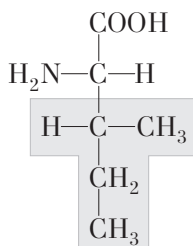
треонин



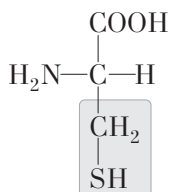
глутаминовая
кислота



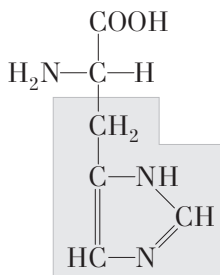
аргинин



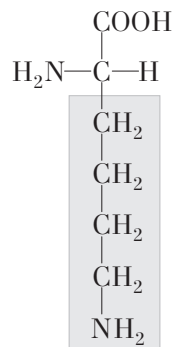
изолейцин



цистеин

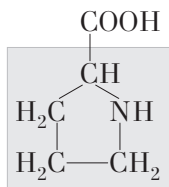


гистидин

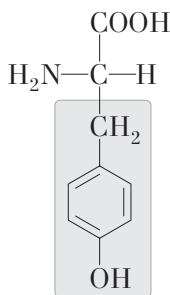


лизин

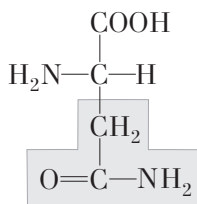
1. Ферменты — биологические катализаторы



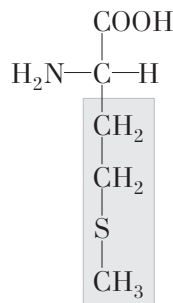
пролин



тирозин



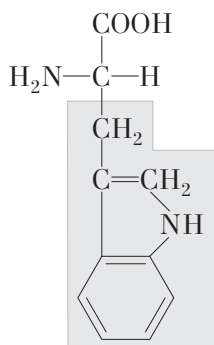
аспарагин



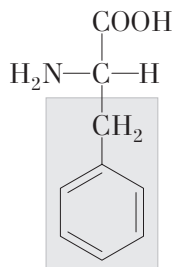
метионин



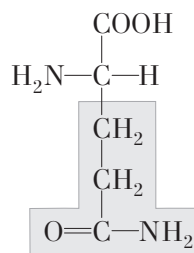
глицин



триптофан



фенилаланин



глутамин

Непротеиногенные аминокислоты не принимают участие в образовании белков (не кодируются). В организме человека непротеиногенные аминокислоты выполняют специфические функции. Так, карнитин участвует в переносе активированных жирных кислот через митохондриальную мембрану для последующего их β -окисления, орнитин и цитруллин участвуют в синтезе мочевины.

Другая классификация аминокислот использует **химические особенности строения радикала**. Различают аминокислоты:

- **алифатические:** глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин;
- **циклические (ароматические):** фенилаланин, тирозин, триптофан, гистидин;
- **гидроксилсодержащие:** серин, треонин, тирозин;
- **серосодержащие:** цистеин, метионин;
- **дикарбоновые:** глутаминовая и аспарагиновая кислоты;
- **амиды дикарбоновых аминокислот:** глутамин и аспарагин;
- **диаминомонокарбоновые:** лизин, аргинин;
- **иминокислота** — пролин.

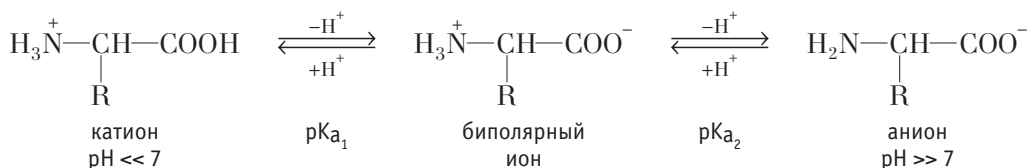
1.1. Белки — основа структуры и функционирования ферментов

Современная рациональная классификация аминокислот основана на *полярности радикалов*, т.е. способности их взаимодействия с водой при физиологических значениях pH.

По полярности радикала различают:

- **неполярные (гидрофобные)**: аланин, валин, изолейцин, лейцин, пролин, метионин, фенилаланин, триптофан;
- **полярные (гидрофильные) незаряженные** при pH 7: серин, треонин, цистеин, аспарагин, глутамин, тирозин;
- **полярные отрицательно заряженные** при pH 7: аспарагиновая и глутаминовая кислоты;
- **полярные положительно заряженные** при pH 7: лизин, аргинин, гистидин.

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



Аминокислоты можно разделить по их свойствам на нейтральные, кислые и основные. **Нейтральные** содержат одну амино- и одну карбоксильную группу. **Кислые** имеют две карбоксильные и одну аминогруппу (за счет диссоциации второй карбоксильной группы несут в растворе отрицательный заряд), **основные** — две аминогруппы и одну карбоксильную (за счет диссоциации второй NH_2 несут в растворе положительный заряд).

Нейтральные аминокислоты потому так и называются, что они электро-нейтральны в водном растворе. Дикарбоновые аминокислоты ведут себя как *кислоты*, и их раствор имеет кислую реакцию. Возникающие при их диссоциации ионы имеют избыток отрицательного заряда. Основные аминокислоты реагируют в водном растворе как *слабые основания*. Это связано с тем, что один протон, который освобождается при диссоциации карбоксильной группы таких аминокислот, связывается с одной из аминогрупп, а вторая аминогруппа связывает протон из водного окружения, увеличивая тем самым количество OH групп и повышая pH. Аминокислоты в водном растворе приобретают положительный заряд.

Изменяя pH раствора, можно изменять заряд молекул аминокислот. При определенном для каждой аминокислоты значении pH наступает такое

состояние, при котором заряд аминокислоты становится нейтральным. Такое значение рН получило название **изоэлектрической точки (ИЭТ, рI)**. При значении рН, равном изоэлектрической точке, аминокислоты не перемещаются в электрическом поле. При рН ниже изоэлектрической точки катион аминокислоты движется к *катоду*, а при рН выше рI — анион аминокислоты к *аноду*. На этих свойствах аминокислот основана возможность разделения их в электрическом поле (электрофорез). Кислые аминокислоты имеют рI в слабокислой среде, основные — в слабосредней, нейтральные — в нейтральной.

Аминокислоты, обладая одновременно свойствами слабой кислоты и слабого основания (амфотерные свойства), могут играть роль буферной системы.

Стереоизомерия. Все входящие в состав живых организмов α -аминокислоты, кроме глицина, содержат асимметричный атом углерода и обладают **оптической активностью**. По расположению заместителей вокруг асимметричного атома углерода стереоизомеры относят к L- или D-ряду.

Аминокислоты, входящие в состав белков, относятся к L-ряду. Однако оптические изомеры аминокислот претерпевают очень медленную и самопроизвольную рацемизацию. Рацемизация каждой аминокислоты идет с определенной скоростью. Например, в белке дентине, содержащемся в твердой эмали зуба, L-аспарат при температуре тела рацемизуется, превращаясь в D-стереоизомер, со скоростью 0,1 % в год. Данную особенность можно использовать для определения возраста людей и животных или ископаемых останков.

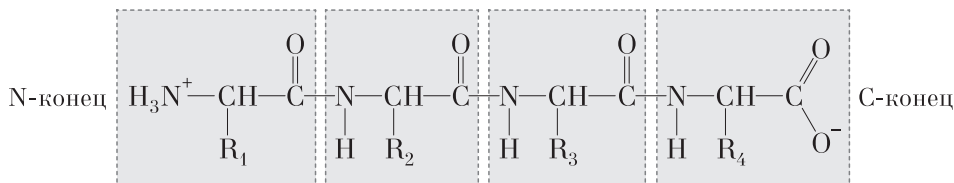
Спектральные свойства аминокислот. Все аминокислоты поглощают свет в инфракрасной области спектра. Три циклические аминокислоты (фенилаланин, тирозин и триптофан) поглощают свет в ультрафиолетовой области. Максимум поглощения происходит при длине волны (λ) 280 нм.

1.2. Структурная организация белков

Выяснение структурной организации белков считается одной из главных проблем современной биохимии. Большинство белков имеет четыре уровня структурной организации.

Под **первичной структурой** подразумевают последовательность расположения аминокислотных остатков в полипептидной цепи.

Схематически первичную структуру можно изобразить следующим образом:



1.2. Уровни структурной организации белков

Основной тип связи этого уровня — *ковалентная пептидная связь*. Основу цепи составляет повторяющаяся последовательность —NH—CH—CO—. В стабильность первичной структуры могут вносить свой вклад дисульфидные связи, образующиеся между SH-группами цистеина. Характерные для каждой аминокислоты *радикалы* расположены вне цепи. Именно эти радикалы и несут главную нагрузку при выполнении белками их функций.

Свойства пептидной связи:

1) связь C—N между углеродом карбонильной группы и атомом азота имеет характер частично двойной. Это проявляется в уменьшении ее длины, по сравнению с одинарной связью, до 0,133 нм (рис. 1.1). Поэтому вращение вокруг связи C—N затруднено, а вокруг связи C—C возможно;

2) атомы, образующие пептидную связь (C, N, O и H) и два α -углерода, расположены в одной плоскости (копланарны). Радикалы аминокислот и водороды при α -углеродных атомах находятся вне этой плоскости;

3) атомы H и O в пептидной связи находятся в *транс*-положении, что создает условия для образования максимума водородных связей при формировании вторичной структуры (за исключением иминокислоты — пролина).

Каждый белок имеет свою уникальную первичную структуру, которая генетически детерминирована. Она, подобно компьютерной программе с расширением «.exe», определяет вторичную, третичную, четвертичную структуры и общую пространственную конформацию белковой молекулы. Любые замены аминокислот в их последовательности приводят к пространственным структурным

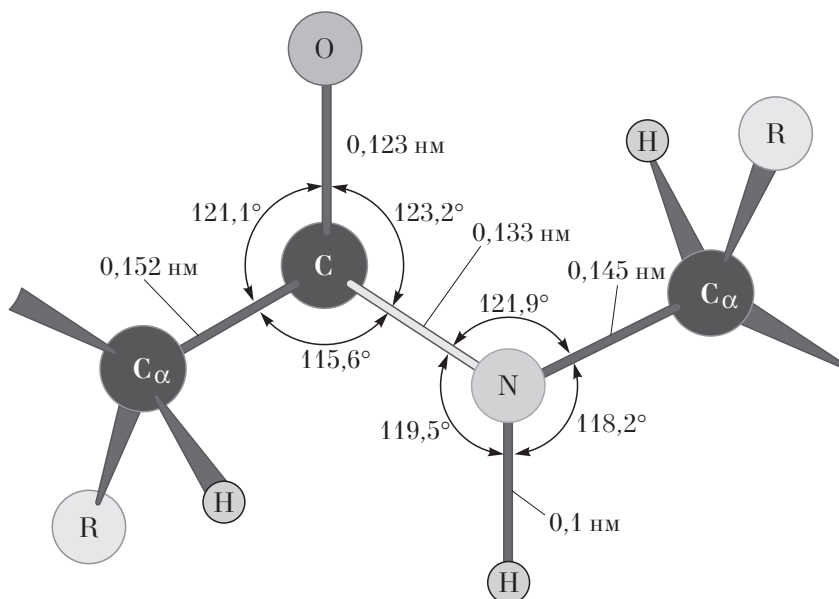


Рис. 1.1. Структурные особенности пептидной связи

перестройкам и к изменению физико-химических свойств и биологических функций белковых молекул.

Вторичную структуру белка определяют как локальную конформацию, которая обусловлена вращением атомов или участков полипептидной цепи вокруг одинарных ковалентных связей. Она представляет собой способ укладки полипептидной цепи в упорядоченную структуру благодаря образованию водородных связей между пептидными группами полипептидной цепи.

Вторичная структура может быть спиральной и слоисто-складчатой.

α -Спираль (правозакрученная) — самая распространенная в белках вторичная структура (рис. 1.2). Она характеризуется плотными витками вокруг длинной оси молекулы. Спираль стабилизирована водородными связями между атомами водорода и кислорода пептидных групп.

β -Структура — зигзагообразная полипептидная цепь, в которой водородные связи образуются между относительно удаленными друг от друга в первичной структуре аминокислотами или разными участками полипептидной цепи (рис. 1.3). Для образования β -складок важны небольшие размеры боковых групп аминокислот, среди которых преобладают обычно глицин и аланин.

В белках также встречаются области с так называемой **нерегулярной вторичной структурой**, к которым относят *изгибы, петли и повороты*. Они рас-

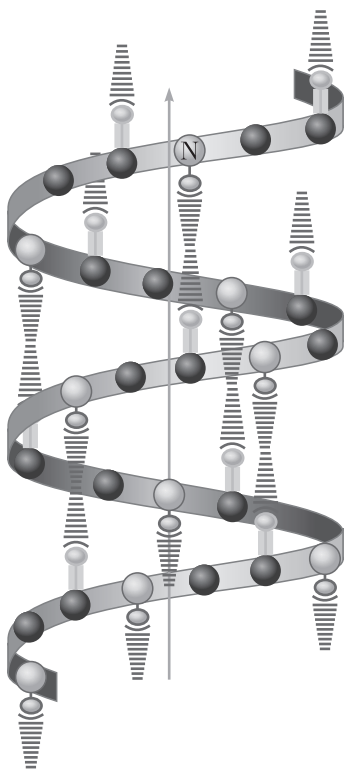


Рис. 1.2. Модель α -спирали

1.2. Уровни структурной организации белков

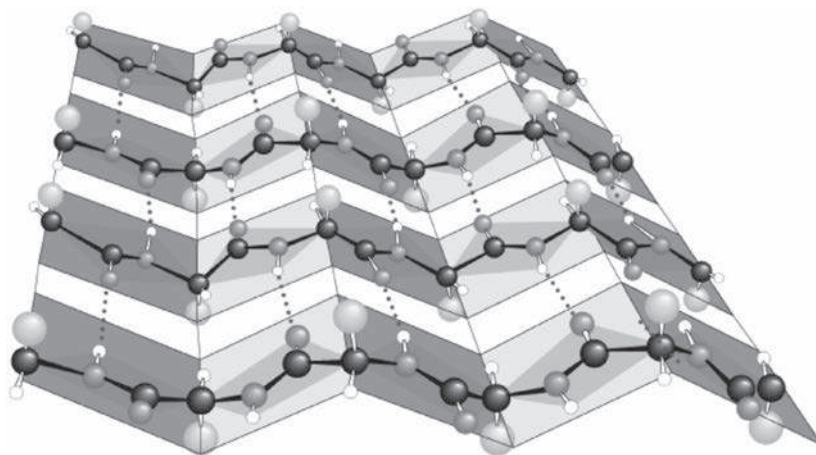


Рис. 1.3. Схематическое изображение вторичной структуры (β -лист)

полагаются в местах, где меняется направление пептидной цепи. Повороты обеспечивают изменение ее направления на 180° .

Надвторичная структура формируется из нескольких участков полипептидной цепи, организованных в пространстве в форме α -спирали или β -структуры за счет их объединения. В белке может быть несколько организованных таким образом участков глобулярной формы, каждый из которых получил название *домен*. Домен выполняет определенные функции.

Третичная структура белка — это расположение в пространстве всей полипептидной цепи. Большая часть белков на уровне третичной структуры принимает *глобулярную (шаровидную) форму*. Это связано в первую очередь с тем, что под влиянием полярного растворителя (воды) почти все неполярные гидрофобные радикалы аминокислот (лейцина, валина, фенилаланина и др.) располагаются внутри глобулы, объединяются между собой и сближаются на расстояния, доступные для слабого электростатического взаимодействия между ними — *гидрофобного взаимодействия*. Силы гидрофобного взаимодействия успешно обеспечивают сочетание прочности структуры белка и ее довольно значительной подвижности, что чрезвычайно важно для выполнения функций. Полярные радикалы (особенно аспартата, глутамата, лизина, аргинина) располагаются на внешней поверхности молекулы и находятся в ионизированном состоянии при физиологических значениях pH.

Помимо гидрофобных связей, которые являются определяющими в стабилизации пространственной структуры белка, значительная роль принадлежит *водородным связям и ионному взаимодействию*. В ряде белков, которые секретируются клеткой, дополнительная прочность структуры достигается *ковалентными дисульфидными связями* (рис. 1.4).

Изменение конформации белковой молекулы лежит в основе ее биологической активности. Под *конформацией* понимают расположение атомов или

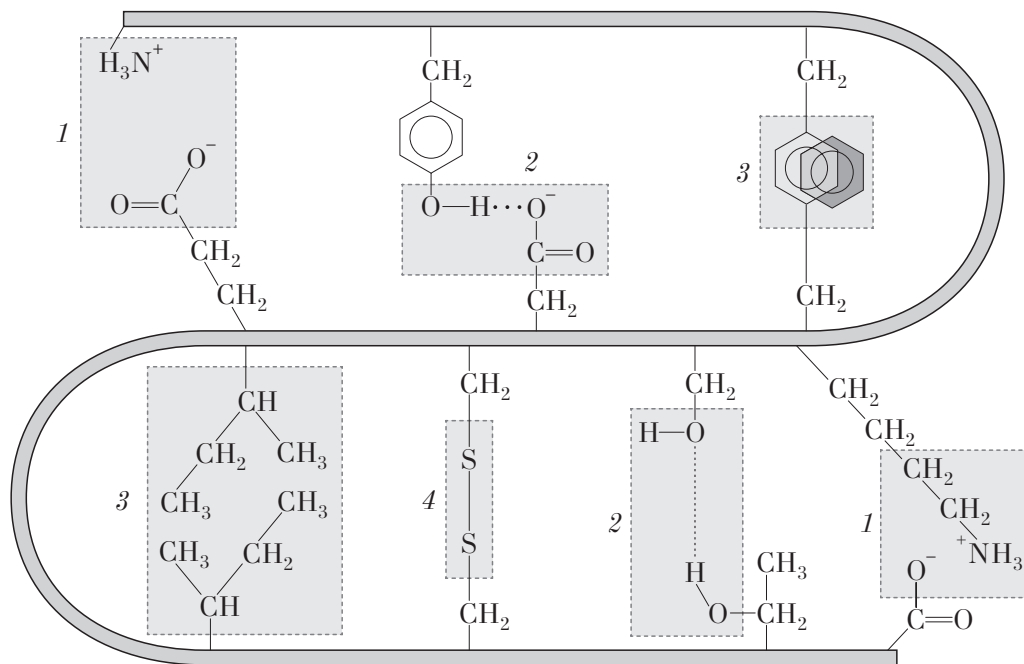


Рис. 1.4. Основные типы связей между радикалами аминокислот полипептидной цепи: 1 — электростатическое взаимодействие между положительно и отрицательно заряженными функциональными группами; 2 — водородные связи между гидрофильной незаряженной и любой другой гидрофильной группой; 3 — гидрофобное взаимодействие между гидрофобными радикалами; 4 — дисульфидные связи формируются за счет окисления SH-групп остатков цистеина и их взаимодействия друг с другом

групп атомов молекулы органического вещества, обусловленное вращением их вокруг ковалентных связей. Уникальная пространственная структура каждой белковой молекулы и ее возможности изменять эту структуру придают белкам способность выполнять многочисленные специфические функции.

В процессе формирования третичной структуры на поверхности белковых молекул образуются активные участки (*центры связывания лиганда*). **Лигандом** для белка называется молекула, с которой взаимодействует белок. Лигандами могут быть самые разные вещества: белки, углеводы, липиды, неорганические вещества, металлы.

Центр связывания лиганда у каждого белка имеет уникальное пространственное строение, что обуславливает его специфичность, т.е. способность взаимодействовать с определенной молекулой лиганда по принципу комплементарности. Под **комплементарностью** понимают пространственное и химическое соответствие молекул или их фрагментов (взаимодополнение). В процессе взаимодействия с лигандом между ним и центром связывания формируются химические связи. Они приводят к небольшому изменению

1.3. Изоферменты

конформации как участка связывания, так и молекулы лиганда. Такой механизм лежит в основе функционирования всех белков, в том числе ферментов.

Под **четвертичной структурой** понимают структуру белков, состоящих из нескольких полипептидных цепей. Каждая из этих цепей имеет свою первичную, вторичную и третичную структуры и носит название *субъединица*. Белок при таком объединении нескольких цепей приобретает новую функцию и называется *олигомерным белком*.

В олигомерных белках может быть несколько активных центров. Между субъединицами, как правило, образуются *нековалентные связи* (силы гидрофобного взаимодействия, ионные, водородные), хотя в ряде белков (например, белки плазмы крови) субъединицы соединены ковалентными дисульфидными мостиками.

Создание белков с четвертичной структурной организацией позволило Природе расширить свои возможности в области качественного разнообразия белков при незначительном увеличении количества генетического материала и уменьшить количество ошибок при синтезе. У олигомерных белков по сравнению с белками, обладающими тремя уровнями структурной организации, появляются качественно новые функции.

1.3. Изоферменты

Именно на уровне четвертичной структуры белков в клетках органов и тканей образуются ферменты, которые отличаются по строению, но при этом катализируют одинаковую химическую реакцию. Их называют *изоферментами*. Первичная структура изоферментов кодируется разными генами. Полагают, что изоферменты позволяют приспосабливаться к действию внутренних и внешних факторов путем изменения метаболизма.

Различают изоферменты *органные*, которые разнятся органной локализацией (например, α -амилаза, панкреатическая амилаза «изофермент Р» отличается по аминокислотной последовательности и свойствам от амилазы слюнных желез «изофермент S», ферменты гликолиза печени и мышц); *клеточные* — разнятся внутриклеточной локализацией (например, малатдегидрогеназа цитоплазмы и митохондрий); *гибридные* — образуются в результате нековалентного связывания двух и более субъединиц (например, лактатдегидрогеназа, креатинкиназа).

Окисление молочной кислоты (лактата) в организме катализируется ферментом лактатдегидрогеназой (ЛДГ). Молекула ЛДГ состоит из четырех полипептидных цепей, которые формируют четвертичную структуру фермента. У человека синтезируются две разные по составу ЛДГ-полипептидные цепи Н-типа (англ. heart — сердце) и М-типа (англ. muscle — мышцы), которые позволяют на уровне четвертичной структуры создавать пять различных комбинаций изоферментов ЛДГ. Так, ЛДГ₁ состоит из четырех Н-полипептидных

цепей, ЛДГ₂ — из трех Н- и одной М-цепи; ЛДГ₃ — из двух Н- и двух М-цепей; ЛДГ₄ — из трех М и одной Н и ЛДГ₅ — из четырех М-полипептидных цепей.



Все эти пять форм функционируют в организме, однако соотношение их в разных органах различно. Так, в сердце преобладают ЛДГ₁ и ЛДГ₂, а в мышцах — ЛДГ₄ и ЛДГ₅. Такая органоспецифичность изоферментов используется в диагностике для выяснения локализации патологического процесса.

1.4. Растворимость в воде и денатурация белков

Растворимость белков колеблется в широких пределах. Она определяется аминокислотным составом (полярные и неполярные аминокислоты), формой молекул (глобулярные белки лучше растворимы, чем фибриллярные) и свойствами растворителя.

Растворение связано с гидратацией белков, т.е. связыванием молекул воды с белками. Вокруг каждой молекулы белка образуется *гидратная оболочка*. Образование оболочки связано с наличием заряда у белковых молекул. Между зарядом белка и гидратацией существует тесная связь: чем больше полярных групп, тем больше связывается воды. При этом устойчивость белка в растворе зависит от *заряда белка, гидратной оболочки и молекулярной массы*.

Все воздействия, которые могут повлиять на заряд и гидратную оболочку, вызывают нарушения растворимости белка в воде. Менее стабильны белки в изоэлектрической точке, т.е. когда их заряд равен нулю. Снятие заряда путем изменения pH раствора позволяет молекулам сближаться, склеиваться и выпадать в осадок. Такой прием применяется при выделении ферментов из раствора.

Осаждение белков из водных растворов можно вызвать добавлением солей щелочноземельных металлов. Этот процесс называют **высаливанием**. Его механизм состоит в том, что анионы и катионы соли конкурируют с белками за воду и «отнимают» у них гидратную оболочку, являющуюся одним из факторов устойчивости. Высаливанием обычно пользуются в клинической практике при анализе белков сыворотки крови и других биологических жидкостей, а также в препаративной энзимологии для предварительного осаждения и удаления балластных белков или выделения исследуемого фермента.

Кроме солей гидратную оболочку белка можно разрушить органическими водоотнимающими средствами (этанол, ацетон, метанол), если их воздействие непродолжительно по времени. Различные концентрации этанола при температуре от -3 до -5 °C используются для тонкого разделения белков плазмы крови человека на фракции.

1.5. Свойства ферментов

Денатурацией называется нарушение пространственной структуры белковых молекул. В результате происходит необратимое осаждение белка из-за разрыва связей, стабилизирующих четвертичную, третичную и вторичную структуры, и полная потеря биологической активности.

Факторы, вызывающие денатурацию, делят на **физические** и **химические**. К физическим факторам относятся *нагревание, охлаждение, облучение* (ультрафиолетовое, рентгеновское, нейтронное и т.д.), *механическое встряхивание*. Химические факторы, вызывающие денатурацию, называют **денатурирующими агентами**. К ним относятся *кислоты, щелочи, ионы тяжелых металлов* (соли ртути, кадмия, свинца), *восстановители* (мочевина, соли гуанидина), *органические растворители*.

В медицинской практике денатурирующие агенты применяют для стерилизации медицинского инструмента и материала в автоклавах (действие высокой температуры) и в качестве антисептиков (хлорамин, фенол, спирт) для обработки загрязненных поверхностей.

В большинстве случаев денатурация белков необратима. Однако если действие денатурирующего агента было непродолжительным и не столь интенсивным, может происходить **ренатурация**, когда белки возвращают свою природную структуру.

Вооружившись представлениями о структуре и свойствах белковых молекул, вернемся к ферментам и рассмотрим их структуру, свойства и механизм функционирования.

1.5. Свойства ферментов

Ферменты обладают *специфическими свойствами*, которые обусловлены белковой природой ферментов.

1. Высокая молекулярная активность. Ферменты способны ускорять химическую реакцию в 10^8 и более раз. При этом одна молекула фермента при температуре 37 °С может катализировать превращение нескольких тысяч молекул субстрата. Так, *каталаза*, катализирующая расщепление пероксида водорода, снижает энергию активации более чем в 4 раза и ускоряет реакцию в 10^9 раз. Такая скорость катализа недостижима для небиологических катализаторов.

2. Высокая специфичность по отношению к своему субстрату или группе субстратов. Специфичность ферментов обусловлена комплементарностью молекул фермента и субстрата и уникальностью строения активного центра фермента, с которым взаимодействует субстрат.

3. Зависимость активности фермента от условий окружающей среды — температуры (термолабильность), pH, атмосферного давления. Оптимальными для большинства ферментов являются температура окружающей среды около 37–38 °С, нормальное атмосферное давление и близкий к нейтральному pH.

4. **Регулируемость активности ферментов.** Это свойство ферментов позволяет приспосабливаться к действию различных факторов за счет изменения скорости превращения веществ в организме. Из большого числа ферментов выделяют особый класс *регуляторных ферментов*, которые могут воспринимать различные метаболические сигналы и в соответствии с ними изменять свою каталитическую активность. Кроме того, одним из путей приспособления клеток организма является синтез дополнительных молекул ферментов (индукция).

5. **Способность образовывать полиферментные комплексы.** Под термином *полиферментные комплексы* понимают комплексы ферментов, которые включают несколько ферментов в одной структурной единице. Примерами могут служить пируватдегидрогеназный комплекс; дыхательная цепь ферментов в мембране митохондрий или синтаза жирных кислот в цитозоле; рибосомы, включающие набор ферментов для трансляции.

1.6. Взаимосвязь структуры и функции ферментов

Вернемся к основе функционирования любого белка, каковой является его способность взаимодействовать с лигандом. Для молекулы фермента в качестве лиганда выступает *субстрат* — то соединение, которое подвергается химическому превращению. Место же в пространственной структуре белка-фермента, где происходит такое связывание, носит название *активный центр*.

Активный центр в молекуле фермента — это определенный участок белковой молекулы, способный комплементарно связываться с субстратом и обеспечивать его каталитическое превращение. Аминокислоты, формирующие активный центр (обычно это 5–12 аминокислотных остатков), находятся в разных местах полипептидной цепи. При формировании третичной структуры они сближаются и формируют активный центр данного фермента (рис. 1.5).

В активном центре фермента имеются аминокислотные остатки, которые обеспечивают комплементарное связывание субстрата, — *контактные группы*.

Аминокислотные остатки, функциональные группы которых осуществляют химическое превращение субстрата, называются *каталитическими*, а аминокислотные остатки активного центра, которые ориентируют субстрат в пространстве по отношению к контактным и каталитическим, — *способствующими группами*. Вспомогательными называются аминокислотные остатки, находящиеся рядом с активным центром и непосредственно участвующие в преобразовании субстрата.

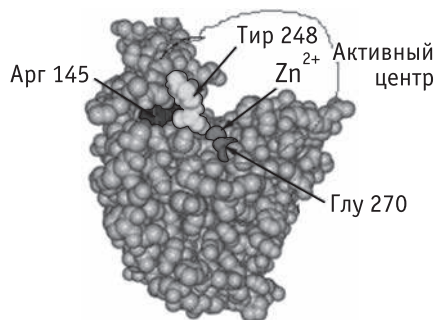


Рис. 1.5. Строение активного центра

1.6. Взаимосвязь структуры и функции ферментов

Строение активного центра лежит в основе проявления ферментами **специфичности действия**. Под этим термином понимают способность каждого конкретного фермента взаимодействовать с одним или несколькими субстратами. Специфичность может проявляться в разных формах.

Об **абсолютной субстратной специфичности** говорят в том случае, если фермент действует только на один субстрат (аргиназа на аргинин, уреаза на мочевины). Если фермент катализирует (ускоряет) превращение одного из возможных стереоизомеров субстрата, то он обладает **стереохимической специфичностью** (оксидаза L-аминокислот, оксидаза D-аминокислот). Некоторые ферменты ускоряют превращение нескольких субстратов, имеющих общий тип строения. Такой вид специфичности называют **групповой специфичностью**. Например, алкогольдегидрогеназа катализирует окисление одноатомных спиртов (этанола, метанола, пропанола) до альдегидов, а гексокиназа ускоряет фосфорилирование различных гексоз (глюкозы, фруктозы, галактозы).

Фермент может специфично взаимодействовать не только с субстратами, которые объединяет общий тип строения, но и с группой субстратов с определенным *типом связи* (фосфатазы катализируют гидролиз различных эфиров фосфорной кислоты, пептидазы — пептидных связей в различных белках и пептидах) — это тоже групповая специфичность.

Молекулярный механизм взаимодействия субстрата с активным центром позволяет уяснить *теория Кошленда*, получившая также название «**теория индуцированного соответствия**».

Пространственное соответствие субстрата и активного центра на молекуле белка достигается **индуцированно**, т.е. при их взаимном сближении возникают кратковременные взаимодействия между функциональными группами обоих участников, которые несколько изменяют их пространственное расположение, т.е. **конформацию**. Именно благодаря такой «деформации» достигается комплементарность. Между функциональными группами радикалов, входящих в активный центр, и субстратом образуются химические связи (ионные, водородные, гидрофобные), которые удерживают субстрат в активном центре (рис. 1.6).

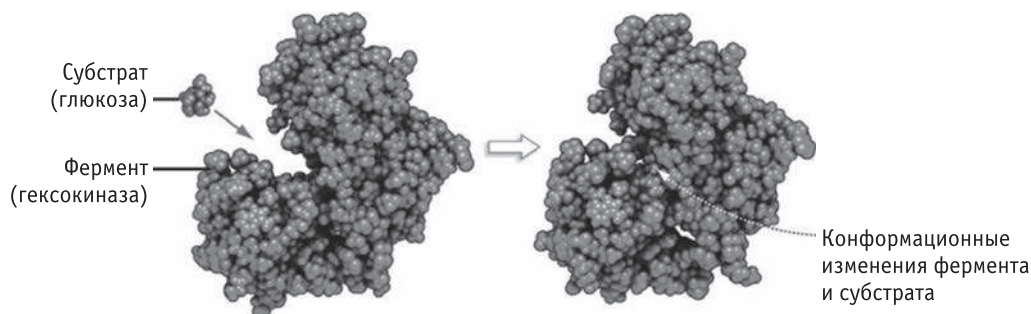


Рис. 1.6. Взаимодействие фермента с субстратом (индуцированное соответствие)

Изменение пространственного расположения функциональных групп в активном центре кооперативно вызывает небольшие изменения пространственного расположения функциональных групп (следовательно, связей между ними) в других участках молекулы белка. В результате фермент становится способен выполнить свою каталитическую функцию. Эту модель взаимодействия сравнивают с «рукой и перчаткой».

Исходя из этого механизма становится понятным влияние температуры окружающей среды и pH на активность фермента. Важно понимать, что любое изменение температуры окружающей среды или pH приводит к изменению активности ферментов. В случае температуры причиной является скорость взаимодействия фермента с субстратом вследствие броуновского движения молекул. Изменение же pH приводит к изменению диссоциации отдельных группировок молекулы фермента. Это, в свою очередь, вызывает перестройку ионного взаимодействия между химическими группами, что сказывается на пространственной структуре молекулы и, в частности, на пространственной структуре активного центра фермента.

Оптимальными для большинства ферментов являются температура окружающей среды около 37–38 °С, нормальное атмосферное давление и близкое к нейтральному pH. Исключения из этого правила есть, но их немного и по ходу рассмотрения других тем на них будет указано.

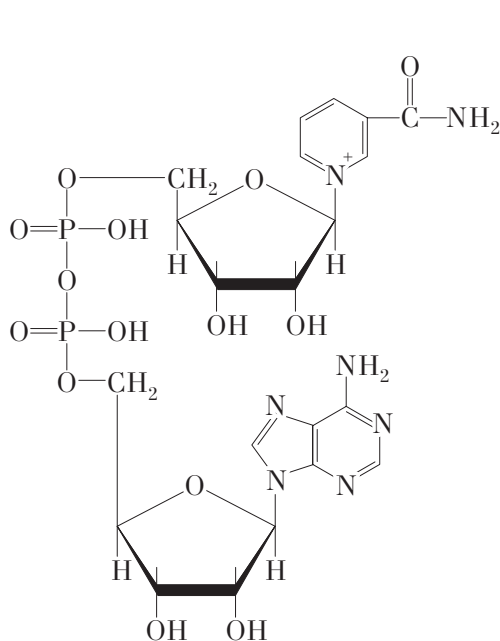
1.7. Коферменты

Ферменты могут быть однокомпонентными, т.е. состоять только из аминокислотных остатков, и двухкомпонентными. Небелковые компоненты, связанные с белковой частью, получили название *коферментов*, а белковую часть называют *апоферментом*. Кофермент с апоферментом образуют *холофермент*. Коферменты выполняют ряд функций. Основной является участие в ферментативном катализе. Находясь в активном центре фермента, коферменты выступают промежуточными переносчиками электронов, атомов водорода или различных функциональных групп (аминных, ацильных, карбоксильных). Кроме того, кофермент принимает участие в стабилизации структуры апофермента и обеспечивает необходимую конформацию активного центра для катализа.

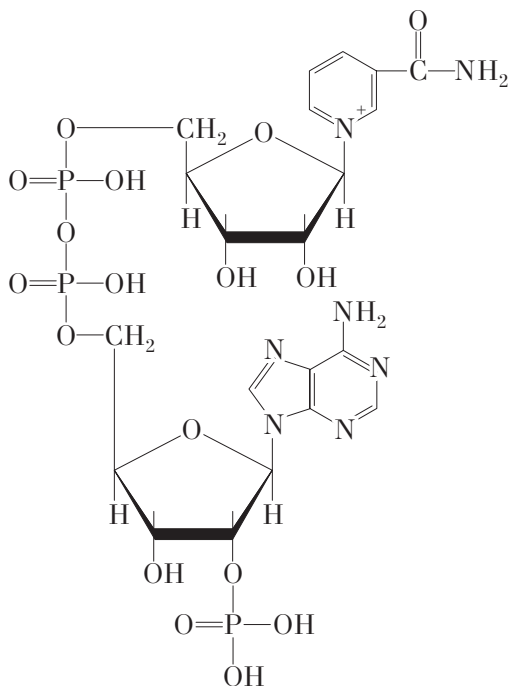
Роль коферментов могут выполнять различные соединения:

- коферменты, производные водорастворимых витаминов — тиаминдифосфат (ТДФ), никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ⁺), флавинонуклеотид (ФМН), флавинадениндинуклеотид (ФАД), метилкобаламин, карбоксибиотин и др.;

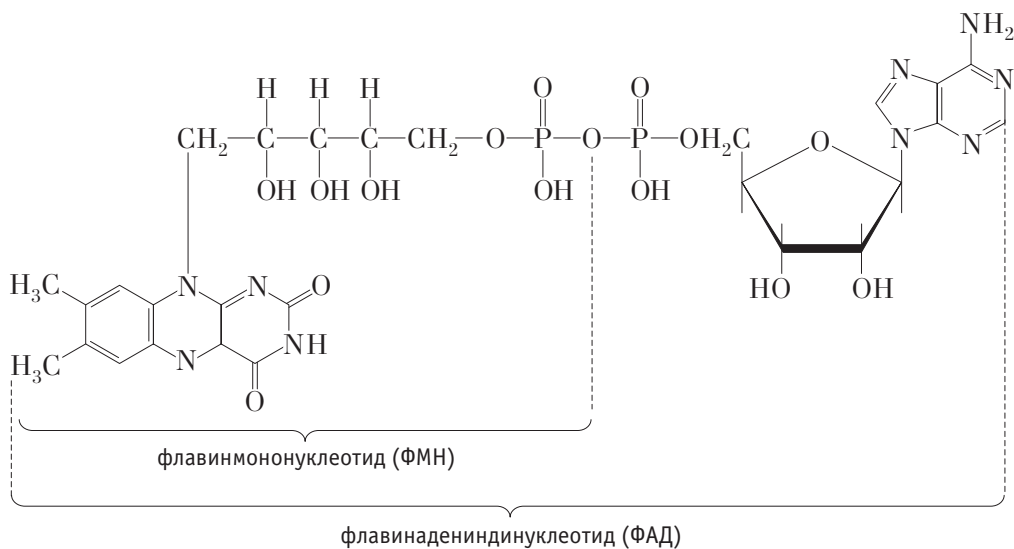
1.7. Коферменты



никотинамидадениндинуклеотид
(НАД⁺)



никотинамидадениндинуклеотидфосфат
(НАДФ⁺)

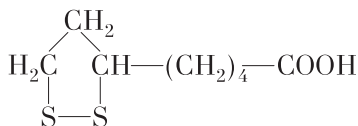


флавинмоноклеотид (ФМН)

флавинадениндинуклеотид (ФАД)

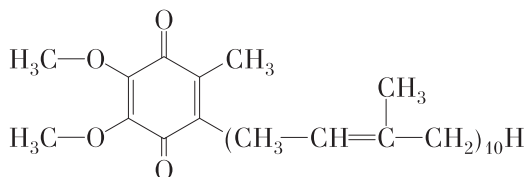
1. Ферменты — биологические катализаторы

- коферменты, производные витаминоподобных соединений;



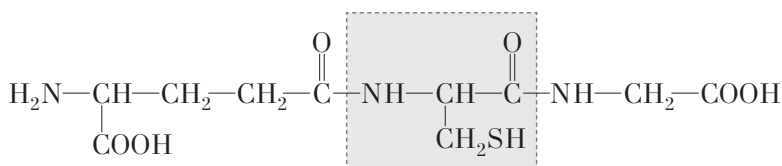
липоевая кислота

- хиноновые коферменты;



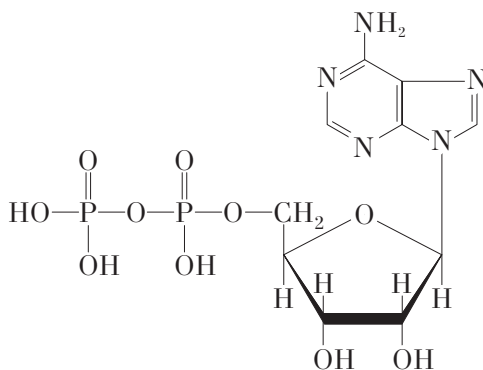
убихинон

- пептидные коферменты;



глутатион

- коферменты-моноклеотиды (УДФ ЦДФ);



УДФ

- коферменты-металлопорфирины — гем в составе каталазы, пероксидазы;
- коферменты-металлы, которые входят в состав различных ферментов: Zn^{2+} — в состав алкогольдегидрогеназы, Mo^{2+} — нитратредуктазы, Zn^{2+} , Co^{2+} —

1.8. Номенклатура и классификация ферментов

в состав металлопротеиназ. Так, в составе двухкомпонентного фермента — α -амилазы слюны — ионы кальция связаны с белковым компонентом и требуются ему как для проявления активности, так и для повышения стабильности его пространственной структуры.

1.8. Номенклатура и классификация ферментов

Первая попытка по созданию рациональной номенклатуры была предпринята в 1898 г. Тогда было предложено называть фермент по названию субстрата с прибавлением суффикса **-аза** (аргинин + аза — аргиназа; протеин + аза — протеиназа; ДНК + аза — ДНКаза). Позднее в названии фермента дополнительно стали использовать и тип катализируемой реакции, также добавляя суффикс **-аза** (рабочее название фермента), например, *лактат-дегидрогеназа*.

Для некоторых ферментов, таких как *пепсин*, *трипсин*, *химотрипсин*, *тромбин*, используется тривиальная номенклатура.

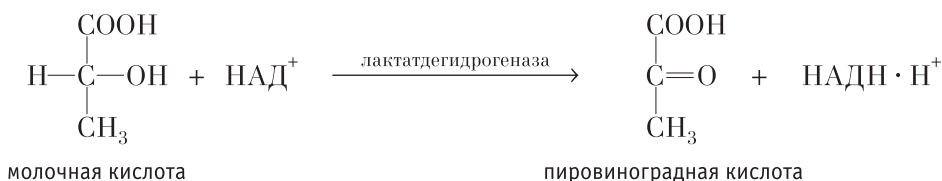
Систематическое название ферментов выглядит сложнее, однако оно по-прежнему включает названия субстратов — участников химической реакции, которую катализирует фермент, тип катализируемого превращения и суффикс **-аза**. Так, систематическое название фермента лактатдегидрогеназы имеет вид

L-лактат : НАД⁺-оксидоредуктаза.

Классификация ферментов (КФ) была предложена и утверждена Международным союзом биохимиков и молекулярных биологов в 1961 г. и включала шесть классов ферментов: оксидоредуктазы (КФ 1), трансферазы (КФ 2), гидролазы (КФ 3), лиазы (КФ 4), изомеразы (КФ 5) и лигазы (КФ 6). В основу классификации положен *тип катализируемой ферментом реакции*.

Класс 1. Оксидоредуктазы. Это класс ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные реакции, которые сопровождаются переносом атомов Н и О или электронов от одного субстрата к другому. В клетках млекопитающих функционируют дегидрогеназы, оксидазы, оксигеназы, пероксидазы.

Дегидрогеназы — группа ферментов, катализирующих перенос атомов водорода (двух протонов и пары электронов) от субстрата (органического вещества) к акцептору. В качестве акцептора выступает обычно НАД⁺/НАДФ⁺ или флавиновый кофермент, например ФАД или ФМН.

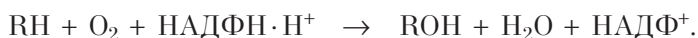


1. Ферменты — биологические катализаторы

Оксидазы катализируют перенос электронов непосредственно на кислород. Так, *цитохром-с-оксидаза* в клетках всех аэробных организмов катализирует конечный этап переноса электронов на кислород с последующим образованием воды и является важнейшим компонентом дыхательной цепи.



Оксигеназы — группа ферментов, катализирующих присоединение к субстрату двух (*диоксигеназы*) или одного (*монооксигеназы*) атомов кислорода. Монооксигеназы называют также *гидроксилазами*. Общий вид реакции, катализируемой гидроксилазой, имеет вид



Особое значение принадлежит системам гидроксилаз эндоплазматического ретикулума гепатоцитов. Реакции гидроксилирования с участием этих ферментов являются одним из ведущих механизмов превращения гидрофобных эндогенных соединений и лекарственных веществ в организме человека.

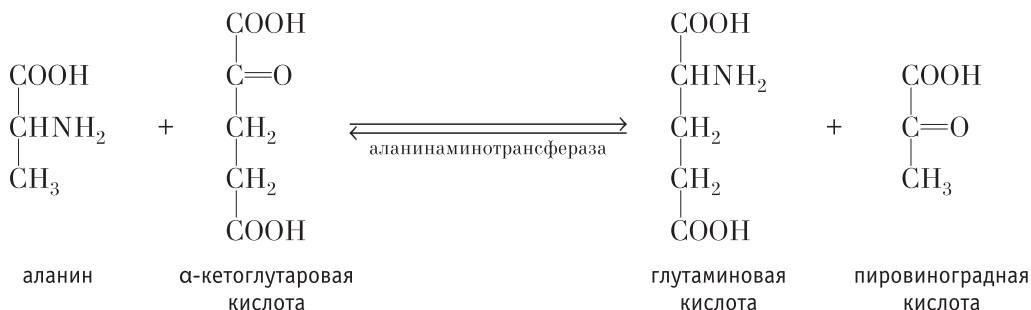
Пероксидазы и каталаза — ферменты, катализирующие реакции окисления различных веществ с помощью пероксида водорода. Например, глутатионпероксидаза катализирует такие реакции за счет восстановления пероксида водорода до воды. Каталаза катализирует непосредственное расщепление пероксида водорода на воду и молекулярный кислород.



Класс 2. Трансферазы. Катализируют перенос атомов или группы атомов с одной молекулы субстрата на другую.



В зависимости от переносимой группы выделяют аминотрансферазы, ацилтрансферазы, метилтрансферазы, фосфотрансферазы (киназы).

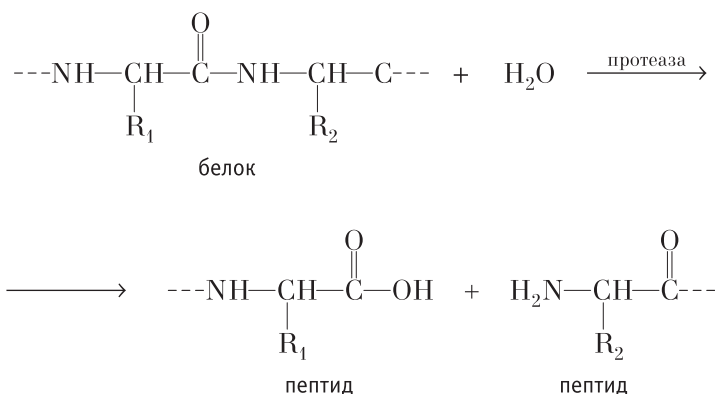


1.8. Номенклатура и классификация ферментов

Класс 3. Гидролазы. Катализируют гидролиз химических связей. Примеры гидролаз: пепсин, липаза, амилаза.

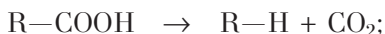


Для отдельных классов гидролаз применимы специальные термины, характеризующие гидролиз определенной химической связи: эстеразы, фосфатазы, протеазы и др.

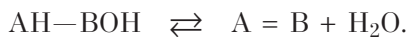


Класс 4. Лиазы. Катализируют реакции негидролитического и неокислительного разрыва C—C-, C—N-, C—O- или C—S-связей в субстрате:

- реакции негидролитического расщепления веществ, например *декарбоксилирование*:



- реакции отщепления групп с образованием двойной связи или присоединения групп по двойной связи, например *дегидратация*:



Класс 5. Изомеразы. Группа ферментов, катализирующих внутримолекулярные перестановки, реакции *изомеризации*:

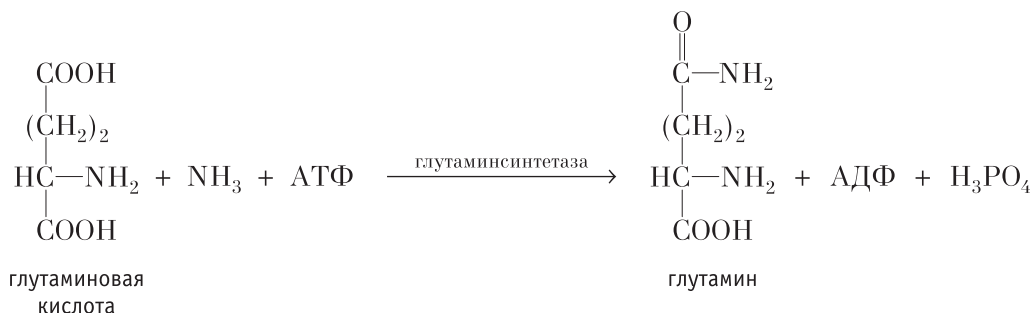


Класс включает рацемазы, эпимеразы, *цис-транс*-изомеразы, мутазы, топоизомеразы.

Класс 6. Лигазы (синтетазы). Группа ферментов, катализирующих соединение двух молекул в результате синтеза новой C—O-, C—S-, C—N- или C—C-связи, сопряженного с одновременным гидролизом АТФ или иного нуклеозидтрифосфата:



Пример: глутаминсинтетаза.



После того как стало очевидным, что ни один из шести классов не может описать важную группу ферментов, которые катализируют движение молекул и ионов через мембраны или их распределение в разных отсеках клетки, комитет по номенклатуре в 2018 г. добавил новый класс ферментов — «Транслоказы» (КФ 7).

Класс 7. Транслоказы. Группа ферментов, катализирующих перемещение молекул или ионов через мембраны. Например, у эукариотов АДФ/АТФ-транслоказа доставляет АДФ из цитозоля в митохондрии, а АТФ — из митохондриального матрикса в цитозоль. Другой фермент, карнитин-ацилкарнитин-транслоказа, катализирует перенос остатка жирной кислоты, связанного с карнитином, в межмембранном пространстве митохондрий с наружной мембраны на внутреннюю. Этот фермент ответственен за поступление жирных кислот (их остатки называются «ацилы») в митохондриальный матрикс, где они затем подвергаются β -окислению.

Шифр фермента описывается совокупностью четырех чисел, разделенных точками, и отражает его положение в классификации: первая цифра характеризует *класс* фермента, вторая — *подкласс*, третья — *подподкласс*. Каждый подподкласс представляет собой список ферментов. Порядковый номер фермента в этом списке — четвертая цифра кода. Например, шифр креатинфосфокиназы — 2.7.3.2. Этот фермент катализирует реакцию фосфорилирования креатина. Систематическое название фермента АТФ — *креатинфосфотрансфераза*, рабочее — *креатинкиназа*.

1.9. Общее представление о катализе

Вероятность протекания химической реакции определяется разницей между свободной энергией исходных веществ и продуктов реакции. Если свободная энергия у исходных веществ выше, чем у продуктов (ΔG отрицательная), то возможно самопроизвольное протекание реакции (реакция *экзергоническая*). При обратном соотношении в показателях свободной энергии

1.9. Общее представление о катализе

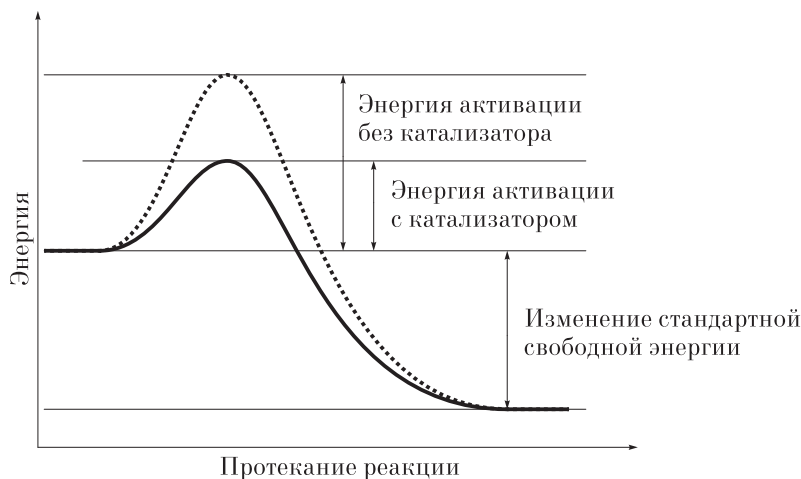


Рис. 1.7. Сравнительное изменение свободной энергии в ходе химической реакции, катализируемой ферментом

самопроизвольное протекание реакции энергетически невозможно (реакция *эндэргоническая*).

Энергия, необходимая для начала химической реакции, называется **энергией активации**. Она необходима для того, чтобы молекулы, участвующие в реакции, могли перейти в *реакционноспособное (активное) состояние*.

Диаграмма изменений свободной энергии в ходе химической реакции представлена в виде графика на рис. 1.7. Чем выше энергия активации, тем выше энергетический барьер и тем медленнее протекает реакция.

Механизм ферментативного катализа. Механизм направлен на то, чтобы понизить *энергетический барьер*, или энергию активации процесса. Это достигается разделением реакции на отдельные этапы благодаря участию фермента (рис. 1.8). Каждый новый этап обладает более низкой энергией активации.

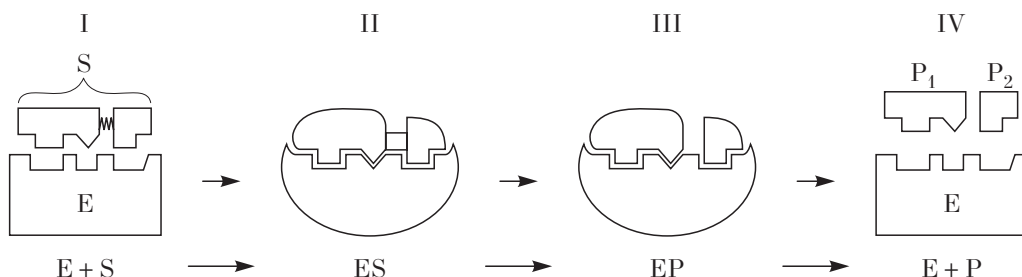


Рис. 1.8. Этапы ферментативного катализа:
 E — фермент, S — субстрат, ES — фермент-субстратный комплекс,
 EP — комплекс фермент-продукт, P — продукт

Реакция идет как бы в обход энергетического барьера, в чем практически и заключается повышение скорости реакции.

На I этапе ферментативного катализа происходит сближение и ориентация субстрата в области активного центра фермента. На II этапе образуется фермент-субстратный (ES) комплекс благодаря изменению конформации субстрата и активного центра фермента. На III этапе происходит дестабилизация связей в субстрате и образуется нестабильный комплекс фермент-продукт (EP). В последующем (IV этап) этот комплекс распадается с высвобождением продуктов (P) реакции из активного центра и неизмененного фермента (E).

1.9.1. Основы кинетики ферментативного катализа

Кинетика ферментативных реакций изучает зависимость скорости химических реакций, катализируемых ферментами, от химической природы реагирующих веществ и факторов окружающей среды.

Активность ферментов и единицы активности. О деятельности ферментов судят по их активности. Активность ферментов отражает скорость ферментативной реакции. Понятие «активность фермента» идентично понятию «скорость ферментативной реакции».

В общем виде, под **активностью** понимают количество фермента, которое при определенных условиях катализирует превращение определенного количества субстрата в единицу времени. Активность фермента, или скорость ферментативной реакции, определяется уменьшением количества молекул субстрата или увеличением количества молекул продукта за единицу времени.

Единица активности фермента обозначается символами **U** (unit — единица) или **МЕ** (международная единица). 1 U соответствует такому количеству фермента, который катализирует превращение 1 мкмоль субстрата за 1 мин при оптимальных условиях (температура 37 °С, оптимальное значение pH раствора) проведения реакции.

В системе СИ единицей ферментативной активности является **катал** (кат). 1 кат соответствует такому количеству фермента, который катализирует превращение 1 моль субстрата за 1 с при оптимальных условиях проведения реакции. В сравнении с международной единицей

$$1 \text{ U} = 16,67 \text{ нкат} \quad (1 \text{ нкат} = 1 \times 10^{-9} \text{ кат}).$$

В практике клинических и аналитических лабораторий широко пользуются понятием **удельная активность**. При этом число стандартных единиц пересчитывают на какую-либо единицу сравнения (чаще количество белка (мг) в пробе или объем (мл) исследуемой биологической жидкости). Это необходимо для сравнения активности различных ферментов или активности одного и того же фермента в разных клетках, тканях, органах.

1.9. Общее представление о катализе

1.9.2. Факторы, определяющие активность ферментов

На активность ферментов оказывают влияние температура, pH, концентрация субстрата и концентрация участников реакции.

Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры. Ферментативные реакции, как и любое химическое превращение, в значительной степени зависят от температурных условий. С увеличением температуры повышается скорость химической реакции (повышение температуры на 10 °C удваивает скорость химической реакции). Однако скорость ферментативной химической реакции имеет свой *температурный оптимум*, превышение которого сопровождается снижением ферментативной активности. Это связано с тем обстоятельством, что все ферменты являются белками, а белки при температуре выше 50 °C в большинстве своем денатурируют. Для большинства ферментов оптимальной является температура 37–38 °C (рис. 1.9).

Влияние температуры на активность ферментов очень важно для понимания процессов жизнедеятельности. Скорость ферментативных реакций при охлаждении тела замедляется, и напротив, при повышении температуры биохимические процессы, катализируемые ферментами, ускоряются. В практической медицине это позволяет разрабатывать определенные методы лечения с использованием как высоких, так и низких температур.

Зависимость скорости реакции от pH среды. Существенное влияние на активность ферментов оказывает реакция среды. Для проявления их оптимального действия чаще всего существует узкий диапазон измерения pH среды — *pH-оптимум*. Многие ферменты имеют схожие значения pH-оптимума.



Рис. 1.9. Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры

Относительно редко встречаются случаи, когда рН-оптимум активности ферментов находится в сильноокислой или щелочной среде. Например, *пепсин* желудочного сока имеет рН-оптимум около 2 (рис. 1.10). рН-Оптимум *трипсина*, фермента панкреатического сока, составляет $\sim 7,8$.

Причина влияния рН среды на активность ферментов заключается в том, что изменение этого показателя приводит к изменению *степени ионизации* аминокрупп (NH_3^+) и карбоксильных групп (COO^-) в молекуле фермента. В результате белковая молекула фермента подвергается конформационной перестройке. Это оказывает влияние на взаимоотношение между ферментом и субстратом.

Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата и фермента. Кинетические характеристики ферментативной реакции зависят от *концентрации реагирующих веществ*. Исследование зависимости скорости ферментативных реакций от концентрации реагирующих веществ привело Л. Михаэлиса и М. Ментен в 1913 г. к созданию теории действия ферментов и ферментативной кинетики.

Любая ферментативная реакция описывается уравнением



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

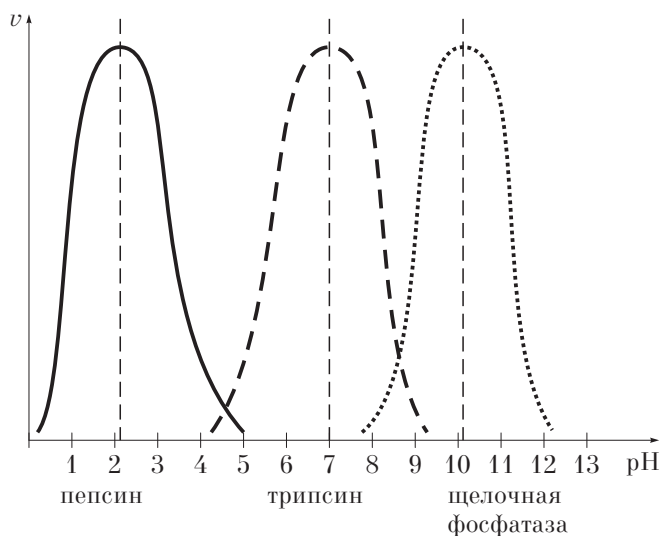


Рис. 1.10. Зависимость скорости ферментативной реакции (v) от рН среды

1.9. Общее представление о катализе

Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата описывается *уравнением Михаэлиса — Ментен*:

$$v = \frac{[S]v_{\max}}{[S] + K_M},$$

где v — скорость реакции; v_{\max} — максимальная скорость реакции; K_M — константа Михаэлиса; $[S]$ — концентрация субстрата.

Если исходить из того, что концентрация фермента — величина неизменная, а изменяется только количество субстрата, то графическая зависимость скорости ферментативной реакции (v) от **концентрации субстрата** описывается гиперболой (рис. 1.11).

При увеличении количества субстрата и данной концентрации фермента начальная скорость реакции увеличивается. Отмечается прямая зависимость между концентрацией субстрата и активностью фермента (*реакция первого порядка*). При дальнейшем повышении концентрации субстрата имеет место всё большее отклонение от прямой зависимости, прирост активности отстает от прироста субстрата (*реакция второго порядка*).

Дальнейшее повышение концентрации субстрата ведет к тому, что скорость реакции достигает максимума v_{\max} и далее не увеличивается, т.е. в данном случае активность фермента уже не зависит от концентрации субстрата (*реакция нулевого порядка*). Это происходит тогда, когда фермент полностью насыщен субстратом, т.е. образовалось максимально возможное количество фермент-субстратных комплексов при данной концентрации фермента. Такое

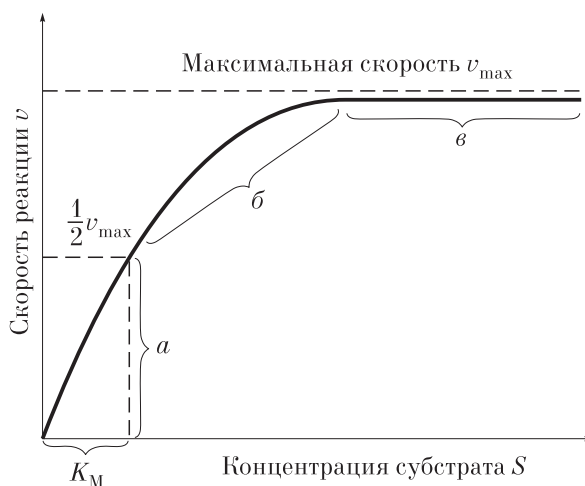


Рис. 1.11. Зависимость скорости ферментативной реакции (v) от концентрации субстрата $[S]$ при постоянной концентрации фермента:

a — реакция первого порядка; b — реакция смешанного порядка; v — реакция нулевого порядка; K_M — константа Михаэлиса; $\frac{1}{2}v_{\max}$ — половина максимальной скорости

состояние соответствует максимальной скорости реакции (v_{\max}). Величина v_{\max} характеризует каталитическую активность фермента и означает максимальную возможность образования продукта в условиях избытка субстрата и данной (неизменной) концентрации фермента.

Основной кинетической характеристикой фермента является **константа Михаэлиса** (K_M), численно равная концентрации субстрата, при которой достигается половина максимальной скорости химической реакции. Константа Михаэлиса является величиной постоянной для данного фермента и характеризует его сродство к субстрату. Чем больше K_M , тем меньше сродство фермента к субстрату, и наоборот, чем меньше K_M , тем больше сродство фермента к данному субстрату.

Практически рассчитать значения K_M и v_{\max} , пользуясь кривой, описываемой уравнением Михаэлиса — Ментен, сложно. Более удобно, оказалось, определять эти параметры в координатах «двойных обратных величин». Уравнение Михаэлиса — Ментен в этом случае преобразуется в уравнение Лайнуивера — Берка и приобретает следующий вид:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M + [S]}{v_{\max} [S]} = \frac{K_M}{v_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\max}}.$$

Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата приобретает вид прямой линии (график Лайнуивера — Берка) (рис. 1.12).

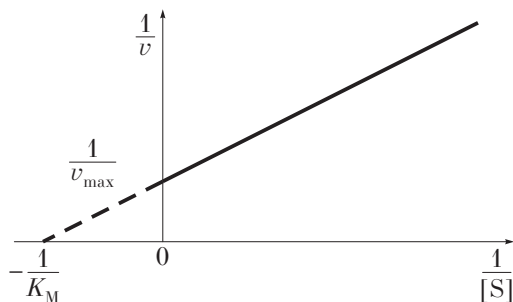


Рис. 1.12. График зависимости скорости реакции от концентрации субстрата.

Метод «двойных обратных величин» (график Лайнуивера — Берка)

Такой способ выражения позволяет более точно рассчитать значения K_M и скорость реакции. Пересечение линии с осью $1/[S]$ позволяет вычислить значение K_M , а пересечение с осью $1/v$ — значение максимальной скорости.

Зависимость скорости реакции от концентрации фермента. Эта зависимость носит линейный характер. Удвоение количества фермента удваивает его активность, следовательно, и скорость протекания катализируемой реакции.

1.9. Общее представление о катализе

1.9.3. Активаторы и ингибиторы активности ферментов

Скорость ферментативной реакции, как и активность фермента, определяется присутствием в среде веществ — **активаторов** и **ингибиторов**. Первые *активируют ферменты* и повышают скорость реакции, вторые *тормозят (ингибируют) ферменты* и снижают скорость химической реакции.

Активирующее влияние на скорость ферментативной реакции оказывают разнообразные вещества органической и неорганической природы. Особенно часто активаторами выступают ионы металлов, макро- и микроэлементы — Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Mo, Co, Se. Известны ферменты, действие которых активируется ионами нескольких металлов. Например, енолаза активируется Mg^{2+} , Mn^{2+} и K^+ . Анионы в физиологических концентрациях не оказывают активирующее влияние на ферменты. Исключение составляют амилаза слюны, активность которой повышается при действии ионов хлора.

Ингибиторы вызывают частичное (обратимое) или полное (необратимое) снижение каталитической активности ферментов. Ингибиторами могут быть нормальные метаболиты, образующиеся в клетках в процессе жизнедеятельности, или искусственно синтезированные молекулы, используемые для исследования механизмов ферментативного катализа и выяснения роли отдельных ферментов в метаболических путях. Многие токсические вещества являются ингибиторами ферментов и их токсичность связана с тем, что они замедляют или останавливают катализ реакций метаболизма в клетке. Некоторые из них специфичны для отдельных организмов или групп организмов, и могут использоваться как антибиотики, пестициды, гербициды.

Ингибиторы характеризуются таким общим признаком, как прочность связывания с ферментом. По этому признаку ингибиторы подразделяются на **обратимые** и **необратимые** (рис. 1.13). Необратимые ингибиторы связываются ковалентной связью с ферментом и формируют стабильный комплекс, вызывая тем самым необратимое торможение активности фермента.

Напротив, обратимые ингибиторы связываются с ферментом слабыми нековалентными связями, образуя непрочный комплекс фермент — ингибитор,

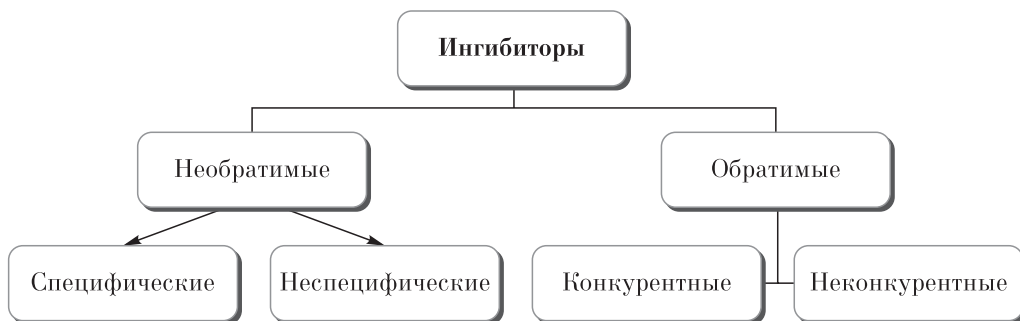


Рис. 1.13. Классификация ингибиторов ферментов

1. Ферменты — биологические катализаторы

который при определенных условиях легко диссоциирует, и активность фермента восстанавливается.

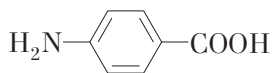
По механизму действия обратимые ингибиторы подразделяются на конкурентные и неконкурентные.

В случае *конкурентного торможения* ингибитор является структурным аналогом субстрата. В силу своей схожести ингибитор и субстрат конкурируют за связывание с активным центром фермента. В этом случае с ферментом взаимодействует либо субстрат, либо ингибитор, образуя фермент-субстратный комплекс или комплекс фермент — ингибитор. При формировании комплекса фермент — ингибитор продукт реакции не образуется.

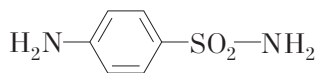
Отличительная особенность конкурентного ингибирования заключается в возможности его устранения повышением концентрации субстрата (избытком субстрата). Поэтому при высоких концентрациях субстрата скорость реакции не отличается от таковой в отсутствие ингибитора, т.е. конкурентный ингибитор не изменяет v_{\max} , но повышает K_M . Такой способ торможения активности называют *изостерическим*.

Классический пример конкурентного ингибирования — ингибирование сукцинатдегидрогеназы малонатом. Сукцинатдегидрогеназа катализирует обратимое окисление янтарной кислоты (сукцината) до фумаровой кислоты в цикле трикарбоновых кислот. Малоновая кислота является структурным аналогом сукцината. Поэтому она встраивается в активный центр сукцинатдегидрогеназы. Однако реакция окисления малоновой кислоты при участии этого фермента невозможна и продуктов реакции не образуется.

Бактериостатическое действие сульфаниламидов заключается в том, что благодаря структурному сходству с парааминобензойной кислотой (ПАБК) сульфаниламиды замещают ПАБК в активном центре фермента дигидроптеоратсинтазы, который катализирует в составе бактерий синтез фолиевой кислоты.



p-аминобензойная кислота



сульфаниламид

Фолиевая кислота необходима им в качестве кофермента при синтезе нуклеотидов. В результате нарушается образование нуклеиновых кислот, следовательно, рост и развитие микроорганизмов.

В случае *неконкурентного обратимого торможения* ингибитор не является структурным аналогом субстрата. Ингибитор взаимодействует с ферментом не в активном центре, а в ином участке. Ингибитор способен присоединяться как к свободному ферменту, так и к фермент-субстратному комплексу с одинаковой эффективностью. Ингибитор вызывает такие конформационные изменения активного центра, которые не позволяют ферменту превращать субстрат в продукт.

1.10. Регуляция скорости ферментативных реакций

При неконкурентном ингибировании ингибитор снижает величину максимальной скорости. Наиболее важными неконкурентными ингибиторами являются образующиеся в живой клетке *промежуточные продукты метаболизма*, способные обратимо связываться с определенными участками ферментов (аллостерическими центрами) и изменять их активность. Механизмы аллостерической регуляции будут рассмотрены далее.

Необратимые ингибиторы снижают ферментативную активность в результате образования ковалентных связей с молекулой фермента. Чаще всего необратимые ингибиторы связываются с активным центром фермента, блокируя определенные функциональные группы. Такие ингибиторы называются **специфическими**. Их используют для изучения структуры активного центра ферментов. Так, диизопропилфторфосфат (ДФФ) относится к специфическим ингибиторам сериновых ферментов.

Ингибиторы, которые способны образовывать ковалентные связи с определенными группами не только в активном центре, но и в любом участке молекулы фермента, называют **неспецифическими ингибиторами**. В качестве примера неспецифического ингибитора можно назвать йодацетат, который взаимодействует с сульфгидрильными группами молекул фермента, расположенными в любом участке фермента, что приводит к снижению его каталитической активности.

В качестве необратимых ингибиторов выступают некоторые лекарственные средства. Так, терапевтическое действие аспирина как жаропонижающего и противовоспалительного средства объясняется тем, что он ингибирует фермент циклооксигеназу (ЦОГ). Этот фермент катализирует синтез внутриклеточных гормонов — простагландинов, участвующих в развитии воспаления. ОН-Группы серина в активном центре циклооксигеназы взаимодействуют с ацетильным остатком аспирина. В результате ингибированные молекулы этого фермента не восстанавливают свою активность.

1.10. Регуляция скорости ферментативных реакций

Быстрая ответная реакция клетки на постоянно меняющиеся условия внешней среды требует тонкой и согласованной регуляции скорости той или иной химической реакции. Скорость ферментативных реакций регулируется в организме тремя принципиально разными *механизмами*: 1) путем изменения количества фермента; 2) путем изменения активности имеющегося количества ферментов; 3) путем регуляции количества субстратов и продуктов реакции.

Изменение количества ферментов обеспечивается как влиянием на их синтез (регуляция транскрипции, трансляции и посттрансляционной модификации белковой молекулы), так и на механизмы распада молекул ферментов (в цитозоле и лизосомах). Эти механизмы для своего проявления требуют

довольно много времени и не могут поддерживать гомеостаз при быстрых изменениях уровня метаболитов в клетке.

Различают следующие основные механизмы регуляции активности ферментов:

- *изостерическая регуляция* (механизм рассматривался ранее при описании конкурентного ингибирования);
- *регуляция путем белок-белковых взаимодействий*, когда активность белка изменяется при связывании с другими белками. Такое взаимодействие оказывает влияние на кинетические параметры фермента за счет изменения конформации и может приводить к его активации или инактивации (например, при связывании фермента с белком-ингибитором);
- ковалентная модификация фермента (всегда сопряжена с изменением первичной структуры белка):
 - обратимая регуляция путем фосфорилирования/дефосфорилирования, ацетилирования/деацетилирования и др.;
 - необратимая регуляция частичным (ограниченным) протеолизом.

1.10.1. Аллостерическая регуляция

Торможение и активация по аллостерическому механизму имеют большое значение для регуляции обмена веществ.

Аллостерическая регуляция ферментов основана на связывании эффектора с **аллостерическим центром** фермента. Связывание с эффектором происходит по принципу комплементарности и индуцированного соответствия (см. с. 27). В результате происходит изменение пространственного расположения функциональных групп в аллостерическом центре. Далее реализуется принцип кооперативности мономеров в полимере. Тем самым изменяется пространственное расположение функциональных групп в других участках молекулы белка-фермента. Это приводит к изменению взаимодействия субстрата с ферментом. Фактически, такая перегруппировка конформационного состояния молекулы фермента приводит к изменению количества активных или неактивных его форм, т.е. к активации или ингибированию фермента (рис. 1.14).

Эффектор присоединяется к аллостерическому центру регуляторной полипептидной цепи (субъединицы) аллостерического фермента с последующим изменением конформации активного центра. В результате увеличивается способность фермента взаимодействовать с субстратом. Образуется фермент-субстратный комплекс.

В роли эффекторов выступают внутриклеточные метаболиты и продукты реакций, такие как пируват, глюкозо-6-фосфат, цитрат, ацетил-КоА, АТФ, АМФ и др. В различных цепях химических превращений возможно разнонаправленное влияние одного и того же эффектора. Так действует, например,

1.10. Регуляция скорости ферментативных реакций

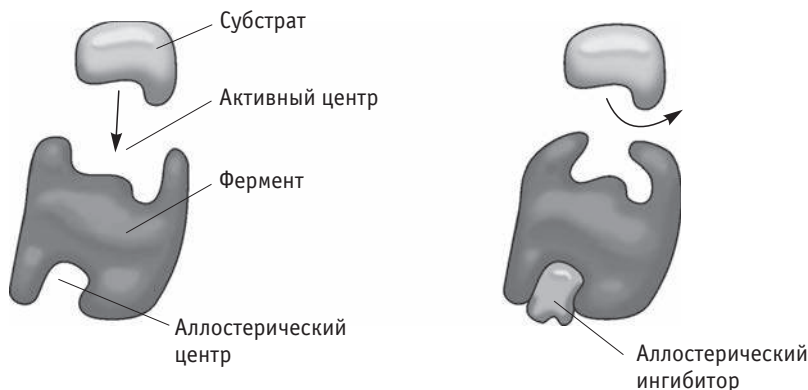


Рис. 1.14. Схема строения и функционирования аллостерического фермента

цитрат. Он ингибирует окисление глюкозы до ацетил-КоА и одновременно активирует использование ацетил-КоА для синтеза жирных кислот. Это обусловлено способностью одного и того же метаболита связываться в аллостерических центрах различных ферментов, изменяя при этом активность последних в ту или иную сторону.

Ферменты, активность которых регулируется вышеописанным механизмом, называются *аллостерическими*. Они имеют следующие особенности строения и функционирования:

- состоят из нескольких субъединиц, т.е. являются олигомерными белками;
- содержат *активный* и *аллостерический* (регуляторный) центры, которые располагаются на разных субъединицах (протомерах). Некоторые ферменты имеют несколько аллостерических центров. Та субъединица, где находится активный центр, называется *каталитической*, а та, на которой расположен аллостерический центр, — *регуляторной*;
- при функционировании наблюдается эффект кооперативности. Это означает, что взаимодействие эффектора с аллостерическим центром фермента вызывает конформационное изменение всех субъединиц молекулы фермента, в том числе каталитических субъединиц, где располагается активный центр. В результате изменения его аффинности (сродства) к субстрату увеличивается (в случае присоединения положительного эффектора) или снижается (в случае присоединения отрицательного эффектора) скорость катализируемой этим ферментом реакции;
- регуляция аллостерических ферментов обратима, так как эффекторы присоединяются к аллостерическому центру нековалентными связями;
- аллостерические ферменты катализируют *ключевые реакции* метаболического пути, к которым относятся необратимые и самые медленные реакции;
- кинетику аллостерических ферментов нельзя описать с помощью простой модели Михаэлиса — Ментен. Для них характерна сигмоидная (S-образная) форма кривой зависимости скорости реакции от концентрации субстрата.

К аллостерической регуляции относятся:

- *ретроингибирование*, или *регуляция по принципу обратной связи*, когда избыток конечного продукта тормозит активность ключевого фермента своего синтеза. В результате вся цепь реакций регулируется конечным продуктом (рис. 1.15);

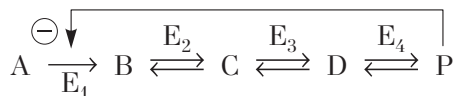


Рис. 1.15. Схематическое изображение ретроингибирования:

E_1, E_2, E_3, E_4 — ферменты, катализирующие последовательно превращение метаболита А в продукт Р

- *перекрестная регуляция* (сочетание ингибирования и активации), когда избыток нуклеотидов (пуриновых или пиримидиновых) тормозит активность ферментов, катализирующих синтез одних нуклеотидов, но активирует ферменты, катализирующие синтез других нуклеотидов;

- *активация предшественником (форактивация)* — первый метаболит в многоступенчатом процессе активирует фермент, катализирующий последнюю реакцию (рис. 1.16). Например, при синтезе гликогена глюкозо-6-фосфат (предшественник гликогена), образующийся в ходе первой реакции, оказывает активирующее влияние на гликогенсинтазу, последний фермент данного процесса.

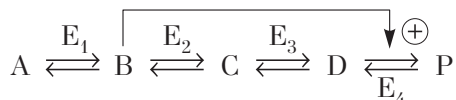


Рис. 1.16. Схематическое изображение форактивации

1.10.2. Регуляция активности ферментов с помощью белок-белковых взаимодействий

Некоторые ферменты изменяют свою каталитическую активность в результате белок-белковых взаимодействий. Например, панкреатическая липаза секретируется поджелудочной железой в просвет двенадцатиперстной кишки в виде неактивного фермента — пролипазы. В просвете кишечника происходит активация и стабилизация пролипазы путем образования комплекса с низкомолекулярным белком — колипазой.

Активация аденилатциклазы и фосфолипазы C, ферментов, локализованных в плазматической мембране клеток, происходит путем взаимодействия с α -субъединицей регуляторного G-белка (подробно этот процесс будет рассмотрен в главе 8 при изучении механизмов передачи гормональных сигналов в клетке).

1.10. Регуляция скорости ферментативных реакций

Примером ингибирования ферментов в результате присоединения регуляторных белков являются *серпины* (от англ. **serine protease inhibitor**). Они обладают способностью ингибировать сериновые протеазы (имеющие остаток аминокислоты серина в активном центре). Такие протеазы участвуют в переваривании белков пищи, процессах свертывания крови, фибринолиза.

1.10.3. Обратимая ковалентная модификация структуры ферментов

Этот тип регуляции активности фермента заключается в присоединении к молекуле фермента или отщеплении от нее небольшой группы атомов. Чаще речь идет об остатке фосфорной кислоты (*фосфорилирование* или *дефосфорилирование* ферментов). Фосфорилированию подвергаются ОН-группы фермента при участии протеинкиназ, а дефосфорилирование катализируют фосфопротеинфосфатазы (рис. 1.17). Изменение активности происходит вследствие изменения первичной структуры белка-фермента. Это влечет за собой изменение его вторичной и третичной структуры, тем самым его активности.

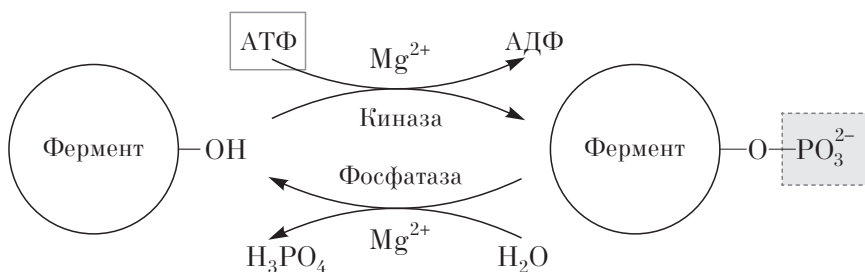


Рис. 1.17. Схема регуляции активности ферментов фосфорилированием/дефосфорилированием

Активность протеинкиназ и фосфопротеинфосфатаз регулируется гормонами, что позволяет быстро изменять активность ключевых ферментов метаболических путей в зависимости от условий внешней среды. Одни ферменты при дефосфорилировании активируются, другие, напротив, становятся менее активными.

1.10.4. Необратимая ковалентная модификация структуры ферментов

Ограниченный протеолиз является примером необратимой ковалентной модификации структуры ферментов (регуляции каталитической активности ферментов). *Протеолиз* — процесс расщепления белков, который катализируют ферменты-протеазы.

Ферменты, функционирующие вне клеток (в желудочно-кишечном тракте или в плазме крови), синтезируются в виде неактивных предшественников.

Они активируются только в результате гидролиза одной или нескольких пептидных связей, что приводит к отщеплению части белковой молекулы-предшественника. В оставшейся части белковой молекулы происходит конформационная перестройка и формируется активный центр фермента. К примеру, так активируется фермент трипсин.



Трипсиноген синтезируется в поджелудочной железе и поступает в двенадцатиперстную кишку, где активируется путем частичного протеолиза под действием фермента кишечника энтеропептидазы. В результате отщепления гексапептида с N-конца формируются новые взаимодействия радикалов аминокислот по всей молекуле, приводя к новой конформации, оптимальной для катализа.

Частичный протеолиз лежит в основе активации протеолитических ферментов (пепсин, трипсин, эластаза), пептидных гормонов (инсулин, глюкагон), белков свертывающей системы крови (тромбин, фибрин) и фибринолиза (плазмин), а также белков системы комплемента. Как правило, такие ферменты функционируют в течение короткого времени.

1.11. Ферментные препараты в стоматологии.

Медицинские аспекты энзимологии

Ферментные препараты в стоматологии приобрели особое значение благодаря способности ускорять очищение раневой поверхности от гноя, некротических масс. С этой целью используются протеазы (разрушающие пептидные связи в белке), нуклеазы (деполимеризуют нуклеиновые кислоты), лиазы (расщепляют мукополисахариды).

Основными показаниями к применению протеаз (трипсина, химотрипсина) являются заболевания пародонта, афтозный стоматит, многоформная экссудативная эритема, язвы, остеомиелит, гайморит, осложнения кариеса. Трипсин вводят в организм путем инъекций и местно, в виде аппликаций на слизистую оболочку. Возможно введение в корневые каналы. Добавление трипсина в состав зубных паст и порошков тормозит образование зубного налета и зубных бляшек, играющих существенную роль в развитии кариеса. *Химопсин* (смесь химотрипсина и трипсина) используется местно в виде орошений, аппликаций, в составе лечебных паст, аэрозолей.

1.11. Ферментные препараты в стоматологии. Медицинские аспекты энзимологии

Дезоксирибонуклеаза катализирует расщепление нуклеопротеинов и применяется при герпетических поражениях слизистой оболочки полости рта, зубодесневых карманов, при острых и хронических периодонтитах. Препараты нуклеаз назначаются как местно (аппликации на очаги поражения, капли в нос, ингаляции, обработка каналов, введение в зубодесневые каналы), так и инъекционно (введение под слизистую оболочку). *Гиалуронидаза (лидаза)* катализирует расщепление белково-углеводных комплексов и используется в стоматологической практике для лечения контрактур челюстно-лицевой области.

В медицинской практике активно используются иммобилизованные ферменты. **Иммобилизация ферментов** (от лат. *immobilis* — неподвижный) — это перевод ферментов в нерастворимое состояние с сохранением (частичным или полным) каталитической активности. К преимуществам иммобилизации ферментов относятся многократность их использования, устойчивость к внешним воздействиям, возможность направленного транспорта к органам и тканям, простота удаления из реакционной смеси и отделение от субстратов и продуктов реакции.

Иммобилизованные ферменты можно использовать в лабораторной практике как реагенты для анализа. Например, полоска бумаги с иммобилизованной глюкозооксидазой и пероксидазой используется для обнаружения глюкозы в моче. Если фермент ковалентно «пришить» к антителу, специфически взаимодействующему с искомым антигеном, то такой методический прием позволит значительно повысить чувствительность и специфичность исследования.

Энзимодиагностика заключается в постановке диагноза заболевания на основе определения активности ферментов в биологической жидкости. Наиболее часто активность ферментов определяют в плазме крови. В норме ферменты, которые обнаруживаются в крови, условно можно разделить на секреторные, экскреторные и клеточные (индикаторные). **Секреторные ферменты** образуются в печени и затем выделяются в кровь, где выполняют свои функции. Типичный пример — ферменты, катализирующие процессы свертывания крови. **Экскреторные ферменты** выделяются в пространства, сообщаемые с внешней средой. Примером являются ферменты, принимающие участие в переваривании пищи (липаза, амилаза). Они образуются в поджелудочной железе и *экскретируются* в просвет кишечника. **Клеточные (индикаторные)** ферменты попадают в кровь из клеток, где они катализируют реакции в составе тех или иных метаболических путей. Большая часть индикаторных ферментов в крови определяется в норме в следовых количествах. В случае если заболевание ведет к *повреждению клеток* (некроз), ферменты из них поступают в кровоток. Тогда их активность в сыворотке крови резко возрастает и является показателем (*индикатором*) степени и глубины повреждения этих тканей (табл. 1.1). Повторное исследование активности в процессе болезни позволяет следить за ходом патологического процесса и прогнозировать исход заболевания.

Таблица 1.1

Индикаторные ферменты, используемые для диагностики заболеваний

Фермент	Клиническое приложение
Аланинаминотрансфераза, Глутаматдегидрогеназа	Болезни печени
Кислая фосфатаза	Рак предстательной железы
Щелочная фосфатаза	Болезни костной ткани, болезни печени
Амилаза	Заболевания поджелудочной железы
Аспартатаминотрансфераза	Инфаркт миокарда, болезни печени, мышц
Креатинкиназа	Инфаркт миокарда, болезни мышц

Энзимопатии. Под энзимопатиями понимают заболевания, которые возникают при отсутствии фермента или нарушении его активности. Различают энзимопатии *первичные* (наследственные) и *вторичные* (приобретенные).

Если фермент отсутствует полностью, то нарушается цепь соответствующих химических реакций.

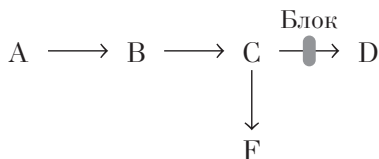


Рис. 1.18. Метаболический блок при ферментопатии

Следствием этого является нарушение образования конечных продуктов D, накопление промежуточных продуктов A и B и повышение их концентрации в крови (рис. 1.18), образование необычного вещества F в побочном метаболическом пути из избытка вещества C. Подобная цепь событий наблюдается при наследственном заболевании фенилкетонурии, для которого характерно образование фенилпировиноградной кислоты. Накопленные продукты могут выделяться из организма. Но если выделение невозможно, они накапливаются в органах и тканях (болезни накопления).

2

Обмен веществ и свободной энергии в клетках

2.1. Клеткам необходима свободная энергия

Чтобы понять сущность процессов обмена веществ и энергии, нужно помнить некоторые общие положения термодинамики и ее законы. Первый закон утверждает, что энергия не исчезает и не возникает из ничего, она лишь может переходить из одной формы в другую.

Любое органическое соединение, поступающее в организм извне или входящее в состав живой материи, обладает определенным запасом внутренней энергии. Часть внутренней энергии молекулы может быть использована для совершения полезной работы. Эту энергию называют *свободной энергией* (G) и это та форма энергии, которую используют клетки. Свободная энергия ΔG количественно характеризует потенциальную способность вещества претерпевать химические и физические превращения. Химическая реакция протекает лишь в том случае, если $\Delta G < 0$, т.е. в условиях, когда свободная энергия продуктов реакции меньше, чем свободная энергия исходных веществ. Если при самопроизвольном процессе происходит уменьшение свободной энергии ($\Delta G < 0$), то этот процесс поставляет клетке энергию (*экзергонический*). Процесс, идущий с увеличением свободной энергии ($\Delta G > 0$), не может протекать самопроизвольно и требует поступления энергии извне (*эндергонический*).

Любая химическая реакция характеризуется определенным изменением стандартной свободной энергии (ΔG^0). Под *стандартной свободной энергией* химических реакций понимают энергию, определенную в стандартных условиях (температура 25 °C, pH 7, концентрация исходных веществ 1,0 моль/л). Стандартную свободную энергию находят по разности между суммарными значениями свободной энергии конечных продуктов и исходных веществ. В клетках нашего организма условия не совпадают со стандартными. Поэтому реальная, в физиологических условиях протекающая химическая реакция характеризуется величиной ΔG , отличающейся от стандартной величины (ΔG^0).

2.2. АТФ — универсальный макроэрг в клетках

Биологические молекулы, которые способны накапливать и передавать энергию в ходе реакции, называются *высокоэнергетическими*, или *макроэргами*. По определению, участвующее в реакции вещество считают богатым энергией, если убыль свободной энергии составляет величину, превышающую 5 ккал/моль (или $\Delta G^0 = -25$ кДж/моль). В природе встречается много различных макроэргических соединений. По химическому строению это чаще всего ангидриды фосфорной, карбоновых кислот и тиоэфиры. К таким соединениям относятся креатинфосфат, фосфоенолпируват, 1,3-дифосфоглицерат, нуклеозидтри- и -дифосфорные кислоты — (АТФ, АДФ, ГТФ, ГДФ и др.), ацетил-КоА и сукцинил-КоА (табл. 2.1).

Таблица 2.1

Стандартная свободная энергия некоторых фосфорилированных соединений и тиоэфира (ацетил-КоА)

Соединение	ΔG^0 , ккал/моль	ΔG^0 , кДж/моль	Соединение	ΔG^0 , ккал/моль	ΔG^0 , кДж/моль
Фосфоенолпируват	-14,8	-61,9	Ацетил-КоА	-7,5	-31,4
1,3-Дифосфоглицерат	-11,8	-49,3	Глюкозо-1-фосфат	-5,0	-20,9
Креатинфосфат	-10,3	-43,0	Пирофосфат (ФФ _н)	-4,0	-19,2
АТФ → АМФ + ФФ _н	-10,9	-45,6	Фруктозо-6-фосфат	-3,8	-15,9
АДФ → АМФ + Ф _н	-7,8	-32,8	Глюкозо-6-фосфат	-3,3	-13,8
АТФ → АДФ + Ф _н	-7,3	-30,5			

Аденозинтрифосфат (АТФ) в термодинамической шкале занимает промежуточное положение, но именно этот нуклеотид присутствует во всех живых клетках и является универсальным носителем химической энергии, запасенной в макроэргических связях (в молекуле АТФ их две, и обе — фосфоангидридные), и используется для ее передачи между различными химическими реакциями (рис. 2.1).

АТФ обладает высоким потенциалом переноса фосфатных групп на низкоэнергетические вещества (глюкоза, глицерол, аминокислоты). Получая фосфатную группу от АТФ, эти молекулы увеличивают уровень своей свободной энергии, что обеспечивает течение ряда ферментативных реакций и клеточных процессов. С другой стороны, макроэрги, которые имеют больший энергетический потенциал, чем АТФ (например, фосфоенолпируват, креатинфосфат, 1,3-дифосфоглицерат), могут переносить свою фосфатную группу на АДФ с образованием АТФ.

Этим объясняется уникальность молекулы АТФ и ее биологическая роль посредника при переносе фосфатных групп от высокоэнергетических фосфо-

2.2. АТФ — универсальный макроэрг в клетках

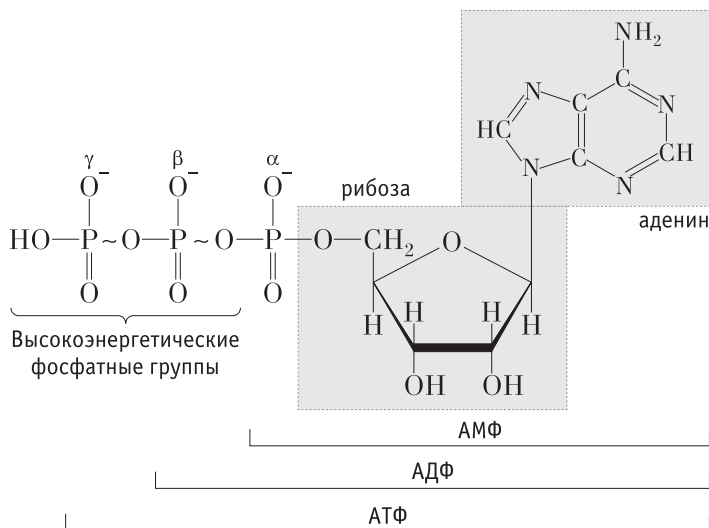
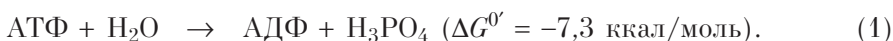


Рис. 2.1. Аденозинтрифосфорная кислота (АТФ). Две макроэргические связи (β и γ) обозначены на рисунке знаком \sim (тильда)

рилированных соединений к акцепторным молекулам. Однако в АТФ следует видеть только носителя энергии, а не ее депо. Для длительного хранения энергии служат такие вещества, как нейтральные жиры или гликоген.

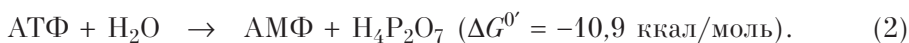
Практически все живые существа на планете для получения энергии приспособились подвергать гидролизу одну из макроэргических связей АТФ. Гидролиз АТФ может происходить двумя способами.

Наиболее частый — *отщепление концевого фосфата* от молекулы АТФ:



Процесс происходит при участии аденозинтрифосфатаз (АТФаз) — ферментов класса гидролаз, широко распространенных в клетках всех организмов. Отщепившаяся фосфатная группа остается в клетке в виде неорганического фосфата. Выход свободной энергии при этой реакции составляет 7,3 ккал на 1 моль АТФ.

Второй способ освобождения энергии фосфатной связи — *пирофосфатный*, когда от АТФ отщепляется не одна концевая фосфатная группа, а две последние в виде пирофосфата. Этот способ реже используется в биологических процессах:



Образующийся пирофосфат тоже содержит запас свободной энергии ($\Delta G^{\circ} = -4,0$ ккал/моль) и быстро гидролизруется пирофосфатазами до ортофосфата. Энергия, высвобождающаяся при его гидролизе, рассеивается в виде тепла.

Количество АТФ в клетке в любой данный момент очень невелико и может обеспечить энергией работу клетки лишь на несколько секунд, но АТФ постоянно регенерируется из АДФ и неорганического фосфата. Благодаря этому производится такое количество АТФ, которое было израсходовано клеткой. Клетки весьма чувствительны к уровню АТФ. Как только скорость его использования возрастает, одновременно возрастает и скорость процессов, поддерживающих уровень АТФ.

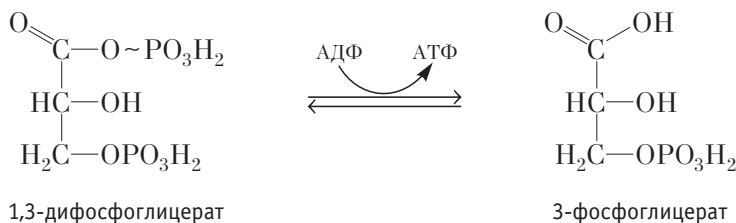
Содержание АТФ в клетке непосредственно связано с содержанием других адениловых нуклеотидов — АМФ, АДФ, а также пирогосфата ($\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$) и неорганического фосфата (H_3PO_4), образующих *адениловую систему клетки*. Роль адениловой системы сводится к поддержанию необходимого количества АТФ в клетках за счет процессов его распада и синтеза. В течение суток одна молекула АТФ проходит, в среднем, 2500 циклов ресинтеза.

Образование АТФ из АДФ и неорганического фосфата называют реакцией *фосфорилирования*:



Эта реакция происходит при условии обеспечения ее энергией в количестве не менее 30–35 кДж/моль. Если для фосфорилирования используется энергия транспорта электронов по дыхательной цепи, то говорят об *окислительном фосфорилировании*. Процесс называют *фотосинтетическим фосфорилированием*, если для синтеза АТФ используется световая энергия (это имеет место при фотосинтезе у фотосинтезирующих организмов). *Субстратное фосфорилирование* происходит за счет гидролиза связи макроэргических соединений (субстратов).

Реакции субстратного фосфорилирования являются важным источником получения АТФ, особенно в анаэробных условиях. Например, к таким реакциям относятся реакции гликолиза, когда из молекулы 1,3-дифосфоглицерата, содержащей макроэргическую связь в первом положении, на молекулу АДФ переносится остаток фосфорной кислоты — образуется молекула АТФ.



Однако основная масса АТФ в клетке образуется в ходе окислительного фосфорилирования в митохондриях за счет функционирования H^+ -АТФ-синтазы, использующей энергию переноса электронов по дыхательной цепи, которая освобождается при дегидрировании субстратов.

2.3. Понятие о метаболизме

В клетках АТФ служит непосредственным источником энергии для множества энергозатратных биохимических и физиологических процессов, таких как синтез веществ, активный перенос молекул через биологические мембраны (транспортные АТФазы) и создание трансмембранного электрического потенциала, мышечное сокращение, активация молекул, передача наследственной информации и превращение в другие виды энергии (электрическая, люминесценция). В состоянии покоя 36 % образовавшегося АТФ расходуется на ферментативные реакции; 22 % — на работу Na^+/K^+ -АТФазы; 21 % — на биосинтез белка; 11 % — на мышечное сокращение и 10 % — на перенос ионов кальция через биологические мембраны.

2.3. Понятие о метаболизме

Живая клетка — открытая система: в нее поступают питательные вещества, которые подвергаются химическим превращениям и используются в качестве строительного и энергетического материала, а конечные продукты выводятся из нее.

Совокупность этих химических процессов, обеспечивающих жизнедеятельность организма, называется **метаболизмом** или **обменом веществ**.

Метаболизм выполняет несколько функций: 1) извлечение энергии из поступающих в организм пищевых веществ и снабжение клеток организма этой химической энергией; 2) превращение молекул пищевых веществ в простые низкомолекулярные вещества, выступающие строительными блоками для построения биомолекул, присущих организму; 3) сборка из этих блоков компонентов клетки (полисахаридов, белков, липидов, нуклеиновых кислот и других клеточных компонентов); 4) синтез и распад специфических биологических молекул (гема, коферментов, нуклеотидов и др.), необходимых для выполнения различных функций.

Последовательность химических реакций, в ходе которых происходит превращение вещества, называют **метаболическим путем**. Каждую стадию метаболического пути катализируют ферменты. Вещества, образующиеся в этих последовательных превращениях, называются **промежуточными продуктами** или **метаболитами**, а последнее соединение метаболического пути — **конечным продуктом**.

Метаболические пути характеризуют клетку как сложную систему с большим числом взаимосвязанных процессов. Различают центральные и специализированные метаболические пути. *Центральные метаболические пути* — общие пути превращения основных пищевых веществ в клетке (углеводов, жиров, белков). Эти пути характеризуются большими потоками субстратов. Например, в организме взрослого человека ежедневно окисляется 300–350 г глюкозы до CO_2 и воды. Последовательности химических превращений в каждом из центральных метаболических путей у всех живых форм, в принципе, едины.

Так, например, белки, жиры и углеводы на пути своего катаболизма превращаются в пировиноградную кислоту, которая, в свою очередь, подвергается окислительному декарбоксилированию (центральный метаболический путь), в результате образуется ацетил-КоА. Последний включается в цикл Кребса (центральный метаболический путь) и расщепляется до углекислого газа и воды. Сотни различных высокоспециализированных биомолекул, в том числе нуклеотиды, пигменты, образуются во вторичных метаболических путях.

Метаболические пути по структуре весьма разнообразны (табл. 2.2). В случае, когда субстрат в результате ряда ферментативных процессов превращается в один продукт, такой путь носит название *линейного* метаболического пути. Встречаются *разветвленные* метаболические пути, приводящие к образованию различных конечных продуктов в зависимости от потребности клетки в них. Еще выделяют *циклические* и *спиральные* метаболические пути.

Таблица 2.2

Виды метаболических путей

Название	Схема	Метаболический путь
Линейный	$A \xrightarrow{E_1} B \xrightarrow{E_2} C \xrightarrow{E_3} D \xrightarrow{E_4} E$	Гликолиз, глюконеогенез, распад и синтез гликогена
Разветвленный	$ \begin{array}{c} A \xrightarrow{E_1} B \xrightarrow{E_2} C \begin{cases} \xrightarrow{E_3} D \xrightarrow{E_4} E \\ \xrightarrow{E_6} F \xrightarrow{E_5} G \end{cases} \end{array} $	Синтез нуклеотидов
Циклический		Орнитиновый цикл, цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса), пентозофосфатный цикл
Спиральный		Синтез и окисление жирных кислот

В метаболизме можно выделить катаболические и анаболические пути.

Катаболизм (диссимиляция) — ферментативный процесс расщепления сложных органических молекул до более простых. Катаболические процессы сопровождаются высвобождением свободной энергии, заключенной в структуре сложных органических соединений. В ходе реакций катаболизма значительная

2.3. Понятие о метаболизме

часть свободной энергии запасается благодаря сопряженным ферментативным реакциям в форме высокоэнергетического соединения — АТФ и восстановленных коферментов ($\text{НАДН}(\text{Ф}) \cdot \text{H}^+$ и ФАДН_2).

Анаболизм (ассимиляция) — это ферментативный синтез сложных веществ и молекул (белков, полинуклеотидов, полисахаридов и других макромолекулярных клеточных компонентов) из простых молекул-предшественников, связанный с потреблением энергии фосфоангидридных связей АТФ. Часто анаболические пути характеризуются как восстановительные биосинтезы, для которых требуются также водородные атомы, донором которых является $\text{НАДФН} \cdot \text{H}^+$.

По существу, катаболизм и анаболизм следует рассматривать не как два отдельных процесса, а как две стороны одного общего процесса — метаболизма.

Катаболический путь и соответствующий ему, но противоположный по направлению анаболический путь обычно не совпадают и отличаются, как правило, локализацией в клетке. Например, окисление жирных кислот осуществляется с помощью набора митохондриальных ферментов, тогда как синтез жирных кислот катализирует система ферментов, находящихся в цитозоле. Именно благодаря разной локализации катаболические и анаболические процессы в клетке могут протекать одновременно.

Множество различных белков расщепляются до аминокислот, часть из которых превращается в ацетил-КоА. Точно так же многие полисахариды и дисахариды расщепляются до глюкозы, которая превращается в конечном счете в ацетил-КоА, а он вливается в общий путь катаболизма — цикл лимонной кислоты (рис. 2.2).

Для анаболизма, в отличие от катаболизма, характерно *расхождение* метаболических путей. Так, из небольшого числа молекул-предшественников в результате синтетических реакций образуются разнообразные макромолекулы, а роль цикла Кребса заключается в поставке молекул-предшественников для биосинтеза аминокислот, углеводов и других соединений.

Катаболизм и анаболизм — это сопряженные взаимодополняющие процессы. Катаболические и анаболические пути тесно связаны друг с другом с помощью промежуточных метаболитов, таких как пируват, ацетил-КоА, оксалоацетат, α -кетоглутарат и др. Эти соединения являются продуктами катаболических путей и субстратами для синтеза новых соединений в анаболических реакциях (см. рис. 2.2).

Существуют и энергетические взаимосвязи между катаболизмом и анаболизмом. Катаболические пути поставляют химическую энергию в форме АТФ, которая используется для анаболических реакций. Другой путь взаимосвязи катаболических и биосинтетических путей реализуется на уровне коферментов (рис. 2.3). Например, отщепленные водородные атомы в ходе пентозофосфатного пути окисления глюкозы восстанавливают окисленную форму кофермента НАДФ^+ , а затем восстановленный уже $\text{НАДФН} \cdot \text{H}^+$ является донором водородных атомов для биосинтеза жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов и др.

2. Обмен веществ и свободной энергии в клетках

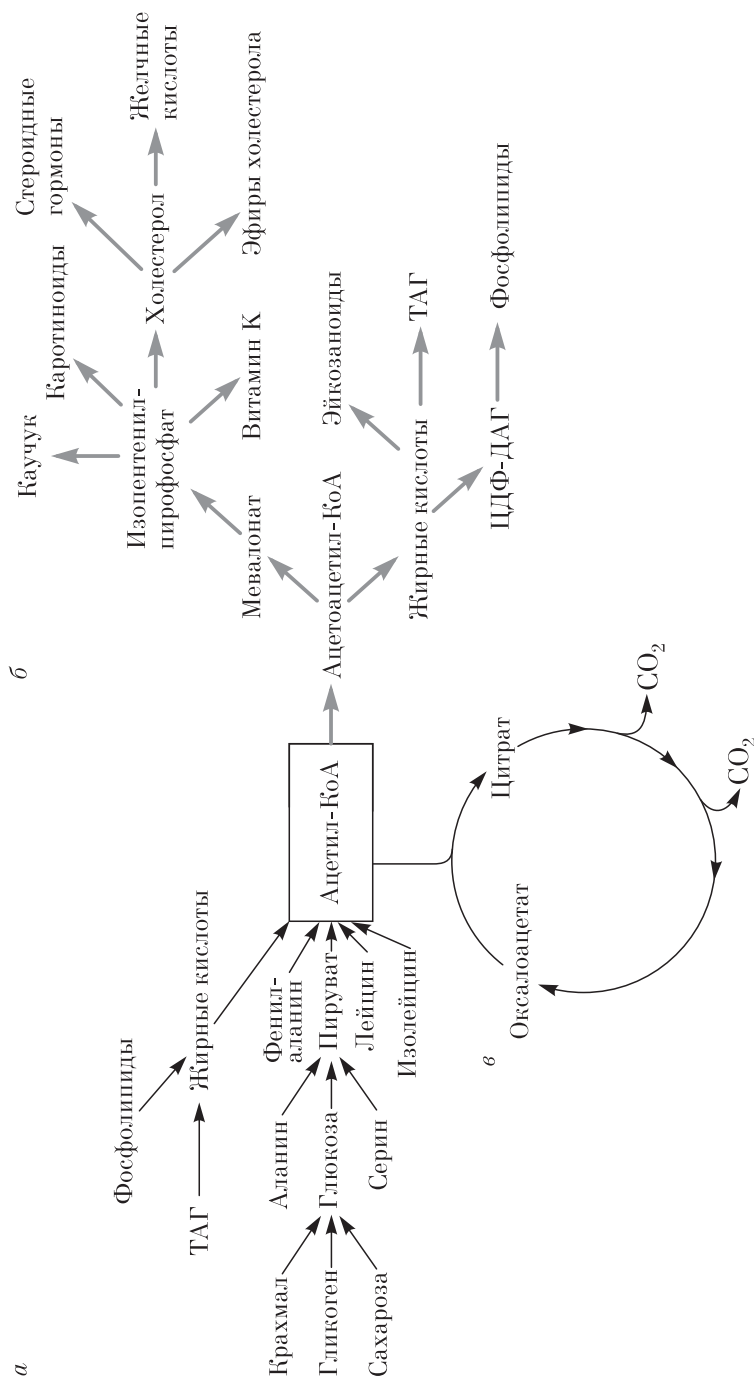


Рис. 2.2. Типы нелинейных метаболических путей:

а — расходящиеся пути катаболизма; *б* — сходящиеся пути анаболизма; *в* — циклический путь (цикл Кребса)

2.3. Понятие о метаболизме



Рис. 2.3. Связь катаболизма и анаболизма на уровне коферментов

Катаболизм и анаболизм связаны на уровне регуляторов обмена (рис. 2.4). Процессы синтеза гликогена (анаболизм) и его распада (катаболизм) находятся под контролем гормонов — инсулина и глюкагона. Эти процессы регулируются реципрокно, т.е. прямо противоположно. Инсулин активирует синтез гликогена — гликогенез (анаболический путь), но тормозит его распад — гликогенолиз (катаболический путь).

Интенсивность метаболизма определяется потребностью клетки в тех или иных веществах или энергии. Клетка, например, синтезирует аминокислоты именно с такой скоростью, которая достаточна для того, чтобы обеспечить возможность образования необходимого ей количества белка. Подобная экономичность и гибкость метаболизма возможна лишь при наличии достаточно тонких и чутких механизмов его регуляции, осуществляемых на разных уровнях.



Рис. 2.4. Связь катаболизма и анаболизма на уровне регуляторов обмена

1. Скорость реакций определенного метаболического пути определяется *активностью регуляторных (аллостерических) ферментов*, которые обычно катализируют начальные этапы метаболических путей. Большинство из них ингибируется конечным продуктом данного пути. Наличие кофакторов, коферментов, активаторов или ингибиторов также оказывает влияние на каталитическую активность аллостерических ферментов.

2. Регуляция *на уровне гена* способна привести к увеличению или уменьшению концентрации тех или иных ферментных белков, изменению относительного содержания в клетке множественных форм фермента. Генетическая регуляция отличается высокой специфичностью, экономичностью и обеспечивает широкие возможности для контроля метаболизма. Наглядный пример — появление в клетке индуцибельных ферментов в ответ на поступление соответствующего субстрата (субстратная индукция). Например, если в рационе увеличивается содержание белков, то уже через сутки в печени увеличивается синтез специфических ферментов, участвующих в обмене аминокислот. Однако активация генов является медленным процессом. Поэтому данная форма регуляции непригодна для тех случаев, когда необходимо быстрое изменение метаболизма.

3. *Гормональная регуляция.* Нервная система, в частности ее центральные отделы, выполняет в организме высшие интегративные функции. Получая

сигналы из окружающей среды и от внутренних органов, центральная нервная система преобразует их в нервные импульсы и направляет их к тем органам, изменение скорости метаболизма в которых необходимо в данный момент для выполнения определенной функции. Чаще всего свою регулирующую роль нервная система осуществляет через железы внутренней секреции, усиливая или подавляя поступление гормонов в кровь. Гормоны способны активировать или ингибировать многие ферменты метаболических путей. Например, глюкагон (гормон поджелудочной железы) стимулирует распад гликогена в печени до глюкозы, что вызывает повышение уровня глюкозы в крови. Регулирующее действие нервной системы на обмен веществ и энергии всегда целесообразно и направлено на наиболее эффективное приспособление организма к изменившимся условиям.

2.4. Этапы катаболизма

Расщепление основных пищевых веществ представляет собой ряд последовательных ферментативных реакций, составляющих три этапа катаболизма (рис. 2.5).

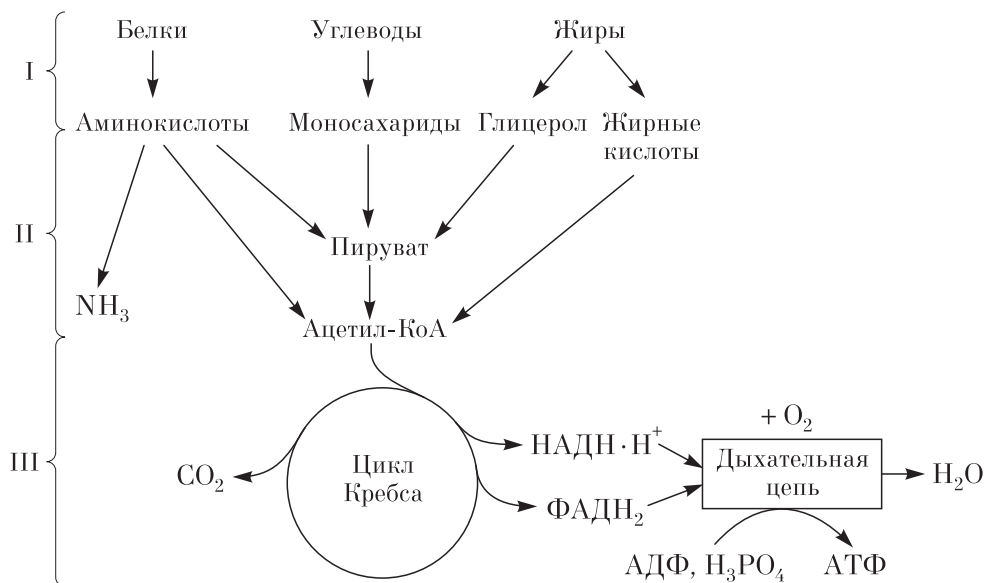


Рис. 2.5. Стадии катаболизма основных пищевых веществ:

I — расщепление в пищеварительном тракте; II — специфичные пути катаболизма и общий путь катаболизма — окислительное декарбоксилирование пирувата; III — общий путь катаболизма (цитратный цикл и дыхательная цепь)

2.5. Биологическое окисление

Первый этап катаболизма (пищеварение) происходит в *пищеварительном тракте*, где питательные вещества подвергаются гидролизу ферментами желудочно-кишечного тракта. *Полостное пищеварение* осуществляется за счет пищеварительных секретов и их ферментов, поступивших в полость желудка, тонкой кишки. В результате полостного пищеварения гидролизуются крупномолекулярные вещества и образуются, в основном, олигомеры. Гидролиз оставшихся связей обеспечивает *пристеночное (мембранное) пищеварение*. Оно осуществляется ферментами, адсорбированными на мембранах энтероцитов.

Таким образом, на первом этапе катаболизма крупные органические молекулы распадаются на составляющие их специфические структурные блоки. Так, полисахариды расщепляются до глюкозы, белки — до аминокислот, нуклеиновые кислоты — до нуклеотидов и нуклеозидов, триацилглицеролы — до жирных кислот и глицерола. Количество энергии, освобождающейся в виде тепла на этой стадии, очень невелико.

Второй этап катаболизма (внутриклеточный катаболизм) происходит в *цитоплазме и митохондриях*. Он включает *специфические* пути превращения веществ, образовавшихся на первом этапе. В специфических путях катаболизма из аминокислот могут образоваться α -кетоглутаровая кислота, оксалоацетат, фумарат, сукцинат, т.е. соединения, которые непосредственно включаются в цитратный цикл. Из глюкозы, пентоз, глицерола и аминокислот образуется пируват.

Начиная со стадии образования пирувата происходит унификация путей катаболизма. Из пирувата в реакции *окислительного декарбоксилирования* образуется ацетил-КоА. Окисление жирных кислот и превращение углеродных скелетов некоторых аминокислот завершается также образованием ацетил-КоА. Таким образом, ацетил-КоА является конечным продуктом второго этапа, который объединяет катаболизм белков, углеводов и липидов. На этом этапе химическая энергия частично рассеивается в виде тепла, частично накапливается в виде восстановленных коферментных форм, частично запасается в макроэргических связях АТФ.

Третий этап — цикл трикарбоновых кислот и дыхательная цепь. На завершающем этапе катаболизма ацетильная группа кофермента А окисляется до воды и углекислого газа в цикле трикарбоновых кислот (цикле Кребса), а водород с НАДН \cdot H⁺ и ФАДН₂ поступает в дыхательную цепь митохондрий, высвобождая энергию, которая запасается в форме АТФ.

2.5. Биологическое окисление

Процессы катаболизма в клетках животных сопровождаются потреблением кислорода, который необходим для реакций окисления. *Биологическое окисление* — это совокупность реакций окисления субстратов в живых клетках

с участием ферментов — оксидоредуктаз. Именно окислительно-восстановительные процессы стали ведущими в механизмах обеспечения энергией жизни на Земле.

Под *окислением* понимают процесс отдачи электронов атомами вещества, под *восстановлением* — процесс присоединения электронов атомами вещества. В ходе реакций окисления электроны, находящиеся на высокоэнергетическом уровне в молекуле восстановителя (водорода), переходят на низкоэнергетическую орбиталь в молекуле окислителя, где они сильнее притягиваются ядрами атомов. Восстановитель отдает электроны, т.е. *окисляется*; окислитель присоединяет электроны, т.е. *восстанавливается*. Окислитель и восстановитель всегда образуют сопряженную пару.

Количественной оценкой способности вещества принимать или отдавать электроны является *стандартный окислительно-восстановительный потенциал*, или *редокс-потенциал* (E'_0). Редокс-потенциал выражается значением электродвижущей силы (в вольтах, В), которая возникает в растворе между окислителем и восстановителем, присутствующими в концентрации 1,0 моль/л при 25 °С. Его величина может быть положительной или отрицательной. Знак «-» означает, что данная редокс-пара легко отдает электроны, т.е. играет роль восстановителя, знак «+» указывает на способность редокс-пары принимать электроны и играть роль окислителя.

При pH 7,0 редокс-потенциал системы $\text{H}_2/2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$ равен -0,42 В, а для пары НАДН·Н⁺/НАД⁺ он составляет -0,32 В, что говорит о ее высокой способности отдавать электроны. В то же время окислительно-восстановительная пара $\frac{1}{2}\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ имеет наибольшую положительную величину редокс-потенциала +0,81 В, т.е. кислород обладает наивысшей способностью присоединять электроны.

В процессе окисления перенос электронов происходит по направлению от более отрицательного к более положительному потенциалу. Кроме того, при отрицательном значении потенциала электроны являются «высокоэнергетическими», и при переходе к системе с более высоким значением потенциала они теряют часть своей энергии и способны произвести работу.

2.5.1. Пути использования кислорода при биологическом окислении

Существует несколько путей использования кислорода в клетках: оксидазный, оксигеназный и пероксидазный, или путь образования активных форм кислорода.

Оксидазный путь использования кислорода. Этот путь является основным источником АТФ в аэробных тканях: 80 % потребляемого кислорода вовлекается в реакции тканевого дыхания, обеспечивая организм энергией. Известно, что за сутки митохондрии взрослого человека поглощают 400 л кислорода,

2.5. Биологическое окисление

превращая его в воду с участием цитохромоксидазы. Восстановление кислорода протекает по четырехэлектронному пути с образованием воды:



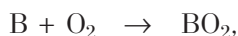
Оксигеназный путь использования кислорода. Потребление кислорода в этом пути не является источником энергии для клетки. Оксигеназы катализируют реакцию внедрения одного или двух атомов кислорода в субстрат. Вклад этих реакций в общее использование кислорода невелик по сравнению с дыхательными ферментами митохондрий. Оксигеназы участвуют в синтезе новых веществ (стероидных гормонов, желчных кислот, простагландинов), обезвреживании ксенобиотиков и токсических продуктов обмена. Эти ферменты работают в составе мультиферментных комплексов, встроенных в мембрану. По способу включения кислорода в молекулу субстрата их делят на монооксигеназы и диоксигеназы.

Монооксигеназы включают в субстрат один атом кислорода. Другой атом кислорода восстанавливается до воды с участием НАДФН·Н⁺, НАДН·Н⁺, реже витамина С. Монооксигеназные реакции протекают на цитоплазматической поверхности гладкого ЭПР (их называют *микросомальным окислением*) и на внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрии. Монооксигеназы функционируют в комплексе с цепью переноса электронов: НАДФН·Н⁺ – цитохром Р₄₅₀ – оксидоредуктаза катализирует перенос двух электронов с НАДФН·Н⁺ на цитохром Р₄₅₀. Этим путем обезвреживаются ксенобиотики и многие эндогенные соединения.

Митохондриальные монооксигеназные системы состоят из нескольких компонентов, локализованных на внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрий. Компонентами этих систем могут быть НАДН·Н⁺-зависимая ФАД-содержащая редуктаза, Fe₂S₂-белки, цитохромы Р₄₅₀, b₅, элонгазы.

Монооксигеназные системы катализируют в почках гидроксилирование 25-гидроксиколекальциферола, образуя 1,25-дигидроксиколекальциферол (активная форма витамина D). В печени с помощью монооксигеназ происходит гидроксилирование холестерина при биосинтезе желчных кислот. Пролингидроксилазы включают гидроксильные группы в аминокислотные остатки пролина в молекуле проколлагена (донором протонов и электронов для реакции является витамин С). Благодаря гидроксилированию пролина образуется зрелый коллаген, который приобретает большую механическую прочность.

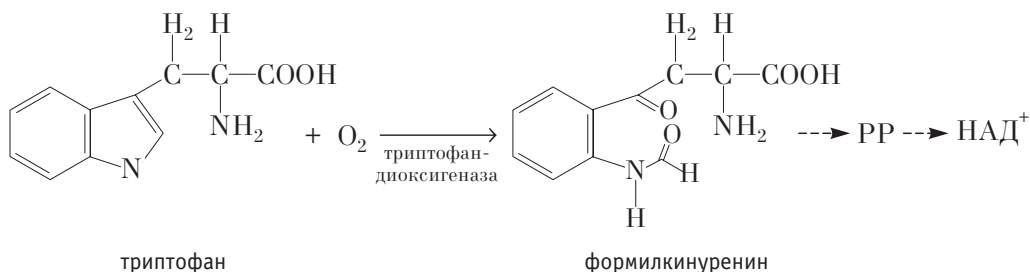
Диоксигеназные реакции. Диоксигеназы катализируют включение в субстрат двух атомов кислорода:



где В — вещество.

Диоксигеназные реакции протекают на поверхности гладкого ЭПР. Таким путем окисляются циклические структуры, что сопровождается разрывом цикла.

Например, L-триптофандиоксигеназа печени участвует в катаболизме триптофана.



Образование активных форм кислорода. От 1 до 10 % поступающего с дыханием кислорода переходит в активные формы. Химические соединения, в составе которых кислород имеет промежуточную степень окисления и высокую реакционную способность, называют **активными формами кислорода (АФК)**. К ним относятся свободные радикалы кислорода и перекиси: супероксидный анион-радикал ($O_2^{\bullet-}$), пероксид водорода (H_2O_2), гидроксильный радикал (OH^{\bullet}), синглетный кислород (1O_2) и др.

Активные формы кислорода во многих клетках образуются в основном в результате последовательного присоединения электронов к молекуле кислорода.

АФК являются продуктами ферментативных и неферментативных метаболических процессов. Генерация АФК происходит по ходу окислительно-восстановительных реакций с участием кислорода в различных субклеточных структурах клетки. Основным источником активных форм кислорода в большинстве клеток является митохондриальная цепь переноса электронов, особенно в случаях, когда снижена активность цитохромоксидазы.

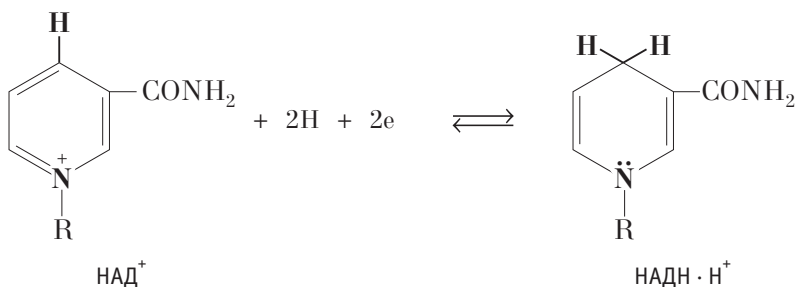
2.5.2. Дегидрогеназные реакции — основной источник энергии в клетке. Виды дегидрогеназ

В предыдущей главе уже упоминалось, что ферменты, катализирующие реакции дегидрирования, называются **дегидрогеназами** (см. п. 1.8 «Номенклатура и классификация ферментов»). В зависимости от используемого кофермента дегидрогеназы делятся на две группы: пиридинзависимые и флавинзависимые.

Пиридинзависимые дегидрогеназы в качестве кофермента используют НАД⁺ (никотинамидадениндинуклеотид) или НАДФ⁺ (никотинамидадениндинуклеотидфосфат), являющиеся производными витамина РР. Флавинзависимые дегидрогеназы в качестве кофермента используют ФМН (флавиномононуклеотид) или ФАД (флавинадениндинуклеотид), производные витамина В₂ (структурные формулы этих коферментов см. п. 1.7 «Коферменты»).

2.5. Биологическое окисление

В реакциях дегидрирования, которые катализируют пиридинзависимые дегидрогеназы, два атома водорода отщепляются от молекулы субстрата: один атом водорода и один электрон переносятся на никотинамидное кольцо НАД⁺ или НАДФ⁺ с образованием восстановленной формы коферментов НАДН·Н⁺ или НАДФН·Н⁺, а другой атом водорода, потерявший электрон [H⁺], высвобождается в окружающую среду.



Дегидрогеназные реакции с участием коферментов НАД⁺ или НАДФ⁺ имеют ряд уникальных свойств, которые обуславливают их ключевую роль в процессах биологического окисления. Во-первых, легкая обратимость при небольших изменениях свободной энергии, что позволяет коферментам участвовать как в окислении субстрата, так и в восстановлении продуктов реакции (в зависимости от потребностей клетки). Во-вторых, высокая мобильность, т.е. способность (как в окисленной, так и в восстановленной форме) легко отделяться от белка-фермента, что облегчает обмен атомами водорода и электронами между различными дегидрогеназными системами, расположенными в разных частях клетки.

Коферменты НАД⁺ и НАДФ⁺ способны принимать водород от большого числа субстратов, окислительно-восстановительный потенциал которых ниже -0,3 В. К числу таких субстратов относятся продукты расщепления углеводов, жиров и различных аминокислот.

Флавиновые коферменты ФМН и ФАД играют роль простетической группы в составе специфических дегидрогеназ (флавиновых ферментов или флавопротеинов). Активной частью молекулы ФАД или ФМН служит изоаллоксазиновое кольцо рибофлавина (витамина В₂), к атомам азота которого могут присоединяться два атома водорода (т.е. два протона и два электрона) за счет внутримолекулярной перегруппировки двойных связей (рис. 2.6).

ФМН и ФАД прочно связаны с соответствующими дегидрогеназами и не могут свободно переносить восстановительные эквиваленты путем диффузии к другим дегидрогеназным системам. Реакции, катализируемые флавинзависимыми дегидрогеназами, труднообратимы, следовательно, восстановленные ФМН₂ и ФАДН₂, не могут служить источником водородных эквивалентов в процессах восстановительного биосинтеза. В соответствии с относительно

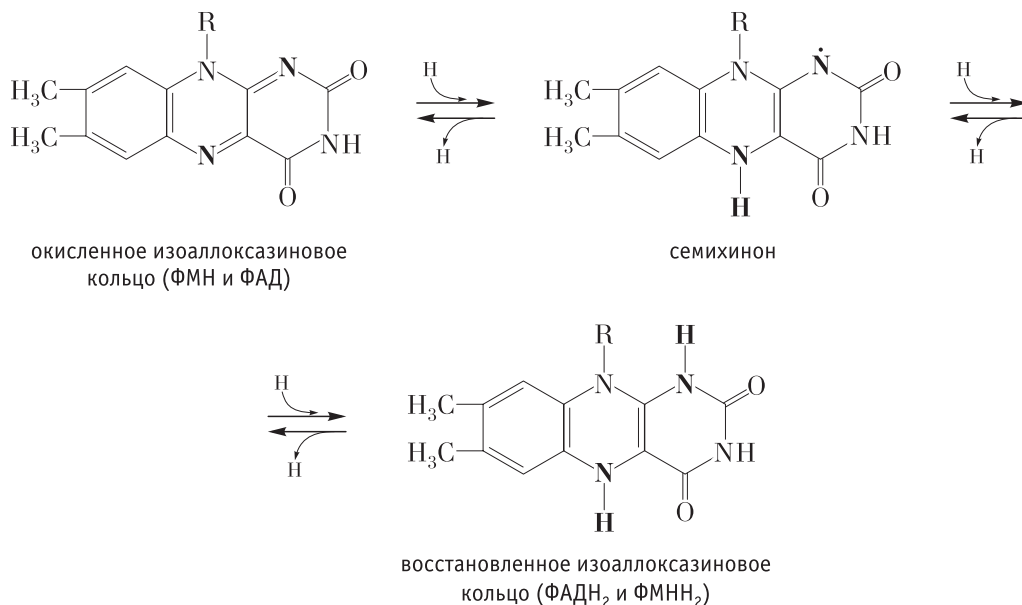


Рис. 2.6. Восстановление изоаллоксазина в составе флавиновых коферментов

низкими окислительно-восстановительными потенциалами ($E'_0 = -0,12$ В) флавопротеины могут акцептировать водород от НАДН·Н⁺. При окислении янтарной кислоты, α-глицерофосфата и ацил-КоА флавинзависимые ферменты могут играть роль первичных дегидрогеназ и непосредственно принимать электроны и протоны от окисляемых субстратов.

И пиридиновые, и флавиновые коферменты принимают водород от различных соединений, образующихся при распаде глюкозы, жирных кислот, аминокислот. Связанный с коферментами водород затем может переноситься на какой-либо субстрат. Такие реакции называются реакциями **анаэробного окисления**. Если конечным акцептором водорода служит кислород и образуется вода, говорят о реакциях **тканевого дыхания**. Кислород играет в этом случае роль восстанавливающегося соединения (окислителя). Восстановление атома кислорода при взаимодействии с парой протонов и электронов приводит к образованию молекулы воды, а высвобождаемая при этом энергия используется для синтеза АТФ.

2.6. Общие пути катаболизма

Как уже упоминалось, к общим, или центральным, путям катаболизма относят окислительное декарбоксилирование пируват кислоты, цикл трикарбоновых кислот, дыхательную цепь транспорта электронов.

2.6.1. Окислительное декарбоксилирование пирувата

В окислительном декарбоксилировании пировиноградной кислоты (рис. 2.7) участвует **пируватдегидрогеназный комплекс (ПДГК)**, который прикреплен к внутренней мембране митохондрий. Пируватдегидрогеназный комплекс состоит из трех ферментов: **пируватдегидрогеназы** (E_1), **дигидролипоеацетилтрансферазы** (E_2) и **дигидролипоеилдегидрогеназы** (E_3) — и пяти коферментов: **тиаминпирофосфата** (ТПФ), **липовой кислоты**, **НАД⁺**, **ФАД** и **коэнзима А**. Четыре из них являются производными витаминов: тиамина, или витамина B_1 (ТПФ); рибофлавина, или витамина B_2 (ФАД); ниацина, или витамина PP (НАД⁺); пантотеновой кислоты (HS-KoA). Три кофермента (ТПФ, липовая кислоты и ФАД) ковалентно связаны в активных центрах фер-

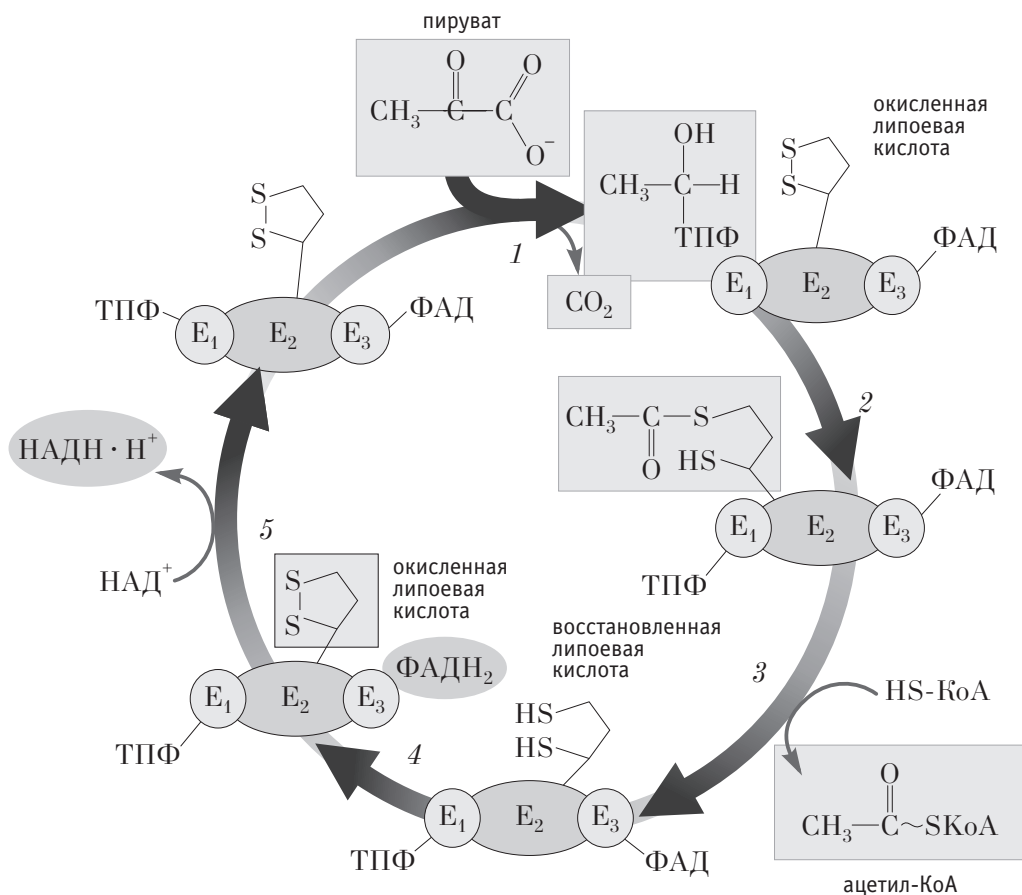


Рис. 2.7. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты: ТПФ — тиаминпирофосфат; ЛК — липовая кислота; E_1 , E_2 , E_3 — ферменты пируватдегидрогеназного комплекса; ПВК — пировиноградная кислота; 1–5 — стадии процесса

ментов E_1 , E_2 и E_3 соответственно, а НАД^+ и КоА выполняют роль вторых субстратов в химических реакциях (мигрирующие коферменты).

Также в состав ПДГК входят два регуляторных белка — протеинкиназа и протеинфосфатаза.

У человека фермент E_1 (пируватдегидрогеназа) представляет собой тетрамер, состоящий из двух α - и двух β -субъединиц. E_1 катализирует декарбоксилирование пировиноградной кислоты с участием кофермента — тиаминпирофосфата (ТПФ). Продукт реакции (гидроксиэтильное производное ТПФ) под действием дигидролипоилацетилтрансферазы реагирует с окисленной липоевой кислотой, при этом образуется ацетиллипоевая кислота. Липоевая кислота (липоат) — кофермент E_2 . Она прочно соединена амидной связью через ϵ -аминогруппу остатка лизина, входящего в состав этого фермента. При прикреплении липоата к лизину образуется своеобразный «длинный рукав», который может перемещаться из активного центра E_1 в активные центры E_2 и E_3 .

Сама **липоевая кислота** — это низкомолекулярное соединение, имеющее в своем составе дисульфидную группу, способную восстанавливаться. Липоевая кислота играет роль переносчика электронов, протонов и ацильных групп (рис. 2.8).

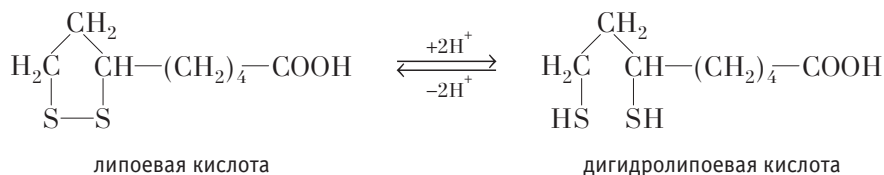
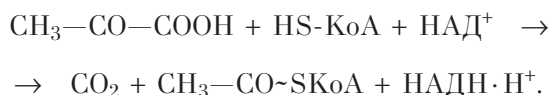


Рис. 2.8. Этап окислительного декарбоксилирования пирувата.
Восстановление дисульфидной группы липоевой кислоты

Образовавшаяся ацетиллипоевая кислота (см. рис. 2.9) далее реагирует с коэнзимом А, при этом образуются восстановленная форма липоевой кислоты и ацетил-КоА.

Следующий этап катализирует дигидролипоилдегидрогеназа. Коферментом фермента E_3 является ФАД. С участием ФАД дигидролипоевая кислота окисляется, а ФАД переходит в восстановленную форму. Два атома водорода с ФАДН_2 переносятся на митохондриальный НАД^+ , последний при этом восстанавливается до $\text{НАДН} \cdot \text{H}^+$.

Таким образом, суммарное уравнение окислительного декарбоксилирования пирувата имеет вид



Этот процесс сопровождается значительным уменьшением стандартной свободной энергии ($\Delta G^0 = -8$ кДж/моль), что указывает на необратимость его

2.6. Общие пути катаболизма

в физиологических условиях. Образующийся ацетил-КоА затем окисляется в цитратном цикле, а водород с НАДН·Н⁺ поступает в дыхательную цепь митохондрий.

Регуляция активности пируватдегидрогеназного комплекса. Активность ПДГК регулируется различными способами: доступностью субстратов, ингибированием продуктами реакции, путем ковалентной модификации, соотношением НАД⁺/НАДН·Н⁺ и АДФ/АТФ.

Фосфорилирование – дефосфорилирование является основным механизмом, контролирующим активность пируватдегидрогеназного комплекса у млекопитающих путем *ковалентной модификации*. ПДГК может существовать в активной и неактивной формах. Переход одной формы в другую осуществляется путем обратимого фосфорилирования (с участием *киназы* ПДГК) и дефосфорилирования (с участием *фосфатазы* ПДГК). При этом фосфорилированная форма является неактивной, а дефосфорилированная — активной. Активация ПДГК происходит под влиянием инсулина.

При низкой концентрации инсулина и высоком уровне энергообеспеченности клетки (высокое содержание АТФ, ацетил-КоА и НАДН·Н⁺) ПДГК находится в неактивном состоянии. Активирование комплекса осуществляется HS-КоА, пируватом, АДФ и ионами магния.

При недостаточном содержании в диете витаминов В₁, В₂, РР активность пируватдегидрогеназного комплекса снижается.

2.6.2. Цикл трикарбоновых кислот (цикл лимонной кислоты, цикл Кребса)

Образовавшийся в результате окислительного декарбоксилирования пирувата ацетил-КоА в матриксе митохондрий включается в циклический процесс — *цикл трикарбоновых кислот (ЦТК)*, в ходе которого ацетильные остатки окисляются до СО₂. Свое название этот метаболический путь получил по имени немецкого биохимика Ганса Кребса, открывшего и изучившего его.

Всего в ЦТК входит восемь последовательных реакций (рис. 2.9). Четыре из них представляют собой окислительные процессы, и выделяющаяся в этих процессах энергия окисления эффективно запасается в виде восстановленных коферментов НАДН·Н⁺ и ФАДН₂.

Рассмотрим подробнее реакции (этапы) цикла Кребса.

1. *Образование лимонной кислоты.* Цикл Кребса начинается с конденсации ацетильного остатка ацетил-КоА с оксалацетатом. Реакция катализируется *цитратсинтазой* с участием воды. Поскольку при этом распадается богатая энергией тиоэфирная связь ацетил-КоА, реакция становится практически необратимой.

2. *Образование изоцитрата* ферментом *аконитазой*, содержащей железо (через стадию образования *цис*-аконитовой кислоты). Это реакция изомеризации, она обратима, однако в физиологических условиях ее равновесие

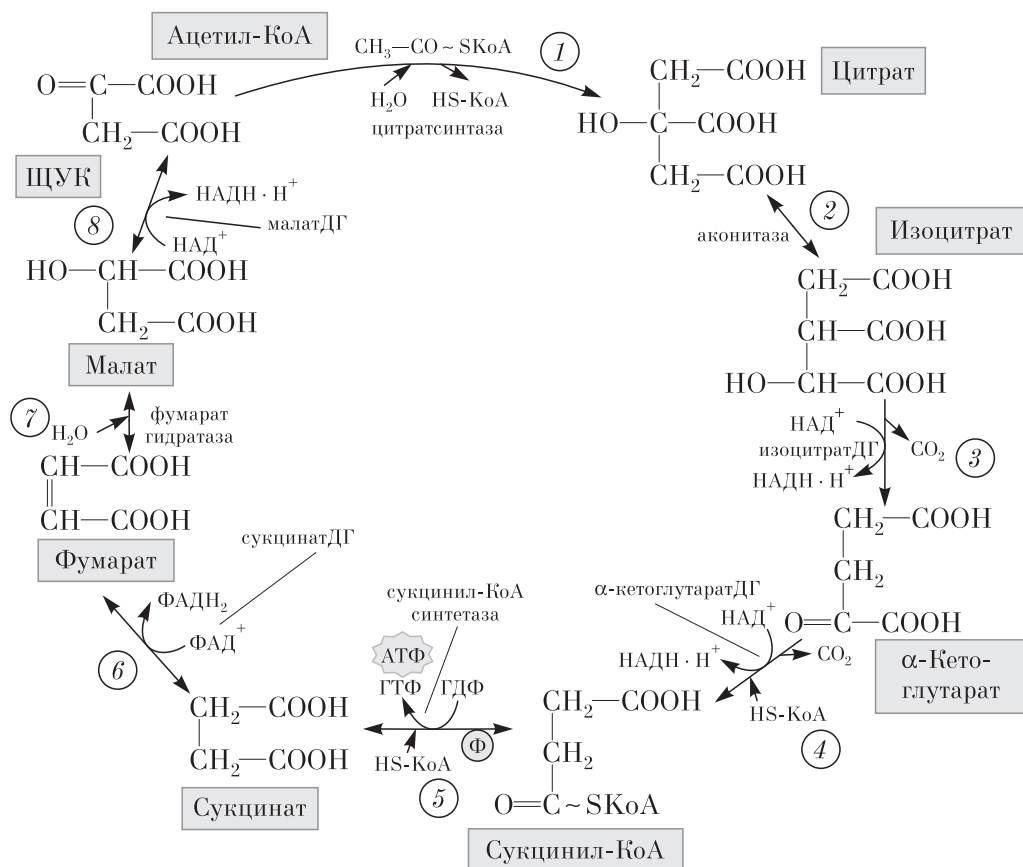


Рис. 2.9. Лимоннокислый цикл Кребса (1–8) — номера реакций

смещено в сторону образования изоцитрата, поскольку он расходуется в последующих реакциях.

3. *Дегидрирование и декарбоксилирование изоцитрата* при участии НАД-зависимой изоцитратдегидрогеназы. Фермент для проявления своей активности нуждается в ионах Mg^{2+} или Mn^{2+} .

4. *Окислительное декарбоксилирование α-кетоглутарата*. Процесс катализируется α-кетоглутаратдегидрогеназным комплексом, который по структуре и механизму действия очень похож на пируватдегидрогеназный комплекс (он функционирует с теми же коферментами: ТПФ, липоевой кислотой, HS-KoA , ФАД и НАД^+).

В результате реакции образуется аналог ацетил-КоА — *сукцинил-КоА*. Этот субстрат цикла Кребса содержит макроэргическую связь. Равновесие реакции сильно сдвинуто в сторону образования сукцинил-КоА, т.е. ее можно считать необратимой.

2.6. Общие пути катаболизма

5. *Субстратное фосфорилирование*. Перенос богатой энергией связи сукцинил-КоА осуществляется на *гуанозиндифосфате* (ГДФ). Процесс субстратного фосфорилирования катализирует сукцинил-КоА синтетаза. Образовавшийся ГТФ вступает в реакцию перефосфорилирования с АДФ — при этом образуется АТФ.

6. *Дегидрирование сукцината* при помощи ФАД-зависимого фермента — *сукцинатдегидрогеназы*. В этой реакции осуществляется прямой перенос водорода с субстрата (сукцината) на второй комплекс дыхательной цепи митохондрий. В результате дегидрирования образуется фумарат.

7. *Образование яблочной кислоты*. *Фумараза* катализирует присоединение молекулы воды по месту нахождения двойной связи фумарата.

8. *Образование оксалоацетата*. Это завершающая стадия цикла Кребса, в которой происходит регенерация оксалоацетата (щавелевоуксусной кислоты, ЩУК) путем окисления малата. Реакция катализируется НАД⁺-зависимым ферментом — *малатдегидрогеназой*.

Последние три реакции обратимы, однако поскольку НАДН·Н⁺ окисляется ферментным комплексом дыхательной цепи, равновесие реакции сдвигается вправо, т.е. в сторону образования оксалоацетата.

В результате полного оборота цикла одна молекула ацетил-КоА окисляется до двух молекул СО₂. Молекула оксалоацетата регенерируется, а электроны от восстановленных коферментов НАДН·Н⁺ и ФАДН₂ поступают в дыхательную цепь, где происходит их окисление. Высвобождающаяся при этом энергия используется для образования АТФ путем окислительного фосфорилирования. Еще одна молекула АТФ синтезируется в цикле в результате субстратного фосфорилирования.

Регуляция скорости реакций цикла Кребса. В большинстве случаев скорость функционирования метаболических циклов определяется их начальными реакциями. Регуляция цикла Кребса осуществляется на уровне цитратсинтазы, изоцитратдегидрогеназы и α-кетоглутаратдегидрогеназного комплекса. Важнейшая регуляторная реакция ЦТК, катализируемая *цитратсинтазой*, — образование цитрата из оксалоацетата и ацетил-КоА. Эта реакция ускоряется при повышении концентрации оксалоацетата — субстрата реакции — и тормозится продуктом реакции — цитратом. Когда отношение НАДН·Н⁺/НАД⁺ снижается, скорость окисления малата в оксалоацетат возрастает. Скорость реакции снижается при повышении концентрации АТФ, сукцинил-КоА (сукцинил-КоА понижает сродство цитратсинтазы к ацетил-КоА).

Изоцитратдегидрогеназа аллостерически активируется АДФ и Са²⁺, которые присоединяются к ферменту в разных аллостерических центрах. В присутствии АДФ конформация всех субъединиц меняется таким образом, что связывание изоцитрата происходит значительно быстрее. При повышении концентрации НАДН·Н⁺ активность фермента снижается.

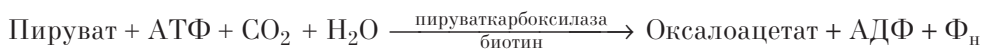
α-Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс ингибируется АТФ, НАДН·Н⁺ и сукцинил-КоА и, подобно изоцитратдегидрогеназе, активируется Са²⁺.

Кроме описанных механизмов, в регуляции цитратного цикла существует множество других, обеспечивающих необходимый уровень метаболитов. Скорость гликолиза в нормальных условиях согласована со скоростью функционирования цикла лимонной кислоты. В клетке до пирувата расщепляется ровно столько глюкозы, сколько необходимо для того, чтобы обеспечить цикл лимонной кислоты исходным субстратом, т.е. ацетил-КоА.

Функции цикла трикарбоновых кислот. Цикл лимонной кислоты — это один из амфиболических путей. *Амфиболическими* (от греч. amfi — оба) называют пути, сопрягающие процессы анаболизма и катаболизма, поскольку они выполняют двойную функцию. В цикле трикарбоновых кислот завершают свой путь продукты распада глюкозы, жирных кислот, аминокислот. Все они превращаются в ацетил-КоА, в α -кетоглутаровую кислоту, в оксалоацетат (*катаболическая функция*).

Некоторые промежуточные продукты цикла лимонной кислоты, такие как α -кетоглутарат, сукцинат, оксалоацетат, в качестве молекул-предшественников могут использоваться для синтеза других соединений. Оксалоацетат используется для синтеза глюкозы, аспарагиновой кислоты и аспарагина; сукцинил-КоА — для синтеза порфиринов и гема; α -кетоглутарат — для синтеза глутаминовой кислоты, глутамина, аргинина и пролина; ацетил-КоА — для синтеза жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов, кетонных тел. В этом состоит *анаболическая функция* цикла трикарбоновых кислот. Убыль же промежуточных продуктов цикла на биосинтетические процессы восполняется благодаря анаплеротическим реакциям.

Анаплеротические (пополняющие) реакции — специальные ферментативные реакции, обеспечивающие пополнение пула промежуточных продуктов цикла лимонной кислоты. Цикл Кребса начинается с реакции конденсации ацетил-КоА с оксалоацетатом. Клетка не страдает от недостатка ацетил-КоА, а вот количество оксалоацетата в клетке ограничено. Наиболее важная анаплеротическая реакция в животных тканях — это ферментативное карбоксилирование пирувата за счет CO_2 с образованием оксалоацетата. Катализирует эту реакцию биотинзависимый фермент — пируваткарбоксилаза:



Пируваткарбоксилаза принадлежит к регуляторным ферментам. В отсутствие ацетил-КоА, который служит для нее активатором, скорость катализируемой ею прямой реакции, приводящей к образованию оксалоацетата, очень невелика. Избыток же ацетил-КоА, поставляющего «топливо» для цикла лимонной кислоты, стимулирует пируваткарбоксилазную реакцию; в результате этого образуется больше оксалоацетата и цикл использует больше ацетил-КоА в цитратсинтазной реакции.

2.7. Тканевое дыхание

Цикл Кребса выполняет собственно *энергетическую функцию*. Распад сукцинил-КоА до сукцината является реакцией субстратного фосфорилирования. В ходе этой реакции образуется одна молекула ГТФ (реакция перефосфорилирования ГТФ с АДФ приводит к образованию АТФ).

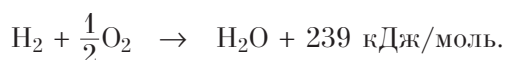
Водорододonorная функция заключается в том, что в цитратном цикле в результате окисления НАД⁺-зависимых (изоцитрат, α-кетоглутарат и малат) и ФАД-зависимого (сукцинат) субстратов образуется три молекулы НАДН·Н⁺ и одна молекула ФАДН₂, которые являются основными донорами водорода для дыхательной цепи. Энергия переноса водорода используется для синтеза АТФ. При этом за счет окисления 3 молекул НАДН·Н⁺ способно синтезироваться 2,5АТФ · 3 = 7,5 моль АТФ, за счет окисления 1 молекулы ФАДН₂ — 1,5 моль АТФ. Следовательно, водорододonorная функция цикла Кребса обеспечивает 9 молекул АТФ, а с учетом субстратного фосфорилирования — 10 молекул АТФ (9 + 1).

2.7. Тканевое дыхание

Потребление кислорода в качестве окислителя обычно называют внутриклеточным или тканевым дыханием.

Тканевое дыхание — это последовательность окислительно-восстановительных реакций, протекающих во внутренней митохондриальной мембране с участием ферментов дыхательной цепи.

Реакции прямого взаимодействия между кислородом и водородом в небиологических условиях (*in vitro*) сопровождаются взрывообразным выделением энергии в виде тепла и света:



В клетке реакция в таком виде невозможна.

В живом организме реакция *окисления* водорода кислородом с образованием воды (тканевое дыхание) протекает в митохондриях клеток. Она начинается с отрыва атомов водорода от субстрата и заканчивается переносом электронов на кислород, поступающий с вдыхаемым воздухом. Выделяющаяся при этом энергия рассеивается в виде тепла и запасается в макроэргических связях молекулы АТФ.

Отличиями реакции биологического окисления, т.е. протекающей в живом организме, от реакции окисления в неживой природе (*in vitro*) являются: во-первых, постепенное или поэтапное выделение энергии (это достигается за счет дробления процесса окисления на ряд промежуточных стадий); во-вторых, окисление в дыхательной цепи не молекулярного водорода, а водорода, включенного в состав субстратов; в-третьих, энергия не только выделяется в виде тепла,

но и запасается в макроэргических связях молекулы АТФ, а также аккумулируется в виде электрохимического потенциала; в-четвертых, участие в реакциях тканевого дыхания ферментов — оксидоредуктаз.

2.8. Дыхательная цепь переноса электронов

Дыхательная цепь переноса электронов представляет собой систему структурно и функционально связанных белков и переносчиков электронов, объединенных в дыхательные комплексы, которые встроены во внутреннюю мембрану митохондрий (рис. 2.10). Принцип ее работы состоит в следующем:

- восстановленные в реакциях катаболизма коферменты НАДН·Н⁺ и ФАДН₂ окисляются, передавая *атомы водорода* (протоны водорода и электроны) в цепь переноса электронов митохондрий;
- перенос электронов сопровождается высвобождением энергии, которая используется для выхода протонов Н⁺ из матрикса в межмембранное пространство. Тем самым создается протонный градиент ($\Delta\mu\text{H}^+$);
- электроны переносятся с помощью компонентов ферментативных комплексов тканевого дыхания на кислород и восстанавливают его до воды;
- протоны Н⁺ возвращаются обратно в матрикс через протонный канал АТФ-синтазы. За счет этого фермент катализирует синтез АТФ.

2.8.1. Компоненты дыхательной цепи

В переносе электронов и водорода принимают участие ферменты, коферменты, простетические группы и транспортные системы, которые погружены в двойной липидный слой митохондриальной мембраны. Различают четыре основных типа переносчиков электронов в дыхательной цепи, каждый из которых способен претерпевать обратимое окисление и восстановление в результате потери и присоединения электронов при взаимодействии с другим переносчиком.

Первый тип переносчиков представлен *флавиновыми коферментами* — ФМН и ФАД, которые участвуют в передаче электронов и протонов.

Второй тип — *железосерные белки (FeS-белки)*, они переносят только электроны. Отличительной особенностью FeS-белков является сложноорганизованное строение их активного центра, содержащего негемовое железо, нековалентно связанное с атомом серы в составе аминокислоты белкового компонента — цистеина и еще с одним атомом серы вне структуры цистеина. Известны Fe₂S₂-центры (содержат по два атома серы и железа), Fe₃S₃- и Fe₄S₄-центры.

Белки, имеющие Fe₂S₂-центры, содержатся в нескольких ферментных комплексах дыхательной цепи. В FeS-белках содержится 80 % железа, в цитохромах — только 20 %. Атомы железа в FeS-центрах могут находиться

2.8. Дыхательная цепь переноса электронов

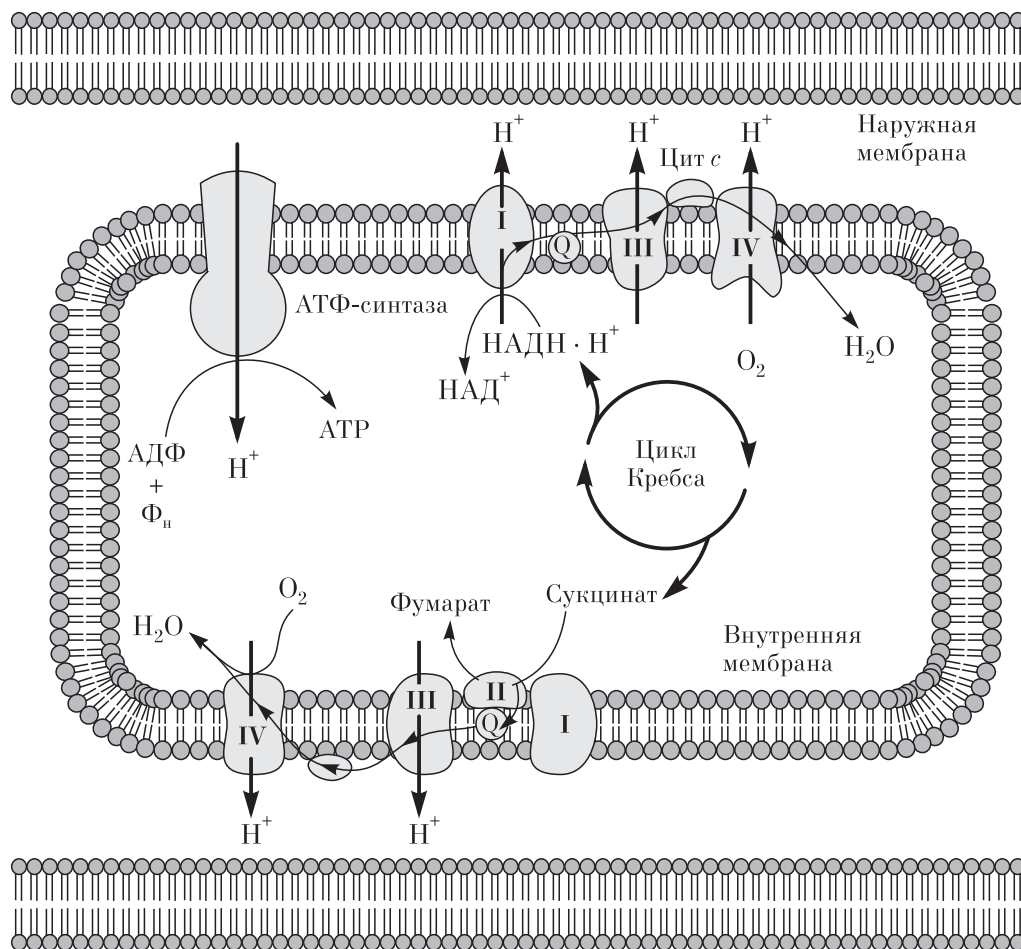
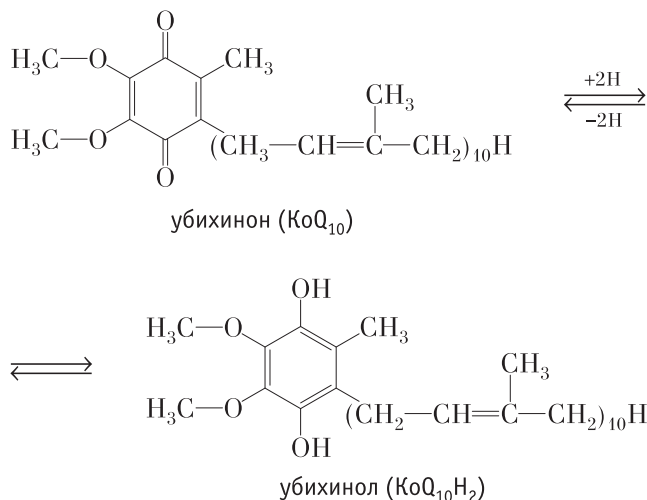


Рис. 2.10. Дыхательная цепь переноса электронов во внутренней мембране митохондрий (I–IV — мультиферментные комплексы, подробнее см. п. 2.8.1, 2.8.2)

в окисленном (Fe^{3+}) или восстановленном (Fe^{2+}) состоянии. В зависимости от особенностей строения FeS-центров железосерные белки могут одновременно переносить один или несколько электронов.

Третий тип переносчиков представлен **убихиноном** — небелковым переносчиком электронов и протонов. Убихинон (коэнзим Q, KoQ) представляет собой небольшую молекулу (производное бензохинона) с длинной боковой цепью связанных между собой изопrenoидных группировок. У млекопитающих их десять, поэтому используется обозначение KoQ_{10} . При одноэлектронном восстановлении он превращается в семихинон (органический свободный радикал). При полном восстановлении он присоединяет два электрона и два протона, образуя гидрохиноновую форму KoQH_2 .

2. Обмен веществ и свободной энергии в клетках



Хорошая растворимость в липидной фазе и относительно небольшой молекулярный вес придают коэнзиму Q свойство подвижного переносчика, способного легко перемещаться в неполярном слое внутренней митохондриальной мембраны и взаимодействовать с фиксированными электронпереносящими белками.

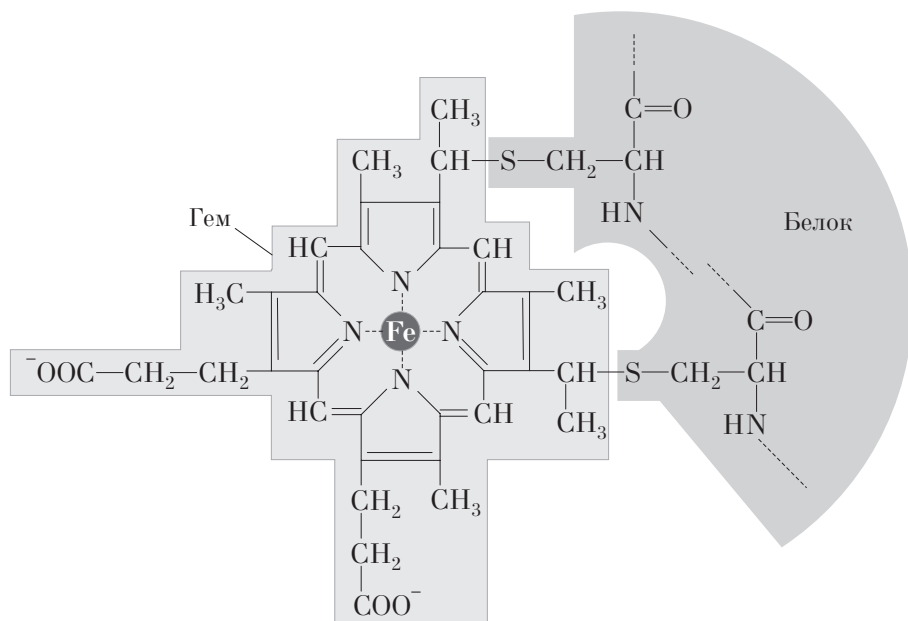


Рис. 2.11. Простетическая группа цитохромов c₁ и c

2.8. Дыхательная цепь переноса электронов

Четвертый тип представлен группой различных гемсодержащих белков (гемопротеинов), называемых **цитохромами**. Они переносят только электроны вследствие изменяющейся степени окисления атома железа.

Цитохромы представлены пятью основными группами: b , c_1 , c , a , a_3 , которые различаются не только белковой частью, но и особенностями своих простетических групп (рис. 2.11).

Все эти переносчики протонов и электронов структурно объединены в четыре мультиферментных комплекса дыхательной цепи. Название комплекса, переносящего электроны, складывается из названия *донора* протонов и электронов и названия *акцептора*:

- I комплекс — НАДН·Н⁺-убихинон-оксидоредуктаза;
- II комплекс — сукцинат-убихинон-оксидоредуктаза;
- III комплекс — убихинол-цитохром c -оксидоредуктаза;
- IV комплекс — цитохром c -оксидаза.

Порядок расположения комплексов зависит от величины их редокс-потенциала. И каждый из этих комплексов осуществляет перенос электронов от донора к акцептору по градиенту редокс-потенциала, так как система с более низким окислительно-восстановительным потенциалом обладает большей способностью отдавать электроны системе с большим потенциалом. Таким образом, все реакции в дыхательной цепи направлены по своеобразной термодинамической лестнице (рис. 2.12) от компонента с наибольшим отрицательным редокс-потенциалом (НАДН·Н⁺, $-0,4$ В) к кислороду, имеющему наибольший положительный редокс-потенциал ($+0,82$ В).

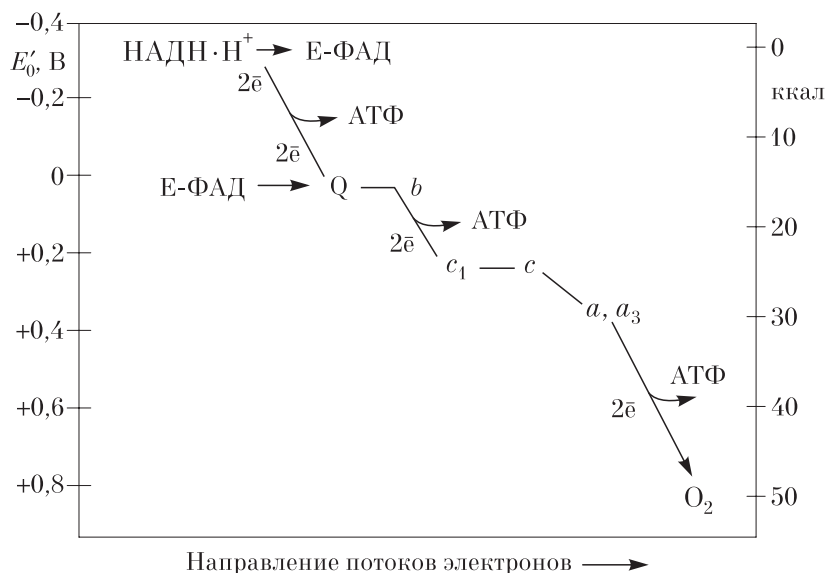


Рис. 2.12. Направление потока электронов в цепи тканевого дыхания по градиенту окислительно-восстановительного потенциала

2.8.2. Структурная организация цепи переноса электронов

I комплекс дыхательной цепи (*НАДН·H⁺-убихинон-оксидоредуктаза*) представляет собой сложный полиферментный комплекс с молекулярной массой 850×10^3 а.е.м. Он содержит более 20 различных белков. В его состав входят кофермент ФМН и железосерные белки ($2\text{Fe}_2\text{S}_2$ и $4\text{Fe}_4\text{S}_4$).

II комплекс дыхательной цепи (*сукцинат-убихинон-оксидоредуктаза*) отличается меньшей молекулярной массой (125×10^3 а.е.м.). Коферментом комплекса является ФАД. Комплекс содержит железосерные белки (Fe_2S_2 , Fe_3S_4 , Fe_4S_4).

Небелковый переносчик коэнзим Q представляет собой «узловой пункт», куда стекается водород, поступающий в дыхательную цепь от самых различных субстратов. Возможно, поэтому его концентрация в дыхательной цепи выше, чем уровень других переносчиков электронов.

III комплекс дыхательной цепи (*убихинол-цитохром-с-оксидоредуктаза*). Молекулярная масса комплекса составляет 400×10^3 а.е.м. Он содержит железосерные белки ($2\text{Fe}_2\text{S}_2$) и цитохромы *b* и *c*₁.

IV комплекс дыхательной цепи (*цитохромоксидаза*) способен непосредственно реагировать с кислородом. Это сложный гемопrotein с молекулярной массой 200×10^3 а.е.м., состоящий из семи полипептидных цепей и двух различных гемов *a*-типа (цитохромы *a* и *a*₃). Гем ковалентно связан с апобелком (через SH-группы *цис*-14, *цис*-17). В отличие от других комплексов, цитохромоксидаза, помимо железа, содержит два атома меди. Медь при транспорте электронов также попеременно переходит в окисленное (Cu^{2+}) и восстановленное (Cu^{+}) состояние.

Коэнзим Q и цитохром *c* — мобильные переносчики электронов дыхательной цепи. Все другие белковые переносчики — интегральные белки, занимают в мембране строго фиксированное положение и ориентированы определенным образом: цитохром *c*₁ расположен в липидном слое ближе к наружной поверхности внутренней мембраны, а активный центр цитохрома *a*₃ обращен в матрикс. Такое расположение цитохромов позволяет направить поток электронов от наружной поверхности внутренней мембраны митохондрий к ее внутренней поверхности.

Цитохромы переносят электроны последовательно от убихинола на конечный акцептор — кислород. Порядок расположения цитохромов в дыхательной цепи определяется величиной их редокс-потенциала (см. рис. 2.11, 2.12).

2.8.3. Функционирование дыхательной цепи

I комплекс дыхательной цепи катализирует окисление НАДН·H⁺. Донорами водорода для этого комплекса являются пировиноградная кислота, субстраты цикла Кребса (изоцитрат, α-кетоглутарат, малат), оксипроизводные жирных кислот, глутаминовая и некоторые другие аминокислоты.

2.8. Дыхательная цепь переноса электронов

I комплекс принимает электроны и протоны от НАДН·Н⁺. Далее водород (два электрона и два протона) присоединяется к атомам азота изоаллоксазинового кольца ФМН. В ходе последующего окисления восстановленной формы флавинмонокнуклеотида эти протоны перемещаются на железосерные белки. FeS-белки в составе I комплекса *разделяют поток протонов и электронов*: протоны перемещаются в межмембранное пространство, электроны передаются на коэнзим Q. Благодаря I комплексу на каждые два переносимых электрона в межмембранное пространство перемещается четыре протона (рис. 2.13).

Энергетический потенциал (запас энергии) в молекуле убихинола существенно ниже, чем в молекуле НАДН·Н⁺ (разность редокс-потенциала составляет 0,38 В). Выделяющаяся в результате изменения потенциала энергия временно запасается в виде электрохимического протонного градиента.

II комплекс принимает электроны и протоны от субстратов и передает их на убихинон. Со II комплексом взаимодействуют сукцинат, поступающий из матрикса митохондрий, а также находящиеся в матриксе активированные жирные кислоты (ацил-КоА). В результате включения во II комплекс водорода, находившегося в составе субстратов (ФАД-зависимые дегидрогеназы), энергия в основном рассеивается в виде тепла, так как падение редокс-потенциала на этом участке дыхательной цепи незначительно (около 0,05 В).

Липофильный характер молекулы убихинона обуславливает его способность свободно перемещаться в липидной фазе митохондриальной мембраны,

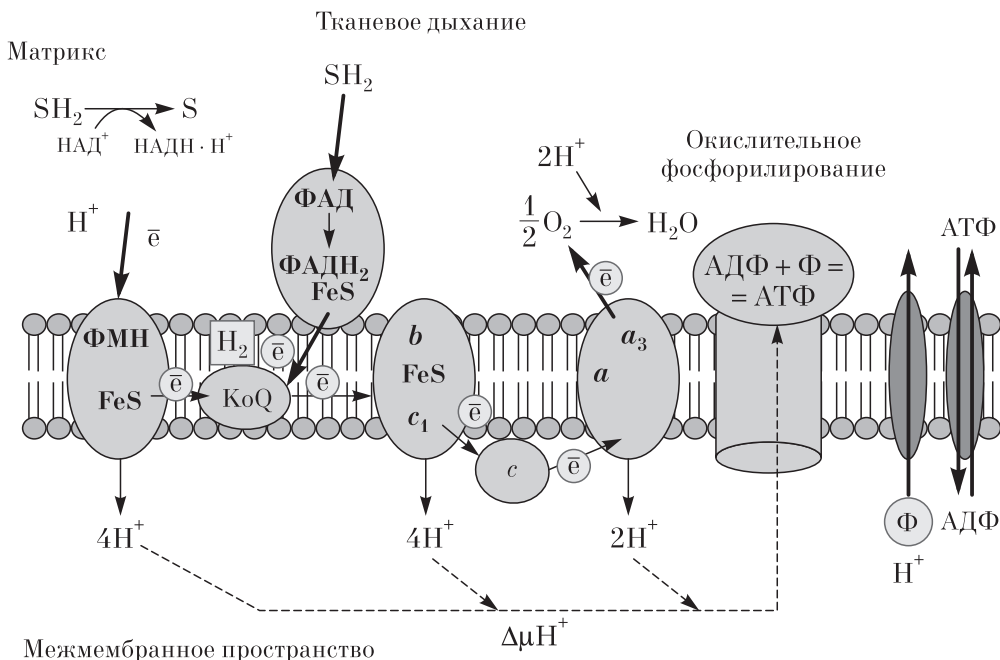
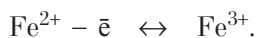


Рис. 2.13. Схема дыхательной цепи

перехватывая протоны и электроны не только от I и II комплексов дыхательной цепи, но и протоны из матрикса. Восстановленная форма (убихинол, CoQH_2), в свою очередь, передает два электрона III комплексу дыхательной цепи, а протоны при этом высвобождаются в межмембранное пространство.

Работа **III комплекса** заключается в транспорте электронов от убихинола на цитохром *c*. Процесс осуществляется следующим образом. Вначале электроны поступают на окисленную форму цитохрома *b* (Fe^{3+}), который при этом восстанавливается (Fe^{2+}), затем восстановленный цитохром *b* передает электроны на FeS-центры, откуда электроны поступают на цитохром *c*₁, а затем на цитохром *c*. Если на участке НАДН·Н⁺ и CoQ осуществляется двухэлектронный перенос, то цитохромы переносят по одному электрону. Следовательно, на данном участке цепи должны действовать две молекулы цитохромов. При этом происходит обратимое окисление-восстановление атома железа простетической группы:



Ферменты III комплекса способны захватывать из матрикса протоны и переносить их в межмембранное пространство. Подобно I комплексу, на каждые два переносимых электрона в межмембранное пространство перемещаются четыре протона. При этом существенно падает окислительно-восстановительный потенциал (от -0,04 В у цитохрома *b* до +0,25 В у цитохрома *c*).

От III комплекса электроны переносятся на **IV комплекс** при помощи очень подвижного белка — цитохрома *c*. Эта небольшая молекула массой $12,5 \times 10^3$ а.е.м., содержащая 104 аминокислотных остатка, способна активно перемещаться, совершая челночные движения вдоль внешней поверхности мембраны от III к IV комплексу. Цитохром *c* переносит только электроны, попеременно восстанавливаясь и окисляясь. Электроны от цитохрома *c* последовательно переносятся на цитохром *a*, а затем на цитохром *a*₃. Конечным акцептором электронов является молекулярный кислород воздуха. Следует заметить, что эта реакция весьма сложна и протекает через промежуточные стадии образования свободных радикалов кислорода. Четыре электрона от четырех молекул цитохрома *c* используются для восстановления кислорода. Непосредственно восстановление кислорода происходит на цитохроме *a*₃, обращенном к матриксу. Кислород присоединяет два протона из матрикса митохондрий, образуя воду:



В этой реакции кислород, как наиболее сильный окислитель, акцептируя электроны, создает основную движущую силу для переноса электронов по дыхательной цепи, в результате чего переносчики поддерживаются в окисленном состоянии и оказываются способными принимать электроны, поставляемые от окисляемых субстратов.

2.8. Дыхательная цепь переноса электронов

Энергия, полученная в этом процессе (редокс-потенциал IV комплекса составляет +0,57 В), используется для создания трансмембранного протонного градиента. Из матрикса в межмембранное пространство митохондрий «выкачивается» два протона на каждые два переносимых электрона.

2.8.4. Сопряжение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования

Три комплекса дыхательной цепи (I, III и IV) функционируют как *протонные помпы*, т.е. используют энергию электронов. Эти комплексы обеспечивают перенос H^+ из матрикса в межмембранное пространство. В результате возникает протонный электрохимический потенциал ($\Delta\mu H^+$). Это происходит на участках дыхательной цепи, где изменение окислительно-восстановительного потенциала ($\Delta E \approx 0,25$ В) достаточно для обеспечения необходимой протондвижущей силы и образования одной макроэргической связи АТФ (эквивалентно затрате энергии 42 кДж/моль). Таким образом, *пункты сопряжения окисления и фосфорилирования* (синтез АТФ) располагаются между НАДН· H^+ и КоQ ($\Delta E'_0 \approx 0,3$ В), между КоQH₂ и цитохромом c_1 ($\Delta E'_0 \approx 0,21$ В) и между цитохромом a и цитохромом a_3 ($\Delta E'_0 \approx 0,53$ В).

Следует отметить, что синтез АТФ непосредственно в этих комплексах не осуществляется. АТФ синтезируется при участии *протонной АТФ-синтазы* за счет энергии градиента электрохимического потенциала (μH^+). Протонный градиент $\Delta\mu H^+$ складывается из $\Delta\Psi$ (электрического потенциала, обусловленного разными зарядами по обе стороны мембраны; на наружной стороне мембраны заряд более положительный, связанный с положительным зарядом протонов) и $\Delta p H^+$ (химического потенциала, обусловленного различной концентрацией катионов водорода по обе стороны мембраны):

$$\Delta\mu H^+ = \Delta\Psi + \Delta p H^+.$$

Энергия электрохимического потенциала используется митохондриями для синтеза АТФ, транспорта субстратов тканевого дыхания и ионов; 30–35 % энергии электрохимического потенциала рассеивается в виде теплоты и используется теплокровными животными на поддержание температуры тела.

2.8.5. Окислительное фосфорилирование — основной механизм синтеза АТФ в клетке

Окислительное фосфорилирование — это механизм синтеза АТФ за счет энергии переноса электронов в дыхательной цепи от субстрата на кислород.

Реакция протекает по уравнению



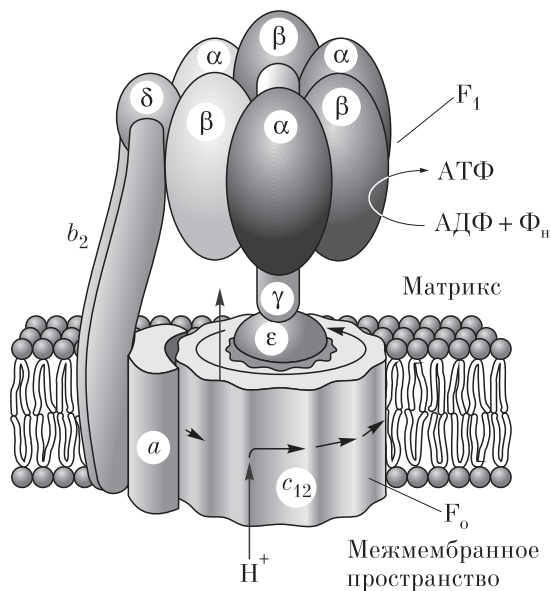


Рис. 2.14. Строение протонной АТФ-синтазы

Чтобы понять связь между транспортом электронов по дыхательной цепи и синтезом АТФ, познакомимся с ферментным комплексом, осуществляющим реакцию синтеза АТФ и называемым **протонной АТФ-синтазой**¹ (рис. 2.14).

АТФ-синтаза (протонный насос, АТФаза) является самым крупным структурным компонентом внутренней митохондриальной мембраны, по форме напоминающим гриб. Она представлена двумя большими полиферментными белками — F_0 и F_1 , каждый из которых, в свою очередь, состоит из нескольких неоднородных полипептидов. Белок F_0 (нижний индекс «о» происходит от слова «олигомицин») представляет собой протонный канал, пронизывающий толщу внутренней мембраны насквозь. Шаровидная головка на рисунке — F_1 (фактор 1). Он обращен в сторону матрикса митохондрии и заметно выступает из мембраны. Фактор F_1 состоит из девяти субъединиц, представленных пятью типами белков. Полипептидные цепи трех субъединиц α и трех субъединиц β уложены в похожие по строению белковые глобулы, которые вместе образуют гексамер, в центре которого находится субъединица γ , образованная двумя полипептидными цепями, напоминающими стержень длиной около 9 нм. Синтез АТФ из АДФ и фосфата катализирует субъединица β белка F_1 .

Поток протонов заставляет вращаться кольцо из c -субъединиц фермента и вызывает вращение γ -субъединицы на 120° (см. рис. 2.14) против часовой

¹ Иногда АТФ-синтазу называют V комплексом, имея в виду лишь комплекс № 5, локализованный во внутренней мембране митохондрии. Это вовсе не означает, что V комплекс принадлежит дыхательной цепи ферментов или системе тканевого дыхания, как вышеозначенные четыре комплекса.

2.8. Дыхательная цепь переноса электронов

стрелки. При вращении γ -субъединицы происходят конформационные изменения α -, β -протомеров, в результате чего осуществляется синтез АТФ и последующее его высвобождение. В изолированном виде F_1 не может синтезировать АТФ, но может проводить его гидролиз до АДФ и фосфата.

Регулируется скорость работы дыхательной цепи соотношением АТФ/АДФ, т.е. *энергетическим зарядом клетки*. Стимулятором дыхательной цепи является АДФ. Это имеет большое физиологическое значение, так как увеличение концентрации АДФ в клетке является свидетельством низкой концентрации АТФ (соотношение адениловых нуклеотидов в клетке постоянно), следовательно, указывает на гипоенергетическое состояние. Отсюда вытекает и необходимость большего потребления субстратов. Напротив, АТФ — аллостерический ингибитор ферментов тканевого дыхания.

2.8.6. Теория окислительного фосфорилирования

Для объяснения механизма окислительного фосфорилирования английский биохимик П. Митчелл в 1961 г. сформулировал хемиосмотическую теорию, или **теорию окислительного фосфорилирования** (Нобелевская премия, 1978 г.).

Основные постулаты этой теории:

1) внутренняя митохондриальная мембрана (ВММ) непроницаема для ионов, в частности для H^+ и OH^- ;

2) за счет энергии транспорта электронов через I, III и IV комплексы дыхательной цепи из матрикса «выкачиваются» протоны;

3) на мембране при «перекачке» протонов создается разница концентрации ионов водорода и возникает электрохимический градиент ($\Delta\mu H^+$), который и есть промежуточная форма запасаания энергии;

4) возвращение (транслокация) протонов в матрикс митохондрии через протонный канал АТФ-синтазы за счет электрохимического градиента ($\Delta\mu H^+$) является движущей силой синтеза АТФ.

Дальнейшие исследования (Дж. Уокер, П. Бойер, Нобелевская премия 1997 г.) подтвердили предположения Митчелла. Они показали, что энергия движения протонов используется на изменение конформации активного центра АТФ-синтазы, что сопровождается синтезом АТФ, а затем ее высвобождением. Всего на процесс синтеза, высвобождения и выброса в цитозоль АТФ расходуется четыре протона. Роль протонов сводится к подавлению диссоциации фосфата, образованию активной формы фосфорной кислоты, которая реагирует с АДФ, смещая, таким образом, равновесие реакции вправо, т.е. в сторону образования АТФ. Часть протонов расходуется на транспорт синтезированной АТФ из матрикса через митохондриальные мембраны в цитоплазму клетки с помощью *транслоказы*, а АДФ и фосфата — в обратном направлении. Обычно такой антипорт сопровождается переносом одного протона из межмембранного пространства в матрикс.

2.8.7. Коэффициент фосфорилирования и расчет энергетической ценности окисления различных субстратов

Мерой эффективности дыхания как поставщика энергии для синтеза АТФ, предложенной в 1939 г. В.А. Белицером и Е.Т. Цыбаковой, может служить отношение количества синтезированного АТФ к количеству потребляемого кислорода — коэффициент фосфорилирования.

Коэффициент фосфорилирования (Р/О) — это отношение количества неорганического фосфата, включенного в молекулу АДФ, к количеству атомов кислорода, включенного в молекулу H_2O , при переносе одной пары электронов по дыхательной цепи.

Экспериментально установлено, что при окислении *НАД-зависимых субстратов* из матрикса в межмембранное пространство (ММП) «выкачивается» 10 протонов (см. рис. 2.13). Всего на процесс синтеза и высвобождения в цитозоль АТФ расходуется 4 протона. В таком случае может быть синтезировано 2,5 моль АТФ (10:4), т.е. $\text{P/O} = 2,5$. При окислении *ФАД-зависимых субстратов* в ММП выходит 6 протонов в III и IV пунктах сопряжения. В таком случае может быть синтезировано 1,5 моль АТФ (6:4), т.е. $\text{P/O} = 1,5$.

Теперь вернемся к пониманию *энергетической функции* цикла Кребса. В цикле трикарбоновых кислот (ЦТК) происходят четыре реакции дегидрирования, причем три дегидрогеназы цикла Кребса являются НАД^+ -зависимыми и одна — ФАД -зависимой. При окислении трех молекул $\text{НАДН} \cdot \text{H}^+$ в дыхательной цепи синтезируется 7,5 моль АТФ. Окисление одной молекулы ФАДН_2 ведет к синтезу 1,5 моль АТФ. Помимо этого, в ЦТК имеет место одна реакция субстратного фосфорилирования. Таким образом, энергетический выход окисления ацетил-КоА в цикле Кребса равен 10 моль АТФ (7,5 + 1,5 + 1).

При расчете энергетической ценности окисления, т.е. количества АТФ или коэффициента Р/О необходимо представлять себе весь путь окисления вещества до H_2O и превращения его углеродных атомов в CO_2 . При этом необходимо учитывать *число атомов углерода* в молекуле. Например, оксалоацетат содержит четыре атома углерода и поэтому его остатку необходимо дважды пройти реакции ЦТК, прежде чем они выделятся в виде CO_2 . Подсчитывая число восстановленных коферментов ($\text{НАДН} \cdot \text{H}^+$, ФАДН_2) и ГТФ, образуемых в двух «оборотах» ЦТК, определяем количество АТФ — 20 молекул.

2.8.8. Разобщение окислительного фосфорилирования и тканевого дыхания

Свободный от синтеза АТФ путь окисления субстратов тканевого дыхания называется *нефосфорилирующим (свободным) окислением*, а сам процесс — *разобщением окислительного фосфорилирования и тканевого дыхания*. Разобщение процессов окисления и фосфорилирования может быть вызвано действием ряда веществ, как природных, так и синтетических.

2.8. Дыхательная цепь переноса электронов

Разобщи́тели — это липофильные вещества, способные связывать и переносить протоны в матрикс митохондрий, минуя протонный канал H^+ -АТФ-синтазы и нарушающие систему сопряжения процессов окисления в дыхательной цепи и синтеза АТФ. Они подавляют окислительное фосфорилирование, но усиливают перенос электронов дыхательной цепью. Выделяющаяся при переносе электронов энергия рассеивается в виде тепла.

Естественные (природные) разобщи́тели: продукты перекисного окисления липидов, жирные кислоты с длинной цепью, белки-термогенины бурой жировой ткани, большие дозы йодсодержащих гормонов щитовидной железы.

Искусственные разобщи́тели: 2,4-динитрофенол, производные витамина К, антибиотики валиномицин, грамицидин, диэтиловый эфир для наркоза.

По механизму действия разобщи́тели можно разделить на две группы: протонофоры и ионофоры.

Протонофоры представляют собой слабые гидрофобные органические кислоты, которые связывают протоны и переносят их через митохондриальную мембрану, снижая тем самым трансмембранный градиент ионов водорода и синтез АТФ. К этой группе относятся как естественные разобщи́тели, например, свободные жирные кислоты, продукты перекисного окисления липидов, гормоны щитовидной железы, так и искусственные — салицилаты, дикумарол, 2,4-динитрофенол.

Ионофоры (валиномицин, грамицидин) способны встраиваться в мембрану, образуя канал, по которому могут перемещаться протоны и другие одновалентные катионы — Na^+ или K^+ . В результате также исчезает протонный потенциал ($\Delta\mu H^+$) и нарушается синтез АТФ.

В физиологических условиях разобщение может служить одним из механизмов терморегуляции. В организме человека имеется особая ткань — *бурый жир*. Он содержит много митохондрий с большим количеством дыхательных ферментов и разобщающего белка *термогенина*, который действует подобно ионному каналу, контролирующему проводимость протонов во внутренней митохондриальной мембране. Разобщение окислительного фосфорилирования и тканевого дыхания в бурой жировой ткани позволяет генерировать тепло для поддержания температуры тела у новорожденных, у животных во время зимней спячки и у всех млекопитающих в процессе адаптации к холоду.

Частичное разобщение окисления с фосфорилированием наблюдается при многих заболеваниях. Так, при гиперфункции щитовидной железы у людей усиливается продукция тироксина. Тироксин уменьшает образование АТФ, одновременно усиливает окисление субстратов в дыхательной цепи и продукцию тепла (в результате повышается температура тела).

2.8.9. Ингибиторы переноса электронов в дыхательной цепи и окислительного фосфорилирования

Ингибиторы *тканевого дыхания* блокируют комплексы дыхательной цепи, преграждая поток электронов на определенных ее участках (рис. 2.15).

Первая группа препаратов действует на уровне флавопротеинов, переносящих электроны от НАДН·Н⁺ на коэнзим Q. Это *ротенон* и *барбитураты* — *веронал*, *гексенал*, *амитал*, *барбамил* и др. Ротенон обнаружен во многих видах растений семейства бобовых. Он применяется в сельском хозяйстве в качестве инсектицида. Блокируя I комплекс, барбитураты и ротенон не мешают использованию субстратов (сукцината, ацил-КоА), окисляющихся ФАД-зависимыми дегидрогеназами.

Конкурентным ингибитором сукцинатдегидрогеназы, катализирующей отщепление атомов водорода от янтарной кислоты (HOOC—CH₂—CH₂—COOH), является *малонат* (HOOC—CH₂—COOH).

Противогрибковый антибиотик *антимицин А* оказывает токсическое действие на клетки млекопитающих, блокируя перенос электронов между цитохромами *b* и *c*₁ (III комплекс). В результате такой блокады переносчики, расположенные в дыхательной цепи до цитохрома *c*₁, останутся в восстановленном состоянии, тогда как цитохромы *c*₁, *a*, *a*₃ окажутся окисленными. В этих условиях дыхание возможно только в случае поступления электронов и протонов непосредственно на участок цепи после блока. Например, аскорбиновая кислота может окисляться цитохромом *c*.

Цианиды (NaCN, KCN), *азиды* (NaN₃), *угарный газ* блокируют цитохром-оксидазу (IV комплекс) и делают невозможным сам процесс дыхания, т.е. перенос электронов на кислород. Эти вещества вызывают кислородное голодание, хотя кислород присутствует в большом количестве. Ингибиторы цитохром-оксидазы являются сильнейшими ядами, вдыхание HCN или попадание в организм

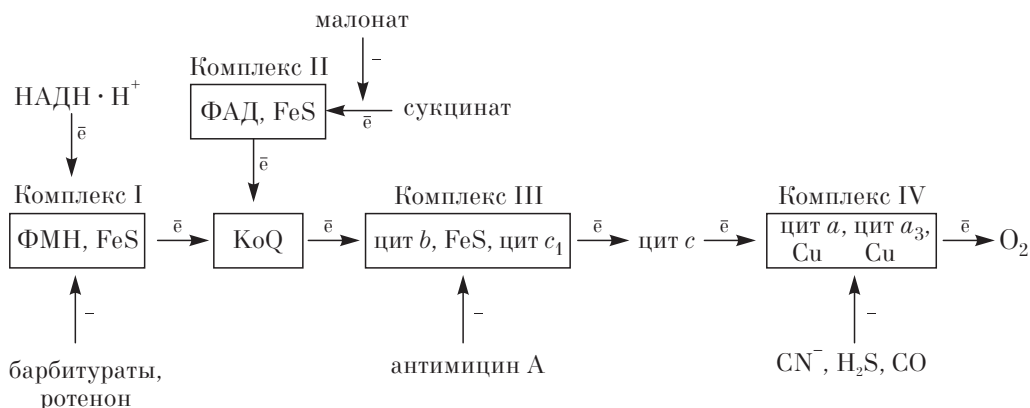


Рис. 2.15. Ингибиторы переноса электронов в дыхательной цепи

2.9. Гипоэнергетические состояния

через желудочно-кишечный тракт солей NaCN или KCN, вызывает быструю гибель организма в результате связывания цианидным анионом CN^- атома железа в цитохроме a_3 .

Моноксид углерода (CO), связываясь с гемом цитохрома a_3 , нарушает его взаимодействие с кислородом.

Ингибиторами **фосфорилирования** являются макролидные антибиотики *олигомицин* и *вентурицидин В*. Оба антибиотика не действуют непосредственно на дыхательные комплексы, они ингибирует F_0 -компонент мембранно-связанной АТФ-синтазы, подавляя процесс синтеза АТФ.

Еще одним механизмом нарушения энергообеспечения клетки может быть угнетение митохондриальной транслоказы, обеспечивающей перенос синтезированной АТФ из митохондрий в цитоплазму и АДФ из цитоплазмы в митохондрии по механизму антипорта. Так действует *атрактилозид* — гликозид, выделенный из растения *Distel Atractylis gummifera*, произрастающего в Средиземноморье.

2.9. Гипоэнергетические состояния

Состояния, при которых снижается синтез АТФ, называются **гипоэнергетическими**. При этом страдают все процессы жизнедеятельности, которые протекают с использованием энергии, запасенной в виде макроэнергетических связей АТФ. Наиболее распространенная причина гипоэнергетических состояний — *гипоксия тканей*, связанная со снижением концентрации кислорода в воздухе или с нарушением его доставки в клетки, анемиями различного происхождения, нарушением работы сердечно-сосудистой и дыхательной систем. Кроме того, причиной гипоэнергетических состояний могут быть *гиповитаминозы*, связанные с нарушением структурного и функционального состояния ферментных систем биологического окисления, а также *голодание*, которое приводит к отсутствию субстратов тканевого дыхания. Ингибиторы, в том числе так называемые дыхательные яды, блокируют перенос электронов через I, II, III, IV комплексы цепи тканевого дыхания. За счет этого они, как и разобщители процессов тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, способствуют развитию гипоэнергетического состояния.

Химия и обмен углеводов

Углеводы — это альдегиды (альдозы) и кетоны (кетозы) многоатомных спиртов. Углеводы широко распространены в природе, являются компонентами всех клеток живых организмов и выполняют разнообразные функции. В организме млекопитающих на долю углеводов приходится около 1 % массы тела.

Важной отличительной особенностью углеводов является качественное многообразие их мономеров (триозы, тетрозы, пентозы, гексозы и их изоформы, аминокислоты (аминосахара), кислоты (нейраминавая, глюкуроновая и т.д.) и продуктов их полимеризации.

3.1. Биологическая роль углеводов

В клетках живых организмов углеводы являются источниками и аккумуляторами энергии. Стоит также отметить, что глюкоза — основной поставщик энергии для нервной ткани и коркового вещества почек, а для эритроцитов — единственный. На долю углеводов приходится более 50 % суточного количества необходимой организму человека энергии.

Углеводы выполняют в организме *пластическую* и *структурную* функции. Особое место углеводы занимают в структуре органов, богатых соединительной тканью, поскольку они — главный молекулярный компонент межклеточного матрикса (органы ротовой полости, сосуды и т.д.). Они входят в состав гликолипидов и гликопротеинов; используются для синтеза нуклеиновых кислот и коферментов.

Анаболическая функция углеводов заключается в том, что они являются основным источником для синтеза липидов, аминокислот. В организме многих животных из углеводов синтезируется витамин С.

Обезвреживающая функция углеводов состоит в том, что УДФ-глюкуроновая кислота (активное производное глюкозы) участвует в процессах обезвреживания эндогенных токсичных соединений и ксенобиотиков, в том числе лекарственных веществ. Образующиеся при этом глюкуроны представляют собой гидрофильные соединения, доступные для выведения из организма.

Являясь составной частью антител, углеводы обеспечивают «узнавание» антигенов, выполняя *защитную* функцию. Липополисахариды бактерий и гли-

3.2. Классификация углеводов

копротеины плазматических мембран животных клеток обеспечивают избирательность межклеточного взаимодействия и иммунологических реакций организма. Углеводы, входящие в состав мембраны эритроцитов, определяют группы крови, участвуют в свертывании крови (входят в состав фибриногена, протромбина); углеводные компоненты входят в состав рецепторов, белков-транспортёров и некоторых белковых гормонов (тиреотропина, гонадотропина).

3.2. Классификация углеводов

Класс углеводов включает разнообразные соединения — от низкомолекулярных, содержащих от 3 до 10 атомов углерода, до полимеров с молекулярной массой в несколько миллионов. Классификация углеводов основана на их структуре (рис. 3.1). Согласно ей, углеводы подразделяются на три основные группы: моносахариды, олигосахариды (2–10 моносахаридов), полисахариды (более 10 моносахаридов). Полисахариды бывают двух видов — гомо- и гетерополисахариды.

Кроме того, в живых организмах широко распространены соединения углеводов с веществами других классов, аминсахара — соединения углеводов с аминами (например, глюкозамин); гликопротеины и протеогликаны — соединения углеводов с белками, гликолипиды — соединения углеводов с липидами. Наконец, нуклеиновые кислоты ДНК и РНК также представляют собой сложные молекулы, в состав которых входит углеводный компонент.

3.2.1. Моносахариды

Моносахариды разделяются по числу углеродных атомов: C_3 — триозы, C_4 — тетрозы, C_5 — пентозы, C_6 — гексозы, C_7 — гептозы, C_8 — октозы и C_9 — нонозы. Природные моносахариды с углеродной цепью, содержащей более 9 атомов углерода, не обнаружены.

Моносахариды являются обычно твердыми бесцветными веществами, растворимыми в воде. Им присуща стереоизомерия. В основе классификации

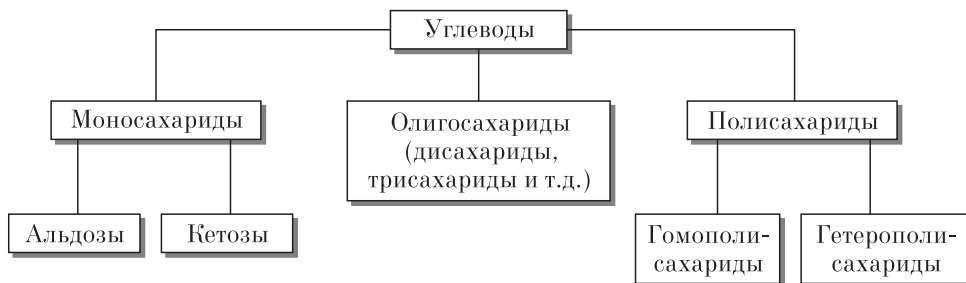
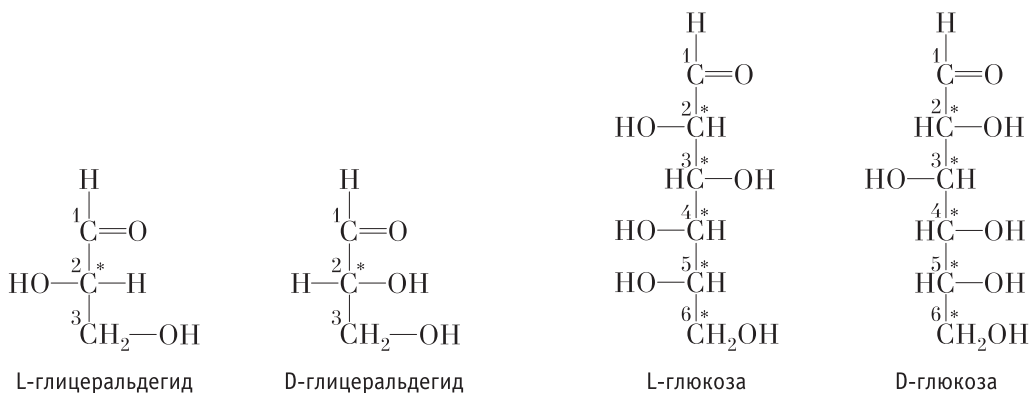


Рис. 3.1. Классификация углеводов

и обозначения стереоизомеров лежит не вращение плоскости поляризации света, а *абсолютная конфигурация* молекулы стереоизомера, т.е. взаимное расположение *четырёх обязательно разных замещающих групп*, находящихся в вершинах тетраэдра вокруг локализованного в центре атома углерода, который получил название *асимметрического атома углерода* или *хирального центра*. Хиральные или, как их еще называют, *оптически активные* атомы углерода, обозначают в структурных формулах звездочкой [*].

В молекуле глицеринового альдегида присутствует только один асимметрический атом углерода. При этом возможно существование только двух стереоизомеров, которые обозначаются как D- и L-изомеры. Если у асимметрического атома углерода в проекционной формуле глицеринового альдегида OH-группа располагается справа, то такой изомер называют *D-стереоизомером*, если слева — *L-стереоизомером*.

В случае тетроз, пентоз, гексоз и других моноз, которые обладают двумя и более асимметрическими атомами углерода, принадлежность стереоизомера к D- или L-ряду определяют по расположению OH-группы у *предпоследнего атома углерода в цепи* — он же является *последним асимметрическим* атомом. Например, для глюкозы оценивают ориентацию OH-группы у пятого атома углерода. Абсолютно зеркальные стереоизомеры называют *энантиомерами*.



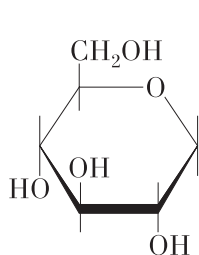
Стереоизомеры не различаются по своим химическим свойствам, но различаются по биологическому действию (биологической активности). Большая часть моносахаридов в организме млекопитающих относится к D-ряду — именно к этой конфигурации специфичны ферменты, ответственные за их метаболизм. В частности, D-глюкоза воспринимается как сладкое вещество благодаря способности взаимодействовать с вкусовыми рецепторами языка, в то время как L-глюкоза безвкусна, поскольку ее конфигурация не воспринимается вкусовыми рецепторами.

В водном растворе моносахариды существуют в двух таутомерных формах — открытой и циклической. Моносахариды с числом атомов углерода

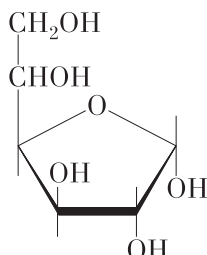
3.2. Классификация углеводов

5 и более существуют в растворе преимущественно в виде замкнутых циклических структур, причем их карбонильная группа не находится в свободном состоянии, а образует ковалентную связь с одной из гидроксильных групп, связанных с атомом углерода основной цепи. Довольно часто встречающиеся 6-членные циклические формы моноз, например D-глюкозы, из-за их сходства с 6-членным гетероциклическим соединением *пираном* получили название *пираноз*. Устойчивые пиранозные кольца могут образовывать только альдозы, содержащие 5 и более атомов углерода. Из-за сходства таких колец с 5-членным гетероциклическим соединением *фураном* их называют *фуранозами*.

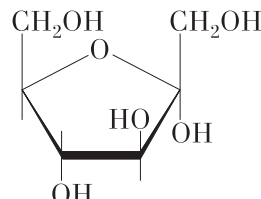
Для изображения циклических форм моносахаридов обычно пользуются так называемыми *перспективными формулами Хеуорса*. В таких формулах часть кольца, расположенную ближе к читателю, изображают жирными линиями.



α -D-глюкопираноза



α -D-глюкофураноза

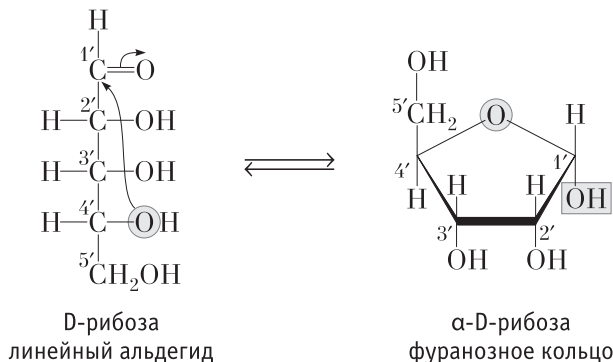


α -D-фруктофураноза

Триозы ($C_3H_6O_6$) образуются в организме человека, животных и растений как промежуточные продукты распада более сложных углеводов. К ним относят *глицериновый альдегид* (альдоза) и *диоксиацетон* (кетоза).

Представителем **тетроз** ($C_4H_8O_4$) является *эритроза*.

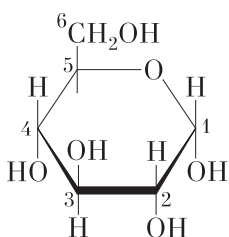
Пентозы ($C_5H_{10}O_5$) в свободном виде не встречаются, но они широко распространены в природе в составе сложных соединений. Представителями пентоз являются *арабиноза*, *ксилоза*, *рибоза* и *дезоксирибоза*, *ксилулоза*. D-Рибоза и D-дезоксирибоза входят в состав нуклеиновых кислот, коферментов (НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД).



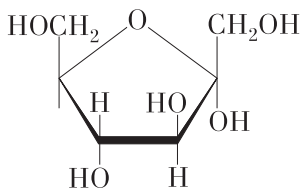
Гексозы ($C_6H_{12}O_6$). Самым распространенным углеводом является *D-глюкоза*.

В природе *D-глюкоза* встречается в свободном виде и в составе олигосахаридов (сахарозы, лактозы), полисахаридов (крахмал, гликоген, целлюлоза, декстран), гликозидов и других производных (например, *D-глюкозамин*). В свободном виде *D-глюкоза* содержится в плодах растений (особенно много ее в винограде), а также в животных тканях (в крови, мозге и др.). *D-Глюкоза* является важнейшим источником энергии в организме животных и микроорганизмов.

β -D-Фруктоза. У человека фруктоза в свободном, т.е. нефосфорилированном виде, находится только в семенной жидкости. В качестве моносахаридного звена фруктоза входит в состав сахарозы и лактулозы (синтетический дисахарид).



D-глюкоза



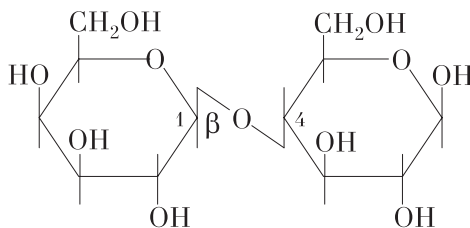
фруктоза

D-Галактоза в организме человека встречается в составе сложных липидов — цереброзидов и ганглиозидов мозга. Входит в состав молока.

3.2.2. Олигосахариды

Олигосахаридами называются углеводы, содержащие от 2 до 10 звеньев моносахаридов, соединенных гликозидными связями. Основная масса олигосахаридов содержится в продуктах питания и представлена дисахаридами: сахарозой, мальтозой и лактозой.

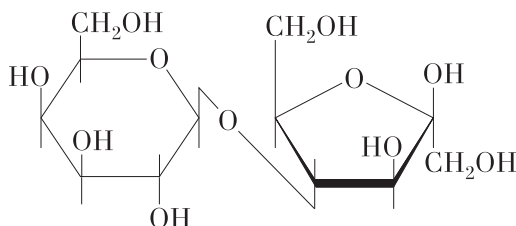
Лактоза (молочный сахар) — основной углевод молока. Лактоза представляет собой дисахарид, состоящий из α -D-глюкозы и β -D-галактозы. Имеет важное значение для растущего организма как животных, так и человека. В коровьем молоке содержится до 4,5 % лактозы, в женском молоке — до 7,5 %.



лактоза

3.2. Классификация углеводов

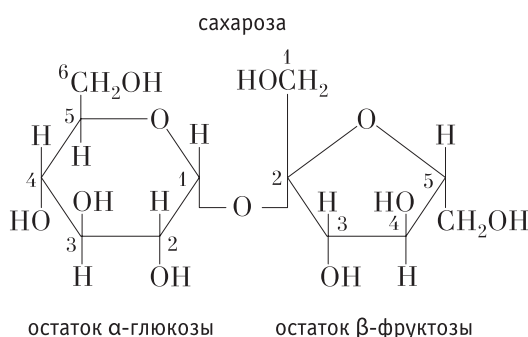
Лактулоза — синтетический дисахарид, стереоизомер лактозы, состоящий из остатков молекул галактозы и фруктозы. Синтезирована в 1930 г.



лактулоза

В отличие от лактозы, лактулоза не подвергается расщеплению в кишечнике человека из-за отсутствия ферментов, способных ее гидролизовать. Лактулоза используется при нарушении функции кишечника. Она повышает осмотическое давление в кишечнике, вызывая переход воды в просвет кишечника, разжижение и увеличение объема каловых масс, а также увеличивает секрецию желчи (послабляющий эффект). В толстой кишке продукты бактериального метаболизма лактулозы сдвигают pH среды в кислую сторону, угнетая тем самым рост и размножение патогенных микроорганизмов и создавая более благоприятную среду для размножения «полезных» сапрофитных бактерий. Это широко используется в лечении дисбактериозов. Лактулоза улучшает всасывание фосфатов, солей кальция и магния, способствует выведению ионов аммония.

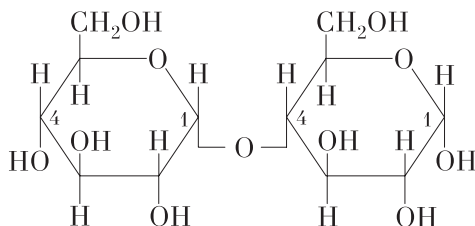
Сахароза (тростниковый или свекловичный сахар). Сахароза состоит из α -D-глюкозы и β -D-фруктозы.



Сахароза широко используется в пищевом рационе людей в качестве дисахарида.

Мальтоза (солодовый сахар) состоит из двух остатков D-глюкозы, соединенных $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидной связью. Мальтоза в свободном виде не встречается и является промежуточным продуктом распада полисахаридов — крахмала

и гликогена. В организм человека поступает с продуктами, содержащими частично гидролизованный крахмал (солод, пиво), а также образуется при расщеплении крахмала в кишечнике.



мальтоза

Трегалоза (грибной сахар) найдена в грибах, водорослях. Как и мальтоза, состоит из двух молекул D-глюкозы, но связанных между собой $\alpha(1\rightarrow1)$ -гликозидной связью.

Все моносахариды и дисахариды обладают сладким вкусом, но в неравной степени. Если сладость сахарозы условно принять за 100 %, то сладость фруктозы составит 175 %, глюкозы — 74 %, лактозы — 40 % и мальтозы — 32 %.

3.2.3. Полисахариды

Различают гомо- и гетерополисахариды. При гидролизе *гомополисахаридов* образуются моносахариды одного типа (например, только глюкоза при распаде крахмала и гликогена). При гидролизе *гетерополисахаридов* наряду с различными моносахаридами образуются также их производные — гексозамины, а также глюкуроновая, уксусная, серная и нейраминная кислоты. По типу строения цепей полисахариды делят на *линейные* и *разветвленные*.

В растительных и животных клетках полисахариды встречаются в виде запасных веществ и структурных компонентов и содержатся как внутри клеток, так и в межклеточном веществе.

Гомополисахариды. *Целлюлоза (клетчатка)* — высокомолекулярный линейный полисахарид, построенный из остатков D-глюкозы, соединенных между собой $\beta(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями. Молекулярная масса целлюлозы может составлять 1 млн а.е.м. и более. Природная целлюлоза обладает высокой механической прочностью, устойчива к химическому и ферментативному гидролизу. Неразветвленные связи типа $\beta(1\rightarrow4)$ приводят к образованию линейных цепей, которые стабилизированы внутри- и межцепочечными водородными мостиками, образованными гидроксильными группами (рис. 3.2).

При частичном гидролизе целлюлозы образуется дисахарид целлобиоза, а при полном — D-глюкоза.

Целлюлоза — самый распространенный биополимер на нашей планете. Помимо того что целлюлоза является одним из структурных компонентов рас-

3.2. Классификация углеводов

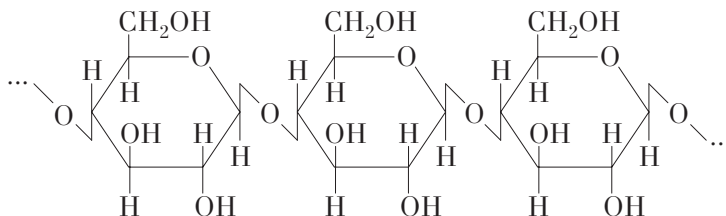
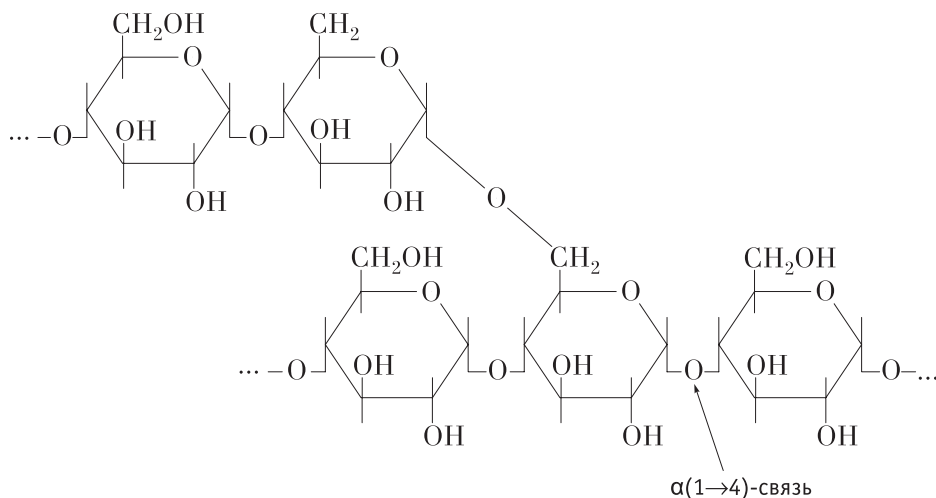


Рис. 3.2. Участок молекулы целлюлозы

тительных клеточных стенок, она служит пищей для некоторых животных, бактерий и грибов. Однако большинство животных, в том числе и человек, не могут использовать целлюлозу из-за отсутствия фермента целлюлазы, расщепляющего β -гликозидные связи.

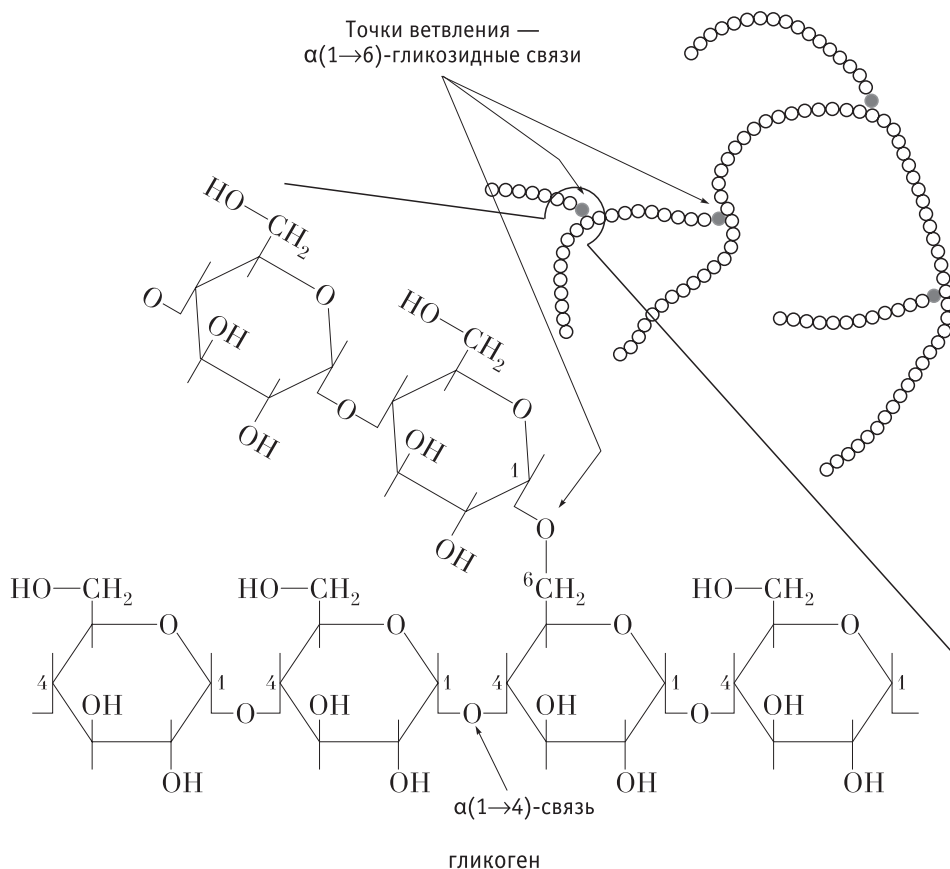
Крахмал ($C_6H_{10}O_5$)_n является основным резервным материалом растительных организмов. Для человека крахмал является важным пищевым источником глюкозы. Крахмал представляет собой смесь двух гомополисахаридов: линейного — амилозы, и разветвленного — амилопектина. Единственным моносахаридом, входящим в состав крахмала, является D-глюкоза.

В амилозе и линейных цепях амилопектина остатки D-глюкозы соединены $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями, а в точках ветвления амилопектина — $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидными связями.



крахмал

Гликоген ($C_6H_{10}O_5$)_n является важнейшим резервным полисахаридом человека и высших животных, образованным остатками глюкозы, связанными $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями, а в местах разветвления — $\alpha(1\rightarrow6)$ -связями.



Это высокомолекулярное соединение с молекулярной массой порядка 10^5 – 10^8 а.е.м. Гликоген откладывается в виде гранул в цитоплазме во многих типах клеток (главным образом печени и мышц) и является основной формой хранения глюкозы. В отличие от крахмала, гликоген имеет более разветвленную и компактную структуру.

Гетерополисахариды. В органах и тканях животных и человека важнейшими представителями гетерополисахаридов являются гликозаминогликаны (мукополисахариды) или протеоглики и гликопротеины. Строение и функции гетерополисахаридов рассматриваются в главе 14 «Биохимия соединительной ткани».

3.2.4. Полисахариды, синтезируемые микроорганизмами в ротовой полости

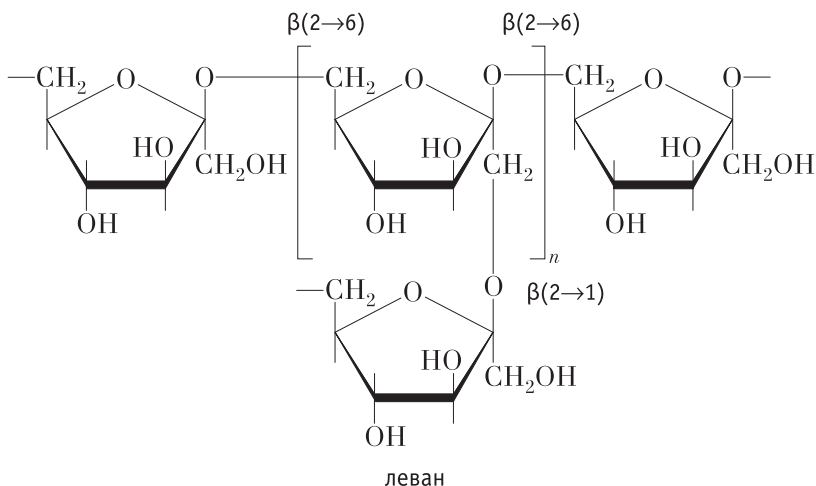
Стрептококки (*S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguis*), лактобактерии и актиномицеты принадлежат к нормальной микрофлоре полости рта здоровых людей, но эти микроорганизмы могут играть этиопатогенетическую роль в развитии

3.2. Классификация углеводов

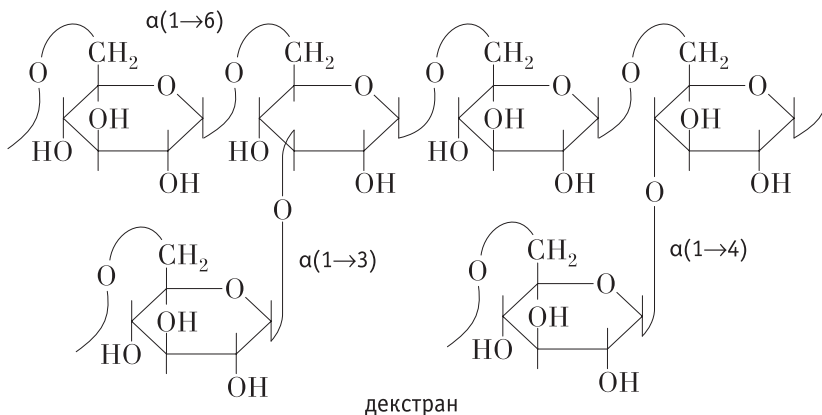
кариеса. Патогенетическое значение имеет способность микроорганизмов, наряду с кислотообразованием, образовывать внутри- и внеклеточные полисахариды, благодаря которым микроорганизмы быстро прикрепляются к эмали зуба.

К внеклеточным полисахаридам ротовой жидкости относятся растворимые и нерастворимые декстраны (глюканы) и леваны (фруктаны), активно участвующие в процессе адгезии микроорганизмов в полости рта.

Леваны представляют собой нейтральные разветвленные полисахариды, построенные из остатков D-фруктозы, которые в основной цепи соединены $\beta(2\rightarrow6)$ -гликозидными связями, а в местах разветвлений — $\beta(2\rightarrow1)$ -связями. Молекулярная масса леванов колеблется от 5 до 10^6 а.е.м.



Декстраны — гомополисахариды разветвленного или линейного строения, макромолекулярная цепь которых построена из остатков D-глюкозы. Декстраны могут содержать до 200 тыс. остатков глюкозы. Звенья линейной цепи молекулы соединены главным образом $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидными связями.



Боковые цепи, состоящие из остатков глюкозы, прикреплены к линейной части макромолекулы декстрана $\alpha(1\rightarrow3)$ - и $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями. Возможно формирование $\alpha(1\rightarrow2)$ -гликозидных связей. Практически каждый продуцент (микроорганизм) синтезирует свой декстран, несколько отличный от других видов.

Синтез внеклеточных полисахаридов микроорганизмами происходит при избытке в пище углеводов, особенно сахарозы. Микроорганизмы *Str. mutans*, *Str. sanguis* и актиномицеты синтезируют высокомолекулярные декстраны и леваны из сахарозы с помощью глюкозилтрансферазы и фруктозилтрансферазы. Глюкозилтрансфераза осуществляет присоединение к сахарозе дополнительных молекул глюкозы, обеспечивая таким образом наращивание молекулы декстрана (гликана). Образование леванов (фруктанов) происходит благодаря фруктозилтрансферазе за счет присоединения к молекуле сахарозы остатков фруктозы.

Внутриклеточные полисахариды (гликоген, крахмал и др.) могут использоваться бактериальной клеткой как запасные питательные вещества на случай недостаточного поступления углеводов извне. Обычно в цитоплазме бактерий содержится 20–30 %, а в условиях, способствующих их накоплению, до 50–60 % полисахаридов от массы сухих клеток.

3.3. Обмен углеводов

Суточная потребность взрослого человека в углеводах составляет 400–500 г. Источником углеводов для организма человека служат углеводы пищи, из них 80 % приходится на крахмал, остальные 20 % — на сахарозу, лактозу, глюкозу и фруктозу. Грудные дети при естественном вскармливании получают только лактозу, поскольку она является единственным углеводом в составе молока.

3.3.1. Переваривание углеводов

Переваривание углеводов начинается в ротовой полости ферментом слюны α -амилазой¹ (рис. 3.3). Примерно 30 % белка, содержащегося в слюне, составляет α -амилаза. Концентрация α -амилазы увеличивается со скоростью секреции слюны. α -Амилаза расщепляет внутренние $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидные связи в молекуле крахмала и гликогена. При этом образуются продукты неполного гидролиза крахмала и гликогена — декстрины.

В небольшом количестве образуется дисахарид — мальтоза. Отметим, что амилаза слюны не гидролизует гликозидные связи в дисахаридах.

В желудке переваривание углеводов тормозится, так как α -амилаза в кислой среде желудочного сока инактивируется (оптимум pH α -амилазы лежит в слабощелочной среде).

¹ α -Амилаза состоит из одной полипептидной цепи, стабилизируется кальцием и активируется ионами хлора.

3.3. Обмен углеводов

Главное место переваривания углеводов — двенадцатиперстная кишка, куда α -амилаза попадает в составе панкреатического сока. Этот фермент завершает расщепление крахмала и гликогена, начатое амилазой слюны, до мальтозы. Из остатков глюкозы, которые в молекуле крахмала находятся в местах разветвления и соединены $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидной связью, образуется дисахарид *изомальтоза*.

Переваривание олигосахаридов, мальтозы, изомальтозы, сахарозы, лактозы происходит под действием специфических ферментов уже не в полости, а на поверхности микроворсинок тонкого кишечника (пристеночное пищеварение).

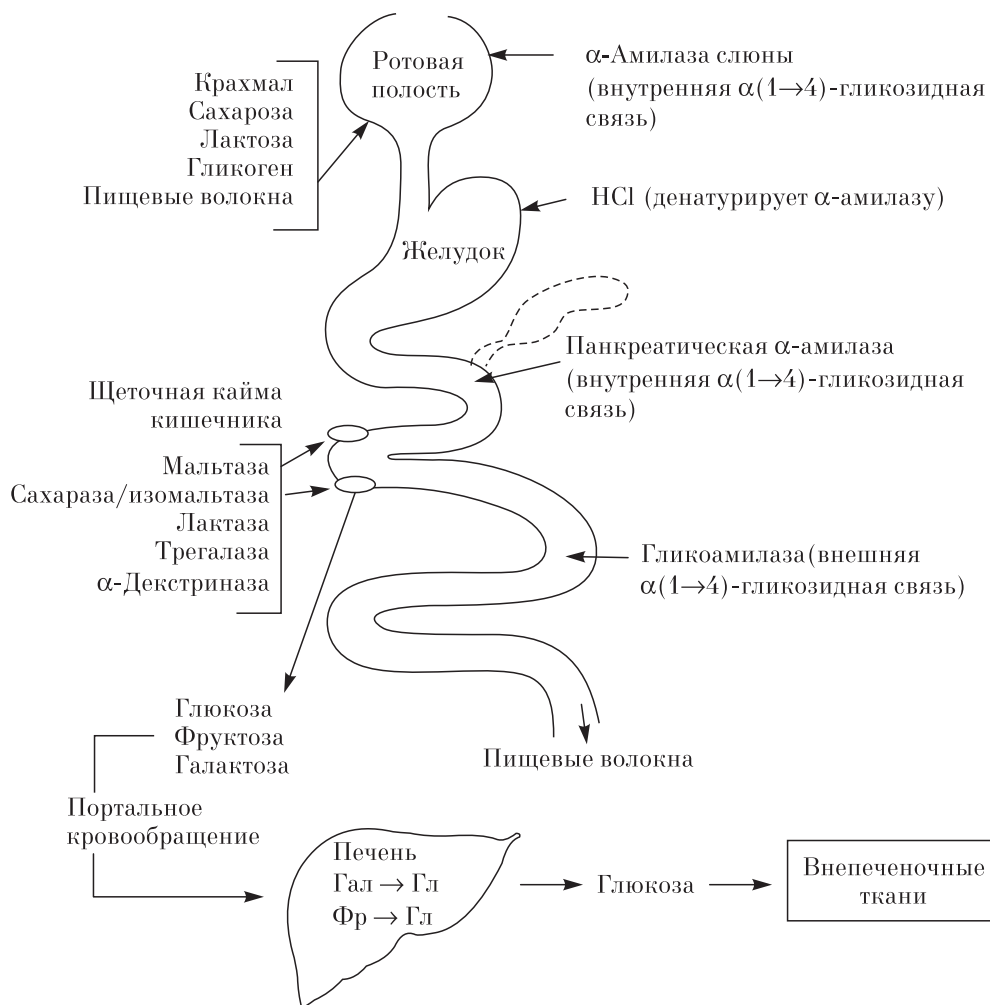
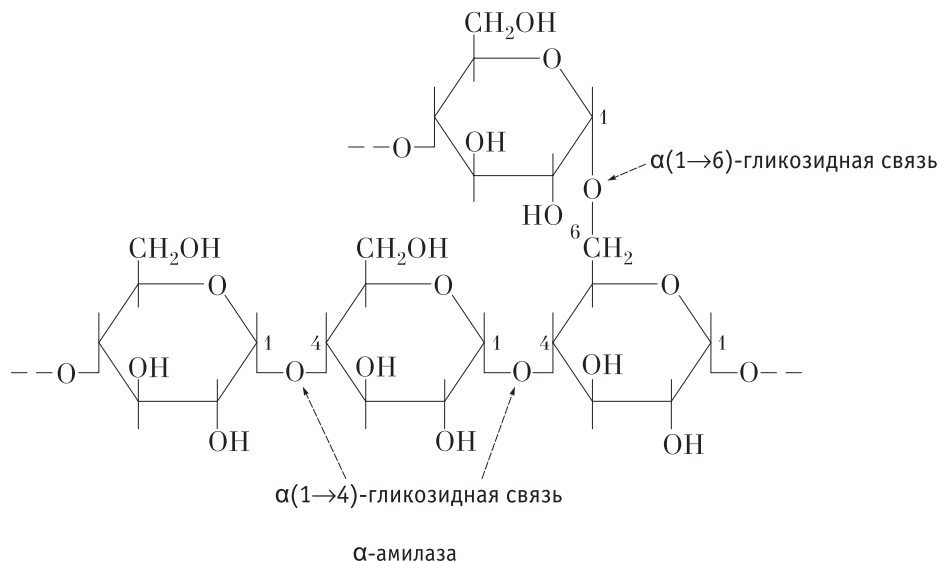


Рис. 3.3. Переваривание углеводов в желудочно-кишечном тракте (Гал — галактоза; Гл — глюкоза; Фр — фруктоза)



Сахараза образует чаще всего комплекс с изомальтазой. Такой ферментативный *сахаразо-изомальтазный комплекс* расщепляет сахарозу на глюкозу и фруктозу, а изомальтозу — на две молекулы глюкозы. *Мальтаза* гидролизует мальтозу на две молекулы глюкозы.

Трегалаза расщепляет $\alpha(1 \rightarrow 1)$ -гликозидные связи в трегалозе с образованием двух молекул глюкозы.

Лактаза осуществляет гидролиз лактозы на молекулу глюкозы и галактозы.

Активность лактазы колеблется в зависимости от возраста. Так, у плода она особенно высока и сохраняется на таком уровне до 7-летнего возраста. Затем активность фермента снижается, составляя у взрослых 10 % от уровня, характерного для детей.

Конечными продуктами переваривания углеводов являются моносахариды, преимущественно глюкоза, фруктоза, галактоза. Далее в тонком кишечнике происходит всасывание моносахаридов.

3.3.2. Патология переваривания углеводов

Непереносимость лактозы. Непереносимость некоторыми людьми молока, проявляющаяся болями в животе, его вздутием (метеоризм) и поносом, обусловлена снижением активности *лактазы*. Врожденный генетический дефект отмечается у 15 % детей стран Европы и 80 % детей стран Востока, Азии, Африки, Японии. Поскольку молоко является ценным продуктом питания, а для грудных детей — особо важным, от него не следует отказываться, но необходимо перейти на потребление кисломолочных продуктов (в них под действием лактазы микроорганизмов лактоза разрушается).

3.4. Всасывание глюкозы

Недостаточность сахаразы. Это наследственная энзимопатия, которая возникает из-за отсутствия *сахаразы* и *изомальтазы* (всегда сочетанный дефект, поскольку сахараза и изомальтаза представляют собой единый ферментный комплекс). При этом соответствующие дисахариды не расщепляются и не могут быть утилизированы. Они осмотическим путем связывают воду и вызывают диарею, главным образом после приема пищи, содержащей сахар и крахмал.

3.3.3. Функции неперевариваемых полисахаридов

Углеводы являются источниками пищевых волокон (клетчатки) — компонентов пищи, которые не могут перевариваться пищеварительными ферментами организма человека, но способны перерабатываться полезной микрофлорой кишечника и весьма важны в питании человека. Рекомендуется потреблять не менее 25 г пищевых волокон в сутки.

Клетчатка стимулирует перистальтику кишечника и выделение желчи, удерживает воду и увеличивает объем каловых масс, предупреждая тем самым появление запоров (профилактика рака прямой кишки). Она препятствует всасыванию холестерина пищи, адсорбирует желчные кислоты, токсины и нормализует состав микрофлоры кишечника. Пектины, будучи гелеобразователями, способны связывать тяжелые металлы, в том числе и радионуклиды, что уменьшает их поступление в ткани организма.

3.4. Всасывание глюкозы

Транспорт моносахаридов из просвета кишечника в энтероциты и далее в кровь осуществляется двумя способами (рис. 3.4):

1) по градиенту концентрации путем *облегченной диффузии* (Na^+ -независимый транспорт с участием специального, транспортирующего глюкозу белка — глюкозного транспортера *глют-5*);

2) путем *активного транспорта* с затратой энергии АТФ, используемой натриевым насосом (Na^+/K^+ -АТФаза) при низкой концентрации глюкозы в кишечнике.

Всасывание пентоз происходит путем *простой диффузии*.

Транспортный белок-переносчик имеет два участка связывания на его наружной стороне: один — для натрия и один — для глюкозы. Концентрация ионов натрия очень высокая снаружи клетки и очень низкая внутри, что обеспечивает энергию для транспорта. Транспортный белок обладает специфическим свойством: его конформационное изменение не позволяет натрию двигаться внутрь клетки до тех пор, пока не присоединится молекула глюкозы. Когда прикрепляются оба вещества, происходит конформационное изменение белка-переносчика, в результате натрия и глюкоза одновременно транспортируются внутрь.

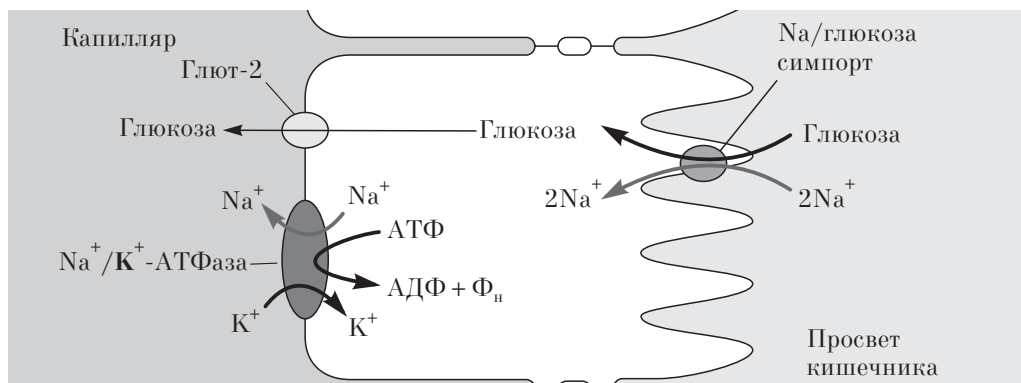


Рис. 3.4. Всасывание глюкозы в кишечнике

Глюкоза из энтероцитов перемещается во внеклеточную жидкость, а далее в кровь с помощью облегченной диффузии при участии *глют-2*.

Поступление глюкозы в клетки из кровотока. Выделено пять *молекулярных форм* белка — переносчика глюкозы (глюкозных транспортеров). Они обнаружены в плазматической мембране/цитозольных везикулах различных тканей. Глюкозные транспортеры имеют следующую органную локализацию:

- глют-1 — эритроциты, мозг, плацента, почки;
- глют-2 — кишечник, печень, β -клетки pancreas;
- глют-3 — в клетках многих органов, включая мозг, плаценту, почки;

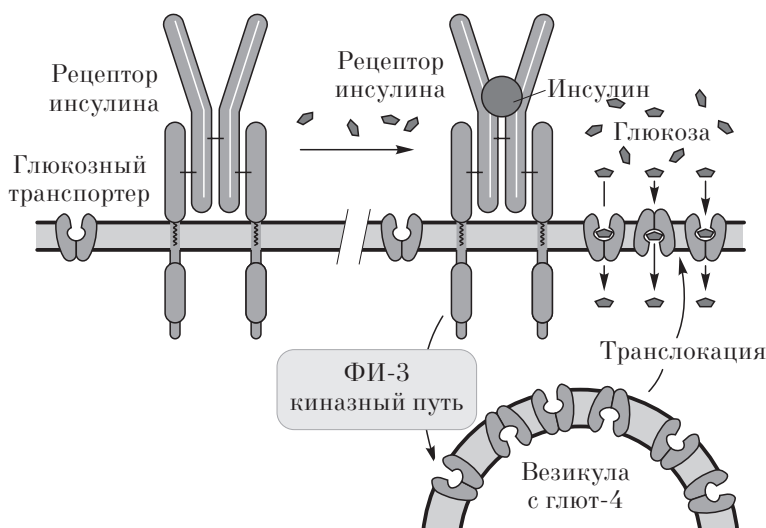


Рис. 3.5. Поступление глюкозы в инсулинзависимые ткани: фосфатидилинозитол-3-киназный путь (ФИ-3 киназный путь) — проведение в клетку сигнала посредством образования вторичного посредника инозитолтрифосфата

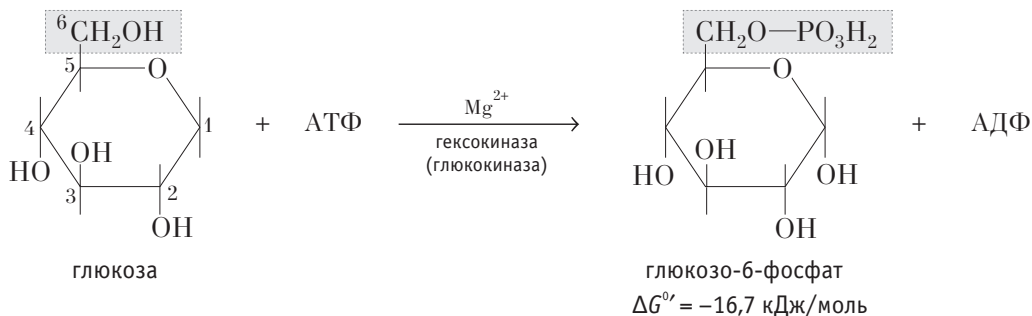
3.5. Превращение углеводов в тканях

- глот-4 — мышцы, сердце, жировая ткань (инсулинзависимый переносчик);
- глот-5 — тонкий кишечник (переносчик фруктозы).

В клетках всегда поддерживается резерв белков — переносчиков глюкозы. Под влиянием инсулина в миоцитах и в адипоцитах глот-4 из цитоплазматических везикул встраивается в плазматическую мембрану (рис. 3.5), увеличивая, таким образом, количество поступающей в клетку глюкозы. Затем, когда содержание глюкозы в крови падает и секреция инсулина ослабляется, эти молекулы возвращаются к месту исходной локализации.

3.5. Превращение углеводов в тканях

Первой химической реакцией, которой подвергается глюкоза в клетке, является ее фосфорилирование. В отличие от свободной глюкозы, глюкозо-6-фосфат не может проходить через клеточные мембраны. Таким образом, в результате фосфорилирования глюкоза оказывается в «ловушке» и остается в клетке.



Реакция катализируется ферментами гексокиназой и глюкокиназой.

Гексокиназа имеет высокое сродство к своему субстрату — глюкозе ($K_M < 0,1$ ммоль/л), ее функция состоит в том, чтобы обеспечить захват тканью глюкозы даже при низких концентрациях последней в крови. Гексокиназа, фосфорилируя практически всю поступающую в клетку глюкозу, поддерживает значительный градиент концентрации глюкозы между кровью и внутриклеточной средой. Кроме того, фермент действует и на другие гексозы (D-фруктозу, D-маннозу, D-галактозу и т.д.), но со значительно меньшей скоростью. Наиболее важным свойством гексокиназы является ее ингибирование глюкозо-6-фосфатом, который служит одновременно и продуктом реакции, и аллостерическим ингибитором.

Глюкокиназа (изофермент гексокиназы), обнаружена в печени и катализирует фосфорилирование только D-глюкозы. Функция глюкокиназы состоит в «захватывании» глюкозы из кровотока после приема пищи (когда концентрация глюкозы в крови повышается). В отличие от гексокиназы, она имеет

высокое значение K_M для глюкозы (около 10 ммоль/л), не ингибируется конечным продуктом реакции — глюкозо-6-фосфатом и эффективно функционирует при концентрации глюкозы в крови выше 100 мг/100 мл.

На высоте пищеварения активирование глюкокиназы препятствует резкому увеличению поступления глюкозы в общий кровоток. В перерывах между приемами пищи для включения глюкозы в обменные процессы вполне достаточно гексокиназной активности. При сахарном диабете из-за низкой активности глюкокиназы (синтез и активность которой зависит от инсулина) глюкоза не задерживается в печени после приема пищи и вызывает гипергликемию.

Глюкозо-6-фосфат занимает важное положение в интеграции ряда метаболических путей (гликолиз, глюконеогенез, пентозофосфатный путь, гликогенез и гликогенолиз). С образования глюкозо-6-фосфата начинаются синтез гликогена и все пути окисления глюкозы (рис. 3.6).

Глюкоза может окисляться различными путями:

- окисление глюкозы в *дихотомическом пути*, протекающее как в анаэробных (гликолиз), так и в аэробных условиях. Термин «гликолиз» означает

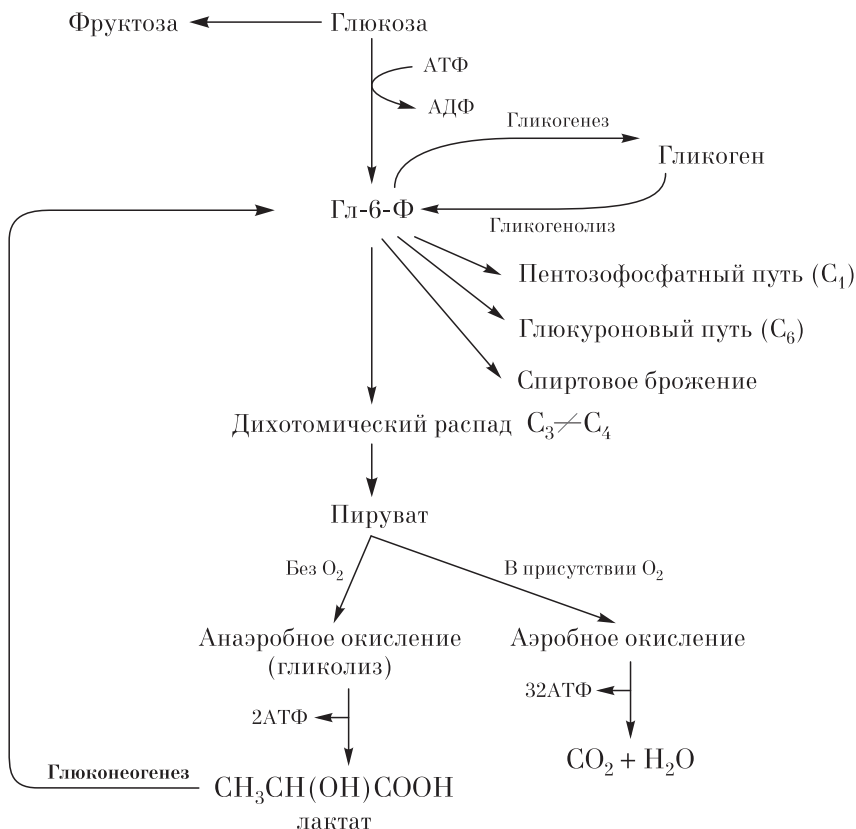


Рис. 3.6. Общая схема превращения глюкозы в клетках

3.6. Гликоген — резервный полисахарид

анаэробное окисление, завершающееся образованием молочной кислоты (лактата). Аэробное окисление глюкозы завершается образованием конечных продуктов обмена (CO_2 и H_2O);

- в *апотомическом пути* (лат. арех — верхушка) происходит окисление глюкозы и последующее отщепление от глюкозы первого углеродного атома; этот путь называется также *пентозофосфатным*;

- в *глюкуроновом пути* происходит окисление шестого углеродного атома глюкозы и образование глюкуроновой кислоты.

Для поддержания уровня глюкозы в крови необходимо образование глюкозы из пирувата, лактата, глицерола, аминокислот (глюконеогенез).

Наконец, нефосфорилированная глюкоза используется некоторыми клетками в восстановительном пути ее обмена. Данный путь характерен для интимы сосудистой стенки, хрусталика глаза, шванновских клеток нервной ткани. В этом процессе из глюкозы образуется сорбитол и фруктоза.

В тканях может происходить изомеризация фосфорных эфиров, при этом глюкозо-6-фосфат переходит во фруктозо-6-фосфат и галактозо-6-фосфат.

3.6. Гликоген — резервный полисахарид

Глюкоза запасается в клетках в форме гликогена, который откладывается в виде гранул в цитоплазме клеток многих типов (главным образом в клетках печени и мышц). В организме человека может содержаться до 450 г гликогена.

Гликоген — полисахарид, большая ветвистая молекула, построенная из остатков α -D-глюкозы, с молекулярной массой 10^6 – 10^7 а.е.м.

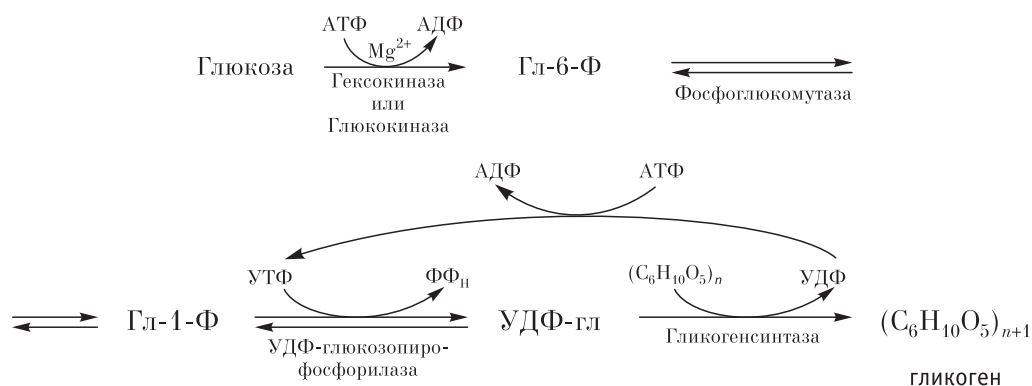
Линейные участки молекулы гликогена связаны $\alpha(1\rightarrow4)$ -связью, точки ветвления представлены $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидной связью. Точки ветвления приходятся в среднем на каждые 8–12 остатков глюкозы. Разветвленная структура гликогена обеспечивает появление большого количества концевых участков. Это способствует работе ферментов, отщепляющих или присоединяющих мономеры при распаде или синтезе гликогена, так как молекулы ферментов могут одновременно работать на нескольких ветвях полисахарида.

Для чего необходимо сохранять глюкозу в форме гликогена? Если бы в печени находилось такое же количество глюкозы в свободной форме, как в форме гликогена, то концентрация глюкозы составила бы 0,4 моль/л. Такое ее количество обусловило бы очень высокое осмотическое давление среды, при котором клетка не смогла бы существовать. Если принять во внимание, что концентрация глюкозы в крови составляет около 5 ммоль, то между кровью и цитоплазмой гепатоцитов возник бы высокий градиент концентрации глюкозы, и вода из крови устремилась бы в клетки, что неизбежно привело бы к гибели клеток. Таким образом, синтез гликогена обеспечивает неизменность осмотических свойств клетки при хранении значительных количеств глюкозы.

3.6.1. Синтез гликогена (гликогенез)

Синтез гликогена осуществляется почти во всех клетках, но депо гликогена — печень. Запас гликогена в печени может составлять примерно 10 % от ее массы (около 150 г). Мышцы могут запастись до 1 % гликогена, но так как масса мышечной ткани значительно больше массы печени, это составляет до 300 г гликогена. Гликоген печени служит прежде всего для поддержания уровня глюкозы в крови. Гликоген мышц служит резервом энергии для мышечного сокращения и не участвует в регуляции уровня глюкозы в крови.

Синтез гликогена начинается с фосфорилирования глюкозы *гексокиназой* либо *глюкокиназой*.



Далее глюкозо-6-фосфат под действием *фосфоглюкомутазы* превращается в глюкозо-1-фосфат, который реагирует с УТФ, в результате чего образуется активная форма глюкозы — УДФ-глюкоза. Реакция катализируется ферментом *УДФ-глюкозопирофосфорилазой*. Наконец, с помощью *гликогенсинтазы* УДФ-глюкоза присоединяется к молекуле «затравочного гликогена», содержащего четыре остатка глюкозы. «Затравочным гликогеном» называется остаток внутриклеточного гликогена, связанного с белком гликогенином, который не исчезает даже при длительном голодании. Гликогенсинтаза образует α(1→4)-гликозидные связи.

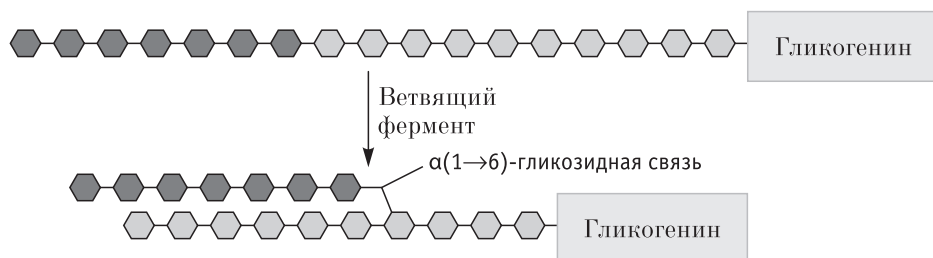


Рис. 3.7. Функционирование фермента ветвления

3.6. Гликоген — резервный полисахарид

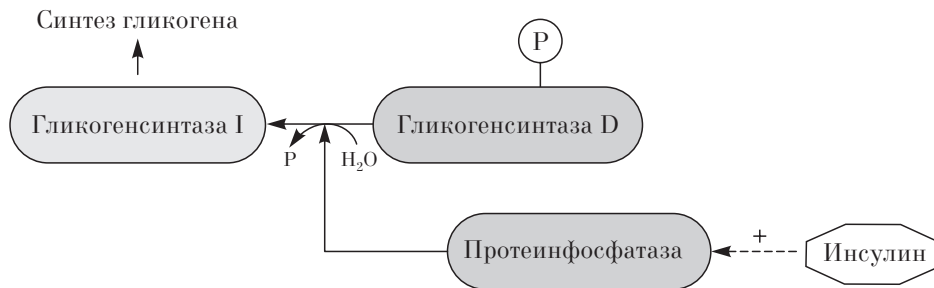


Рис. 3.8. Активирование гликогенсинтазы

Так как молекула гликогена является ветвистой, то в реакции синтеза гликогена участвует фермент ветвления — амило-(1,4→1,6)-трансглюкозидаза. Фермент образует (1→6)-гликозидную связь, перенося 7 остатков глюкозы с одной из длинных боковых цепей гликогена, и формирует новую ветвь (рис. 3.7). Ветвление повышает гидрофильность молекулы гликогена.

Регуляция синтеза гликогена. В регуляции синтеза гликогена ключевую роль играет гликогенсинтаза. Фермент находится в клетке в фосфорилированном, т.е. неактивном, состоянии и называется гликогенсинтазой *D* (от англ. dependent — зависимый). Его активность зависит от глюкозо-6-фосфата (аллостерический активатор) и гормона инсулина (рис. 3.8).

Инсулин связывается со своим рецептором (см. главу 8 «Гормоны. Механизмы передачи гормональных сигналов») и опосредованно активирует протеинкиназу В. Протеинкиназа В, в свою очередь, фосфорилирует и активирует протеинфосфатазу, которая катализирует дефосфорилирование гликогенсинтазы *D* и таким образом делает ее активным ферментом гликогенсинтазой *I* (от англ. independent — независимый). Вполне возможно, что инсулин путем активации протеинфосфатаз стимулирует поддержание структуры гликогенфосфорилазы (ключевой фермент распада гликогена, см. п. 3.6.2) в дефосфорилированном, т.е. неактивном, состоянии. Пример регуляторного воздействия инсулина демонстрирует ковалентную модификацию структуры ферментов путем фосфорилирования/дефосфорилирования в качестве универсального инструмента в достижении метаболического эффекта в клетке.

3.6.2. Распад или мобилизация гликогена (гликогенолиз)

Пусковым механизмом гликогенолиза является снижение концентрации глюкозы в крови. Распад гликогена в мышцах происходит при мышечных сокращениях, а в печени — в перерывах между приемами пищи. Из печени глюкоза поступает в кровоток и используется для нужд нервной и других тканей организма. Функция мышечного гликогена заключается в высвобождении глюкозо-6-фосфата, потребляемого в самой мышце для окисления и получения энергии.

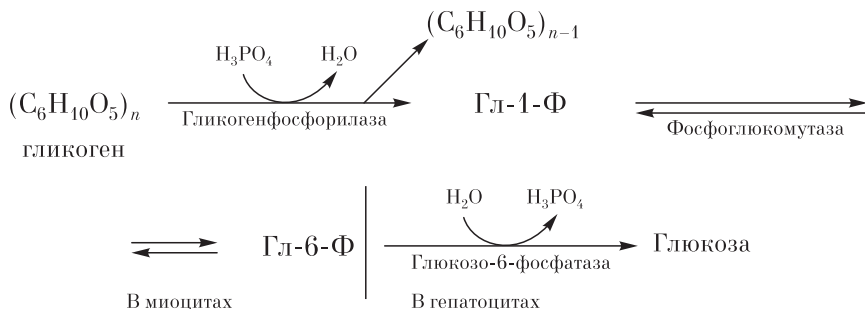


Рис. 3.9. Фосфоролиз гликогена

Расщепление гликогена начинается с конца полисахаридной цепи. При этом наличие разветвленной структуры гликогена облегчает быстрое высвобождение глюкозных остатков, так как чем больше концов имеет молекула гликогена, тем больше молекул фермента могут действовать одновременно. Распад гликогена в клетках осуществляется двумя путями:

- 1) гидролитически с участием γ -амилазы (*гидролиз*);
- 2) фосфоролитически с участием гликогенфосфорилазы (*фосфоролиз*).

Основной механизм фосфоролиза — расщепление $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -гликозидных связей с участием фосфорной кислоты и гликогенфосфорилазы. При этом высвобождается глюкозо-1-фосфат (рис. 3.9).

Последовательное отщепление глюкозных остатков прекращается, когда до точки ветвления остается четыре мономера. Подобная особенность в действии гликогенфосфорилазы обусловлена размером и строением ее активного центра.

Места ветвления разъединяет *деветвящий фермент* — амило-(1 \rightarrow 6)-гликозидаза (рис. 3.10). Вначале амило-(1 \rightarrow 6)-гликозидаза переносит 3 остатка глюкозы на линейную цепь гликогена (*трансферазная* активность фермента), а затем у точки ветвления гидролизует $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -гликозидную связь с высвобождением *свободной* (нефосфорилированной) глюкозы (*гликозидазная* активность фермента).

В результате образуется цепь без ветвлений, вновь служащая субстратом для фосфорилазы. Образующийся под действием фосфорилазы глюкозо-1-фос-

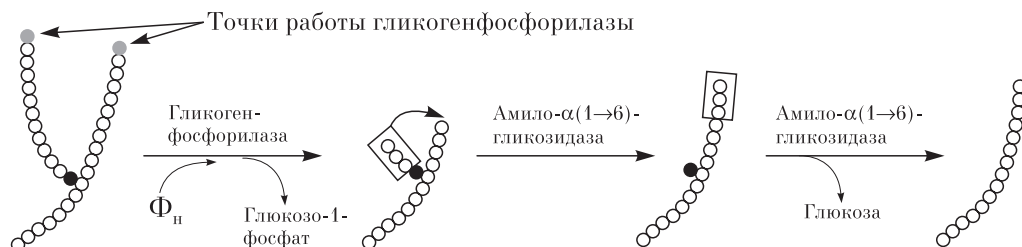


Рис. 3.10. Функционирование деветвящего фермента

3.6. Гликоген — резервный полисахарид

фат изомеризуется в глюкозо-6-фосфат (фермент — *фосфоглюкомутаза*). Далее глюкозо-6-фосфат включается в процесс катаболизма или другие метаболические пути. В мышцах, в отличие от печени, глюкозо-6-фосфат не превращается в свободную глюкозу, так как в миоцитах отсутствует фермент *глюкозо-6-фосфатаза*. В печени (а также в почках) под действием этого фермента образуется глюкоза. Только свободная глюкоза, в отличие от глюкозо-6-фосфата, способна проходить через плазматическую мембрану клеток в межклеточное пространство. Таким образом, печень является органом, поддерживающим нормальный уровень глюкозы в крови. В этом заключается ее важная роль в поддержании жизнедеятельности организма.

Регуляция распада гликогена. Главным регулируемым ферментом гликогенолиза является *гликогенфосфорилаза*. Активность гликогенфосфорилазы также изменяется в результате фосфорилирования и дефосфорилирования. Фосфорилаза может находиться либо в неактивном, дефосфорилированном состоянии — фосфорилаза *b*, либо в активном, фосфорилированном состоянии — фосфорилаза *a*. Неактивная форма фермента превращается в активную с помощью *киназы* фосфорилазы *b*.

Киназа фосфорилазы *b* может также находиться в активной и неактивной формах. Активирование осуществляется цАМФ-зависимым ферментом — *протеинкиназой А*. цАМФ является внутриклеточным посредником при действии большого числа гормонов белково-пептидной природы. цАМФ образуется из АТФ под действием фермента *аденилатциклазы*, находящегося на внутренней поверхности цитоплазматической мембраны клетки. Аденилатциклаза печени активируется гормоном поджелудочной железы *глюкагоном*, а аденилатциклаза мышц — *адреналином* (рис. 3.11).

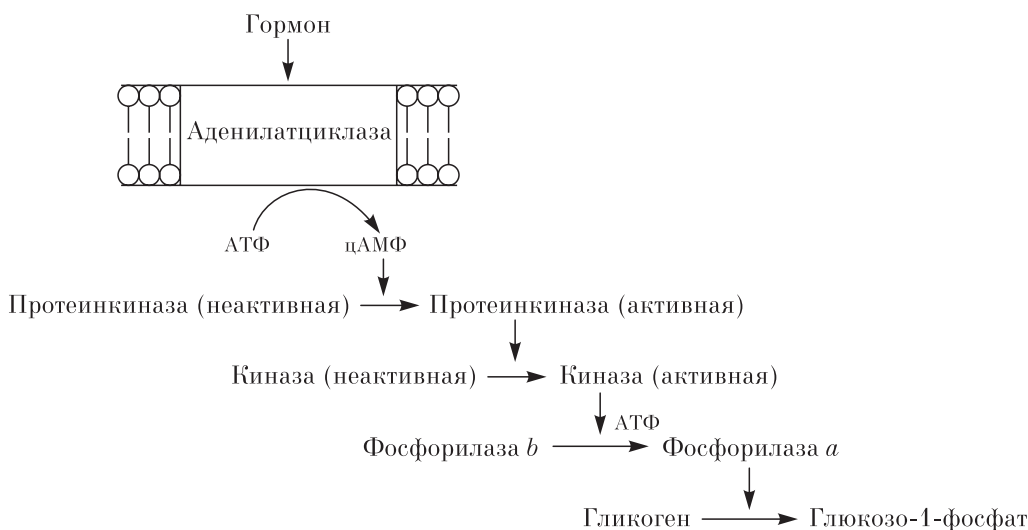


Рис. 3.11. Регуляция распада гликогена адреналином и глюкагоном

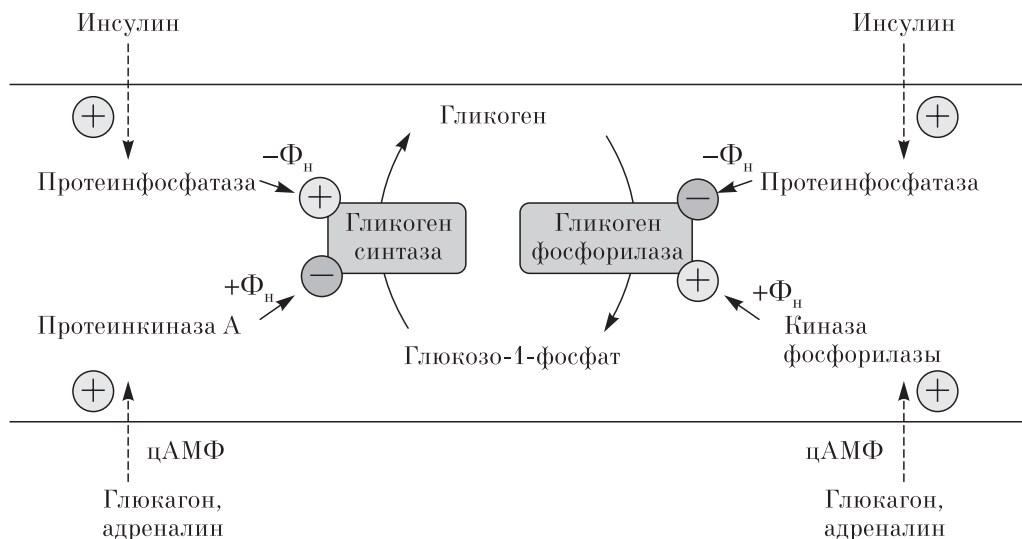


Рис. 3.12. Гормональный контроль гликогенолиза и гликогенеза

Адреналин стимулирует активность аденилатциклазы и в печени, однако осуществляется это цАМФ-независимым путем (мобилизация ионов Ca^{2+}).

Синтез и распад гликогена подчиняются сочетанному гормональному контролю, в котором принимают участие инсулин, адреналин и глюкагон (рис. 3.12).

Адреналин и глюкагон, активируя аденилатциклазу, способствуют образованию цАМФ, который запускает «каскадный механизм» фосфорилирования ферментов распада и синтеза гликогена. В результате фосфорилирования образуется фосфорилированная, т.е. *активная, гликогенфосфорилаза* и фосфорилированная, т.е. *неактивная, гликогенсинтаза*. В этих условиях будет осуществляться **распад гликогена**.

Напротив, под действием инсулина, включающего механизм дефосфорилирования ключевых ферментов, появятся дефосфорилированная, т.е. *неактивная, гликогенфосфорилаза* и дефосфорилированная, т.е. *активная, гликогенсинтаза*. В этих условиях будет происходить **синтез гликогена**.

3.7. Дихотомический распад глюкозы — основной путь получения энергии в клетке

Дихотомический путь — это окислительный распад молекулы глюкозы, при котором ее углеродный скелет делится пополам с образованием двух триоз. Дихотомический путь иначе называют *гликолизмом*.

3.7. Дихотомический распад глюкозы

В реакциях дихотомического пути энергию можно получить двумя способами:

1) путем окисления глюкозы до молочной кислоты (при отсутствии кислорода); при этом говорят о *гликолизе*. Суммарное уравнение гликолиза:



2) путем окисления глюкозы до углекислого газа и воды (в присутствии кислорода) (*аэробное окисление глюкозы*). Аэробное окисление глюкозы происходит в клетках подавляющего большинства тканей нашего организма. Суммарное уравнение:



При этом 60 % образующейся энергии депонируется в виде АТФ, что в 15 раз больше, чем в анаэробных условиях. Поэтому аэробный путь окисления глюкозы имеет несомненное экономическое превосходство перед анаэробным.

3.7.1. Гликолиз

Гликолиз (от греч. *glycys* — сладкий + *lysis* — растворение, распад) — это последовательность ферментативных реакций, приводящих к превращению глюкозы в пируват с одновременным образованием АТФ. Затем пируват восстанавливается в лактат. Этот процесс протекает *без использования кислорода*.

Путь гликолиза протекает в цитоплазме клеток и катализируется 11 ферментами, большинство из которых выделено в гомогенном виде. Процесс осуществляется в два этапа.

I этап — подготовительный. На этом этапе происходит дихотомический распад глюкозы на две молекулы глицеральдегид-3-фосфата (триозы). Превращения сопровождаются затратой двух молекул АТФ. Этот этап включает пять реакций (рис. 3.13).

1-я реакция. Первой регулируемой ферментативной реакцией гликолиза является фосфорилирование, т.е. перенос остатка ортофосфата на глюкозу за счет АТФ. Реакция катализируется гексокиназой и глюкокиназой (о значении этих ферментов см. выше).

Образование глюкозо-6-фосфата в гексокиназной реакции сопровождается освобождением значительного количества свободной энергии системы и может считаться практически необратимым процессом.

2-я реакция. Глюкозо-6-фосфат обратимо изомеризуется во фруктозо-6-фосфат ферментом фосфогексоизомеразой.

3-я реакция. Образовавшийся фруктозо-6-фосфат фосфорилируется за счет второй молекулы АТФ. Данная реакция практически необратима, протекает

в присутствии ионов магния и является самой медленной реакцией гликолиза. Фактически она определяет скорость гликолиза в целом.

Эту реакцию катализирует аллостерический фермент — *фосфофруктокиназа-1*, имеющий сложную четвертичную структуру.

4-я реакция. Обратимая реакция распада фруктозо-1,6-дифосфата на две фосфотриозы. Катализирующий ее фермент называется *альдозазой а*.

5-я реакция. Изомеризация триозофосфатов. Она катализируется ферментом *триозофосфатизомеразой*. В последующую реакцию гликолиза непосредственно включается только один из двух образующихся триозофосфатов, поэтому равновесие реакции смещается в сторону образования глицеральдегид-3-фосфата (3-ФГА). Таким образом, первая стадия гликолиза завершается образованием двух молекул 3-ФГА.

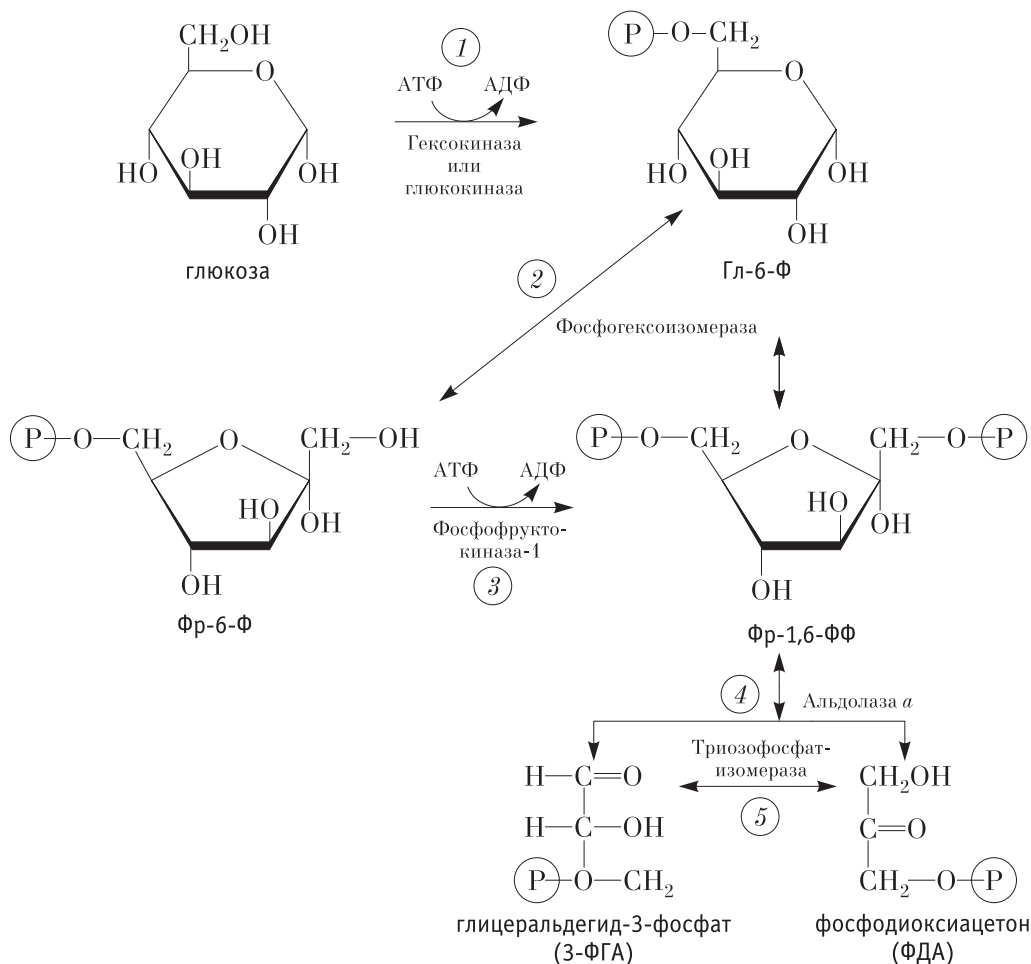


Рис. 3.13. Гликолиз: I этап — подготовительный ((1)–(5) — реакции гликолиза)

3.7. Дихотомический распад глюкозы

II этап — гликолитическая оксидоредукция. Включает окислительно-восстановительные реакции и реакции, сопровождающиеся синтезом АТФ (путем субстратного фосфорилирования). На этом этапе окисляются две молекулы глицеральдегид-3-фосфата, образовавшиеся в предыдущей реакции. Поэтому в фосфоглицераткиназной и пируваткиназной реакциях образуются четыре молекулы АТФ. Этот этап включает шесть реакций (рис. 3.14).

6-я реакция. В этой реакции 3-ФГА окисляется *дегидрогеназой 3-фосфоглицеринового альдегида*. Фермент состоит из четырех одинаковых субъединиц, в состав его активного центра входит SH-группа. Дегидрогеназа 3-ФГА нуждается также в коферменте НАД⁺. Реакция обратима.

Фермент окисляет свой субстрат (3-ФГА), перенося водород альдегидной группы 3-фосфоглицеринового альдегида на кофермент НАД⁺, который при этом восстанавливается в НАДН·Н⁺ в присутствии неорганического фосфата. Выделяющейся при окислении 3-ФГА энергии достаточно для образования *высокоэнергетического* (т.е. заключающего в себе макроэнергетическую связь) соединения — 1,3-дифосфоглицериновой кислоты (1,3-ДФГК).

Образование НАДН·Н⁺ из окисленной формы этого кофермента осуществляется в ходе реакции связывания 3-ФГА с SH-группой активного центра фермента — дегидрогеназы 3-фосфоглицеринового альдегида.

7-я реакция. Эта реакция получила название *субстратного фосфорилирования*. Фосфорилирование АДФ осуществляется за счет энергии разрыва макроэнергетической связи субстрата-макроэрга. Реакция сопровождается выделением значительного количества свободной энергии, поэтому ее равновесие смещено вправо. Она может стать обратимой при избытке 3-фосфоглицерата.

8-я реакция. В результате внутримолекулярного переноса фосфатной группы 3-фосфоглицерат превращается в 2-фосфоглицерат. Реакция легко обратима, протекает в присутствии ионов Mg²⁺.

9-я реакция. Образование макроэнергетического субстрата — *фосфоенолпирувата* (фосфоенолПВК). Реакция катализируется *енолазой*. Фермент активируется двухвалентными катионами Mg²⁺ или Mn²⁺ и ингибируется фторидом. Енолаза катализирует отщепление молекулы воды от 2-фосфоглицерата. В результате внутримолекулярная энергия субстрата перераспределяется таким образом, что фосфат во втором положении переходит в макроэнергетическое состояние.

10-я реакция. Реакция субстратного фосфорилирования аналогична 7-й реакции: фосфорилирование АДФ осуществляется за счет энергии макроэнергетического субстрата — фосфоенолпирувата. Реакция образования ПВК (пировиноградной кислоты) необратима, так как протекает со значительным падением свободной энергии. Эта реакция является регулируемой.

11-я реакция (заключительная) — образование молочной кислоты (лактата). Реакция обратима. Молочная кислота образуется при восстановлении пирувата ферментом *лактатдегидрогеназой* (ЛДГ), коферментом которого является НАДН·Н⁺ (образование этого кофермента см. в 6-й реакции).

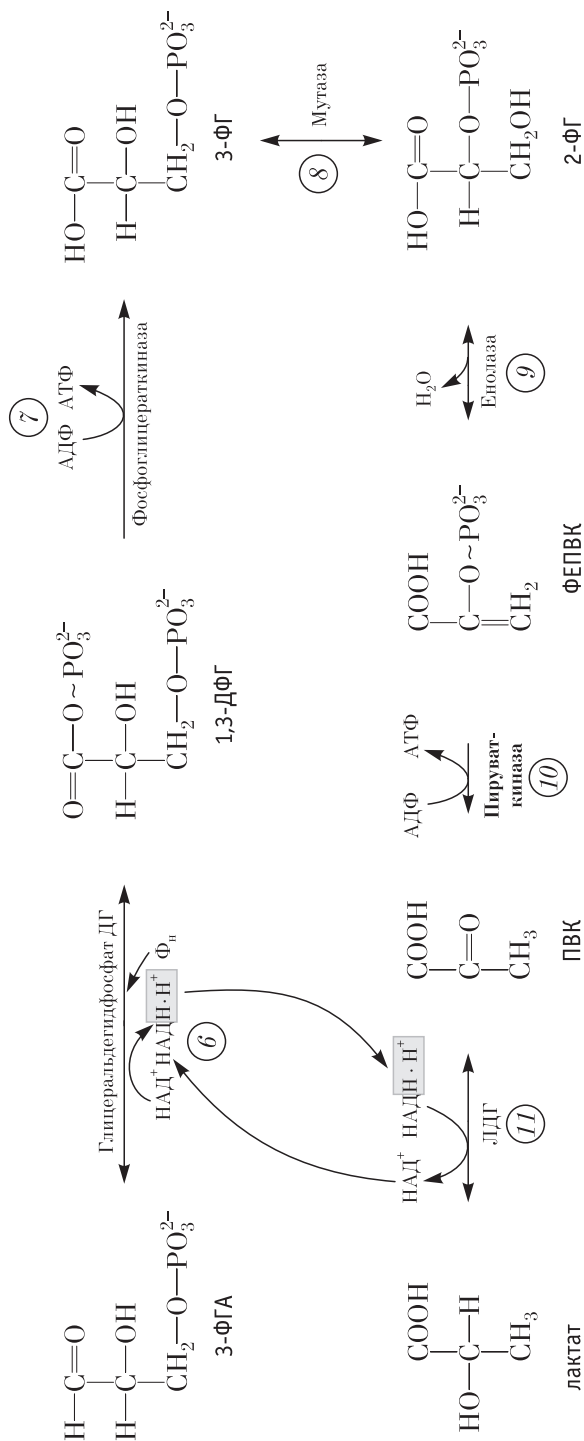


Рис. 3.14. Гликолиз: II этап — гликолитическая окислительная
(6) — (11) — реакции гликолиза)

3.7. Дихотомический распад глюкозы

В мышцах молочная кислота не используется — она поступает с током крови в печень, где вновь превращается (благодаря обратимости лактатдегидрогеназной реакции) в пируват. Изоферменты лактатдегидрогеназы принимают участие в контроле гликолиза. Так, в сердечной мышце преобладает ЛДГ₁, который ингибируется даже небольшими концентрациями пирувата, что затрудняет образование молочной кислоты в кардиомиоцитах и способствует дальнейшему окислению (а не восстановлению) пирувата. В скелетных мышцах преобладает изофермент ЛДГ₅, активно превращающий ПВК в лактат в анаэробных условиях.

Поскольку гликолиз протекает в цитоплазме клетки, он не нуждается в участии кислорода для получения клеткой энергии. В ходе гликолиза в двух реакциях субстратного фосфорилирования (7-я и 10-я реакции) образуется четыре молекулы АТФ (напоминаем, что в реакцию вступают *две* триозы), при этом на подготовительном этапе две молекулы АТФ расходуются (1-я и 3-я реакции). Таким образом, полезный *энергетический выход гликолиза составляет 2 молекулы АТФ*.

Регуляция гликолиза. Регуляторные воздействия направлены на ферменты, катализирующие необратимые реакции гликолиза. Они включают аллостерическую регуляцию активности ферментов, ковалентную модификацию ферментов путем фосфорилирования/дефосфорилирования, индукцию синтеза ключевых ферментов.

Три необратимые реакции гликолиза катализируются тремя *ключевыми ферментами*. Их активность находится под регуляторным контролем. Первый из них — *гексокиназа*. Аллостерическим ингибитором этого фермента выступает глюкозо-6-фосфат, а синтез стимулирует гормон инсулин.

Фосфофруктокиназа-1 — главный ключевой фермент, который катализирует реакцию, лимитирующую скорость всего процесса (наиболее медленная реакция). Его аллостерическими ингибиторами являются АТФ и цитрат, а аллостерическими активаторами — АМФ, АДФ и фруктозо-2,6-дифосфат. Поэтому в неработающей мышце, когда концентрация АТФ относительно высока, гликолиз заторможен. Во время работы мышц АТФ расходуется, и АМФ активизирует фосфофруктокиназу-1.

Фруктозо-2,6-дифосфат — главный аллостерический регулятор гликолиза. Этот метаболит образуется из фруктозо-6-фосфата и выполняет только регуляторные функции. Образование фруктозо-2,6-дифосфата и обратную реакцию катализирует бифункциональный фермент — *фосфофруктокиназа-2*. Фермент состоит из двух субъединиц, каждая из которых имеет собственный каталитический центр (рис. 3.15).

Фосфорилированный фермент (фосфорилируется цАМФ-зависимой протеинкиназой А) проявляет *фосфатазную активность*, и образование фруктозо-2,6-дифосфата уменьшается; дефосфорилированный фермент, напротив, проявляет *киназную активность*, и образование фруктозо-2,6-дифосфата увеличивается. Активируемое адреналином и глюкагоном повышение фосфори-

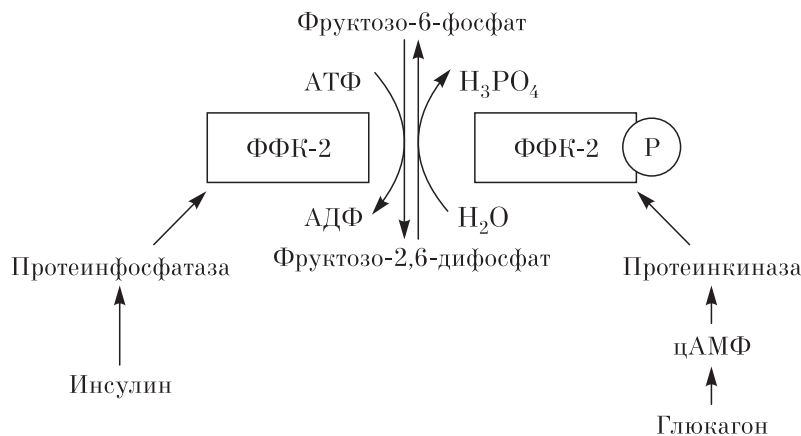


Рис. 3.15. Регуляция образования фруктозо-2,6-дифосфата (ФФК-2 — фосфофруктокиназа-2)

лирования фосфофруктокиназы-2 уменьшает образование фруктозо-2,6-дифосфата, дефицит которого приводит к угнетению активности фосфофруктокиназы-1 и ингибированию гликолиза. Инсулин, препятствуя фосфорилированию фосфофруктокиназы-2, стимулирует синтез фруктозо-2,6-дифосфата, активируя фосфофруктокиназу-1 и стимулируя гликолиз.

Пируваткиназа. Фермент активен в нефосфорилированной форме. Глюкагон (в гепатоцитах) и адреналин (в миоцитах) стимулируют фосфорилирование фермента, а значит, инактивируют его. Инсулин, наоборот, способствует дефосфорилированию фермента, тем самым активируя его. Аллостерическими ингибиторами этого фермента выступают АТФ и ацетил-КоА, а аллостерическим активатором — фруктозо-1,6-дифосфат. Инсулин стимулирует синтез пируваткиназы.

Регуляция гликолиза осуществляется координированно с глюконеогенезом. Вместе с тем эти два процесса находятся в реципрокных взаимоотношениях (см. рис. 3.18).

Биологическая роль гликолиза. В анаэробных условиях гликолиз — единственный процесс в животном организме, поставляющий энергию (*энергетическая функция* гликолиза). Именно благодаря гликолизу организм человека и животных определенный период может осуществлять ряд физиологических функций в условиях недостаточности кислорода. Так, мышцы используют гликолиз в случаях, когда потребление ими кислорода при нагрузках превышает его поступление.

Особое значение гликолиз имеет для эритроцитов. Эти клетки крови не имеют митохондрий и генерируют АТФ только в ходе гликолиза. Важной отличительной особенностью гликолиза в эритроцитах является то, что 1,3-дифосфоглицерат может превращаться в 2,3-дифосфоглицерат (2,3-ДФГ), который является аллостерическим эффектором, понижающим сродство гемоглобина

3.7. Дихотомический распад глюкозы

к кислороду. При дефиците кислорода синтез 2,3-дифосфоглицерата усиливается. Эффектор связывается с четырьмя субъединицами гемоглобина и уменьшает сродство к кислороду в результате стабилизации дезоксиформы. Это, в свою очередь, приводит к увеличению выхода кислорода из эритроцитов в ткани.

Нарушение гликолиза в эритроцитах может оказывать влияние на транспорт кислорода. Так, при недостаточности гексокиназы наблюдается понижение уровня 2,3-ДФГ и ненормально высокое сродство гемоглобина к кислороду, что затрудняет его отщепление при диссоциации оксигемоглобина и нарушает снабжение тканей кислородом.

Кроме энергетической, гликолиз может выполнять и *анаболические* функции. Метаболиты гликолиза используются для синтеза новых соединений. Так, фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат участвуют в образовании рибозо-5-фосфата — структурного компонента нуклеотидов; 3-фосфоглицерат может включаться в синтез аминокислот (серина, глицина, цистеина), а фосфоенолпировиноградная кислота (ФЕПВК) — аспартата и сиаловых кислот. В печени и жировой ткани фосфодиоксиацетон (ФДА) используется как субстрат для синтеза глицерол-3-фосфата, триацилглицеролов, фосфолипидов.

3.7.2. Аэробное окисление глюкозы

Большинство животных и растительных клеток в норме находится в аэробных условиях (т.е. *в присутствии кислорода*). Глюкоза (внутриклеточное «топливо») в таких условиях окисляется до CO_2 и H_2O . Процесс осуществляется в три этапа (рис. 3.16).

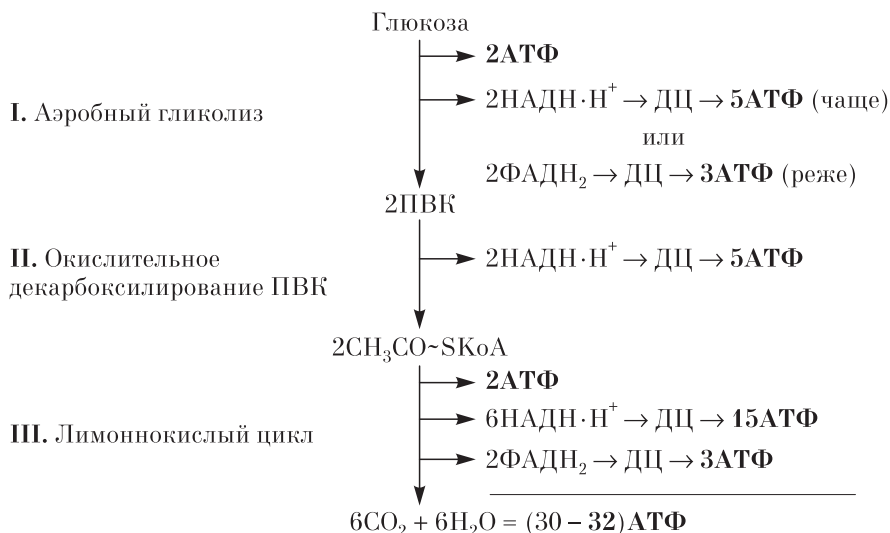


Рис. 3.16. Этапы аэробного окисления глюкозы

I этап — аэробный гликолиз. Окисление одной молекулы глюкозы до двух молекул пирувата (включает реакции, которые совпадают с 1–10 реакциями гликолиза). При этом восстановленный НАДН·Н⁺ окисляется не в лактатдегидрогеназной реакции, а в системе тканевого дыхания (см. п. 3.7.3).

II этап — окислительное декарбоксилирование ПВК. Образовавшиеся на I этапе аэробного расщепления глюкозы 2 молекулы пирувата подвергаются окислительному декарбоксилированию в матриксе митохондрий. Этот метаболический путь катализируется мультиферментным пируватдегидрогеназным комплексом. Конечными продуктами окислительного декарбоксилирования пирувата являются 2 молекулы CO₂, 2 — ацетил-КоА и 2 — НАДН·Н⁺. Каждый восстановленный НАДН·Н⁺ в митохондриях отдает протоны и электроны первому ферментативному комплексу дыхательной цепи, в результате чего образуется 5 молекул АТФ (2 · 2,5АТФ).

III этап — лимоннокислый цикл Кребса. В реакциях цикла Кребса каждая молекула ацетил-КоА прекращает свое существование с выделением энергии, достаточной для синтеза 10 молекул АТФ. Следовательно, энергетический выход III этапа (в расчете на молекулу глюкозы) — 20 молекул АТФ (2 · 10АТФ).

3.7.3. Челночные механизмы переноса восстановительных эквивалентов через митохондриальные мембраны

В аэробных условиях восстановление НАД⁺ на I этапе гликолиза происходит в цитозоле (см. п. 3.7.1). Цитозольный НАДН·Н⁺ не может передавать водород непосредственно в дыхательную цепь, поскольку внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для него. Тем не менее, это происходит, но опосредованно, с помощью челночных механизмов: малат-аспаратного и глицеролфосфатного (рис. 3.17).

Суть этих механизмов состоит в том, что НАДН·Н⁺ в цитозоле восстанавливает соединение, и продукт его восстановления проникает в митохондрию; в митохондриях это соединение окисляется, восстанавливая при этом внутримитохондриальный НАД⁺ (*малат-аспаратный челночный механизм*) или ФАД (*глицеролфосфатный челночный механизм*).

При работе малат-аспаратного челночного механизма в результате окислительного фосфорилирования, сопряженного с цепью переноса электронов, образуется 5АТФ (2 · 2,5АТФ), а в случае глицеролфосфатного челночного механизма — 3АТФ (2 · 1,5АТФ).

Энергетическая ценность аэробного окисления глюкозы: I этап — 5АТФ (2 + 3) или 7АТФ (2 + 5), II этап — 5АТФ, III этап — 20АТФ. Итого: 30(32) АТФ (разница в 2 молекулы АТФ на I этапе зависит от челночного механизма, который переносит протоны и электроны от НАДН·Н⁺ из цитозоля в митохондрию).

3.8. Глюконеогенез

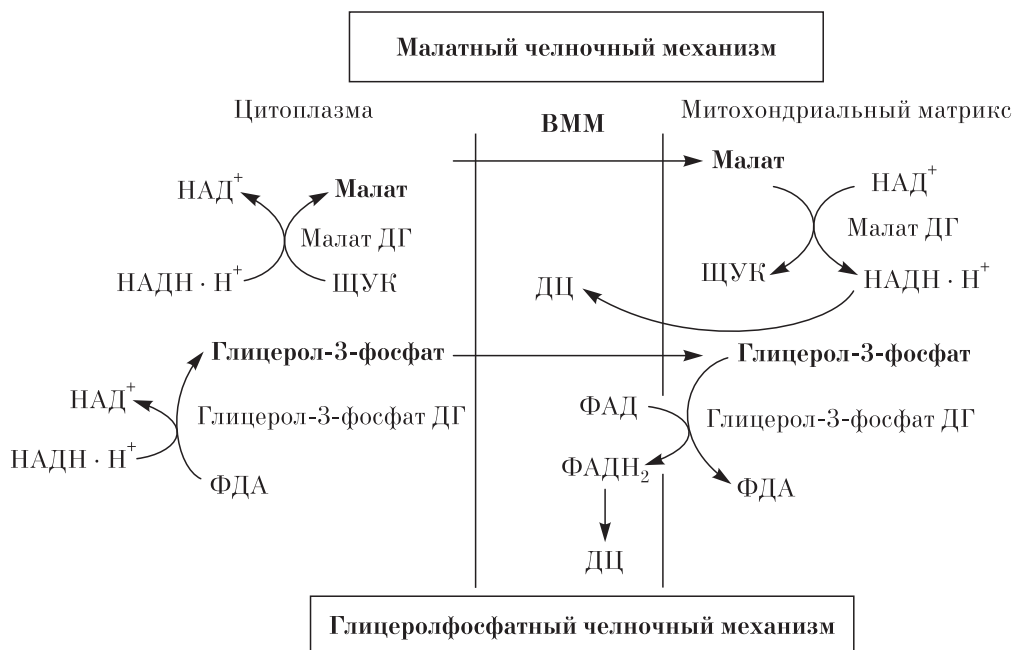


Рис. 3.17. Челночные механизмы транспорта водорода:
ВММ — внутренняя мембрана митохондрий; ДЦ — дыхательная цепь;
ДГ — дегидрогеназы

3.8. Глюконеогенез

Глюконеогенез — процесс синтеза глюкозы из неуглеводных предшественников. В организме взрослого человека за сутки может синтезироваться до 250 г глюкозы.

Наиболее активно процесс глюконеогенеза протекает в печени (90 %), менее интенсивно — в корковом слое почек и слизистой кишечника.

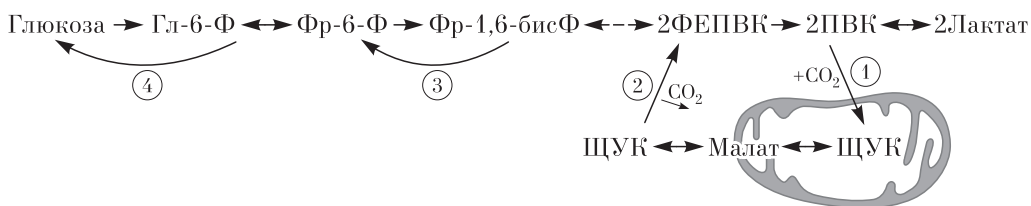
Недостаток глюкозы в крови прежде всего ощущает головной мозг, который не может удовлетворить потребность в энергии за счет метаболизма других энергоемких веществ, например жирных кислот. Главная функция глюконеогенеза заключается в поддержании уровня глюкозы в крови во время голодания, в период восстановления после мышечной нагрузки, а у новорожденных — в первые часы после рождения.

Субстратами глюконеогенеза являются *пируват*, *оксалоацетат*, *фосфодиоксиацетон*, которые непосредственно включаются в этот процесс, а также все вещества неуглеводной природы, метаболитами которых они являются: лактат → ПВК, пропионил-КоА → метаболиты цикла Кребса → ЩУК, глицерол → фосфодиоксиацетон. Аминокислоты, которые при катаболизме превращаются

в пируват или метаболиты цитратного цикла, могут рассматриваться как потенциальные предшественники глюкозы и гликогена. Поэтому они получили название *гликогенные аминокислоты*.

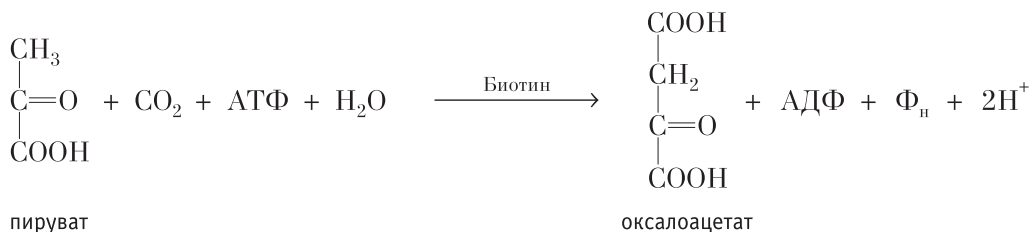
Включение субстратов в глюконеогенез зависит от физиологического состояния организма. Так, лактат и пируват (продукты гликолиза) постоянно используются в процессе глюконеогенеза. В период голодания или при длительной физической нагрузке используется глицерол, который высвобождается при гидролизе триацилглицеролов в жировой ткани. При длительном голодании и продолжительной мышечной работе в процесс глюконеогенеза включаются аминокислоты, образующиеся при распаде мышечных белков. Большинство реакций глюконеогенеза совпадают с реакциями гликолиза, но протекают в обратном направлении. Однако три реакции гликолиза, катализируемые гексокиназой, фосфофруктокиназой и пируваткиназой, необратимы.

Соответственно, при глюконеогенезе эти барьеры преодолеваются с помощью четырех ферментов: 1) пируваткарбоксилазы, 2) фосфоенолпируваткарбоксикиназы, 3) фруктозо-1,6-дифосфатазы и 4) глюкозо-6-фосфатазы. Эти ферменты являются *ключевыми* для глюконеогенеза.



1. Начальный этап глюконеогенеза, идущий в обход пируваткиназной реакции гликолиза, включает две реакции, катализируемые ферментами глюконеогенеза пируваткарбоксилазой и фосфоенолпируваткарбоксикиназой.

Первый фермент — *пируваткарбоксилаза* — локализуется в митохондриях. Витамин Н (биотин) является коферментом этого фермента, а ацетил-КоА выступает в роли его аллостерического активатора.

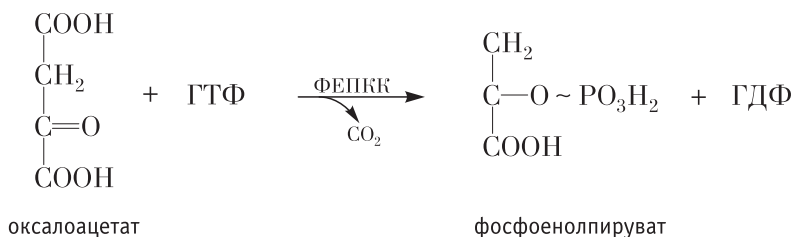


Оксалоацетат не способен проникать через митохондриальную мембрану в цитозоль, где протекают последующие реакции. Он превращается в яблочную кислоту (малат) при участии *митохондриальной НАД⁺-зависимой малат-*

3.8. Глюконеогенез

дегидрогеназы. Малат легко покидает митохондрию и в цитозоле клетки окисляется в оксалоацетат при участии *цитоплазматической* НАД⁺-зависимой малатдегидрогеназы.

Дальнейшее превращение оксалоацетата в фосфоенолпируват происходит в цитозоле клетки в ходе реакции, катализируемой вторым ферментом — *фосфоенолпируваткарбоксикиназой*. Источником энергии для протекания этой реакции и фосфатной группы служит молекула ГТФ.



2. Далее следуют реакции гликолиза в обратном направлении до стадии образования фруктозо-1,6-дифосфата. Обход необратимой фосфофруктокиназной реакции осуществляется *фруктозо-1,6-дифосфатазой*:



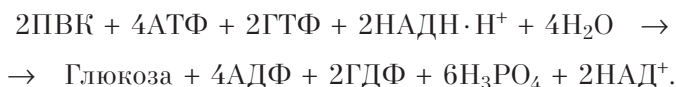
3. Наконец, в последней реакции глюконеогенеза глюкозо-6-фосфат гидролизуются до глюкозы ферментом *глюкозо-6-фосфатазой*:



Глюкозо-6-фосфатаза — важнейший фермент, ответственный за образование глюкозы из глюкозо-6-фосфата в печени и почках. Именно эти органы являются основными поставщиками эндогенной глюкозы для тканей организма. В клетках мышц глюкозо-6-фосфатаза отсутствует, поэтому миоциты получают свободную глюкозу только из крови.

Энергетический баланс глюконеогенеза из пирувата. Для синтеза одной молекулы глюкозы расходуется две молекулы пирувата. На обеспечение этого метаболического пути расходуется 6 моль АТФ: 4 моль АТФ расходуется на стадии синтеза фосфоенолпирувата из оксалоацетата (фактически, 2 моль АТФ и 2 моль ГТФ, что равноценно 4 моль АТФ), и еще 2 моль АТФ — при образовании 1,3-дифосфоглицерата из 3-фосфоглицерата.

Суммарное уравнение глюконеогенеза:



Регуляция глюконеогенеза. Глюконеогенез стимулируется в условиях гипогликемии при низком уровне инсулина и преобладании его антагонистов (глюкагона, катехоламинов, глюкокортикоидов).

Аллостерическими эффекторами ключевых ферментов глюконеогенеза являются те же метаболиты, которые принимали участие в регуляции гликолиза: АТФ, АДФ, АМФ, ацетил-КоА, фруктозо-2,6-дифосфат. *Фруктозо-1,6-дифосфатаза* активируется АТФ, а ингибируется фруктозо-2,6-дифосфатом и АМФ. *Пируваткарбоксилаза* активируется ацетил-КоА.

Напомним, что регуляция глюконеогенеза осуществляется реципрокно с процессом гликолиза. В неработающей мышце концентрация АТФ относительно высока, и гликолиз заторможен. Во время работы мышц АТФ расходуется. Накапливающийся АМФ активирует фосфофруктокиназу-1 (фермент гликолиза) и ингибирует фруктозо-1,6-дифосфатазу (фермент глюконеогенеза). АТФ ингибирует пируваткиназу (фермент гликолиза), а АДФ активирует пируваткарбоксилазу (фермент глюконеогенеза) (рис. 3.18).

Важнейшими регуляторами глюконеогенеза являются гормоны *глюкокортикоиды*. С одной стороны, они оказывают катаболическое действие на белки

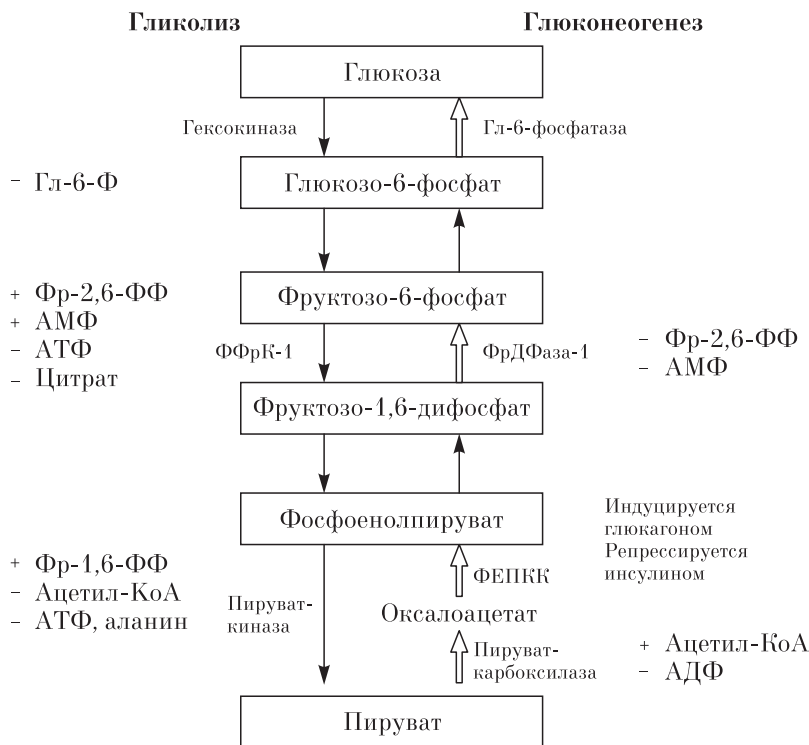


Рис. 3.18. Регуляция глюконеогенеза и гликолиза:

Гл-6-Ф — глюкозо-6-фосфат; Фр-2,6-ФФ — фруктозо-2,6-дифосфат; Фр-1,6-ФФ — фруктозо-1,6-дифосфат; ФФРК-1 — фосфофруктокиназа-1; ФрДФаза-1 — фруктозодифосфатаза-1; ФЕПКС — фосфоенолпируваткарбоксикиназа; «+» — активирование; «-» — ингибирование; толстые стрелки — лимитирующие стадии процессов с соответствующими аллостерическими эффекторами

3.9. Глюкозо-лактатный цикл (цикл Кори)

мышечной и лимфоидной ткани, что приводит к увеличению поступления аминокислот в кровоток, с другой — индуцируют биосинтез ферментов глюконеогенеза в печени, благодаря чему поступившие в печень аминокислоты могут использоваться для синтеза глюкозы.

Другой гормон, *глюкагон*, ускоряет глюконеогенез. Это достигается не только путем фосфорилирования пируваткиназы и снижением скорости гликолиза, но и путем индукции синтеза ферментов глюконеогенеза: фосфоенолпируват-карбоксикиназы, фруктозо-1,6-дифосфатазы и глюкозо-6-фосфатазы. Известно, что глюкагон влияет на активность факторов транскрипции и таким образом индуцирует синтез ферментов глюконеогенеза. *Инсулин*, напротив, является репрессором синтеза ключевых ферментов глюконеогенеза и одновременно индуктором синтеза ключевых ферментов гликолиза.

3.9. Глюкозо-лактатный цикл (цикл Кори)

Между гликолизом и глюконеогенезом существует тесная взаимосвязь. Образующаяся в мышцах молочная кислота (лактат) поступает в общий кровоток, оттуда в печень и используется ею в качестве субстрата глюконеогенеза; синтезируемая при этом глюкоза поступает в кровоток и используется мышцами для получения энергии (рис. 3.19).

Цикл Кори выполняет важнейшие функции:

- 1) обеспечивает утилизацию лактата, возвращая его в метаболический фонд углеводов (лактат используется для синтеза глюкозы);
- 2) предотвращает накопление лактата, тем самым препятствует снижению pH и развитию ацидоза.

Гиперлактатацидемия — патологическое состояние, развивающееся при увеличении продукции и (или) снижении скорости выведения из крови и тканей (недостаточной утилизацией в печени и почках) молочной кислоты,

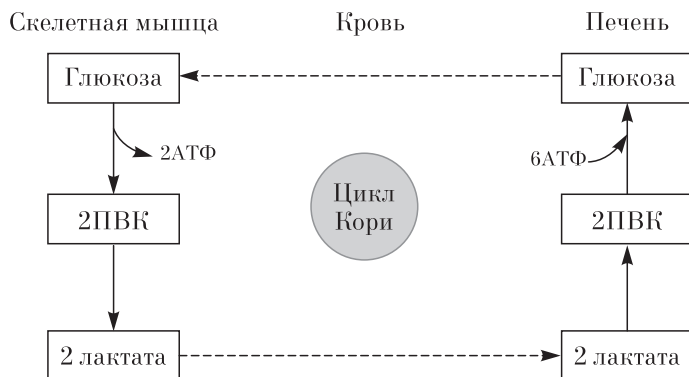


Рис. 3.19. Взаимосвязь между процессами гликолиза и глюконеогенеза

проявляющееся смещением кислотно-щелочного равновесия в организме в сторону увеличения кислотности. В этих условиях равновесие реакции пируват \leftrightarrow лактат сдвинуто в сторону образования лактата.

Гиперлактатацидемия наблюдается при уменьшении доставки кислорода к тканям вследствие снижения кровотока или снижения парциального давления кислорода (тяжелые заболевания легких); при чрезмерной физической нагрузке; дефиците в организме тиамина; при алкогольной интоксикации.

3.10. Спиртовое брожение глюкозы

В анаэробных условиях глюкоза может превращаться в этанол. Ранее полагали, что образование этилового спирта — привилегия дрожжей и некоторых плесневых грибов. Однако уже доказано, что в тканях млекопитающих алкоголь также образуется (поскольку является нормальным метаболитом клеток), но в очень малых количествах.

Реакции спиртового брожения подобны гликолизу. Расхождение начинается только после образования пирувата (рис. 3.20). Сначала пируват подвергается прямому декарбоксилированию, продуктом которого является ацетальдегид. Данная реакция происходит при участии пируватдекарбоксилазы, тиаминпирофосфата (ТПФ) и ионов магния. А затем ацетальдегид превращается в этанол. Эту реакцию катализирует *алкогольдегидрогеназа*, коферментом которой служит $\text{НАДН} \cdot \text{H}^+$.

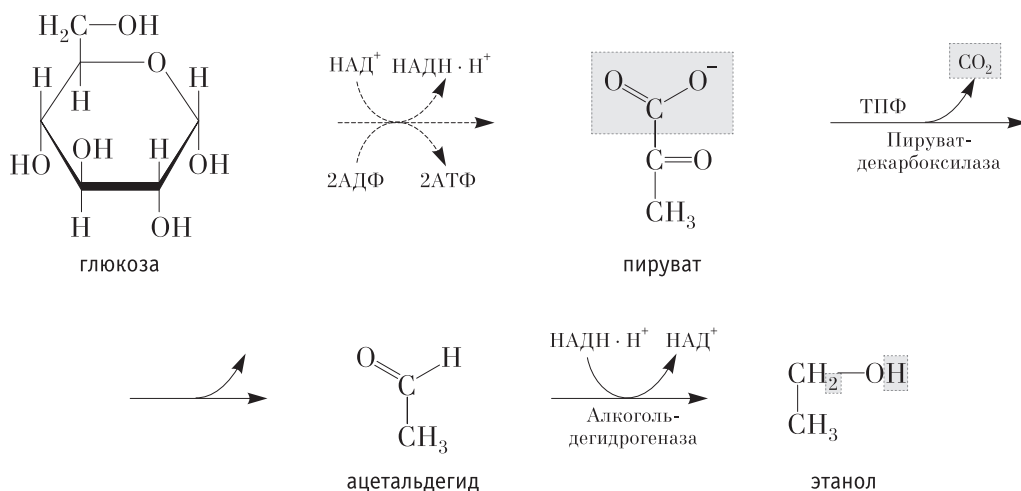


Рис. 3.20. Спиртовое брожение глюкозы

3.12. Пентозофосфатный путь окисления глюкозы

3.11. Восстановительный путь обмена глюкозы

Восстановительный путь обмена глюкозы протекает преимущественно в эндотелии сосудов, эритроцитах, хрусталике глаза и нервной ткани. Значение этого альтернативного пути метаболизма глюкозы определяется тем обстоятельством, что его активность зависит от концентрации глюкозы в крови и не зависит от присутствия инсулина. Путь активируется при увеличении концентрации глюкозы в крови. В этом процессе участвуют два фермента. Альдозоредуктаза восстанавливает глюкозу в сорбитол, который затем окисляется до фруктозы в присутствии НАД⁺ и сорбитолдегидрогеназы (рис. 3.21). Последняя реакция обратима. Тот же фермент, сорбитолдегидрогеназа, катализирует обратную реакцию — восстановление фруктозы в сорбитол.

Сорбитол плохо проникает через клеточные мембраны, отличается высокой гидрофильностью и его накопление в клетках может служить причиной повышения в них осмотического давления. Установлено, что длительная гипергликемия, наблюдаемая при сахарном диабете, способствует повышению скорости образования сорбитола и его накоплению в тканях, вызывая их набухание, нарушение микроциркуляции и трофики. Это одна из причин развития осложнений диабета: нейропатии, ретинопатии, катаракты и др.

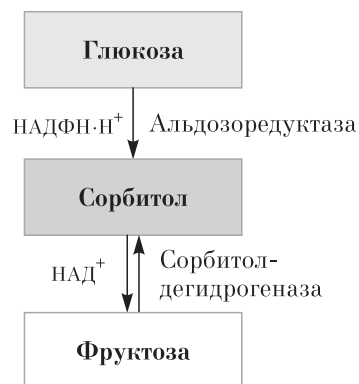


Рис. 3.21. Восстановительный путь обмена глюкозы

3.12. Пентозофосфатный путь окисления глюкозы

Пентозофосфатный путь (ПФП) обмена углеводов нередко называют *апопомическим путем*, так как обмен глюкозы идет по первому (C₁) атому углерода. Превращение глюкозы по ПФП *не требует присутствия кислорода*.

Доля ПФП в количественном превращении глюкозы в клетках обычно невелика (в большинстве клеток не более 10 %) и варьируется в зависимости от типа ткани и ее функционального состояния. Так, в клетках печени по этому пути превращается около 30 % глюкозы, в адипоцитах — 20 %, в эритроцитах — 7 %, в клетках мозга — около 2 %.

Пентозофосфатный путь можно разделить на два этапа: окислительный и неокислительный. Ферменты пентозофосфатного пути локализуются в цитоплазме.

I этап — окислительный. На этом этапе посредством необратимых реакций осуществляется прямое окисление глюкозо-6-фосфата, восстановление

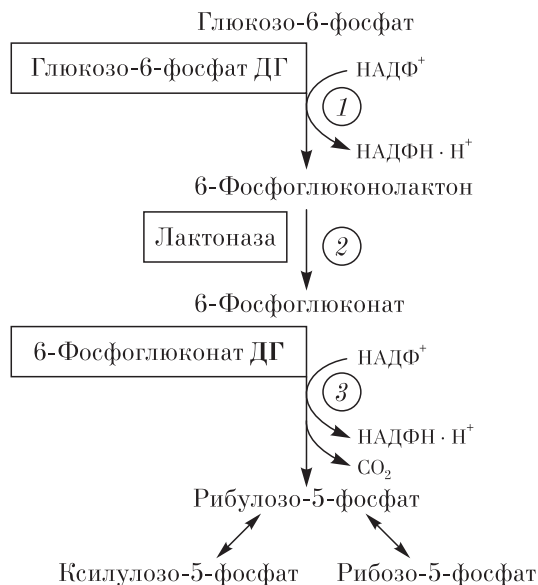


Рис. 3.22. Окислительный этап пентозофосфатного пути

2 молекул НАДФ⁺ (2НАДФ⁺ → 2НАДФН · Н⁺), образование рибулозо-5-фосфата и освобождение СО₂ (рис. 3.22).

1-я реакция — дегидрирование глюкозо-6-фосфата при участии *глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы* с образованием δ-лактона 6-фосфоглюконовой кислоты и НАДФН · Н⁺ (НАДФ⁺ — кофермент глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы).

2-я реакция — гидролиз 6-фосфоглюконолактона *глюконолактонгидролазой*. Продукт реакции — 6-фосфоглюконат.

3-я реакция — дегидрирование и декарбоксилирование 6-фосфоглюконолактона ферментом *6-фосфоглюконатдегидрогеназой*, коферментом которого является НАДФ⁺. В ходе реакции восстанавливается кофермент и отщепляется 1 атом углерода с образованием рибулозо-5-фосфата.

II этап — неокислительный (этап межмолекулярных перегруппировок). В отличие от I этапа (окислительного), все реакции II этапа ПФП обратимы. На этом этапе происходят взаимопревращения сахаров (фосфотриоз, фосфотетроз, фосфопентоз, фосфогексоз, фосфогентулоз, фосфооктулоз), в результате которых регенерирует глюкозо-6-фосфат (рис. 3.23).

Преобразования на неокислительном этапе катализируют два основных фермента: *транскетолаза* — перенос двууглеродных фрагментов, *трансальдолаза* — трехуглеродных.

В реакцию вначале вступают рибозо-5-фосфат и ксилулозо-5-фосфат. Это — *транскетолазная реакция*: транскетолаза (кофермент — тиаминпирофосфат, активная форма витамина В₁) отщепляет двууглеродный фрагмент от ксилулозо-5-фосфата и переносит на рибозо-5-фосфат.

3.12. Пентозофосфатный путь окисления глюкозы

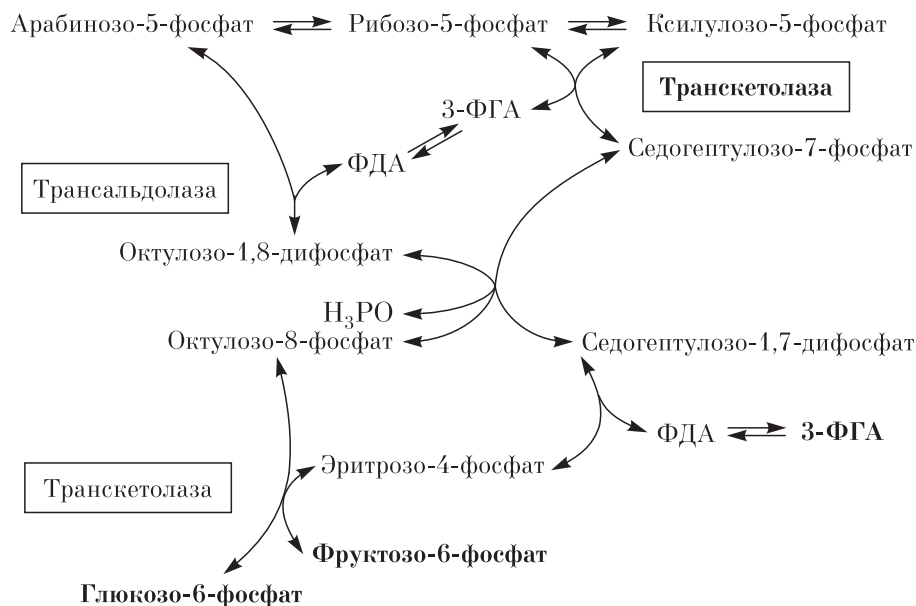


Рис. 3.23. Неокислительный этап пентозофосфатного пути

Затем два образовавшихся соединения реагируют друг с другом в *трансальдозной реакции*; при этом в результате переноса трехуглеродного фрагмента от седогептулозо-7-фосфата на 3-фосфоглицериновый альдегид (3-ФГА) образуются эритрозо-4-фосфат и фруктозо-6-фосфат.

Значение пентозофосфатного пути окисления глюкозы. ПФП обнаружен у животных, растений и микроорганизмов. Интенсивность протекания реакций ПФП зависит от потребности клеток в продуктах реакций и различается в разных тканях. У человека реакции I (окислительного) этапа активно протекают в клетках печени, жировой ткани, эмбриональной ткани, в коре надпочечников, щитовидной железе, половых железах, клетках молочной железы в период грудного вскармливания, костном мозге, эритроцитах.

ПФП — основной источник НАДФН·Н⁺. Этот кофермент используется в клетках как восстановитель в реакциях синтеза жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов, желчных кислот; в реакциях восстановительного аминирования α -кетоглутаровой кислоты (НАДФН·Н⁺ как кофермент глутаматдегидрогеназы); в глюкуроновом пути и др.

НАДФН·Н⁺ участвует в реакциях гидроксилирования при синтезе стероидных гормонов, при обезвреживании ксенобиотиков, лекарственных веществ, этанола и других, которые осуществляются с участием микросомной цитохром Р₄₅₀-зависимой системы окисления.

Фагоциты с использованием НАДФН·Н⁺ генерируют супероксидные анион-радикалы, выполняющие основную роль в разрушении поглощенных

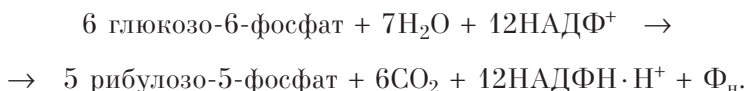
бактериальных клеток. Поэтому недостаточная продукция НАДФН·Н⁺ вследствие нарушения ПФП способствует хронизации инфекционного процесса.

Эритроциты нуждаются в коферменте НАДФН·Н⁺ для восстановления важного антиоксиданта клеток — глутатиона. Совместно с витамином С восстановленный глутатион играет основную роль в предупреждении образования метгемоглобина. Дело в том, что глутатион является активной частью глутатионпероксидазы. Этот фермент способствует устранению токсического влияния пероксида водорода и других перекисей, окисляющих железо гемоглобина и нарушающих его кислородтранспортную функцию.

Велико значение пентозофосфатного пути как *поставщика рибозы-5-фосфата*, необходимого для построения мононуклеотидов (АМФ, АДФ, АТФ, ГМФ и т.д.), олигонуклеотидов, коферментов (ФМН, ФАД, НАД⁺, НАДФ⁺), нуклеиновых кислот.

Пентозофосфатный путь тесно связан с гликолизом, поскольку у них имеются общие метаболиты (глюкозо-6-фосфат, фруктозо-6-фосфат, 3-ФГА). Эти процессы способны переключаться друг на друга в зависимости от соотношения концентраций промежуточных продуктов, образовавшихся в клетке. С одной стороны, в ПФП регенерируют моносахариды (глюкозо-6-фосфат, фруктозо-6-фосфат), с другой — избыток пентоз может быть устранен за счет превращения в гексозы посредством реакций II (неокислительного) этапа ПФП.

Циклический характер ПФП. Окислительный и неокислительный этапы ПФП (образование фосфопентоз и возвращение их в фосфогексозы) вместе составляют циклический процесс. Общее уравнение окислительной и неокислительной частей пентозофосфатного пути можно представить в следующем виде:



Это означает, что из шести молекул глюкозы образуется 6 молекул рибулозо-5-фосфата (пентозы) и 6 молекул СО₂. Расчет на 6 молекул глюкозы обусловлен тем обстоятельством, что образование 6 молекул СО₂ эквивалентно полному окислению 1 молекулы глюкозы. Ферменты неокислительной фазы превращают 6 молекул рибулозо-5-фосфата в 5 молекул глюкозо-6-фосфата. При последовательном проведении этих реакций единственным полезным продуктом является НАДФН·Н⁺, образующийся в окислительной фазе пентозофосфатного пути. Такой процесс называют *пентозофосфатным циклом*. Протекание пентозофосфатного цикла позволяет клеткам продуцировать НАДФН·Н⁺, не накапливая пентозы. Пентозофосфатный цикл функционирует, главным образом, в жировой ткани и печени.

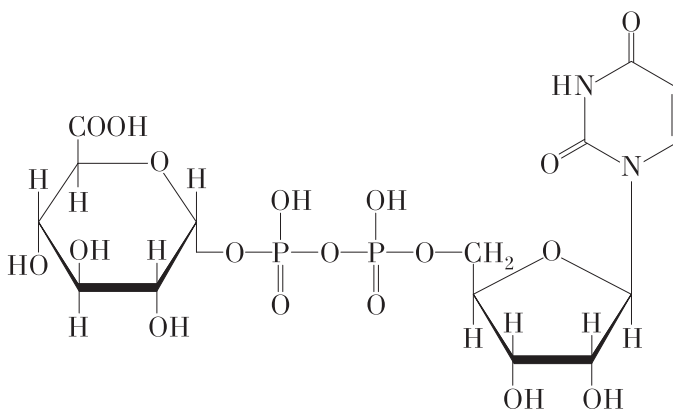
Регуляция пентозофосфатного пути осуществляется, в основном, на уровне дегидрогеназ. Инсулин индуцирует биосинтез глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы. Активность дегидрогеназ увеличивается

3.13. Глюкуроновый путь обмена глюкозы

при поступлении углеводов в организм и снижается при голодании и диабете. Именно поэтому они считаются адаптивными ферментами. Увеличение уровня НАДФН·Н⁺ аллостерически ингибирует в клетке окисление глюкозы в ПФП.

3.13. Глюкуроновый путь обмена глюкозы

Глюкуроновый путь (или *путь уроновых кислот*¹) является альтернативным путем окисления глюкозы. Он идет без образования АТФ и используется для получения активной формы глюкуроната — *УДФ-глюкуроновой кислоты*.



УДФ-глюкуроновая кислота

Ее роль связана с обезвреживанием и выведением из организма продуктов метаболизма эндогенных веществ и ксенобиотиков, главным образом лекарственных препаратов.

Глюкуроновый путь осуществляется в печени и в клетках соединительной ткани (рис. 3.24).

Начальный этап пути (образование УДФ-глюкозы) аналогичен реакциям синтеза гликогена. Далее УДФ-глюкоза окисляется дегидрогеназой в УДФ-глюкуроновую кислоту, которая превращается в глюкуроновую кислоту. В следующей реакции глюкуроновая кислота восстанавливается НАДФ-зависимой дегидрогеназой до L-гулоновой кислоты. Последняя окисляется до 3-кетогулоновой кислоты, которая, декарбоксилируясь, превращается в L-ксилулозу.

¹ Уроновые кислоты (глюкуроновые кислоты) — монокарбоновые кислоты общей формулы $\text{ONC}_2[\text{CH}(\text{OH})]_n\text{COOH}$, являющиеся продуктами окисления терминальной гидроксиметильной группы альдоз в карбоксильную группу. Уроновые кислоты получают из растительного сырья: D-галактуроновую кислоту — ферментативным гидролизом пектинов, катализируемым полигалактуроназой, L-гулуруновую и D-маннуруновую кислоты — гидролизом альгиновых кислот водорослей. Входят в состав биополимеров как растительного, так и животного происхождения.

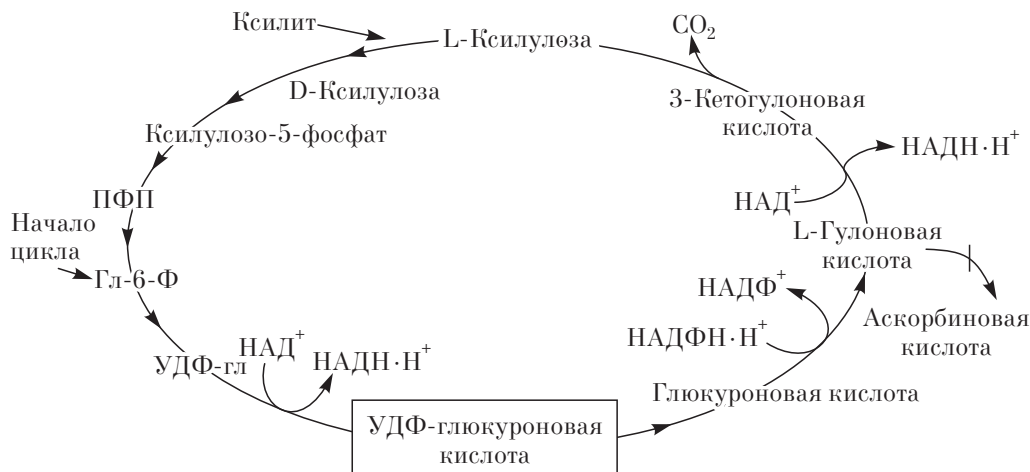


Рис. 3.24. Глюкуроновый путь окисления глюкозы

В организме большинства животных гулоновая кислота служит предшественником витамина С. Аскорбат синтезируется из гулоновой кислоты с участием двух специфических ферментов. В организме человека, морской свинки, индийской летучей мыши и обезьяны аскорбиновая кислота (витамин С) не синтезируется, потому что у них отсутствует фермент гулонолактоноксидаза.

Ксилулоза может включаться в пентозофосфатный путь обмена углеводов только в виде D-изомера. Изомеризация L-формы в D-форму осуществляется НАДФ-зависимыми дегидрогеназами через стадию образования спирта ксилита ($\text{ксилит} + \text{НАД}^+ \rightarrow \text{D-ксилулоза} + \text{НАДФН} \cdot \text{Н}^+$).

Заключительный этап глюкуронового пути (от ксилулозо-5-фосфата до глюкозо-6-фосфата) совпадает с II (неокислительным) этапом ПФП.

Значение глюкуронового пути. В гепатоцитах УДФ-глюкуроновая кислота участвует в обезвреживании веществ, связывая продукты метаболизма, например стероидные гормоны, билирубин, продукты гниения белков, лекарственные препараты и другие ксенобиотики (амины, тиолы, фенолы, карбоновые кислоты) в виде *водорастворимых глюкуронидов*, которые легко выводятся с желчью и мочой из организма. В фибробластах УДФ-глюкуроновая кислота используется для синтеза гетерополисахаридов (гиалуроновой кислоты, хондроитинсульфатов, дерматансульфатов, гепарина).

Именно этим путем синтезируется аскорбиновая кислота в растениях и у тех животных, которые способны обеспечивать себя витамином С.

Через глюкуроновый путь происходит включение пищевого ксилита в обмен углеводов. Ксилит ($\text{CH}_2\text{OH}(\text{CHOH})_3\text{CH}_2\text{OH}$) — многоатомный спирт, имеет сладкий вкус, применяется как заменитель сахара для больных сахарным диабетом и ожирением.

3.14. Гормональная регуляция углеводного обмена

3.14. Гормональная регуляция углеводного обмена

Основной показатель состояния углеводного обмена — *концентрация глюкозы в крови*.

Источниками глюкозы крови являются углеводы пищи, гликоген печени и синтез глюкозы из неуглеводных источников. Глюкоза равномерно распределяется между плазмой и форменными элементами крови, поэтому ее содержание можно определять как в сыворотке, так и в цельной крови. В цельной крови содержание глюкозы в норме составляет **3,9–6,1 ммоль/л**, в плазме крови — **3,3–5,5 ммоль/л**. Содержание глюкозы в артериальной крови выше, чем в венозной, что объясняется постоянным использованием глюкозы клетками.

Постоянство уровня глюкозы в крови — важнейшее условие поддержания нормальной жизнедеятельности организма. Уровень глюкозы в крови регулируется центральной нервной системой, гормонами и функцией печени.

Печень — единственный орган, депонирующий глюкозу (в виде гликогена) для нужд всего организма. Благодаря активной глюкозо-6-фосфатазе в гепатоцитах из гликогена высвобождается *свободная* глюкоза, которая, в отличие от ее *фосфорилированных* форм, проникает через мембрану клеток и поступает в общий круг кровообращения.

Выраженное регуляторное влияние на углеводный обмен оказывает гормон *инсулин*. Это единственный гормон, благодаря которому уровень глюкозы в крови снижается. Во-первых, инсулин ускоряет поступление глюкозы из крови в клетки. Это происходит в результате связывания инсулина со своим рецептором на плазматической мембране и последующего перемещения белков — переносчиков глюкозы (*глют-4*) из цитозоля в мембрану. В результате глюкоза эффективно перемещается через мембрану в клетки, снабженные таким переносчиком (адипоциты и миоциты).

Во-вторых, инсулин задерживает глюкозу в клетках и активирует ее использование путем индукции синтеза и активирования ключевых ферментов гликолиза (глюкокиназы, фосфофруктокиназы, пируваткиназы); пентозофосфатного пути (дегидрогеназы глюкозо-6-фосфата и 6-фосфоглюконата); усиления синтеза гликогена за счет стимуляции образования глюкозо-6-фосфата и активирования гликогенсинтазы (одновременно инсулин ингибирует гликогенфосфорилазу, т.е. тормозит распад гликогена); торможения активности ключевых ферментов глюконеогенеза (пируваткарбоксилазы, фосфоенолпируваткарбоксикиназы, фруктозо-1,6-дифосфатазы, глюкозо-6-фосфатазы) и снижения интенсивности их синтеза.

Глюкагон и *адреналин* приводят к увеличению концентрации глюкозы в крови путем усиления распада гликогена в печени (активирование гликогенфосфорилазы). Особенность состоит в том, что в отличие от адреналина глюкагон не влияет на гликогенфосфорилазу мышц. Кроме того, глюкагон

активирует глюконеогенез в печени, что также способствует увеличению концентрации глюкозы в крови.

Глюкокортикоиды вызывают повышение уровня глюкозы в крови за счет стимуляции глюконеогенеза. Под влиянием этих гормонов ускоряется катаболизм белков в мышечной и лимфоидной тканях, в результате увеличивается поступление аминокислот в кровь, а затем в печень. В печени аминокислоты служат исходным субстратом для глюконеогенеза. Кроме того, глюкокортикоиды стимулируют экспрессию генов, кодирующих ключевые ферменты глюконеогенеза. Это также увеличивает интенсивность данного метаболического пути.

Гормон роста увеличивает концентрацию глюкозы в крови опосредованно. Он стимулирует распад липидов, в результате нарастает уровень жирных кислот в крови и клетках. Тем самым снижается потребность клеток в глюкозе.

Тироксин, особенно при гиперфункции щитовидной железы, способствует повышению уровня глюкозы в крови за счет увеличения распада гликогена.

Направление метаболизма глюкозы в клетке зависит от энергетического потенциала и регулируется, главным образом, отношениями АТФ/АДФ и НАД⁺/НАДН·Н⁺. АДФ является аллостерическим активатором регуляторных ферментов гликолиза и ингибитором ферментов глюконеогенеза. АТФ, напротив, активирует синтез глюкозы и ингибирует гликолиз.

3.15. Нарушения углеводного обмена

Гипергликемия — клинический симптом, обозначающий увеличение содержания глюкозы в крови по сравнению с нормой (выше 6,1 ммоль/л). Наиболее часто гипергликемия развивается у больных сахарным диабетом. Также гипергликемия наблюдается при гипертиреозе, повышении гормональной активности коры и мозгового слоя надпочечников, гипофиза, сильных эмоциональных и психических возбуждениях, одномоментном приеме легкоусвояемых углеводов.

Гипогликемия — патологическое состояние, характеризующееся снижением концентрации глюкозы в крови ниже 3,3 ммоль/л. Гипогликемию вызывают следующие причины: длительное голодание, нарушение всасывания углеводов, хронические заболевания печени, передозировка инсулином или пероральными сахароснижающими препаратами при лечении сахарного диабета, инсулома (опухоль β-клеток поджелудочной железы), отравление фосфором, хлороформом, злоупотребление алкоголем.

Глюкозурия — появление глюкозы в моче. При нормальном уровне глюкозы в крови почки полностью ее реабсорбируют (возвращают в кровоток). Дело в том, что для реабсорбции глюкозы необходимо связывание каждой ее молекулы с молекулой переносчика, поэтому транспорт глюкозы является насыщаемым, и если гликемия ≥ 10 ммоль/л (*почечный порог*), то проксимальные

3.16. Взаимосвязь углеводов пищи и кариеса. Химико-паразитарная теория

канальцы оказываются «перегруженными», а весь излишек глюкозы попадает в мочу. Почечный порог индивидуален для каждого человека, но, как правило, укладывается в вышеуказанный диапазон. У детей и беременных женщин он может быть снижен (примерно до 7 ммоль/л).

В подавляющем большинстве случаев глюкозурия является симптомом сахарного диабета как результат патологического увеличения концентрации глюкозы в крови. Редко наблюдается нарушение реабсорбции в самой почке, так называемая *ренальная (почечная) глюкозурия* при заболеваниях почек.

3.16. Патогенетическая взаимосвязь углеводов пищи и кариеса. Химико-паразитарная теория

Кариес — патологический процесс, протекающий в твердых тканях зуба и развивающийся в результате комплексного воздействия неблагоприятных внешних и внутренних факторов. Кариес характеризуется в начальной стадии развития очаговой деминерализацией неорганической части эмали и разрушением ее органического матрикса, что в итоге приводит к разрушению твердых тканей зуба с образованием дефекта в виде полости.

Химико-паразитарная теория развития кариеса в настоящее время является доминирующей. Согласно этой теории, влияние простых углеводов на развитие кариеса связано с их готовностью вступать в метаболизм уже в полости рта, в отличие от белков, жиров и сложных углеводов, требующих предварительного гидролиза. Прием легкоусвояемых углеводов является пусковым моментом цепи реакций, которые неблагоприятны для гомеостаза полости рта.

Потребление легкоусвояемых углеводов, в частности сахарозы, инициирует кислотную деминерализацию эмали зубов. Процесс наиболее интенсивно протекает в мягком зубном налете. У бактерий (*Str. mutans*, *salivarius*, *sanguis*, *mitis* и лактобактерии), локализирующихся в ротовой полости, обмен сахарозы имеет свои особенности (рис. 3.25).

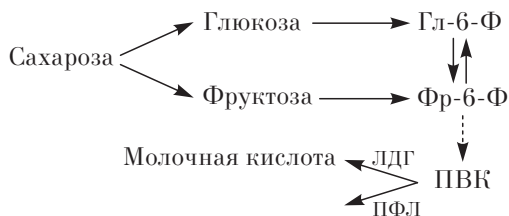


Рис. 3.25. Схема расщепления сахарозы под влиянием ферментов бактерий полости рта:

Гл-6-Ф — глюкозо-6-фосфат; Фр-6-Ф — фруктозо-6-фосфат; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; ПВК — пировиноградная кислота; ПФЛ — пируватфосфатлиаза

Процесс идет по пути молочнокислого брожения до пировиноградной кислоты (ПВК), а затем конкурируют два альтернативных пути ее использования: первый — это восстановление лактатдегидрогеназой (ЛДГ) в молочную кислоту (этот путь идентичен гликолизу у человека и других животных), а второй — распад на уксусную и муравьиную кислоту при помощи пируват-форматлиазы (ПФЛ).

Лактатдегидрогеназа бактерий активируется высокими концентрациями фруктозо-1,6-дифосфата. Это объясняет преимущественное образование молочной кислоты при избыточном поступлении углеводов.

Существует определенная зависимость между pH ротовой жидкости и выходом кальция из зубов.

$$\text{Выход Ca}^{2+} \text{ из зубов} < \begin{matrix} \text{pH} \\ 6,2-7,4 \\ \text{Ca}^{2+}\text{-равновесие} \end{matrix} < \begin{matrix} \text{Минерализация} \\ \text{(камни на зубах)} \end{matrix}$$

Еще одной особенностью метаболизма сахарозы бактериями полости рта является их способность при избытке углеводов синтезировать гликоген. Механизм синтеза и распада гликогена бактериями подобен таковому у животных за исключением того, что для синтеза используется не УДФ-производные глюкозы, а АДФ-производные. Наиболее «преуспевают» в этом отношении стрептококки. Локализованный в зубном налете *Streptococcus mitis* может синтезировать гликоген в количестве до 37 % от своей сухой массы. Гликоген используется этими бактериями для поддержки жизнеобеспечения.

Из сахарозы, которая поступает с пищей, микроорганизмы синтезируют внеклеточные полисахариды — леваны и декстраны. Фруктаны и глюканы участвуют в формировании зубной бляшки, которая состоит из полисахаридного матрикса, связанного с различными видами бактерий (*Neisseria*, *Nocardia*, *Actinomyces viscosus*, *Candida*). Разветвленные боковые цепи декстранов прочно связывают бактерии как с матриксом зубных бляшек, так и с поверхностью зуба.

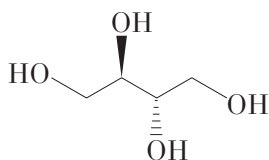
Кроме того, декстраны повышают адгезию путем увеличения количества сайтов, специфичных к глюкановым рецепторам бактерий. Это приводит к образованию прочной связи между бактериальными клетками и поверхностью зуба, в результате чего прикрепившиеся микроорганизмы не удаляются смывающей их слюной. Внеклеточные полисахариды, заполняя весь объем бляшки или очага поражения, затрудняют процесс реминерализации, препятствуя поступлению в эмаль ионов кальция и фосфатов.

Увеличение частоты приема сахаросодержащих продуктов способствует размножению микроорганизмов, их адгезии на поверхности зубов и способствует повышению вырабатываемой ими кислоты. Это приводит к растворению кристаллов гидроксиапатита, появлению очага кариозного процесса, что вызывает, в конечном итоге, разрушение зуба.

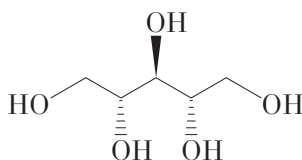
3.16. Взаимосвязь углеводов пищи и кариеса. Химико-паразитарная теория

Регулярное соблюдение гигиенических мер и удаление остатков пищи, содержащей углеводы, после еды с помощью чистки зубов или ополаскивания рта позволяют снизить риск развития кариеса.

Для профилактики стоматологических заболеваний в качестве сахарозаменителей чаще всего используют многоатомные спирты — ксилитол, сорбитол, эритритол и другие, которые не могут метаболизироваться в полости рта из-за отсутствия в ней необходимых ферментов. Поэтому не происходит образования и накопления органических кислот в ротовой полости, не образуется зубной налет и вследствие этого не создаются условия для возникновения кариеса.



эритритол



ксилитол

Эритритол, ксилитол, сорбитол входят в состав некоторых зубных паст, жевательных резинок и ополаскивателей полости рта.

Химия и обмен липидов

Липиды — органические вещества, которые не растворяются или плохо растворяются в воде, но растворяются в органических растворителях (хлороформе, эфире, ацетоне, бензоле и др.). Они являются настоящими или потенциальными эфирами жирных кислот, усваиваются и используются живыми организмами.

Липиды составляют примерно 10–20 % массы тела человека. В тканях человека количество липидов существенно различается. В жировой ткани липиды составляют до 75 % сухого веса, в нервной ткани — до 50 % сухого веса. В печени общее количество липидов в норме не превышает 10–13 %.

Содержание липидов в тканях зуба колеблется в пределах 0,2–0,6 %. Фосфолипиды, имея отрицательный заряд, могут связывать ионы и другие катионы и таким образом участвовать в формировании ядер кристаллизации, играя роль стабилизатора аморфного фосфата кальция в минерализованных тканях зуба и костной ткани.

В нестимулированном секрете околоушной железы количество общих липидов не превышает 60–70 мг/л. Липиды ротовой жидкости представлены свободными насыщенными и полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК), холестерином и его эфирами (около 28 % от общего количества), триацилглицеролами (около 40–50 %) и в небольшом количестве — глицерофосфолипидами. Некоторые их функции будут рассмотрены в соответствующих разделах.

Стоматологи в своей повседневной практике нередко сталкиваются с пациентами, у которых заболевания челюстно-лицевой области развиваются на фоне изменений липидного обмена. Прежде всего, это атеросклероз и ожирение — системные заболевания, которые чреваты своими нередко фатальными осложнениями. В таких случаях появляется специфика ведения (комплекс лечебных и профилактических процедур, оценка эффективности и прогноз) пациентов, которая основывается на понимании молекулярных механизмов патогенеза или развития нарушений липидного обмена.

4.1. Классификация липидов

По способности гидролизываться липиды разделяют на две группы (рис. 4.1):

- 1) не подвергающиеся гидролизу (неомыляемые);
- 2) липиды, подвергающиеся щелчному гидролизу (омыляемые).

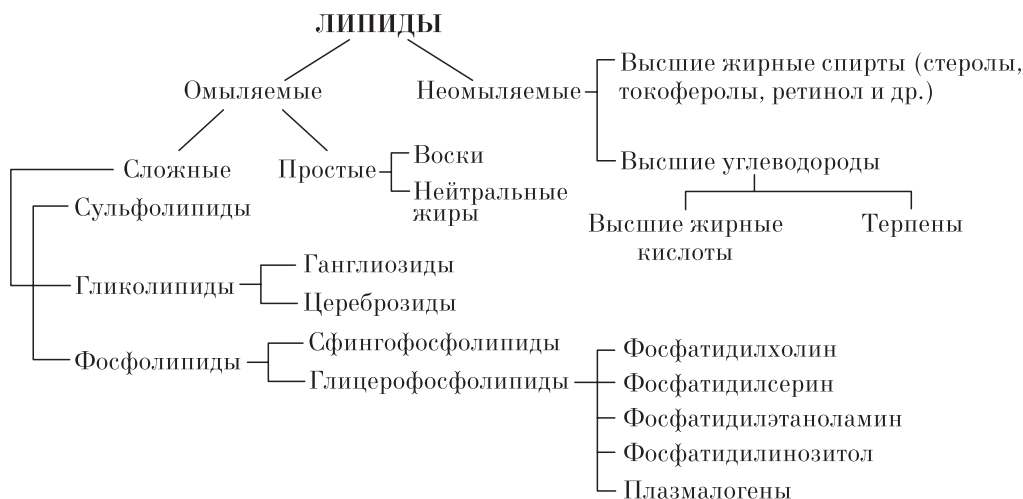


Рис. 4.1. Классификация липидов

Омылением называется процесс образования (натриевых или калиевых) солей жирных кислот (мыла) путем щелчного гидролиза липидов¹ (рис. 4.2).

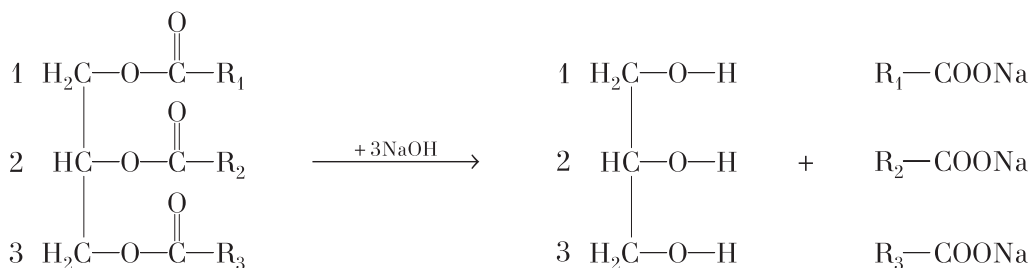


Рис. 4.2. Реакция омыления нейтрального жира

¹ Реакция омыления широко используется для производства мыл, выяснения состава ацилглицеролов и контроля за их качеством. С этой целью определяют *число омыления* — количество миллиграммов NaOH, израсходованного на нейтрализацию жирных кислот при омылении 1 г липидов.

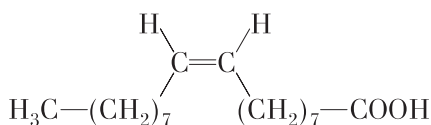
4.1.1. Неомыляемые липиды

К *неомыляемым* липидам можно отнести жирные кислоты, высшие спирты, включая стероиды, хиноны (витамины К, пластинин, убихинон и др.), терпены (например, сквален, каротиноиды).

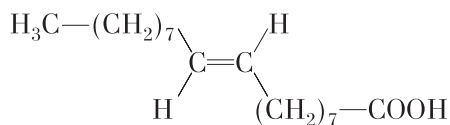
Жирные кислоты

К этой подгруппе соединений относятся алифатические одноосновные карбоновые кислоты с открытой цепью. Они служат своеобразными строительными компонентами для большинства липидов. В настоящее время из живых организмов выделено свыше 70 жирных кислот. В зависимости от числа углеродных атомов в составе жирной кислоты различают *короткоцепочечные* (от 2 до 4 углеродных атомов), *среднецепочечные* (от 6 до 12 углеродных атомов), *длинноцепочечные* (от 14 до 22 углеродных атомов) жирные кислоты и жирные кислоты с *очень длинной цепью* (от 24 до 26 углеродных атомов).

В липидах животного происхождения преобладают жирные кислоты с длинной углеродной цепью, содержащей обычно четное число атомов углерода (от 14 до 24), которые называются *высшие жирные кислоты (ВЖК)*. Жирные кислоты могут быть как насыщенными, так и ненасыщенными. *Предельные* (насыщенные) кислоты не содержат двойных связей. *Непредельные* (ненасыщенные) кислоты содержат одну (*мононенасыщенные*) или несколько (*полиненасыщенные*) двойных связей. Двойные связи в природных полиненасыщенных жирных кислотах — изолированные (несопряженные). Как правило, связи имеют *цис*-конфигурацию, что придает таким молекулам дополнительную жесткость. Это имеет биологический смысл, так как такие молекулы входят в состав клеточных мембран.



цис-изомер
олеиновая кислота



транс-изомер
элаидиновая кислота

Номенклатура жирных кислот. Для краткой записи жирных кислот обычно вводят следующие символы: C_n — число углеродных атомов, через двоеточие — число двойных связей. Положение двойной связи относительно карбоксильной группы обозначают знаком Δ , где число показывает порядковый номер атома углерода, возле которого находится двойная связь.

Для названия ненасыщенных жирных кислот используется и ω (омега)-номенклатура, в соответствии с которой структура любой ненасыщенной жирной

4.1. Классификация липидов

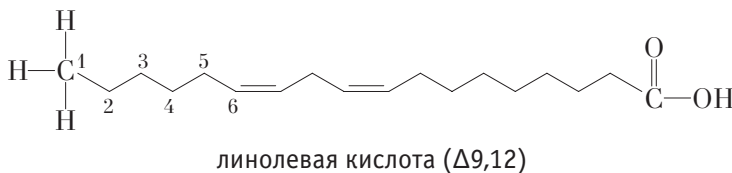


Рис. 4.3. Номенклатура ненасыщенных жирных кислот

кислоты может быть записана следующим образом (на примере линолевой кислоты, рис. 4.3):



где C_{18} — число углеродных атомов; 2 — число двойных связей; $\omega 6$ — положение двойной связи от последней, метильной группы, т.е. ω -углеродного атома.

Насыщенные жирные кислоты. Основными представителями в липидах животного происхождения являются *пальмитиновая* ($C_{16}:0$) и *стеариновая* ($C_{18}:0$) кислоты.

Мононенасыщенные жирные кислоты. Преобладающими жирными кислотами животных липидов являются *олеиновая* ($C_{18}:1$) и *пальмитолеиновая* ($C_{16}:1$). В триацилглицеролах человека доля олеиновой кислоты составляет 20–25 %.

Полиненасыщенные (полиеновые) кислоты. В тканях млекопитающих наиболее часто встречается *линолевая* кислота, содержание которой в липидах человека составляет 10–15 %. Содержание *арахидоновой* кислоты составляет около 8 % от количества всех жирных кислот организма. Линолевая ($C_{18}:2$) и линоленовая ($C_{18}:3$) кислоты являются **незаменимыми (эссенциальными) пищевыми факторами**, так как не могут синтезироваться в организме человека из стеариновой кислоты ($C_{18}:0$). Арахидоновая кислота ($C_{20}:4$) является **условно незаменимой**, так как может образовываться из линолевой и линоленовой. Арахидоновая кислота примечательна тем, что она в клетках является предшественником целой группы биологически активных соединений. Они объединяются под общим названием — эйкозаноиды. Такое название обусловлено систематическим названием арахидоновой кислоты — эйкозатетраеновая кислота ($20C$ — «эйкоза», 4 двойных связи в составе — «тетраеновая»).

Формулы перечисленных жирных кислот приведены в табл. 4.1.

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

Таблица 4.1

Некоторые природные жирные кислоты, преобладающие в животных жирах

Тривиальное название и брутто-формула	Формула IUPAC		Структурная формула
	CH ₃ - конец	COOH- конец	
Насыщенные жирные кислоты			
Пальмитиновая C ₁₅ H ₃₁ COOH	16:0	16:0	CH ₃ —(CH ₂) ₁₄ COOH
Стеариновая C ₁₇ H ₃₅ COOH	18:0	18:0	CH ₃ —(CH ₂) ₁₆ COOH
Ненасыщенные жирные кислоты			
Олеиновая C ₁₇ H ₃₃ COOH	18:1 ω9	18:1 Δ9	CH ₃ —(CH ₂) ₇ CH=CH—(CH ₂) ₇ COOH
Пальмитолено- вая C ₁₅ H ₂₉ COOH	16:1 ω7	16:1 Δ9	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH—(CH ₂) ₇ COOH
Линолевая C ₁₇ H ₃₁ COOH	18:2 ω6	18:2 Δ9,12	CH ₃ —(CH ₂) ₄ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—(CH ₂) ₇ —COOH
γ-Линоленовая C ₁₇ H ₂₉ COOH	18:3 ω6	18:3 Δ6,9,12	CH ₃ —(CH ₂) ₄ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—(CH ₂) ₇ —COOH
Арахидоновая C ₁₉ H ₃₁ COOH	20:4 ω6	20:4 Δ5,8,11,14	CH ₃ —(CH ₂) ₄ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—(CH ₂) ₃ —COOH

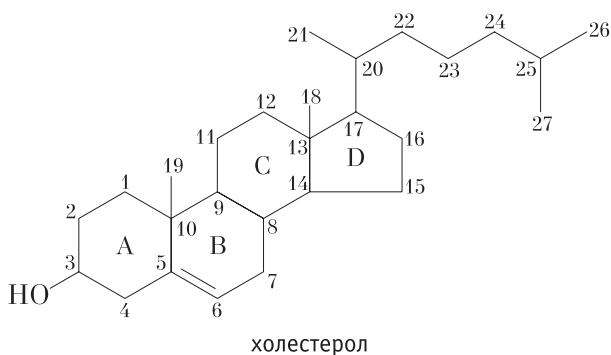
4.1. Классификация липидов

Высшие спирты

Высшие спирты (BC) — одноатомные насыщенные и ненасыщенные спирты, содержащие от 6 до 22 атомов углерода в цепи. К высшим спиртам относятся жирорастворимые витамины: А (ретинол), Е (токоферол), а также широко распространенные в животном и растительном мире конденсированные тетрациклические спирты, входящие в класс стероидов — витамины D (эргокальциферол, холекальциферол и др.).

Стероиды

Стероиды — это группа соединений, имеющих в своей структуре ядро, образованное гидрированным фенантреном (кольца А, В, С) и циклопентаном (кольцо D). Среди стероидов выделяется группа соединений, получивших название **стеролов**. Характерным для них является наличие гидроксильной группы в положении 3, а также боковой цепи в положении 17. Важнейший представитель стеролов — *холестерол (ХС)*.



Он имеет двойную связь между 5-м и 6-м углеродными атомами, следовательно, является ненасыщенным циклическим спиртом. Кольцевая структура холестерина отличается значительной жесткостью, а боковая цепь, напротив, относительно подвижна.

Холестерол в чистом виде представляет собой кристаллические пластинки или иглы, воскообразные на ощупь, нерастворимые в воде, но растворимые в органических растворителях. Холестерол как в свободном состоянии, так и в виде сложных эфиров с жирными кислотами содержится в животных клетках. У взрослого человека содержание холестерина составляет 150–200 г. Около 93 % ХС входит в состав мембран и 7 % находится в жидкостях организма. В крови большая часть холестерина связана с белками. Норма содержания общего холестерина в сыворотке крови **3,35–6,45 ммоль/л**.

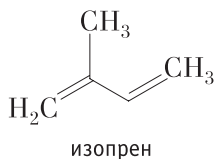
Биологическая роль холестерина. Неэстерифицированный холестерол вместе с фосфолипидами и белками входит в состав плазматических мембран всех

клеток. ХС увеличивает микровязкость мембран и снижает их проницаемость для воды и водорастворимых веществ, что обеспечивает избирательную проницаемость мембран и влияет на активность связанных с мембранами ферментов.

Холестерол является исходным веществом для образования многих биологически активных соединений — гормонов коры надпочечников, половых гормонов, витаминов группы D. В печени из холестерина образуются желчные кислоты.

Терпены (изопрены)

К числу липидных компонентов, которые встречаются в клетках в сравнительно небольшом количестве, относятся **терпены**¹. Молекулы терпенов построены путем объединения нескольких молекул пятиуглеродного углеводорода — **изопрена**.



Состав терпенов соответствует формуле $(C_5H_8)_n$, где $n = 2, 3, 4$ и т.д. В зависимости от количества изопреновых группировок, которые входят в состав терпенов, различают *монотерпены*, *дитерпены*, *тритерпены* и др.

Тритерпены *скален* и *ланостерол* являются предшественниками холестерина в животных клетках. К тетратерпенам относят *каротиноиды* и *ретиноиды*. Каротиноиды являются природными пигментами (желтого, оранжевого или красного цвета). Каротиноиды выполняют функцию антиоксидантов в организме человека. β -Каротин является предшественником жирорастворимого витамина А.

4.1.2. Омыляемые липиды

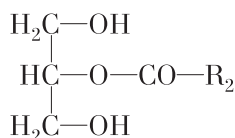
Среди омыляемых липидов различают простые и сложные липиды. *Простые* липиды представляют собой эфиры жирных кислот и спиртов. К простым липидам относят нейтральные жиры и воски. Сюда же можно отнести эфиры холестерина. *Сложные* липиды содержат в своем составе, помимо углерода, водорода и кислорода, атомы фосфора, азота или серы — это фосфолипиды (фосфатида), гликолипиды и сульфолипиды (сульфатида).

¹ Слово «терпены» происходит от латинского названия терпентинного дерева *Pistacia terebinthus* L., растущего в Средиземноморье. Из него еще в древние времена добывали эфирное масло, которое называли «терпентин», впоследствии получившее название «скипидар».

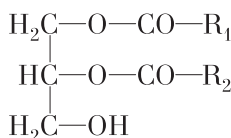
4.1. Классификация липидов

Нейтральные жиры (ацилглицеролы)

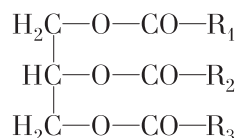
Нейтральные жиры представляют собой сложные эфиры трехатомного спирта глицерола и высших жирных кислот. В тканях организма встречаются моноацилглицеролы (МАГ), диацилглицеролы (ДАГ) и триацилглицеролы (ТАГ).



2-моноацилглицерол



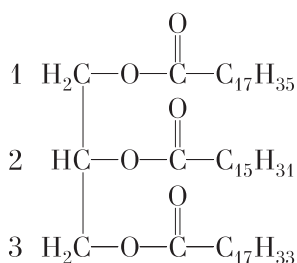
1,2-диацилглицерол



триацилглицерол

Если во всех трех положениях стоят остатки одной и той же жирной кислоты, то такие триацилглицеролы называются *простыми*. Примером может служить тристеароилглицерол (три остатка стеариновой кислоты в составе).

Триацилглицеролы, в составе которых содержатся остатки двух или трех разных жирных кислот, называются *смешанными*.



3-олеоил-2-пальмитоил-1-стеароилглицерол

Среди липидов организма именно ацилглицеролы выполняют *энергетическую* функцию. Выделение энергии происходит при внутриклеточном окислении составных компонентов ацилглицеролов: жирных кислот и глицерола. Кроме того, триацилглицеролы откладываются про запас и являются формой запаса энергии в организме, выполняя *резервную* функцию. Это позволяет животным и человеку переносить как кратковременное, так и длительное голодание.

Подкожная жировая клетчатка защищает от механических повреждений, выполняя *защитную* функцию.

Реализация *терморегуляторной* функции осуществляется благодаря тому, что, во-первых, жир плохо проводит тепло и поэтому является хорошим теплоизолятором; во-вторых, при охлаждении организма на генерирование тепла за счет выделения энергии расходуются всё те же ацилглицеролы. Особенно ярко эта функция проявляется у млекопитающих, живущих в полярных зонах (белые медведи, тюлени).

Липиды выполняют функцию *естественных растворителей*. В частности, они обеспечивают всасывание в кишечнике незаменимых жирных кислот и жирорастворимых витаминов. К примеру, всасывание каротина, провитамина А, в отсутствие жира происходит только на 10 %.

Ацилглицеролы — *источник эндогенной воды в организме*. При окислении 100 г ацилглицеролов образуется 107 г воды, что вдвое больше чем при окислении белков и углеводов. Ацилглицеролы являются предшественниками эйкозаноидов: простагландинов, тромбоксанов, простациклинов, лейкотриенов, т.е. липидных гормонов.

Воски

Воски — это сложные эфиры жирных кислот и высших одноатомных или двухатомных спиртов. Природные воски содержат некоторое количество свободных жирных кислот, спиртов, а также углеводов с нечетным числом атомов углерода, красящих и ароматических веществ.

Все воски представляют собой твердые вещества разнообразной окраски, устойчивые к действию света, окислителей, нагреванию. Температура их плавления — от 30 до 90 °С.

Воск — один из старейших материалов, применяемых в стоматологии. Пчелиный воск начали применять для снятия оттисков зубов более 200 лет назад. Сейчас воски и восковые смеси используют в качестве материала, из которого создают модели вкладок, коронок, штифтов, мостовидных и других протезов. Из воска изготавливают специальные валики, с помощью которых определяют прикус.

Из *растительных восков* в ортопедической стоматологии нашли применение японский и карнаубский воски. Карнаубский воск добывается из листьев бразильской пальмы. По химическому составу карнаубский воск близок к пчелиному воску. Используется как полировочный материал.

К воскам *животного происхождения* относятся *спермацет* (цетиловый эфир пальмитиновой кислоты), получаемый из спермацетового мешка, расположенного в голове кашалота, *пчелиный воск* (миристиловый эфир пальмитиновой кислоты), вырабатываемый восковыми железами медоносных пчел, и *ланолин* — воск овечьей шерсти.

Ланолин представляет собой смесь сложных эфиров спиртов (холестерола, изохолестерола) и высших жирных кислот (миристиновой, пальмитиновой, церитиновой), содержит также свободные высокомолекулярные спирты. По свойствам ланолин близок к кожному жиру человека. Покрывая шерсть животных и перья водоплавающих птиц, листья и плоды растений, воски выполняют *защитную* функцию. Они уменьшают потерю влаги с поверхности, препятствуют проникновению микроорганизмов.

Минеральными восками являются *парафин*, *озокерит* и *церезин* (монтанский воск). Они представляют собой твердые предельные углеводороды. Парафин

4.1. Классификация липидов

используется для моделирования протезов и изготовления базисов, озокерит и церезин — при изготовлении стоматологических смесей с целью повышения их температуры плавления, вязкости и твердости.

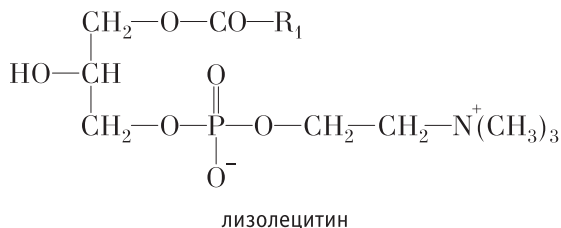
Фосфолипиды

Фосфолипиды представляют собой сложные эфиры многоатомных спиртов с высшими жирными кислотами и фосфорной кислотой. В зависимости от того, какой спирт участвует в образовании фосфолипидов (глицерол или сфингозин), их делят на глицерофосфолипиды и сфингофосфолипиды.

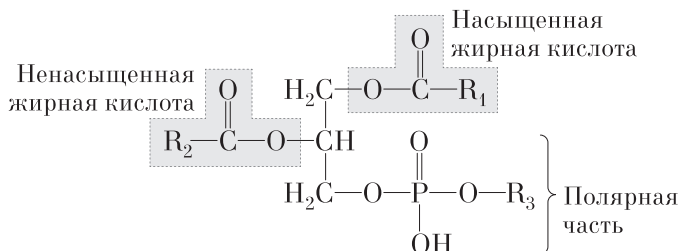
Глицерофосфолипиды. Наиболее распространенными в тканях являются глицерофосфолипиды, которые в качестве структурной основы содержат трехатомный спирт *глицерол*. Жирные кислоты присоединяются к первому и второму атомам глицерола сложноэфирной связью; при этом, как правило, природные глицерофосфолипиды содержат насыщенную жирную кислоту у первого углеродного атома остатка глицерола, а ненасыщенную (моноеновую или полиеновую) — у второго. У третьего углеродного атома глицерола находится остаток фосфорной кислоты, к которому присоединяется в качестве заместителя аминокислоты — серин, или шестиатомный спирт *инозитол*.

Если в третьем положении имеется только фосфорная кислота, глицерофосфолипид называется *фосфатидной кислотой*, а ее остаток — *фосфатидилом*. Соответственно, вместе с заместителями будут фосфатидилхолин (лецитин), фосфатидилсерин, фосфатидинозитол и т.д. (рис. 4.4).

Лизофосфатидилхолин (лизолецитин) образуется из лецитина путем отщепления одного остатка жирной кислоты, регулирует проницаемость стенок сосудов и изменяет проницаемость биологических мембран. Накопление лизофосфатидилхолина в мембране эритроцитов вызывает их лизис. Это наблюдается при укусе змей, так как в змеином яде содержится фосфолипаза А₂. Этот фермент как раз катализирует реакцию отщепления остатка жирной кислоты от второго углеродного атома глицерола.



Фосфатидилэтанолламин (кефалин) содержит этанолламин. Фосфатидилэтанолламины, как и фосфатидилхолины, являются главными липидными компонентами, формирующими билипидный матрикс биологических мембран.



R_3	Название
$-\text{H}$	фосфатидная кислота
$\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{OH} \\ \\ \text{OH} \end{array}$	фосфатидилглицерол
$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	фосфатидилэтаноламин
$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH} \end{array}$	фосфатидилсерин
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	фосфатидилхолин
	фосфатидилинозитол

Рис. 4.4. Структура важнейших глицерофосфолипидов

При этом фосфатидилхолины почти полностью располагаются во внешнем монослое билипидного матрикса, а фосфатидилэтаноламин — во внутреннем.

Фосфатидилсерин является предшественником синтеза фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов и в значительно меньших количествах входит в состав биологических мембран.

В состав *фосфатидилинозитолов* входит шестиатомный циклический спирт инозитол. Они присутствуют в клеточных мембранах животных, высших растений, микроорганизмов. Особенно высоко их содержание в миелиновых оболочках нервных волокон. Продукты расщепления фосфатидилинозит-4,5-дифосфата — диацилглицерол и инозитол-1,4,5-трифосфат — являются внутриклеточными посредниками в реализации действий ряда гормонов.

Фосфатидилглицеролы в качестве заместителя содержат еще одну молекулу глицерола, которая присоединяется к фосфатиду эфирной связью.

4.1. Классификация липидов

Характерной особенностью фосфолипидов является их *дифильность*, т.е. способность растворяться как в воде, так и в липидах. Это обусловлено наличием у фосфолипидов выраженных полярных свойств. При pH 7,0 их фосфатная группа всегда несет отрицательный заряд. Азотсодержащие группировки в составе фосфатидилхолина (холин) и фосфатидилэтаноламина (этаноламин) при pH 7,0 несут положительный заряд. Таким образом, при pH 7,0 эти глицерофосфолипиды представляют собой биполярные цвиттерионы и их суммарный заряд равен нулю (рис. 4.5). Напротив, молекула фосфатидилсерина имеет две отрицательно и одну положительно заряженные группы, следовательно, при pH 7,0 несет суммарный отрицательный заряд. В то же время радикалы жирных кислот в составе фосфолипидов не имеют электрического заряда в водной среде и таким образом обуславливают гидрофобность части молекулы фосфолипида.

За счет дифильности фосфолипиды образуют биполярный слой. На этом основано их участие в построении биологических мембран. Кроме того, фосфолипиды выполняют *детергентную* функцию в кишечнике и желчном пузыре. Они также являются *регуляторами активности* ферментов. К примеру, фосфатидилхолин, фосфатидилсерин изменяют активность ферментов, катализирующих процессы свертывания крови. Фосфолипиды являются источником арахидоновой кислоты — предшественника эйкозаноидов, а также источником вторичных мессенджеров — диацилглицерола и инозитолтрифосфата.

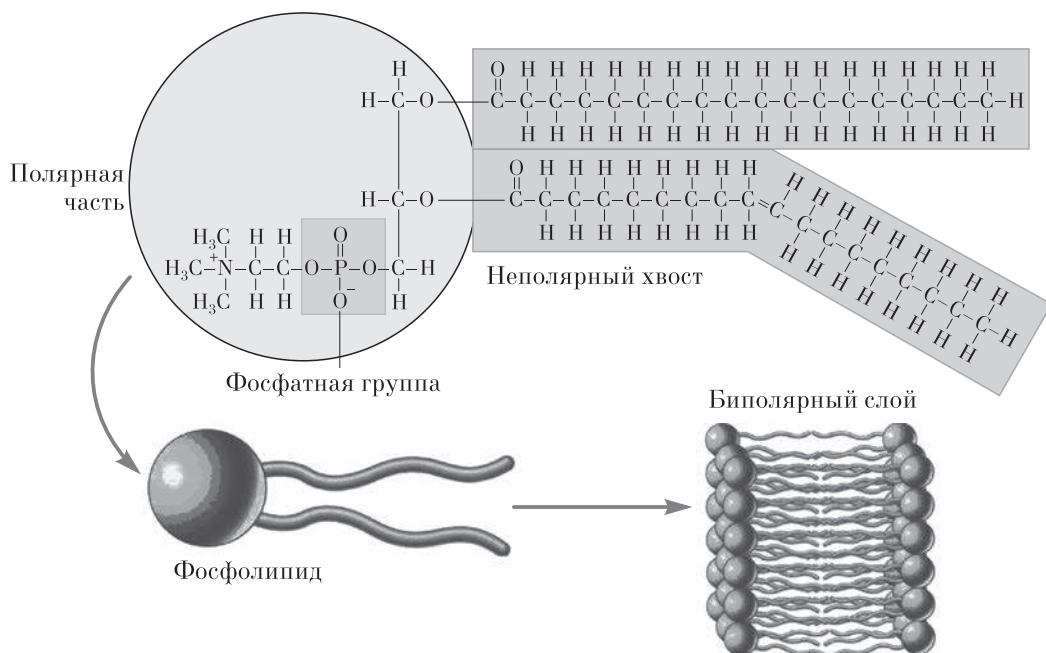


Рис. 4.5. Дифильность фосфатидилхолина

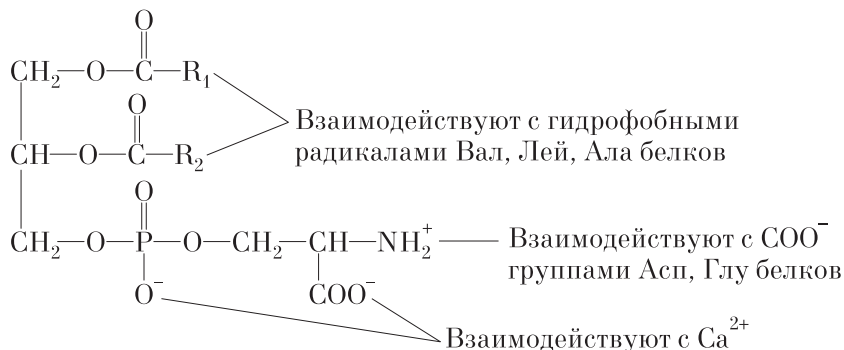


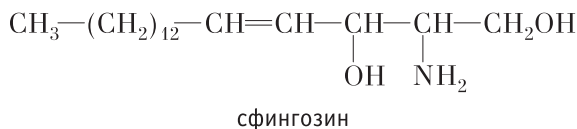
Рис. 4.6. Участие фосфатидилсерина в образовании комплексов с кальцием и белками межклеточного матрикса

Некоторые внеклеточные белки прикрепляются к внешней стороне плазматической мембраны за счет образования ковалентных связей с фосфатидилинозитолом. Примером таких белков могут служить ферменты: щелочная фосфатаза, липопротеинлипаза, холинэстераза.

Фосфолипиды принимают участие в формировании транспортных форм других липидов, а также служат компонентом сурфактанта легких. В случае отсутствия других источников энергии они могут выполнять энергетическую функцию.

Особое значение глицерофосфолипиды имеют в костной ткани. Значительное количество глицерофосфолипидов содержится в остеобластах, активно их синтезирующих, и экскретирующих во внеклеточное пространство. Находящиеся в молекуле глицерофосфолипидов остаток фосфорной кислоты или COO^- -группа заряжены отрицательно и способны присоединять Ca^{2+} . Считается, что именно глицерофосфолипиды играют ведущую роль в начальных этапах минерализации, связывая Ca^{2+} в реализации непрерывного роста кристаллов гидроксиапатитов; в осуществлении функции посредников для комплексования гидроксиапатитов с белковой матрицей. Взаимосвязь глицерофосфолипидов с радикалами аминокислот в белках происходит за счет гидрофобных связей между остатками жирных кислот и алифатическими радикалами аминокислот (Вал, Лей, Иле), а также за счет ионных связей между ионизированными группировками фосфолипидов и ионизированными радикалами аминокислот (Асп, Глу, Лиз) (рис. 4.6).

Сфингофосфолипиды. Структурную основу сфинголипидов составляет двухатомный ненасыщенный аминоспирт — *сфингозин*.



4.1. Классификация липидов

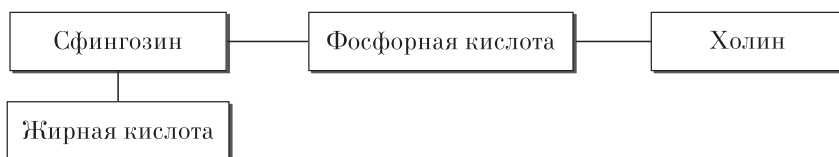


Рис. 4.7. Схема строения сфингомиелина

Сфингозин, соединенный амидной связью с жирнокислотным остатком, образует церамид. Церамиды в незначительных количествах присутствуют в тканях растений и животных. Гораздо чаще они входят в состав сложных липидов — сфингомиелинов, цереброзидов, ганглиозидов и др.

Сфингомиелин широко распространен в организме. В состав сфингомиелина входят сфингозин, остаток жирной кислоты, остаток фосфорной кислоты и холин (рис. 4.7).

Сфингомиелин обнаружен в мембранах растительных и животных клеток. Особенно им богаты клетки нервной ткани, в частности, мозга.

Гликолипиды

Гликолипиды содержат в своем составе углеводный компонент. Они присутствуют во всех тканях животных, растений, а также в некоторых микроорганизмах. Различают две группы гликолипидов: цереброзиды и ганглиозиды. Они широко представлены в нервной ткани и мозге.

В состав молекулы **цереброзида** входит церамид (сфингозин, связанный сложноэфирной связью с остатком жирной кислоты). Углеводная часть цереброзида представлена D-галактозой, которая присоединена к сфингозину (рис. 4.8). В состав цереброзидов других тканей (не нервной) вместо галактозы может входить глюкоза. В составе цереброзидов R—H; в составе сульфолипидов R—SO₃⁻.

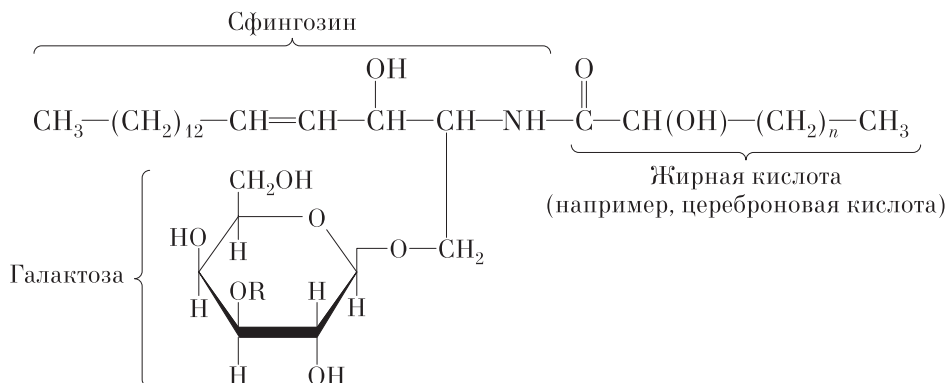


Рис. 4.8. Структура цереброзида



Рис. 4.9. Схема строения ганглиозидов

Обнаруженные в цереброзидах жирные кислоты необычны в том отношении, что они содержат 24 атома углерода. Чаще встречаются нервоновая, цереброновая и лигноцериновая кислоты.

Ганглиозиды имеют более сложное строение (рис. 4.9). В состав молекулы ганглиозидов, помимо церамида, входит олигосахарид, содержащий остатки глюкозы и галактозы, а также один или несколько остатков сиаловой кислоты.

Сиаловые кислоты — это производные аминсахаров. Доминирующими в составе ганглиозидов являются N-ацетилглюкозамин и N-ацетилнейраминная кислота.

Размещаются ганглиозиды на наружной поверхности плазматических мембран, при этом олигосахаридные цепи направлены наружу. Гликолипиды поддерживают структурную прочность мембран и конформацию мембранных белков, опосредуют межклеточное взаимодействие и контакты, взаимодействие клеток с межклеточным матриксом. Например, ганглиозид GM₁ функционирует в качестве рецептора для холерного токсина. Связывание токсина запускает процесс активации аденилатциклазы.

Сульфолипиды, или **сульфатиды**, представляют собой сульфатированные молекулы углеводного компонента в составе цереброзидов. В организме человека они распространены в миелиновой оболочке нервных окончаний. Конкретные функции этих соединений до настоящего времени неизвестны.

4.2. Переваривание и всасывание липидов

С пищей в организм человека ежедневно поступает от 80 до 100 г липидов животного и растительного происхождения. Из общего количества потребляемого жира 90 % составляют триацилглицеролы (ТАГ), покрывая 30–35 % энерготрат. С липидами в организм поступают жирорастворимые витамины А, D, Е, К и полиненасыщенные жирные кислоты, которые не синтезируются в организме.

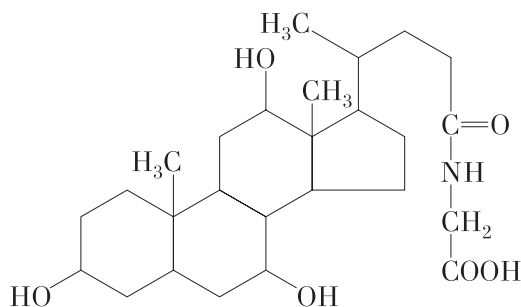
У взрослого человека переваривание липидов происходит, главным образом, в тонком кишечнике. В двенадцатиперстной кишке пища подвергается воздействию желчи и сока поджелудочной железы. Там происходит эмульгирование жира. Оно заключается в дроблении крупных липидных частиц на более мелкие благодаря перистальтике кишечника, углекислому газу и желчным

4.2. Переваривание и всасывание липидов

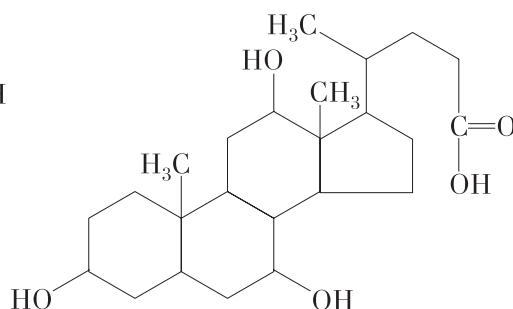
кислотам. Углекислый газ образуется в результате реакции нейтрализации гидрокарбонатов кишечного сока кислым содержимым желудка, поступающим туда с пищей. Перистальтика и углекислый газ способствуют перемешиванию и дроблению жировых капель. Соли желчных кислот оказывают эмульгирующее действие за счет свойства дифильности.

4.2.1. Желчные кислоты

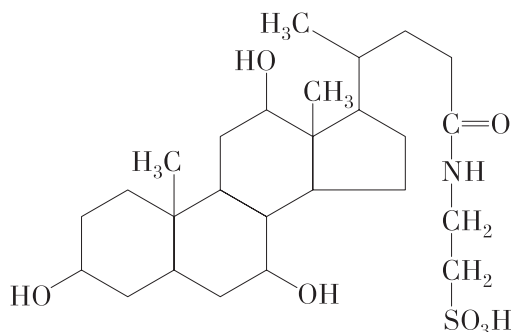
Желчные кислоты образуются из холестерина в печени. Непосредственно в гепатоцитах синтезируются *первичные желчные кислоты*: *холевая* (3,7,12-триоксихолановая) и *хенодезоксихолевая* (3,7-диоксихолановая). Затем карбоксильная группа боковой цепи этих кислот может образовывать амидные связи с аминокислотами — глицином или с таурином. В результате формируются *конъюгированные желчные кислоты*. Это обуславливает их эмульгирующие свойства, так как рН ионной группы боковой цепи ниже (значит, способность к диссоциации выше), чем у исходной карбоксильной группы. Если в качестве исходной желчной кислоты выступает холевая кислота, конъюгированными формами ее являются *гликохолевая* и *таурохолевая* кислоты. Они поступают из печени в двенадцатиперстную кишку с желчью.



гликохолевая кислота



холевая кислота



таурохолевая кислота

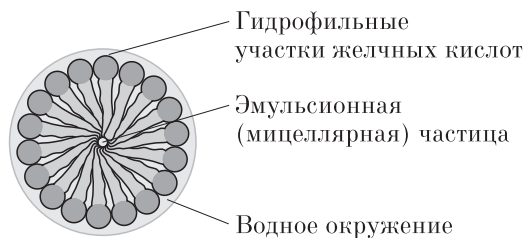


Рис. 4.10. Схематическое изображение эмульсионной частицы

Желчные кислоты обладают **амфифильными свойствами**: гидроксильные группы и боковая цепь гидрофильны, а циклическая структура гидрофобна. Взаимодействуя гидрофобными частями своих молекул с жиром, а гидрофильной (полярной) частью — с водным содержимым кишечника, желчные кислоты снижают поверхностное натяжение на границе раздела липидной и водной фаз, вследствие чего крупные жировые капли разделяются на более мелкие. Желчные кислоты покрывают поверхность эмульсионной частицы в виде монослоя (рис. 4.10). При этом наружу, к водному содержимому, направлены полярные части молекул желчных кислот. В результате поверхность частицы приобретает суммарный электрический заряд, который будет одноименным у всех других эмульсионных частиц. В силу электростатического взаимодействия между отдельными частицами возникает отталкивание.

В кишечнике под действием ферментов бактерий, которые катализируют отщепление ОН-группы от седьмого углеродного атома и аминокислоты, из конъюгированных образуются **вторичные желчные кислоты**, такие как *дезоксихолевая* и *литохолевая*.

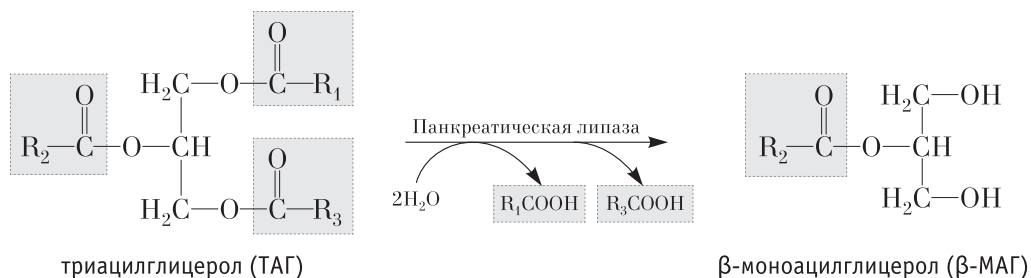
В нижней части тонкого кишечника желчные кислоты подвергаются реабсорбции в систему воротной вены и далее поступают в печень. Оттуда они могут повторно секретироваться с желчью в кишечник и участвовать в процессах переваривания и всасывания. Такая **кишечно-печеночная циркуляция** желчных кислот может осуществляться до 10 и более раз в сутки. За сутки из печени выделяется 15–30 г желчных кислот и только 0,5 г их выводится из организма с калом.

4.2.2. Ферментативный гидролиз липидов в кишечнике

Основная масса пищевых триацилглицеролов расщепляется в тонком кишечнике при участии *панкреатической липазы* — гликопротеина, гидролизующего преимущественно эмульгированные ТАГ в щелочной среде (рН 7–8). Панкреатическая липаза выделяется в двенадцатиперстную кишку в виде неактивного профермента — *пролипазы*. Активация пролипазы происходит под действием желчных кислот и *колипазы*, небольшого белка (М.М. ~ 10 а.е.м.), поступающего в кишечник в составе сока поджелудочной железы. Колипаза

4.2. Переваривание и всасывание липидов

связывается с С-концом некаталитического участка молекулы панкреатической липазы. Происходящее вслед за этим изменение конформации обуславливает прикрепление ферментативного комплекса к липидной поверхности эмульсионных частиц, и активная липаза гидролизует эфирные связи ТАГ.



Сначала гидролиз ТАГ происходит в положении 1 и 3, что последовательно приводит к образованию диацилглицеролов, а затем 2-моноацилглицеролов (2-МАГ). Меньшая часть (40 %) МАГ подвергается дальнейшему гидролизу до глицерола и жирные кислоты (ЖК). Для остальной части процесс ферментативного гидролиза завершается на этапе образования 2-МАГ.

Нарушения, вызванные снижением поступления панкреатической липазы (при панкреатите) или желчи при недостаточном желчеобразовании или закупорке желчных протоков (желчнокаменная болезнь), снижают скорость гидролиза липидов и сопровождаются *стеатореей* — появлением нерасщепленных жиров в составе фекалий. При этом снижается всасывание полиеновых жирных кислот и жирорастворимых витаминов, что приводит к развитию гиповитаминозов.

Глицерофосфолипиды расщепляются под действием фосфолипаз. В частности, в поджелудочной железе синтезируются *профосфолипазы* A₁, A₂, C и D, которые, активируясь трипсином, катализируют расщепление молекул глицерофосфолипидов. Фосфолипаза A₁ отщепляет остаток жирной кислоты у C₁-атома глицерола. Фосфолипаза A₂ расщепляет β-сложноэфирную связь, фосфолипаза C отщепляет «полярную головку» вместе с остатком фосфорной кислоты. Фосфолипаза D катализирует отщепление от фосфолипида полярной группы (азотистого основания или спирта) с образованием продукта — фосфатидной кислоты. Специфичность действия фосфолипаз показана на рис. 4.11.

Конечными продуктами гидролиза фосфолипидов являются жирные кислоты, глицерол, неорганический фосфат, азотсодержащие соединения (холин, этаноламин, серин).

Гидролиз эфиров холестерина. Поступающие с пищей *эфиры холестерина* расщепляются до свободного холестерина и жирных кислот под дейст-

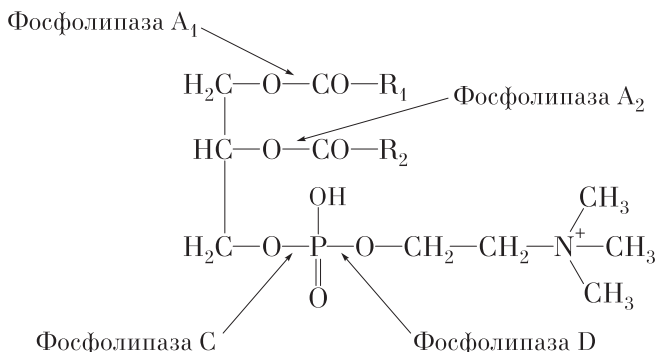


Рис. 4.11. Специфичность действия ферментов, расщепляющих фосфолипиды

вием *холестеролэстеразы* — фермента, который синтезируется в поджелудочной железе и секретируется в кишечник. Активируется фермент желчными кислотами.

4.2.3. Мицеллообразование и всасывание продуктов гидролиза липидов в желудочно-кишечном тракте

Всасывание продуктов гидролиза происходит в проксимальной части тонкой кишки. Триацилглицеролы, содержащие коротко- и среднецепочечные жирные кислоты (C₆—C₁₀), могут подвергаться всасыванию без предварительного расщепления ферментами. Из клеток слизистой тонкого кишечника они попадают сразу в кровоток системы воротной вены.

Описанный механизм принципиально отличается от всасывания и поступления в кровь основной массы липидов пищи, содержащих ЖК с количеством углеродных атомов более 10. Такие ЖК, МАГ, холестерол всасываются при участии конъюгированных желчных кислот, формирующих мельчайшие частицы — *мицеллы*.

Структура мицелл такова, что их гидрофобное ядро, включающее продукты гидролиза (ЖК, МАГ) и жирорастворимые витамины, оказывается окруженным снаружи гидрофильной оболочкой из желчных кислот и фосфолипидов.

Мицеллы примерно в 100 раз меньше эмульсионных частиц. В составе мицелл ЖК и МАГ переносятся от места гидролиза жиров к всасывающей поверхности кишечного эпителия. Большая часть мицелл путем диффузии и пиноцитоза проникает в энтероциты, где подвергается распаду. Другая часть мицелл всасывается через стенку тонкого кишечника после предварительного (пристеночного) разрушения.

4.3. Ресинтез липидов в стенке кишечника

4.3. Ресинтез липидов в стенке кишечника

Всосавшиеся продукты расщепления липидов в клетках слизистой оболочки кишечника подвергаются процессам ресинтеза. Ресинтезу липидов предшествует активация жирных кислот, т.е. присоединение к остатку ЖК кофермента А с образованием ацил-КоА.

Катализирует реакцию фермент *ацил-КоА-синтетаза*:



В клетках слизистой тонкого кишечника функционируют два пути ресинтеза триацилглицеролов: глицеролфосфатный и моноацилглицерольный (см. рис. 4.12).

Глицеролфосфатный путь. Предшественниками для синтеза ТАГ являются глицерол-3-фосфат и активированные жирные кислоты. Глицерол-3-фосфат образуется в результате фосфорилирования глицерола при действии фермента глицеролкиназы. *Две реакции* ацилирования глицерол-3-фосфата с помощью фермента ацилтрансферазы приводят к образованию фосфатидной кислоты. В результате последующего гидролиза от фосфатидной кислоты отщепляется остаток фосфорной кислоты и образуется диацилглицерол (ДАГ). *Третья реакция* ацилирования посредством ацилтрансферазы приводит к образованию ТАГ. У первого углеродного атома остатка глицерола как правило присоединен остаток насыщенной жирной кислоты, чаще пальмитата, а у второго и третьего углеродных атомов — мононенасыщенных жирных кислот, чаще олеата.

Моноацилглицерольный путь обусловлен поступлением в клетки слизистой тонкого кишечника при всасывании большого количества 2-МАГ. Две реакции ацилирования 2-МАГ с помощью фермента ацилтрансферазы приводят к образованию ТАГ.

Синтез глицерофосфолипидов. Первые стадии синтеза фосфолипидов совпадают с синтезом триацилглицеролов (до образования диацилглицерола). На уровне ресинтеза фосфатидилхолина происходит фосфорилирование холина с участием АТФ и последующий перенос фосфорилхолина на ЦДФ с образованием ЦДФ-холина. Последний взаимодействует с ДАГ с образованием фосфатидилхолина (см. рис. 4.12).

Синтез эфиров холестерина. В клетках слизистой оболочки тонкого кишечника всосавшиеся молекулы холестерина также превращаются в эфиры путем взаимодействия с ацил-КоА. Эту реакцию катализируют *холестеролацилтрансферазы* (АХАТ) (рис. 4.13). От активности этого фермента зависит скорость поступления экзогенного холестерина в организм.

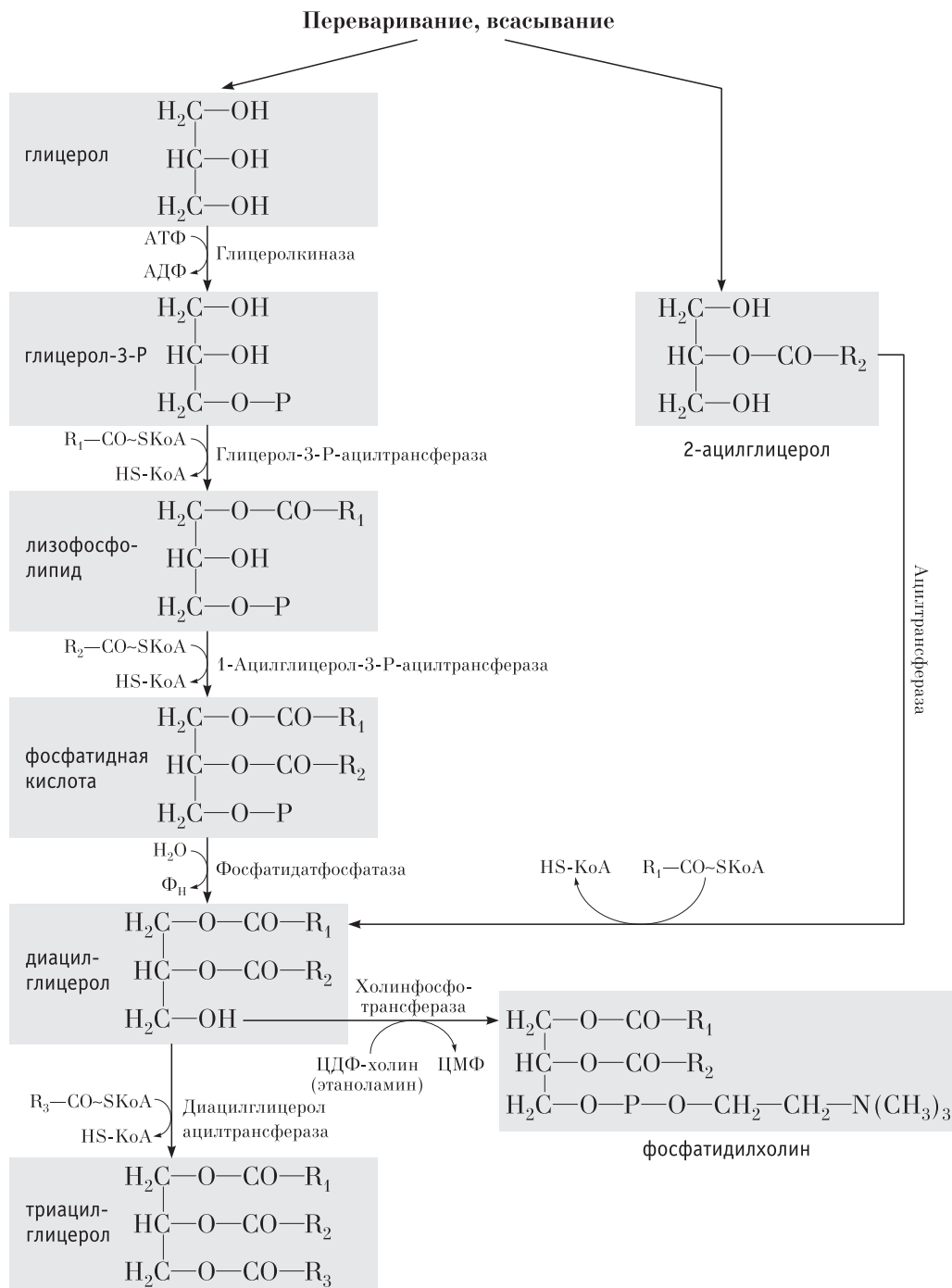


Рис. 4.12. Синтез липидов в энтероцитах

4.4. Липопротеины — транспортные формы липидов

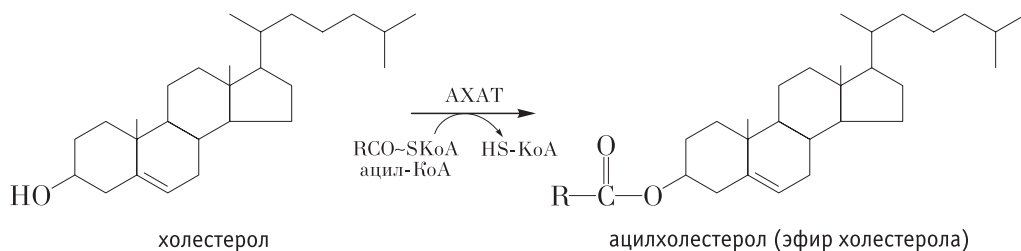


Рис. 4.13. Синтез эфира холестерина

4.4. Липопротеины — транспортные формы липидов

Новосинтезированные триацилглицеролы, фосфолипиды и другие всосавшиеся липиды покидают энтероциты, попадая сначала в лимфу, а потом — в кровь. В связи с тем что большинство липидов, как уже отмечалось, нерастворимо в водной среде, транспорт по крови осуществляется в составе специальных частиц — *липопротеинов*.

4.4.1. Структура липопротеинов

Липопротеины представляют собой сферические частицы, диаметр которых уменьшается с увеличением плотности. Липопротеины состоят из ядра, включающего гидрофобные липиды (ТАГ и эфиры холестерина), а на поверхности, контактирующей с плазмой крови, находятся амфифильные липиды (фосфолипиды, свободный холестерол) и белки (рис. 4.14).

Белковые компоненты (*апопротеины*) являются важнейшей составной частью липопротеинов. Они необходимы для растворения, стабилизации и транспорта липидов. Апопротеины выполняют структурную функцию, связываются с рецепторами в печени и других тканях, являются кофакторами ферментов, участвующих в метаболизме липопротеинов.

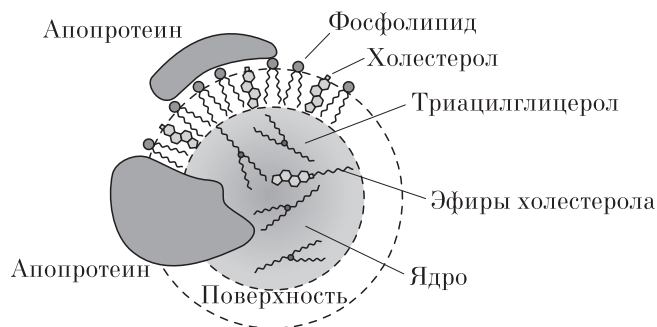


Рис. 4.14. Структура
липопротеинов

4.4.2. Транспортная форма экзогенных липидов (хиломикроны)

Хиломикроны (ХМ) являются транспортной формой липидов из кишечника к другим органам и тканям. Максимальная концентрация ХМ в плазме крови отмечается после приема пищи, содержащей липиды, через 4–6 ч они практически исчезают из крови. В крови, взятой натощак, ХМ в норме почти нет.

Хиломикроны формируются в клетках слизистой кишечника из ресинтезированных триацилглицеролов, эфиров холестерина и фосфолипидов. Триацилглицеролам принадлежит 95 % всей массы хиломикронов. Их белковым компонентом является апоВ-48. В состав одной частицы ХМ входит одна молекула апоВ-48.

Хиломикроны секретируются с базолатеральной поверхности клеток кишечника в лимфу, а оттуда, через грудной лимфатический проток, попадают в систему кровообращения. В крови они получают от ЛПВП апоС-II, С-III и апоЕ (рис. 4.15).

Попадая в систему кровообращения, хиломикроны быстро подвергаются катаболизму под действием *липопротеинлипазы (ЛП-липаза)*. Этот фермент образуется в клетках многих тканей, среди которых наибольшее значение имеют жировая ткань, скелетная и сердечная мышцы, молочная железа во время лактации. Однако функционирует ЛП-липаза на поверхности эндотелиальных клеток, выстилающих стенку сосудов.

Липопротеинлипаза синтезируется в неактивной форме в эндоплазматическом ретикулуле. Оттуда она транспортируется в апикальную часть эндотелио-

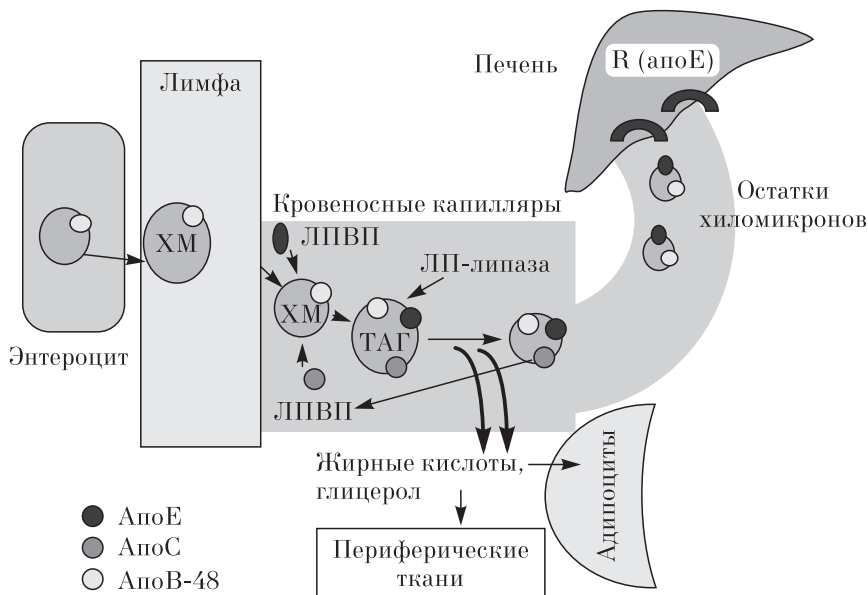


Рис. 4.15. Метаболизм хиломикронов

4.4. Липопротеины — транспортные формы липидов

цитов. Там же она активируется в результате связывания апоС-II с аллостерическим центром фермента. Данный белок находится на поверхности ХМ. Активная ЛП-липаза катализирует гидролиз триацилглицеролов в составе ХМ до глицерола и жирных кислот.

Высвобождающиеся в процессе расщепления жирные кислоты связываются с альбуминами плазмы крови и транспортируются к клеткам органов и тканей. Клетки поглощают ЖК и используют их в качестве энергетического топлива или строительного материала для синтеза собственных липидов. Основные потребители жирных кислот — жировая и мышечная ткань.

В жировой ткани основным фактором, увеличивающим синтез ЛП-липазы, является *инсулин*. Тем самым *после приема пищи* обеспечивается поступление жирных кислот для синтеза и хранения в виде ТАГ в жировой ткани. АпоС-III и избыток свободных жирных кислот в плазме крови тормозят активность ЛП-липазы. В мышцах ЛП-липаза участвует в поставке жирных кислот для использования их в качестве источника энергии в периоды *между приемами пищи*.

Структуры, которые образуются из ХМ, после удаления основной части ТАГ, называют *остатками хиломикронов* или *ремнантами*. Они удаляются из кровотока в результате взаимодействия апоЕ со своими рецепторами, расположенными в мембране гепатоцитов, и последующего эндоцитоза. В клетках печени эндосомы сливаются с лизосомами, и компоненты остатков ХМ разрушаются лизосомными ферментами.

Таким образом, в процессе своего катаболизма хиломикроны поставляют жирные кислоты и глицерол клеткам периферических тканей, в то время как холестерол пищи попадает в печень.

4.4.3. Транспортные формы эндогенных липидов (ЛПОНП, ЛПВП, ЛППП, ЛПНП)

В печени интенсивно протекает синтез липидов. Транспорт новосинтезированных липидов из печени в кровь, а оттуда — к органам и тканям осуществляют два других типа липопротеиновых частиц, формирующихся в печени — *липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП)* и *липопротеины высокой плотности (ЛПВП)*. Принципы устройства этих частиц аналогичны таковым у хиломикронов. Разница состоит в том, что размеры ЛПОНП и тем более ЛПВП меньше, чем у хиломикронов. Доля белкового компонента в их составе выше (10,4 % и 48,8 % от массы частицы соответственно), а содержание триацилглицеролов — ниже (31,4 % и 1,8 % от массы соответственно). Вследствие этого плотность ЛПОНП и ЛПВП выше, чем у хиломикронов.

Главным липидным компонентом ЛПОНП являются триацилглицеролы, *синтезированные в клетках печени*. Поэтому они называются *эндогенными*. Основным интегральным белком в составе ЛПОНП — апоВ-100. Функцией липопротеинов, содержащих апоВ-100, является транспорт ТАГ из печени к периферическим тканям, особенно жировой и мышечной.

Сборка липопротеинов, содержащих апоВ-100, идет в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов. Каждая частица ЛПОНП содержит один апоВ-100¹. Важным свойством апоВ-100 является его способность контролировать прохождение частицы ЛПОНП через мембрану эндоплазматического ретикулума. Для образования ЛПОНП в гепатоцитах требуются апоВ-100, эфиры холестерина, ТАГ, фосфолипиды. Триацилглицеролы для ЛПОНП синтезируются глицерофосфатным путем (см. выше). Для этого ЖК поступают в гепатоциты из плазмы крови или синтезируются *de novo* в печени. Уровень синтеза ЛПОНП зависит от наличия холестерина, особенно от образования эфиров холестерина под действием АХАТ.

Жирные кислоты, всосавшиеся в кишечнике или синтезированные *de novo*, влияют на уровень образования ТАГ и их использования для сборки липопротеинов. Наряду с ядерной частью липопротеинов, нарастает и поверхностный монослой, так как параллельно триацилглицеролам увеличивается синтез фосфолипидов.

Чрезвычайно важную роль в биосинтезе фосфолипидов играют *липотропные факторы*. К ним относятся полиненасыщенные жирные кислоты, инозитол, серин, холин, этаноламин, метионин, витамины В₁₂, фолиевая кислота. При недостатке в организме липотропных факторов развивается жировая инфильтрация печени, когда клетки печеночной ткани переполняются ТАГ в результате блокирования секреции ЛПОНП.

Катаболизм ЛПОНП. ЛПОНП секретируются в просвет капилляров печени. В крови ЛПОНП созревают, подобно хиломикронам, и получают с ЛПВП дополнительные белки: апоС-II, апоС-III и апоЕ. Зрелые ЛПОНП подвергаются в кровотоке действию ЛП-липазы, которая активируется и гидролизует содержащиеся в их составе ТАГ до глицерола и жирных кислот. В последующем они поступают в клетки тканей. В результате действия ЛП-липазы, ЛПОНП прямо в кровотоке превращаются в *липопротеины промежуточной плотности (ЛППП)*.

Катаболизм ЛППП происходит с помощью другого липолитического фермента — *печеночной липазы (ПЛ)*. Этот фермент синтезируется в гепатоцитах, но активным становится на поверхности эндотелиальных клеток печеночных капилляров, гидролизуя ТАГ в составе ЛППП. В отличие от липопротеинлипазы, печеночная липаза нечувствительна к приему пищи и инсулину.

Большая часть ЛППП (около 75 %) поглощается печенью с помощью эндцитоза, опосредованного рецепторами к апоЕ и апоВ-100. Оставшиеся ЛППП под действием печеночной липазы превращаются в *липопротеины низкой плотности (ЛПНП)*.

Метаболизм ЛПНП. Основными компонентами этих частиц являются холестерол и его эфиры (~60 %). В процессе превращения ЛППП в ЛПНП,

¹ Входящий в состав хиломикрона апоВ-48, получил такое название, что в его молекуле содержится 48 % аминокислотного состава апоВ-100.

4.4. Липопротеины — транспортные формы липидов

вследствие расщепления значительной части ТАГ и снижения доли гидрофобных соединений в их составе, липопротеиновые частицы теряют свои белки и единственным белковым компонентом становится апоВ-100. Ему принадлежит важная роль в доставке ЛПНП в клетку путем взаимодействия с рецепторами к апоВ-100. Они находятся в ворсинчатых углублениях на поверхности клеток. В каждой клетке их количество колеблется от 15 тыс. до 70 тыс.

Связанная с рецептором частица ЛПНП подвергается поглощению путем эндоцитоза (рис. 4.16). Внутри образовавшихся эндосом ЛПНП отщепляются от рецепторов. В дальнейшем ЛПНП поступают в лизосомы, где разрушаются. В лизосомах происходит гидролиз эфиров холестерина, находившихся в составе ЛПНП. В результате образуется *свободный* холестерол или его окисленные формы. Свободный холестерол служит структурным компонентом клеточных мембран, субстратом для синтеза стероидных гормонов, витамина D.

Поступление в клетку холестерина из кровотока оказывает регуляторное влияние, направленное на защиту клетки от чрезмерного накопления холестерина (рис. 4.17). Во-первых, уменьшается активность 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктазы (ГОМГ-КоА-редуктазы) — ключевого фермента внутриклеточного биосинтеза холестерина (см. п. 4.6 «Биосинтез холестерина и его

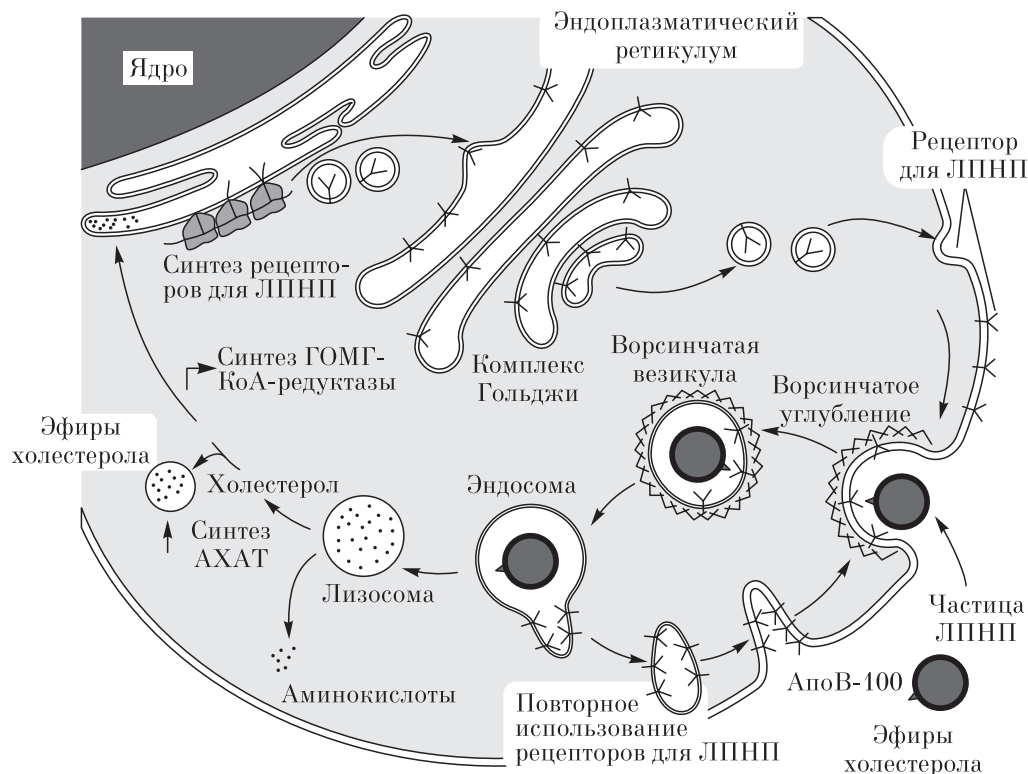


Рис. 4.16. Схема поступления ЛПНП в клетки

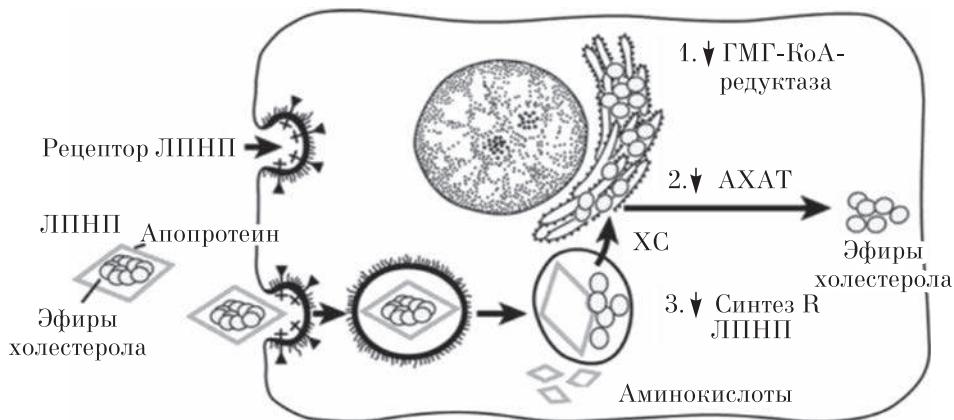


Рис. 4.17. Регуляторное влияние холестерина, поступающего в клетку в составе ЛПНП

регуляция»). Во-вторых, уменьшается синтез новых рецепторов к ЛПНП, что снижает поступление в клетку этих липопротеиновых частиц. В-третьих, стеролы активируют фермент АХАТ, который катализирует этерификацию холестерина. Это позволяет клеткам депонировать избыток холестерина в форме гидрофобных эфиров холестерина.

4.4.4. ЛПВП и обратный транспорт холестерина из периферических тканей к печени

Липопротеины высокой плотности (ЛПВП) — это целый класс липопротеиновых частиц, которые существенно отличаются друг от друга по липидному и апопротеиновому составу и размерам.

Синтезируются ЛПВП в клетках печени. Оттуда они секретируются в кровоток в «незрелом» виде, т.е. имеют дисковидную форму. Такая форма обусловлена очень малым содержанием в ядре нейтральных липидов и эфиров холестерина. Вместе с тем, снаружи частицы снабжены мощной оболочкой, состоящей из фосфолипидов, свободного холестерина и апопротеинов (апоЕ, А-I, А-II, С-II, D).

Роль ЛПВП в организме определяется их участием в обратном транспорте холестерина. Иначе говоря, эти липопротеиновые частицы удаляют избыток *свободного* (неэтерифицированного) холестерина с поверхности клеток. Переход холестерина из клеток на ЛПВП обусловлен разницей его концентрации на поверхности клеточных мембран и липопротеиновых частиц. Следовательно, он продолжается до тех пор, пока не выровняется концентрация холестерина между донором (поверхность мембран) и акцептором (ЛПВП). Поддержание градиента концентрации обеспечивается постоянным превращением свободного холестерина, поступающего на ЛПВП, в эфиры холестерина.

4.4. Липопротеины — транспортные формы липидов

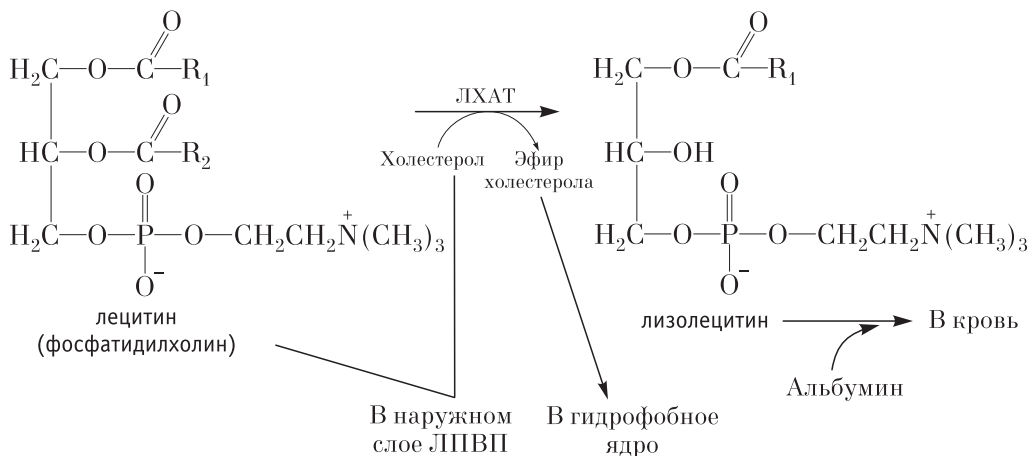


Рис. 4.18. Реакция, катализируемая лецитинхолестеролацилтрансферазой (ЛХАТ)

Образование эфиров холестерина на ЛПВП является важнейшим компонентом системы разгрузки клеток от избытка холестерина. Этот процесс происходит с помощью фермента *лецитинхолестеролацилтрансферазы* (ЛХАТ) (рис. 4.18).

Фермент секретируется в плазму крови из печени. На поверхности ЛПВП в плазме крови он катализирует реакцию между фосфатидилхолином (лецитином) и свободным холестерином. Активатором ЛХАТ является апоА-I. При этом образуются эфир холестерина и лизолецитин. Сложноэфирная связь в эфире холестерина образуется за счет присоединения ацильной группы, отщепляемой от 2-го углеродного атома остатка глицерола в составе лецитина, к гидроксильной группе у 3-го углеродного атома холестерина.

Образующиеся неполярные эфиры холестерина перемещаются внутрь частицы, освобождая место на поверхности для новых молекул свободного холестерина. В результате гидрофобное ядро увеличивается и частица приобретает сферическую форму (рис. 4.19).

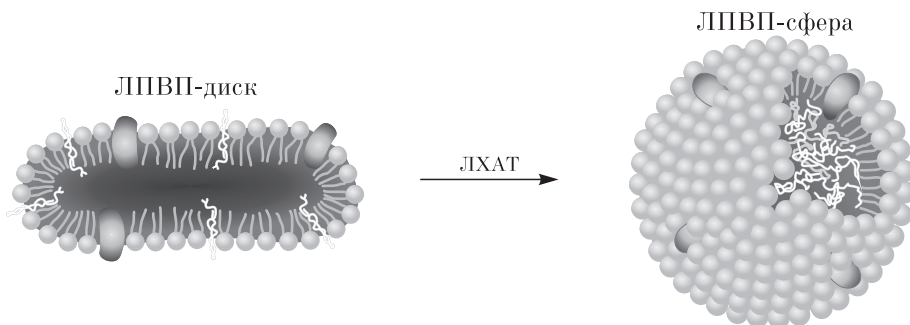


Рис. 4.19. Схематическое изображение процесса «созревания» ЛПВП

В кровотоке эфиры холестерина транспортируются из ЛПВП на хиломикроны, ЛПОНП, ЛППП. Дело в том, что снижение количества триацилглицеролов в результате их липолитического расщепления в составе ХМ, ЛПОНП и ЛППП, изменяет баланс гидрофобного и гидрофильного компонентов в сторону увеличения гидрофильного. Для восстановления равновесия на обломки хиломикронов ЛППП и ЛПНП перемещаются гидрофобные эфиры холестерина. Транспорт осуществляет специальный белок — апоD, который находится в составе ЛПВП.

С другой стороны, «зрелые», обогащенные эфирами холестерина, ЛПВП удаляются из кровотока путем связывания с рецепторами для апоЕ на поверхности мембраны гепатоцитов с последующими эндоцитозом и катаболизмом. Высвобождающиеся эфиры холестерина превращаются в желчные кислоты, которые экскретируются с желчью. Кроме того, часть холестерина физически растворяется в желчи и удаляется из организма.

4.4.5. Роль липопротеинов плазмы крови в развитии атеросклероза

Атеросклероз — широко распространенное хроническое заболевание, при котором происходит аккумуляция холестерина в стенках сосудов. В центрах накопления холестерина формируются структуры — атеромы. Это приводит к сужению просвета сосуда и затруднению тока крови.

Накопление холестерина в сосудистой стенке происходит вследствие дисбаланса между его поступлением в интиму сосудов и выходом. Для развития атеросклероза имеет значение появление в большом количестве модифицированных ЛПНП (гликозилированных, окисленных). Измененные ЛПНП захватываются специальными «мусорными» рецепторами макрофагов и эндотелиоцитов. Поскольку сдерживающие механизмы регуляции отсутствуют, клетки переполняются липидами и превращаются в так называемые пенистые клетки. Большая часть этих клеток погибает, при этом в интиму поступают накопленные в них эфиры холестерина и свободный холестерол, хемотаксические факторы, такие как моноцитарный хемотаксический белок 1, колониестимулирующий фактор макрофагов, вызывающие миграцию гладкомышечных клеток и моноцитов в интиму. В этот и последующий периоды начинают усиленно синтезироваться соединительнотканые белки (коллаген, эластин), из которых формируется фиброзная ткань и образуется *фиброзная бляшка* — основной элемент атеросклеротического поражения артерий. Фиброзные бляшки изъязвляются, на них адсорбируется фосфат кальция (т.е. происходит обызвествление бляшек). Здесь образуются тромбы, перекрывающие просвет сосуда, что приводит к острому нарушению кровообращения в данном участке. Осложнением или последствием нарушения кровообращения вследствие атеросклероза являются инфаркт миокарда, инсульт или гангрена.

Низкий уровень ЛПВП способствует развитию атеросклероза, а высокий — препятствует. При этом механизм атерогенного действия ЛПВП не ограничи-

4.5. Ацетил-КоА — центральный метаболит в обмене липидов

ваеется обратным транспортом холестерина. Он заключается в антиоксидантном эффекте, способности тормозить экспрессию адгезивных молекул на поверхности эндотелия и миграцию моноцитов в интиму сосудов. Кроме того, ЛПВП стимулируют образование простаглицлина и задерживают агрегацию тромбоцитов, проникновение ЛПНП в интиму артерий и пролиферацию клеток артериальной стенки.

4.5. Ацетил-КоА — центральный метаболит в обмене липидов

Одним из ключевых метаболитов липидного обмена является *ацетил-КоА* (рис. 4.20). Это соединение образуется в результате окислительного расщепления высших жирных кислот.

Посредством ацетил-КоА атомы углерода жирных кислот могут быть использованы для синтеза холестерина или полиизопреноидов. В гепатоцитах ацетил-КоА используется в синтезе кетонowych тел — гидрофильных «топливных» молекул, легко транспортируемых отсюда в клетки различных органов и тканей. Ацетил-КоА — участник метаболических превращений углеродных скелетов аминокислот и моносахаридов в жирные кислоты, используемые в дальнейшем для синтеза сложных липидов.

Таким образом, обмен липидов оказывается тесно связанным с обменом соединений других классов, а метаболические пути обмена липидов различных классов являются частью биохимических превращений в организме.

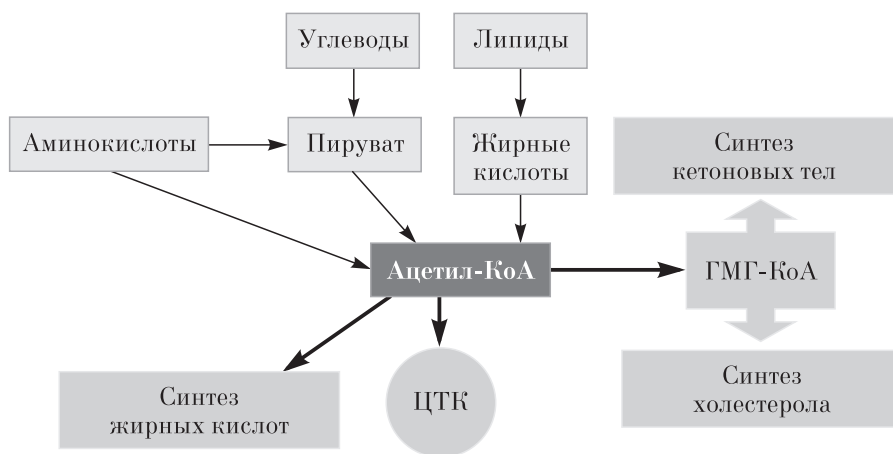


Рис. 4.20. Схема образования и использования ацетил-КоА в клетках:
ГМГ-КоА — β -гидроксиг- β -метилглутарил-КоА

4.6. Биосинтез холестерина и его регуляция

Холестерол — основной стероид организма животных. Общее содержание холестерина в организме человека составляет около 140 г. Наиболее богаты холестерином мозг, печень, кожа и эндокринные железы животных. В системе кровообращения холестерол представлен смесью эфиров холестерина и свободного холестерина. Холестерол поступает в организм с животной пищей (яйца, сливочное масло, сыр, мясо, креветки), а также синтезируется *de novo*. Около 1,0 г его ежедневно выводится с калом в виде желчных кислот, холестерина желчи, продуктов катаболизма стероидных гормонов.

Биосинтез холестерина — сложный многостадийный процесс, происходящий во всех клетках, имеющих ядро. В печени синтезируется приблизительно 80 % холестерина, в тонком кишечнике — 15 %, в коже — 5 %.

Биосинтез холестерина протекает в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР) в несколько этапов.

I этап — конденсация (рис. 4.21). Включает образование из ацетил-КоА 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА (ГМГ-КоА) и превращение ГМГ-КоА в мевалонат. В результате двух последовательно протекающих реакций (тиолазной и гидроксиметилглутарил-КоА-синтазной) из трех молекул ацетил-КоА образуется одна молекула 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА. Реакция превращения ГМГ-КоА в мевалонат катализируется ключевым ферментом *ГМГ-КоА-редуктазой*. Это первая, практически необратимая реакция в цепи биосинтеза холестерина. Процесс восстановления требует затраты двух молекул НАДФН·Н⁺. Источником НАДФН·Н⁺ является пентозофосфатный путь окисления глюкозы.

II этап — образование изопреновых единиц (рис. 4.22). Этот этап включает превращение мевалоната в фарнезилпирофосфат и далее в сквален. Образовавшийся на I этапе мевалонат подвергается фосфорилированию, декарбоксилированию и дегидратации, превращаясь в изопентенилпирофосфат — *ИППФ* (C₅).

Изопентенилпирофосфат изомеризуется в диметилаллилпирофосфат (C₅). Взаимодействие ИППФ с молекулой диметилаллилпирофосфата приводит к образованию геранилпирофосфата — *ГПФ* (C₁₀). При этом происходит миграция двойной связи и потеря одной молекулы пирофосфата. К геранилпирофосфату (C₁₀) присоединяется еще одна молекула ИППФ (C₅), в результате образуется фарнезилпирофосфат — *ФПФ* (C₁₅) и освобождается пирофосфат, который гидролизруется пирофосфатазой, что обеспечивает необратимость биосинтетического процесса.

Две молекулы фарнезилпирофосфата, соединяясь и теряя каждая свой пирофосфат, образуют *сквален*, содержащий 30 атомов углерода (C₃₀). Источником атомов водорода в этой реакции является НАДФН·Н⁺, образовавшийся в пентозофосфатном пути обмена глюкозы.

4.6. Биосинтез холестерина и его регуляция

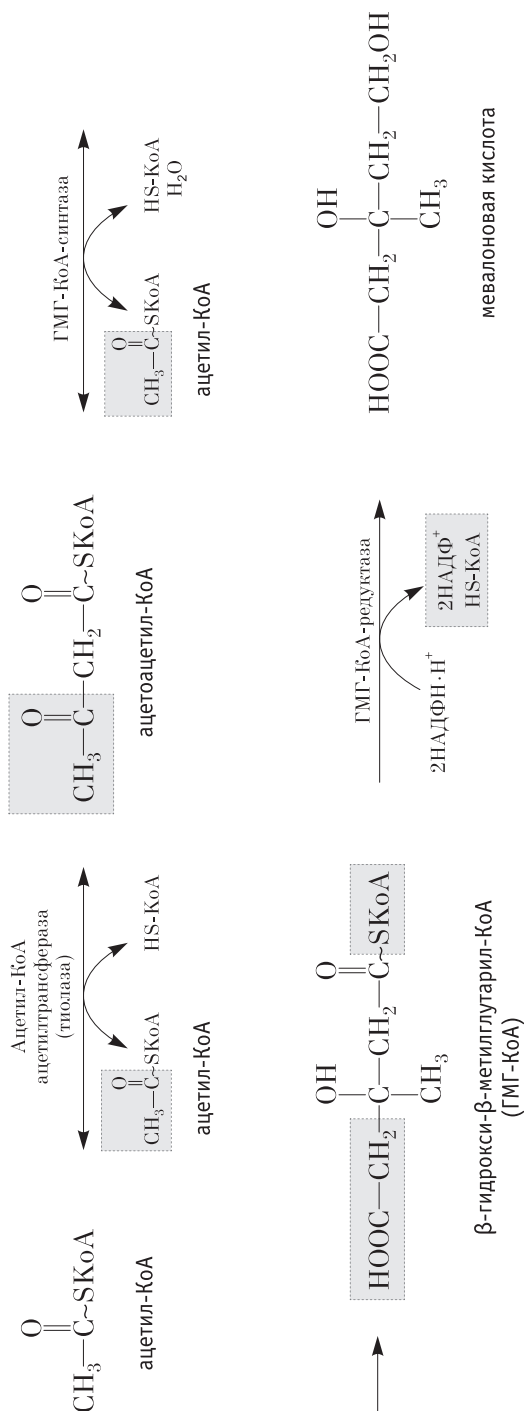


Рис. 4.21. Схема синтеза мевалоната

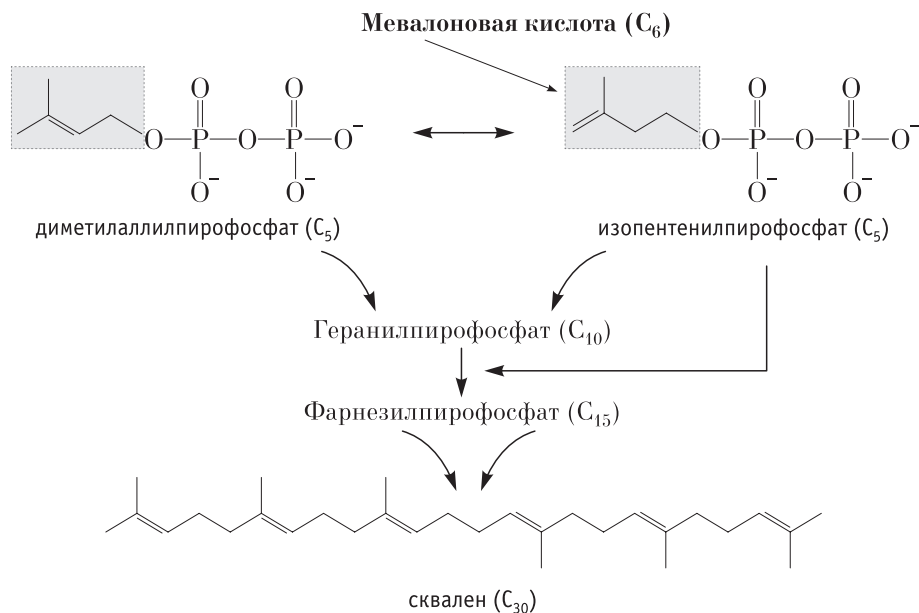


Рис. 4.22. Образование из мевалоната изопреновых соединений

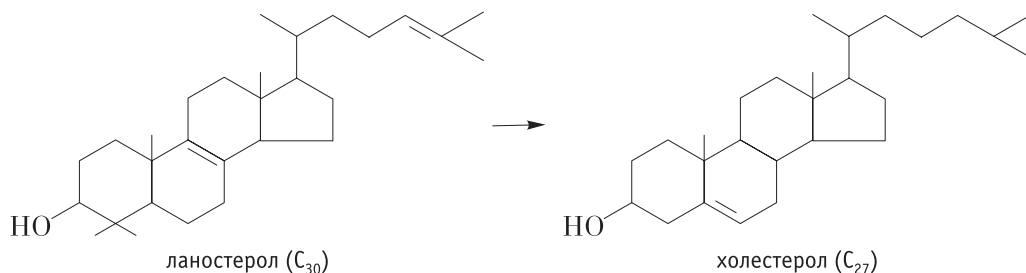
Сквален — непредельный углеводород, состоящий из шести изопреноидных единиц. Молекула сквалена легко принимает пространственную конфигурацию, близкую к пространственной конфигурации стеролов.

Промежуточные продукты II этапа биосинтеза холестерина (ГПФ, ФПФ) могут использоваться для синтеза долихола, коэнзима Q, боковой цепи гема *a*, а также для посттрансляционной модификации белков.

III этап — циклизация сквалена в ланостерол. На этом этапе ланостерол-синтаза катализирует замыкание шести- и пятичленных циклов.

IV этап — превращение ланостерола в холестерол. Ланостерол превращается в мембранах ЭПР в холестерол.

Преобразование ланостерола — многоступенчатый процесс, в ходе которого три метильные группы в молекуле ланостерола окисляются до карбоксильных и затем удаляются декарбоксилированием. В результате перемещения и восстановления двойной связи образуется холестерол (C_{27}).



4.7. Синтез и мобилизация триацилглицеролов

Регуляция биосинтеза холестерина. Синтез холестерина регулируется несколькими механизмами. Регуляция осуществляется на этапе превращения 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА в мевалоновую кислоту. Активность фермента ГМГ-КоА-редуктазы, катализирующего эту реакцию, ингибируется конечным продуктом — холестерином. Это помогает поддерживать внутриклеточное содержание холестерина постоянным.

Активность ГМГ-КоА редуктазы регулируется гормонами посредством *фосфорилирования* и *дефосфорилирования* (ковалентная модификация структуры фермента). Инсулин стимулирует дефосфорилирование, а глюкагон — фосфорилирование ГМГ-КоА-редуктазы. Фосфорилированная форма фермента неактивна, а дефосфорилированная, наоборот, активна.

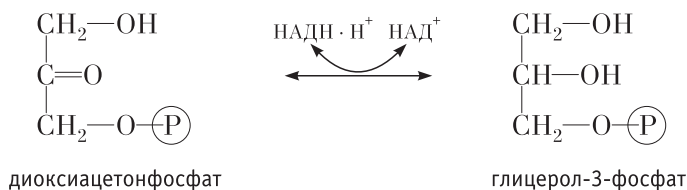
Одним из подходов к лечению атеросклероза путем снижения концентрации холестерина в крови является применение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы — статинов (ловастатина, аторвастатина и др.).

4.7. Синтез и мобилизация триацилглицеролов

Доля триацилглицеролов (ТАГ) составляет 90 % от общего количества липидов, содержащихся в организме. В норме более 95 % ТАГ находится в жировой ткани, оставшиеся 5 % локализованы преимущественно в печени и мышцах. Именно жировая ткань функционально специализируется на хранении (запасании) и мобилизации ТАГ.

4.7.1. Синтез триацилглицеролов

Синтез триацилглицеролов протекает главным образом в печени, жировой ткани, кишечнике, в период грудного вскармливания — в молочной железе. Предшественниками для синтеза ТАГ являются глицерол-3-фосфат и активированные жирные кислоты. Активация жирных кислот происходит путем их превращения в ацил-КоА под действием фермента — *ацил-КоА-синтетазы* (см. § 4.3). Источником глицерол-3-фосфата в печени, кишечнике и почках служит свободный глицерол, который под влиянием фермента *глицеролкиназы* фосфорилируется с помощью АТФ. В адипоцитах в связи с отсутствием глицеролкиназы глицерол-3-фосфат образуется из фосфодиоксиацетона (ФДА) — промежуточного продукта гликолиза. В печени и адипоцитах ФДА восстанавливается *глицерол-3-фосфатдегидрогеназой* до глицерол-3-фосфата.



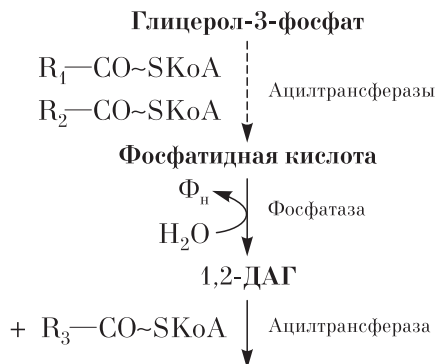


Рис. 4.23. Схема синтеза триацилглицеролов из глицерол-3-фосфата

Далее глицерол-3-фосфат взаимодействует с активированной формой жирных кислот — ацил-КоА (рис. 4.23).

В печени триацилглицеролы упаковываются в ЛПОНП и поступают в кровоток, а в жировой ткани депонируются в виде капелек жира.

Депонирование в жировой ткани сопряжено с питанием и гормональным статусом. Инсулин стимулирует синтез и депонирование липидов в жировой ткани. Важнейшим эффектом инсулина является увеличение транспорта глюкозы через мембраны жировых и мышечных клеток путем облегченной диффузии по градиенту концентрации с помощью чувствительных к гормону мембранных белковых переносчиков (глют-4). В клетках инсулин активирует гликолиз и пентозофосфатный путь. Эти пути обмена глюкозы поставляют субстраты для синтеза жирных кислот и триацилглицеролов (ацетил-КоА, ФДА, НАДФН·Н⁺). Кроме того, в адипоцитах инсулин индуцирует синтез ЛП-липазы и таким образом увеличивает поток эндо- и экзогенных жирных кислот из кровотока в жировую ткань для синтеза триацилглицеролов. Избыточное накопление триацилглицеролов в адипоцитах ведет к ожирению.

4.7.2. Мобилизация триацилглицеролов

Натощак или при повышенной потребности в энергии во время физической работы, повышении уровня катехоламинов, гормона роста, адренокортикотропного гормона (АКТГ) и глюкагона в плазме крови, снижении секреции инсулина в жировой ткани усиливается липолиз и высвобождаются жирные кислоты. Последние используются в качестве источника энергии. Другой продукт липолиза — *глицерол* — может использоваться в качестве источника энергии или для глюконеогенеза.

Гидролиз триацилглицеролов опосредован ферментом *липазой*. Активность липазы в клетках жировой ткани находится под строгим гормональным контролем (отсюда название *гормонзависимая* или *жиромобилизующая липаза*). Активность гормонзависимой липазы регулируется путем фосфорилирования/дефосфорилирования. Адреналин, норадреналин, глюкагон и АКТГ акти-

4.8. Внутриклеточный обмен жирных кислот

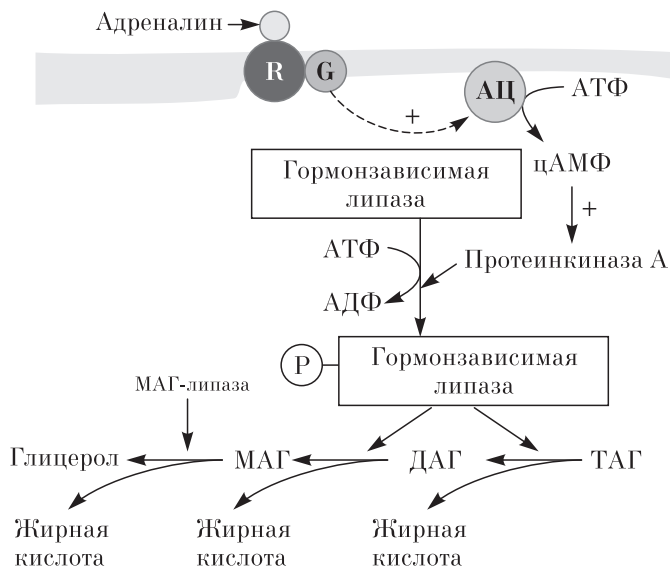


Рис. 4.24. Стимулированный адреналином гидролиз триацилглицеролов в адипоцитах: R — β -адренорецептор; G — белок; АЦ — аденилатциклаза

вируют гормонзависимую липазу, вызывая ее фосфорилирование (рис. 4.24). Инсулин вызывает дефосфорилирование этого фермента, тем самым снижая его активность, и липолиз тормозится.

В результате полного гидролиза молекулы триацилглицерола образуется три молекулы жирных кислот и одна молекула глицерола. Жирные кислоты выходят из адипоцитов в плазму крови. Вследствие сильной гидрофобности высшие жирные кислоты циркулируют в крови в связанном с альбуминами состоянии. С током крови они попадают в клетки различных тканей. Основными потребителями жирных кислот являются клетки сердечной и скелетной мышц, печени.

4.8. Внутриклеточный обмен жирных кислот

В клетках значительная часть жирных кислот используется для синтеза сложных липидов. Другая часть подвергается окислению в митохондриях и пероксисомах с целью получения энергии.

4.8.1. β -Окисление жирных кислот

Для энергообеспечения поступающие из крови или высвобождающиеся в результате липолиза внутриклеточных ТАГ жирные кислоты подвергаются β -окислению. Но сначала жирные кислоты активируются. Это осуществляется

в цитозоле присоединением к жирной кислоте коэнзима А с участием АТФ и образованием ацил-КоА (реакцию см. в п. 4.3).

Ферменты β -окисления жирных кислот локализованы в матриксе митохондрий. Туда ацил-КоА не может проникнуть. Под действием фермента, локализованного в наружной митохондриальной мембране (НММ) карнитинацилтрансферазы I (КАТ_I), ацильный остаток с ацил-КоА переносится на карнитин с образованием ацилкарнитина (рис. 4.25).

Образовавшийся ацилкарнитин проходит через межмембранное пространство к наружной стороне внутренней митохондриальной мембраны (ВММ) с помощью транслоказы (Т). На внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрий карнитинацилтрансфераза II (КАТ_{II}) расщепляет ацилкарнитин с помощью митохондриального HS-КоА. Свободный карнитин возвращается на наружную мембрану, а ацил-КоА, высвобождающийся в матриксе, участвует в реакциях β -окисления.

Процесс называется β -окислением, так как окислению всегда подвергается β -углеродный атом остатка жирной кислоты. Каждый цикл β -окисления включает четыре последовательные реакции: 1-я — окисление с участием ФАД; 2-я — гидратация; 3-я — окисление с участием НАД⁺; 4-я — тиолиз с участием коэнзима А.

В результате этих реакций жирная кислота укорачивается на два углеродных атома, которые отщепляются в виде ацетил-КоА (рис. 4.26). Укороченный ацильный остаток будет вовлекаться в следующий цикл β -окисления. Ацетил-КоА может вступать в цитратный цикл и окисляться до CO₂ и H₂O.

Таким образом, процесс β -окисления тесно связан с циклом трикарбоновых кислот и дыхательной цепью.

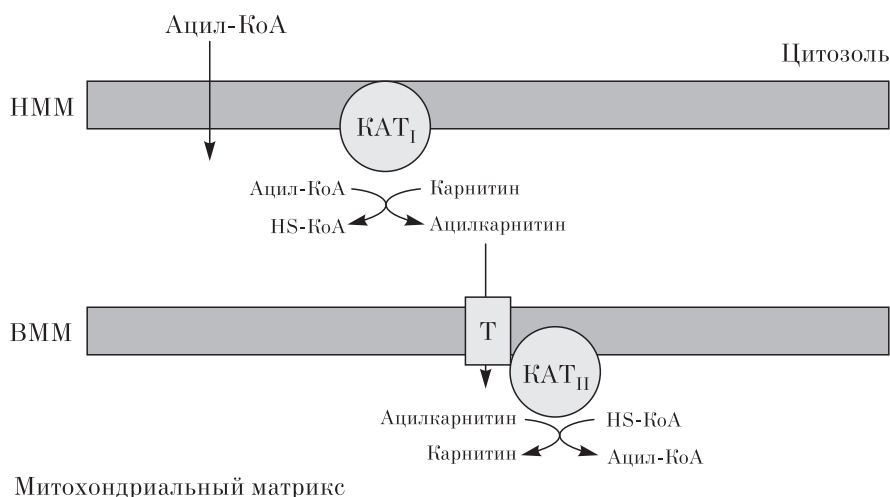
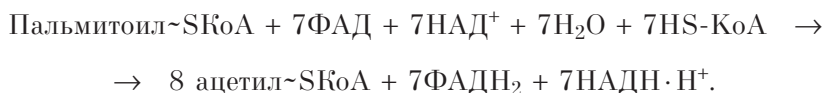


Рис. 4.25. Транспорт ацил-КоА из цитозоля в митохондриальный матрикс

4.8. Внутриклеточный обмен жирных кислот

Суммарное уравнение окисления пальмитиновой кислоты выглядит следующим образом:



Энергетический выход β -окисления жирных кислот. Зависит от длины углеводородной цепи. В каждом цикле реакций ацил-КоА укорачивается на два углеродных атома и образуется по одной молекуле ФАДН₂, НАДН·Н⁺ и ацетил-КоА. В случае жирной кислоты с четным числом углеродных атомов на последнем витке образуются две молекулы ацетил-КоА.

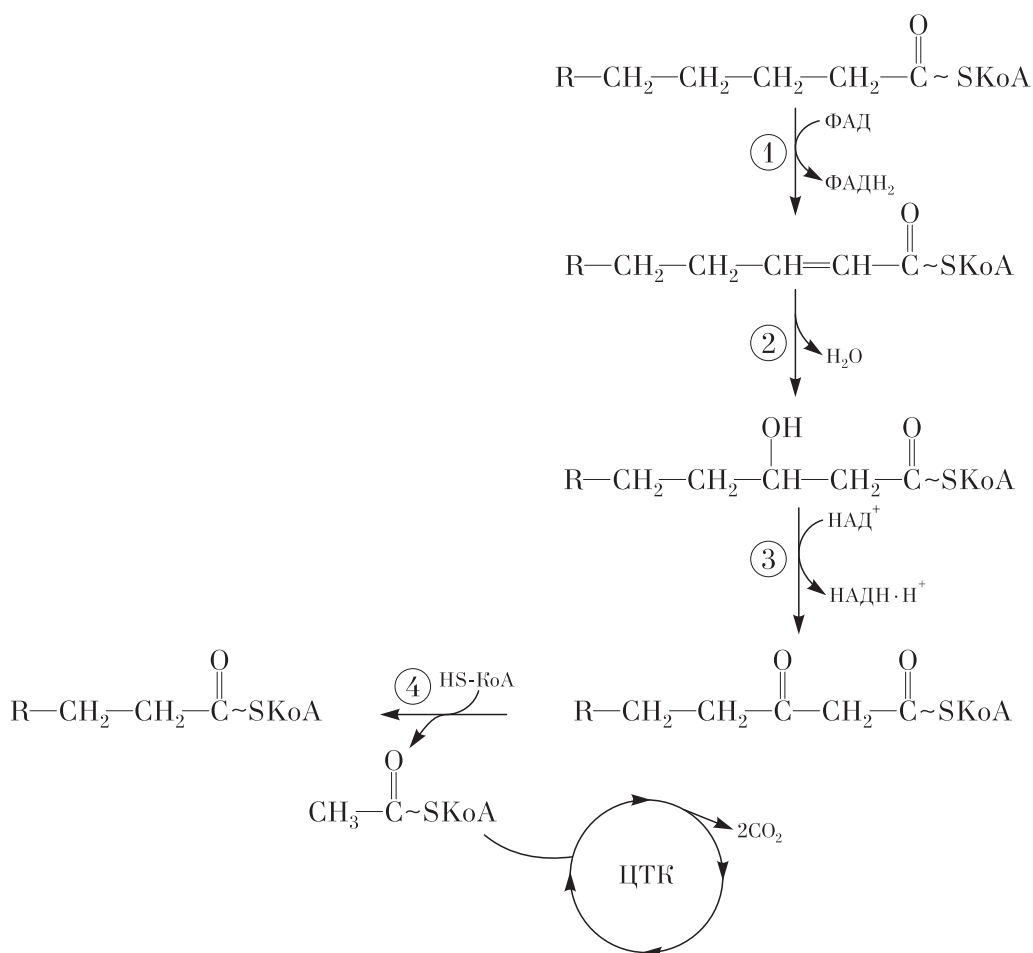


Рис. 4.26. Последовательность реакций β -окисления ЖК: окисление, гидратация, окисление и тиолиз

Для подсчета энергетического выхода β -окисления конкретной жирной кислоты с четным числом углеродных атомов необходимо знать количество циклов β -окисления (оно составляет $n/2 - 1$, где n — число углеродных атомов в составе жирной кислоты) и количество молекул образовавшегося ацетил-КоА (оно составляет $n/2$). При окислении каждого НАДН·Н⁺ в дыхательной цепи генерируется электрохимический потенциал, достаточный для синтеза 2,5 моль АТФ, тогда как при окислении ФАДН₂ — 1,5 АТФ. Напомним, что окисление ацетил-КоА в цикле трикарбоновых кислот в конечном итоге может дать 10 моль АТФ.

Хотя на образование ацил-КоА в самом начале расходуется одна молекула АТФ, она гидролизуется до АМФ, т.е. разрываются две макроэргические связи, что эквивалентно затрате 2 АТФ. Поэтому из общей суммы АТФ необходимо вычесть 2 молекулы АТФ, затраченных на активацию жирной кислоты в начале всего процесса.

Регуляция β -окисления. Уровень β -окисления может возрасти при механической мышечной работе, при уменьшении соотношения ацетил-КоА/ацил-КоА, НАДН·Н⁺/НАД⁺ и ФАДН₂/ФАД.

Активное окисление жирных кислот, с одной стороны, ингибирует окисление глюкозы в клетках скелетных мышц и сердца за счет ингибирования пируват-дегидрогеназного комплекса (увеличивается соотношение ацетил-КоА/HS-КоА), с другой — активное окисление глюкозы может ингибировать окисление жирных кислот. Это обусловлено тем, что регуляция поглощения жирных кислот мито-

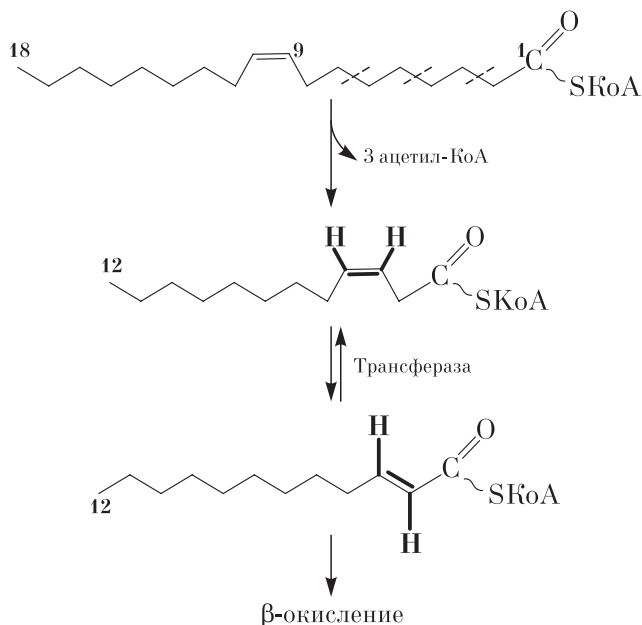


Рис. 4.27. Схема β -окисления ненасыщенных жирных кислот

4.8. Внутриклеточный обмен жирных кислот

хондриями преимущественно осуществляется за счет контроля КАТ_I со стороны малонил-КоА, который выполняет роль аллостерического ингибитора этого фермента. Малонил-КоА — это начальный промежуточный продукт в синтезе жирных кислот, образованный из ацетил-КоА в цитоплазме. Таким образом, условия, которые способствуют липогенезу (наличие большого количества глюкозы), подавляют β-окисление жирных кислот.

4.8.2. β-Окисление ненасыщенных жирных кислот и жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов

β-Окисление **ненасыщенных жирных кислот** во многом подобно окислению насыщенных жирных кислот. *Разница* заключается в том, что, когда процесс последовательного укорачивания на два углеродных атома доходит до стадии расположения двойной связи в ацил-КоА в положении C₃—C₄, трансфераза катализирует перемещение двойной связи в положение C₂—C₃, а еноил-КоА-изомераза катализирует превращение *цис*-изомера в *транс*-изомер, который является промежуточным метаболитом β-окисления (рис. 4.27). Далее β-окисление продолжается с участием ферментов, описанных ранее.

Жирные кислоты с нечетным числом углеродных атомов в организме животных весьма немногочисленны. Они окисляются таким же образом, как и жирные кислоты с четным числом атомов, с той лишь *особенностью*, что на последнем этапе расщепления образуются одна молекула пропионил-КоА и одна молекула ацетил-КоА, а не две молекулы ацетил-КоА.

Далее пропионил-КоА превращается в сукцинил-КоА (рис. 4.28). Это превращение включает биотинзависимое карбоксилирование с образованием

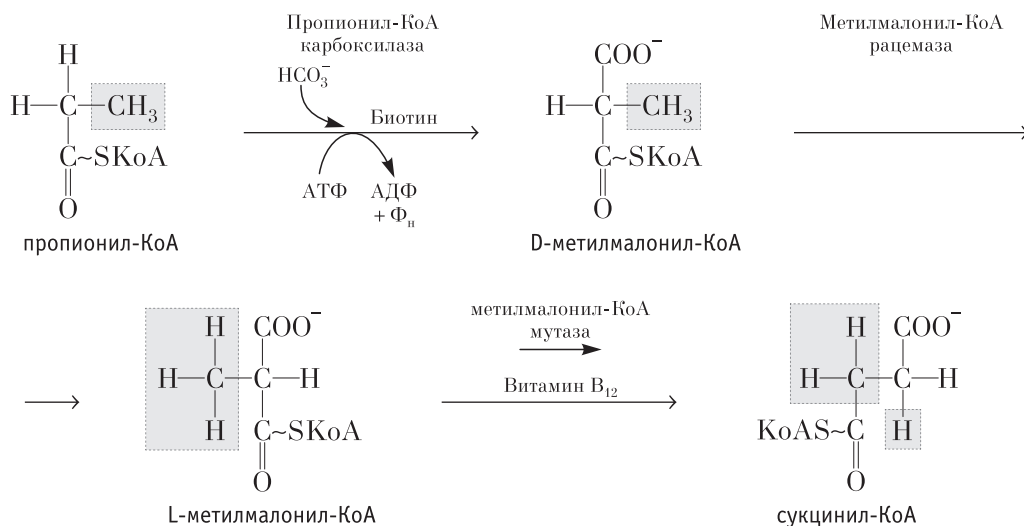


Рис. 4.28. Катаболизм пропионил-КоА до сукцинил-КоА

метилмалонил-КоА. В результате изомеризации, коферментом которой является производное витамина В₁₂, метилмалонил-КоА превращается в сукцинил-КоА — промежуточный метаболит цикла лимонной кислоты.

4.8.3. Окисление жирных кислот в пероксисомах

В пероксисомах содержатся ферменты, которые катализируют β -окисление, имеющее некоторое отличие от процесса в митохондриях. Окисление жирных кислот в пероксисомах составляет около 30 % всего их окисления.

В пероксисомах окисляются жирные кислоты, имеющие очень *длинную углеводородную цепь* или другие *необычные радикалы*, неспособные подвергаться эффективному окислению в митохондриях. Укорочение алкильной цепи в пероксисомах происходит до тех пор, пока не образуется С₈ ацил-КоА. Это обусловлено субстратной специфичностью пероксисомальной ацил-КоА дегидрогеназы; С₈ ацил-КоА впоследствии подвергается дальнейшему окислению в митохондриях.

В ходе пероксисомального окисления жирных кислот первоначальная стадия дегидрирования протекает с образованием Н₂О₂, а не ФАДН₂. Перекись водорода удаляется с помощью каталазы. Все последующие реакции аналогичны происходящим в митохондриях, хотя катализируются они изоферментами пероксисом.

4.8.4. Биосинтез насыщенных жирных кислот

Наряду с расщеплением жирных кислот в результате их окисления, в клетках функционирует процесс синтеза жирных кислот. Вот его основные *особенности*:

1) он происходит в цитоплазме, в отличие от окисления, которое протекает в матриксе митохондрий;

2) промежуточные продукты синтеза жирных кислот ковалентно связаны с ацилпереносящим белком (АПБ), тогда как промежуточные продукты β -окисления жирных кислот связаны с коферментом А;

3) большинство ферментов синтеза жирных кислот организованы в мультиферментный комплекс, называемый *ацилсинтазным комплексом*;

4) удлинение цепи синтезируемой жирной кислоты происходит путем последовательного присоединения двух углеродных фрагментов. Поставщиком их служит малонил-АПБ;

5) в качестве восстановителя при синтезе жирных кислот выступает НАДФН·Н⁺;

6) на этапе образования пальмитата (С₁₆) синтез жирных кислот останавливается. Дальнейшее удлинение, как и введение двойных связей, происходит под действием других ферментных систем.

4.8. Внутриклеточный обмен жирных кислот

Синтез жирных кислот *de novo* происходит при наличии достаточного количества глюкозы, когда ацетил-КоА образуется больше, чем требуется для покрытия энергетических нужд. В этих условиях избыток моносахаридов, образовавшийся в результате переваривания углеводов, может запасаться не только в форме гликогена, но и в виде гидрофобных ТАГ.

Субстраты и ферменты синтеза жирных кислот. Для синтеза пальмитиновой кислоты необходимо 8 молекул ацетил-КоА, 14 НАДФН·Н⁺ (в качестве восстановительных эквивалентов) и 7 АТФ (образование малонил-КоА).

Предшественником углеродных атомов жирных кислот является ацетил-КоА, который образуется из пирувата под действием митохондриального пируватдегидрогеназного комплекса. Внутренняя митохондриальная мембрана непроницаема для ацетил-КоА. В митохондриях фермент цитратсинтаза катализирует реакцию образования цитрата из ацетил-КоА и ЩУК. Цитрат выходит из митохондрий в цитоплазму, где фермент цитратлиаза расщепляет цитрат до ацетил-КоА и ЩУК. Этот ацетил-КоА и используется для синтеза жирных кислот.

НАДФН·Н⁺, который необходим для восстановительных реакций, протекающих в ходе биосинтеза жирных кислот, поступает в клетки из двух различных источников. В печени НАДФН·Н⁺ образуется, главным образом, в реакциях пентозофосфатного пути, в клетках жировой ткани — преимущественно за счет функционирования челночного механизма, обеспечивающего перенос остатка уксусной кислоты из митохондрий в цитоплазму (рис. 4.29).

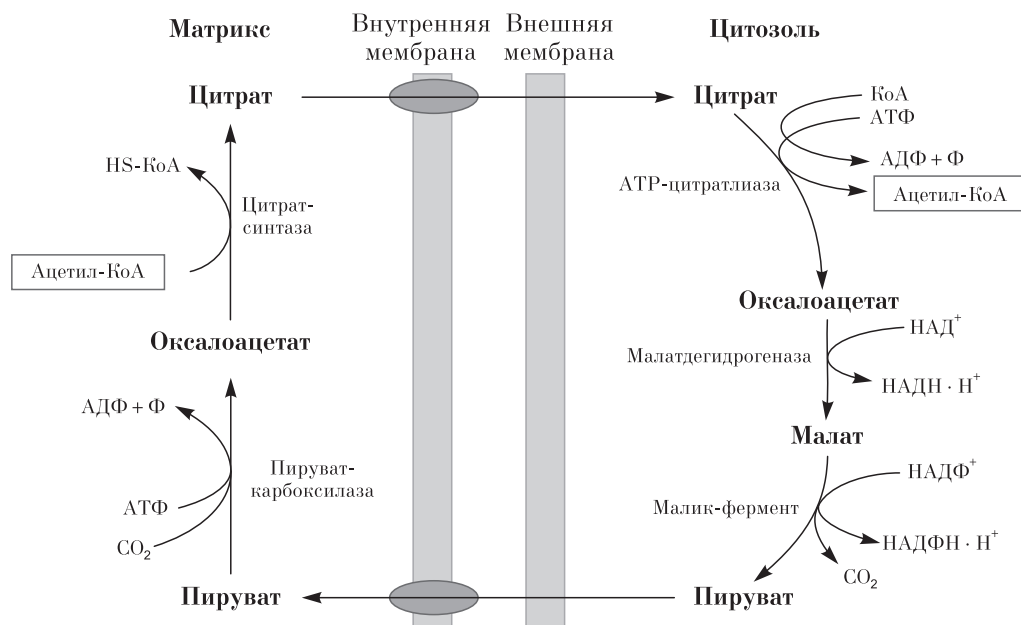
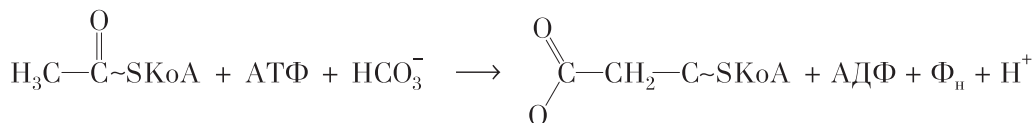


Рис. 4.29. Транспорт ацетил-КоА из матрикса митохондрий в цитоплазму

Ацетил-КоА-карбоксилаза — сложный фермент, содержащий в качестве протестической группы биотин (витамин Н), — катализирует ключевую реакцию в синтезе жирных кислот. Эта реакция выглядит так:



Ацетил-КоА-карбоксилаза — регуляторный фермент. Катализируемая этим ферментом реакция является лимитирующей стадией всего процесса биосинтеза жирных кислот в животных тканях. Повышение концентрации малонил-КоА аллостерически увеличивает активность фермента, а увеличение концентрации пальмитоил-КоА — снижает.

Гормональная регуляция активности ацетил-КоА-карбоксилазы основана на обратимом фосфорилировании/дефосфорилировании. Инсулин стимулирует дефосфорилирование фермента и повышает его активность, а глюкагон и адреналин — фосфорилирование и его инактивацию. Под влиянием инсулина происходит также индукция синтеза новых молекул фермента.

Все стадии синтеза жирных кислот представляют собой циклический процесс, протекающий на поверхности *синтазы жирных кислот*. Это мультиферментный комплекс, куда входит ацилпереносящий белок (АПБ) и 7 ферментов (рис. 4.30).

У эукариот синтаза состоит из двух одинаково построенных частей, содержащих полный набор участников, что позволяет ей одновременно синтезировать две жирные кислоты. Суммарная молекулярная масса этого комплекса, находящегося в цитоплазме клеток, составляет около 400 тыс. а.е.м.

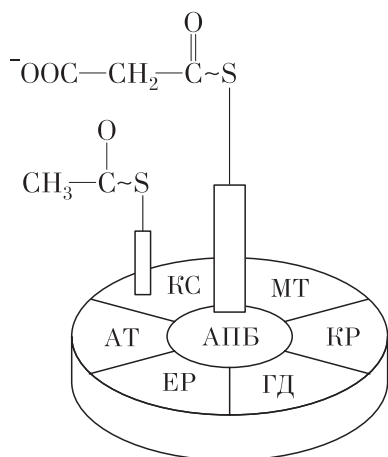
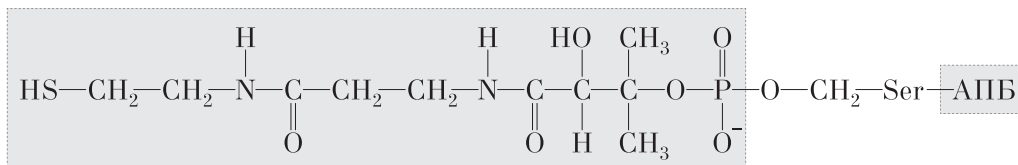


Рис. 4.30. Схематическое изображение субъединицы ацилсинтазного комплекса:
КС — кетоацилсинтаза; МТ — малонилтрансфераза;
КР — кетоацилредуктаза; ГД — гидроксиацилдегидратаза;
ЕР — еноилредуктаза; АТ — ацетилтрансфераза

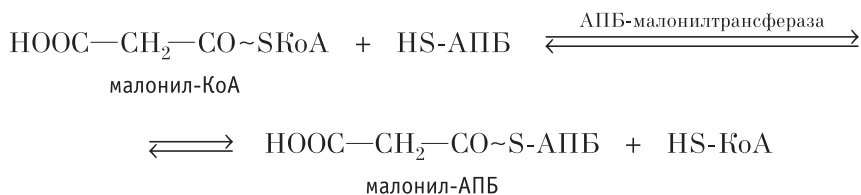
4.8. Внутриклеточный обмен жирных кислот

В синтезе жирных кислот есть две SH-группы, существенные для катализа, одна из которых принадлежит 4-фосфопантетеину АПБ, который также входит в состав кофермента А, другая — специфическому остатку цистеина в молекуле β -кетоацил-АПБ-синтазы. Фосфопантотеиновая группа АПБ выполняет функцию своеобразного рычага, который переносит в определенной последовательности ковалентно связанные промежуточные субстраты жирных кислот от активного центра одного фермента к активному центру другого.



фосфопантотеиновая группа АПБ

Синтез жирных кислот начинается с переноса ацетил-КоА и малонил-КоА на ацилсинтазный комплекс. Это происходит в результате двух последовательных реакций.



В результате трансферазных реакций ацетильная группа ковалентно связывается с SH-группой цистеина β -кетоацилсинтазы, а малонильная с SH-группой 4-фосфопантетеина ацилпереносящего белка (рис. 4.30).

Процесс наращивания цепи происходит в четыре этапа.

I этап — конденсация. Ацетильная и малонильная группы конденсируются с образованием ацетоацетильной группы, которая связана с SH-группой АПБ (рис. 4.31). Одновременно с этим происходит отщепление молекулы CO_2 . Катализирует этот процесс β -кетоацил-АПБ-синтаза.

II этап — восстановление. Ацетоацетил-АПБ подвергается восстановлению по карбонильной группе с образованием β -гидроксibuтирил-АПБ (рис. 4.32). Эта реакция катализируется β -кетоцил-АПБ-редуктазой, использующей в качестве восстановителя НАДФН \cdot H⁺.

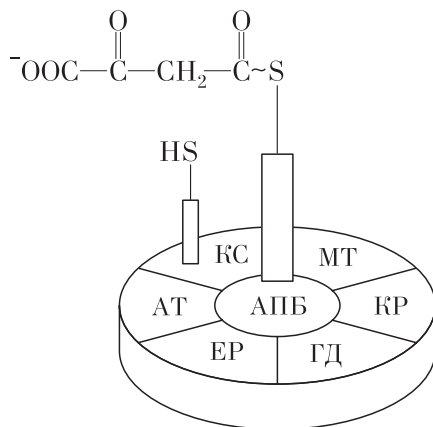


Рис. 4.31. Этап образования ацетоацетил-АПБ в ацилсинтазном комплексе

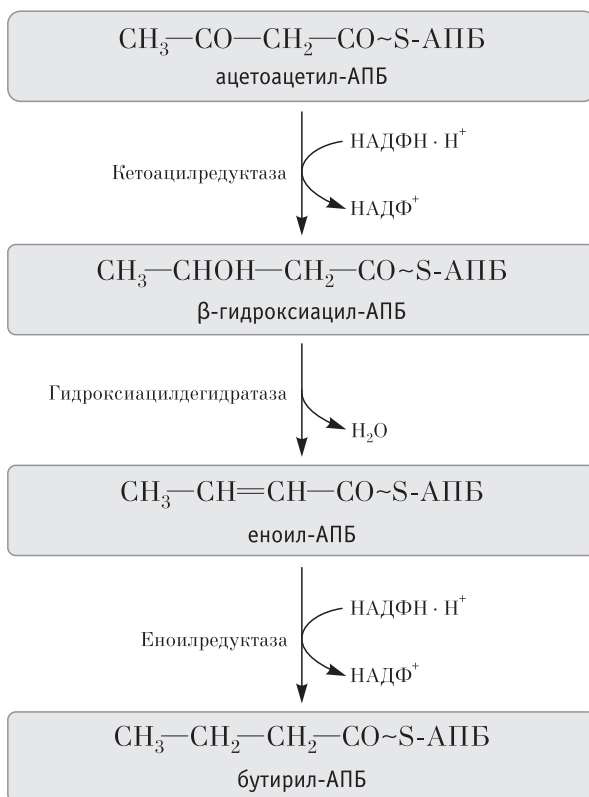


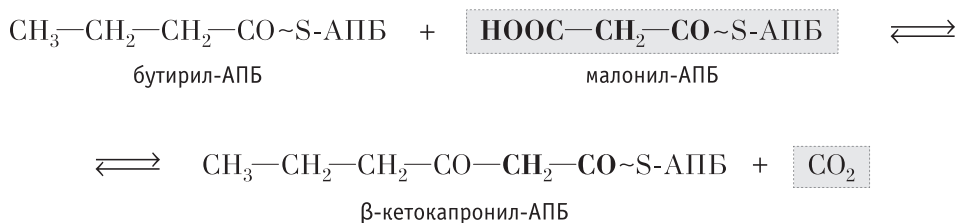
Рис. 4.32. Реакции синтеза жирных кислот на ацилсинтазном комплексе

4.8. Внутриклеточный обмен жирных кислот

III этап — дегидратация. От β -гидроксибутирил-АПБ отщепляется молекула воды под действием β -гидроксиацил-АПБ-дегидратазы с образованием кротонил-АПБ¹.

IV этап — восстановление. Этот этап завершает один цикл элонгации. Двойная связь восстанавливается под действием еноил-АПБ-редуктазы. Для этого процесса требуется восстановленный НАДФН·H⁺.

Далее происходит перенос бутирильной группы с HS-АПБ на SH-группу цистеина в составе кетоацилсинтазы. Затем бутирильная группа покидает SH-группу цистеина и замещает —COOH в малонильной группе на HS-АПБ. В результате образуется 6-углеродная ацильная группа, связанная с SH-группой АПБ.



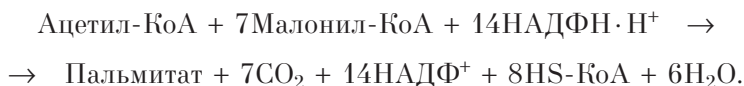
После чего 6-углеродный фрагмент переносится с SH-группы АПБ на SH-группу цистеина. Растущий жирнокислотный остаток поочередно связывается с SH-группой АПБ и SH-группой цистеина в составе β -кетоацил-АПБ-синтазы, ни разу не покидая комплекс до тех пор, пока не завершится образование пальмитоил-АПБ (C₁₆). Для образования пальмитата, к примеру, необходимо семь таких циклов.

В конечном счете, все углеродные атомы жирной кислоты образуются из ацетил-КоА, так как малонил-КоА, в свою очередь, образуется из ацетил-КоА.

Завершается синтез жирной кислоты отщеплением HS-АПБ от ацил-АПБ под влиянием фермента деацилазы (тиоэстеразы).



Суммарное уравнение синтеза пальмитата выглядит следующим образом:



¹ Кротоновая кислота содержит четыре углеродных атома и одну двойную связь между вторым и третьим углеродными атомами.

Пальмитиновая кислота служит предшественником для синтеза других насыщенных жирных кислот с более длинной цепью в организме животных и человека. *Элонгация* происходит путем добавления двууглеродного фрагмента к карбоксильному концу жирной кислоты при помощи ферментов, имеющих как в цитозоле (микросомальные ферменты), так и в митохондриях.

Имеется две отдельные системы элонгации в микросомах и митохондриях. В микросомной системе элонгации в качестве донора двууглеродной группировки используется малонил-КоА, а в митохондриальной системе — ацетил-КоА.

4.8.5. Эйкозаноиды

Эйкозаноиды — это группа биологически активных веществ, производных арахидоновой кислоты, которая включает в себя три группы соединений: простагландины, тромбоксаны и лейкотриены. Они обладают многогранной физиологической и фармакологической активностью.

Эйкозаноиды в организме быстро разрушаются. Их инактивация происходит путем окисления. Конечные продукты — дикарбоновые кислоты — выделяются из организма с мочой.

Синтез простагландинов начинается после высвобождения арахидоновой кислоты из фосфолипидов мембраны под действием фосфолипазы A_2 или фосфолипазы C (рис. 4.33).

В цитоплазме происходит превращение арахидоновой кислоты в простагландины (циклооксигеназный путь) или в лейкотриены (липоксигеназный путь) (рис. 4.34).

Простагландины (ПГ). Молекула простагландина содержит 5-членный цикл и две боковые цепи. Обычно в 15-м положении у них имеется гидроксильная группа. В зависимости от степени окисления цикла и характера боковых цепей простагландины делят на несколько типов, обозначаемых буквами: А, В, С, D, E, F, H, I, J. Основными являются четыре класса этих соединений (А, Е, F, I) (рис. 4.35).

Внутри типа простагландины делят на серии (1, 2, 3) в зависимости от числа двойных связей в боковых цепях молекулы. У человека наиболее важ-



Рис. 4.33. Высвобождение арахидоновой кислоты из мембранных фосфолипидов

4.8. Внутриклеточный обмен жирных кислот

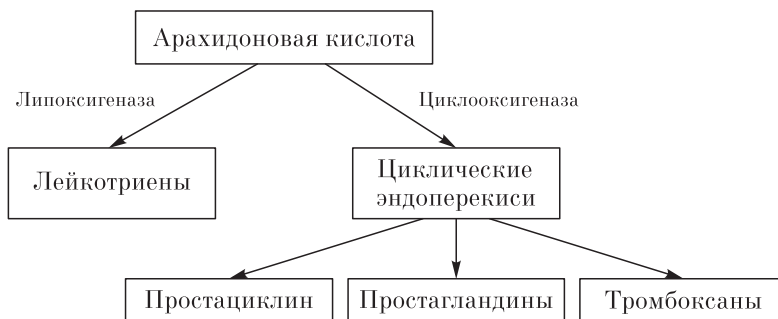


Рис. 4.34. Схема образования эйкозаноидов из арахидоновой кислоты

ной является серия 2. С учетом типа и серии простагландины обозначают как ПГ E₂, ПГ D₁, ПГ H₂ и т.д. (цифра в нижнем индексе у буквенного символа указывает число двойных связей в боковой цепи).

Особо следует отметить простагландин I₂. Это соединение имеет другое название — **простациклин**. В его молекуле между 5-членным циклом и одной из боковых цепочек находится циклическая структура. Простагландин I₂ предотвращает агрегацию тромбоцитов на эндотелии кровеносных сосудов, поэтому его применяют для снижения вероятности свертывания крови во время операций с использованием аппарата искусственного кровообращения.

К функциям, регулируемым простагландинами, относятся сокращение гладких мышц, липолиз, секреция желудочного сока, проницаемость клеточных мембран, электролитный баланс, свертывание крови. Простагландин E₁ расширяет сосуды. Простагландин E угнетает желудочную секрецию. С образованием простагландинов сопряжено сокращение мускулатуры матки, а ПГ F_{2α} и ПГ E₂ используются для стимуляции родов.

Тромбоксаны отличаются от простагландинов тем, что в циклическую часть их молекулы входит атом кислорода. В результате образуется 6-членный цикл, а не 5-членный, как в простагландинах. Тромбоксаны, в частности тромбоксан A₂, вызывают агрегацию тромбоцитов, сужение сосудов и бронхов, пролиферацию лимфоцитов.

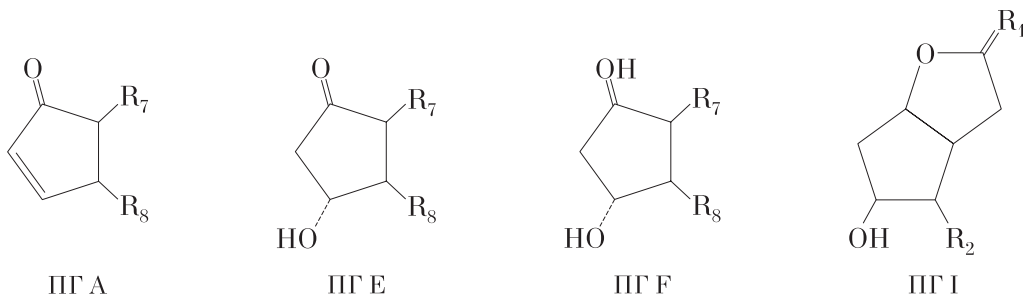


Рис. 4.35. Структурные формулы простагландинов классов A, E, F и I

Простагландины взаимодействуют с рецепторами цитоплазматических мембран. Многие их эффекты опосредует цАМФ. Один и тот же простагландин может действовать по паракринному механизму (влияние на ближайшую клетку) и аутокринному, т.е. воздействуя на продуцирующую клетку. Простагландины способны проникать через мембраны, включая гематоэнцефалический барьер, и связываться с внутриклеточными белками, влияя на синтез ДНК.

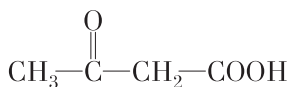
Для разных групп эйкозаноидов характерна противоположность действия на одни и те же явления (к примеру, действие простаглицина и тромбосана на сердечно-сосудистую систему).

Лейкотриены (ЛТ). Характерная особенность строения лейкотриенов — отсутствие циклической структуры и наличие четырех двойных связей, три из которых являются сопряженными (триен). Они образуются из полиненасыщенных жирных кислот посредством липоксигеназного метаболического пути. Лейкотриены расширяют сосуды, увеличивая их проницаемость, вызывают сокращение бронхов, хемотаксис и агрегацию лейкоцитов, пролиферацию лимфоцитов, секрецию цитокинов, образование супероксидного анион-радикала в лейкоцитах.

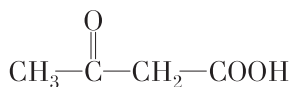
Ингибиторы синтеза эйкозаноидов. Глюкокортикоиды подавляют активность фосфолипазы А₂ и, следовательно, образование арахидоновой кислоты — исходного субстрата для всех типов эйкозаноидов. На этом основано их широкое использование при воспалительных, аутоиммунных и аллергических заболеваниях. Другие противовоспалительные препараты (аспирин, индометацин, фенилбутазон) ингибируют циклооксигеназу (ЦОГ), тем самым снижают синтез простаглицинов и тромбосанов. На этом основано их болеутоляющее и противовоспалительное действие.

4.9. Метаболизм кетонowych тел

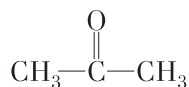
Когда происходит интенсивное окисление жирных кислот, в печени образуются значительные количества так называемых *кетонowych тел*: ацетоуксусной кислоты, β-гидроксимасляной кислоты и ацетона.



ацетоуксусная кислота



β-гидроксимасляная кислота



ацетон

Все эти вещества берут начало от ацетоацетил-КоА, который является продуктом конденсации двух молекул ацетил-КоА (рис. 4.36). Реакция конденсации происходит в митохондриях печени. Далее ацетоацетил-КоА взаимодействует еще с одной молекулой ацетил-КоА и превращается в 3-гидрокси-3-метил-

4.9. Метаболизм кетоновых тел

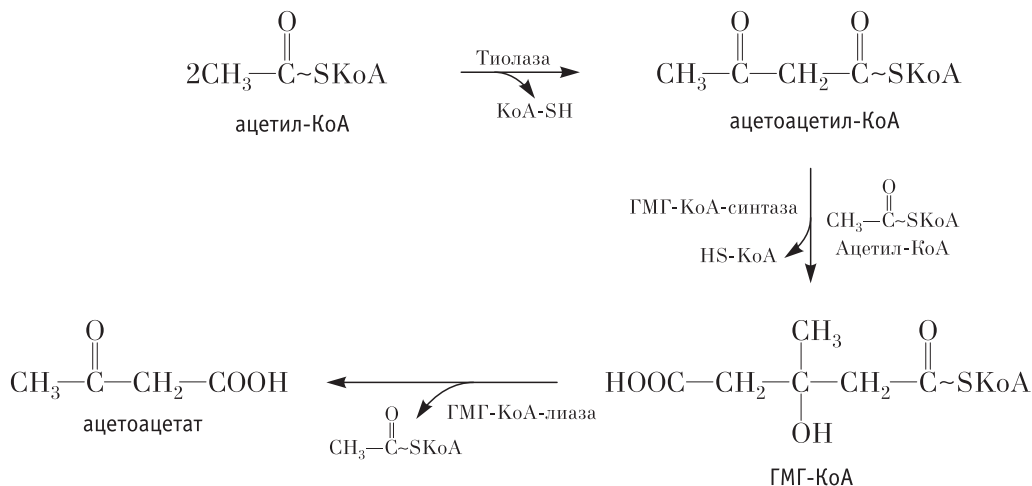
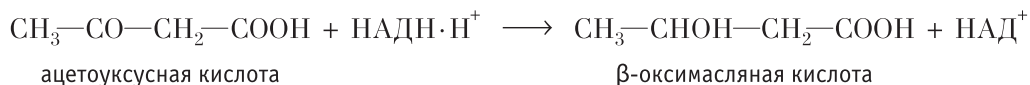


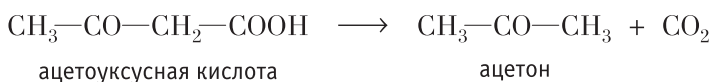
Рис. 4.36. Синтез кетоновых тел в митохондриях гепатоцитов

глутарил-КоА (ГОМГ-КоА). Расщепление 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА ферментом *лиазой* является основным путем образования ацетоуксусной кислоты в печени.

В дальнейшем ацетоуксусная кислота восстанавливается под влиянием фермента β -гидроксibuтиратдегидрогеназы. В результате образуется β -оксимасляная кислота:



Ацетон образуется из ацетоуксусной кислоты при декарбоксилировании:



Кетоновые тела как источник энергии. Из печени кетоновые тела попадают во внепеченочные ткани. Кетоновые тела — водорастворимые соединения, поэтому они легко транспортируются по крови, проходят через внутреннюю мембрану митохондрий и гематоэнцефалический барьер.

В норме кетоновые тела являются источником энергии для мышц, но при продолжительном голодании и сахарном диабете они могут использоваться в качестве источника энергии различными тканями, включая ЦНС. Для этого в митохондриях кетоновые тела должны вновь превратиться в ацетил-КоА (рис. 4.37). Сначала β -гидроксibuтиратдегидрогеназа катализирует окисление β -гидроксibuтирата до ацетоацетата в НАД⁺-зависимой реакции. Затем с помощью фермента *сукцинил-КоА/ацетоацетил-КоА-трансферазы* кофермент А

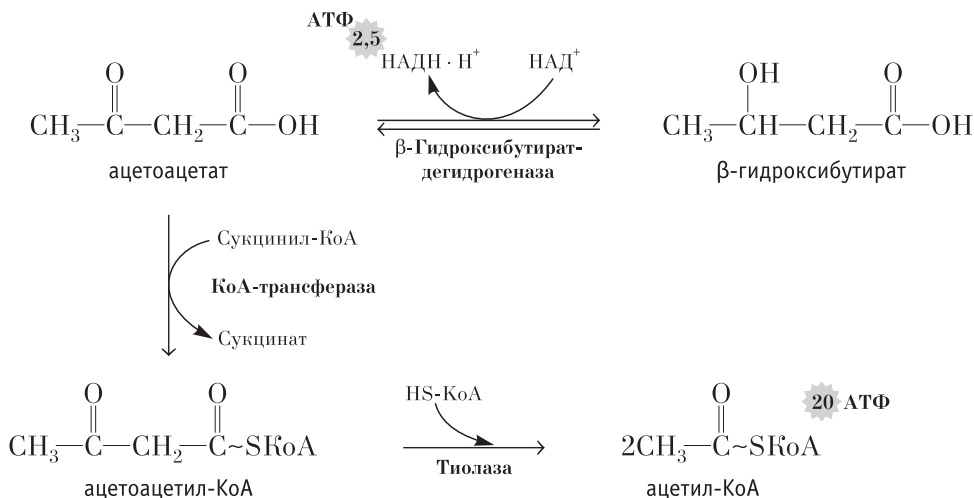


Рис. 4.37. Окисление кетоновых тел в периферических тканях

перемещается из молекулы сукцинил-KoA на ацетоацетат. Образуется ацетоацетил-KoA, который является промежуточным продуктом последнего витка β-окисления жирных кислот.

Сукцинил-KoA/ацетоацетил-KoA-трансфераза в печени не образуется. Именно поэтому там не может происходить окисление кетоновых тел. Зато в митохондриях клеток других органов этот фермент имеется. Примечательно, что в клетках мозга спустя несколько суток после начала голодания начинается экспрессия гена, кодирующего этот фермент. Тем самым мозг адаптируется к использованию кетоновых тел в качестве альтернативного источника энергии, снижая свою потребность в глюкозе и белке.

Тиолаза довершает расщепление ацетоацетил-KoA, встраивая KoA по месту разрыва связи между α- и β-углеродными атомами. В результате образуется две молекулы ацетил-KoA, которые окисляются в цикле трикарбоновых кислот.

Интенсивность окисления кетоновых тел во внепеченочных тканях пропорциональна их концентрации в крови. В крови здорового человека кетоновые тела содержатся в очень небольших концентрациях (обычно ниже 3 мг/100 мл), а средняя ежесуточная экскреция с мочой составляет приблизительно от 1 до 20 мг.

Однако при голодании, а также у лиц с тяжелой формой сахарного диабета содержание кетоновых тел в крови может повышаться до 20 ммоль/л. Это состояние носит название *кетонемия*; оно обычно сопровождается появлением кетоновых тел в моче (*кетонурия*). В тех случаях, когда имеют место выраженные кетонемия и кетонурия, в выдыхаемом воздухе ощущается запах *ацетона*. Эти три симптома объединяются под общим названием — *кетоз*.

Явления кетонемии и кетонурии при голодании и сахарном диабете можно объяснить следующим образом. При голодании мало углеводов поступает или

4.9. Метаболизм кетоновых тел

не поступает совсем с пищей, а при сахарном диабете, вследствие недостатка гормона *инсулина*, углеводы не могут эффективно окисляться в клетках органов и тканей. Запасы гликогена в печени быстро сокращаются. Многие ткани и органы, в частности мышечная ткань, находятся в состоянии энергетического голода, так как при недостатке инсулина и избытке глюкагона глюкоза не может с достаточной скоростью поступать в клетку.

Как адаптивный процесс, резко усиливаются липолиз и поступление большого количества жирных кислот из жировых депо в печень. В результате их β -окисления образуется много ацетил-КоА, который используется для синтеза кетоновых тел. Ацетоуксусная и β -гидроксимасляная кислоты с током крови транспортируются из печени к периферическим тканям, где они используются в качестве энергетических субстратов.

Обмен простых белков и аминокислот

В организме человека содержится около 15 кг белков. За сутки у взрослого человека распадается на аминокислоты около 400 г белков и примерно такое же количество синтезируется. Количество свободных аминокислот составляет около 35 г.

Белковый обмен имеет свои *особенности*:

- 1) выраженное деление белков на «свои» и «чужие» со строгим контролем иммунной системы;
- 2) отсутствие «запасных» белков (практически все белки функционально активны);
- 3) белки — основной носитель азота в организме, а его обмен требует специфических путей превращения;
- 4) множественность мономеров (десятки аминокислот участвуют в различных метаболических путях);
- 5) множественность ферментов, катализирующих внутри- и внеклеточные превращения белков и аминокислот.

5.1. Азотистый баланс и оценка обеспеченности организма белками

Содержание азота в атмосферном воздухе составляет почти 80 %, однако способностью усваивать этот азот обладают лишь некоторые прокариоты (*Rhizobia*), которые восстанавливают азот до аммиака.

Животные получают азот главным образом из белков. Поскольку обязательным элементом белков является азот, содержание которого, в среднем, составляет 16 %, а белки не депонируются в организме, за состоянием белкового обмена можно проследить по разнице между количеством азота, поступающим с пищей, и количеством азота, выделяющимся почками. Эта разность получила название *азотистый баланс*.

5.1. Азотистый баланс и оценка обеспеченности организма белками

У здорового взрослого человека отмечается *азотистое равновесие*. Это означает, что количество поступившего с пищей азота равняется количеству выделившегося азота. У детей, женщин во время беременности и грудного вскармливания, при увеличении мышечной массы в результате занятия спортом наблюдается *положительный азотистый баланс*. Некоторая часть азота при этом задерживается в организме и используется на рост и развитие органов и тканей. При голодании, белковой недостаточности, длительных хронических заболеваниях, старении отмечают *отрицательный азотистый баланс*. При этом количество выводимого азота превышает количество поступающего с пищей¹.

Каждый белок характеризуется так называемым *временем биологического полураспада*. Это время, в течение которого количество белка обновляется наполовину. Для белков печени период полураспада составляет 10 суток, для белков плазмы крови — 14, а для белков мышц — 80 суток. Но есть белки, которые распадаются быстро (для α_2 -макроглобулина и инсулина период полураспада составляет 5 минут).

В процессе жизнедеятельности организма некоторые аминокислоты модифицируются после трансляции и не могут повторно использоваться. Например, гистидин превращается в 3-метилгистидин, пролин — в гидроксипролин, которые уже не могут быть использованы для синтеза белков. Кроме того, часть аминокислот вовлекается в пути катаболизма и прекращает свое существование, выделяясь из организма с калом, мочой, потом и т.д. Если не замещать такие потери внешним поступлением аминокислот, то общий фонд азота в организме снижается, что влечет за собой нарушение функций клеток.

При безбелковой диете азотистый баланс становится отрицательным. Если держать человека на такой диете в течение недели, то количество выделяемого им азота перестает увеличиваться, достигнув величины около 4 г/сут (~25 г белка). Количество азота, выводимого из организма при белковом голодании, получило название *коэффициента изнашивания*.

Коэффициент изнашивания служит основой для разработки норм белкового питания. Взрослый здоровый человек должен получать в среднем **0,8–1,0 г/кг белка в сутки**. Эта величина зависит от возраста, повышается при беременности, лактации, физической активности и др.

Однако нормальное белковое питание не только включает в себя достаточное количество потребляемого с пищей белка, но и зависит от его *качества*, которое определяется аминокислотным составом и усвояемостью. Что касается *аминокислотного состава*, то все протеиногенные аминокислоты, в зависи-

¹ Для количественного определения азота используют минерализацию образца. Для этого образец сжигают в песчаной бане в присутствии серной кислоты (метод И. Кьельдаля), а образующийся сульфат аммония определяют колориметрически, используя цветную реакцию с реактивом Несслера.

мости от возможностей их образования в организме, разделяются на четыре группы:

1) заменимые аминокислоты — Ала, Асп, Глу — синтезируются в необходимых количествах в организме;

2) незаменимые аминокислоты — Вал, Лей, Иле, Мет, Фен, Трп, Лиз, Тре — не могут синтезироваться в организме и должны поступать с пищей;

3) относительно незаменимые аминокислоты — Гис, Арг — образуются в количествах, не покрывающих потребность в них, особенно в детском возрасте;

4) условно заменимые аминокислоты — Тир, Цис — синтезируются из незаменимых аминокислот Фен и Мет соответственно.

Усвояемость белков определяется их доступностью для ферментов, катализирующих гидролиз белков в желудочно-кишечном тракте.

Отсутствие депонирования белков для потребностей организма компенсируется созданием **аминокислотного фонда**, который находится в динамическом состоянии благодаря тесной связи аминокислотных фондов клеток и тканей

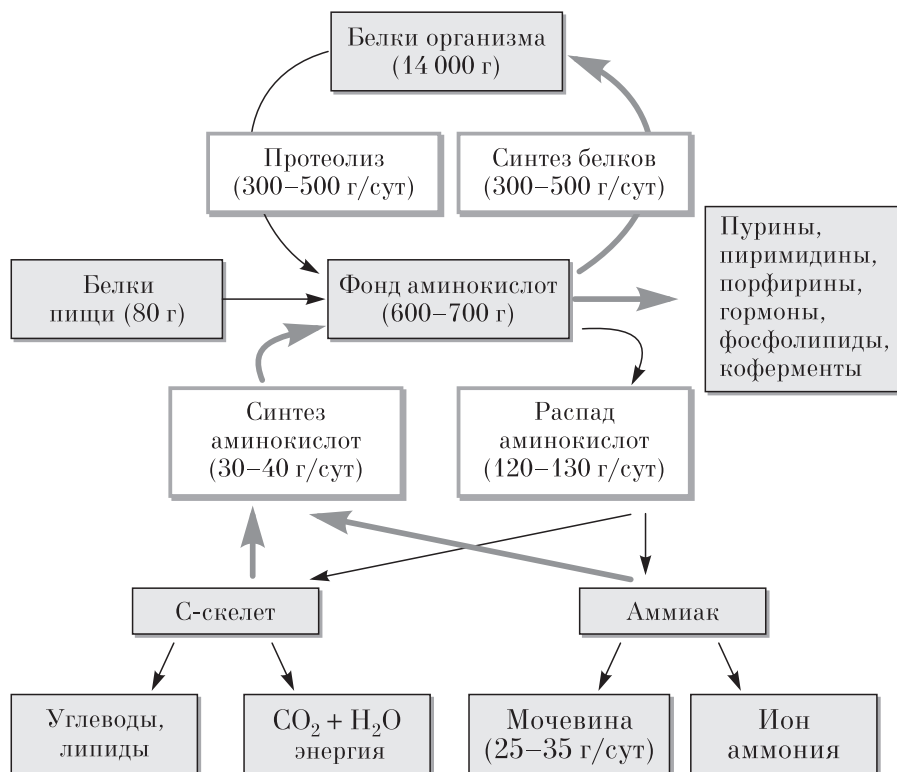


Рис. 5.1. Формирование и использование аминокислотного фонда в организме человека

5.2. Виды протеолиза. Классификация протеаз

с аминокислотным фондом крови. Последний пополняется аминокислотами, поступающими из кишечника при переваривании белков, гидролизе внутриклеточных белков и за счет синтеза заменимых аминокислот (рис. 5.1).

Основная масса аминокислот используется для синтеза собственных белков организма. Отсутствие или снижение количества даже одной аминокислоты приводит к нарушению синтеза белков и усиливает процессы распада внутриклеточных белков.

Из аминокислот синтезируются биологически активные молекулы, такие как биогенные амины. Некоторые аминокислоты, например глицин и глутамат, сами обладают регуляторной способностью, участвуя в проведении нервного импульса. Аминокислоты расходуются на образование гормонов, гема, креатина, карнитина, пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, других азотсодержащих соединений. Аминокислоты фонда могут лишаться аминогруппы (*дезаминирование*). Азот аминокислот выводится из организма почками в виде мочевины или солей аммония. Образовавшиеся безазотистые остатки аминокислот используются для синтеза глюкозы, кетонových тел или окисляются до CO_2 и H_2O .

5.2. Виды протеолиза. Классификация протеаз

Протеолиз — процесс гидролиза белков, катализируемый ферментами *протеазами*. *Ограниченный протеолиз* — процесс расщепления одной или нескольких пептидных связей в молекуле белка, что приводит к отщеплению участка полипептидной цепи. В результате изменяется функциональное состояние белка. При *неограниченном* (или *тотальном*) *протеолизе* в белке разрушаются все пептидные связи, в результате белок расщепляется до аминокислот.

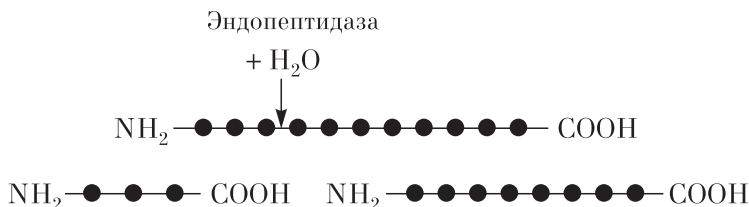
Протеолиз может протекать внутриклеточно и вне клеток. Он лежит в основе процессинга (созревания) белков. В частности, путем ограниченного протеолиза активируются ферменты желудочно-кишечного тракта, система свертывания крови, фибринолиз, комплемент, кининовая система, синтез гормонов (преобразование проопиомеланокортина, инсулина и др.).

Тотальный протеолиз позволяет преодолеть иммуногенность белков, способствует пополнению аминокислотного фонда и утилизации белков.

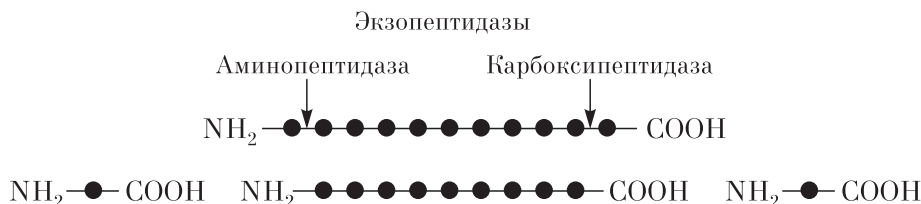
Классификация протеаз. Международный союз по биохимии и молекулярной биологии (International Union of Biochemistry and Molecular Biology, IUBMB, 1984) предложил термин «пептидаза» для подкласса ферментов гидролаз, действующих на пептидную связь (подкласс ЕС 3.4). Синонимичным названием является термин «протеаза».

В зависимости от места расположения гидролизуемой пептидной связи различают две группы протеолитических ферментов:

- *эндопептидазы (протеиназы)* — катализируют расщепление пептидной связи внутри целой молекулы белка (пепсин, трипсин, химотрипсин, эластаза);



- *экзопептидазы* — катализируют гидролиз пептидной связи и отщепление С-концевой (карбоксипептидазы) или N-концевой (аминопептидазы) аминокислоты.



Протеазы также классифицируются по компоненту активного центра, который имеет ключевое значение в связывании с субстратом и (или) катализе химической реакции. Это могут быть аминокислота или металл (табл. 5.1).

Таблица 5.1

Классификация протеаз

Класс	Примеры
Серин/треониновые	Трипсин, химотрипсин, субтилизин, эластаза, ферменты гемостаза, ферменты протеасом, катепсины А, G
Аспарагиновые	Пепсин, ренин, HIV протеаза, катепсины D, E
Цистеиновые	Бромелаин, папаин, катепсины, каспазы
Металлопротеазы	Термолизин, ангиотензинпревращающий фермент, карбоксипептидазы

5.2.1. Внутриклеточный протеолиз

В клетках широко распространены как ограниченный, так и тотальный протеолиз. Протеолитические ферменты локализованы в лизосомах и в цитоплазме клеток. Ферменты лизосом, катализирующие гидролиз белков, называются *катепсинами*. Известно около 20 катепсинов. Распад белков в лизо-

5.2. Виды протеолиза. Классификация протеаз

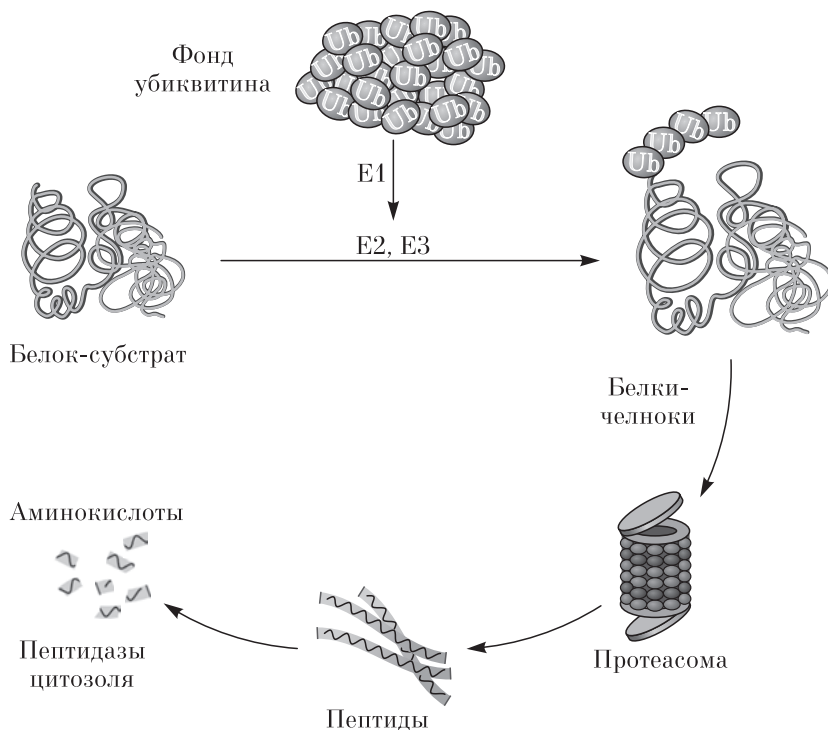


Рис. 5.2. Схема АТФ-зависимого внутриклеточного протеолиза:
E1 — Ub-активирующий фермент; E2 — Ub-конъюгирующий фермент; E3 — Ub-лигаза

сомах активируется при голодании, а также при сахарном диабете и других патологических состояниях.

Большинство (90 %) внутриклеточных белков (регуляторные белки с коротким периодом полураспада, аномальные белки или неправильно свернутые белки цитозоля) подвергается протеолизу в цитоплазме с участием **протеасом** — специальных частиц, которые представляют собой структурно организованные протеазы. Этот процесс идет с затратой АТФ и участием **убиквитина (Ub)** — белка, который присутствует во всех эукариотических клетках.

При этом к белку-мишени присоединяется несколько (четыре или больше) молекул убиквитина, после чего он переносится к протеасоме (рис. 5.2). В протеасоме белки распадаются до пептидов, которые высвобождаются в цитозоль и впоследствии прекращают свое существование под влиянием пептидаз.

5.2.2. Ингибиторы протеолиза

Ингибиторы протеаз созданы природой с целью ограничения действия протеолитических ферментов внутри и вне клеток. Наиболее широко распространены в организме сериновые протеазы, поэтому их ингибиторы также широко

встречаются в тканях. Такие ингибиторы получили название **серпины** (англ. **Serine Protease Inhibitor**). В табл. 5.2 приводятся примеры некоторых серпинов и ферментов, которые они ингибируют. Помимо серпинов, известны и другие ингибиторы.

Таблица 5.2

Примеры ингибиторов сериновых протеаз

Сериновая протеаза	Серпин
Химотрипсин	α_1 -Антихимотрипсин
Эластаза нейтрофилов	α_1 -Антитрипсин
Фактор X, тромбин	Антитромбин III
Плазмин	α_2 -Антиплазмин
Трипсин	Ингибитор трипсина из поджелудочной железы

5.3. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте

Белки пищи (70–100 г) и секретируемые в ЖКТ белки (20–30 г) перевариваются ферментами желудка, поджелудочной железы (*полостное пищеварение*) и ферментами мембран щеточной каймы (*пристеночное пищеварение*) до аминокислот, ди- и трипептидов. Последние в энтероците гидролизуются ди- и трипептидазами до аминокислот.

Ферменты ЖКТ обладают относительной **субстратной специфичностью**, и каждая пептидаза катализирует гидролиз пептидных связей, образованных определенными аминокислотами (рис. 5.3).

Переваривание белков в желудке. Под действием пепсина в желудке происходит гидролиз белков. Главные клетки желудка секретируют пепсиноген, а обкладочные клетки вырабатывают соляную кислоту. Пепсиноген при поступлении пищи секретируется в полость желудка, где сначала медленно, с помощью HCl, а затем быстро, аутокаталитически, отщепляя блокирующие пептиды, превращается в пепсин. Образовавшийся пепсин гидролизует пептидные связи в белках, образованные ароматическими аминокислотами (Фен, Трп, Тир) и дикарбоновыми аминокислотами (Глу, Асп). Пепсин — эндопептидаза, поэтому в результате его действия в желудке образуются более короткие пептиды, но не свободные аминокислоты.

Образование и роль HCl. Дioxid углерода (CO₂) диффундирует из крови в обкладочные клетки, где при участии карбоангидразы взаимодействует с водой с образованием угольной кислоты (H₂CO₃), которая является источником H⁺:



5.3. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте

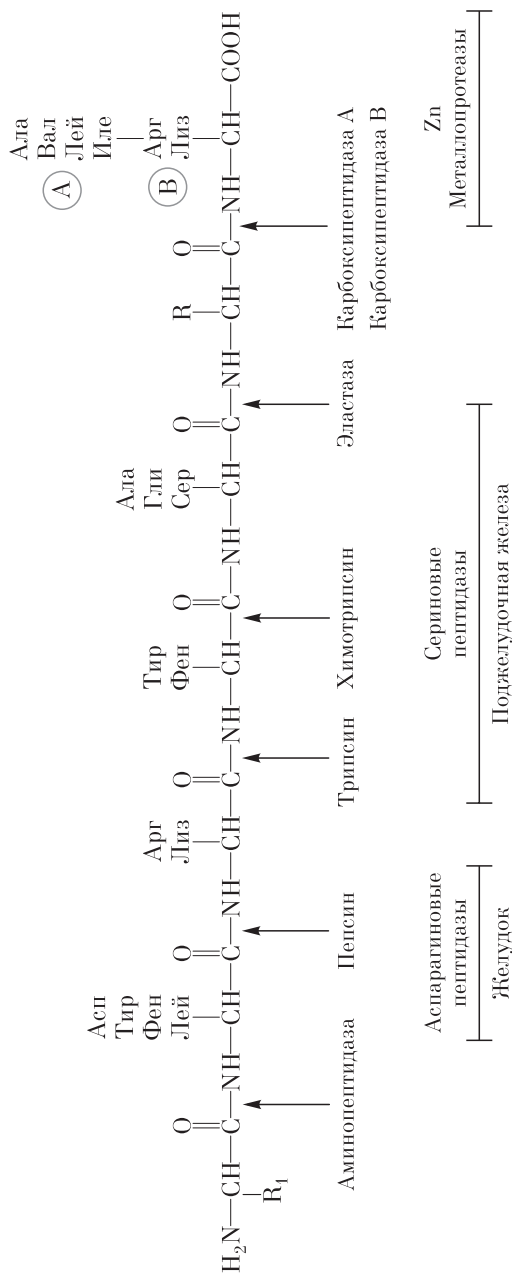


Рис. 5.3. Схема протеолиза пищевых белков в желудочно-кишечном тракте

Кроме того, диссоциация H_2CO_3 приводит к образованию бикарбонат-иона, который с участием специальных белков выделяется в плазму в обмен на Cl^- . Протоны соляной кислоты транспортируются мембранной H^+/K^+ -АТФазой из цитоплазматического пространства обкладочных клеток в просвет желудка. За счет этого концентрация протонов в желудке возрастает примерно в 10^6 раз. Хлорид-ионы следуют за активно секретируемыми протонами через хлорный канал в просвет желудка (рис. 5.4).

Соляная кислота желудочного сока важна для пищеварения. Ее действие в просвете желудка не ограничивается превращением пепсиногена в пепсин. Она создает и поддерживает рН-оптимум для пепсина, денатурирует пищевые белки, которые вследствие этого лучше расщепляются протеазами, обладает бактерицидным действием, регулирует работу пилорического отдела желудка, а попадая в двенадцатиперстную кишку, инициирует образование углекислого газа.

При нарушении выделения соляной кислоты и пепсиногена снижается эффективность переваривания белков. Для диагностики заболеваний желудка проводят анализ желудочного сока.

В норме рН желудочного сока составляет 1,5–2,0. Кислотность желудочного сока определяют титрованием 0,1н раствором NaOH и выражают в ммоль/л. При этом различают общую кислотность желудочного сока, связанную соляную кислоту и свободную соляную кислоту.

Общая кислотность желудочного сока — совокупность всех его кислых компонентов: свободной, связанной HCl, кислых фосфатов и органических кислот. В норме она составляет 40–60 ммоль/л.

Связанная соляная кислота — это соляная кислота, связанная с белками и продуктами их переваривания (норма 20–30 ммоль/л).

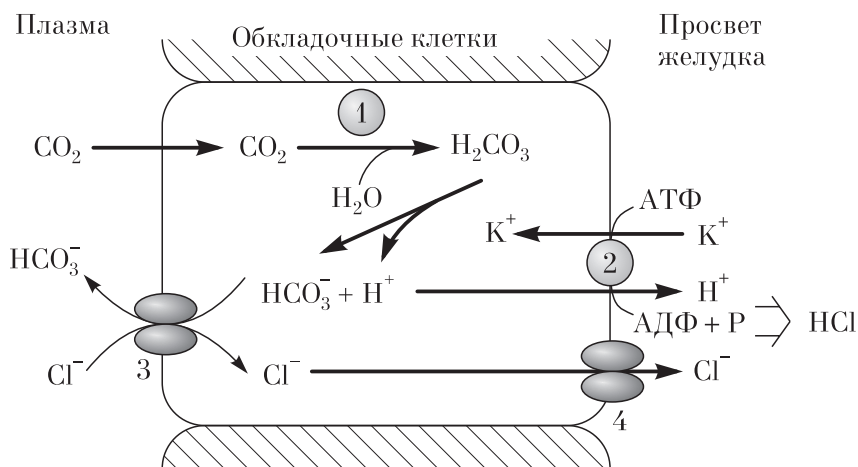


Рис. 5.4. Механизм образования соляной кислоты обкладочными клетками:
1 — карбоангидраза; 2 — H^+/K^+ -АТФаза

5.3. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте

Свободная соляная кислота — это соляная кислота, не связанная с другими молекулами (норма 20–40 ммоль/л).

Молочная кислота в нормальном желудочном соке не определяется, но ее можно обнаружить в отсутствие соляной кислоты, когда ее количество повышается в результате усиленного размножения молочнокислых бактерий или при злокачественных новообразованиях желудка.

Переваривание белков в кишечнике. Дальнейшее переваривание белков происходит под действием ферментов поджелудочной железы — трипсина, химотрипсина, эластазы, карбоксипептидаз А и В — и ферментов эпителия тонкого кишечника — аминопептидаз, дипептидаз, трипептидаз.

Активная форма трипсина образуется в кишечнике при участии фермента энтеропептидазы, секретируемого в просвет тонкого кишечника энтероцитами. Энтеропептидаза отщепляет от N-конца трипсиногена гексапептид, что приводит к изменению конформации молекулы и формированию активного центра трипсина. Трипсин гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильными группами основных (диаминомонокарбоновых) аминокислот (Лиз, Арг).

Имеет место своеобразный каскад превращений. Появление пептидов в кишечнике стимулирует секрецию холецистокинина и секретина (по химической структуре они тоже пептиды), которые, в свою очередь, активируют секрецию ферментов поджелудочной железы и энтеропептидазы клетками кишечника. Трипсин активируется энтеропептидазой аутокаталитически и одновременно активирует химотрипсиноген, проэластазу, прокарбоксипептидазы (рис. 5.5).

Химотрипсин гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильными группами ароматических аминокислот — Фен, Тир, Трп; эластаза — карбок-

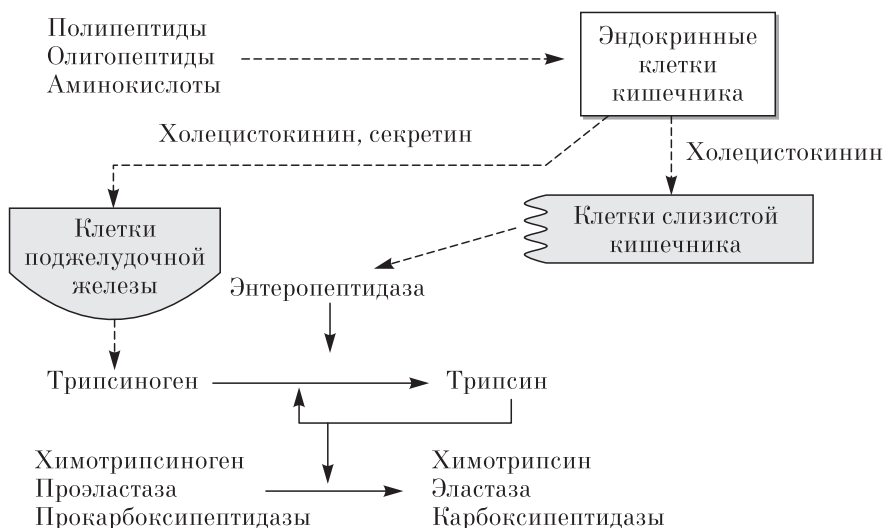


Рис. 5.5. Схема переваривания в тонком кишечнике продуктов, образовавшихся в результате расщепления белков в желудке при участии пепсина

сильными группами небольших алифатических аминокислот — Гли, Ала, Сер. Карбоксипептидаза А катализирует отщепление незаряженных и неполярных аминокислот (Ала, Вал, Лей, Иле) от С-конца пептидов, а карбоксипептидаза В — диаминомонокарбоновых или основных аминокислот (Лиз, Арг) от С-конца пептидов.

Завершение переваривания небольших пептидов до аминокислот происходит с участием ферментов кишечного сока. На люминальной поверхности клеток кишечного эпителия содержится лейцинаминопептидаза (катализирует отщепление N-концевых основных аминокислот и глицина), пролинаминопептидаза (отщепляет пролин), дипептидазы и трипептидазы, которые завершают полное расщепление белков.

При некоторых заболеваниях может происходить преждевременное активирование ферментов. Например, при язвенной болезни желудка пепсиноген может превратиться в пепсин в клетках слизистой желудка, а при остром панкреатите трипсин активируется в клетках поджелудочной железы.

Существует несколько механизмов, защищающих клетки, в которых синтезируются протеазы, от прямого действия ферментов. Прежде всего, протеазы синтезируются в неактивных (про-) формах, а активаторы пространственно отделены от мест синтеза. Например, трипсиноген синтезируется клетками поджелудочной железы, а энтерокиназа — основной активатор превращения трипсиногена в трипсин — в кишечнике. В клетках, синтезирующих пептидазы, низкий уровень ионов кальция — важного активатора протеаз. Вдобавок, ацинарные клетки поджелудочной железы синтезируют ингибитор трипсина. При активировании трипсина в ткани поджелудочной железы он может инактивировать до 20 % секретируемого фермента. Кроме того, внутренние поверхности желудка и кишечника покрыты *муцинами*. Эти гликопротеины слизи защищают эпителий пищеварительного тракта от разрушения ферментами.

Для «сдерживания» активности протеаз в кровотоке в печени синтезируются два ингибитора: α_1 -антитрипсин и α_2 -макроглобулин, которые секретируются в кровь и немедленно ингибируют там трипсин, поступающий из ацинарных клеток или протоков.

5.3.1. Превращения аминокислот в желудочно-кишечном тракте под действием микроорганизмов

Использование микроорганизмами непереваренных белков, продуктов их распада и аминокислот получило название «гниение» белков. Основные процессы, лежащие в основе гниения, — это протеолиз, дезаминирование, декарбоксилирование и укорочение боковых цепей у ароматических и гетероциклических аминокислот.

При участии бактериальных протеаз белки ротовой жидкости, белки и пептиды остатков пищи в межзубных промежутках и десневых карманах подвергаются гидролизу. В дальнейшем гнилостный распад аминокислот с участием

5.3. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте

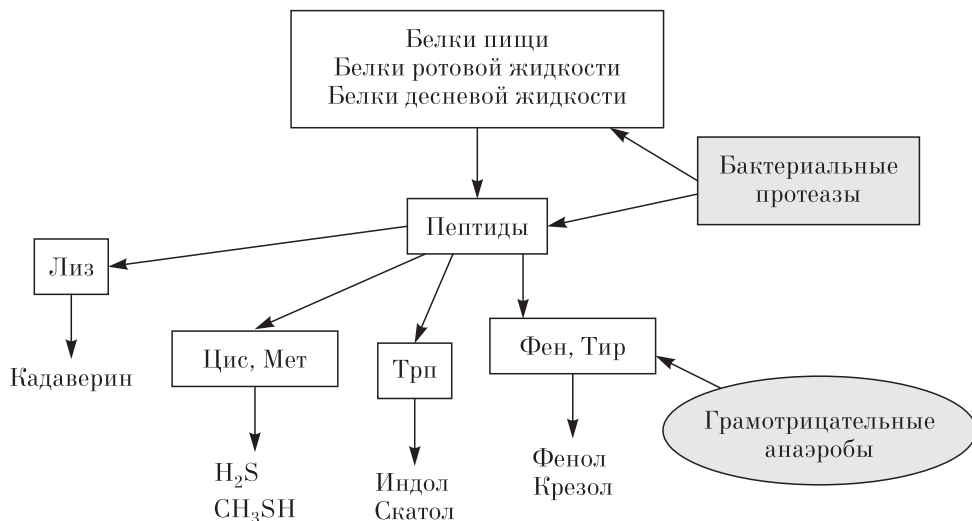
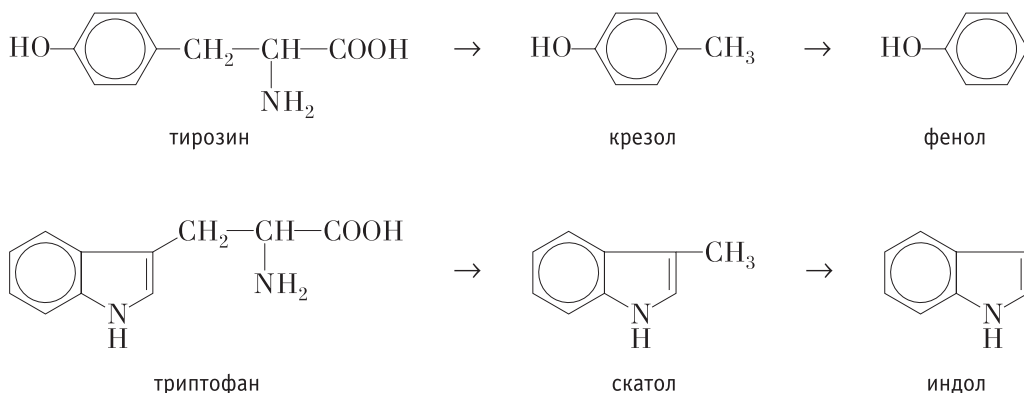


Рис. 5.6. Механизм образования соединений, обуславливающих неприятный запах изо рта

анаэробных микроорганизмов приводит к образованию летучих соединений, формирующих неприятный запах изо рта (рис. 5.6). Это состояние получило название *галитоз* (от лат. halitus — дыхание).

При распаде серосодержащих аминокислот (цистеина и метионина) образуются летучие сернистые соединения — диметилсульфид (CH_3SCH_3), сероводород (H_2S) и метилмеркаптан (CH_3SH). Диаминокислоты, в частности орнитин и лизин, подвергаются декарбоксилированию с образованием аминов путресцина и кадаверина (трупный яд).

При катаболизме ароматических аминокислот — фенилаланина, тирозина, триптофана — образуются токсические соединения, такие как крезол, фенол, скатол, индол, бензол.



В толстом кишечнике под действием ферментов микрофлоры процессы гниения подвергаются не полностью расщепившиеся белки и отдельные не всосавшиеся аминокислоты. При гниении белков образуется большое количество газообразных и не газообразных веществ. После всасывания эти продукты через воротную вену попадают в печень, где подвергаются обезвреживанию путем конъюгации (химического связывания) с 3-фосфоаденозин-5-фосфосульфатом (ФАФС, активированная форма серной кислоты) либо УДФ-глюкуроновой кислотой с образованием нетоксичных, хорошо растворимых в воде соединений. Подробно эти реакции рассмотрены в главе 12 «Биохимия печени».

5.3.2. Всасывание продуктов переваривания белков

При нормальном пищеварении только небольшая доля аминокислот подвергается в толстом кишечнике действию бактерий. Основная их масса всасывается в кровь и по воротной вене поступает в печень.

Всасывание происходит путем активного транспорта с участием переносчиков.

Существует два основных механизма переноса аминокислот: симпорт с натрием и γ -глутамильный цикл.

Работа некоторых белков-переносчиков зависит от ионов натрия, градиент которого (как и при всасывании глюкозы) обеспечивает перенос аминокислот через мембрану и требует затрат энергии АТФ (рис. 5.7). Аминокислота поступает в энтероцит путем симпорта с ионами Na^+ . Далее специфическая транслоказа переносит аминокислоту через мембрану в кровь. Обмен ионов натрия

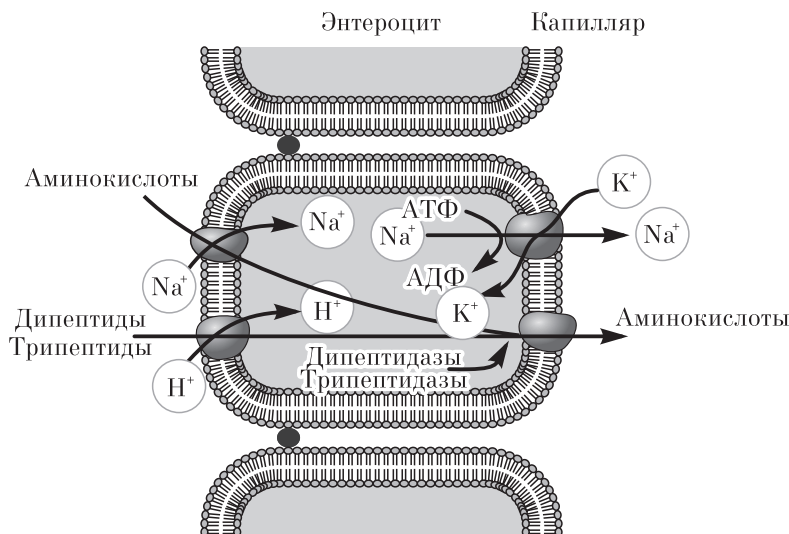


Рис. 5.7. Всасывание продуктов протеолиза в кишечнике

5.3. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте

между клетками и внеклеточным пространством осуществляется путем первично-активного транспорта с помощью Na^+/K^+ -АТФазы. Наличие общего транспортного механизма для углеводов и аминокислот может быть причиной их конкуренции при всасывании.

Некоторые ди- и трипептиды, которые не подверглись расщеплению мембранными ферментами, также могут всасываться. Их всасывание зависит от H^+ и обеспечивается специальным переносчиком (см. рис. 5.7).

В клетки почек, поджелудочной железы, печени и селезенки аминокислоты проникают при участии γ -глутамильного цикла (рис. 5.8). В основе его лежит реакция, катализируемая γ -глутамилтранспептидазой. Этот фермент — структурный компонент мембран. Он обеспечивает взаимодействие трипептида глутатиона с поступающей в клетку аминокислотой. Реакция с аминокислотой высвобождает цистеил-глицин из глутатиона, а образующийся комплекс γ -глутамил-аминокислота попадает в клетку и гидролизуется там с высвобождением переносимой аминокислоты. Глутамат при этом превращается в 5-оксопролин, а цистеил-глицин распадается до аминокислот. Последующие реакции включают энергозависимую регенерацию глутатиона, включающую превращение 5-оксопролина в глутаминовую кислоту (1 моль АТФ) и синтез трипептида (2 моля АТФ). Таким образом, этот процесс требует больших энергетических затрат, но обладает высокой скоростью.

У новорожденных возможно всасывание умеренных количеств непереваренных белков. Антитела материнского молока, представленные секреторными иммуноглобулинами (IgA), поступают в кровь из кишечника при помощи эндоцитоза с последующим экзоцитозом и обеспечивают пассивный иммунитет против инфекций. Процесс всасывания нерасщепленных белков с возрастом снижается, но и у взрослых людей небольшие количества белка могут абсорбироваться. Чужеродные белки, поступающие в кровь, способствуют образованию антител. Поэтому реакция на последующее поступление того же белка может вызвать симптомы аллергической реакции.

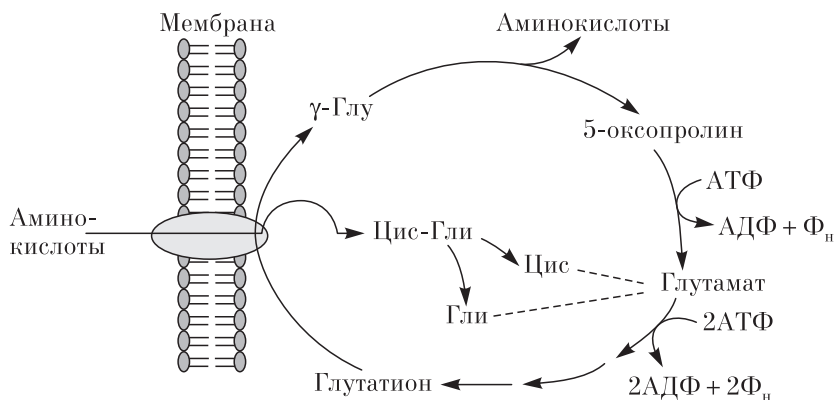


Рис. 5.8. Перенос аминокислот через мембрану с помощью γ -глутамильного цикла

5.4. Внутриклеточный обмен аминокислот

В основе различных путей обмена аминокислот лежат реакции, которые одинаковы для многих из них. К ним относят реакции *трансаминирования* и *дезаминирования*, *декарбоксилирования* и *активирования аминокислот* в синтезе белка.

Кроме этих общих путей, возможны реакции с участием углеводородного радикала, которые являются специфическими для каждой аминокислоты.

5.4.1. Трансаминирование

Трансаминирование (переаминирование) — реакция переноса аминогруппы с аминокислоты (донора) на α -кетокислоту (акцептор), в результате чего образуются новая кетокислота и новая аминокислота. Реакция обратима и катализируется *аминотрансферазами* (*трансаминазами*). Активная форма витамина В₆ (фосфопиридоксаль) является коферментом аминотрансфераз и выполняет функцию промежуточного переносчика аминогруппы между аминокислотой и кетокислотой (рис. 5.9).

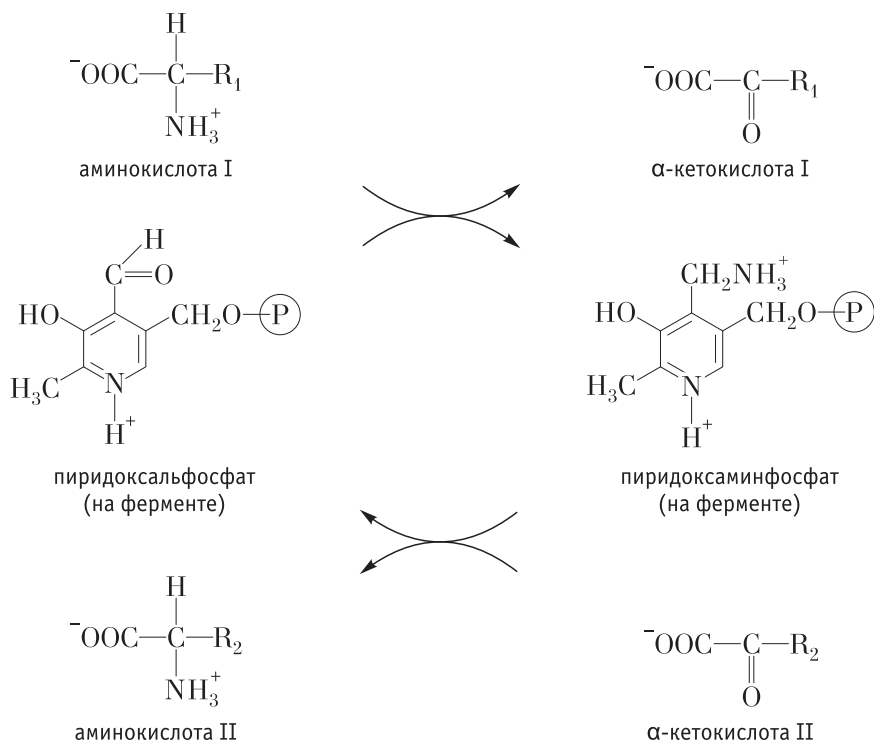


Рис. 5.9. Схема реакции трансаминирования

5.4. Внутриклеточный обмен аминокислот

Трансаминазы локализуются в цитозоле и митохондриях. Они катализируют переаминирование практически всех аминокислот. Исключение составляют *лизин*, *треонин* и *пролин*. Наиболее популярными акцепторами аминогруппы в таких реакциях выступают α -кетоглутарат, оксалоацетат и реже — пируват. Эти α -кетокислоты — нормальные метаболиты центральных метаболических путей. Наиболее распространенными аминотрансферазами являются (рис. 5.10):

1) *аспарагиновая трансаминаза*, или *аспартатаминотрансфераза*, или *глутаминощавелевоуксусная трансаминаза* (общепринятые сокращения *АСТ*, *АсАТ*, *ГОТ*);

2) *аланиновая трансаминаза*, или *аланинаминотрансфераза*, или *глутаминопировиноградная трансаминаза* (*АЛТ*, *АлАТ*, *ГПТ*).

Значение реакций переаминирования. Переаминирование играет важную роль в перераспределении аминогрупп между аминокислотами в пределах аминокислотного фонда и обеспечивает синтез нужных для клетки аминокислот, используя аминогруппы других аминокислот. Переаминирование обеспечивает связь обмена аминокислот с углеводным и энергетическим обменом. Значимость трансаминирования не ограничивается образованием новых аминокислот. Этот тип превращений является важнейшим этапом непрямого дезаминирования, о котором речь пойдет ниже.

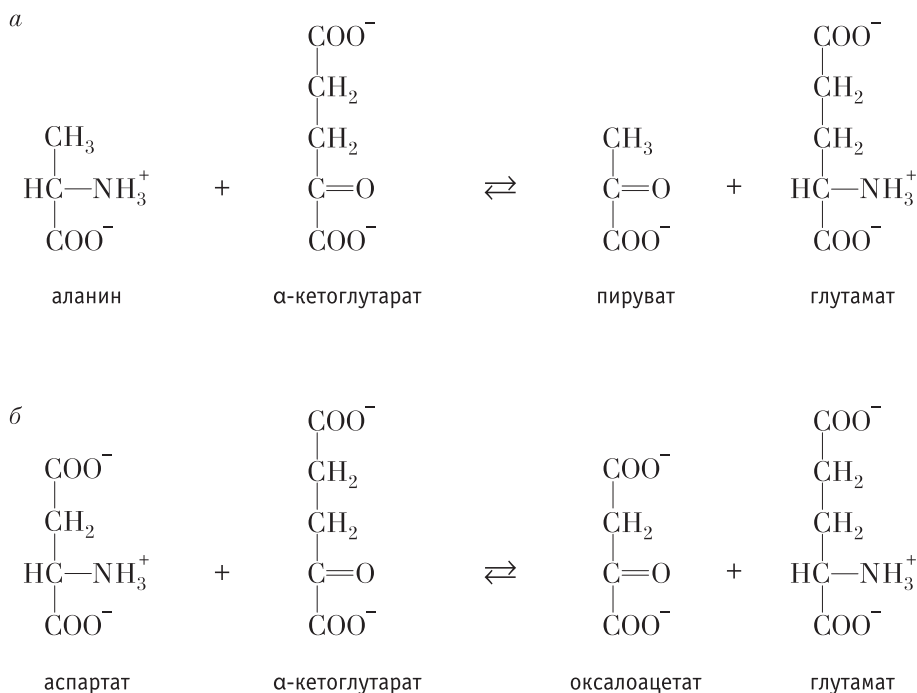


Рис. 5.10. Схема реакций, катализируемых аланиновой трансаминазой (*а*) и аспарагиновой трансаминазой (*б*)

Ввиду того что в клетках печени для катализа реакций трансаминирования преобладает активность АЛТ, а в клетках миокарда — активность АСТ, при повреждении этих органов и гибели клеток внутриклеточные ферменты поступают в кровь. Поэтому определение их активности в сыворотке крови используется для диагностики заболеваний сердечной мышцы и печени.

Изоферментами АСТ являются *цитозольная* и *митохондриальная* формы этого фермента. В печени, миокарде и большинстве других органов митохондриальная АСТ составляет 80 % массы фермента, в то время как в сыворотке крови — менее 12 %. При этом повышение активности митохондриальной АСТ в сыворотке крови отражает тяжесть заболевания, глубину повреждения клеток и позволяет прогнозировать его течение.

5.4.2. Дезаминирование аминокислот

Дезаминирование аминокислот — реакция отщепления α -аминогруппы от аминокислоты, в результате образуется соответствующая α -кетокислота и выделяется молекула аммиака. Дезаминирование бывает *прямым* и *непрямым*. Для животных тканей и большинства аэробных микроорганизмов самый распространенный вид прямого дезаминирования аминокислот — это *окислительное дезаминирование*.

Окислительное дезаминирование протекает в митохондриях и пероксисомах. В митохондриях дезаминированию подвергается глутаминовая кислота. В пероксисомах дезаминированию могут подвергаться и другие аминокислоты (рис. 5.11). Однако активность ферментов, которые катализируют этот процесс в пероксисомах (флавинзависимые *оксидазы L- и D-аминокислот*), у человека невелика.

Оксидазы аминокислот (L- и D-изомеров) являются сложными флавопротеинами, содержащими в качестве кофермента ФМН и ФАД, которые выполняют в этой реакции роль акцепторов двух электронов и протонов, отщепляющихся от аминокислота. рН оптимум действия находится в щелочной области (рН \approx 10,0). Восстановленные флавиннуклеотиды оксидаз L- и D-аминокис-

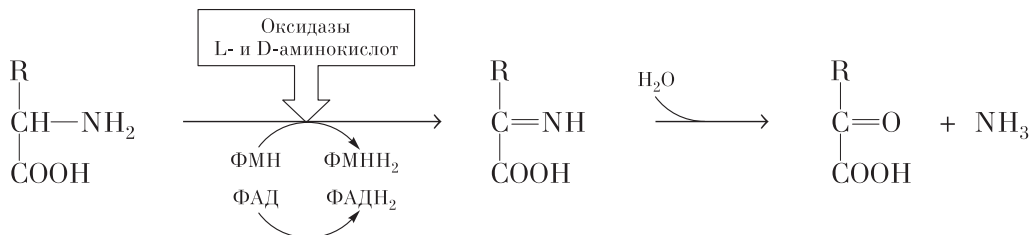
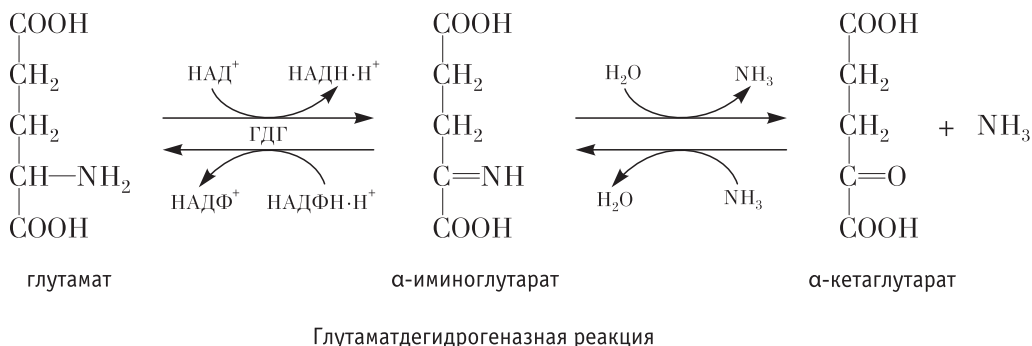


Рис. 5.11. Схема окислительного дезаминирования аминокислот L- и D-оксидазами (коферментом в составе оксидаз L-аминокислот является ФМН, а в составе оксидаз D-аминокислот — ФАД)

5.4. Внутриклеточный обмен аминокислот

лот могут непосредственно окисляться молекулярным кислородом. При этом образуется пероксид водорода, который подвергается расщеплению под действием каталазы на воду и кислород.

Окислительное дезаминирование глутамата. Наиболее активным ферментом, катализирующим отщепление аммиака путем окислительного дезаминирования, является *глутаматдегидрогеназа* (ГДГ). Процесс протекает в два этапа. На I этапе глутаматдегидрогеназа катализирует дегидрирование глутаминовой кислоты, и образуется промежуточный метаболит — иминоглутаровая кислота. Отщепленные водороды восстанавливают кофермент НАД⁺. На II этапе происходит спонтанный гидролиз связи в месте присоединения иминогруппы, и образуются продукты — аммиак и α-кетоглутаровая кислота. Глутаматдегидрогеназная реакция обратима. При повышении концентрации аммиака в клетке она может протекать в обратном направлении как восстановительное аминирование α-кетоглутарата. В отличие от дезаминирования, для обратного процесса — восстановительного аминирования — глутаматдегидрогеназа использует другой кофермент — НАДФН·Н⁺.



Глутаматдегидрогеназа (олигомер, состоящий из 6 субъединиц (полипептидных цепей)) очень активна в митохондриях клеток практически всех органов, кроме мышц. Она играет важную роль, так как является регуляторным ферментом аминокислотного обмена. Аллостерические ингибиторы глутаматдегидрогеназы (АТФ, ГТФ, НАДН·Н⁺) вызывают диссоциацию фермента и потерю глутаматдегидрогеназной активности. При высокой концентрации АДФ фермент активируется. Таким образом, низкий энергетический уровень в клетках стимулирует разрушение аминокислот и образование α-кетоглутарата, поступающего в ЦТК как энергетический субстрат. Синтез глутаматдегидрогеназы индуцируется стероидными гормонами (кортизолом).

Непрямое дезаминирование. Этот путь является основным в дезаминировании аминокислот и включает два этапа. На I этапе происходит переаминирование, на II — окислительное дезаминирование глутамата (глутаматдегидрогеназная реакция) (рис. 5.12). Смысл непрямого дезаминирования или, как

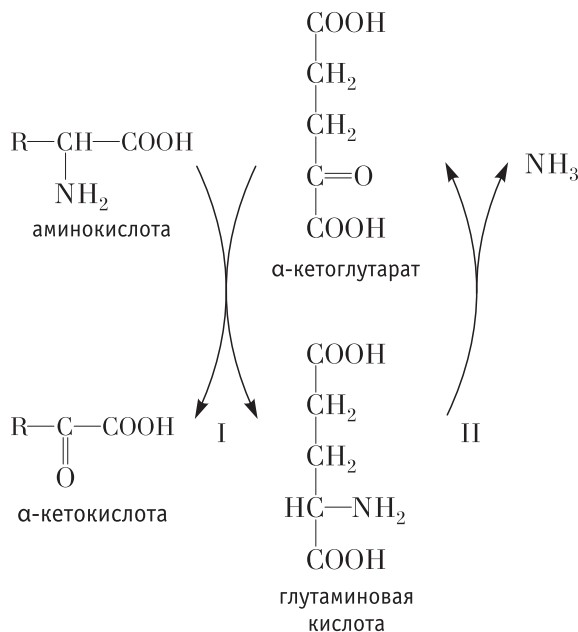


Рис. 5.12. Схема реакций непрямого дезаминирования (I — трансаминирование, II — окислительное дезаминирование)

его иногда называют, *трансдезаминирования*, заключается в том, что разные аминокислоты сначала превращаются в глутаминовую кислоту, а затем под влиянием глутаматдегидрогеназы подвергаются окислительному дезаминированию.

5.4.3. Судьба безазотистого остатка аминокислот

Потеря аминогруппы протеиногенными аминокислотами и последующий катаболизм безазотистого остатка ведут к образованию пирувата, α -кетоглутарата, сукцинил-КоА, фумарата, оксалоацетата, ацетил-КоА и ацетоацетил-КоА, которые вовлекаются в центральные метаболические пути.

Аминокислоты, которые превращаются в пируват, оксалоацетат, сукцинат и другие метаболиты цикла Кребса (рис. 5.13), могут использоваться в процессе глюконеогенеза. Такие аминокислоты относят к группе *глюкогенных аминокислот*.

Некоторые аминокислоты в процессе катаболизма превращаются в ацетоацетил-КоА (Лиз, Лей) или ацетил-КоА (Лей) и могут использоваться в синтезе кетонных тел. Такие аминокислоты называют *кетогенными*.

Ряд аминокислот используются и для синтеза глюкозы, и для синтеза кетонных тел, так как в процессе их катаболизма образуются как продукты лимоннокислого цикла, так и ацетоацетил-КоА (Трп, Фен, Тир) или ацетил-КоА (Иле). Такие аминокислоты называют *смешанными* или *гликокетогенными*.

5.4. Внутриклеточный обмен аминокислот

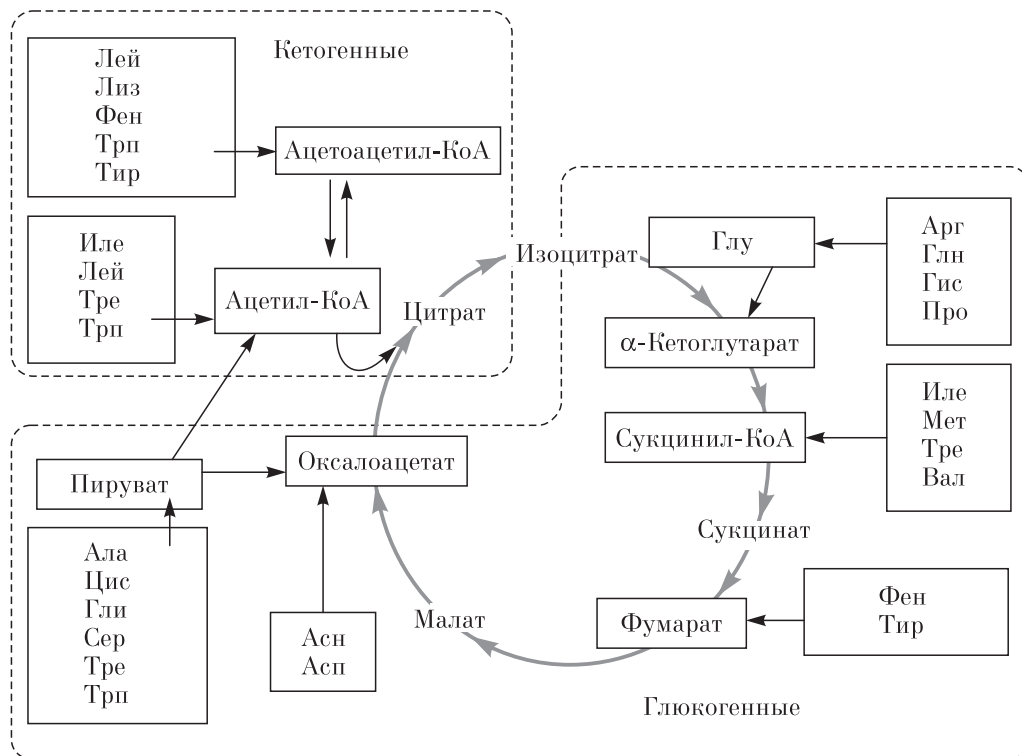


Рис. 5.13. Схема катаболизма безазотистого остатка аминокислот

Благодаря внутриклеточным превращениям аминокислот их безазотистые остатки становятся субстратами анаплеротических реакций. Например, из обмена углеводов хорошо известна реакция, катализируемая пируваткарбоксилазой, при которой пируват превращается в оксалоацетат. К анаплеротическим можно отнести и другие реакции, при которых аминокислоты превращаются в субстраты цикла Кребса.

5.4.4. Синтез аминокислот

В организме человека могут синтезироваться заменимые аминокислоты. Основным способом синтеза аминокислот является трансаминирование. Соответствующие им кетокислоты: пируват, оксалоацетат и α-кетоглутарат — образуются в процессе метаболических превращений глюкозы.

Глутамат также образуется в результате восстановительного аминирования α-кетоглутарата (см. с. 205). Такое превращение имеет место практически во всех тканях, кроме мышечной, но значимость его невелика, так как для глутаматдегидрогеназы предпочтительным субстратом является глутаминовая кислота и равновесие реакции сдвинуто в сторону образования α-кетоглутарата.

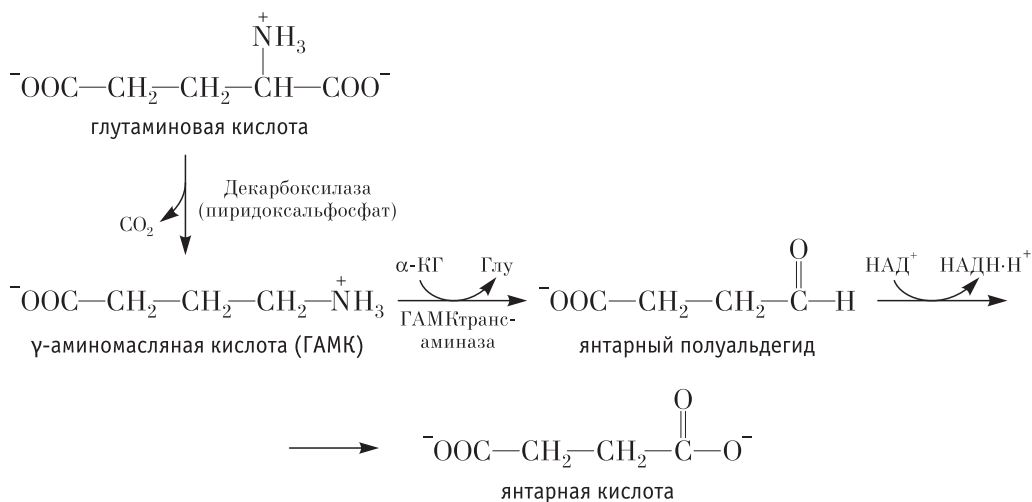
За счет амидирования Асп и Глу превращаются соответственно в аспаргин и глутамин. Пролин синтезируется из глутаминовой кислоты. Для синтеза серина используется продукт гликолиза — 3-фосфоглицерат. О синтезе аргинина будет упомянуто ниже, при описании орнитинового цикла синтеза мочевины (см. п. 5.5.1), а гистидин образуется из АТФ. Для синтеза Цис и Тир необходимы незаменимые аминокислоты — Мет и Фен.

5.4.5. Декарбоксилирование аминокислот

Если реакции дезаминирования и переаминирования лежат в основе процессов синтеза и распада аминокислот, то **декарбоксилирование** — пример использования аминокислот для синтеза биологически активных соединений. В тканях млекопитающих декарбоксилированию подвергаются аминокислоты или их производные: Трп Тир, Вал, Гис, Глу, Цис, Арг, орнитин, S-аденозилметионин, дофамин (ДОФА), 5-окситриптофан и др. Продуктами реакции являются CO_2 и амины, некоторые из них получили название *биогенные амины* из-за выраженного регуляторного влияния в организме. Среди них могут быть нейромедиаторы (серотонин, дофамин, ГАМК и др.), гормоны (норадреналин, адреналин), регуляторы местного действия (гистамин).

Реакции декарбоксилирования аминокислот катализируют декарбоксилазы. Их коферментом является пиридоксальфосфат. Такие реакции необратимы.

Глутаминовая кислота преобладает в аминокислотном фонде в организме. Одновременно она является наиболее распространенным возбуждающим нейромедиатором в нервной системе позвоночных. Кроме того, при ее декарбоксилировании образуется еще один нейромедиатор — γ -аминомасляная кислота (ГАМК).



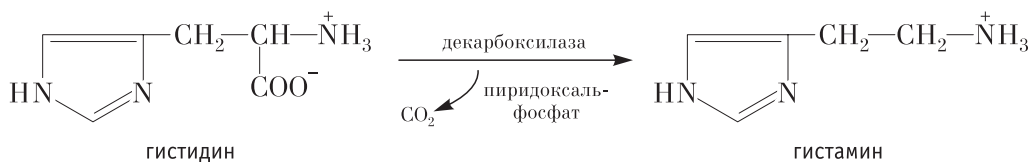
Синтез и распад ГАМК

5.4. Внутриклеточный обмен аминокислот

От 10 до 40 % нейронов коры, гипокампа и черной субстанции используют ГАМК в качестве медиатора торможения.

Существует несколько семейств рецептора ГАМК, но все они представляют собой лигандзависимые ионные каналы. После связывания рецептора с ГАМК происходит раскрытие канала и выход ионов хлора, что вызывает стойкую гиперполяризацию нейрона и торможение передачи потенциала действия.

Гистамин синтезируется путем декарбоксилирования *гистидина* при участии гистидиндекарбоксилазы.



Синтез гистамина из гистидина

Основное место синтеза — тучные клетки и некоторые клетки белой крови (базофилы и эозинофилы). Кроме того, он синтезируется нейронами мозга, где выполняет функцию нейромедиатора, и энтерохромаффинными клетками желудка. Образовавшийся гистамин в комплексе с белками содержится в секреторных гранулах.

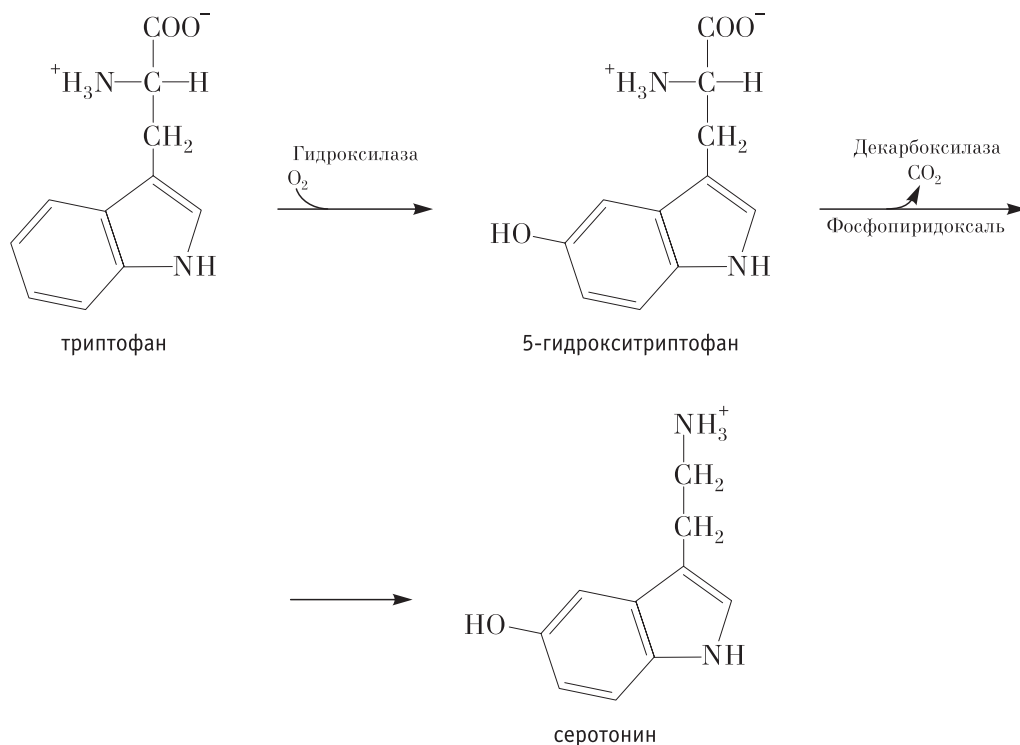
Наиболее частой причиной высвобождения гистамина из гранул являются иммунологические реакции. Он вызывает расширение кровеносных сосудов, увеличение их проницаемости и в результате — локальный отек тканей, что лежит в основе клинических проявлений сенной лихорадки, астмы, крапивницы. Системное высвобождение гистамина связывают с развитием анафилактической реакции.

К эффектам, связанным с Н₁-рецепторами, относятся также сужение просвета дыхательных путей, затруднение дыхания вплоть до удушья и сокращение гладких мышц желудочно-кишечного тракта.

Еще одним эффектом гистамина является стимулированная секреция кислоты в желудке. Кроме того, гистамин может увеличивать сократимость миокарда, частоту сердечных сокращений и проводимость в атриовентрикулярном узле.

Серотонин синтезируется путем декарбоксилирования 5-гидрокситриптофана, образующегося из триптофана. Эту реакцию катализирует гидроксилаза ароматических аминокислот. Этот же фермент, как мы увидим далее, катализирует гидроксилирование фенилаланина и превращение его в аминокислоту тирозин, а тирозина — в диоксифенилаланин (ДОФА).

У человека 90 % серотонина содержится в энтерохромаффинных клетках слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта. Остальное количество находится в тромбоцитах и ЦНС.



Синтез серотонина из триптофана

Серотонинергическая нейрональная система традиционно рассматривается как одно из главных звеньев эндогенной болеутоляющей системы. Кроме того, она принимает участие в регуляции поведения, эмоций, аппетита, температуры тела. Серотонин усиливает агрегацию тромбоцитов (кровь свертывается быстрее); участвует в воспалительной реакции (повышает проницаемость сосудов; усиливает миграцию лейкоцитов в очаг воспаления; усиливает выделение других медиаторов аллергии и воспаления); усиливает секрецию и перистальтику в желудочно-кишечном тракте; является стимулятором роста для некоторых бактерий кишечной флоры; является причиной тошноты, рвоты и диареи при химиотерапии злокачественных опухолей (из-за массивного выхода серотонина из гибнущих клеток слизистой желудка и кишечника); участвует в регуляции сократимости матки и маточных труб.

Катехоламины. Реакции декарбоксилирования аминокислот с участием активной формы витамина B_6 используются и в синтезе катехоламинов (рис. 5.14). К этой группе соединений относятся *дофамин*, *норадреналин* и *адреналин*. Основным субстратом для их образования служит тирозин, который, в свою очередь, может синтезироваться из фенилаланина. Реакция образования тирозина из фенилаланина катализируется тирозингидроксилазой.

5.4. Внутриклеточный обмен аминокислот

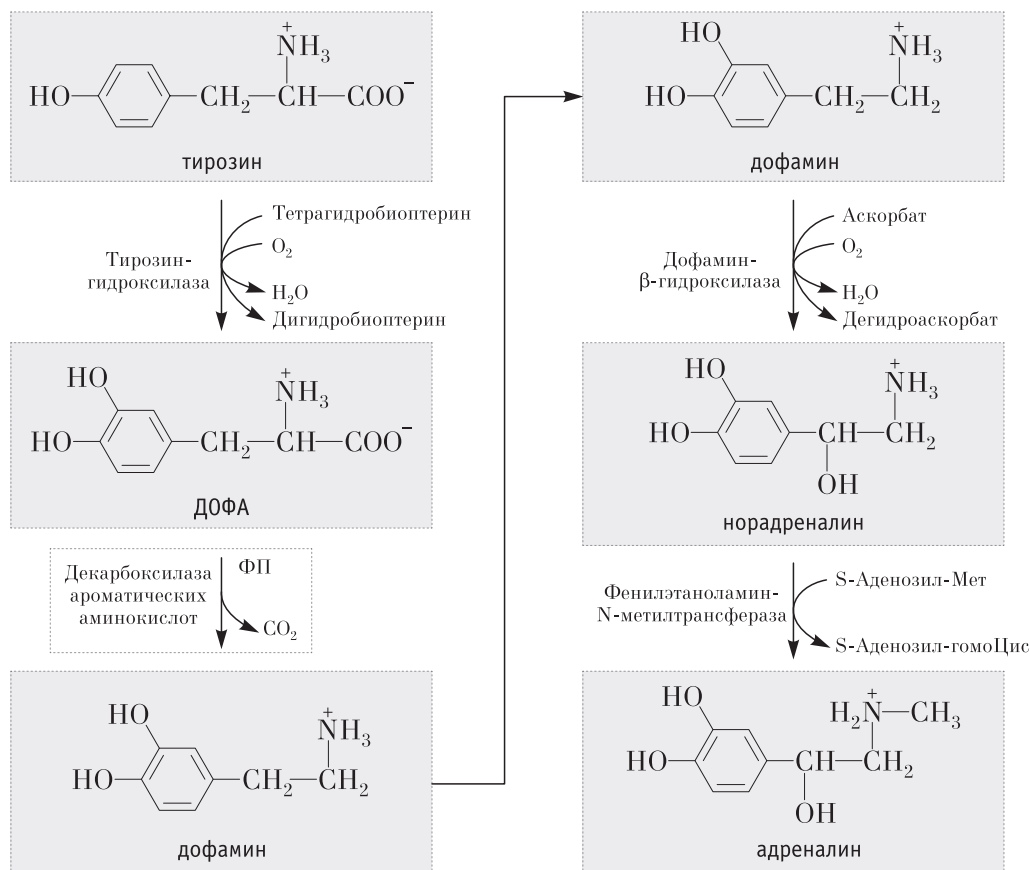


Рис. 5.14. Реакции синтеза катехоламинов: ФП — фосфопиридоксаль

Тирозингидроксилаза определяет скорость синтеза катехоламинов. *Норадреналин* — аллостерический ингибитор этого фермента. Продукт гидроксилирования тирозина диоксифенилаланин (ДОФА) декарбоксилируется при участии фосфопиридоксала (см. рис. 5.14) с образованием дофамина.

Дофамин — важный нейромедиатор среднего отдела мозга, нейроны которого управляют движениями. Эффекты дофамина обеспечиваются его взаимодействием со специфическими рецепторами.

В нейронах симпатической нервной системы дофамин может гидроксилироваться специфической гидроксилазой, коферментом которой служит аскорбиновая кислота, с образованием норадреналина. Норадреналин — медиатор торможения постганглионарных симпатических нейронов и медиатор возбуждения в клетках гипоталамуса. В клетках мозгового слоя надпочечников норадреналин метилируется с участием S-аденозилметионина (SAM) и превращается в *адреналин*.

Норадреналин и адреналин действуют непосредственно на эффекторные органы через группу рецепторов. Более подробно о сигнальных путях с участием катехоламинов см. главу 8 «Гормоны. Механизмы передачи гормональных сигналов».

В целом катехоламины отвечают за биохимические реакции адаптации к острым стрессам, связанным с мышечной активностью:

- стимулируют липолиз и продукцию жирных кислот в жировой ткани для мышечной активности;
- стимулируют глюконеогенез и гликогенолиз, способствуя повышению уровня глюкозы в крови;
- стимулируют гликогенолиз в мышечных клетках;
- активируют протеолиз в лимфоидной ткани для обеспечения глюконеогенеза необходимыми субстратами (аминокислотами);
- тормозят анаболические процессы, способствуя уменьшению секреции инсулина.

Инактивация биогенных аминов. В инактивации ГАМК принимает участие специфическая трансаминаза (см. с. 208). Норадреналин, серотонин, дофамин подвергаются окислительному дезаминированию, которое катализируется моноаминоксидазами (MAO), содержащими в качестве кофермента ФАД. При этом образуются соответствующие альдегиды, окисляемые далее в кислоты, которые покидают организм с мочой. Адреналин и гистамин чаще метилируются метилтрансферазами (катехол-О-метилтрансферазы — КОМТ) с участием активного метионина (S-аденозилметионин, SAM). Ингибиторы MAO широко используются для лечения депрессивных состояний и паркинсонизма.

5.5. Обмен аммиака

Аммиак постоянно образуется во всех тканях организма. Наиболее активными его продуцентами являются клетки нервной ткани, печени, кишечника, мышц. Помимо реакций прямого и непрямого дезаминирования, источником аммиака могут быть реакции дезаминирования амидов глутаминовой и аспарагиновой кислот — глутамина и аспарагина, катаболизм биогенных аминов, распад пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, жизнедеятельность бактерий толстого кишечника.

Аммиак является высокотоксичным соединением, поэтому концентрация его в организме должна сохраняться на низком уровне. Действительно, несмотря на активное образование аммиака большинством клеток, уровень его в крови относительно невысок и составляет 5–50 мкМ/л.

Аммиак — это газ, который легко проходит через мембраны. Вместе с тем он является активным акцептором протонов, поэтому легко превращается в ион аммония. Последний не проходит через мембраны и подлежит удалению из клеток посредством превращения в транспортные формы.

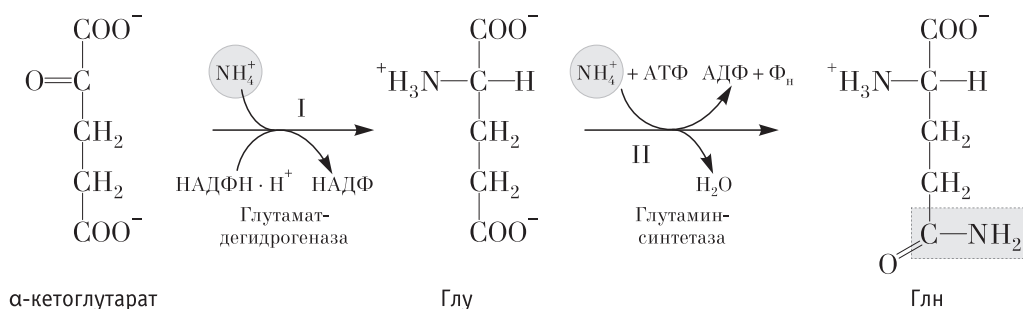
5.5. Обмен аммиака

5.5.1. Связывание аммиака, транспорт и обезвреживание в почках

Реакции, обеспечивающие связывание аммиака в тканях:

- восстановительное аминирование α -кетоглутарата;
- синтез амидов — глутамина и аспарагина;
- глюкозо-аланиновый цикл.

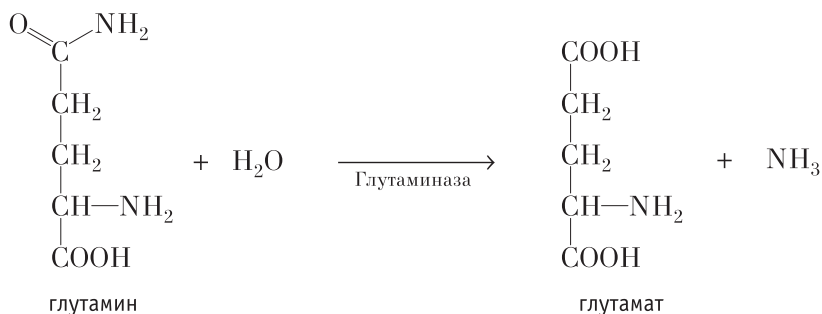
Основной транспортной формой аммиака является *глутамин*, который может синтезироваться из α -кетоглутарата в два этапа.



Реакции синтеза глутамина в клетках

На I этапе происходит восстановительное аминирование, катализируемое глутаматдегидрогеназой. На II этапе синтезируется глутамин с помощью глутаминсинтетазы. Глутаминсинтетаза — один из основных регуляторных ферментов обмена аминокислот. Его аллостерическими ингибиторами являются АМФ, глюкозо-6-фосфат, а также аминокислоты — Гли, Ала и Гис.

Глутамин легко транспортируется через клеточные мембраны путем облегченной диффузии и таким образом поступает из тканей в кровь. Основными тканями-поставщиками глутамина служат мышцы, мозг и печень. С током крови глутамин транспортируется в печень и почки. В почках при помощи глутаминазы происходит высвобождение аммиака. Здесь он присоединяет к себе протон водорода и становится ионом аммония (NH_4^+).



Секреция клетками почечных канальцев в мочу образующегося катиона аммония играет важную роль в регуляции кислотно-щелочного равновесия и защите организма от излишней потери ионов Na^+ и K^+ , которые задерживаются в клетках в обмен на выведение ионов аммония. Решающим фактором регуляции секреции является величина pH крови. **В норме** она составляет **7,4**. Если pH сдвигается в кислую область (*ацидоз*), то выведение ионов аммония усиливается. Это происходит за счет индукции синтеза глутаминазы, активность которой при ацидозе возрастает. Образовавшийся свободный аммиак, соединяясь с ионом водорода, превращается в плохо диффундирующий аммонийный катион NH_4^+ , не способный вновь вернуться в клетку стенки канальца. Таким образом, аммиак нейтрализует кислые продукты обмена и в виде аммонийных солей экскретируется с мочой. **В норме** выводится около **0,5 г солей аммония в сутки**. При сдвиге pH в щелочную область (*алкалоз*) выведение аммиака, напротив, подавляется.

Помимо транспортной формы аммиака, глутамин служит донором аминогрупп для синтеза многих азотсодержащих соединений (пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, аспарагина, аминоксахаров и других соединений).

В отличие от глутамина, образование аспарагина занимает в клетках небольшое место. Аспарагинсинтетаза катализирует этот процесс, используя аминогруппу глутамина (рис. 5.15).

Фермент обнаружен практически во всех клетках, за исключением клеток лимфоидного ряда. Далее аспарагин поступает из клеток в плазму крови.

Из мышц аммиак выводится преимущественно в виде аланина. Дальнейшую судьбу аланина иллюстрирует так называемый *глюкозо-аланиновый цикл* (рис. 5.16). Из мышц аланин попадает в кровь, а оттуда он поглощается клетками печени. Там посредством трансаминирования и последующего глюконеогенеза из аланина образуется глюкоза, которая с током крови поступает в мышцы.

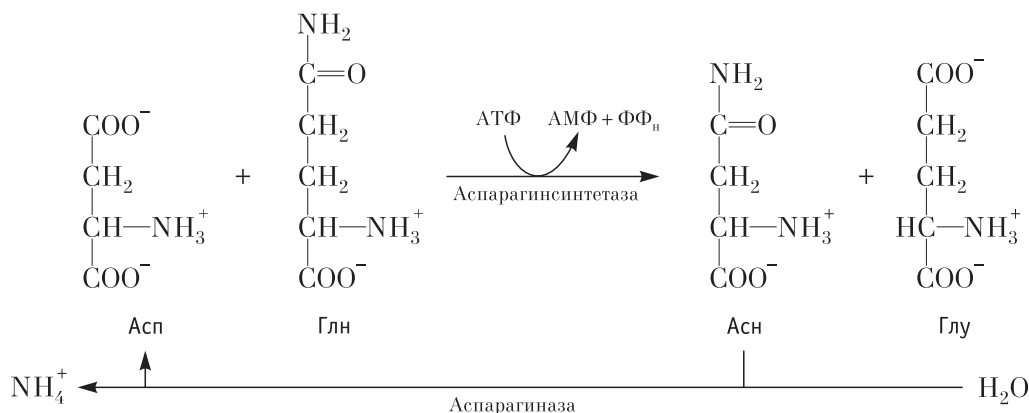


Рис. 5.15. Образование и дезаминирование аспарагина

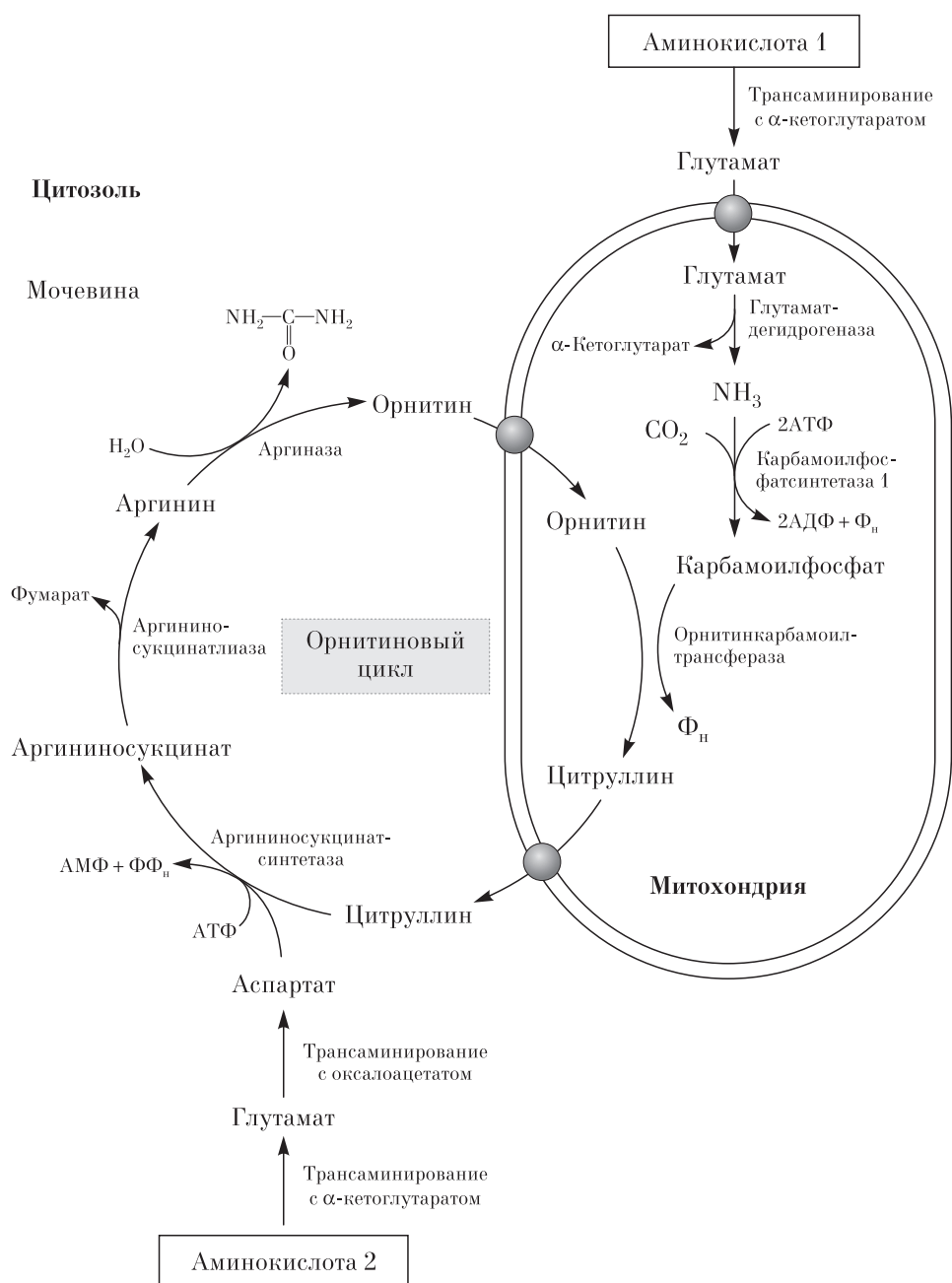


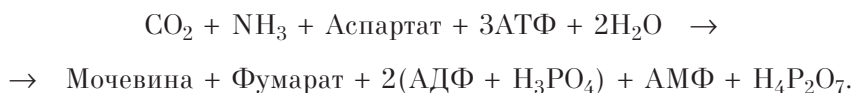
Рис. 5.17. Орнитиновый цикл в образовании мочевины

5.5. Обмен аммиака

В цитозоле аргининосукцинатсинтетаза связывает цитруллин с аспартатом и образует аргининосукцинат (аргинино-янтарную кислоту). Этот фермент нуждается в ионах Mg^{2+} . В реакции затрачивается 1 АТФ, при этом используется энергия двух макроэргических связей. Аспартат — источник второго атома азота мочевины.

На следующем этапе фермент аргининосукцинатлиаза (аргининосукциназа) расщепляет аргининосукцинат на аргинин и фумарат, и аминогруппа аспартата оказывается в молекуле аргинина. Аргинин подвергается гидролизу под действием аргиназы, при этом образуются орнитин и мочевина. Кофакторами аргиназы являются ионы Ca^{2+} или Mn^{2+} . Высокая концентрация орнитина и лизина, являющихся структурными аналогами аргинина, подавляет активность этого фермента. Образующийся орнитин возвращается в митохондрию и взаимодействует с новой молекулой карбамоилфосфата, замыкая цикл.

Суммарное уравнение синтеза мочевины:



Аспарагиновая кислота и фумарат являются молекулами, которые связывают орнитиновый цикл с циклом трикарбоновых кислот (рис. 5.18).

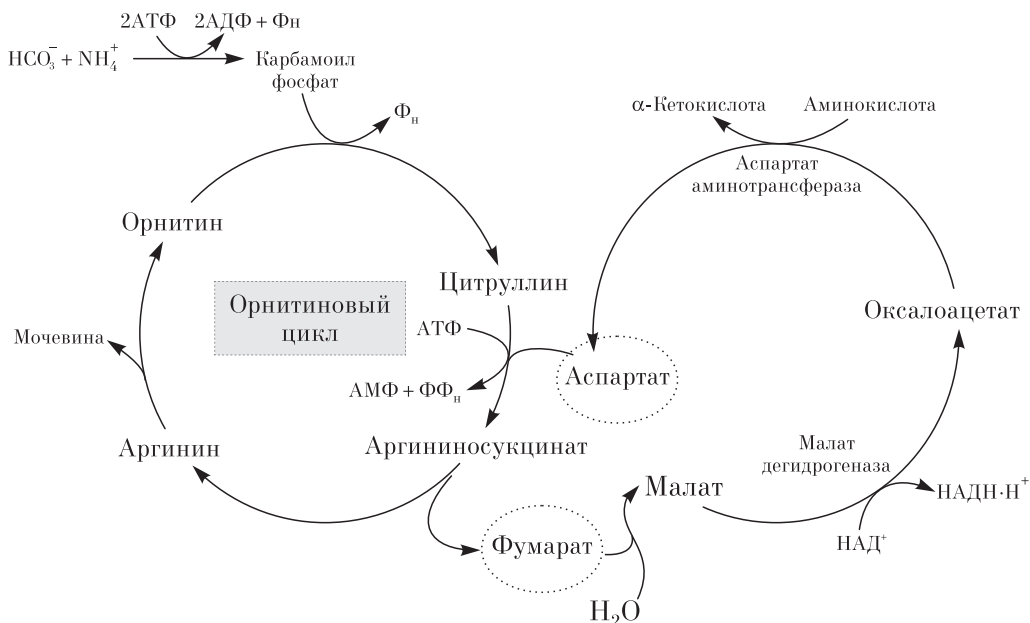


Рис. 5.18. «Двухколесный велосипед Кребса». Взаимосвязь орнитинового цикла и цикла трикарбоновых кислот

Фумарат при участии гидратазы присоединяет молекулу воды и превращается в малат, который в обмен на α -кетоглутарат поступает в митохондрию и окисляется с помощью малатдегидрогеназы в оксалоацетат. Оксалоацетат получает аминогруппу от глутамата (реакцию катализирует аспаратамино-трансфераза) и превращается в аспарат. Последний, обмениваясь на глутамат, выходит в цитозоль и вновь участвует в образовании мочевины.

Регуляция синтеза мочевины. Различают *быстрый* и *медленный* способы регуляции. Важнейшим аллостерическим регулятором карбамоилфосфатсинтетазы I является N-ацетилглутаминовая кислота. Практически это соединение определяет работу карбамоилфосфатсинтетазы. Дефект фермента, синтезирующего N-ацетилглутамат, не совместим с жизнью для человека.

Усиление синтеза ферментов орнитинового цикла наблюдается при высоком содержании белков в диете, при голодании (усиленный распад белков). При этом увеличивается и синтез фермента, катализирующего образование N-ацетилглутамата.

5.6. Остаточный азот крови

Сумма всех низкомолекулярных азотсодержащих веществ в крови, которые остаются в надосадочной жидкости или фильтрате после удаления белков плазмы, получила название *остаточный азот сыворотки крови*. Он представлен, главным образом, продуктами обмена белков и нуклеиновых кислот. Основным его компонентом является мочевина (около 50 %). Затем следуют аминокислоты (около 25 %), креатин и креатинин (до 7,5 %), пептиды, нуклеотиды и азотистые основания (около 5 %), мочевая кислота (до 4 %), аммиак и индикан (0,5 %).

Увеличение уровня остаточного азота (*азотемия*) может быть *абсолютным*, связанным с действительным накоплением азотистых компонентов в крови, и *относительным*, связанным с дегидратацией. В свою очередь, абсолютная азотемия может быть *ретенционной* и *продукционной*. Ретенционная азотемия возникает в результате задержки выведения азотсодержащих соединений (например, при заболеваниях почек). Продукционная выявляется при всех состояниях, связанных с увеличением распада белка. От ретенционной азотемии ее отличает повышение содержания аминокислот в крови, а также одновременное накопление азотистых компонентов в крови и моче.

Гипераммониемия — повышение содержания аммиака в крови вследствие нарушения процессов обезвреживания аммиака. Причинами гипераммониемии могут быть врожденные дефекты ферментов орнитинового цикла, которые встречаются довольно редко. Значительно чаще гипераммониемия наблюдается при заболеваниях печени (цирроз, гепатит и др.). Для диагностики гипераммониемии определяют уровень аммиака в крови, метаболитов орнитинового цикла в крови и моче, активность ферментов в биоптатах печени.

5.6. Остаточный азот крови

Клинически гипераммониемия сопровождается симптомами, указывающими на преимущественное нарушение функции нейронов: головокружение, судороги, потеря сознания, отек мозга. Это свидетельствует о токсическом действии аммиака преимущественно на нервную систему. Причинами могут быть высокая проницаемость гемато-энцефалического барьера для аммиака, использование α -кетоглутарата для синтеза глутаминовой кислоты (нарушение обеспечения энергией), изменение соотношения аминокислот. Относительное защелачивание крови ионами NH_4^+ приводит к повышению сродства гемоглобина к кислороду и способствует развитию гипоксии тканей.

Химия и обмен нуклеопротеинов

На протяжении многих лет механизмы метаболизма нуклеопротеинов являются предметом исследований с целью вмешательства в такие процессы, как деление клетки, генная терапия, клонирование, искусственный синтез структур организма человека и т.д. Настоящая глава посвящена механизмам метаболизма нуклеопротеинов и их роли в процессах жизнедеятельности клеток.

6.1. Мономеры нуклеиновых кислот

Впервые нуклеиновую кислоту выделил Ф. Мишер в 1868 г. из клеток гноящейся раны. Он назвал это соединение *нуклеином*. В 1882 г. А. Коссель показал существование двух типов нуклеиновых кислот — РНК и ДНК, а к 1906 г. он выделил четыре азотистых основания, входящих в состав нуклеиновых кислот. В 1910 г. за эти открытия ему была присуждена Нобелевская премия.

Большая часть нуклеиновых кислот связана с белками, образуя нуклеопротеины, которые расположены в разных частях клетки. *Дезоксирибонуклеопротеины (ДНП)* сосредоточены главным образом в ядре клетки и в очень небольших количествах встречаются в цитозоле и митохондриях, а *рибонуклеопротеины (РНП)* выполняют свои функции преимущественно в цитозоле. И те и другие в качестве небелкового компонента содержат нуклеиновые кислоты.

Подобно полисахаридам и белкам, нуклеиновые кислоты состоят из мономеров. Ими являются *моонуклеотиды*, которые, соединяясь друг с другом, формируют цепи олиго- и полинуклеотидов (нуклеиновых кислот). Моонуклеотид состоит из трех компонентов:

- азотистого основания;
- пентозы;
- от 1 до 3 остатков фосфорной кислоты.

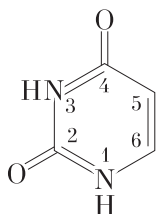
Среди множества азотистых оснований природа выбрала производные пурина: аденин (6-аминопурин) и гуанин (2-амино-6-оксопурин) — и произ-

6.1. Мономеры нуклеиновых кислот

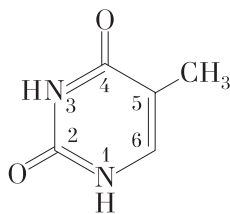
водные пириимидина: цитозин (2-оксо-4-аминопириимидин), урацил (2,4-диоксопириимидин) и тимин (5-метилурацил).

Они были названы *главными*, а производные этих оснований, которые присутствуют в незначительных количествах, — *минорными*. К пуриновым минорным основаниям относятся: инозин, N₆-метиладенин, N₂-метилгуанин, ксантин, гипоксантин и др. К пириимидиновым минорным основаниям относятся: 5-метил- и 5-окси-метилцитозин, дигидроурацил, 1-метилурацил, оротовая кислота и др.

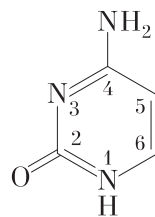
Пириимидиновые



урацил (U)

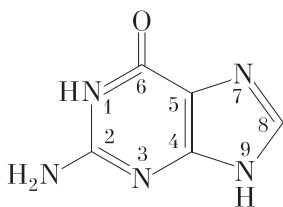


тимин (T)

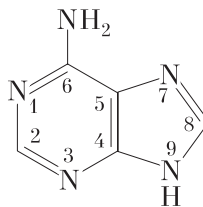


цитозин (C)

Пуриновые



гуанин (G)

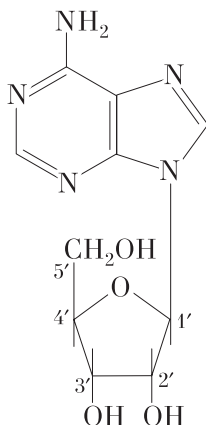


аденин (A)

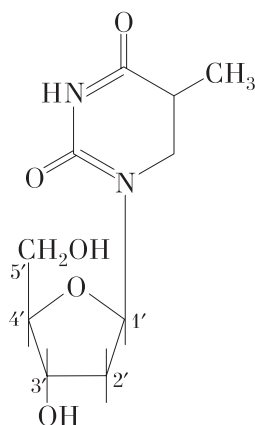
Все оксопроизводные азотистых оснований могут существовать в лактимной (енольной) и лактамной (кетонной) форме. При физиологических значениях pH превалирует лактамная форма.

Азотистые основания поглощают свет в УФ-области спектра с максимумом при длине волны 260 нм. Это свойство используется для количественного определения нуклеиновых кислот.

Гетероциклические основания, связываясь с пентозой, образуют *нуклеозид*. Пентоза соединяется с азотистым основанием N-гликозидной связью, которая образуется между C_{1'}-атомом пентозы и N₁-атомом пириимидина или N₉-атомом пурина. При нумерации атомов в составе азотистого основания используют цифры 1, 2, 3 и т.д., тогда как в пентозе — 1', 2', 3', и т.д. По свойствам нуклеозиды гидрофильны.



аденозин



2'-дезокситимидин

Название нуклеозидов складывается из названия азотистого основания, изменяя окончание у пуринов на **-озин**, а у пиримидинов — на **-идин**.

Если к гидроксильным группам пентоз нуклеозида присоединить остаток(ки) фосфорной кислоты, образуется мононуклеотид.

В зависимости от числа имеющихся в молекуле нуклеотида остатков фосфорной кислоты различают моно-, ди- и трифосфаты нуклеозидов. Остатки фосфорной кислоты обозначаются соответственно α , β и γ . Введение β -остатка и γ -остатка повышает свободную энергию реакции гидролиза таких соединений до 50 кДж/моль (макроэрги). Это количество энергии сохраняется в нуклеозидтрифосфатах и может быть использовано для проведения сопряженных химических реакций, потребляющих энергию в клетке.

Название мононуклеотида состоит из названия нуклеозида, указания места присоединения и числа остатков фосфорной кислоты. В названии мононуклеотидов, содержащих дезоксирибозу, используется дополнительная приставка **дезокси-** или **д-** (табл. 6.1).

Таблица 6.1

Состав и номенклатура нуклеозидов и нуклеотидов

Азотистое основание	Нуклеозид (азотистое основание + рибоза или дезоксирибоза)	Нуклеотид (нуклеозид + Φ_n)
Аденин	Аденозин Дезоксиаденозин (д-аденозин)	Аденозинмонофосфат (АМФ), адениловая кислота Дезоксиаденозинмонофосфат (дАМФ)
Гуанин	Гуанозин Дезоксигуанозин (д-гуанозин)	Гуанозинмонофосфат (ГМФ), гуаниловая кислота Дезоксигуанозинмонофосфат (дГМФ)

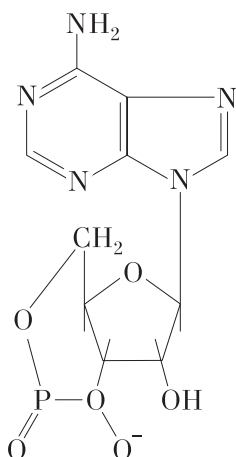
6.1. Мономеры нуклеиновых кислот

Окончание табл. 6.1

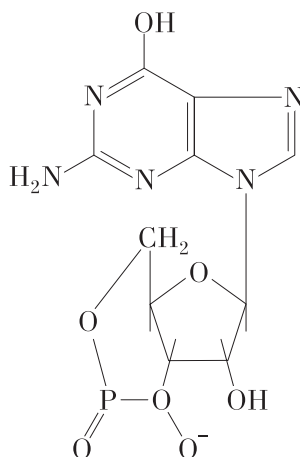
Азотистое основание	Нуклеозид (азотистое основание + рибоза или дезоксирибоза)	Нуклеотид (нуклеозид + Φ_n)
Урацил	Уридин	Уридинмонофосфат (УМФ), уридиловая кислота
Тимин	Дезокситимидин (д-тимидин)	Дезокситимидинмонофосфат (дТМФ)
Цитозин	Цитидин Дезоксицитидин (д-цитидин)	Цитидинмонофосфат (ЦМФ), цитидиловая кислота Дезоксицитидинмонофосфат (дЦМФ)
Гипоксантин	Инозин	Инозинмонофосфат (ИМФ), инозиновая кислота

Специфические функции мононуклеотидов. Мононуклеотиды выполняют специфические функции. Во-первых, они используются в качестве *субстратов* для синтеза рибонуклеиновой кислоты (АТФ, ГТФ, УТФ, ЦТФ) или дезоксирибонуклеиновой кислоты (дАТФ, дГТФ, дТТФ, дЦТФ). Во-вторых, входят в состав ряда коферментов: НАД(Ф)⁺, ФАД, HS-KoA, 5-дезоксаденозилкобаламина. В-третьих, участвуют в реакциях запасаения и использования энергии (АТФ, ГТФ, УТФ и т.д.) и являются аллостерическими регуляторами активности ферментов. Нуклеотиды также используются для образования активных форм углеводов (УДФ-глюкозы), азотистых оснований (ЦДФ-холина), сульфата (ФАФС) и метионина (SAM).

Циклические мононуклеотиды. При образовании еще одной фосфоэфирной связи между гидроксильной группой 3'-углеродного атома рибозы и OH-группой фосфорной кислоты образуется *циклический мононуклеотид* (цАМФ, цГМФ). Циклическим его называют потому, что остаток фосфата замыкает кольцо между 3'- и 5'-углеродными атомами одной и той же пентозы.



циклический 3',5'-АМФ (цАМФ)



циклический 3',5'-ГМФ (цГМФ)

Циклические мононуклеотиды образуются при помощи специальных ферментов — нуклеотидциклаз — из соответствующих нуклеозидтрифосфатов. Основные функции циклических нуклеотидов — передача и усиление молекулярного сигнала при действии гормонов, цитокинов и др.

Дидезоксинуклеотиды нашли широкое использование в исследовании первичной структуры ДНК. В их состав вместо обычной дезоксирибозы (2-дезоксирибозы) входит 2,3-дидезоксирибоза. При использовании дидезоксирибонуклеозидтрифосфатов в искусственной системе синтеза ДНК они останавливают ее синтез.

6.2. Структурная организация и функции нуклеиновых кислот

При соединении мононуклеотидов при помощи *фосфодиэфирной связи* между 3'-углеродным атомом пентозы одного нуклеотида и 5'-углеродным атомом пентозы другого образуются **полинуклеотиды**. Их молекулярная масса может достигать десятков миллионов а.е.м.

Молекулы полинуклеотидов имеют *нитевидную структуру*. В основе этих нитей лежит однообразно повторяющаяся последовательность из пентозы и остатка фосфорной кислоты, а основания, подобно радикалам аминокислот в полипептиде, находятся на внешней части цепей. Как и у белков, последовательность чередования мононуклеотидов в молекуле называют **первичной структурой полинуклеотида (нуклеиновой кислоты)** (рис. 6.1).

Соединение мононуклеотидов в клетке катализируется *полимеразами*. Эти ферменты используют нуклеозидтрифосфаты в качестве субстратов для образования нуклеиновых кислот. При этом между нуклеотидами формируется 3',5'-фосфодиэфирная связь.

Таблица 6.2

Особенности нуклеиновых кислот

Признак	ДНК	РНК
Месторасположение в клетке	Ядро, небольшое количество в цитозоле	Цитозоль, небольшое количество в ядре
Сахар	Дезоксирибоза	Рибоза
Главные основания	А, Г, Ц, Т	А, Г, Ц, У
Молекулярная масса	$> 10^9$	$2 \times (10^5 - 10^9)$
Функция	Хранение и передача генетической информации	Синтез белков
Форма вторичной структуры молекулы	Двойная спираль	Одноцепочечная молекула

6.2. Структурная организация и функции нуклеиновых кислот

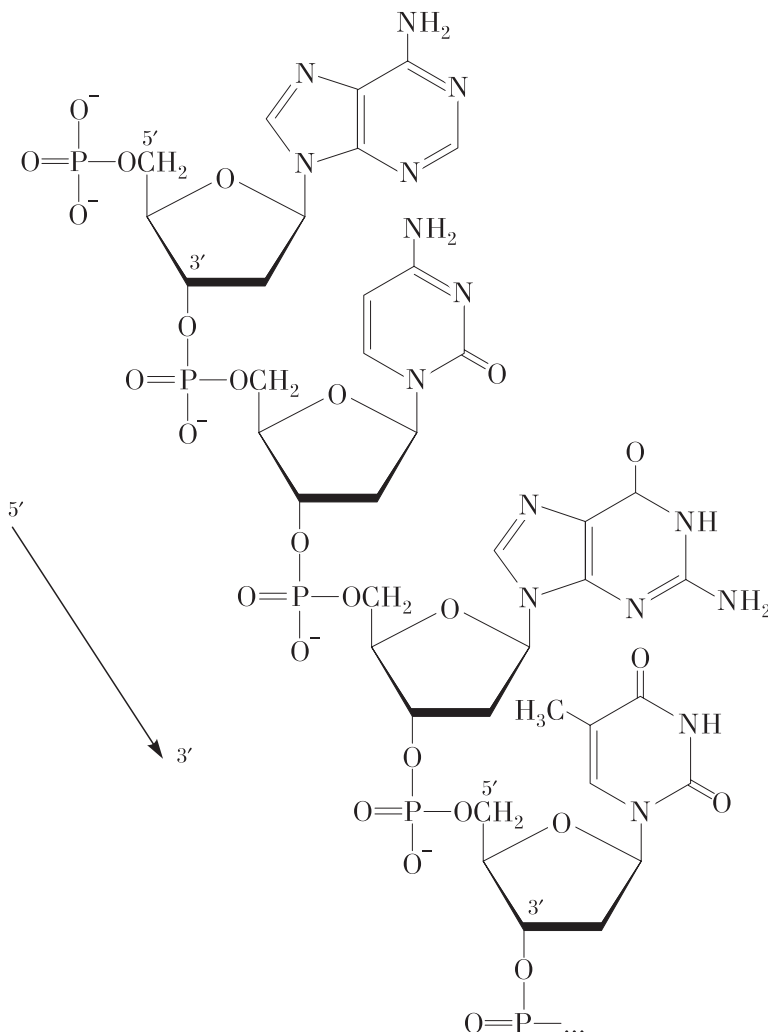


Рис. 6.1. Первичная структура участка молекулы нуклеиновых кислот

В зависимости от вида пентозы и типа азотистых оснований различают два типа нуклеиновых кислот: *рибонуклеиновая кислота (РНК)* и *дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)* (табл. 6.2).

6.2.1. Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)

Итак, ДНК состоит из дезоксирибонуклеотидов, соединенных 3',5'-фосфодиэфирной связью. Последовательность расположения нуклеотидов в полинуклеотидной цепи составляет первичную структуру нуклеиновых кислот.

Общие представления о пространственной организации молекул полинуклеотидных цепей в молекуле ДНК были разработаны к 1953 г. Дж. Уотсоном и Ф. Криком. Они предложили модель *вторичной структуры ДНК*, образно названную «двойная спираль». На уровне вторичной структуры молекула ДНК представляет собой *спираль*, образованную двумя полинуклеотидными цепями, расположенными *антипараллельно*. Это означает, что на каждом конце молекулы ДНК всегда будут находиться 5'-конец одной цепи и 3'-конец другой.

Эти две полинуклеотидные цепи соединяются между собой при помощи водородных связей, которые образуются между азотистыми основаниями находящихся рядом разных полинуклеотидных цепей. При этом основания расположены так, что между ними возникает максимальное количество водородных связей (*принцип комплементарности*), стабилизирующих спирализацию полинуклеотидных цепей.

Порядок чередования нуклеотидов одной цепи определяет порядок чередования другой (рис. 6.2). Количество адениловых нуклеотидов равно количеству тимидиловых нуклеотидов ($A=T$), а количество гуаниловых — количеству цитидиловых нуклеотидов ($G\equiv C$).

Соотношение $(A + T)/(G + C)$ — величина постоянная и является видоспецифической характеристикой организма (*правило Чаргаффа*).

Азотистые основания каждой цепи обращены внутрь молекулы и лежат в одной плоскости, перпендикулярной оси молекулы, формируя структуры, напоминающие монетные столбики. Между основаниями каждого столбика возникают *силы гидрофобного взаимодействия*, которые вносят дополнительный вклад в стабилизацию молекулы ДНК.

Подобно белковой молекуле, ДНК можно денатурировать. Денатурация (*плавление*), или разделение молекулы ДНК на отдельные полинуклеотидные цепи, вызывается нагреванием, действием факторов, нарушающих водородные связи, и другими способами. Каждая молекула ДНК может распадаться на составные цепи при нагревании ее раствора до определенной для нее температуры. Это зависит от количественного соотношения пар А–Т и Г–Ц. ДНК, содержащие больше пар Г–Ц, денатурируют при более высокой температуре, так как эта пара образует больше водородных связей (три), чем пара А–Т (две). При медленном охлаждении (*отжиг*) две цепи вновь вступают во взаимодействие, формируя двойную спираль.

Человеческий диплоидный геном состоит приблизительно из 7×10^9 пар азотистых оснований. Если их соединить конец в конец, то получится молекула длиной приблизительно 2 м (расстояние между основаниями 0,34 нм). При формировании хромосом длина молекулы ДНК сокращается в 8–10 тыс. раз. Каждая молекула ДНК упаковывается при участии белков в отдельную хромосому. Хромосомы формируются в период деления клетки, а в период покоя комплексы ДНК с белками равномерно распределены по ядру в форме *хроматина*. В составе хроматина можно выделить гистоновые и негистоновые белки.

6.2. Структурная организация и функции нуклеиновых кислот

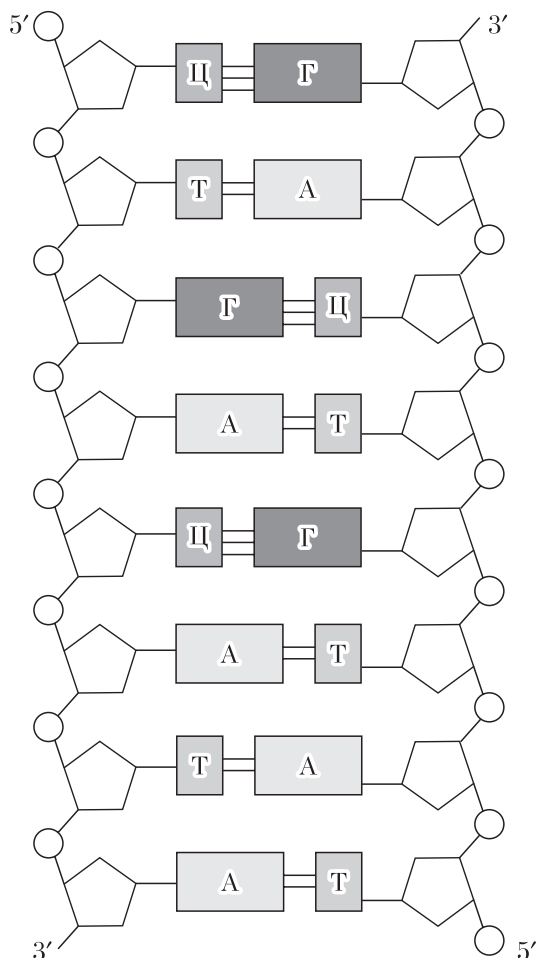


Рис. 6.2. Вторичная структура ДНК

Основную роль в формировании пространственной структуры ДНК играют **гистоны**. Они богаты основными аминокислотами (лизин и аргинин) с молекулярной массой от 11 до 22×10^3 а.е.м. Различают несколько типов гистонов: Н1, Н2А, Н2В, Н3 и Н4. Все они принимают участие в образовании третичной структуры ДНК — **нуклеосом**. Суть процесса состоит в том, что двухспиральная молекула ДНК образует несколько витков (150–200 пар оснований) вокруг белковой глобулы, состоящей из четырех пар гистонов Н2А, Н2В, Н3 и Н4. Гистон Н1 связывается с участком ДНК (линкерная ДНК), соединяющим соседние нуклеосомы (рис. 6.3).

Группа нуклеосом формирует фибриллы ДНК. Примерно 6 таких фибрилл сворачиваются с образованием нитей хроматина, диаметр которых составляет около 30 нм. Нити хроматина стабилизируются гистонами и укладываются в структуры более высокого порядка.

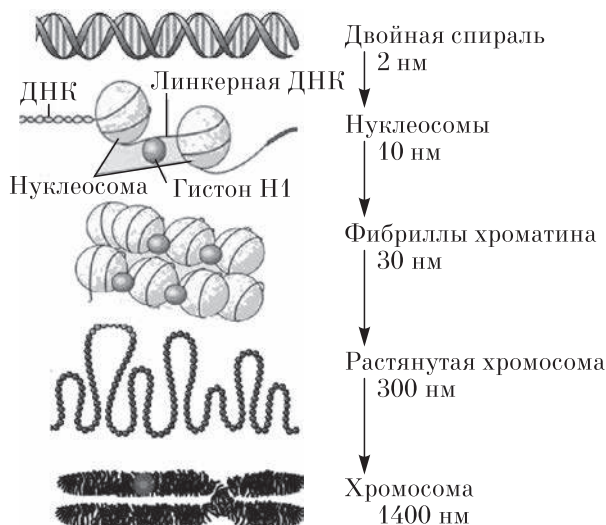


Рис. 6.3. Пространственная структура ДНК

Помимо гистонов, в структуре хроматина находится большое число разнообразных негистоновых белков. Многие из них — факторы транскрипции, которые могут специфически связываться с отдельными участками молекул ДНК. В структуре таких белков есть специфические домены типа «цинковых пальцев» или «спираль — поворот — спираль», позволяющие проникать в бороздки ДНК и взаимодействовать с определенными последовательностями оснований. К негистоновым белкам относятся также ферменты репликации, транскрипции и репарации.

Различают две формы хроматина: *гетерохроматин* и *эухроматин*. Первый более плотно упакован, часто находится около центромеров хромосом и довольно редко транскрибируется. Эухроматин упакован менее плотно и активно транскрибируется.

Имеются механизмы, способные динамично влиять на структуру хроматина. Один из них заключается в метилировании остатков цитозина в ДНК, другой — в модификации гистонов. Метилирование происходит непосредственно после репликации ДНК под действием специфических метилтрансфераз. Метилирование важно в механизмах регуляции транскрипции. К метилированным цитозинам легко присоединяется специфический белок, что тормозит транскрипцию этих участков ДНК. Фосфорилирование такого белка снижает его способность связываться с метилированным основанием и разрешает транскрипцию.

Гистоны могут подвергаться ацетилированию (присоединяется остаток уксусной кислоты), убиквитилированию (присоединяется белок — убиквитин для последующего разрушения белка), метилированию, фосфорилированию. Такие модификации влияют на структуру хроматина и его транскрипционную активность.

6.2. Структурная организация и функции нуклеиновых кислот

6.2.2. Типы рибонуклеиновых кислот

Из клеток можно выделить несколько типов РНК, которые различаются функцией, структурой, локализацией в клетке и размерами (табл. 6.3).

Таблица 6.3

Основные типы РНК, участвующих в транскрипции и трансляции

Тип РНК	Функция
мРНК	Матричная (информационная) РНК, кодирование белков
рРНК	Рибосомная РНК, формирует основу структуры рибосом и участвует в синтезе белков
тРНК	Транспортная РНК, участвует в механизмах рекогниции, является адаптором между иРНК и аминокислотами
мяРНК	Малые ядерные РНК, входят в состав ферментов рибозимов и участвуют в разных ядерных процессах, включая созревание новосинтезированной РНК
миРНК	МикроРНК, регулируют экспрессию генов, блокируя трансляцию специфических иРНК, и способствуют их распаду
гяРНК	Гетерогенная ядерная РНК, первичный транскрипт ДНК

Около 80 % всей клеточной РНК находится в цитозоле в составе рибосом — **рибосомная РНК (рРНК)**. У эукариот рибосомы цитозоля содержат четыре типа рРНК, которые различаются константой седimentации (скоростью их оседания при ультрацентрифугировании, выражается в единицах Сведберга, S). Пространственная структура рРНК формируется при участии связанных с молекулами РНК белков. Вся рибосома состоит из двух субъединиц с общей константой седimentации в 80S. Рибосомы есть и в митохондриях. Их строение напоминает строение рибосом прокариот (рис. 6.4).

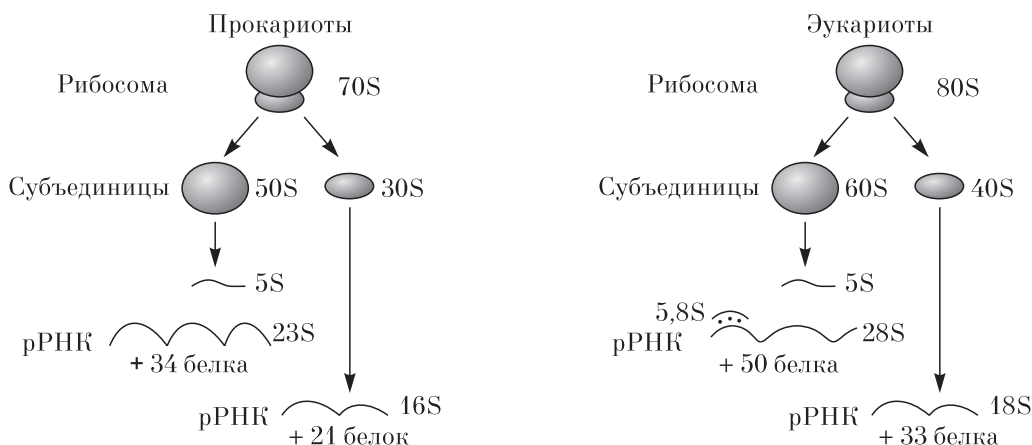


Рис. 6.4. Строение рибосом

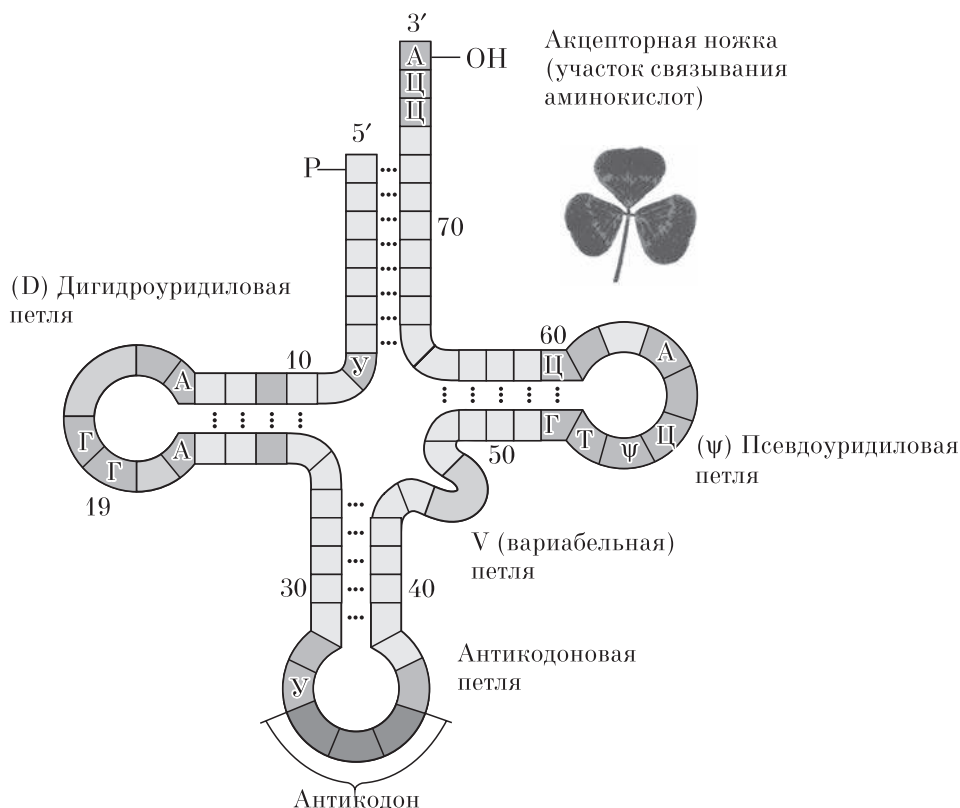


Рис. 6.5. Вторичная структура тРНК

Матричная, или информационная, РНК (мРНК) составляет 2–4 % всей РНК клетки. Разнообразие первичных структур таких РНК связано с тем, что они представляют собой копии отдельных участков ДНК, несущих информацию о белках клетки. Они играют роль матрицы для синтеза белков и быстро разрушаются.

Около 15 % всей РНК клетки — **транспортные РНК (тРНК)**. Эти небольшие по размерам (около 80 нуклеотидов) молекулы участвуют в переносе аминокислот и выполняют адапторную функцию. Адапторная функция заключается в том, что 3'-конец молекулы связывается с аминокислотой, а *антикодоновая петля* — с мРНК, что позволяет считывать информацию, кодируемую последовательностью нуклеотидов мРНК, и преобразовывать ее в последовательность аминокислот синтезирующейся полипептидной цепи. Известно около 60 типов тРНК. Это достаточно стабильные молекулы. Вторичная структура тРНК напоминает лист клевера (рис. 6.5).

6.3. Переваривание нуклеиновых кислот

Пищевые нуклеопротеины, попадая в организм человека, в желудке расщепляются на белковый компонент и полинуклеотидную часть. Белки под действием HCl желудочного сока денатурируют и затем расщепляются в тонком кишечнике до аминокислот, а полинуклеотидный компонент в кишечнике подвергается ферментативному гидролизу до моонуклеотидов (рис. 6.6).

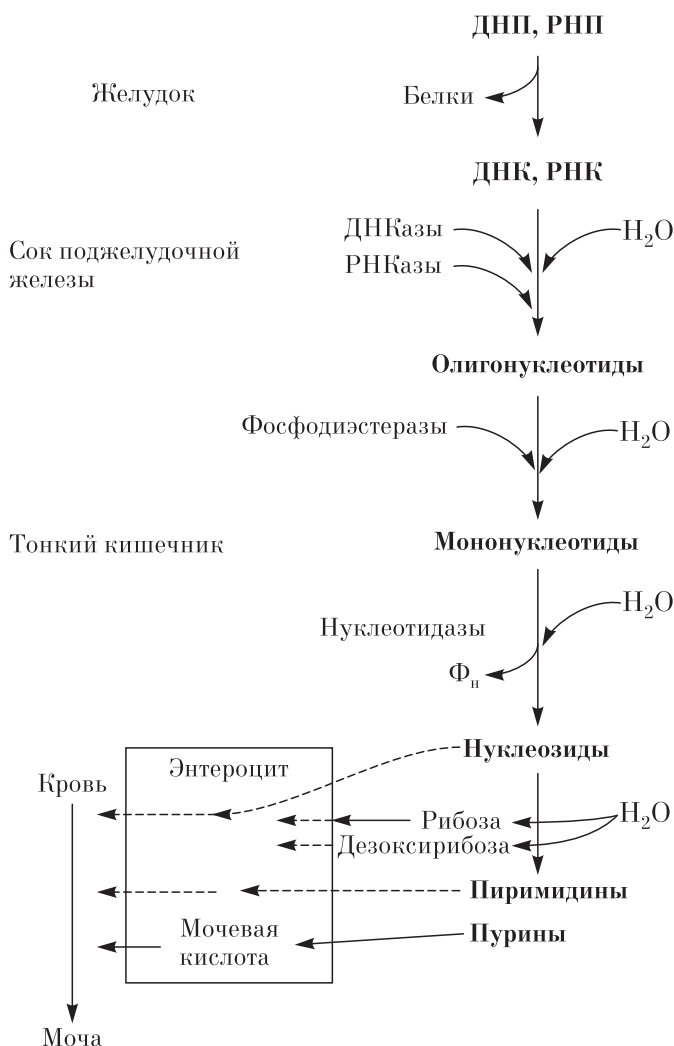


Рис. 6.6. Схема переваривания нуклеопротеинов пищи в желудочно-кишечном тракте

В расщеплении нуклеиновых кислот принимают участие ДНКазы и РНКазы панкреатического сока, которые, будучи эндонуклеазами, гидролизуют макромолекулы до олигонуклеотидов. Последние под действием фосфодиэстераз поджелудочной железы расщепляются до смеси 3'- и 5'-моонуклеотидов. Нуклеотидазы и неспецифические фосфатазы гидролитически отщепляют фосфатный остаток нуклеотидов и превращают их в нуклеозиды, которые либо поступают в клетки тонкого кишечника, либо расщепляются нуклеозидфосфорилазами кишечника с образованием рибозо- и дезоксирибозо-1-фосфата, пуриновых и пиримидиновых оснований.

Пищевые пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды, нуклеозиды, азотистые основания мало используются для синтеза нуклеиновых кислот тканей. В энтероцитах обнаружена высокая активность *ксантиноксидазы* — фермента, который большую часть пуринов, поступающих в клетки, превращает в *мочевую кислоту* — конечный продукт катаболизма.

6.4. Катаболизм пуриновых нуклеотидов

В клетках органов и тканей пуриновые моонуклеотиды под влиянием фосфатаз (нуклеотидаз) превращаются в нуклеозиды. Аденозин дезаминируется при участии аденозиндезаминазы, превращаясь в инозин. Затем от инозина под влиянием нуклеозидфосфорилазы отщепляется пентоза и образуется гипоксантин. Гуанозин с участием нуклеозидфосфорилазы теряет пентозу, и образующийся гуанин, дезаминируясь, превращается в ксантин. Гипоксантин и ксантин окисляются с участием кислорода в мочевую кислоту в реакциях, катализируемых ксантиноксидазой (рис. 6.7).

Мочевая кислота (конечный продукт катаболизма пуринов у человека) выделяется в основном почками и в небольших количествах кишечником. У здорового взрослого человека содержание мочевой кислоты составляет 0,15–0,47 ммоль/л, за сутки с мочой выделяется 300–600 мг мочевой кислоты.

Нарушение обмена пуриновых нуклеотидов сопровождается, как правило, *гиперурикемией* — повышением содержания мочевой кислоты в крови. Хроническое повышение уровня мочевой кислоты в крови может быть следствием или повышенного образования пуринов, или снижения выделения мочевой кислоты.

Мочевая кислота плохо растворяется в биологических жидкостях и может кристаллизоваться в тканях (суставные хрящи, связки), вызывая воспалительные реакции и формирование подагрических бугорков, или способствует образованию камней в почках. Заболевание с поражением суставов называется *подагрой*. Ею страдают от 0,3 до 1,7 % людей, причем у мужчин она встречается в 20 раз чаще.

Различают первичную и вторичную подагру. *Первичная* генетически детерминирована и обусловлена дефектом работы ферментов, принимающих участие

6.4. Катаболизм пуриновых нуклеотидов

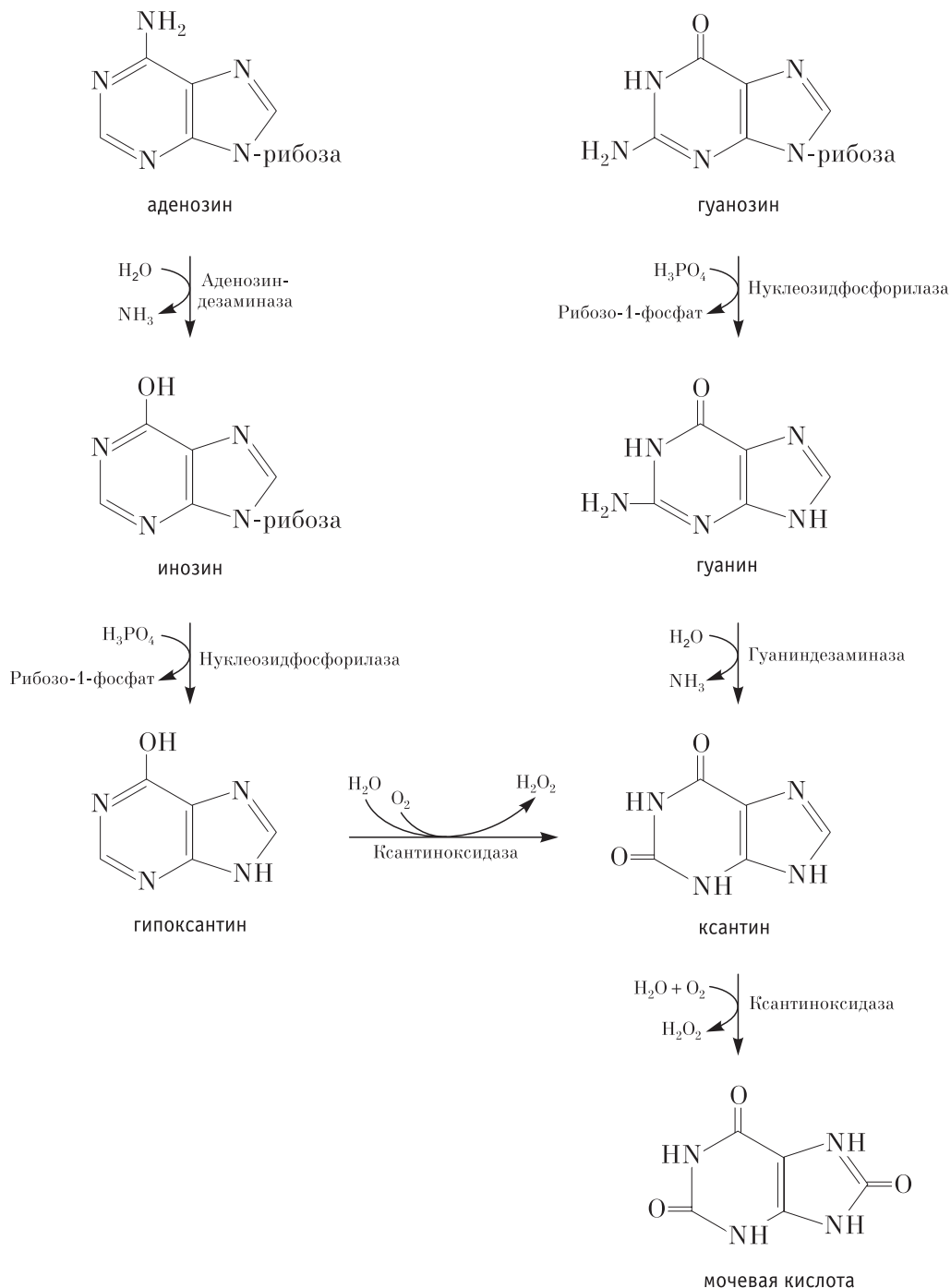


Рис. 6.7. Схема внутриклеточного катаболизма пуриновых нуклеотидов

в синтезе нуклеотидов (см. п. 6.6 «Биосинтез нуклеотидов»). Вторичная подагра может развиваться вследствие повышенного распада клеток при некоторых заболеваниях (например, лейкозах).

Для лечения подагры рекомендуются ограничение потребления продуктов, богатых пуринами, и лекарственная терапия, в которой ведущее место занимает использование *аллопуринола* — конкурентного ингибитора ксантиноксидазы. Под влиянием ксантиноксидазы аллопуринол превращается в оксипуринол, который прочно связывается с активным центром фермента и останавливает превращение азотистых оснований на уровне гипоксантина и ксантина. Последние обладают более высокой растворимостью и выделяются почками. При этом снижается и образование мочевой кислоты.

6.5. Катаболизм пиримидиновых нуклеотидов

Распад пиримидиновых нуклеотидов в клетках начинается с реакций отщепления фосфорной кислоты, а образующиеся нуклеозиды подвергаются ряду превращений с образованием конечных продуктов CO_2 , NH_3 и β -аминокислот (рис. 6.8, 6.9).

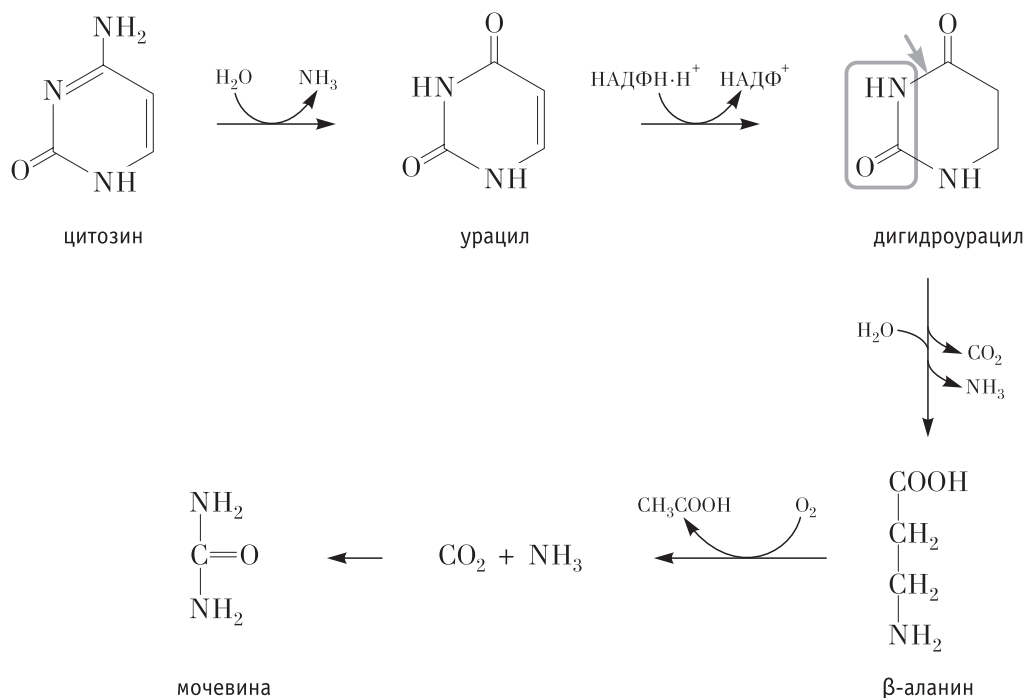


Рис. 6.8. Реакции катаболизма пиримидиновых азотистых оснований

6.6. Биосинтез нуклеотидов

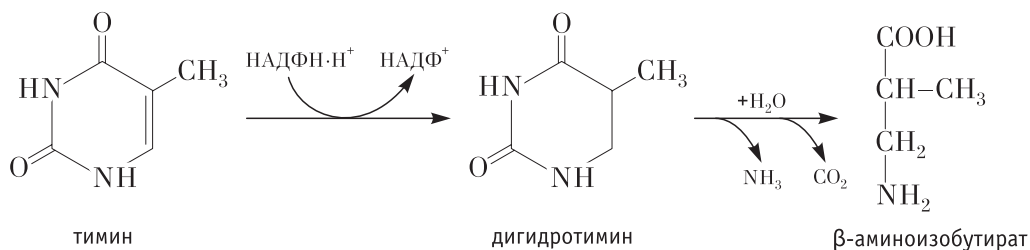


Рис. 6.9. Реакции катаболизма тимина

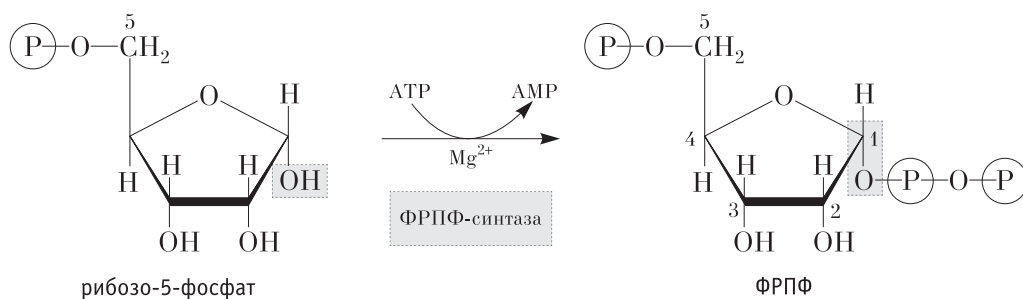
Продукты распада пиримидиновых нуклеотидов хорошо растворяются в воде. Аммиак и CO_2 участвуют в реакциях синтеза мочевины, а аминокислоты могут использоваться (например, β-аланин — компонент дипептидов в мышечной ткани) или удаляются почками.

6.6. Биосинтез нуклеотидов

Известны два основных пути синтеза нуклеотидов:

- 1) *реутилизация оснований и нуклеозидов для повторного синтеза нуклеотидов*. Он имеет меньшее в количественном отношении значение (10 % всех реакций). Наиболее активно этот путь проходит в интенсивно размножающихся клетках (эмбриональных, регенерирующих, эпителиальных, опухолевых);
- 2) *синтез нуклеотидов de novo* (90 % всех реакций).

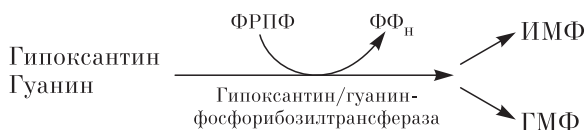
Для обоих путей чрезвычайно важным является образование в клетках достаточного количества фосфорибозилпирофосфата (ФРПФ).



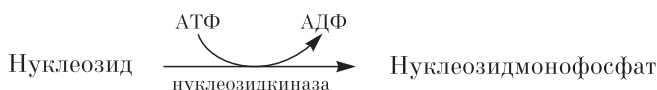
6.6.1. Пути повторного использования азотистых оснований и нуклеозидов

Использование пуриновых азотистых оснований катализируется двумя ферментами аденинфосфорибозилтрансферазой (АФРТ) и гипоксантин/гуанинфосфорибозилтрансферазой (ГГФРТ). АФРТ обеспечивает присоединение

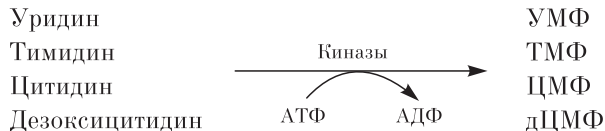
ФРПФ к аденину, образуя АМФ. ГГФРТ катализирует присоединение ФРПФ к гипоксантину (образуется ИМФ) или к гуанину (образуется ГМФ).



Повторное использование нуклеозидов (аденозина и гуанозина), катализируется специфическими киназами пуриновых нуклеозидов.



В отличие от пуринов, при реутилизации пиримидинов нет возможности использовать свободные *основания*. Повторное использование сводится к реутилизации **нуклеозидов**. Реакции катализируются соответствующими ферментами — киназами: *уридин/цитидинкиназой*, *тимидинкиназой*, *дезоксцитидинкиназой*. Источником фосфатной группы служит АТФ.



6.6.2. Синтез пуриновых нуклеотидов *de novo*

Субстратами синтеза пуриновых нуклеотидов являются ФРПФ, аминокислоты *глицин*, *аспартат*, *глутамин* и одноуглеродные фрагменты, которые поставляются активными (коферментными) формами витамина В₉ (фолиевой кислоты): N⁵-формилтетрагидрофолиевой кислотой (N⁵-формил-ТГФК) и N⁵N¹⁰-метенилтетрагидрофолиевой кислотой (N⁵N¹⁰-метенил-ТГФК) (рис. 6.10).

Пуриновые нуклеотиды синтезируются в клетках большинства тканей. Однако основным местом их образования в организме является цитозольная часть гепатоцитов.

Синтез пуриновых нуклеотидов *de novo* — это сложный, потребляющий большое количество энергии (6 АТФ на каждую молекулу пуринового нуклеотида), многоступенчатый (10 этапов) путь, который можно условно разделить на две части. Вначале идет образование мононуклеотида — инозиновой кислоты (ИМФ). Она является предшественником основных пуриновых нуклеотидов.

6.6. Биосинтез нуклеотидов

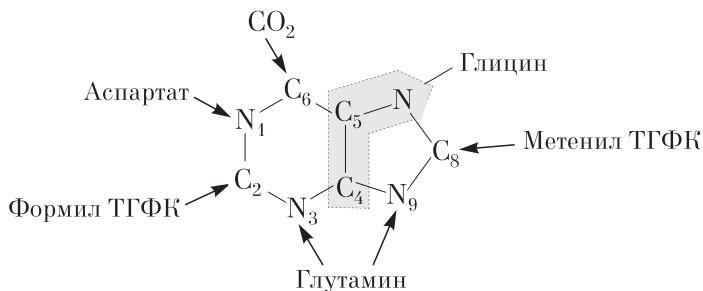


Рис. 6.10. Происхождение атомов С и N в пуриновом кольце

В качестве азотистого основания в ее составе выступает гипоксантин. Затем образуются основные пуриновые нуклеотиды — АМФ и ГМФ.

Ведущее место в реакциях реутилизации и синтеза нуклеотидов *de novo* занимает фосфорибозилпирофосфат (ФРПФ), который образуется из продукта окислительной части пентозофосфатного пути — рибозо-5-фосфата путем его фосфорилирования. Фосфорилирование катализируется *фосфорибозилпирофосфатсинтетазой* (см. с. 235).

Синтез начинается с рибозо-5-фосфата, на ранних этапах синтеза образуется N-гликозидная связь, а лишь затем формируется пуриновое кольцо. Ключевая реакция, лимитирующая скорость синтеза, — образование 5-фосфорибозил-1-амин. Она катализируется ферментом *ФРПФ-амидотрансферазой*. При этом формируется β-N-гликозидная связь с N⁹ будущего кольца пурина. Затем к аминогруппе 5-фосфорибозил-1-амин в серии реакций присоединяются остаток глицина, метенилтетрагидрофолат, глутамин, CO₂, аспарат и формилтетрагидрофолат (рис. 6.11).

Образующийся инозинмонофосфат (ИМФ) служит точкой ветвления, с которой начинаются пути II этапа синтеза АМФ и ГМФ (рис. 6.12).

Для образования АМФ аспарат взаимодействует с ИМФ, образуя аденилосукцинат с затратой энергии гидролиза ГТФ. Освобождаемый затем фумарат вступает в цикл Кребса.

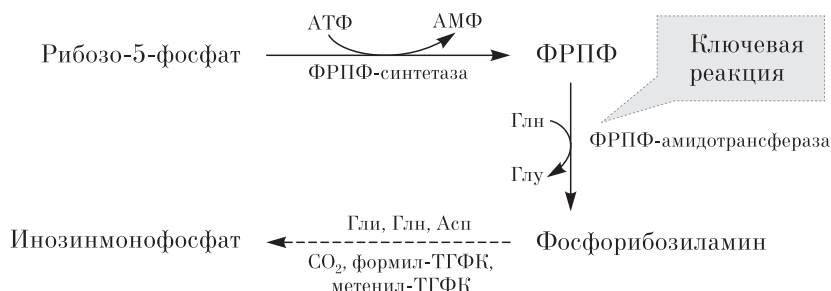


Рис. 6.11. Синтез пуриновых нуклеотидов *de novo*, реакции I этапа

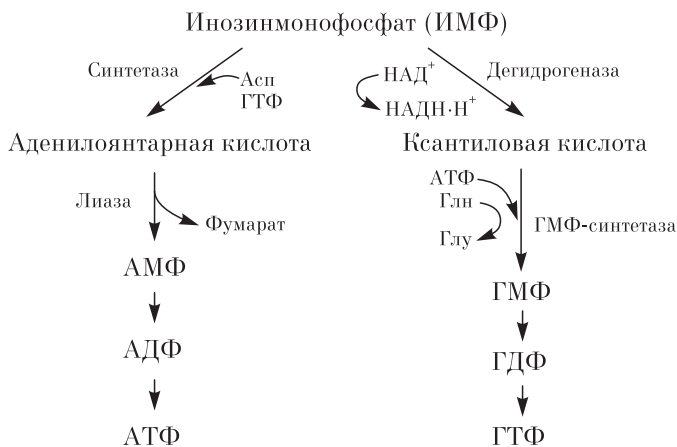


Рис. 6.12. Схема превращений ИМФ

Превращение инозиновой кислоты в гуаниловую кислоту (ГМФ) сопряжено с предварительным ее окислением в ксантиловую кислоту (ксантозинмонофосфат) при участии дегидрогеназы ИМФ. Принимая впоследствии аминогруппу от глутамина (Глн), ксантиловая кислота трансформируется в ГМФ. Эта реакция сопровождается пирофосфоролитическим распадом АТФ.

Образовавшиеся АМФ и ГМФ далее фосфорилируются нуклеозидмонофосфаткиназами и нуклеозиддифосфаткиназами с образованием АТФ и ГТФ (НДФ — нуклеозиддифосфат; НТФ — нуклеозидтрифосфат):



Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов *de novo* осуществляется на уровне четырех регулируемых ферментов: фосфорибозилпирофосфатсинтетазы, амидофосфорибозилтрансферазы, аденилосукцинатсинтетазы и дегидрогеназы ИМФ (рис. 6.13).

Фосфорибозилпирофосфатсинтетаза имеет два отдельных аллостерических центра для связывания пуриновых нуклеотидов (ГДФ и АДФ), которые ингибируют этот фермент и могут действовать синергично. Роль же ключевой реакции играет формирование 5-фосфорибозил-1-амина при участии фермента ФРПФ-амидотрансферазы. Этот фермент ингибируется и ГМФ, и АМФ, а также соответствующими нуклеозидди- и -трифосфатами. Избыток пиримидиновых нуклеотидов и ФРПФ активируют ФРПФ-амидотрансферазу.

6.6. Биосинтез нуклеотидов

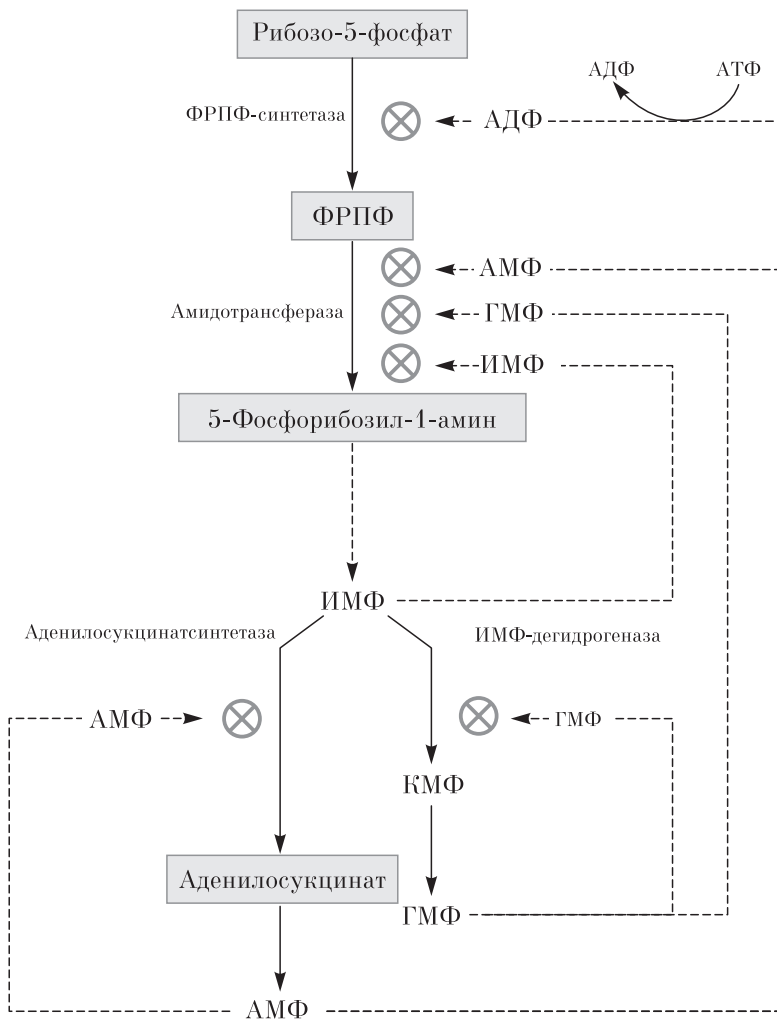


Рис. 6.13. Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов

Формирование АМФ из ИМФ требует ГТФ, а формирование ГМФ требует АТФ. Такой перекрестный контроль поддерживает уровни ГТФ и АТФ в клетках в определенных соотношениях.

6.6.3. Синтез пиримидиновых нуклеотидов *de novo*

В отличие от синтеза пуриновых нуклеотидов, синтез пиримидиновых нуклеотидов *de novo* начинается с образования азотистого основания, и только затем к нему присоединяется углеводный компонент. Пиримидиновое кольцо образуется из трех «простых» соединений: глутамина, аспартата

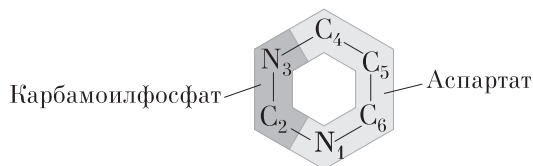
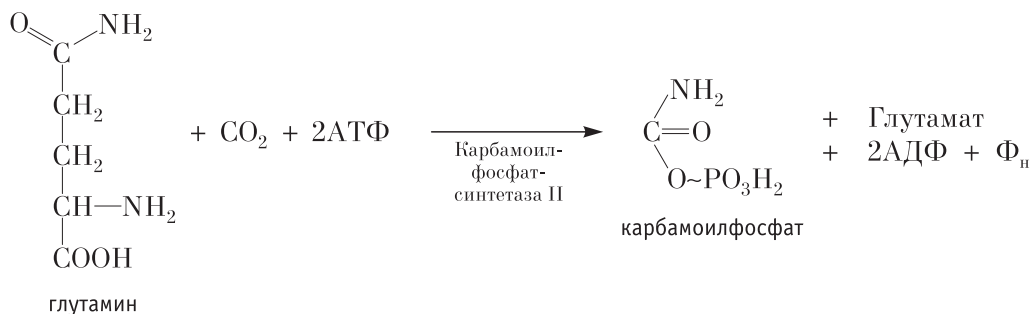


Рис. 6.14. Источники атомов пиридинового кольца

и CO_2 (рис. 6.14). Фосфорибозилпирофосфат присоединяется к уже сформированному азотистому основанию.

Ключевым этапом в синтезе пиримидиновых нуклеотидов считается образование карбамоилфосфата.



Образование карбамоилфосфата, карбамоиласпартата и дигидрооротовой кислоты катализируются одним ферментом — *КАД-ферментом*, отдельные домены которого обладают активностью *карбамоилфосфатсинтетазы II*, *аспараткарбамоилтрансферазы* и *дигидрооротаза* (рис. 6.15). Этот фермент расположен в цитозоле. Домен с карбамоилсинтетазной активностью отличается от другого фермента — *карбамоилфосфатсинтетазы I*, который располагается в митохондриях и использует аммиак тоже для образования карбамоилфосфата. Образовавшийся в митохондриях карбамоилфосфат в дальнейшем используется для синтеза мочевины.

Дегидрогеназа дигидрооротовой кислоты расположена в митохондриях и катализирует превращение дигидрооротовой кислоты в оротовую, которая становится субстратом второго многофункционального фермента, катализирующего две последующие реакции: образование оротидинмонофосфорной кислоты и ее декарбоксилирование с образованием УМФ. Этот бифункциональный фермент называется *УМФ-синтазой*.

После фосфорилирования УМФ нуклеозидмоно- и дифосфаткиназами до УДФ, последний может аминироваться по углероду в четвертом положении с участием глутамина и затратой АТФ и превращаться в ЦТФ (фермент — *ЦТФ-синтетаза*). УМФ и УДФ не аминируются (см. рис. 6.15).

6.6. Биосинтез нуклеотидов

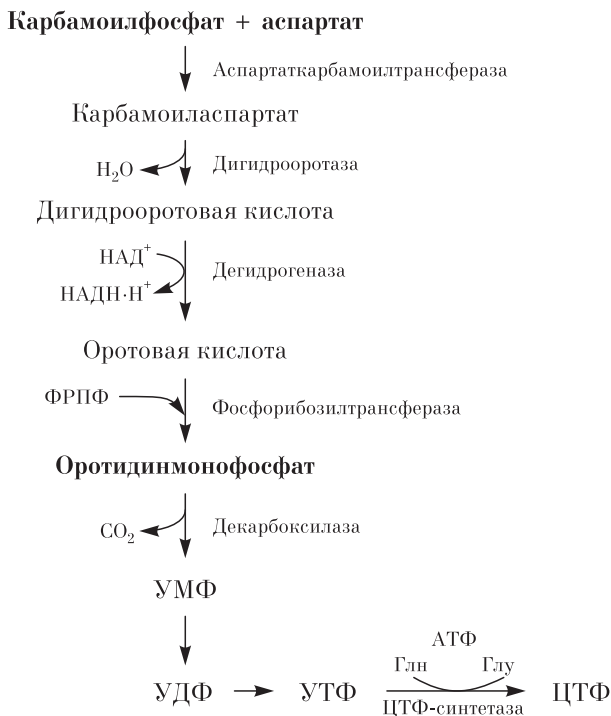


Рис. 6.15. Схема реакций синтеза пиримидиновых нуклеотидов

Ключевым ферментом в регуляции синтеза пиримидиновых нуклеотидов у людей является карбамоилфосфатсинтетаза II. Основными его регуляторами выступают УТФ и УДФ (тормозят активность), а избыток пуриновых нуклеотидов и ФРПФ оказывают активирующее действие.

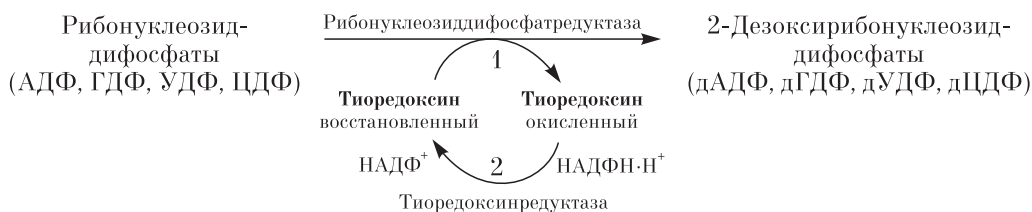
Нарушение синтеза пиримидиновых нуклеотидов ведет к нарушению деления клеток, развивается мегалобластическая анемия, нарушается функция желудочно-кишечного тракта, страдает интеллектуальное развитие. Для предотвращения и ослабления этих последствий применяют препараты цитидина или уридина.

6.6.4. Биосинтез дезоксирибонуклеотидов

Все приведенные выше механизмы синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов ведут к образованию рибонуклеотидов. И это не удивительно, поскольку количество РНК в клетке значительно превышает количество ДНК.

Синтез дезоксирибонуклеотидов происходит путем восстановления ОН-группы у C_2' -атома рибозы в составе молекулы соответствующего *рибонуклеозиддифосфата*. Эта реакция катализируется *рибонуклеозиддифосфатредуктазой*. В качестве восстановителя используется небольшой белок, названный

тиоредоксином. Его восстановление, в свою очередь, катализируется тиоредоксинредуктазой, использующей НАДФН·Н⁺ в качестве донора водорода. Образование дезоксирибонуклеотидов находится под регуляторным контролем. Дезоксирибонуклеозидди- и трифосфаты ингибируют активность рибонуклеотидредуктазы.



Тимидиловый нуклеотид образуется из дезоксиуридилиновой кислоты путем ее метилирования с участием донора метильной группы N⁵,N¹⁰-метилентетрагидрофолата. Реакцию катализирует специфическая тимидилатсинтаза (рис. 6.16).

Процесс образования метильной группы из метиленовой требует восстановления водородами, донором которых становится ТГФК. Восполнение запасов N⁵,N¹⁰-метилент-ТГФК нуждается в работе еще двух ферментов: *дигидрофолатредуктазы* и *серингидроксиметилтрансферазы*.

Повышение активности ферментов, катализирующих образование дезоксирибонуклеотидов, наблюдается в клетках, готовящихся к делению.

При нарушении процессов распада пуриновых нуклеотидов из-за снижения активности аденозиндезаминазы и нуклеозидфосфорилазы происходит

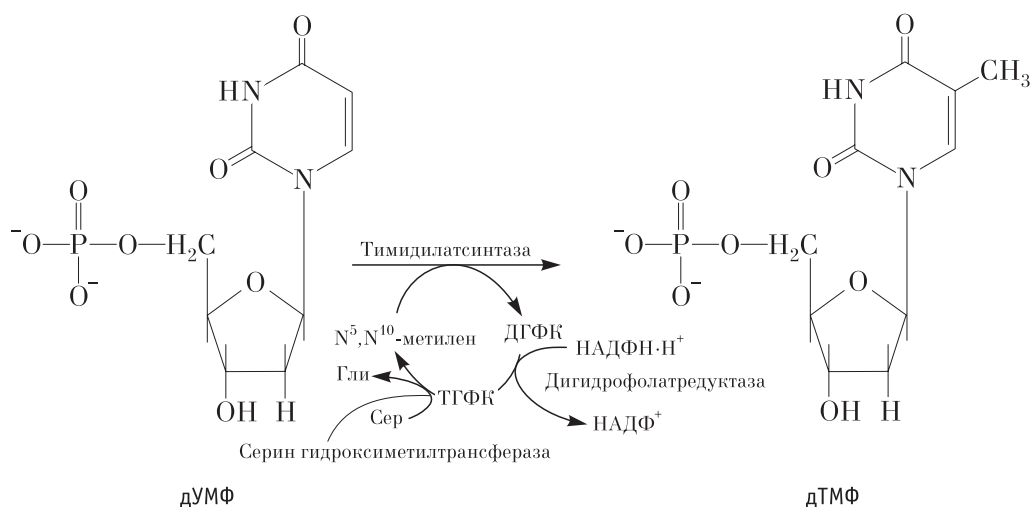


Рис. 6.16. Схема синтеза дТМФ

6.6. Биосинтез нуклеотидов

не только снижение образования мочевой кислоты. Снижение активности этих ферментов ведет к накоплению в клетках рибо- и дезоксирибонуклеотидов, что вызывает накопление дАТФ и дГТФ. Последние ингибируют восстановление других нуклеотидов в дезоксирибонуклеотиды. Это тормозит механизмы синтеза ДНК и деление клетки.

Врожденная недостаточность аденозиндезаминазы сопровождается развитием тяжелых форм клеточного и гуморального иммунодефицита из-за нарушения пролиферации и созревания Т- и В-лимфоцитов. Дети с такой патологией обычно погибают от инфекций.

Биосинтез ДНК, РНК и белков. Методы молекулярной биологии

Рост и деление клеток лежат в основе процессов жизнедеятельности любых организмов. Клетка должна уметь сохранить и передать «по наследству» всю информацию, которой владеет сама. Поскольку молекулы ДНК — это форма хранения информации о белках, которые составляют основу структуры и функции клетки, процесс передачи информации сводится к механизму синтеза новых молекул ДНК.

Реализация генетической информации, которую получает клетка при *репликации ДНК*, включает *транскрипцию* (биосинтез и процессинг молекул РНК), *рекогницию* (образование аминоксил-тРНК) и *трансляцию* (биосинтез полипептидов) (рис. 7.1). Таким образом, генетическая информация передается от нуклеиновых кислот к белку. Это принято называть **догмой молекулярной биологии**.

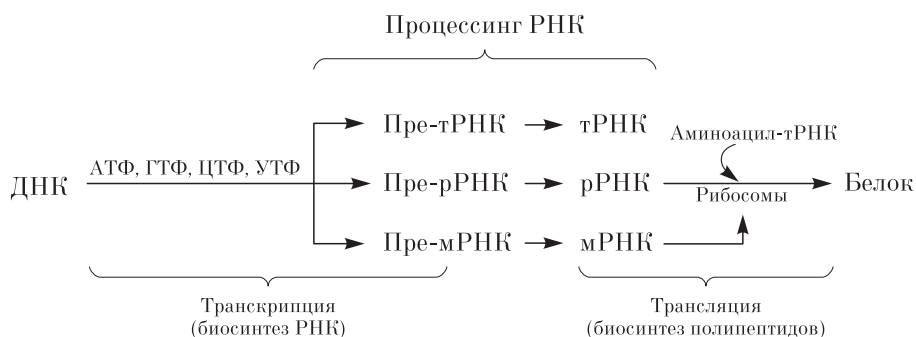


Рис. 7.1. Этапы реализации генетической информации в клетке

7.1. Репликация ДНК

7.1. Репликация ДНК

Репликация — процесс матричный. Роль матрицы играют полинуклеотидные цепи исходных молекул ДНК. В результате репликации возникают две новые молекулы ДНК, каждая из которых содержит одну матричную (материнскую) и одну вновь синтезированную (дочернюю) полинуклеотидные цепи ДНК. Такой принцип синтеза называют *полуконсервативной репликацией*.

Первичная структура матрицы (материнская цепь) определяет первичную структуру дочерней цепи благодаря тому, что в основе репликации лежит **принцип комплементарности оснований** ($G \equiv C$ и $A = T$). Синтез ДНК идет в направлении $5' \rightarrow 3'$ растущей цепи, поскольку рост цепи ДНК идет за счет формирования фосфодиэфирной связи между $3'$ -кислородом растущей цепи и α -фосфатом дНТФ. Синтезируемая цепь всегда *антипараллельна* матричной цепи. В ходе репликации образуются две дочерние цепи, представляющие собой копии матричных цепей.

Сигналами начала репликации служат факторы роста, высвобождаемые в S-фазу клеточного цикла. Репликация ДНК начинается в определенных участках, которые получили название «ориджин» (англ. origin) или *точки «ори»*.

Репликацию можно разделить на три этапа:

- I — образование репликативной вилки (*инициация*);
- II — синтез новых цепей (*элонгация*);
- III — исключение праймеров и завершение синтеза дочерних цепей ДНК (*терминация*).

Ферменты и белки, участвующие в репликации (их более 40), объединены в единый комплекс — *реплисому*. Инициация начинается с раскручивания двойной спирали ДНК в точках «ори» (рис. 7.2). Эти участки богаты парами А–Т. В пределах одной хромосомы (одной молекулы ДНК) возникает множество таких «ори». *Хеликаза*, используя энергию гидролиза АТФ, разрывает водородные связи в точке начала репликации. Возникающая при этом суперспирализация молекулы ДНК снимается при участии *топоизомеразы I*, которая обладает нуклеазной активностью. Фермент катализирует разрыв фосфодиэфирной связи в одной из цепей двойной спирали, и после окончания вращения разрезанного конца молекулы вновь соединяет нуклеотиды в точке разрыва. В поддержании этого участка ДНК в раскрученном состоянии участвуют *SSB-белки* (англ. single strand binding proteins — белки, связывающиеся с одной нитью ДНК). Раскручивание ведет к образованию репликативного пузырька, сходящиеся углы которого образуют *репликативные вилки* (рис. 7.2).

Основные ферменты репликации — ДНК-полимеразы, субстратами которых и одновременно источниками энергии являются дезоксирибонуклеозидтрифосфаты — дАТФ, дГТФ, дЦТФ и дТТФ. Активаторами полимераз служат ионы магния, которые нейтрализуют отрицательный заряд нуклеотидов.

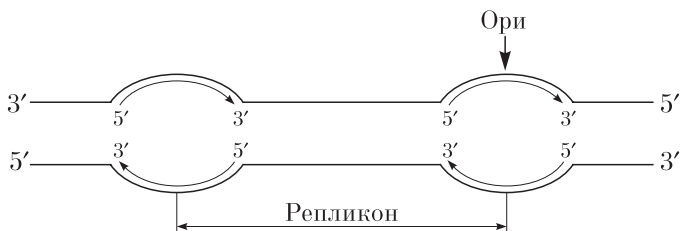


Рис. 7.2. Схема образования точек «ори» (англ. origin — начало) и репликативных вилков

В клетках млекопитающих различают пять ДНК-полимераз — α (альфа), β (бета), γ (гамма), δ (дельта) и ϵ (эпсилон). ДНК-полимеразы α , β , δ , ϵ участвуют в синтезе ДНК в ядре клеток, ДНК-полимераза γ — в репликации митохондриальной ДНК.

ДНК-полимераза не может самостоятельно инициировать новый (*de novo*) синтез цепи. Для этого ей нужно, чтобы уже существовала цепь нуклеотидов, которая называется **праймером**. Синтез праймера у эукариот обеспечивает ДНК-полимераза α (праймаза), которая состоит из четырех субъединиц. После присоединения к ДНК одной из субъединиц она синтезирует небольшой фрагмент — *РНК-праймер*, состоящий из 8–10 рибонуклеотидов, и затем приступает к синтезу фрагмента цепи ДНК, содержащего около 50 дезоксирибонуклеотидов. Этот олигонуклеотидный фрагмент, синтезированный ДНК-полимеразой α , затем становится местом присоединения ДНК-полимеразы δ , которая продолжает синтез новой цепи в направлении $5' \rightarrow 3'$ — по ходу раскручивания репликативной вилки (**лидирующая цепь**) (рис. 7.3).

Особенностью репликации является одновременный синтез двух новых (дочерних) цепей, несмотря на антипараллельность матриц. На второй матричной цепи синтез дочерней ДНК осуществляется двумя ферментами: ДНК-полимеразой α и ДНК-полимеразой ϵ в том же $5' \rightarrow 3'$ направлении, но против движения репликативной вилки. Поэтому вторая цепь синтезируется прерывисто, в форме коротких фрагментов, каждый из которых достраивается после образования праймера. Эти фрагменты получили название **фрагменты Оказаки** (по имени открывшего их японского исследователя Р. Оказаки). Эту дочернюю цепь ДНК называют **отстающей цепью**. Праймеры удаляются ДНК-полимеразой β , постепенно отщепляя с 3'-конца фрагмента по одному рибонуклеотиду. К ОН-группе на 3'-конце предыдущего фрагмента ДНК-полимераза β присоединяет дезоксирибонуклеотиды в количестве, равном вырезанному праймеру, и заполняет брешь, возникающую при удалении рибонуклеотидов.

Фермент ДНК-лигаза затем катализирует образование фосфодиэфирной связи между 3'-ОН-группой дезоксирибозы одного фрагмента цепи ДНК и 5'-фосфатом следующего фрагмента. Реакция протекает с затратой энергии АТФ. Так из множества фрагментов Оказаки образуется непрерывная цепь ДНК.

7.1. Репликация ДНК

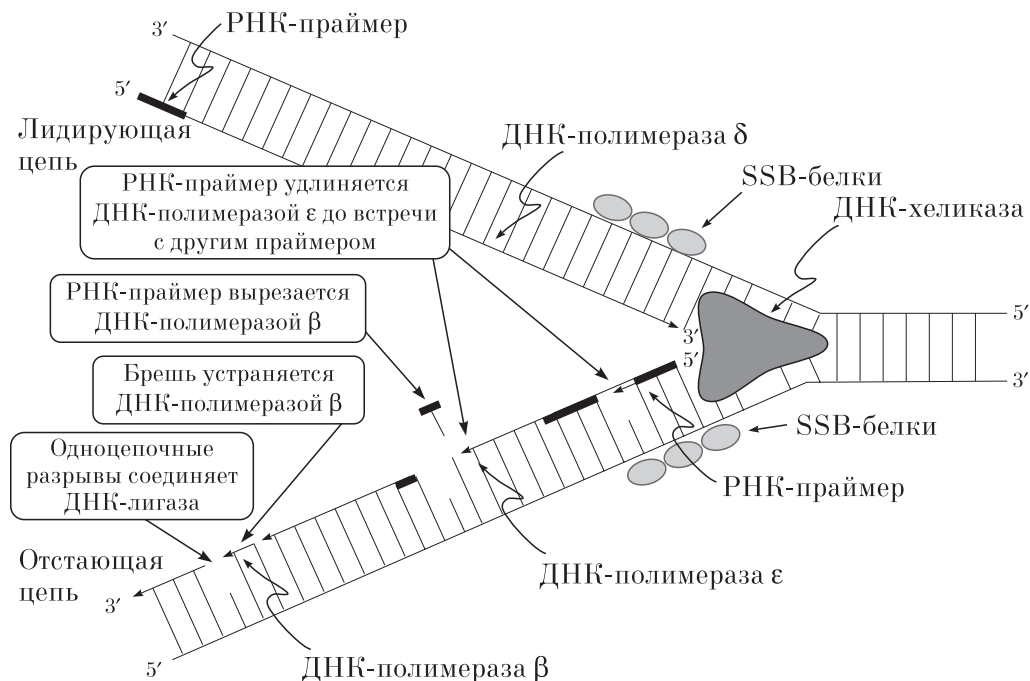


Рис. 7.3. Схематическое изображение матричного синтеза лидирующей и отстающей дочерних цепей ДНК

По окончании репликации дочерняя цепь **метируется**. Количество метилированных оснований достигает 1–8 %. Источником метильных групп является S-аденозилметионин. Метильные группы в структуре ДНК необходимы для формирования хромосом и регуляции транскрипции генов.

После завершения репликации 5'-концы дочерних цепей ДНК остаются недостроенными в связи с тем, что удаление праймеров не сопровождается синтезом комплементарной последовательности, ибо ДНК-полимераза β , которая отвечает за этот процесс, не может вести синтез цепи ДНК от 3'-к 5'-концу. Поэтому в ходе каждого цикла репликации 5'-концы синтезированных цепей укорачиваются. Чтобы не происходило при этом потери генетической информации, укорочение ДНК идет за счет **теломер** — специальных неинформационных последовательностей нуклеотидов. Это укорочение ДНК при каждом делении клеток — своеобразный сигнал, управляющий продолжительностью жизни клеток.

Для некоторых клеток (эмбриональные и другие быстро делящиеся клетки) потеря концов хромосом недопустима из-за очень быстрого укорочения ДНК. В таких клетках имеется фермент **теломераза** (нуклеотидилтрансфераза), который обеспечивает восстановление потерь этих концов. В качестве матрицы фермент использует РНК, которая является частью структуры этого фермента.

С помощью своей РНК фермент комплементарно прикрепляется к 3'-концу нестроенной дочерней цепи ДНК. Теломераза последовательно удлиняет 3'-конец цепи ДНК на один гексануклеотид ГГГТА-. Синтез всегда идет от 5'- к 3'-концу. Затем теломераза смещается по цепи ДНК на один теломер и начинает синтез нового фрагмента ГГГТА-. Теломераза многих соматических клеток неактивна. Однако ее активность обнаруживают в клетках с высокой скоростью обновления, таких как лимфоциты, стволовые клетки костного мозга, клетки эпителия, эпидермиса кожи и др.

7.2. Репарация ДНК

В процессе репликации и после ее завершения могут возникать повреждения структуры ДНК. Процессы, позволяющие восстанавливать такие повреждения, называют *репарацией*. Чаще всего повреждения затрагивают одну из цепей ДНК, поэтому при репарации другая цепь используется как матрица для исправления повреждения.

Если во время репликации происходит некорректное присоединение нуклеотида, то экзонуклеазная активность ДНК-полимеразы катализирует его удаление. Эта же ДНК-полимераза в последующем исправляет ошибку. Несмотря на такую «интеллектуальную работу», молекула ДНК постоянно подвергается разнообразным спонтанным изменениям. Наиболее частыми из них являются ошибки репликации, когда в дочернюю цепь ДНК включаются нуклеотиды, некомплементарные нуклеотидам матричной цепи; дезаминирование оснований, при котором цитозин превращается в урацил, аденин — в гипоксантин, а гуанин — в ксантин; депуринизация, или депиримидинизация, результатом которой является появление в ДНК остатков дезоксирибозы, лишенных основания.

Помимо спонтанных мутаций, ДНК подвергается изменению под влиянием факторов внешнего и внутреннего воздействия (индуцированные мутации). Ниже приводятся некоторые из них:

- образование под действием ультрафиолета пиримидиновых димеров между рядом расположенными в цепи основаниями;
- разрыв нуклеотидных цепей;
- появление ковалентных сшивок между цепями или цепями и гистонами;
- образование продуктов метилирования азотистых оснований в составе ДНК (6-метилгуанина, 7-метилгуанина, 3-метиладенина) в результате воздействия некоторых химических веществ.

Исправление возникших дефектов составляет суть репаративного синтеза ДНК. Репарация необходима для сохранения генетического материала на протяжении всей жизни организма (сохранение структуры генома). Репарация возможна благодаря существованию двух цепей в молекуле ДНК — двух копий генетической информации. Если одновременно повреждается комплементарная пара нуклеотидов, то репарация в гаплоидных клетках невозможна,

7.2. Репарация ДНК

а в диплоидных может идти за счет присутствия идентичного гена в гомологичной хромосоме.

Репаративный синтез ДНК может проходить по принципу эксцизионной и прямой репарации.

Эксцизионная репарация (рис. 7.4):

1) *эндонуклеаза* определяет место повреждения и катализирует гидролиз 3',5'-фосфодиэфирной связи;

2) *экзонуклеаза* находит место разрыва цепи и удаляет поврежденный участок;

3) *ДНК-полимераза* β присоединяется к 3'-концу образовавшейся «брешии» и достраивает недостающий участок цепи (ликвидирует «брешь»). Матрицей служит неповрежденная цепь ДНК;

4) *ДНК-лигаза* соединяет неповрежденный и вновь синтезированный участки цепи ДНК.

Прямая репарация. В случаях *депуринизации* (*депиримидинизации*) имеет место прямая репарация, когда фермент ДНК-инсераза катализирует присоединение к дезоксирибозе необходимого основания в соответствии с правилом комплементарности.

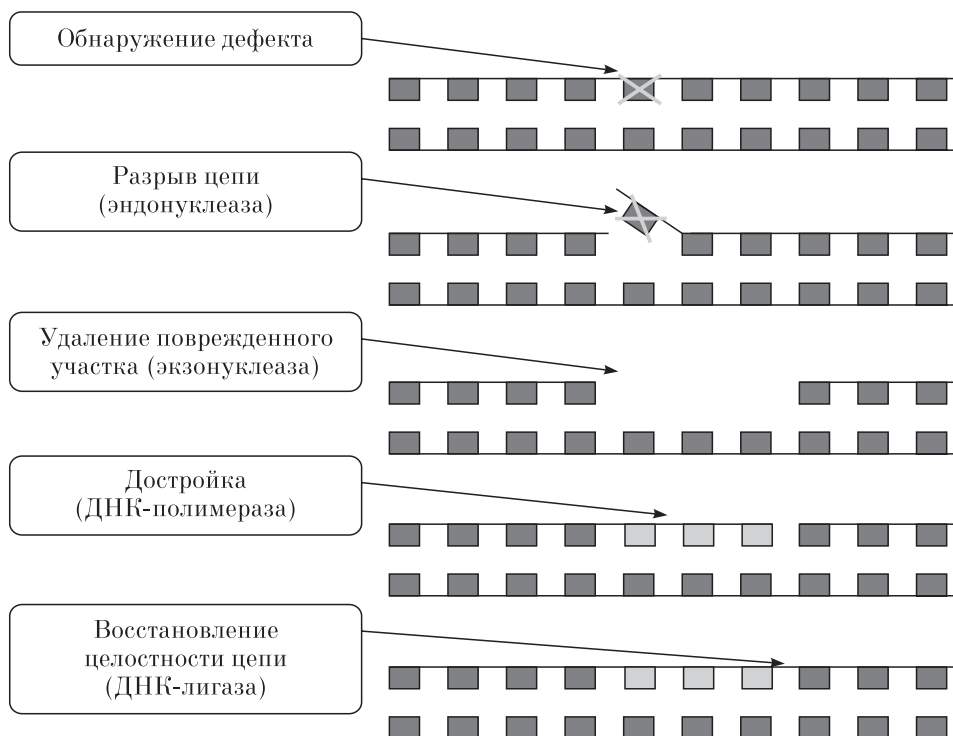


Рис. 7.4. Схематическое изображение этапов эксцизионной репарации

Все ферменты репаративного синтеза постоянно активны, и процесс идет непрерывно. Снижение активности ферментов репарации приводит к накоплению повреждений (мутаций) в ДНК. К примеру, *пигментная ксеродерма* (от греч. *xeres* — сухой и *derma* — кожа) — редкая, наследуемая по аутосомно-рецессивному типу патология. Частота встречаемости заболевания в разных странах составляет от 1/250 тыс. человек до 1/40 тыс. человек. Дефект заключается в нарушении механизма эксцизионной репарации нуклеотидов. В результате повышенной чувствительности к солнечному свету (ультрафиолету) у больных уже в раннем возрасте появляются пигментация, сухость кожи, изъязвления, рубцы, а затем развивается рак кожи. Средний возраст появления первой опухоли у больных пигментной ксеродермой — 8 лет, а вероятность развития карцином слизистой рта в 20 тыс. раз превышает средние значения в популяции.

7.3. Транскрипция

Транскрипция — это биосинтез РНК на матрице ДНК. В отличие от репликации, транскрипции подвергается не вся молекула ДНК. Единицей транскрипции является *оперон* (у прокариот) или *транскриптон* (у эукариот). И если процесс репликации можно образно сравнить с копированием всей книги, то процесс транскрипции — с копированием отдельных ее страниц.

В ходе транскрипции образуются молекулы мРНК (служащие матрицей для синтеза белков), тРНК, рРНК и другие виды молекул РНК, выполняющие структурную, адапторную и каталитическую функции.

Все эти молекулы синтезируются при участии ДНК-зависимых *РНК-полимераз*. РНК-полимеразы не требуют праймера, синтезируют РНК в направлении от 5'-конца к 3'-концу, комплементарно и антипараллельно матричной цепи ДНК.

В клетках эукариот имеются три различных класса РНК-полимераз: I, II, и III. Каждая полимераза отвечает за синтез разных типов РНК. РНК-полимераза I катализирует синтез рРНК, II — мРНК, III — тРНК.

В целом механизм синтеза РНК по многим свойствам напоминает синтез ДНК. Для работы РНК-полимеразы необходимы матрица (роль матрицы выполняет одна из цепей ДНК); субстраты АТФ, ГТФ, ЦТФ и УТФ; ионы Mg^{2+} .

Синтез молекул РНК начинается в определенных местах ДНК, называемых *промоторами*, и завершается в участке, называемом *терминатором*. Участок ДНК, ограниченный промотором и терминатором, представляет собой единицу транскрипции — *транскриптон*. В пределах транскриптона копируется только одна из двух нитей ДНК, которая называется *матричной* (рис. 7.5).

У эукариот в состав транскриптона, как правило, входит только один ген, у прокариот оперон может содержать несколько структурных генов. По функциональному признаку в транскриптоне (опероне) выделяют регуляторные

7.3. Транскрипция

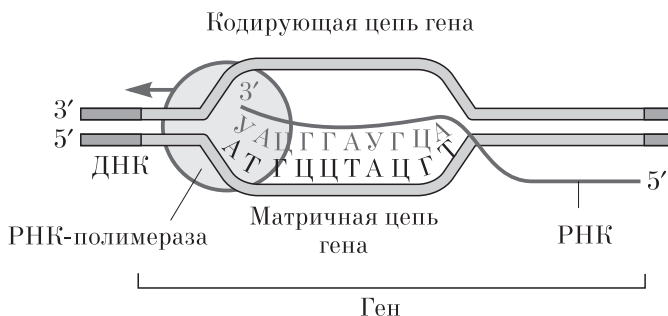


Рис. 7.5. Синтез РНК на матричной цепи ДНК

и структурные области. Структурная область может содержать информативные (*экзоны*) и неинформативные (*интроны*) участки. Процесс транскрипции, как и любой матричный процесс, включает три этапа: инициацию, элонгацию и терминацию (рис. 7.6).

Инициация транскрипции (начальный этап). У эукариот связывание РНК-полимеразы с промотором обеспечивается в присутствии белков — факторов транскрипции. Субъединица фактора транскрипции *TBP* (англ. TATA-box-binding protein), или *TATA-фактор*, распознает последовательность на кодирующей цепи 5'-ТАТАААА-3' (*TATA-бокс*) и связывается с ним. Образующийся комплекс вызывает расхождение двойной нити ДНК длиной в один виток спирали (около 10 нуклеотидных пар). Это способствует формированию комплекса с другими факторами транскрипции (рис. 7.7), что обеспечивает прикрепление РНК-полимеразы II на промотор. После связывания фермента с матрицей начинается синтез РНК.

Факторы транскрипции (F, E, H) детерминируют стартовую точку транскрипции, коактиваторы связывают факторы транскрипции с активаторами. Для обеспечения максимального уровня экспрессии гена используются дополнительные элементы — *энхансеры* (англ. to enhance — усиливать) и *сайленсеры* (англ. silence — тишина), обладающие противоположным регуляторным эффектом. Роль энхансеров или сайленсеров могут выполнять респонсивные элементы гормонов, факторы роста. Разнообразие комбинаций транскрипционных факторов и других регуляторных белков, связывающихся с различными энхансерами/сайленсерами, обеспечивает различную скорость генной экспрессии. Активаторы связываются с энхансерами и увеличивают скорость транскрипции; репрессоры связываются с сайленсерами и снижают интенсивность транскрипции.

Элонгация. РНК-полимераза перемещается вдоль матричной цепи ДНК и соединяет рибонуклеотиды с образованием фосфодиэфирных связей в растущей цепи РНК. Механизм работы фермента аналогичен ДНК-полимеразе, однако контроль правильности считывания информации и исправление ошибок не производятся, поэтому вероятность появления ошибок при транскрипции

7. Биосинтез ДНК, РНК и белков. Методы молекулярной биологии

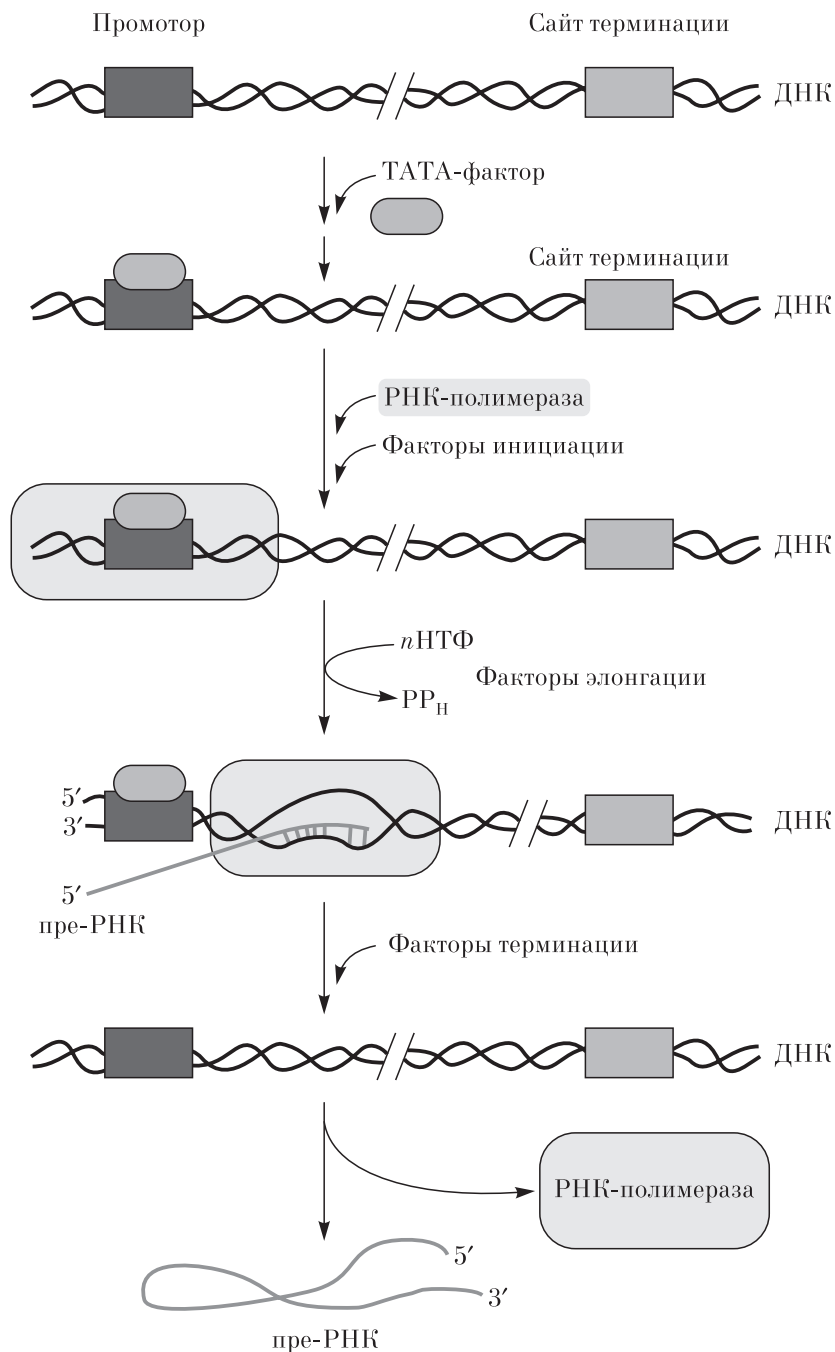


Рис. 7.6. Этапы транскрипции
(нТФ — нуклеозидтрифосфат; РР_н — пирогосфат)

7.3. Транскрипция

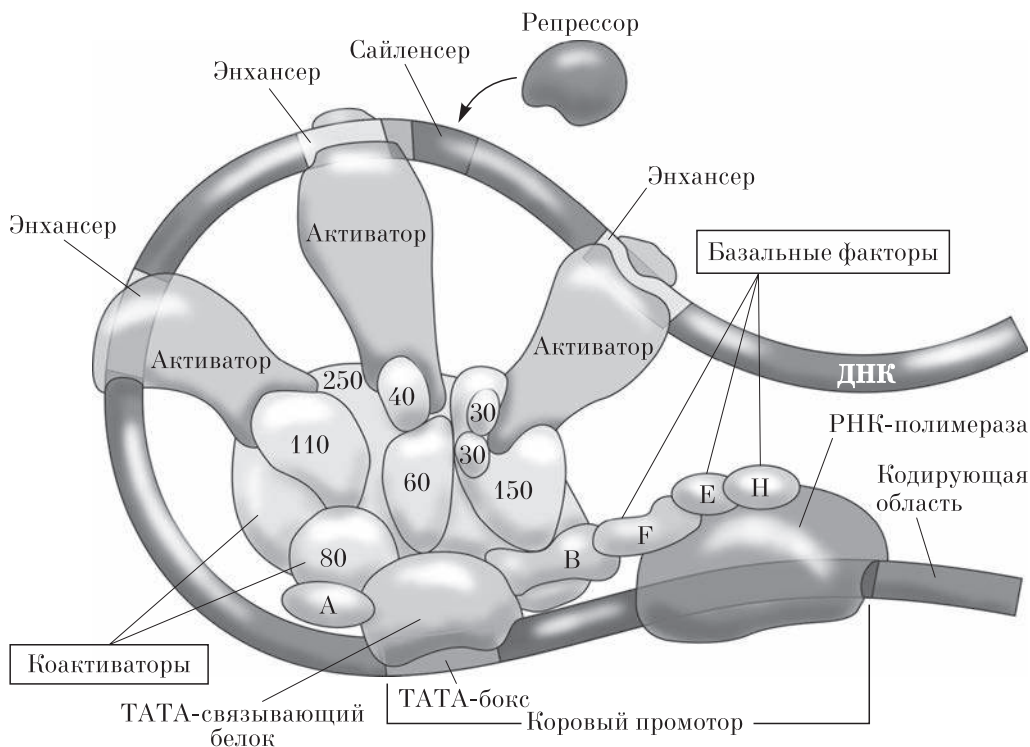


Рис. 7.7. Промотор и регуляторы транскрипции у эукариот

и РНК в 10^4 – 10^5 раз больше, чем при репликации ДНК. Тем не менее, синтезированная с ошибками РНК впоследствии подвергается редактированию и приобретает нормальную последовательность нуклеотидов.

Терминация транскрипции (завершающий этап). РНК-полимераза, перемещаясь по матрице, достигает терминирующей последовательности, диссоциирует с матрицы, высвобождая первичный транскрипт (пре-РНК).

Первичные транскрипты у эукариот составляют основную массу гетерогенной ядерной РНК (гяРНК). Они вступают в цепь биохимических реакций, которая приводит к их созреванию — образованию активных тРНК, рРНК, мРНК. Совокупность таких реакций называют **процессингом (созреванием)**. После процессинга РНК транспортируется из ядра в цитоплазму.

7.3.1. Процессинг РНК

Созревание мРНК у эукариот включает *метилирование* и *экспирование* 5'-конца, *полиаденилирование* 3'-концевого отдела и *сплайсинг*.

К 5'-концу про-мРНК еще на стадии элонгации, когда длина первичного транскрипта достигает ~30 нуклеотидов, присоединяется *метилированная* молекула ГТФ с образованием 5',5'-фосфодиэфирной связи. Этот нуклеотид

7. Биосинтез ДНК, РНК и белков. Методы молекулярной биологии

получил название «кэп» (шапочка), который защищает мРНК от действия нуклеаз, а впоследствии будет играть важную роль в позиционировании мРНК на рибосоме. При завершении элонгации РНК-полимераза II синтезирует последовательность (5'-AAUAAA-3'), которая служит сигналом процесса *полиаденилирования*. ПолиА-полимераза катализирует присоединение к 3'-концу мРНК до 200 адениловых нуклеотидов, формируя полиадениловый хвост молекулы (рис. 7.8), который облегчает выход мРНК из ядра, замедляет гидролиз нуклеазами, тем самым увеличивая время ее жизни, и служит в качестве сигнала узнавания для рибосомы.

Следующим этапом созревания РНК является *сплайсинг* — удаление *интронов* (неинформативных вставок) и сшивание *экзонов* (информативных участков) (рис. 7.9). Процесс удаления интронов протекает при участии мяРНК. По принципу комплементарности мяРНК узнают специфические последовательности интронов в первичном транскрипте, катализируют реакцию расщепления связи на границе экзона с интроном и соединяют два экзона. Сплайсинг происходит в ядре, в цитозоль переносится уже «зрелая» иРНК.

Важную роль в появлении многообразия белков с аналогичными функциями играет так называемый *альтернативный сплайсинг*, который позволяет путем комбинаций экзонами получать разные мРНК и, следовательно, разные белки с одного и того же гена.

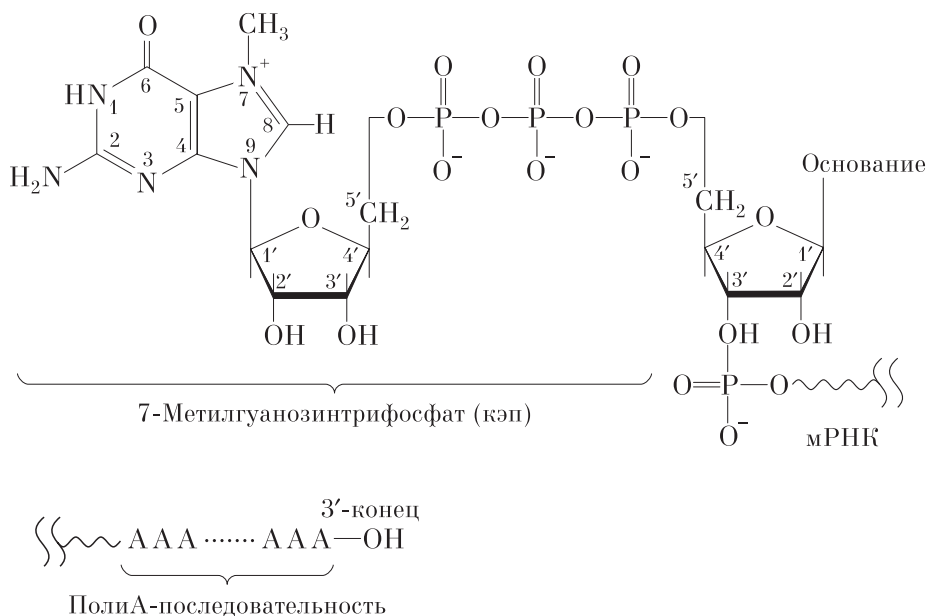


Рис. 7.8. Кэпирование и полиаденилирование про-иРНК

7.4. Синтез белка — трансляция

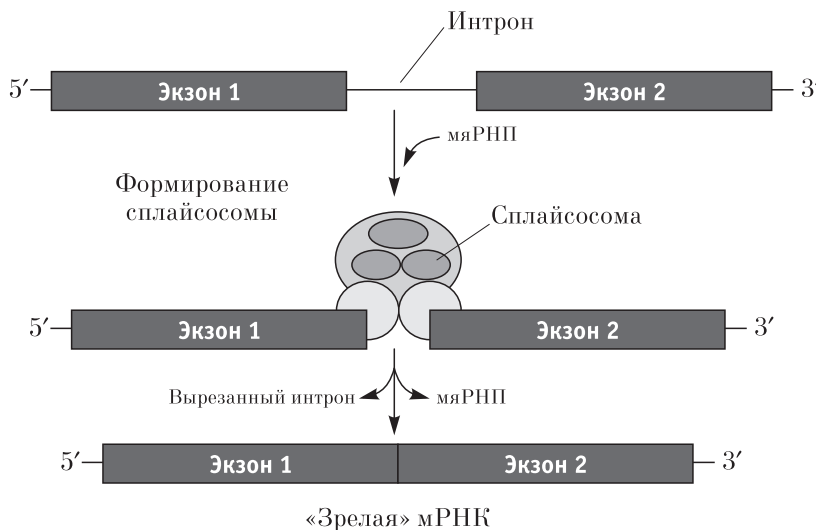


Рис. 7.9. Сплайсинг мРНК у эукариот

Процессинг про-мРНК включает ряд процессов, протекающих в ядре: удаление интрона в центральной области молекулы; удаление нуклеотидов на 3'- и 5'-концах про-тРНК и модификация азотистых оснований; присоединение триплета ЦЦА на акцепторном участке тРНК и формирование антикодоновой петли.

Про-рРНК синтезируется в форме большой молекулы с константой седиментации 45S; 1–2 % нуклеотидов этой молекулы метилируется по 2'-гидроксильной группе рибозы. Метильные группы служат маркерами для последующего расщепления пре-рРНК на более мелкие молекулы, включающиеся в субъединицы рибосом, которые затем поступают в цитозоль из ядра.

7.4. Синтез белка — трансляция

При переписывании генетической информации пользуются *алфавитом* (4 нуклеотида), на котором написана информация о первичной структуре будущего белка. Основные события реализации алфавита происходят во время перевода (трансляции). Он протекает в цитозоле, когда последовательность нуклеотидов транслируется в последовательность аминокислот. иРНК действует в качестве посредника, транспортирующего информацию, записанную в гене на ДНК, к белоксинтезирующему механизму в цитозоле. Она несет сообщение, которое будет переведено на язык аминокислотной последовательности.

Трансляция — это синтез белка на матрице мРНК. мРНК транслируется от 5'- к 3'-концу. Последовательность нуклеотидов мРНК определяет последовательность включения аминокислот в синтезируемый белок. В синтезированной

полипептидной цепи первая аминокислота — N-концевая аминокислота, и рост цепи происходит к С-концевой аминокислоте.

Основные участники механизма трансляции приведены в табл. 7.1.

Таблица 7.1

Основные участники трансляции

Участники	Функции
Аминокислоты	Субстраты для синтеза белков
тРНК	Переносят аминокислоты, связываясь с ними акцепторным участком, и выполняют функцию перевода (адапторы), используя антикодонавый участок
Аминоацил-тРНК-синтетазы	Катализируют реакции активирования аминокислот, обеспечивая соединение аминокислоты со специфической тРНК
мРНК	Матрица, определяющая первичную структуру молекул белков
Рибосомы	Субклеточные структуры, место синтеза белков, катализируют образование пептидной связи
АТФ, ГТФ	Источники энергии
Белки — факторы инициации (eIF), элонгации (eEF) и терминации (eRF) у эукариот	Нерибосомные белки, обеспечивающие начало синтеза (eIF), удлинение полипептидной цепи (eEF) и окончание синтеза (eRF)
Ионы магния	Стабилизируют рибосомы, участвуют в использовании макроэргов

7.4.1. Генетический код и его свойства

В основе процессов передачи информации между нуклеиновыми кислотами (репликация, транскрипция) лежит принцип комплементарности между азотистыми основаниями, однако в процессе трансляции такой принцип исключается из-за различий в структуре азотистых оснований и аминокислот и количественных различий: 4 основания в нуклеиновых кислотах и 21 аминокислота в белке. Простой расчет показывал, что 21 аминокислоту можно закодировать, если единица кода будет представлена тремя нуклеотидами ($4^3 = 64$), т.е. код должен быть *триплетен*. Это было блестяще подтверждено М. Ниренбергом и Г. Маттеи (США), которые в начале 1960-х гг. расшифровали все 64 кодона. Оказалось, что аминокислоты кодируются 61 кодоном, а три кодона (УАА, УАГ, УГА) выполняют роль терминирующих кодонов (табл. 7.2).

Каждому кодону соответствует только одна определенная аминокислота, что указывает на высокую *специфичность* генетического кода, однако аминокислот 21, а кодонов — 61, т.е. одна аминокислота может быть закодирована

7.4. Синтез белка — трансляция

несколькими триплетами. Эта избыточность кодонов получила название **вырожденность кода**. У человека одним кодоном шифруются только две аминокислоты — Мет и Трп. Для Лей, Сер и Арг имеется по шесть кодонов, а для Ала, Вал, Гли, Про, Тре — по четыре. Избыточность кодонов чрезвычайно важна. Она повышает устойчивость генетической информации к возможным изменениям во внешней и внутренней среде.

Таблица 7.2

Генетический код (мРНК)

Первое основание	Второе основание				Третье основание
	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

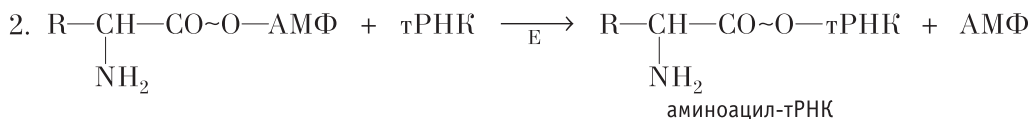
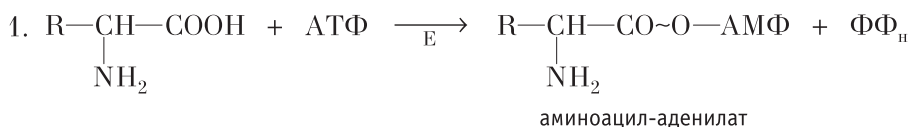
Код *непрерывен*, последовательность нуклеотидов не разделена на отдельные фрагменты из трех нуклеотидов, но код и *неперекрываем*, что означает, что нуклеотиды одного кодона не могут использоваться для кодирования другой аминокислоты в процессе считывания. Код *универсален* для всех изученных организмов: вирусов, бактерий, растений, земноводных, млекопитающих.

7.4.2. Активирование аминокислоты (рекогниция) — начало трансляции

В процессе трансляции выделяются следующие фазы:

- 1) активирование аминокислоты (рекогниция);
- 2) инициация;
- 3) элонгация;
- 4) терминация;
- 5) посттрансляционный процессинг белка.

Молекулы тРНК имеют сходные функции и трехмерные структуры. Адапторная функция молекул тРНК требует взаимодействия каждой конкретной тРНК со своей специфической аминокислотой. Поскольку нуклеиновые кислоты не обладают сродством к конкретным функциональным группам аминокислот, такое узнавание обеспечивается белковой молекулой — ферментом, способной распознавать как молекулу тРНК, так и специфичную для нее аминокислоту. Реакция распознавания и взаимодействия протекает в два этапа и катализируется ферментом *аминоацил-тРНК-синтетазой* (АРСазой) (Е — аминоацил-тРНК-синтетаза). По крайней мере, 20 АРСаз участвуют в этом процессе.



Фермент вначале образует активный промежуточный аминоацил-АМФ-ферментный комплекс, который затем распознает специфическую тРНК и присоединяет аминоацильный остаток к 3'-ОН-группе аденилового нуклеотида на акцепторном участке этой тРНК. В такой форме аминокислота находится до момента включения ее в механизм трансляции (рис. 7.10).

Пирофосфат, выделяющийся в ходе этой реакции, гидролитически расщепляется с образованием двух молекул ортофосфата и выделением энергии, что делает реакцию активации аминокислот необратимой.

Высокая специфичность аа-тРНК-синтетаз в связывании аминокислоты с соответствующими тРНК лежит в основе точности трансляции генетической информации. Активный центр аа-тРНК-синтетазы содержит четыре специфических участка для узнавания аминокислоты, тРНК, АТФ и молекулы H₂O. Последняя необходима для гидролиза ошибочных аминоациладенилатов. Благодаря такому корректирующему механизму, позволяющему удалять ошибочно присоединенные аминокислотные остатки, вероятность ошибки резко снижается.

7.4.3. Инициация трансляции

Дальнейший процесс трансляции зависит исключительно от комплементарного взаимодействия кодонов мРНК и антикодона на тРНК. В инициации трансляции принимают участие мРНК, пул аминоацил-тРНК, включая специфическую иницирующую мет-тРНК, рибосому и нерибосомные белки, называемые *факторами инициации eIF* (эукариотические факторы инициации трансляции).

7.4. Синтез белка — трансляция

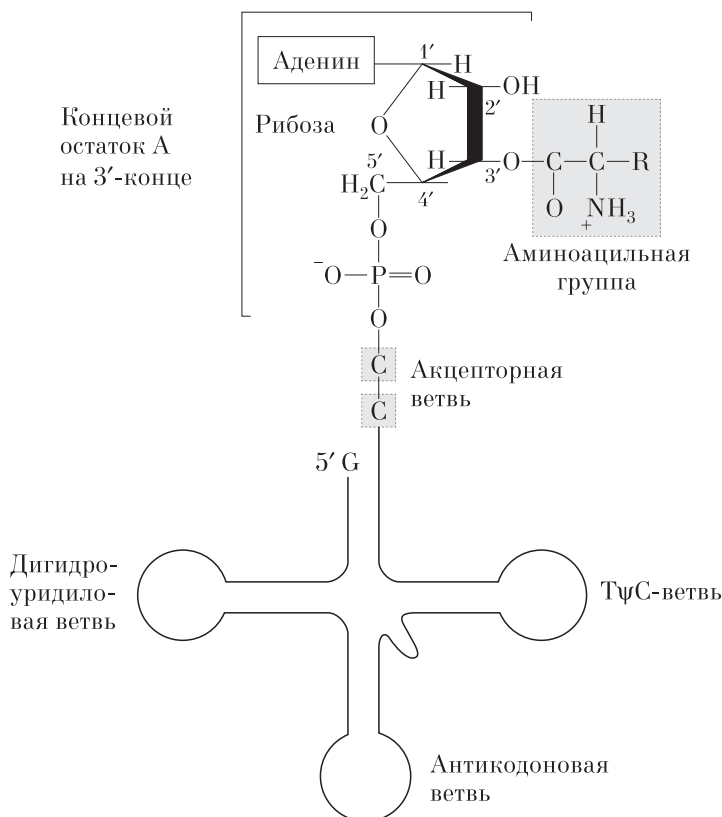


Рис. 7.10. Аминоацил-тРНК

Инициация трансляции включает:

- 1) образование преиницирующего комплекса, состоящего из иницирующей мет-тРНК, eIF-2, ГТФ и малой (40S) субъединицы рибосомы;
- 2) связывание этого комплекса с мРНК;
- 3) соединение с большой субъединицей (60S) и образование комплекса инициации (80S).

Формирование преиницирующего комплекса начинается со связывания ГТФ с eIF-2, затем сюда присоединяется мет-тРНК и малая субъединица рибосомы. Образуется преиницирующий комплекс, который взаимодействует с мРНК в области «кэпа» и перемещается по ней до встречи с иницирующим кодоном АУГ. Антикодон мет-тРНК связывается с кодоном АУГ, что сопровождается присоединением к комплексу большой субъединицы рибосомы, гидролизом ГТФ и удалением факторов инициации. На рибосоме формируются **аминоацильный (А)** и **пептидильный (Р)** центры. Мет-тРНК оказывается в Р-центре рибосомы, а в А-центре — первый смысловой кодон мРНК (рис. 7.11). Кроме eIF-2 в процессе инициации участвует более 10 факторов инициации.

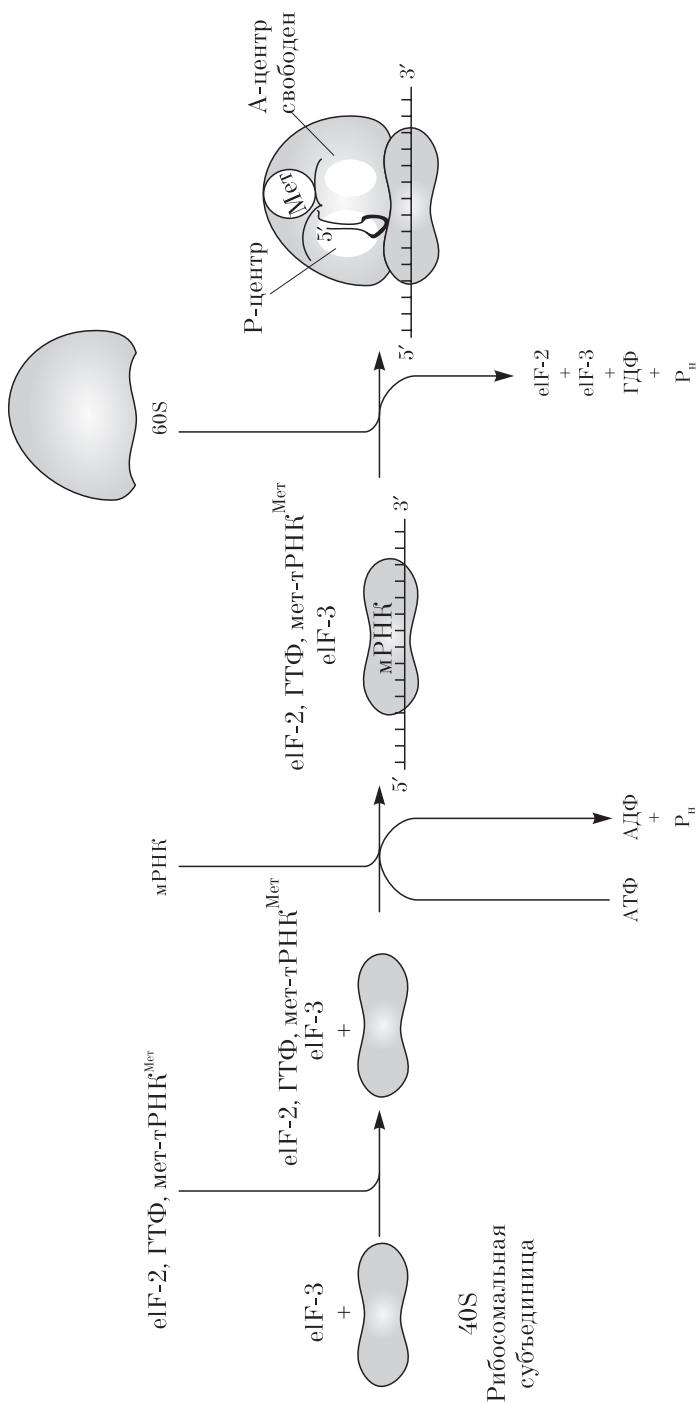


Рис. 7.11. Инициация трансляции у эукариот

7.4. Синтез белка — трансляция

7.4.4. Элонгация

Этап элонгации включает три последовательные стадии:

1) связывание следующей *aa*-тРНК в А-центре с затратой энергии ГТФ и участием фактора элонгации EF-1;

2) образование пептидной связи, которое катализируется *пептидилтрансферазой*. Этот фермент представляет собой пример рибозима, активный центр которого формируется рРНК, входящей в состав большой субъединицы рибосомы;

3) перемещение рибосомы по мРНК на один кодон в направлении от 5'-к 3'-концу с использованием энергии ГТФ (*транслокация*) при участии фактора EF-2 (рис. 7.12). Фактор элонгации EF-2 присоединяется к рибосоме, и за счет энергии ГТФ она продвигается по мРНК на один кодон от 5' к 3'-концу. Пептидил-тРНК, не изменяя своего положения относительно мРНК, перемещается в Р-центр. В освободившийся А-центр поступает новая *aa*-тРНК.

7.4.5. Терминация трансляции

При поступлении в рибосому (в А-центр) одного из стоп кодонов: **УАГ**, **УГА**, **УАА** — синтез полипептидной цепи прекращается (*терминация*) (рис. 7.13).

С такими кодонами начинают взаимодействовать белковые факторы терминации RF-1 и RF-3 (англ. RF — releasing factor), которые при участии пептидилтрансферазы обеспечивают гидролитическое отщепление синтезированного полипептида от тРНК, а также освобождение тРНК из пептидильного центра и диссоциацию рибосомы на субъединицы с затратой энергии молекулы ГТФ.

Рибосома может располагаться на мРНК с интервалами в 100 нуклеотидов, занимая участок, равный примерно 80 нуклеотидам иРНК. Поэтому

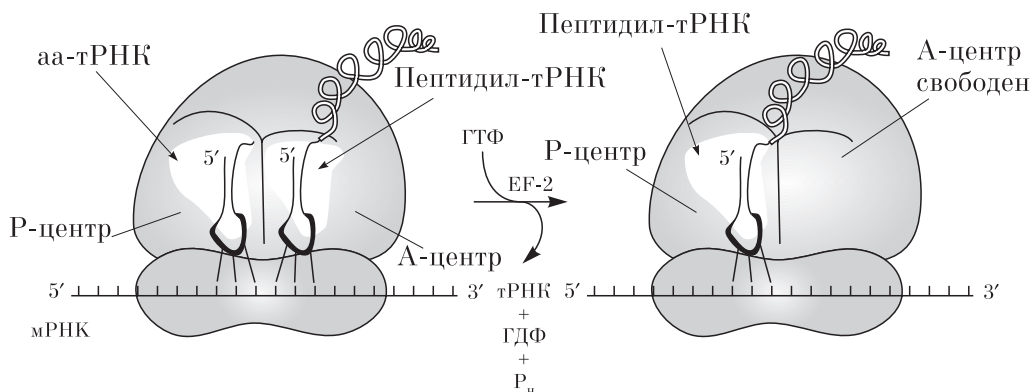


Рис. 7.12. Транслокация в ходе трансляции

в трансляции одной мРНК могут участвовать одновременно несколько рибосом (*полисома*).

Во время синтеза полипептидной цепи возможен ее протеолиз, однако этого не происходит благодаря специальным белкам, которые взаимодействуют с растущей полипептидной цепью. При достижении длины примерно в 70 аминокислотных остатков полипептидная цепь формирует новый комплекс — SRP (англ. signal recognition particle), который обеспечивает проход этой цепи через мембрану ЭР, где сигнальный пептид удаляется при помощи специальной сигнальной пептидазы. В дальнейшем такие белки при помощи других специфических сигнальных последовательностей в своей структуре могут направляться в комплекс Гольджи, лизосомы, плазматическую мембрану или секретироваться клеткой.

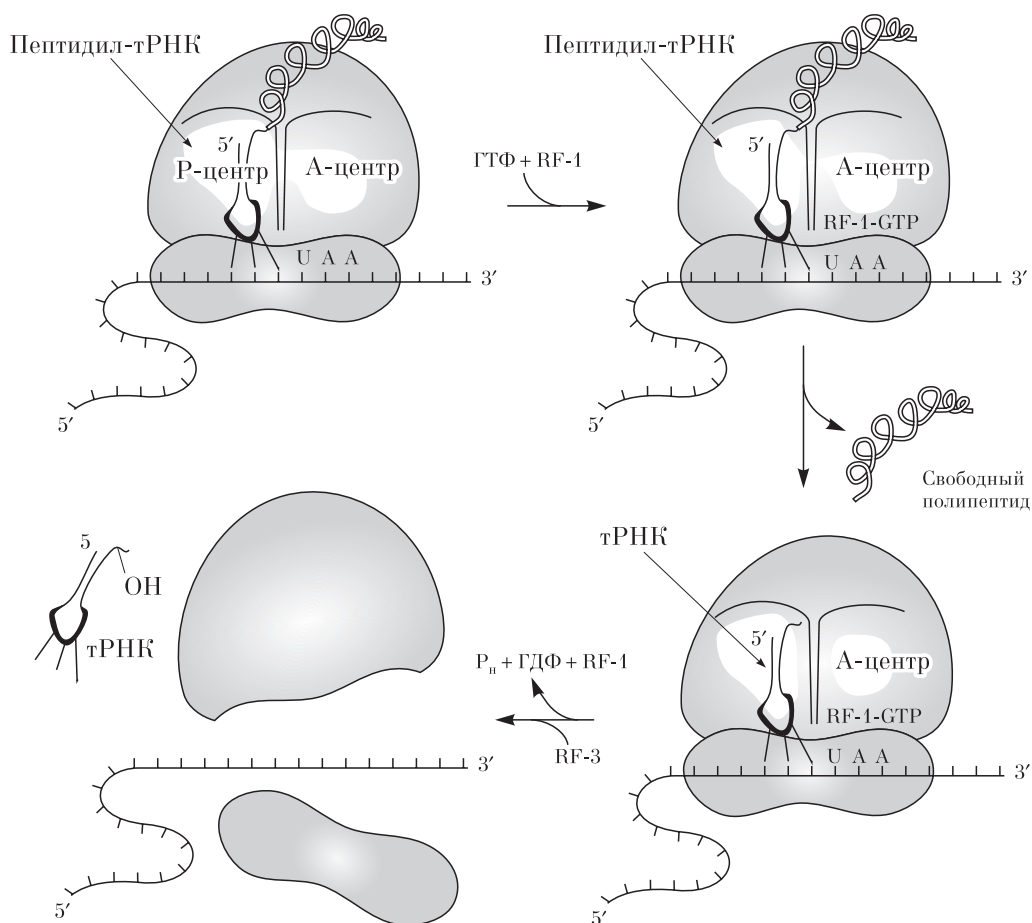


Рис. 7.13. Терминация трансляции

7.5. Механизмы регуляции количества белков в клетке

7.4.6. Модификация белковых молекул после трансляции

Синтезированные на рибосомах белки часто функционально неактивны и могут подвергаться преобразованиям в эндоплазматической сети, аппарате Гольджи, цитозоле, секреторных пузырьках, межклеточных пространствах и даже в секретах желез, приобретая таким образом свою нативную структуру. Механизмами таких преобразований могут быть:

- *ограниченный протеолиз* — специфический гидролиз пептидных связей, способствующий образованию активного белка, например: гидролиз проинсулина в секреторных пузырьках β -клеток поджелудочной железы, образование кортикотропина и других гормонов из проопиомеланокортина в гипофизе, превращение пропептидаз (пепсиногена, трипсиногена, протромбина и др.) в активные формы и др.;

- *образование дисульфидных связей* между остатками цистеина — важно для окончательного формирования пространственной структуры и для проявления активности многих белков (инсулина, иммуноглобулинов, рибонуклеазы и др.);

- *соединение белков с небелковыми группами* — присоединение олигосахаридов в аппарате Гольджи, взаимодействие ферментов с ФАД, ФМН, ТПФ и другими простетическими группами и коферментами, соединение гема с глобином, присоединение фарнезила, геранила, жирных кислот (пренилирование) для «заякоривания» белков мембран и др.;

- *сборка отдельных полипептидных цепей* (субъединиц) с образованием белков с четвертичной структурой;

- *специфическая модификация аминокислотных остатков*, необходимая для проявления функций белков — гидроксилирование остатков пролина и лизина в молекулах коллагенов; карбоксилирование остатков глутамата в факторах свертывания крови (II, VII, IX, X) и других кальцийсвязывающих белках; метилирование остатков аргинина и лизина в молекулах гистонов; йодирование остатков тирозина в белке щитовидной железы — тиреоглобулине; фосфорилирование гидроксильных групп в остатках серина, треонина и тирозина (при проведении сигнала в клетку).

7.5. Механизмы регуляции количества белков в клетке

Эффективность метаболических процессов в клетке во многом определяется количеством молекул белков-ферментов, задействованных в этих процессах, поэтому регуляция количества белков — важная составляющая адекватной реакции клетки на изменения окружающей среды. Количество синтезируемых белков зависит от изменения количества структурных генов. Число копий отдельных генов может возрастать (амплифицироваться), если возникает необходимость увеличить синтез определенного генного продукта. Так, в ответ

на повышение концентрации тяжелых металлов в крови, в тканях происходит амплификация гена металлотионеина. Продукт экспрессии этого гена — низкомолекулярный белок, способный связывать тяжелые металлы (медь, ртуть, кадмий, цинк и др.) и защищать клетки от отравления этими веществами.

Объектами регуляции синтеза белков в клетке могут быть механизмы транскрипции, механизмы процессинга РНК, «продолжительность жизни» мРНК, механизмы трансляции, посттрансляционная модификация белковых молекул, механизмы протеолиза, внутриклеточный и межклеточный транспорт белковых молекул.

Несомненно, ведущей мишенью действия регуляторов является начальный этап экспрессии генома — инициация транскрипции (см. п. 7.3).

Регуляция инициации трансляции у эукариот обеспечивается фосфорилированием остатка серина в α -субъединице eIF-2 (eIF-2 α). Фосфорилированный eIF-2 не способен к обмену ГДФ на ГТФ, и синтез белка останавливается. Этот механизм регуляции используется при многих стрессовых состояниях (голодание, недостаток аминокислот, недостаток гема, вирусная инфекция).

Экспрессия генов для отдельных белков может происходить с относительно постоянной скоростью — *конститутивная экспрессия*. Она характерна, например, для генов, кодирующих ферменты основных метаболических путей. Конститутивная экспрессия обеспечивается основными элементами транскриптона. Экспрессия других белков может вызываться действием внешних сигналов. Такой процесс называют *индукцией*, а экспрессируемые таким образом белки — *индуцибельными*. Процесс торможения экспрессии действием внешних сигналов называют *репрессией*. Примеры механизмов регуляции транскрипции приведены ниже.

Классический пример механизма регуляции транскрипции у бактерий — управление работой лактозного оперона (*lac*-оперона) *E. coli*. Он содержит три гена: *lac Z*, *lac Y* и *lac A*, кодирующие три фермента: β -галактозидазу, β -галактозидпермеазу и трансацилазу, необходимые для усвоения бактериями лактозы. Транскрипция всех генов оперона регулируется синхронно.

Во-первых, активность РНК-полимеразы контролируется при помощи специфических белков-репрессоров или белков-активаторов. Кроме того, для взаимодействия с опероном РНК-полимераза *E. coli* должна связаться с небольшим белком — σ (сигма)-фактором.

Во-вторых, транскрипция *lac*-оперона управляется белком, активируемым катаболитами — CAP (англ. catabolite activator protein), который, как и белок-репрессор связывается со специфическими последовательностями нуклеотидов в области, которая управляет транскрипцией *lac*-оперона. *Lac*-Репрессор связывается с участком ДНК, получившим название *оператор*, нуклеотидная последовательность которого перекрывается с участком связывания РНК-полимеразы — промотором. *Lac*-Репрессор — продукт экспрессии специального гена-регулятора, состоит из четырех субъединиц. В присутствии лактозы он теряет способность связываться с оператором. В среде с недостатком лактозы

7.5. Механизмы регуляции количества белков в клетке

lac-репрессор, наоборот, связывается с оператором и блокирует присоединение РНК-полимеразы — и синтеза иРНК не происходит. Клетка не тратит энергию и субстраты на синтез ферментов, которые ей не нужны в данный момент.

САР состоит из двух субъединиц. Его способность связываться с опероном обеспечивается взаимодействием с цАМФ. Количество цАМФ увеличивается по мере снижения концентрации глюкозы в клетке. Комплекс САР – цАМФ в 10–20 раз увеличивает активность РНК-полимеразы.

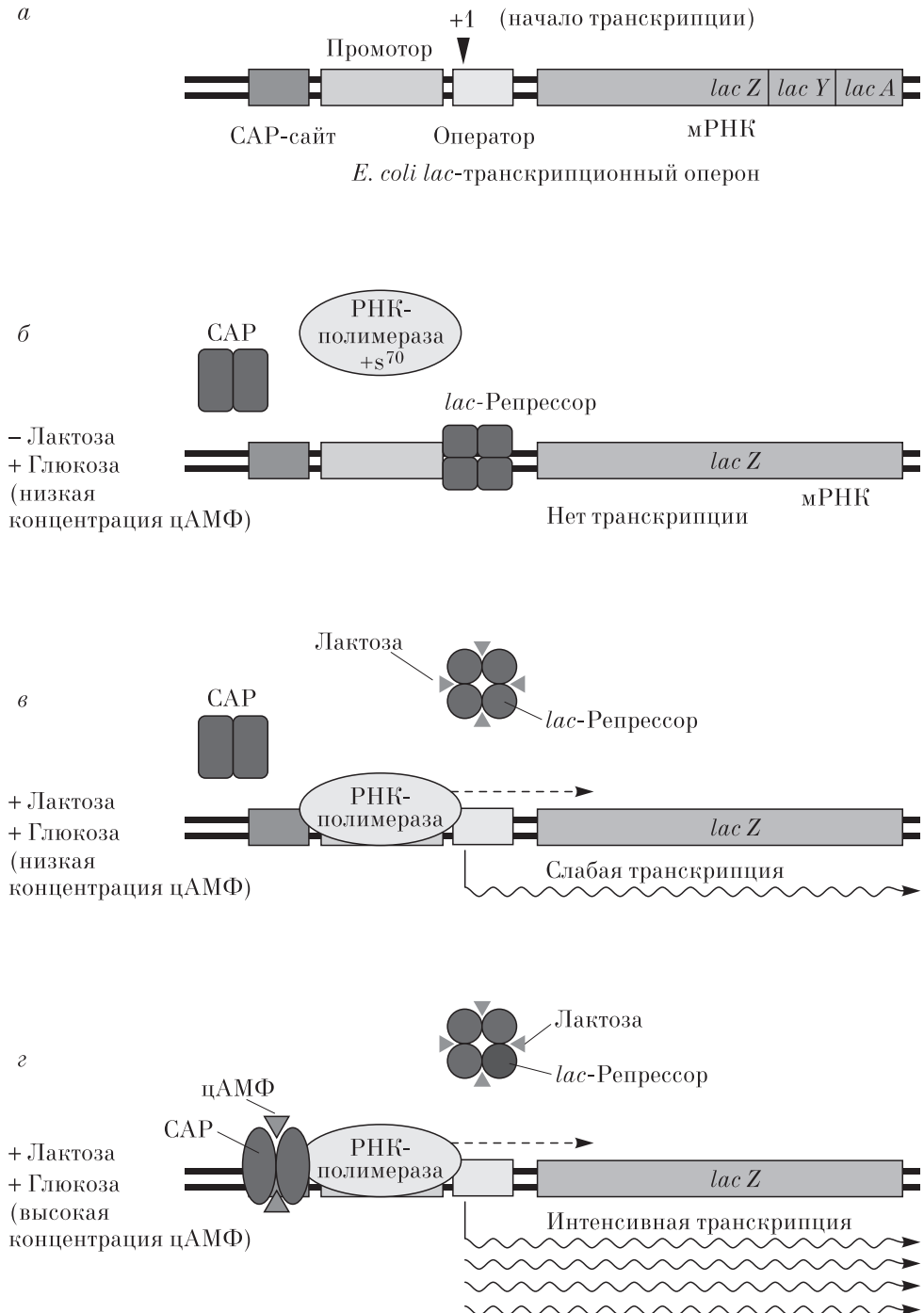
Для поддержания своей жизнедеятельности клетка обычно использует глюкозу, транскрипция *lac*-оперона при этом не происходит (рис. 7.14, а, б).

Если к среде, содержащей глюкозу, добавлять лактозу, то транскрипция *lac*-оперона будет усиливаться по мере повышения соотношения лактоза/глюкоза. Снижение количества глюкозы (рис. 7.14, в) вызовет повышение уровня цАМФ и способность САР связываться с опероном. Белок-репрессор, в свою очередь, связавшись с лактозой, освободит оператор и позволит РНК-полимеразе транскрибировать гены оперона и экспрессировать белки, необходимые для усвоения лактозы (рис. 7.14, г). Гидролиз лактозы и появление глюкозы вновь станет причиной снижения экспрессии *lac*-оперона (рис. 7.14, б).

Выше уже упоминалось о сложности устройства регуляторной области транскриптона. В организме человека имеется более 200 различных типов клеток, которые существенно различаются своей структурой и функциями, хотя имеют практически одинаковый набор генов. У одних клеток ряд транскриптонов стабильно репрессируется на протяжении всей жизни клетки, у других эта репрессия может проявляться только на определенном этапе или являться следствием влияния факторов внешней среды (адаптивная регуляция). В дифференцированных клетках можно выделить участки плотно упакованного хроматина (гетерохроматин), в которых ДНК не транскрибируется, и участки, имеющие более рыхлую упаковку, которые способны связывать РНК-полимеразу (эухроматин). В разных типах клеток области эухроматина расположены в разных участках генома. Области эухроматина характеризуются более высокой чувствительностью к действию ДНКаз, молекулы гистонов в них модифицированы путем метилирования или ацетилирования аминокроп радикалов лизина и аргинина, а остатки серина фосфорилированы. Это снижает суммарный положительный заряд гистонов и ослабляет связь нуклеосом с ДНК.

Таким образом, клетки эукариот обладают широким набором механизмов, поддерживающих определенный уровень белков, необходимых для их жизнедеятельности.

7. Биосинтез ДНК, РНК и белков. Методы молекулярной биологии

Рис. 7.14. Схема, иллюстрирующая работу *lac*-оперона у *E. coli*

7.6. Ингибиторы биосинтеза белка

7.6. Ингибиторы биосинтеза белка

Регуляция синтеза белка может осуществляться на разных этапах синтеза, начиная уже с транскрипции. В регуляции принимают участие разные по строению вещества. Это могут быть гистоны и негистоновые белки, стероидные гормоны, адениловые нуклеотиды. В клетке широко используются принципы регуляции ферментов, участвующих в синтезе белков (изостерическая и аллостерическая регуляция, ковалентная модификация структуры ферментов и белков) и т.д.

Исследование механизмов синтеза белка позволило получить большое число соединений, которые в последующем стали использоваться в медицинской практике: антибиотики, противоопухолевые препараты, средства борьбы с вирусными болезнями и т.д. Примеры антибиотиков как лекарственных препаратов приведены в табл. 7.3.

Таблица 7.3

Ингибиторы биосинтеза белка

Антибиотики	Механизм действия
<i>Ингибиторы репликации</i>	
Дауномицин Доксорубин Актиномицин D	Внедряются («интеркалируют») между парами оснований ДНК и нарушают репликацию и транскрипцию
Мелфалан	Алкилирует ДНК и нарушает репликацию
Номермицин Новобиоцин	Ингибируют ДНК-топоизомеразу II, ответственную за суперспирализацию ДНК, нарушают репликацию и транскрипцию
<i>Ингибиторы транскрипции</i>	
Рифамицины	Связываются с бактериальной РНК-полимеразой и препятствуют началу транскрипции
<i>Ингибиторы трансляции</i>	
Тетрациклины	Ингибируют элонгацию: связываются с 30S субъединицей рибосомы и блокируют присоединение aa-тРНК в А-центр
Левомецетин	Присоединяется к 50S субъединице рибосомы и ингибирует пептидилтрансферазную активность
Эритромицин	Присоединяется к 50S субъединице рибосомы и ингибирует транслонгацию
Стрептомицин	Ингибирует инициацию трансляции. Связывается с 30S субъединицей рибосомы, вызывает ошибки в прочтении информации, закодированной в мРНК
Интерфероны	Индуктируют синтез фермента, который синтезирует олигонуклеотид, последний активирует РНКазу, которая разрушает мРНК прокариот

7.7. Методы молекулярной биологии.

ДНК-технологии

Диагностика заболеваний, их лечение, восстановление дефектов в зубочелюстной области, в том числе путем выращивания зубов, являются авангардом современных технологий, которые базируются на знании молекулярных механизмов синтеза белков.

Основными инструментами, которыми пользуются молекулярные биологи, являются ферменты. **Рестриктазы** (ферменты, расщепляющие ДНК), или **рестрикционные эндонуклеазы**, выделены из бактериальных клеток. Рестриктазы узнают специфические последовательности из 4–6, реже 8–12 нуклеотидов в двухцепочечной молекуле ДНК (сайты рестрикции) и катализируют гидролиз фосфодиэфирных связей в местах локализации этих последовательностей (рис. 7.15). В большинстве случаев участки рестрикции представляют палиндромные последовательности нуклеотидов.

С помощью набора рестриктаз можно разрезать молекулу ДНК на фрагменты желаемой длины и затем разделить их методом электрофореза в полиакриламидном или агарозном геле. Выделено несколько сотен таких ферментов.

Для создания новых молекул ДНК нужно не только уметь разрезать исходную молекулу ДНК, но и иметь возможность соединить две полинуклеотидные цепи. Это делают с помощью ферментов *ДНК-лигаз*, которые «сшивают» сахарофосфатный остов двух цепей ДНК. Их действие во многом облегчается рестриктазами, которые, катализируя гидролиз фосфодиэфирных связей у разных нуклеиновых кислот, создают комплементарные «липкие концы», позволяющие

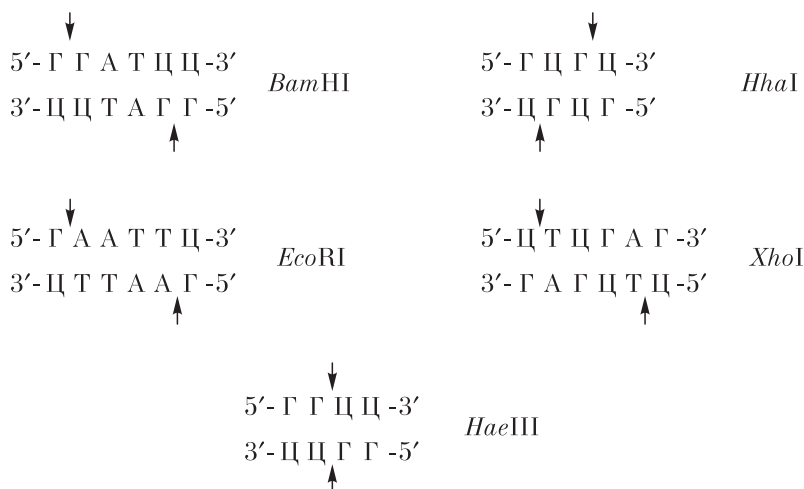


Рис. 7.15. Примеры действия рестриктаз

7.7. Методы молекулярной биологии. ДНК-технологии

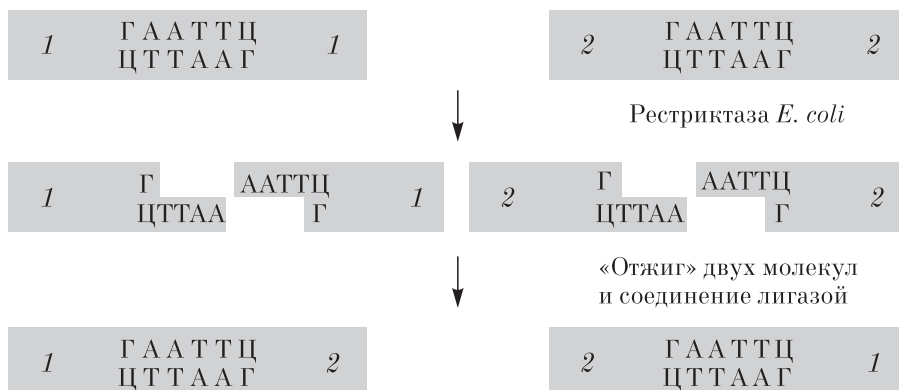


Рис. 7.16. Использование рестриктаз и ДНК-лигаз для создания рекомбинантных ДНК

соединить отрезки таких нуклеиновых кислот по принципу комплементарности (рис. 7.16). ДНК-лигазы соединяют отрезки разных фрагментов полинуклеотидных цепей ДНК ковалентными связями. После этого клетка не может отличить полученную молекулу от своей собственной ДНК.

РНК-зависимая ДНК-полимераза (обратная транскриптаза). В 1970 г. Х. Темин и Д. Балтимор (США) впервые выделили из ретровирусов (РНК-зависимых вирусов) фермент, который катализировал образование ДНК, используя в качестве матрицы молекулу РНК. Фермент получил название *РНК-зависимая ДНК-полимераза* или *обратная транскриптаза*. Используя в качестве субстратов дезоксирибонуклеозидтрифосфаты, обратная транскриптаза катализировала синтез цепи ДНК с образованием гибридной (РНК-ДНК) двойной спирали. Затем специфическая РНКаза Н катализировала гидролиз цепи РНК, а оставшаяся цепь ДНК использовалась в качестве матрицы для синтеза второй цепи ДНК. Таким образом генетическая информация передавалась от РНК на ДНК.

Ретровирусы при попадании в клетку при помощи обратной транскриптазы синтезируют ДНК, которая встраивается в геном хозяина. В генной инженерии РНК-зависимые ДНК-полимеразы (*ревертазы*) используются для синтеза молекул ДНК, содержащих только информативные участки (*экзоны*). В генной инженерии обратную транскриптазу используют для получения *кДНК* — копии эукариотического гена, не содержащей интронов. Для этого из организма выделяют зрелую мРНК (кодирующую соответствующий генный продукт: белок, РНК) и проводят с ней в качестве матрицы обратную транскрипцию. Полученную *кДНК* можно трансформировать в клетки бактерий для получения трансгенного продукта.

7.7.1. Клонирование

Молекулярным клонированием называют получение идентичных копий ДНК (в том числе генов, фрагментов генов, совокупностей генов). **Клонированием** также часто называют биотехнологические методы, используемые для искусственного получения клонов организмов, клеток или молекул.

Для клонирования нужный фрагмент ДНК (обычно измененный тем или иным способом и называемый *вставка*) встраивают в другую молекулу ДНК, называемую *вектор*.

Известны несколько основных классов векторов, позволяющих встраивать исследуемый нуклеотидный фрагмент в геном клетки хозяина. К ним относятся плазмиды, бактериофаги-лямбда, хромосомы дрожжей или бактерий. Выбор определяется размерами переносимого фрагмента. Плазмиды могут переносить фрагменты менее 10 тыс. пар оснований, бактериофаги — до 25 тыс. пар. Для переноса более крупных фрагментов используют векторы-химеры

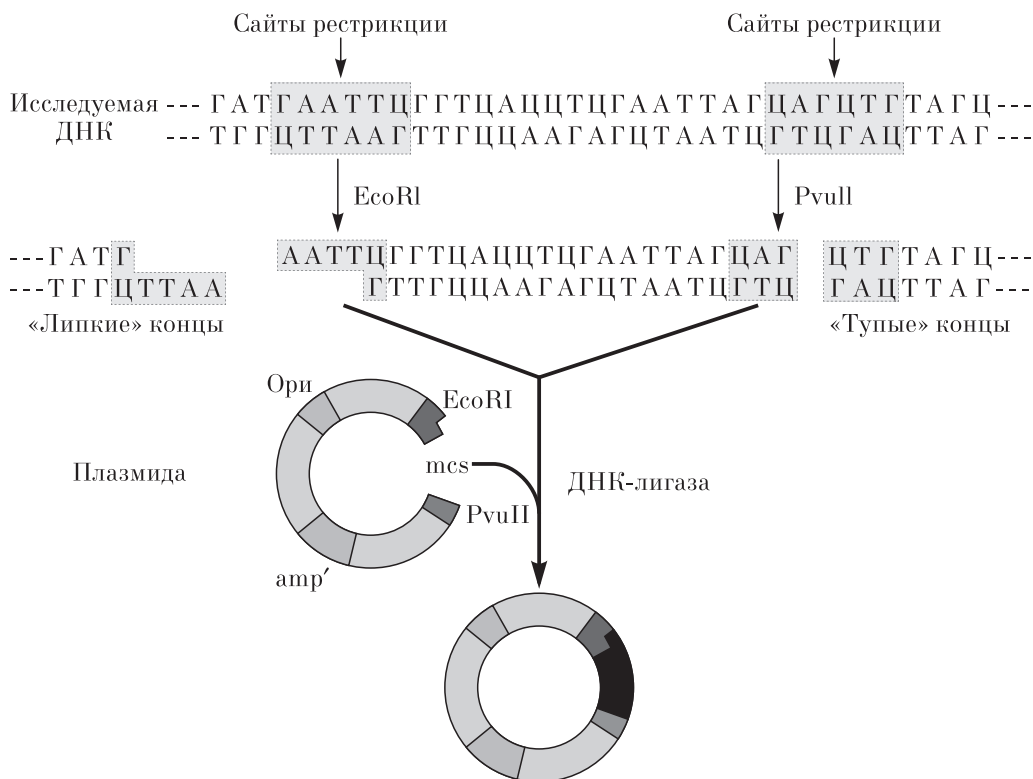


Рис. 7.17. Схема клонирования с использованием плазмид:

mcs — полилинкер (искусственно синтезированная нуклеотидная последовательность для узнавания рестриктазами); amp^r — участок плазмиды, ответственный за устойчивость к ампициллину

7.7. Методы молекулярной биологии. ДНК-технологии

(плазмида-лямбда вектор), называемые *космидами*. Еще более крупные фрагменты, необходимые для работы с геномом человека, переносят с использованием хромосомы дрожжей.

Размножаясь, бактерии и фаги многократно увеличивают количество введенной ДНК, в точности сохраняя ее структуру.

На рис. 7.17 показаны этапы использования плазмиды в качестве вектора, переносящего молекулу ДНК для встраивания ее в *E. coli*. Молекула ДНК и плазмида гидролизуются рестриктазами (EcoRI или PvuII) с образованием «липких» или «тупых» концов соответственно, а затем «сшиваются» ДНК-лигазой.

Полученный вектор вводится в бактерии, которые культивируют на плотной питательной среде. В результате образуется коллекция колоний бактерий, каждая из которых содержит плазмиды с различными встроенными молекулами ДНК. Их структура подобна молекулам синтезированных клеткой иРНК.

Методика клонирования и размножения рекомбинантной ДНК позволяет получать интересующие исследователя РНК, ДНК или белки в достаточно больших количествах. Это дает возможность использовать микроорганизмы в качестве продуцентов белков и таким образом создавать необходимые для человека биологически активные вещества, в том числе генно-инженерные лекарственные препараты. В настоящее время уже используются рекомбинантный человеческий инсулин, соматотропный гормон, фоллитропины α и β (ФСГ), эритропоэтины, вакцины (против гепатита С), факторы свертывания крови.

Механизм образования рекомбинантных ДНК позволяет предпринимать попытки лечения наследственных болезней путем введения в клетки нормальных копий дефектных генов.

7.7.2. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — это процедура амплификации ДНК *in vitro*, в которой могут быть получены миллионы копий определенной последовательности ДНК в течение нескольких часов, своеобразный «аппарат для генного копирования». Изобрел этот остроумный метод в 1989 г. биохимик К. Муллис (США; Нобелевская премия, 1993).

Для проведения реакций должны быть известны фланкирующие (прилежащие к 3'- и 5'-концам) последовательности исследуемого гена. Необходимо синтезировать два праймера ДНК размером приблизительно 20–30 нуклеотидов, комплементарные фланкирующей области. Цикл реакций имеет следующие шаги:

1) раскручивание (*денатурация*) — нити ДНК разделяются (плавление) путем нагревания при 95 °С в течение 15 с — 2 мин (рис. 7.18);

2) присоединение праймеров (*отжиг*) — праймеры присоединяются при охлаждении до 50 °С в течение 0,5–2 мин. Возникают гибриды праймеров с одноцепочечной ДНК, полученный в первом цикле;

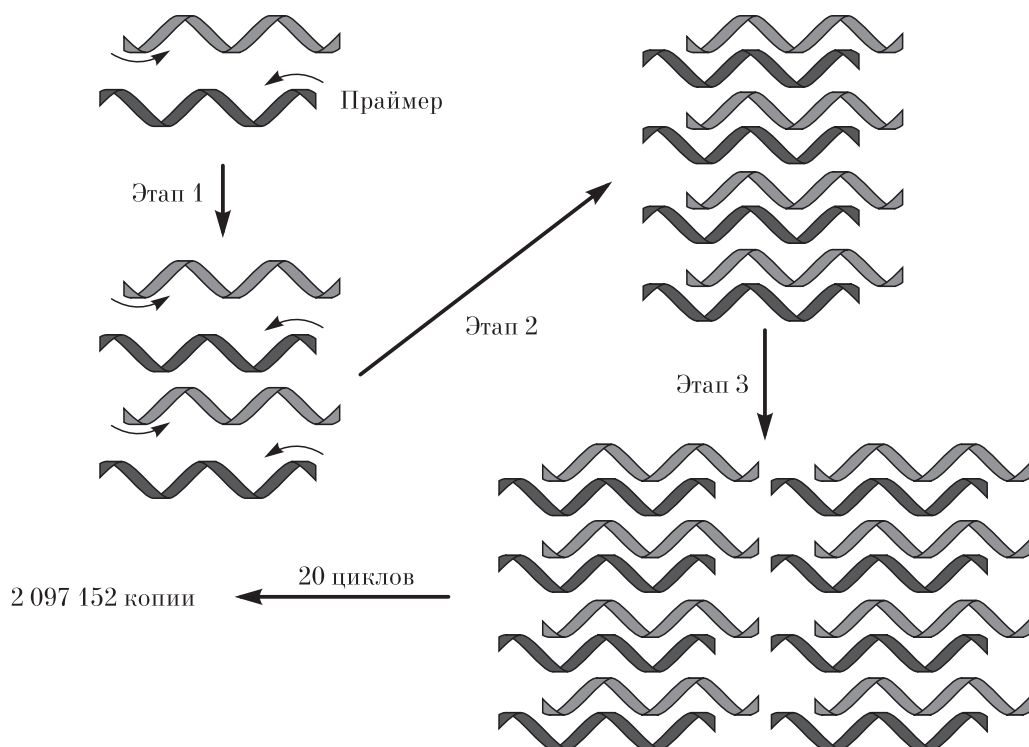


Рис. 7.18. Этапы ПЦР

3) полимеризация с помощью ДНК-полимеразы и образование комплементарной копии одноцепочечных ДНК.

Этот метод широко используется в диагностике вирусных инфекций, таких как COVID-19, гепатит С, цитомегаловирусная инфекция, ВИЧ, при обнаружении латентных вирусов и т.д.

ПЦР позволяет анализировать ДНК из зуба, слюны, фолликула волоса или клеток крови. ДНК из этих и других возможных источников, размноженную с помощью ПЦР, «разрезают» рестриктазами на фрагменты. Фрагменты разделяют электрофорезом в агарозном геле. Рестриктазные «нарезки» ДНК одного человека высокоспецифичны. Метод нашел широкое применение в судебно-медицинской практике для идентификации личности. Например, полученную на электрофореграмме картину сравнивают с аналогичными образцами ДНК у нескольких подозреваемых. Электрофоретическая подвижность фрагментов ДНК преступника будет полностью совпадать с образцом, выделенным у жертвы и усиленным ПЦР.

Технология ПЦР широко используется в диагностике наследственных заболеваний для умножения и последующего обнаружения генных сегментов, которые содержат известные мутации, таких как серповидноклеточная анемия,

7.7. Методы молекулярной биологии. ДНК-технологии

талассемия, муковисцидоз и т.д. ПЦР важна для пренатальной диагностики наследственных заболеваний, когда клеток, полученных из плода путем амниоцентеза, очень мало.

Она также широко используется для мониторинга остаточных аномальных клеток у больных при лечении злокачественных новообразований. Можно также идентифицировать мутации в генах онкосупрессоров, таких как *p53*, ген ретинобластомы и т.д., что может помочь выявить лиц с высоким риском развития рака.

ДНК может быть выделена из ископаемых животных. Путем ПЦР ее размножают для изучения эволюции путем сравнения последовательностей нуклеотидов у вымерших и живых организмов.

7.7.3. Геномная дактилоскопия

В хромосомах существуют тандемные повторы коротких последовательностей нуклеотидов, расположенные на разных сайтах. Число их варьируется от человека к человеку, но является уникальным для конкретного индивидуума. Они служат своеобразными молекулярными отпечатками пальцев (*ДНК-профиль*). Вероятность сходства повторов между двумя людьми составляет 1 случай на 3×10^{10} человек.

В частности, данный метод используется при установлении биологического родства. Процесс ДНК-профилирования начинается с подготовки образца ДНК. Наиболее предпочтительным методом отбора эталонного образца является использование *буккального (щечного) мазка*, так как при этом способе снижается вероятность его загрязнения. Если это не представляется возможным (например, если для такой процедуры требуется решение суда, которое отсутствует), то можно воспользоваться другими методами для сбора образцов крови, слюны, спермы или других подходящих жидкостей либо тканей с личных вещей (например, с зубной щетки, бритвы и т.п.). Можно воспользоваться и образцами из хранилищ (например, из банка спермы или из хранилища биопсии тканей). Образцы, полученные из крови биологических родственников, могут служить индикатором профиля индивидуума, равно как и человеческие останки, которые были ранее профилированы.

Размноженные ПЦР и фрагментированные рестриктазами фрагменты ДНК разделяют электрофорезом в агарозном геле. Затем созданные ДНК-зонды вступают в реакции гибридизации с повторами нуклеотидов в этих фрагментах. Полученная в результате картина распределения специфична для любого индивидуума.

Гормоны. Механизмы передачи гормональных сигналов

Гормональная регуляция — это, по существу, химическая координация функций организма. В главе, посвященной ферментам, уже назывались основные объекты регуляции, воздействие на которые позволяет изменить скорость химических реакций, протекающих в клетке. Среди них важное место занимали изо- и аллостерическая регуляция активности фермента, регуляция количества фермента и проницаемости мембран, а также ковалентная модификация структуры белков, участвующих в проведении сигнала. Все указанные принципы регуляции широко используются в механизмах действия гормонов на клетки, а это действие затрагивает практически все жизненно важные функции в норме и при патологии. Гормоны поддерживают метаболический гомеостаз, регулируют рост, деление, дифференцировку клеток и клеточный иммунитет, являются важными участниками воспалительных процессов и процессов регенерации тканей.

Успехи в изучении механизмов образования гормонов, принципов их влияния на клетки-мишени, регуляции секреции имеют большое значение для практической медицины и медицинской науки в целом, поскольку эти механизмы являются важнейшими участниками развития заболеваний и, одновременно, мишенью для воздействия на них в ходе лечения.

8.1. Гормоны — молекулы, действующие на расстоянии

Термин «гормон» (греч. *hormao* — возбуждаю, побуждаю) был впервые использован в работах английских физиологов У. Бейлисса и Э. Старлинга в 1905 г. В настоящее время гормонами называют химические вещества, синтезируемые железами внутренней секреции, а также кардиомиоцитами, адипоцитами, клетками крови и т.д., которые служат сигнальными молекулами для других клеток.

Гормоны могут действовать на расстоянии, синтезируясь в одной части организма и воздействуя на далеко расположенные клетки путем переноса туда кровотоком (*эндокринно*). При *паракринном* действии гормон влияет на соседние

8.3. Сигнальный путь

клетки, достигая их путем диффузии в межклеточном матриксе. В случае *аутокринного* эффекта гормон действует на клетку, в которой он синтезировался.

8.2. Особенности биологического действия гормонов

Для гормонов характерны следующие особенности биологического действия:

- низкая концентрация в крови (10^{-6} – 10^{-12} М);
- высокая специфичность действия. Это достигается путем комплементарного связывания молекулы гормона со специфическим белком, получившим название *рецептор*. Гормон в данном случае выступает в качестве лиганда, который связывается с участком белка-рецептора, что, в свою очередь, вызывает конформационное изменение рецептора, который начинает последовательность реакций, приводящих к специфическому клеточному ответу;
 - клеточный ответ осуществляется путем изменения количества или активности ферментов, синтеза белков, проницаемости клеточных мембран и т.д., приводящих к изменению функции клетки-мишени;
 - регуляция секреции гормонов происходит по принципу прямой и (или) обратной связи.

8.3. Сигнальный путь

Способность клеток воспринимать и отвечать на сигналы из окружающей среды — фундаментальная основа жизни. Понятие «сигнальный путь» включает несколько этапов в зависимости от природы сигнала (гормона) (рис. 8.1):

- 1) синтез и высвобождение (хранение) сигнальной молекулы;
- 2) транспорт сигнальной молекулы к клетке-мишени;
- 3) рецепция — узнавание сигнала специфичными белками-рецепторами;
- 4) трансдукция, или передача сигнала — связывание с рецептором клетки-мишени и продолжение передачи сигнала при помощи ряда внутриклеточных реакций. На этом этапе необходимо усилить сигнал для того, чтобы привлечь к ответной реакции большое число молекул, пространственно связать участников переноса сигнала и обеспечить механизмы выключения передачи сигнала;
- 5) ответная реакция — сигнал вызывает изменение метаболических процессов в клетках-мишенях;
- 6) терминация, или удаление сигнала и молекул, образующихся при проведении сигнала.

Гормональный сигнал способен «выключаться» в результате инактивирования рецептора путем химической модификации последнего (фосфорилирования) либо удаления с поверхности клетки (эндоцитоз). Множество разных сигналов, воспринимаемых клеткой, суммируется в один определенный ответ.

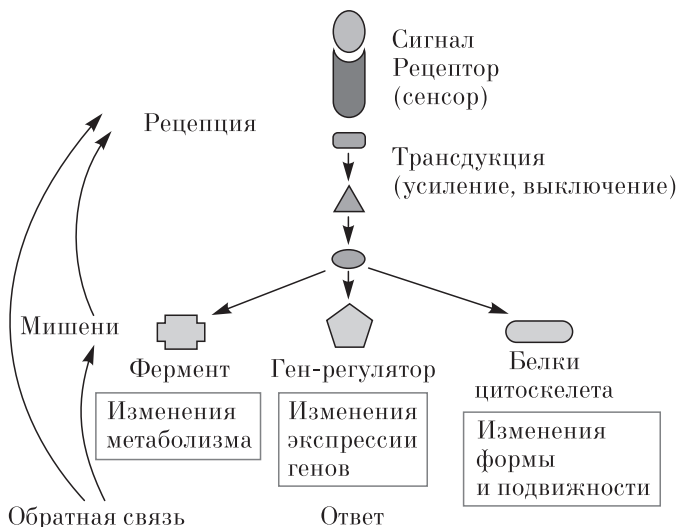


Рис. 8.1. Схема сигнального пути

Действие гормонов на клетку характеризуется рядом особенностей:

- *плейотропность* — это означает, что один и тот же гормон оказывает влияние на разные клетки, обладающие разными функциями. Это связано, во-первых, с локализацией рецептора того или иного гормона в разных клетках, во-вторых, с тем, что гормоны действуют на клетки через разные пути проведения сигналов;
- *избыточность* — разные гормоны оказывают одинаковый эффект на функции клетки. Это связано с тем, что такие молекулы используют одинаковые пути проведения сигналов;
- *синергизм* или *антагонизм* — усиление или ослабление одним гормоном действия другого.

8.4. Классификация гормонов

В зависимости от *места синтеза* гормонов различают: гормоны гипоталамуса, гипофиза, щитовидной железы, паращитовидных желез, поджелудочной железы, надпочечников, половых желез и др.

По *химической природе* гормоны можно разделить на четыре основные группы:

1) производные аминокислот:

- производные тирозина — тироксин, трийодтиронин, дофамин, адреналин, норадреналин;
- производные триптофана — мелатонин, серотонин;
- производные гистидина — гистамин;

8.5. Рецепторы и их классификация

2) белково-пептидные гормоны:

- полипептиды — глюкагон, кортикотропин, меланотропин;
- олигопептиды — вазопрессин, окситоцин, пептидные гормоны желудка и кишечника;
- простые белки — инсулин, соматотропин, пролактин, паратгормон, кальцитонин;

- сложные белки (гликопротеины) — тиреотропин, фоллитропин, лютропин;

3) стероидные гормоны:

- кортикостероиды — альдостерон, кортизол, кортикостерон;
- половые гормоны — андрогены, эстрогены и прогестерон;
- витамин D₃ (кальцитриол);

4) *производные арахидоновой кислоты (эйкозаноиды)* — простагландины, простациклины, тромбоксаны, лейкотриены.

От химической природы гормона зависят особенности его синтеза. Так, гормоны — производные холестерина синтезируются в окончательной форме и сразу секретируются, не задерживаясь в клетках, а гормоны белковой, пептидной природы или гормоны-аминокислоты синтезируются в форме предшественников, депонируются в клетках, их производящих, и переходят в активные формы в местах хранения или клетках-мишенях.

Особенности химической природы гормонов влияют и на механизмы их транспорта. Гормоны стероидной природы и гормоны щитовидной железы плохо растворяются в воде. Их растворимость в крови повышается при помощи альбуминов и специальных транспортных белков (тироксинсвязывающий глобулин, транскортин и др.). В то же время гормоны пептидной природы (инсулин, гормон роста, АКТГ и др.) циркулируют в кровотоке в свободной форме.

8.5. Рецепторы и их классификация

Рецептор — белковая молекула, встроенная в мембрану или локализованная в цитозоле, ядре, митохондриях и других органоидах клеток-мишеней.

Лигандами рецепторов служат гормоны, нейромедиаторы, фармакологические соединения или токсины и даже многокомпонентные крупные комплексы (например, липопротеиновые частицы, липополисахариды и др.). Каждый вид рецептора обладает высокой специфичностью к своим лигандам. При связывании лиганда рецептор обязательно изменяет конформацию, что приводит к последующей передаче внутрь клетки информации о наличии внешнего сигнала. Существуют и антагонисты рецепторов. Связавшись с рецептором, такие соединения блокируют взаимодействие с лигандом и препятствуют передаче сигнала внутрь клетки.

Всё многообразие клеточных рецепторов в зависимости от их локализации в клетке можно разделить на две большие группы: рецепторы плазматической мембраны и внутриклеточные рецепторы (ядерные и цитозольные) (табл. 8.1).

Таблица 8.1

Классификация рецепторов

Мембранные рецепторы	Внутриклеточные рецепторы
<p>7-ТМС (семисегментные трансмембранные рецепторы), ассоциированные с G-белками.</p> <p>1-ТМС (одноsegmentные трансмембранные рецепторы):</p> <ul style="list-style-type: none"> • с каталитической активностью (тирозинкиназы, гуанилатциклазы, протеинфосфатазы и др.); • без каталитической активности, но взаимодействующие с тирозинкиназами. <p>Ионные каналы:</p> <ul style="list-style-type: none"> • лигандзависимые; • потенциалзависимые; • щелевые контакты 	<p>Ядерные и цитозольные:</p> <ul style="list-style-type: none"> • класс I — ядерные и цитозольные рецепторы, связанные с белками теплового шока (HSP); • класс II — ядерные рецепторы, не связанные с белками теплового шока (HSP)

Пептидные гормоны, адреналин, эйкозаноиды взаимодействуют с рецепторами на поверхности мембраны, стероидные гормоны связываются с цитозольными рецепторами I класса, тиреоидные гормоны, кальцитриол, ретиновая кислота — с ядерными рецепторами II класса.

8.5.1. 7-ТМС-рецепторы, сопряженные с G-белками

Семисегментные трансмембранные рецепторы (7-ТМС) являются интегральными мембранными белками с семью трансмембранными спиральными сегментами, соединенными гидрофильными внеклеточными и внутриклеточными петлями (рис. 8.2). Внутриклеточные петли этих рецепторов содержат центры связывания G-белка, состоящего из трех субъединиц (α , β и γ). Поэтому

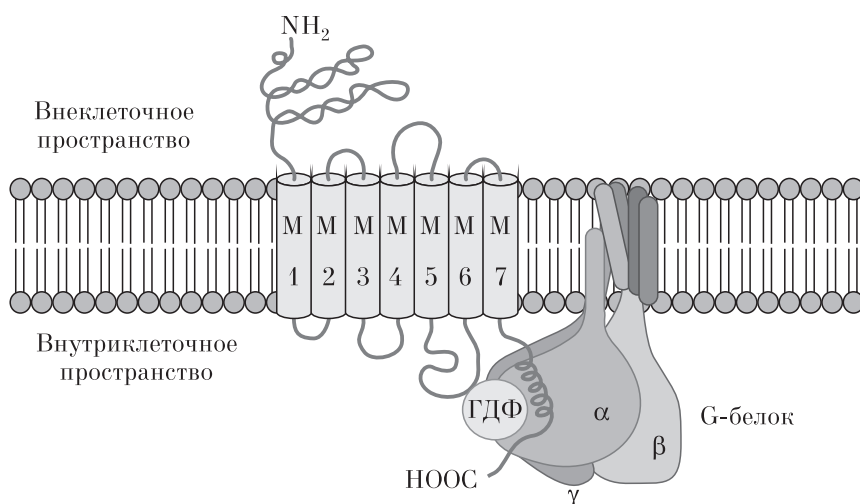


Рис. 8.2. Строение 7-ТМС-рецептора, ассоциированного с G-белком

8.5. Рецепторы и их классификация

7-ТМС-рецепторы иногда называют *рецепторами, связанными с G-белком*, а по форме расположения полипептидной цепи в мембране, напоминающей змею, — *серпентиновыми рецепторами*. При связывании лиганда эти рецепторы активируют (через связанный с ними G-белок) ферменты внутри клеток, которые катализируют образование вторичных посредников.

8.5.2. 1-ТМС-рецепторы

Внутриклеточный домен такого рецептора обладает собственной ферментативной активностью или присоединяет ферменты из цитозоля. Наиболее распространенная группа таких рецепторов — рецепторы, внутриклеточный домен которых обладает тирозинкиназной активностью.

К этой группе принадлежат также и рецепторные гуанилатциклазы, внутриклеточный домен которых катализирует образование вторичного посредника — циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), который, в свою очередь, активирует протеинкиназу G в цитозоле, фосфорилирующую клеточные белки и таким образом изменяет их активность.

Рецепторы цитокинов, гормона роста, не обладая собственной ферментативной активностью, после связывания с гормоном привлекают тирозинкиназы из цитозоля, которые после связывания с рецептором приобретают способность фосфорилировать остатки тирозина в специфических белках-субстратах, передавая таким способом сигнал в цитозоль и далее.

К 1-ТМС-рецепторам относятся также рецепторы с серин-треонинкиназной, протеолитической или фосфатазной активностью.

8.5.3. Лигандзависимые ионные каналы плазматической мембраны

Лигандзависимые ионные каналы плазматической мембраны обычно построены из нескольких субъединиц, каждая из которых содержит трансмембранный домен. По форме они образуют структуру, внутри которой расположен канал (рис. 8.3).

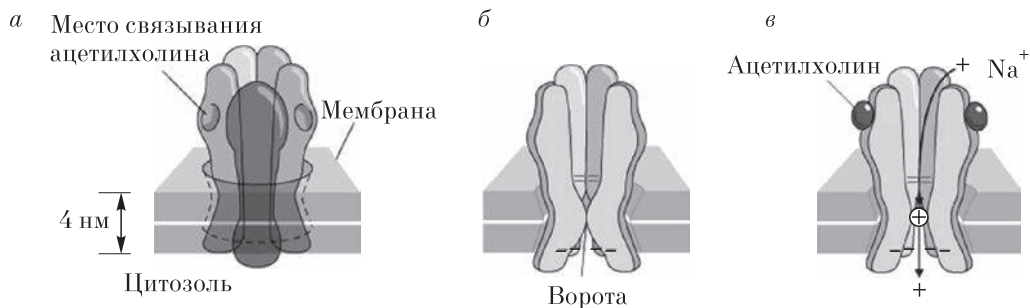


Рис. 8.3. Схема действия лигандзависимого ионного канала (пояснения в тексте): а — строение рецептора; б — закрытая конформация; в — открытая конформация

В несвязанном с лигандом состоянии субъединицы плотно взаимодействуют друг с другом и внутренний канал практически отсутствует (закрыт). Связывание лиганда меняет конформацию и взаимодействие субъединиц, что приводит к появлению просвета (открытие канала). Это наиболее простые передатчики сигнала. Примером такого механизма может служить ионный канал, зависящий от ацетилхолин.

8.5.4. Внутриклеточные рецепторы

Рецепторы, расположенные внутри клеток, в основном являются регуляторами механизмов транскрипции. По локализации в клетке различают две группы таких рецепторов:

- рецепторы, расположенные в цитозоле (группа I) (рис. 8.4);
- рецепторы, расположенные в ядре (группа II).

Структура внутриклеточных рецепторов включает ряд доменов, обозначаемых буквами от А до F. Основной функцией N-концевого А/В домена является активация транскрипции. Домен С — домен, связывающий ДНК, — имеет два участка, получивших название *цинковые пальцы* (Zn-пальцы). Каждый из них участвует в димеризации рецептора и узнает специфический «гормон-респонсивный элемент» ДНК. Шарнирный участок D разделяет ДНК и лигандсвязывающие домены, обеспечивая перемещение рецептора в ядро. На D-домене имеется специальная последовательность аминокислот, которая распознается транспортными системами ядра. К домену D присоединяются коактиваторы и репрессоры транскрипции.

Домен Е — домен, связывающий гормон и взаимодействующий с белками теплового шока (белками-шаперонами). В «молчащем» состоянии (вне связи с лигандом) белки теплового шока закрывают Zn-пальцы рецептора, инактивируя его. F-Домен у многих внутриклеточных рецепторов принимает участие в связывании гормона.

Внутриклеточные рецепторы обычно пребывают в динамическом равновесии между неактивной и активной конформациями. Лиганды и коактиваторы стабилизируют активную форму, а белки теплового шока (для цитозольных рецепторов) или корепрессоры (для ядерных рецепторов) — неактивную

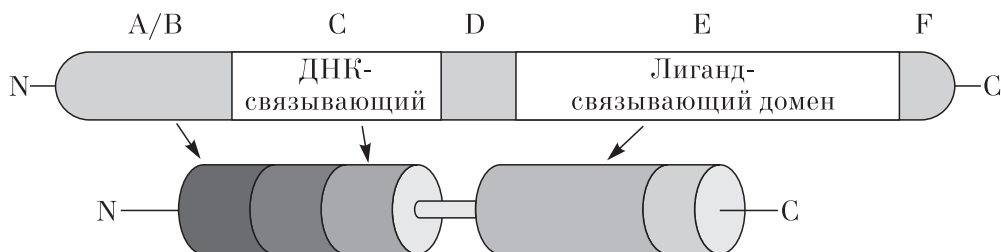


Рис. 8.4. Строение внутриклеточного рецептора, локализованного в цитозоле

8.6. G-Белки

конформацию. Финальная конформация, приобретаемая рецептором, зависит от комбинации этих факторов.

Участки ДНК, с которыми связываются рецепторы, называют *респонсивными элементами*. Они представляют собой специфические последовательности нуклеотидов (часто это палиндромная последовательность), узнаваемые факторами транскрипции.

8.6. G-Белки

Важную роль в механизмах внутриклеточного переноса сигналов с участием гормонов, взаимодействующих с мембранными рецепторами, играют ГТФазы, катализирующие гидролиз ГТФ и получившие название **G-белки**. По строению они разделяются на *гетеротримерные* — G-белки, состоящие из трех разных субъединиц (α , β и γ), и *мономерные* — белки, состоящие из одной субъединицы.

Тримерный G-белок после контакта с рецептором диссоциирует на α -субъединицу и димер, состоящий из β - и γ -субъединиц. α -Субъединица тримерного G-белка и одномерный G-белок структурно схожи, обладают ГТФазной активностью и в неактивном состоянии связаны с ГДФ. G-белки действуют как молекулярные «реле» — переключатели при передаче сигнала внутри клетки. Они «включаются» и передают сигнал после замены молекулы ГДФ на ГТФ, но «выключаются» и прерывают передачу сигнала после гидролиза ГТФ. Образующийся ГДФ остается связанным с белком. Большинство гормонов, построенных из аминокислот, действуют через рецепторы, сопряженные с тримерными G-белками.

Внутриклеточный перенос сигналов инициируют три основных участника, встроенные в мембрану: рецептор, G-белок и эффектор (Е) (рис. 8.5). Роль

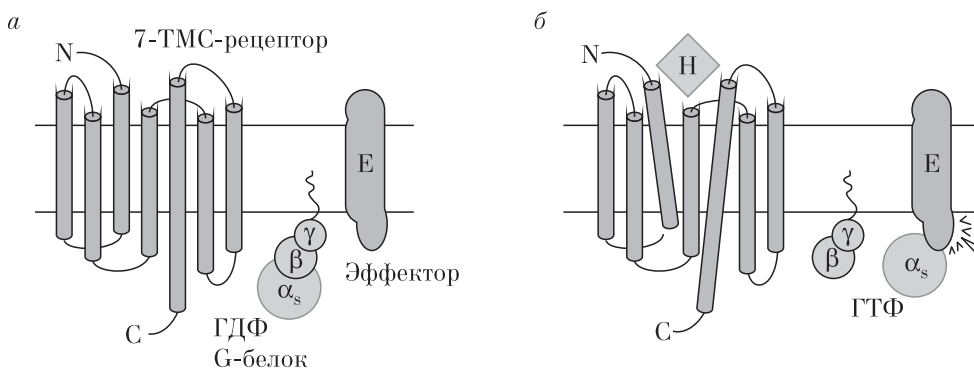


Рис. 8.5. Участники переноса сигнала снаружи внутрь клетки (рецептор, G-белок и эффектор Е):

а — состояние без сигнала; б — после присоединения сигнала (Н)

8. Гормоны. Механизмы передачи гормональных сигналов

эффекторов играют ферменты аденилатциклаза, фосфолипаза С или Ca^{2+} -, Na^{+} -, Cl^{-} -, или K^{+} -каналы.

Существует большое число различных видов $G\alpha$ -субъединиц, входящих в состав тримерных G-белков (табл. 8.2). По гомологии первичных структур этих субъединиц выделяют три семейства тримерных G-белков: 1) семейство стимулирующих G_s -белков; 2) семейство ингибиторных G_i -белков; 3) семейство G_q -белков.

Таблица 8.2

Разновидности α -субъединицы в составе тримерных G-белков и ее функции

α -Субъединица	Эффект α -субъединицы	Примеры 7-ТМС-рецепторов	Опосредованный физиологический эффект
$G\alpha_s$	Активация аденилатциклазы	β -Адренорецепторы, серотониновые рецепторы, дофаминовые рецепторы, гистаминовые H_2 -рецепторы	Повышение частоты сердечных сокращений, расслабление гладких мышц, стимулирование активности нейронов
$G\alpha_{olf}$	Активация аденилатциклазы	Обонятельные рецепторы	Передача обонятельного сигнала
$G\alpha_i$	Ингибирование активности аденилатциклазы, открытие K^{+} -каналов, закрытие Ca^{2+} -каналов	Мускариновые холинорецепторы типов M_2 и M_4 , хемокиновые рецепторы, α_2 -адренорецепторы, серотониновые рецепторы подтипа H_3 и H_4 , дофаминовые рецепторы подтипа D_2	Сокращение гладких мышц, снижение активности нейронов
$G\alpha_q$	Активация фосфолипазы С	α_1 -Адренорецепторы, мускариновые холинорецепторы, гистаминовые рецепторы, серотониновые рецепторы	Сокращение гладких мышц, ток Ca^{2+}

Активация молекулы мишени или эффектора, вызванная действием $G\alpha$ -субъединицы, приводит к изменению количества молекул с небольшой молекулярной массой, получивших название «вторичных посредников». Димер, состоящий из β - и γ -субъединиц, который образуется при диссоциации тримерного G-белка, также может участвовать в механизмах передачи сигнала. При этом он может оказывать как стимулирующий, так и ингибирующий эффект на активность ферментов.

Мономерные G-белки относятся к суперсемейству Ras-белков, которое ответственно за пролиферацию клеток, управление морфологией клетки, ядерным и везикулярным транспортом.

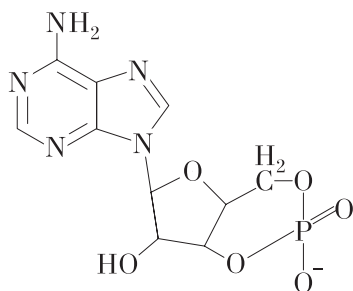
Сопряжение с рецептором у многих G-белков обеспечивается при помощи вспомогательных белков, регулирующих обмен гуаниловых нуклеотидов

8.7. Вторичные посредники

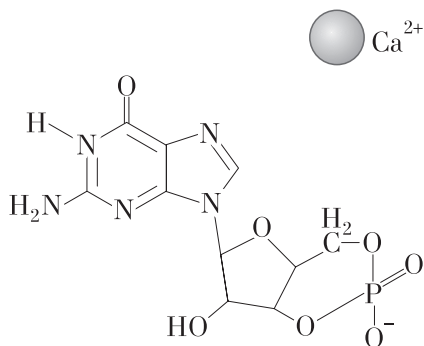
в ГТФ-связывающем участке. Они ускоряют обмен ГДФ на ГТФ и таким образом активируют G-белки. У тримерных G-белков такую функцию выполняет активированный гормоном рецептор, а у мономерных — специальные белки (например, SOS-белок в одном из сигнальных путей действия инсулина). Другие белки ускоряют инактивацию G-белков за счет ускорения гидролиза ГТФ.

8.7. Вторичные посредники

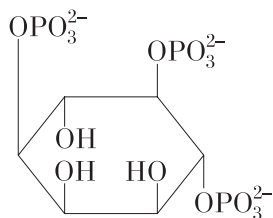
Как уже упоминалось, в результате взаимодействия гормонально-рецепторного комплекса с эффектором меняется количество так называемых *вторичных посредников*. Это короткоживущие и небольшие по размеру внутриклеточные молекулы, которые передают и умножают сигналы, получаемые от активированных рецепторов. К вторичным посредникам относятся цАМФ, цГМФ, Ca^{2+} , инозитол-1,4,5-трифосфат ($\text{И}_3\text{Ф}$), диацилглицерол (ДАГ).



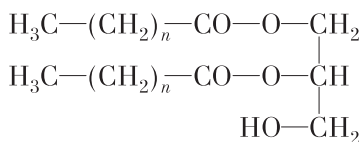
цАМФ



цГМФ



ИЗФ



ДАГ

Сигнальные системы, в которых используются вторичные посредники, имеют обычно три уровня усиления сигнала. Вначале рецептор, связавшийся с гормоном, активирует несколько своих мишеней (например, G-белков), которые, в свою очередь, влияют на несколько эффекторов (в случае G-белков

это связанные с мембраной ферменты или каналы). Этот второй уровень усиления сигнала довольно мощный, поскольку такие ферменты синтезируют большое число вторичных посредников, которые на третьем этапе усиления, действуя как аллостерические активаторы, привлекают большое число ферментов. Чаще всего, вторичные посредники изменяют активность протеинкиназ, катализирующих фосфорилирование исполнительных ферментов или факторов транскрипции.

8.8. Протеинкиназы

Различают мембранные и цитозольные протеинкиназы.

Вторичные посредники действуют в основном на цитозольные ферменты, которые представляют собой серин-треониновые протеинкиназы. Они катализируют фосфорилирование серина или треонина в составе их белков-мишеней.

Так, молекула протеинкиназы А (ПкА) в неактивном состоянии представляет собой тетрамер и состоит из двух регуляторных и двух каталитических субъединиц (рис. 8.6). При повышении уровня цАМФ в клетке к каждой регуляторной субъединице присоединяется по две молекулы цАМФ, что способствует высвобождению активных каталитических субъединиц. Каталитическая субъединица катализирует фосфорилирование многих ферментов, занимающих ключевые позиции в метаболических реакциях клетки.

К настоящему времени выделено несколько сотен таких киназ. Они отличаются субъединичным составом, специфичностью к своим субстратам, молекулярной массой.

Активная протеинкиназа А может катализировать фосфорилирование ферментов в митохондриях или проникать в ядро и фосфорилировать факторы транскрипции. Например, CREB-белок, который связывается с респонсивным

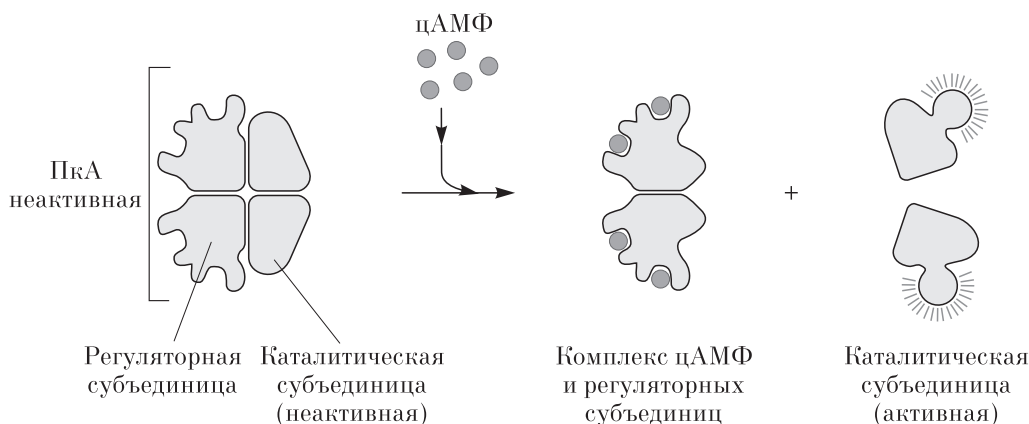


Рис. 8.6. Роль цАМФ в регуляции протеинкиназы А

8.8. Протеинкиназы

элементом (CRE) на ДНК, в нефосфорилированном состоянии — слабый активатор транскрипции, но фосфорилирование стимулирует его взаимодействие с коактиватором, который обладает свойствами ацетилтрансферазы. Ацетилтрансфераза катализирует присоединение остатка уксусной кислоты. Ацетилирование гистонов ослабляет взаимодействие гистонов с ДНК и способствует более активному протеканию транскрипции (рис. 8.7).

К другим цитозольным протеинкиназам, активность которых зависит от вторичных посредников, относится протеинкиназа C, которая регулируется цГМФ. Протеинкиназа C регулируется ДАГ и ионами кальция. При изложении материала о сигнальных системах с участием гормонов функции этих протеинкиназ будут описаны подробнее.

Удаление фосфата с фосфорилированных протеинкиназами ферментов и белков катализируется специфическими протеинфосфатазами.

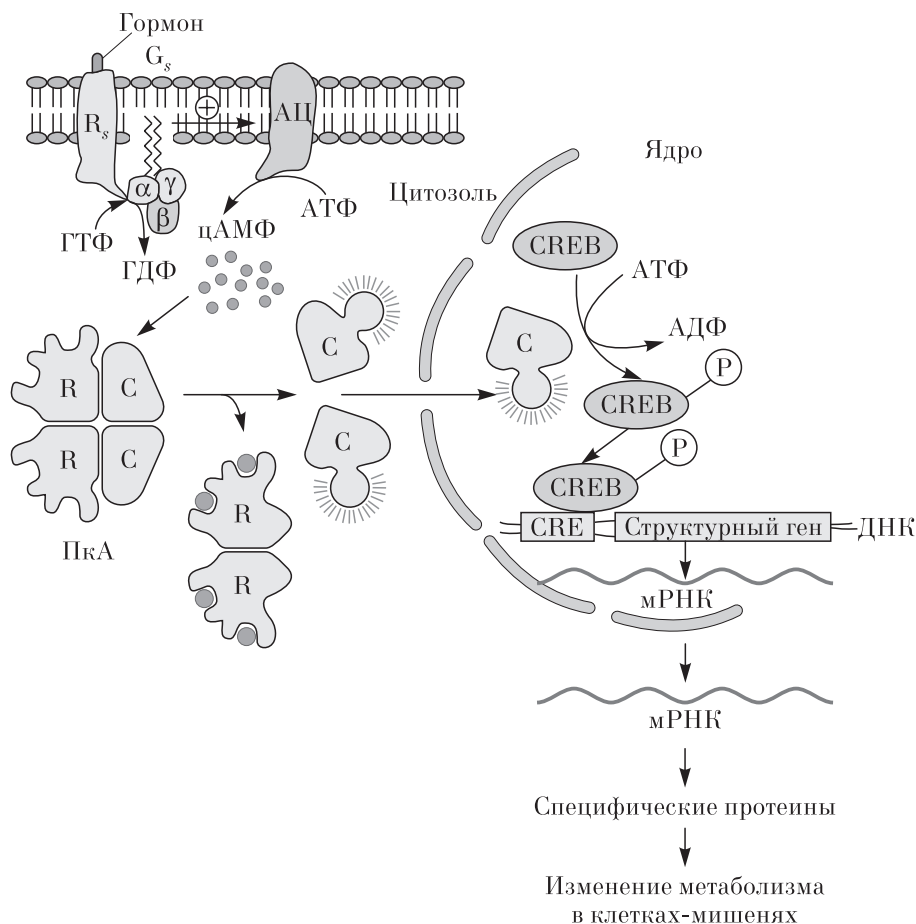


Рис. 8.7. Роль протеинкиназы А в регуляции транскрипции

Важное место во внутриклеточных сигнальных системах занимают протеинкиназы, активируемые митогенами¹ (МАРК — англ. mitogen-activated protein kinase). Они реагируют на многие внеклеточные стимулы (митогены) и активируются при участии специфических сигнальных каскадов, которые включают (МАРК), ее киназу (МАРКК) и киназу киназы МАР-киназы (МАРККК). Такой сигнальный МАРК-каскад характерен для всех эукариот от дрожжей до млекопитающих.

8.9. Пути проведения гормонального сигнала

8.9.1. Рецепторы, сопряженные с тримерными $G\alpha_s$ -белками.

Аденилатциклазная система

С рецепторами, сопряженными с тримерными $G\alpha_s$ -белками, взаимодействуют адренокортикотропный гормон (АКТГ), антидиуретический гормон (АДГ), кальцитонин, кортиколиберин, фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), глюкагон, тиреотропный гормон (ТТГ), паратирин, адреналин (β -адренергические рецепторы), вазопрессин, хорионический гонадотропин, меланоцитостимулирующий гормон (МСГ) (рис. 8.8).

После взаимодействия с рецептором (1) комплекс соединяется с G-белком, который диссоциирует на α_s - и $\beta\gamma$ -субъединицы. У α -субъединицы происходит замена ГДФ на ГТФ (2). Перемещаясь по мембране, она взаимодействует с аденилатциклазой (АЦ) (3) и активирует ее (4). Активная АЦ катализирует синтез цАМФ — активатор протеинкиназы А (ПкА) (5). Протеинкиназа А катализирует фосфорилирование молекул серина или треонина в составе ферментов-мишеней (6), активность которых при этом может повышаться у одних ферментов и тормозиться у других (7). Протеинкиназа А, как отмечалось выше, может также катализировать фосфорилирование факторов транскрипции, что ведет к изменению количества отдельных белков или ферментов в клетке.

Действие гормонов, которые способствуют увеличению цАМФ, можно ограничить путем гидролиза цАМФ фосфодиэстеразами (ФДЭ), которые значительно укорачивают продолжительность влияния гормона на клетку. Ингибиторы фосфодиэстераз имитируют действие гормонов или продлевают их эффект. Наиболее известным ингибитором фосфодиэстераз является *кофеин*.

Фосфорилированные молекулы-мишени протеинкиназ являются субстратами для протеинфосфатаз. Сочетанное действие этих киназ и фосфатаз чрезвычайно важно в регуляции ключевых метаболических путей. Наиболее хорошо это изучено в метаболизме гликогена (см. главу 3 «Химия и обмен углеводов»).

¹ Митогены — пептиды или небольшие белки, индуцирующие клеточное деление (митоз).

8.9. Пути проведения гормонального сигнала

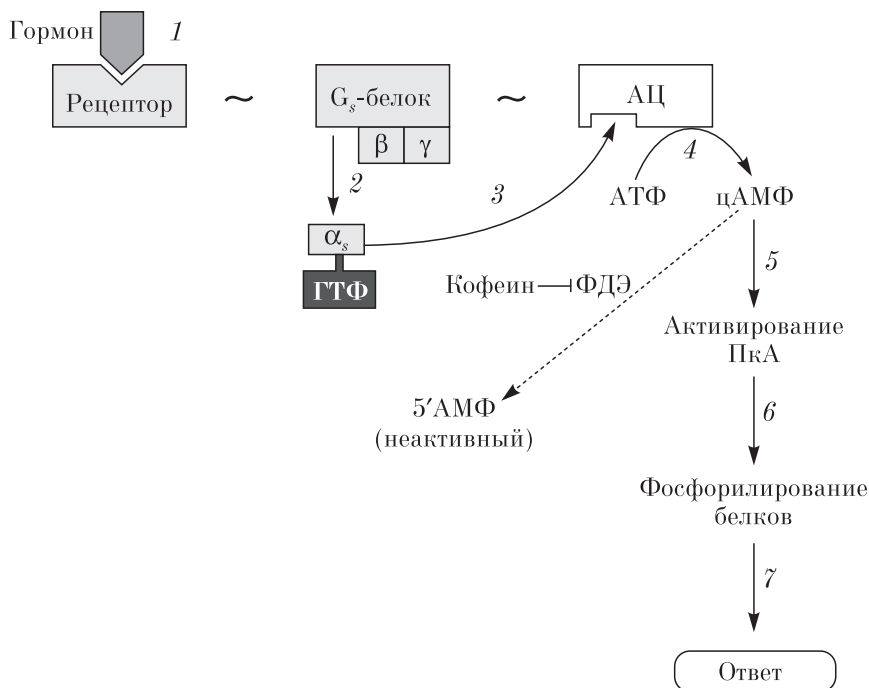


Рис. 8.8. Компоненты сигнальной системы, включающей тримерные G-белки: ФДЭ — фосфодиэстераза

8.9.2. Рецепторы, сопряженные с тримерными G_{α_i} - и G_{α_q} -белками

С рецепторами, сопряженными с тримерными G_{α_i} -белками, взаимодействуют такие гормоны, как адреналин (α_2 -адренергические рецепторы), соматостатин. Начальные этапы сигнального пути с участием этих гормонов ничем не отличаются от начала действия предыдущей группы гормонов. Однако после высвобождения G_{α_i} -субъединицы из G-белка и обмена ГДФ на ГТФ она взаимодействует с активной аденилатциклазой (АЦ) и тормозит ее активность.

С рецепторами, сопряженными с тримерными α_q -белками, взаимодействуют такие гормоны, как катехоламины (через α_1 -адренергические рецепторы), вазопрессин, холецистокинин, гастрин, гонадолиберин, окситоцин, тиреолиберин.

В качестве мембранного эффектора для этой сигнальной системы выступает фосфолипаза С (рис. 8.9).

Как и в предыдущих механизмах, гормон-рецепторный комплекс стимулирует обмен ГДФ на ГТФ и диссоциацию тримерного G-белка, из которого высвобождается G_{α_q} -субъединица, которая взаимодействует с фосфолипазой С и активирует этот фермент (рис. 8.10). Фосфолипаза С катализирует

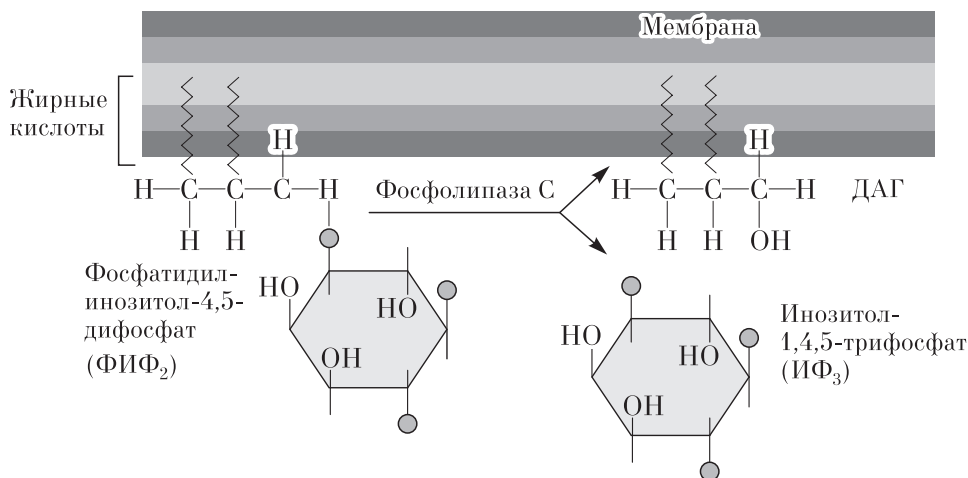


Рис. 8.9. Действие фосфолипазы С на фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат

гидролиз мембранного фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата (ФИФ₂) с образованием инозитол-1,4,5-трифосфата (ИФ₃) — гидрофильной молекулы, перемещающейся в цитозоль, и диацилглицерола (ДАГ), который остается в мембране из-за своей плохой растворимости в воде.

Инозитолтрифосфат в цитозоле связывается со специфическим рецептором, который расположен в мембранах ЭР. Образовавшийся комплекс способствует быстрому увеличению концентрации ионов кальция в цитозоле.

Дело в том, что в состоянии покоя уровень ионизированного кальция в цитозоле очень низкий (0,05–10 мкмоль/л). Клетка затрачивает большое количество энергии на поддержание такого низкого уровня. Его обеспечивают:

- 1) $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменный механизм, позволяющий удалять Ca^{2+} из клетки в обмен на поступление в клетку Na^+ ;
- 2) $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -АТФаза, обменивающая Ca^{2+} на внеклеточные протоны;
- 3) Ca^{2+} -АТФаза, активно закачивающая Ca^{2+} в пузырьки эндоплазматической сети.

Инозитолтрифосфат является лигандом для кальциевого канала, встроенного в мембраны эндоплазматической сети. Изменение конформации канала после связывания лиганда обеспечивает выход ионов кальция из ЭР в цитозоль (см. рис. 8.11). Повышение концентрации кальция в цитозоле вызывает ряд событий, обусловленных или прямым действием ионов кальция, или опосредованных белками, специфически связывающими кальций. Среди них особое место занимает кальмодулин, который может быть субъединицей многих ферментов. Кальмодулин содержит четыре участка связывания Ca^{2+} . Связывание Ca^{2+} ведет к изменению конформации белка. Он приобретает способность активировать или инактивировать различные протеинкиназы.

8.9. Пути проведения гормонального сигнала

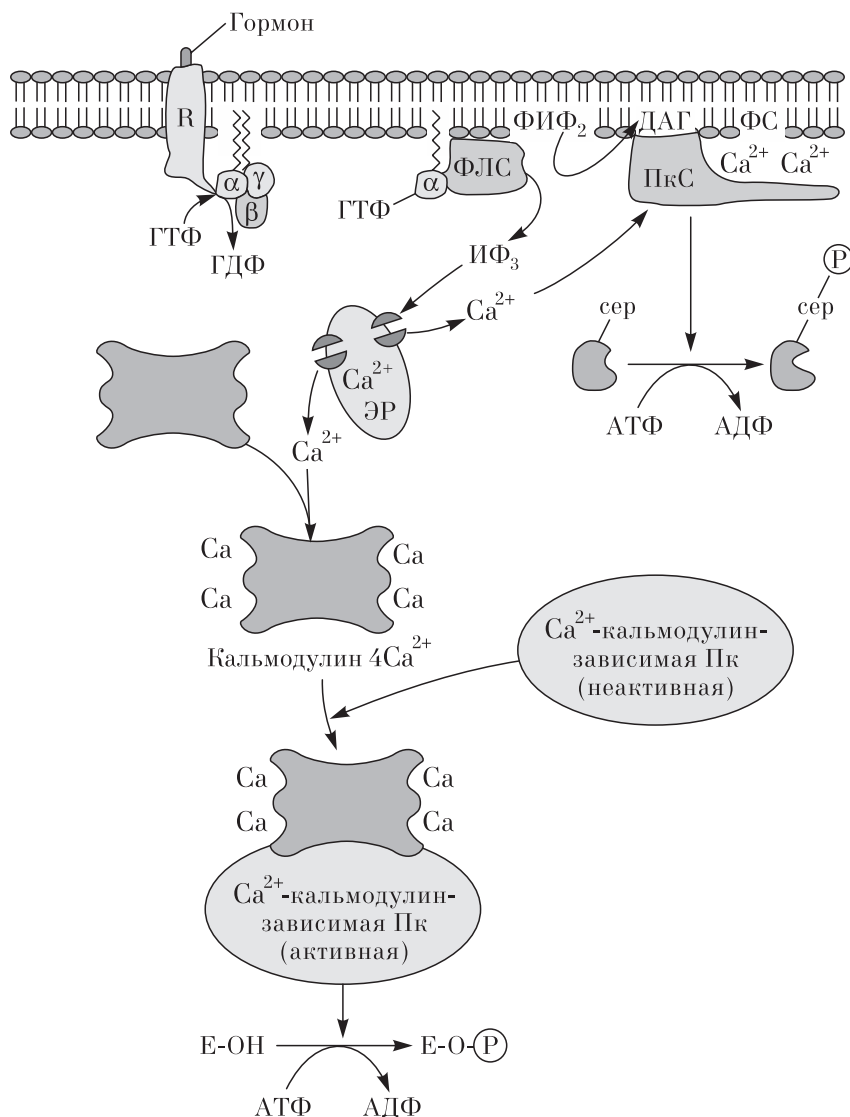


Рис. 8.10. Проведение сигнала в клетку с помощью рецепторов, сопряженных с тримерными G_q -белками

ДАГ, образующийся в мембранах, в свою очередь, может быть активатором протеинкиназы С — серин/треониновой протеинкиназы, катализирующей фосфорилирование ферментов или факторов транскрипции. Он также служит субстратом диацилглицероллипазы, катализирующей отщепление из состава молекулы арахидоновой кислоты, необходимой для синтеза простагландинов.

8.9.3. 1-ТМС-рецепторы, обладающие тирозинкиназной активностью. МАП-киназный путь и инозитол-3-фосфаткиназная сигнальная система

Самая распространенная группа 1-ТМС-рецепторов — тирозинкиназы. Рецепторы, обладающие тирозинкиназной активностью, являются начальным звеном в сигнальных путях, инициируемых инсулином и инсулиноподобными факторами роста.

К особенностям проведения сигнала посредством тирозинкиназ относятся следующие.

1. Димеризация рецептора (за исключением инсулина и инсулиноподобных факторов роста). После связывания с лигандом рецептор димеризуется. Изменение конформации каждого из двух рецепторов сообщает им способность катализировать фосфорилирование остатков тирозина друг у друга.

Рецептор для инсулина уже исходно — димер, состоящий из α - и β -полипептидных цепей. При этом β -цепи обладают тирозинкиназной активностью (рис. 8.11).

После присоединения инсулина рецептор аутофосфорилируется и фосфорилирует специальные белки — субстраты инсулинового рецептора (IRS₁ и IRS₂). Активация IRS₂ запускает МАП-киназный путь (рис. 8.12).

2. В формировании системы МАП-киназ важная роль принадлежит адапторным белкам (скаффолд-белкам). Они имеют SH-домены, способные взаи-

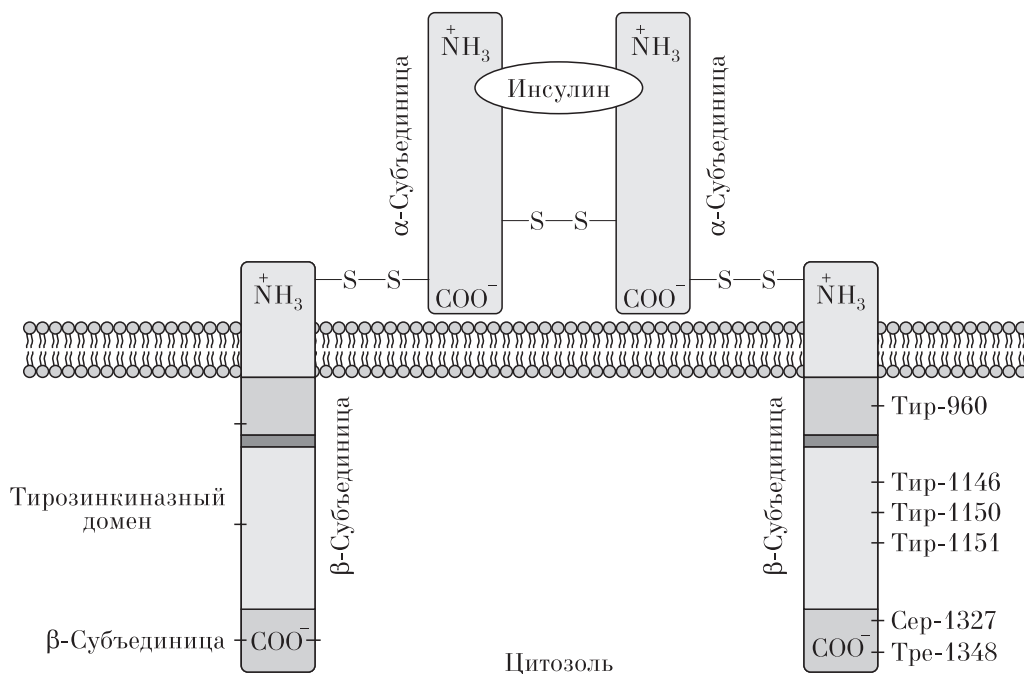


Рис. 8.11. Строение инсулинового рецептора

8.9. Пути проведения гормонального сигнала

модействовать с фосфорилированными аминокислотами. Так, адапторный белок **Grb2** имеет два SH-домена: SH2-домен для связи с фосфорилированным рецептором и SH3-домен для связи с *SOS-белком* — фактором обмена гуаниловых нуклеотидов.

SOS-белок вызывает замену ГДФ на ГТФ в неактивном белке Ras-ГДФ, в результате чего образуется активный Ras-ГТФ, передающий сигнал далее. Ras-белок является белком-реле, поскольку, обладая ГТФазной активностью ($\text{ГТФ} \rightarrow \text{ГДФ} + \text{P}_i$), способен инактивироваться и выключать трансдукцию сигнала. В этом ему может помочь БАГ-белок (белок, активирующий ГТФазу), усиливающий степень гидролиза.

Активная (фосфорилированная) МАР-киназа перемещается в ядро, где фосфорилирует факторы транскрипции, изменяя скорость синтеза белков. Активный Ras-белок, в свою очередь, активирует Raf-белок (Сер/Тре-киназа), далее активируется MEK (Тир/Сер/Тре-киназа) и, наконец, МАР-киназа (митоген-активируемая протеинкиназа). МАР-киназа катализирует фосфорилирование цитозольных белков-мишеней, таких как белки рибосом, фосфолипаза A_2 , активаторы транскрипции.

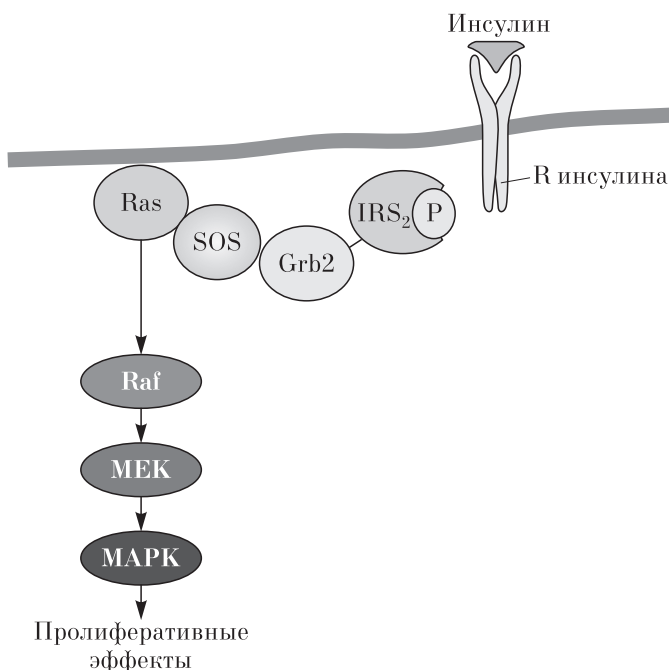


Рис. 8.12. Схема сигнальной системы с участием каскада МАР-киназ:

IRS₂ — субстрат инсулинового рецептора; Grb2 — белок, связывающийся с рецептором фактора роста; Raf — киназа активируемой митогенами протеинкиназы (МАРККК); MEK — киназа активируемой митогенами протеинкиназы (МАРКК); МАРК — активируемая митогенами протеинкиназа

Подобным механизмом инсулин активирует синтез глюкокиназы, фосфофруктокиназы 1, пируваткиназы, гексокиназы, малик-фермента, ацил-КоА-карбоксилазы, ацил-КоА-синтазы и способствует торможению синтеза ключевых ферментов глюконеогенеза.

Инозитол-3-фосфаткиназная сигнальная система. Активация IRS_1 приводит к запуску инозитол-3-фосфаткиназной системы и инициации сигнальных путей, опосредованных протеинкиназами В и С (ПК В и ПК С). После взаимодействия инсулина с рецептором фосфорилированные остатки тирозина в составе рецептора связываются с SH2-доменами субстратов инсулинового рецептора IRS_1 . После этого фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат киназа (FI_3K) присоединяется к IRS_1 , активируется и катализирует образование в мембране фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата (рис. 8.13).

С фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфатом связывается фосфоинозитолзависимая киназа. В результате фермент активируется и приобретает способность катализировать фосфорилирование своих субстратов — ПК В и ПК С.

Активация данных протеинкиназ стимулирует фосфорилирование глут-4 и встраивание его в плазматическую мембрану. Так ускоряется трансмембранный перенос глюкозы в клетки жировой и мышечной ткани. В жировой ткани активация протеинкиназ В и С приводит к торможению липолиза вследствие стимуляции фосфодиэстеразы и уменьшения внутриклеточной концентрации цАМФ (рис. 8.14).

Инозитол-3-фосфаткиназная система обеспечивает быстрый ответ клеток на действие инсулина в случае алиментарной гипергликемии, что выражается в активировании поступления глюкозы в клетки, синтезе гликогена, и — торможении гликогенолиза и глюконеогенеза.

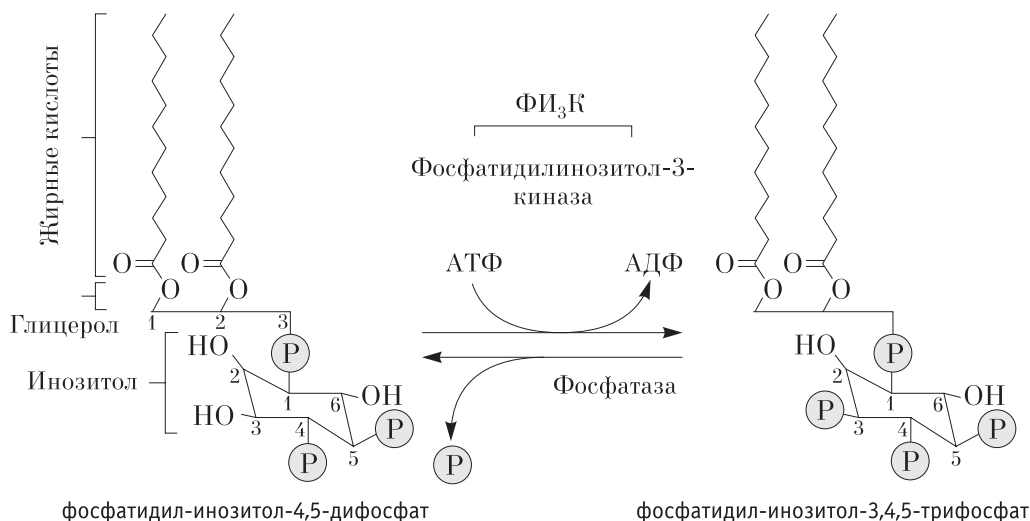


Рис. 8.13. Реакция, катализируемая фосфатидилинозитол-3-киназой

8.9. Пути проведения гормонального сигнала

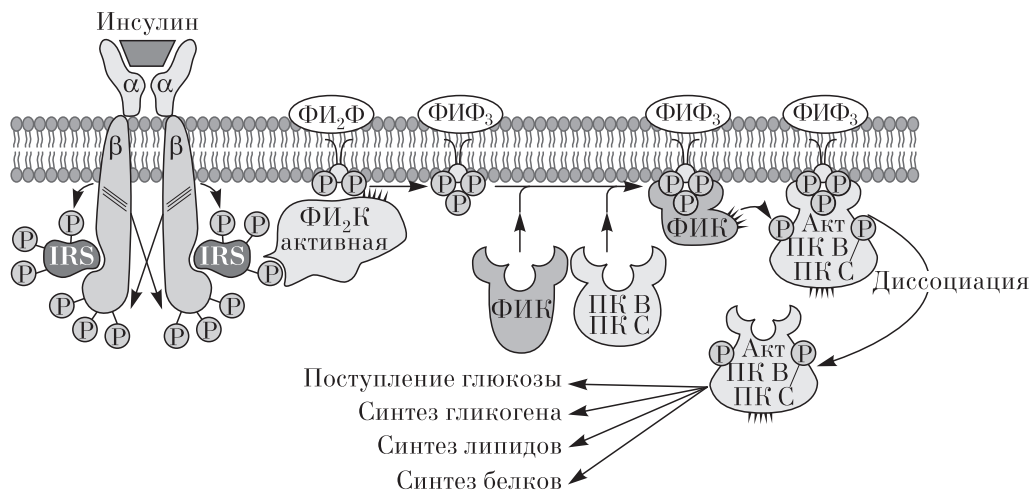


Рис. 8.14. Проведение сигнала от инсулина посредством инозитол-3-фосфаткиназной системы:

IRS-субстрат инсулинового рецептора; ФИ₂Ф — фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат; ФИФ₃ — фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат; ФИ₂К — фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат киназа; ФИК — фосфатидилинозитолзависимая киназа

8.9.4. 1-ТМС-рецепторы, не обладающие ферментативной активностью, но взаимодействующие с тирозинкиназами цитозоля

С такими рецепторами взаимодействуют гормон роста, пролактин, колониестимулирующий фактор и многие цитокины. Эти рецепторы не обладают собственной киназной активностью, но они используют семейство тирозинкиназ (JAK, или янус-киназ) для фосфорилирования и активации белков, участвующих в передаче сигнала. Название «янус-киназы» взято из мифологии, по имени двуликого римского бога Януса. Янус-киназы обладают двумя почти идентичными доменами, переносящими фосфат. Один домен проявляет киназную активность, а другой сдерживает киназную активность первого.

Взаимодействие гормона со своим рецептором вызывает его димеризацию. После димеризации 1-ТМС-рецептора и присоединения тирозинкиназ (янус-киназ) происходит их аутофосфорилирование (рис. 8.15).

Аутофосфорилирование янус-киназ вызывает их конформационные изменения, позволяя преобразовывать внутриклеточный сигнал путем дальнейшего фосфорилирования и активации так называемых STAT-белков. Активированные STAT-белки отделяются от рецептора и образуют димеры. После этого они перемещаются в ядро клетки, где регулируют транскрипцию различных генов. К белкам, экспрессия которых активируется STAT в печени, относятся инсулиноподобные факторы роста. С их помощью гормон роста оказывает свое влияние на клетки различных органов.

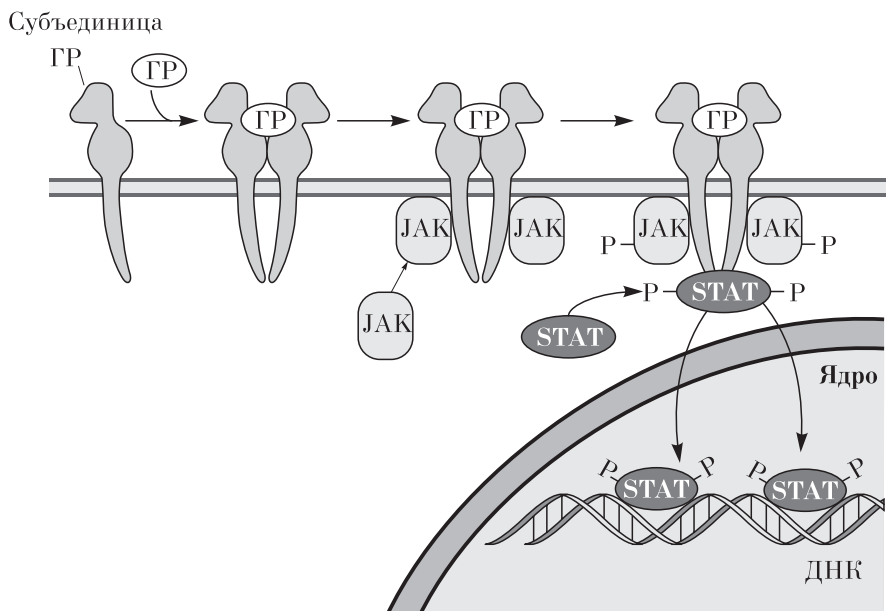


Рис. 8.15. Сигнальная система с участием гормона роста:
JAK — янус-киназа

Фосфорилированная внутриклеточная часть рецептора может взаимодействовать и с другими белками, содержащими SH2-домены, например, с участниками МАП-киназного пути (через Grb2).

8.9.5. 1-ТМС-рецепторы с гуанилатциклазной активностью

Вслед за заполнением камер сердца кровью и их растяжением увеличивается секреция натрийуретического пептида (НАУП). Его мембранный рецептор локализован в клетках почек. Он обладает гуанилатциклазной активностью (*мембраносвязанная гуанилатциклаза*). Взаимодействие или связывание НАУП со своим рецептором активируют гуанилатциклазу в клетках собирательных трубочек. В результате увеличивается уровень цГМФ, который опосредует повышение почечной экскреции Na^+ и, следовательно, воды. Выведение воды с мочой снижает объем циркулирующей крови, и секреция НАУП снижается.

Клетки гладких мышц сосудов также имеют мембраносвязанные гуанилатциклазные рецепторы; при связывании с ними НАУП эндотелия вызывает расслабление мышц сосудистой стенки (вазодилатацию), что ведет к снижению кровяного давления.

Растворимая гуанилатциклаза (ГЦ) — белок с прочно связанной группировкой гема. Этот фермент активируется оксидом азота (NO). Последний

8.9. Пути проведения гормонального сигнала

образуется из аргинина с помощью NO-синтазы, присутствующей во многих животных тканях. В клетках-мишенях NO' связывается с гемом в составе гуанилатциклазы, активируя образование вторичного посредника цГМФ.

Образовавшийся цГМФ вызывает снижение силы сердечных сокращений, стимулируя ионные насосы, работа которых направлена на удаление кальция из цитозоля. Это вызывает расслабление сердечной мышцы. Подобный эффект лежит в основе механизма действия нитроглицерина и других нитровазодилаторов, которые являются источниками NO и нашли широкое применение при болях в сердце, вызываемых нарушением доставки кислорода при спазмах коронарных сосудов.

цГМФ участвует также в механизмах восприятия света. Он стимулирует открытие специфичных ионных каналов в палочках и колбочках сетчатки. Кроме того, цГМФ — активатор фосфодиэстераз. Напомним, что фосфодиэстеразы катализируют гидролиз циклических мононуклеотидов и тем самым значительно снижают эффекты опосредованных ими путей передачи сигнала в клетки.

8.9.6. Внутриклеточные рецепторы, расположенные в цитозоле

С такими рецепторами связываются гидрофобные гормоны (глюкокортикоиды, минералокортикоиды, андрогены, эстрогены, прогестерон). Гормон проходит через липидный слой клеточной мембраны и в цитозоле связывается с рецептором (рис. 8.16). Рецептор, в свою очередь, связан с белками теплового шока (HSP), которые удерживают его в неактивной конформации.

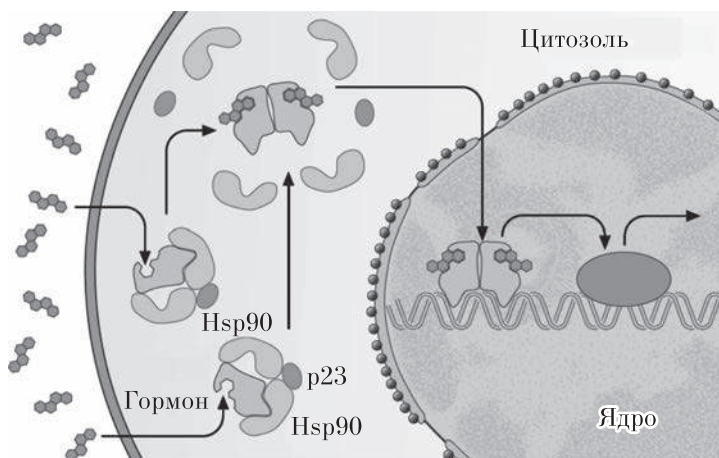


Рис. 8.16. Схема передачи сигнала из цитозоля в ядро при участии внутриклеточных рецепторов: p23 — белок, связывающий белки теплового шока (HSP90)

Вслед за связыванием с гормоном происходит активация внутриклеточного рецептора. Это вызывает изменение его конформации и отщепление белков теплового шока. Затем происходит димеризация рецептора и его перемещение в ядро, где он связывается с регуляторными участками ДНК в месте локализации палиндромного респонсивного элемента ГТАЦА n nnТГТТЦТ. Происходит изменение скорости транскрипции и в последующем — трансляции.

8.9.7. Группа внутриклеточных рецепторов, расположенная в ядре

Группа внутриклеточных рецепторов, расположенная в ядре, включает рецепторы к эстрогенам, ретиноевой кислоте, витамину D и йодсодержащим гормонам щитовидной железы.

Так, рецептор для трийодтиронина (T_3) представляет собой димер, который связан со своим респонсивным элементом на молекуле ДНК и вместе с белком-корепрессором ингибирует транскрипцию генов (рис. 8.17). Внимательно рассмотрите рисунок и пояснение к нему, чтобы проследить путь проведения сигнала в клетке с помощью этого рецептора до метаболического эффекта.

Во время *неактивной фазы* свободный от трийодтиронина (T_3) димер рецептора для T_3 связан с ДНК в зонах респонсивных элементов к гормону щитовидной железы (ТРЭ), и вместе с корепрессором препятствует транскрипции генов. Во время *активной фазы* тетраiodтиронин (T_4) поступает в цитозоль, где при участии дейодазы ($5'DI$) превращается в T_3 , который перемещается в ядро и присоединяется к лигандсвязывающему домену одного из двух мономеров рецептора (ТР-ЛСД). Это вызывает диссоциацию димера рецептора и удаление *корепрессора*. Связанный с T_3 мономер рецептора образует гетеродимер с рецептором ретиноевой кислоты (РХР), и к образованному гетеродимеру присоединяется *коактиватор*. Комплекс гетеродимера рецептора с коактиватором активирует транскрипцию генов и затем — трансляцию. Образующиеся белки включаются в метаболизм в качестве ферментов и др.

8.10. Гормоны гипоталамуса и гипофиза

Гипоталамус является центром взаимодействия нервной и гуморальной систем.

Все гормоны гипоталамуса имеют пептидное строение и делятся на три подкласса:

1) *рилизинг-гормоны (либерины)* — стимулируют секрецию гормонов передней доли гипофиза. К этой группе относятся 7 либеринов (кортиколиберин, тиреолиберин, люлиберин, фоллилиберин, соматолиберин, пролактолиберин, меланолиберин). Реализуют свое действие посредством 7-ТМС-рецепторов, связанных с G_s -белком;

8.10. Гормоны гипоталамуса и гипофиза

2) **статины** (соматостатин, пролактостатин и меланостатин) — тормозят секрецию гормонов передней доли гипофиза. Действуют посредством 7-ТМС-рецепторов, связанных с G_i -белком;

3) **нейрогипофизарные гормоны** (вазопрессин, окситоцин) — образуются в гипоталамусе и перемещаются в гипофиз.

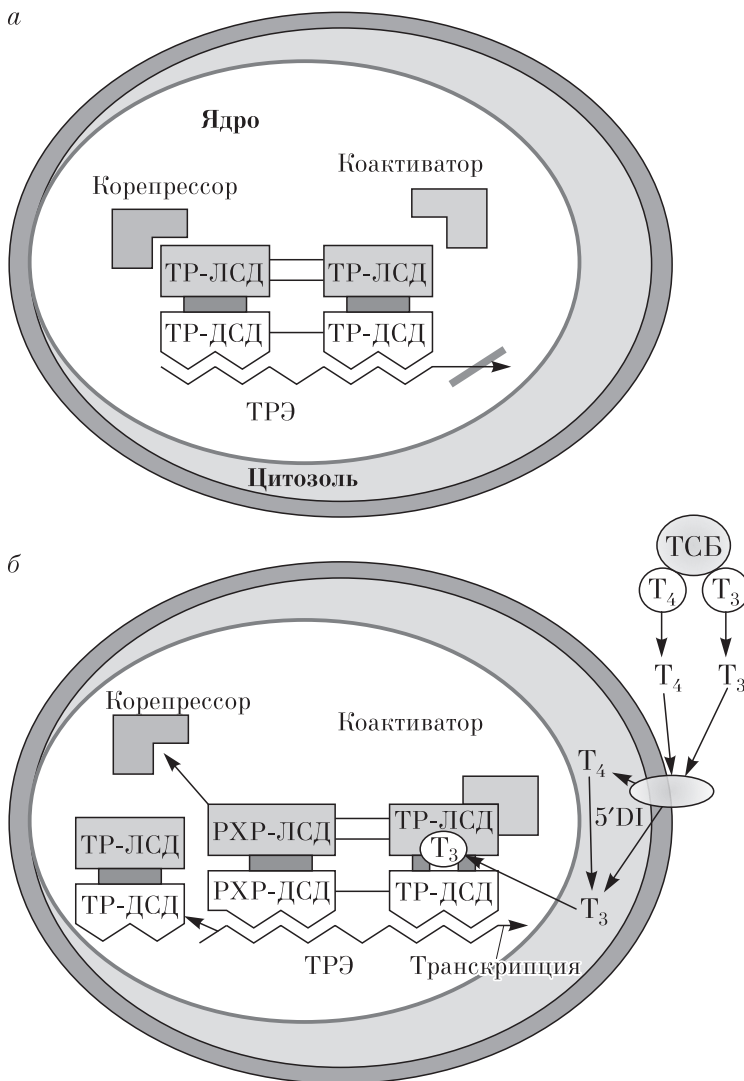


Рис. 8.17. Модель взаимодействия T_3 с рецептором:

а — неактивная фаза; б — активная фаза; 5'DI — дейодаза; ТР-ДСД — ДНК-связывающий домен рецептора для T_3 ; РХР-ЛСД — лигандсвязывающий домен рецептора ретиноевой кислоты; РХР-ДСД — ДНК-связывающий домен рецептора ретиноевой кислоты (пояснение в тексте)

8.10.1. Гормоны задней доли гипофиза (нейрогипофиза)

Вазопрессин (антидиуретический гормон, АДГ) оказывает свое действие главным образом на клетки почечных канальцев и гладкомышечные клетки сосудов. Рецепторы АДГ в почках известны как V_2 -рецепторы (подробнее см. главу 10 «Водно-минеральный обмен»). В кровеносных сосудах вазопрессин активирует V_1 -рецепторы, связанные с G_q -белком. В результате активируется фосфолипаза C, что вызывает рост внутриклеточной концентрации Ca^{2+} и вазоконстрикцию. Так вазопрессин участвует в поддержании артериального давления.

Окситоцин, действуя посредством активации 7-ТМС-рецепторов, связанных с G_q -белком, вызывает рост внутриклеточной концентрации Ca^{2+} и повышает сократительную активность гладкой мускулатуры матки. В лактирующей молочной железе окситоцин вызывает сокращение миоэпителиальных клеток, окружающих альвеолы и протоки молочной железы.

8.10.2. Гормоны передней доли гипофиза (аденогипофиза)

Гормоны аденогипофиза — это тропные гормоны, стимулирующие функции периферических эндокринных клеток, тканей, органов. К этой группе относятся гормоны белково-пептидной природы:

- кортикотропин, тиреотропин, гонадотропины — реализуют свое действие через 7-ТМС-рецепторы;
- соматотропин, пролактин — действуют через 1-ТМС-рецепторы, собственной каталитической активностью не обладают.

Кортикотропин, или *адrenокортикотропный гормон (АКТГ)*, представляет собой одноцепочечный полипептид, состоящий из 39 аминокислот. АКТГ связывается с 7-ТМС-рецепторами клеток коры надпочечников. Образование комплекса способствует синтезу цАМФ и активированию протеинкиназы А. Под контролем данного механизма находится поступление в клетки холестерина в составе ЛПНП, гидролиз в коре надпочечников эфиров холестерина, транспорт холестерина в митохондрии (синтез STAR-протеина), синтез ферментов стероидогенеза (десмолаза). В результате в митохондриях ускоряется синтез прегненолона — основного предшественника всех стероидных гормонов. Также АКТГ присуща жиромобилизующая и меланоцитстимулирующая активность.

Тиреотропин, или *тиреотропный гормон (ТТГ)*, связывается с 7-ТМС-рецепторами тиреоцитов, активируя аденилатциклазу (АЦ) и фосфолипазу C. Активация АЦ и последующее увеличение уровня цАМФ усиливают потребление йода клетками щитовидной железы и повышают активность тиреопероксидазы, участвующей в биосинтезе T_3 и T_4 . Активация фосфолипазы C необходима для секреции образовавшихся гормонов в кровоток. Тиреотропин воздействует и на периферические рецепторы, повышая активность селензави-

8.10. Гормоны гипоталамуса и гипофиза

симой дейодазы периферических тканей и чувствительность рецепторов тканей к тиреоидным гормонам.

Гонадотропины (ГТ). В группу гонадотропинов входят лютропин (ЛГ), фоллитропин (ФСГ), хорионический гонадотропин (ХГ). Они действуют на 7-ТМС-рецепторы, ассоциированные с G_s -белком, активируют аденилатциклазную систему. Посредством этого пути проведения сигнала гонадотропины стимулируют синтез половых гормонов — эстрогенов и андрогенов.

Соматотропин, или соматотропный гормон (СТГ), гормон роста (ГР). У человека соматотропин представляет собой полипептидную цепь, состоящую из 191 аминокислотного остатка. Соматотропины характеризуются выраженной видовой специфичностью. Видовая специфичность определяется не только особенностями самого гормона, но и связана с особенностями рецепторов к гормону. СТГ опосредует свое действие через 1-ТМС-рецепторы, взаимодействующие с янус-киназами по описанному выше механизму (см. п. 8.9.4).

Многие эффекты СТГ на периферические ткани зависят от взаимодействия между гормоном роста и инсулиноподобными факторами роста (соматомединами). Срочный эффект СТГ (инсулиноподобный), реализуемый посредством соматомединов, проявляется в усилении липогенеза и гликолиза. Продолжительное действие СТГ, напротив, активирует липолиз и глюконеогенез, снижает поступление в клетку глюкозы. Основное действие СТГ направлено на регуляцию обмена белков и процессов, связанных с ростом и развитием организма. Под влиянием гормона роста усиливается синтез белка в костях, хрящах, мышцах, печени и других внутренних органах, увеличивается общее количество РНК, синтез ДНК и общее число клеток, повышается активность ДНК-зависимой РНК-полимеразы, ускоряется транспорт аминокислот внутрь клеток через клеточную мембрану, тормозятся процессы катаболизма белков.

СТГ способствует накоплению кальция, магния и фосфата и вызывает задержку Na^+ , K^+ и Cl^- . Эти эффекты можно связать с действием СТГ на рост костной ткани. СТГ стимулирует рост длинных костей в области эпифизарных пластинок у детей и акральный рост у взрослых (т.е. наложение новых слоев на ранее сформированные и увеличение толщины костей, хрящей и мягких тканей).

Избыточная секреция СТГ в молодом возрасте (у детей и подростков) обычно приводит к развитию *гигантизма*, при котором отмечается пропорциональный рост костей скелета (гигантизмом принято называть рост выше 190 см), и *акромегалии*, развитие которой обусловлено повышенной секрецией гормона роста у лиц с закончившимся физиологическим ростом и характеризуется патологическим диспропорциональным ростом костей скелета, мягких тканей, внутренних органов, а также нарушением обмена веществ.

Если причинами гигантизма и акромегалии является усиление секреции СТГ, то причины *карликового роста* (карликовым считается рост у мужчин ниже 130 см и у женщин менее 120 см) многообразны и не всегда связаны со снижением секреции СТГ. Такими причинами могут быть: недостаточность образования и секреции соматолиберина в гипоталамусе, образование дефектных

рецепторов к гормону роста (синдром Ларона), снижение образования инсулиноподобных факторов роста, пострецепторное нарушение передачи сигнала (наблюдается у африканских пигмеев) и др.

Пролактин, или **лактогенный гормон**, также связывается с 1-TMS-рецептором и передает сигнал аналогично СТГ. Пролактин — гормон анаболический. Он усиливает синтез лактальбумина, казеина, триацилглицеролов, фосфолипидов и снижает экскрецию воды.

8.11. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы

Синтез йодтиронинов. В клетках щитовидной железы (тиреоцитах), имеющих сильный кровоток и интенсивно поглощающих кислород, синтезируются йодсодержащие гормоны: 3,5,3'-трийодтиронин (T_3) и 3,5,3',5'-тетрайодтиронин (T_4 , тироксин). В основе структуры данных гормонов лежит тирониновое ядро, состоящее из двух конденсированных молекул L-тирозина, йодированное 3 или 4 атомами йода. Особенностью их синтеза является зависимость от йода. Многие зоны нашей планеты характеризуются низким содержанием йода в продуктах питания и питьевой воде, что служит одной из причин распространенности нарушений синтеза таких гормонов.

Функциональная единица щитовидной железы — фолликул. Он состоит из слоя эпителиоцитов, окружающих полость, заполненную коллоидом. Коллоид составляет около 30 % массы щитовидной железы и содержит белок тиреоглобулин (рис. 8.18).

На фрагменте (а) фолликулярные эпителиальные клетки окружают просвет фолликула, который наполнен белком коллоида. С-клетки расположены вне фолликулов, они синтезируют пептидный гормон кальцитонин. На фрагменте (б) клетки фолликулярного эпителия синтезируют белок тиреоглобулин (ТГ), фермент тиреопероксидазу (ТПО) и секретируют их в просвет фолликула. Йодид поступает в фолликул через клетки фолликулярного эпителия, где используется тиреопероксидазой для йодирования тирозина в составе тиреоглобулина с образованием модифицированного, т.е. йодированного тиреоглобулина (ТГ*).

Тиреоглобулин — гликопротеин, состоит из двух субъединиц, содержит 115 остатков тирозина, каждый из которых представляет собой потенциальный сайт йодирования. Скорость синтеза тиреоглобулина регулируется тиреотропным гормоном.

Поступление йодида в клетки щитовидной железы происходит при помощи активного транспорта, который обеспечивается специфическим белком (рис. 8.19). Белок переносит одновременно $2Na^+$ и I^- в клетку. Сопряженно работающая Na^+/K^+ -АТФаза удаляет ионы натрия из клетки. В клетках происходит окисление йодида при участии тиреопероксидазы с образованием активной формы йода, способной участвовать в реакциях йодирования остат-

8.11. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы

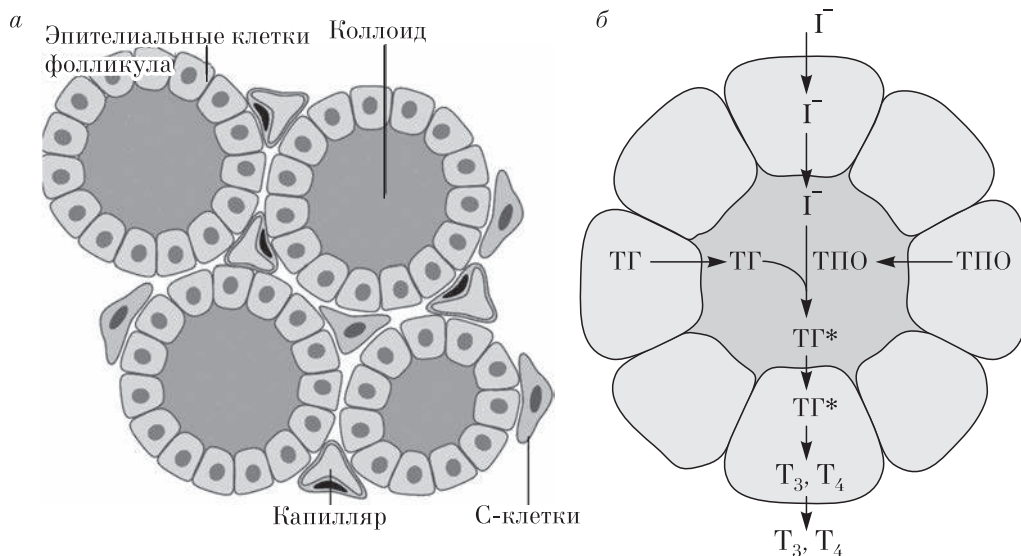


Рис. 8.18. Структура щитовидной железы:
а — схематическое изображение структуры фолликулов щитовидной железы; б — синтез гормонов

ков тирозина в составе молекулы тиреоглобулина (в первую очередь йодируется 3-е, затем 5-е положение) с образованием монойодтирозина (МИТ) и дийодтирозина (ДИТ), соответственно.

Образовавшиеся МИТ и ДИТ конденсируются с образованием гормонов щитовидной железы (рис. 8.20). При конденсации двух молекул ДИТ образуется T_4 ; если же происходит конденсация молекул МИТ и ДИТ, образуется T_3 . Эти процессы проходят при участии тиреопероксидазы (ТПО), которая расположена на мембране апикальной части тиреоцита.

По мере йодирования остатков тирозина и образования йодтирозинов молекулы тиреоглобулина перемещаются в просвет фолликула, где они накапливаются «про запас». Этого запаса хватает на месяц. Накапливаемый йодированный тиреоглобулин в полости фолликула поступает в составе эндоцитозных везикул внутрь клеток. Под влиянием лизосомных ферментов происходит протеолиз тиреоглобулина. Продуктами протеолиза являются МИТ, ДИТ, T_4 и T_3 .

Основным секретируемым гормоном (свыше 95 %) является T_4 . В периферических тканях T_4 превращается в более метаболически активный T_3 под действием селенсодержащей 5'-дейодазы. В плаценте работает 5-дейодаза и образуется малоактивный реверсивный трийодтиронин rT_3 , что является механизмом защиты плода от тироксина матери.

Воздействие трийодтиронина (T_3) на метаболизм. Присоединение гормона к рецептору вызывает ряд последующих событий, ведущих к активированию транскрипции (см. п. 8.9.7). За счет этого механизма увеличивается, к примеру,

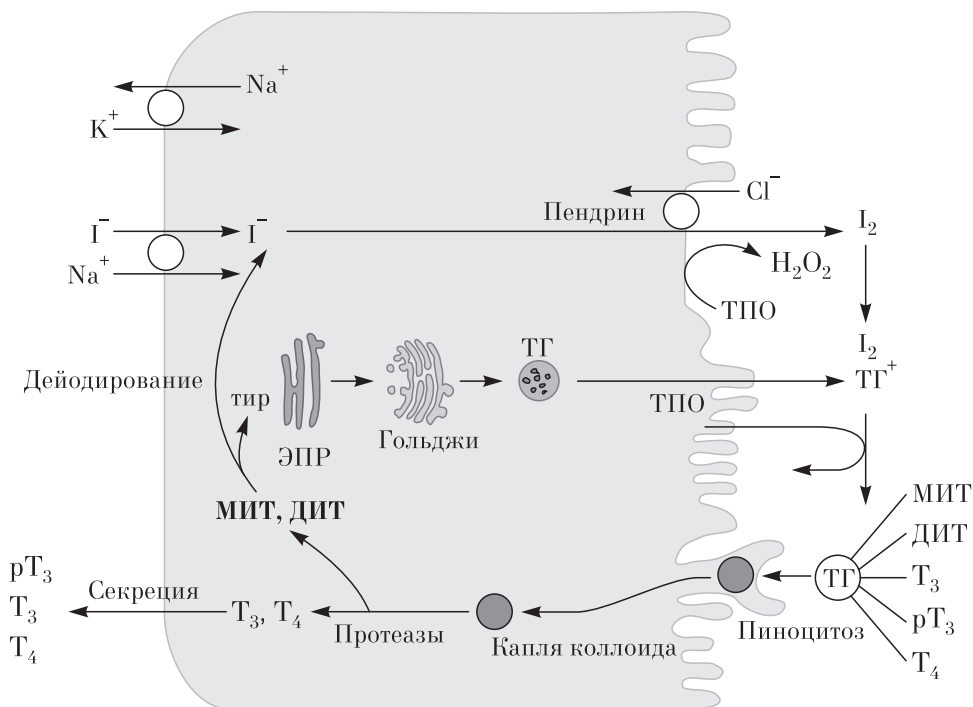


Рис. 8.19. Схема синтеза йодтиронинов (пояснение в тексте)

синтез малик-фермента, синтазы жирных кислот, фосфоенолпируваткарбоксикиназы, белков, разобщающих окислительное фосфорилирование и тканевое дыхание, гормона роста, тяжелой цепи миозина, дейодазы.

Йодсодержащие гормоны оказывают выраженное влияние на умственное и физическое развитие человека, регулируют метаболические процессы в нервной, сердечно-сосудистой, мышечной системах, влияют на иммунную систему, изменяют свойства мембран, интенсивность биоэнергетических реакций.

Нарушение синтеза йодтиронинов. Наиболее частым проявлением нарушения функции щитовидной железы является **зоб**. Зобом называют любое увеличение размеров щитовидной железы. Простой зоб — проявление «попытки» организма компенсировать снижение образования тиреоидных гормонов. Причинами такого снижения служат дефекты отдельных стадий биосинтеза тиреоидных гормонов: недостаточное поступление йодидов, нарушение йодирования, недостаточность дейодаз. Продолжительное действие таких нарушений приводит к гипотиреозу. Ответом на снижение образования йодсодержащих гормонов является повышение уровня ТТГ, который способствует пролиферации клеток щитовидной железы.

Гипотиреоз у плодов или новорожденных приводит к кретинизму, который характеризуется множественными врожденными нарушениями и тяжелой

8.11. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы

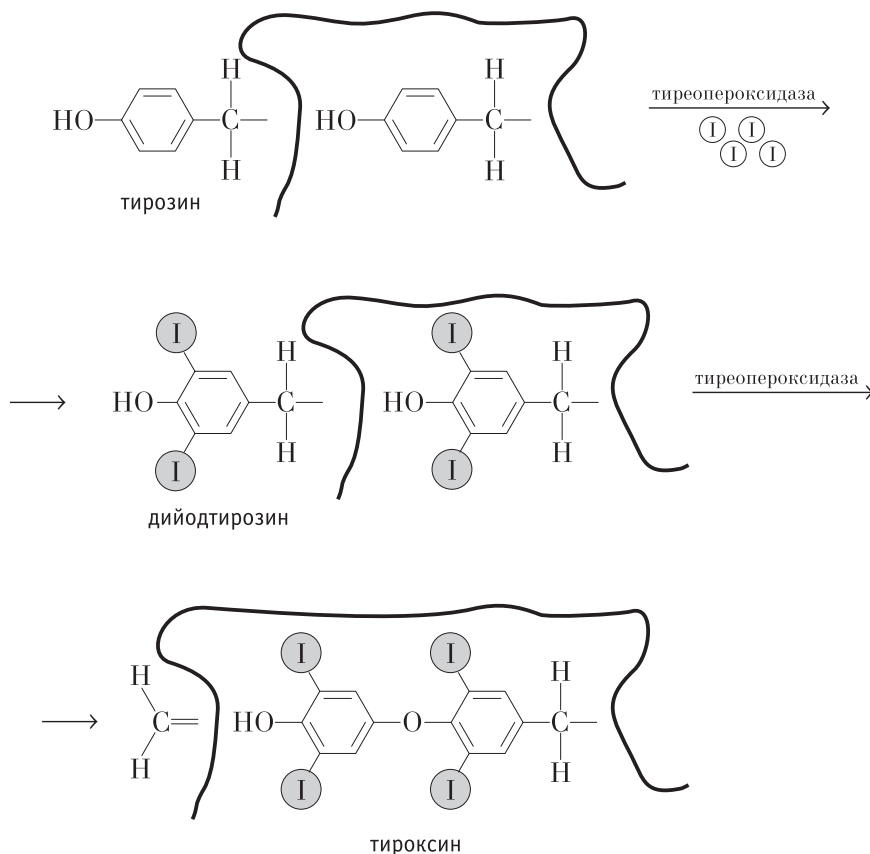


Рис. 8.20. Схема конденсации диодтирозинов

необратимой задержкой умственного развития. У детей старшего возраста гипотиреоз сопровождается отставанием в росте без задержки умственного развития.

У взрослых развивается состояние, получившее название *микседема* (слизистый отек). Микседема характеризуется плохим аппетитом, запорами, ожирением, гиперхолестеролемией. Уменьшается продукция предсердного натрийуретического пептида. Это приводит к задержке натрия и воды в организме. Замедляется распад гликозаминогликанов.

Гипертиреоз (базедова болезнь, или тиреотоксикоз) обусловлен избыточным образованием тиреоидных гормонов или повышением чувствительности тканей-мишеней к их действию. Базедова болезнь проявляется рядом типичных признаков: усилением основного обмена (повышением потребления O_2 клетками), усилением теплопродукции, увеличением щитовидной железы, пучеглазием, тахикардией (эффekt катехоламинов на сердце), повышением психической возбудимости.

8.12. Гормоны поджелудочной железы

Островки Лангерганса поджелудочной железы секретируют инсулин, глюкагон, соматостатин, панкреатический полипептид. Все гормоны поджелудочной железы являются пептидами или белками.

Инсулин синтезируется β -клетками поджелудочной железы в форме пре-проинсулина на рибосомах. При участии сигнального пептида он проникает в полость ЭР. Там сигнальный пептид удаляется пептидазой и формируется проинсулин (86 аминокислотных остатков). Затем образовавшийся проинсулин поступает в аппарат Гольджи, где под действием специфических протеаз расщепляется в нескольких участках с образованием инсулина и С-пептида. Инсулин состоит из двух цепей: А (21 аминокислота) и В (30 аминокислот), — связанных между собой дисульфидными мостиками. Инсулин и С-пептид включаются в гранулы, которые секретируются путем экзоцитоза.

В результате повышения уровня глюкозы в крови скорость преобразования проинсулина в инсулин в клетках поджелудочной железы увеличивается. Высвобождаемый при этом пептид С секретируется вместе с инсулином в эквивалентных соотношениях. Поэтому уровень пептида С служит характеристикой секреторной активности β -клеток поджелудочной железы. В норме за сутки секретируется приблизительно 40–50 единиц инсулина (1 МЕ = 41,66 мкг инсулина), что составляет около 15–20 % гормона в составе β -клеток.

Распад инсулина катализируется протеазами в основном в печени и в меньшей степени — в почках. Рецепторы к инсулину относятся к 1-ТМС-рецепторам, тирозинкиназам и передают гормональный сигнал механизмом, описанным ранее. Инсулин относится к анаболическим гормонам, так как он способствует сохранению в организме глюкозы, жирных кислот и аминокислот.

Эффекты инсулина тканеспецифичны, многообразны и имеют временную зависимость:

- *быстрый* (секунды) — ускорение транспорта глюкозы, аминокислот и калия в инсулинзависимые ткани (жировую, мышечную);
- *промежуточный* (минуты) — стимуляция синтеза белков и торможение их распада, активирование гликогенсинтазы и ферментов гликолиза, угнетение фосфоорилазы и ферментов глюконеогенеза;
- *длительный* (часы) — увеличение синтеза иРНК, ферментов липогенеза и др.

Комплекс нарушений, вызванных недостаточностью функций инсулина, называется **сахарным диабетом**. Различают две формы этого заболевания:

- *инсулинзависимый сахарный диабет* (диабет 1-го типа), развивается вследствие дефицита инсулина, вызываемого аутоиммунным разрушением β -клеток поджелудочной железы;
- *инсулиннезависимый сахарный диабет* (диабет 2-го типа), характеризуется снижением чувствительности к инсулину. Эта форма диабета встре-

8.13. Гормоны мозгового вещества надпочечников

чается чаще, развивается у пожилых лиц и, как правило, ассоциирована с ожирением.

Характерный признак диабета — гипергликемия, возникающая из-за невозможности транспорта глюкозы в клетки инсулинзависимых тканей. Концентрация глюкозы в плазме крови больного диабетом после глюкозной нагрузки значительно выше, чем у здорового, а возвращение к начальному уровню проходит медленнее. Когда уровень глюкозы в крови превышает 10 ммоль/л, он становится причиной глюкозурии. Выделение осмотически активных молекул глюкозы влечет за собой потерю больших количеств воды (осмотический диурез). У больного появляются жажда, полиурия, слабость, повышенная утомляемость, мышечные подергивания, сердечные аритмии и др.

В силу недостаточности в клетках *глюкозы* нарушается гликолиз и стимулируется образование глюкозы из аминокислот (глюконеогенез), поставляемых за счет активации процессов катаболизма белков. Поэтому снижается масса тела. Потребности в энергии удовлетворяются за счет увеличения скорости липолиза. В результате нарастает образование в печени кетоновых тел. Они накапливаются в крови, так как скорость образования превышает возможность их использования клетками. Развивается метаболический ацидоз.

Длительная гипергликемия способствует также неферментативному гликозилированию белков. В результате нарушается их функционирование и, как следствие, развиваются диабетическая нефропатия, ретинопатия, ангиопатия.

Глюкагон по химической природе является пептидом (29 аминокислот). Он синтезируется α -клетками поджелудочной железы и опосредует свое действие главным образом через специфические 7-ТМС-рецепторы печени по аденилатциклазному механизму, приводящему к активации гликогенфосфорилазы и ингибированию гликогенсинтазы. Таким образом, глюкагон в печени, стимулируя распад гликогена, способствует поддержанию глюкозы в крови на постоянном уровне. Глюкагон также активирует глюконеогенез, липолиз и кетогенез в печени.

8.13. Гормоны мозгового вещества надпочечников

Три амина — дофамин, норадреналин и адреналин, получившие название *катехоламины*, — синтезируются хромаффинными клетками мозгового слоя надпочечников; 80 % всех катехоламинов надпочечников составляет адреналин. Катехоламины синтезируются из тирозина. Превращение тирозина в адреналин протекает в четыре этапа (реакции синтеза см. п. 5.4.5):

- 1) гидроксилирование тирозина;
- 2) декарбоксилирование диоксифенилаланина (ДОФА) с образованием дофамина;

3) гидроксилирование боковой цепи с образованием норадреналина;

4) N-метилование норадреналина с образованием адреналина.

Для каждого из катехоламинов существуют свои специфические рецепторы. Дофамин действует через D_1 - и D_2 -рецепторы. Адреналин и норадреналин действуют на клетки через α_1 -, α_2 -, β_1 -, β_2 - и β_3 -адренорецепторы. Эти рецепторы характеризуются различной локализацией и передачей сигналов с помощью разных вторичных посредников. Это определяет характер их влияния на метаболизм клеток мишеней. α_1 -Адренорецепторы локализуются в артериолах. При связывании гормонов с α_1 -адренорецепторами происходит активация фосфолипазы C и инициация инозитолфосфатного пути передачи сигнала.

β_1 -Адренорецепторы локализуются в сердце, почках; β_2 — в клетках печени, бронхиол; β_3 — в жировой ткани. Взаимодействие гормона с β -адренорецепторами активирует G_s -белок и аденилатциклазу, в то время как связывание гормона с α_2 -адренорецептором активирует G_i -белок и инактивирует аденилатциклазу.

Действие катехоламинов на метаболизм заключается в мобилизации энергетических субстратов (активация липолиза, глюконеогенеза, гликогенолиза и др. — см. соответствующие разделы) и направлено на выживание организма в экстремальных условиях. Адреналин усиливает окислительные процессы в тканях, увеличивает потребление кислорода, повышает основной обмен. Из физиологических эффектов норадреналин и адреналин вызывают повышение артериального давления, увеличение силы и частоты сердечных сокращений, расслабление гладких мышц трахеи, бронхов и желудочно-кишечного тракта.

8.14. Гормоны коры надпочечников и половых желез являются стероидами

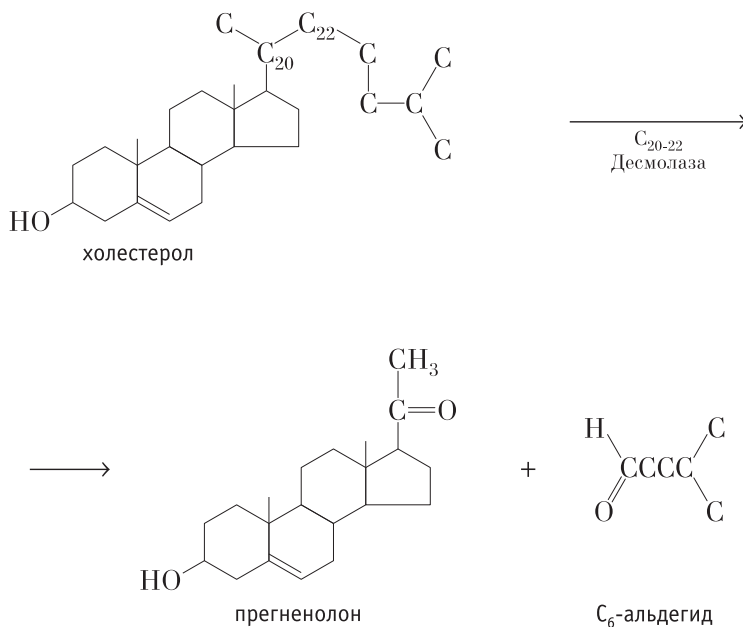
Стероидные гормоны синтезируются из холестерина главным образом в коре надпочечников, тестикулах, яичниках и плаценте и действуют на внутриклеточные рецепторы I класса.

Холестерол для синтеза стероидных гормонов поступает или из плазматической мембраны, или из эндоплазматического фонда эфиров холестерина. Гидролиз эфиров холестерина катализируется гидролазой. Образующийся при этом свободный холестерол транспортируется через межмембранное пространство митохондрий к внутренней митохондриальной мембране при участии белка STAR (Steroid Acute Regulatory). Синтез белка STAR, в свою очередь, регулируется гормонами гипофиза.

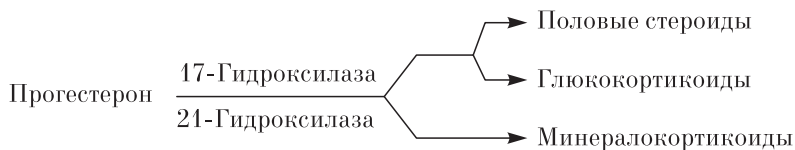
Первая реакция в синтезе всех стероидных гормонов — образование *прегненолона*. Превращение холестерина в прегненолон происходит в результате

8.14. Гормоны коры надпочечников и половых желез являются стероидами

отщепления 6-углеродного фрагмента от боковой цепи (ключевой фермент — C_{20-22} -десмолаза, активируется АКТГ).



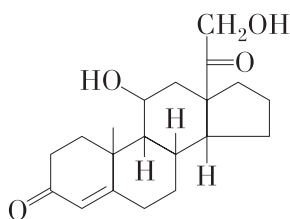
Последующие преобразования прегненолона в прогестерон протекают в митохондриях и цитозоле клеток, продуцирующих гормоны. В реакциях участвуют гидроксилазы, использующие молекулярный кислород и НАДФН·Н⁺, а также дегидрогеназы, изомеразы и лиазы. Прогестерон подвергается гидроксилированию в положениях C_{17} или C_{21} , в результате чего образуются различные функциональные классы стероидов:



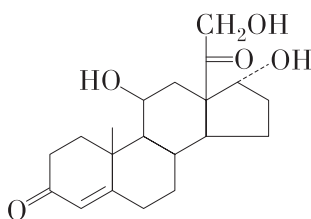
Специфичность синтеза отдельных типов гормонов достигается набором ферментов, катализирующих синтез такого гормона. Например, **клетки клубочковой зоны надпочечников** избирательно синтезируют и выделяют минералокортикоид — **альдостерон**. В этих клетках отсутствует 17-гидроксилаза, и поэтому прегненолон может превращаться только в прогестерон. Зато в этих клетках синтезируется особый фермент — **синтаза альдостерона**, — который катализирует ключевые реакции образования этого гормона.

Альдостерон регулирует реабсорбцию Na^+ и воды, увеличение секреции K^+ , H^+ , повышение кровяного давления (подробнее см. главу 10 «Водно-минеральный обмен»).

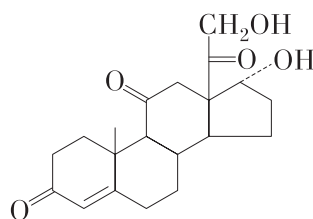
Клетки пучковой зоны синтезируют и секретируют **глюкокортикоиды** (кортизол, кортикостерон, кортизон). Их синтез и секреция регулируется АКТГ аденогипофиза. Основной гормон — *кортизол*. Кортикостерон синтезируется в малых количествах. Поступающие в кровь гормоны транспортируются к тканям с α_2 -глобулином плазмы (транскортином).



кортикостерон



кортизол



кортизон

Глюкокортикоиды оказывают умеренный катаболический эффект. Они поддерживают длительный стресс, стимулируют распад белков в мышцах, повышают мобилизацию липидов жировой ткани, стимулируют образование глюкозы в печени. В результате увеличивается концентрация аминокислот — субстратов глюконеогенеза, жирных кислот и глюкозы в крови. В гепатоцитах стимулируется синтез не только глюкозы, но и белков, нуклеиновых кислот, в то время как в мышцах, лимфоидной и жировой ткани, коже и костях синтез белков и нуклеиновых кислот, напротив, тормозится.

Избыточное количество кортизола стимулирует липолиз в конечностях и липогенез в других частях тела (лицо и туловище). Высокая концентрация глюкокортикоидов вызывает торможение роста и деления фибробластов, тем самым, угнетение синтеза коллагена и фибронектина. Этим объясняются характерные для гиперсекреции глюкокортикоидов истончение кожи, плохое заживление ран, мышечная слабость и атрофия мышц.

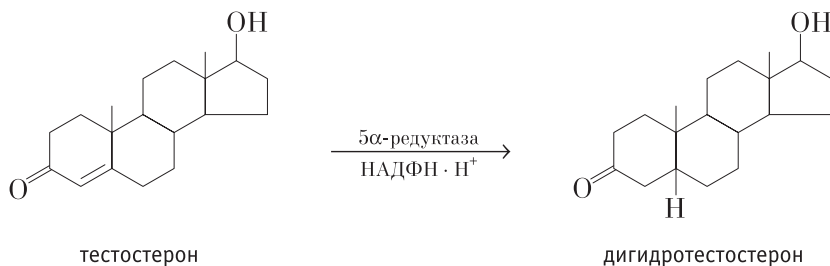
Глюкокортикоиды находят широкое применение для лечения многих заболеваний, сопровождающихся воспалительными реакциями или нарушением иммунной защиты. Их противовоспалительные и иммуномодуляторные эффекты в значительной мере объясняются торможением активности одного из регуляторов транскрипции — ядерного фактора NF- κ B, который регулирует экспрессию провоспалительных генов (цитокинов, рецепторов цитокинов, молекул адгезии, протеиназ и др.).

Кроме того, глюкокортикоиды стимулируют синтез липокортина, который ингибирует фермент фосфолипазу A_2 и тем самым подавляет синтез простагландинов и лейкотриенов — важных участников воспалительной реакции.

8.14. Гормоны коры надпочечников и половых желез являются стероидами

В сетчатой зоне коры надпочечников вырабатываются половые стероиды — андрогены, эстрогены и прогестерон.

Андрогены синтезируются в клетках Лейдига семенников, яичниках, плаценте и сетчатой зоне коры надпочечников. Основной мужской половой гормон *тестостерон* во многих клетках-мишенях превращается в более активную форму — дигидротестостерон (ДГТ) — при участии НАДФН-зависимой 5 α -редуктазы.



Тестостерон с помощью СГСБ (белок, связывающий половые гормоны) достигает клетки и, проникнув в нее через мембрану, превращается в дигидротестостерон (ДГТ). В цитозоле ДГТ связывается со своим рецептором (AR) (рис. 8.21). В результате от рецептора отщепляется белок теплового шока (HSP) и гормон-рецепторный комплекс димеризуется и фосфорилируется. Образовавшийся димер проникает в ядро, где он связывается с соответствующей «респонсивной» последовательностью нуклеотидов в ДНК. К месту связывания привлекаются коактиваторы (ARA70). Образовавшийся комплекс гормон – рецептор – ДНК инициирует транскрипцию участка ДНК, включающего определенные гены. Вслед за транскрипцией происходит трансляция, т.е. синтез белков, ответственных за реализацию последующего биологического эффекта.

Эффекты андрогенов многообразны. Они влияют на рост скелетных мышц, хрящей гортани, эпифизарных хрящей (резко усиливая механизмы синтеза белков), стимулируют эритропоэз, способствуют потреблению глюкозы клетками, регулируют сперматогенез, развитие первичных и вторичных половых признаков (тип оволосения, распределение подкожного жира по мужскому типу), способствуют задержке натрия, калия, воды, кальция, сульфата и фосфата в организме и др.

Производные тестостерона (анаболические стероиды) используются в качестве средств, активирующих анаболические процессы в организме.

Эстрогены (эстрадиол, эстрон, эстриол) синтезируются в основном фолликулярным аппаратом яичников, некоторое количество производится в коре надпочечников и семенниках. Во время беременности желтое тело и плацента становятся источником *прогестерона*.

Основной представитель эстрогенов — *эстрадиол*. Он образуется путем ароматизации тестостерона (рис. 8.22). Процесс ароматизации включает три реакции гидроксилирования с участием O_2 и НАДФН· H^+ . Эти реакции катализируются ароматазой, которая представляет собой разновидность цитохрома P_{450} . Из эстрадиола образуется *эстрон*, а *эстриол* является продуктом преобразования эстрона в печени.

Действуют эстрогены через свои специфические ядерные рецепторы. Они присутствуют практически во всех клетках (рис. 8.23). Известны два типа рецепторов эстрогенов — α и β . В зависимости от типа клеток после связывания с гормоном и удаления шаперонов могут формироваться гомодимеры ($\alpha\alpha$ или $\beta\beta$) и гетеродимеры ($\alpha\beta$).

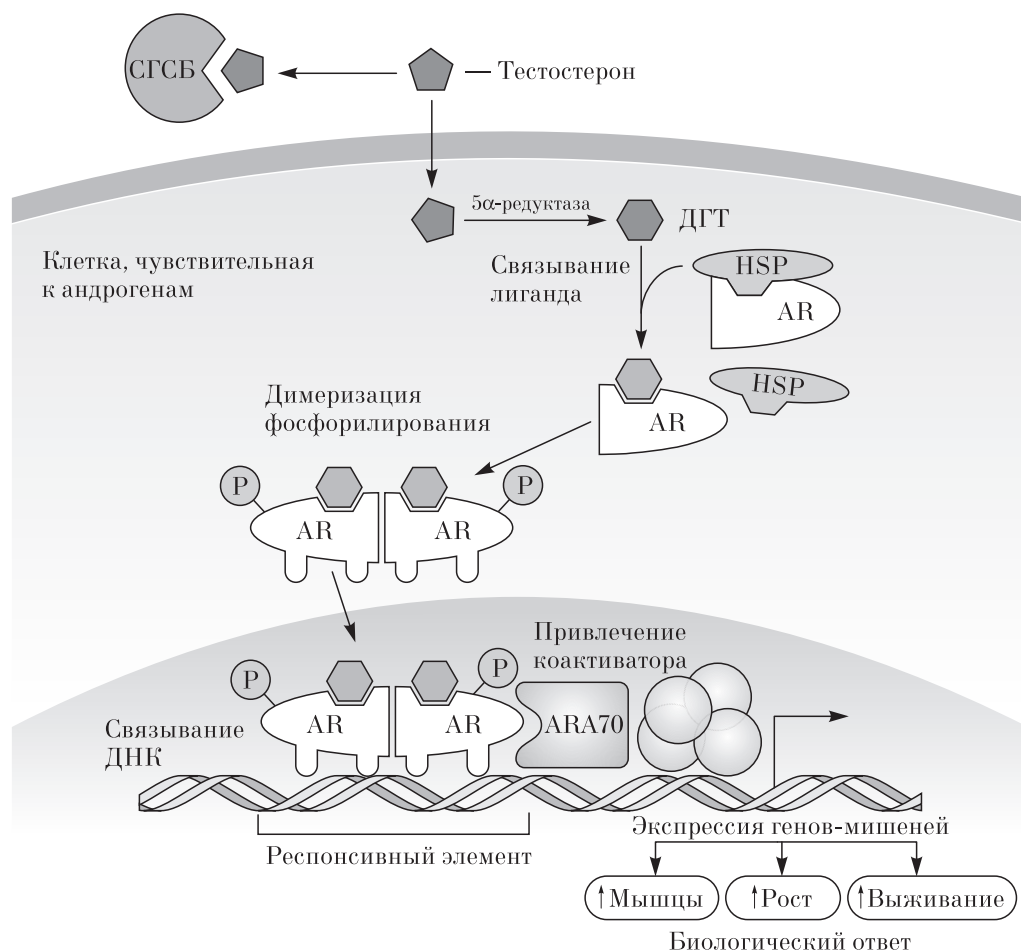


Рис. 8.21. Реакция синтеза дигидротестостерона и система проведения сигнала в клетку с участием андрогенов

8.14. Гормоны коры надпочечников и половых желез являются стероидами

Эстрогены формируют женский облик, обуславливают распределение жира по женскому типу, улучшают трофику кожи. Их анаболический эффект обусловлен увеличением биосинтеза белков, пролиферацией эндометрия, созданием условий для оплодотворения (повышается синтез рецепторов к прогестерону), стимуляцией синтеза ряда транспортных белков (тироксинсвязывающего глобулина, транскортина, трансферрина). В отсутствие гормона рецептор неактивен. Он связан с белком теплового шока (HSP90), который препятствует переходу рецептора в активное конформационное состояние.

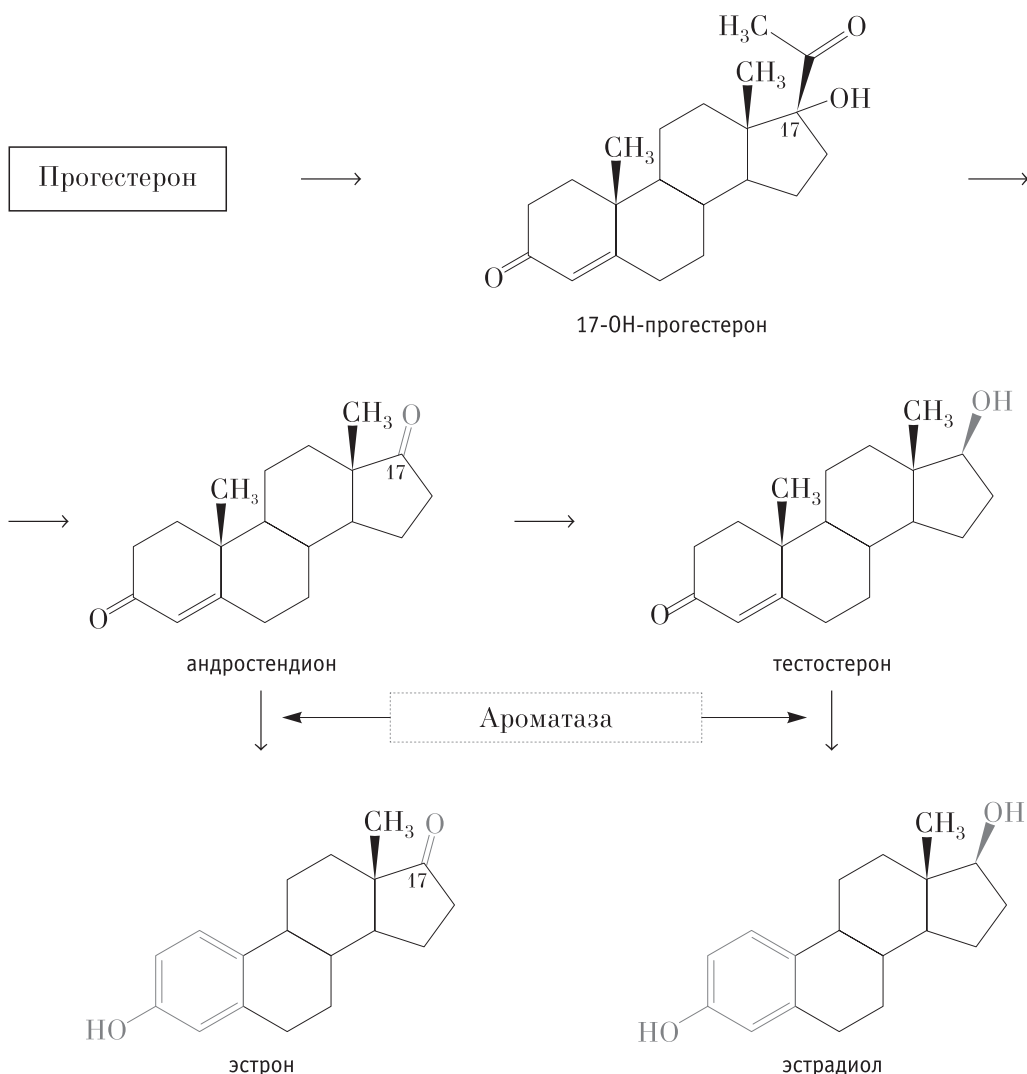


Рис. 8.22. Путь синтеза эстрогенов

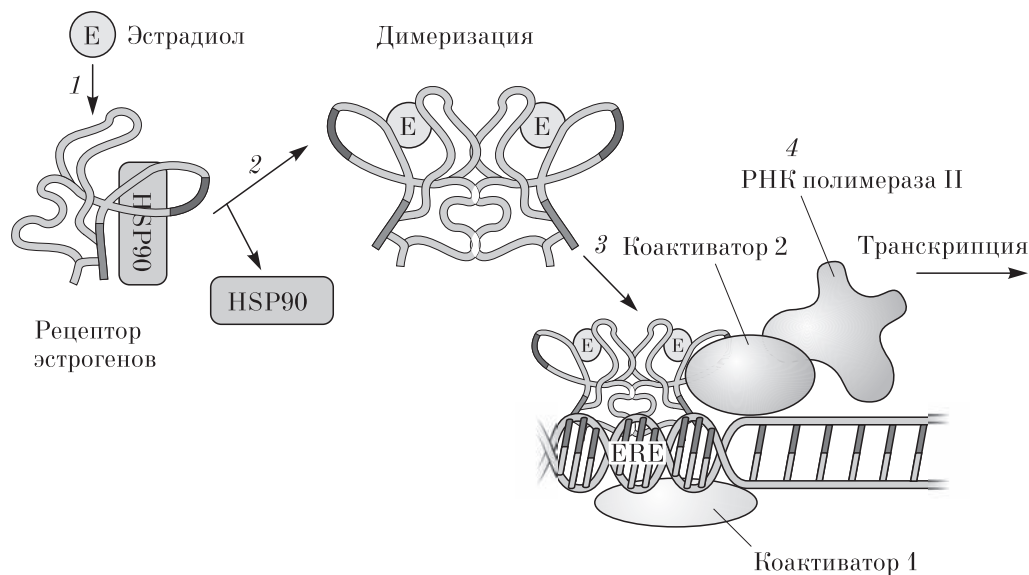


Рис. 8.23. Путь проведения сигнала в клетках для эстрогенов:

1 — эстрадиол взаимодействует с внутриклеточным рецептором; 2 — изменение конформации рецептора и диссоциация шаперона (HSP90); 3 — образование гомодимера, который связывается с респонсивным элементом для эстрогенов (ERE) ДНК в области промотора генов, контролируемых эстрогенами; 4 — взаимодействие доменов рецептора с коактиваторами, которые стимулируют РНК-полимеразу II и активируют транскрипцию генов

Под влиянием эстрогенов усиливается кальцификация костей, синтез в печени витамин-К-зависимых факторов свертывания крови. Они активируют NO-синтазу, способствуют увеличению уровня ЛПВП в плазме крови и снижению ЛПНП.

Биохимия питания

До сих пор мы рассматривали молекулярные механизмы использования соединений, попавших в организм с пищей. На это было направлено описание метаболических путей углеводного, липидного и белкового обменов, их регуляция. Рассматривались механизмы извлечения и запасаения энергии, синтеза из промежуточных продуктов катаболизма новых соединений, компонентов мембран и биологически активных веществ. Всё это окружающая нас жизнь, то, что поддерживает существование клеток и организма человека в целом. Таким образом, питание является важнейшим условием сохранения здоровья и важнейшей причиной нарушения его благополучия.

Жизнь предлагает человеку такие условия, к которым его организм еще не успел приспособиться. В частности, у современного человека резко снижены энергозатраты, кроме того, изменился рацион питания, состав и количество потребляемых продуктов. В настоящее время в мире от ожирения страдает больше миллиарда людей.

Сбалансированное питание оказывает положительное влияние на состояние органов ротовой полости, является одним из главных факторов, обеспечивающих созревание и минерализацию эмали зубов, здоровье десен, регулирующих количество и биохимический состав слюны. Кроме того, прием твердой пищи (сырые овощи, фрукты) является хорошей тренировкой зубочелюстной системы, а также одним из путей самоочищения зубов. Врач должен понимать молекулярные события, происходящие в организме человека вслед за приемом пищи, при отсутствии или нехватке тех или иных компонентов пищи, чтобы правильно строить свою стратегию и тактику в профилактике и лечении заболеваний.

9.1. Незаменимые факторы питания

Для того чтобы обеспечить нормальную жизнедеятельность организма, пищевой рацион человека должен содержать незаменимые факторы питания и необходимый запас энергии. К незаменимым факторам питания относятся питательные вещества, которые не синтезируются в организме или синтези-

руются в недостаточном количестве и поэтому обязательно должны поступать в организм с пищей.

Условно различают три важнейшие *категории питательных веществ*:

- 1) энергодающие — белки, углеводы и липиды; это макрокомпоненты пищи;
- 2) вода и минеральные вещества;
- 3) витамины и витаминоподобные вещества (соединения), необходимые для биохимических процессов в качестве коферментов.

Кроме питательных веществ, в пище должны содержаться волокнистые соединения (целлюлоза, гемицеллюлоза, пектины), которые не имеют ни энергетического, ни пластического значения, однако стимулируют работу желудочно-кишечного тракта, выполняют роль энтеросорбентов и др. (см. главу 3 «Химия и обмен углеводов»).

В среднем энергетические потребности для здоровых мужчин составляют ~2800–3200 ккал/сут, а для женщин ~2100–2800 ккал/сут. При физических нагрузках, травмах, ожогах, в период восстановления после болезни требуется большее количество энергии.

Соответственно рекомендациям ВОЗ желательно, чтобы 55 % энергии высвобождалось в результате окисления углеводов, 30 % — липидов и 15 % — белков. Реальные показатели вклада пищевых веществ в энергопродукцию отличаются от показателей, рекомендуемых ВОЗ. Так, для большинства населения основными источниками энергии являются углеводы (42 %) и жиры (40 %). Этанол тоже может служить источником энергии у людей, употребляющих спиртные напитки. При этом вклад этанола в общую калорийность пищи у них может составлять от 1 до 10 % (при окислении 1 г этанола выделяется ~7 ккал). Наряду с неблагоприятными социальными и экономическими последствиями алкоголизма, употребление этанола в качестве источника энергии имеет ряд негативных биохимических последствий, связанных с метаболизмом этанола в организме.

Белки. Общая суточная потребность в белках для взрослого человека составляет 0,8–1,0 г/кг массы. Потребность в белках повышается при беременности, лактации, в период реабилитации после болезни, при катаболических состояниях (хирургическая операция, сепсис или травма). Белковая потребность в период роста (для детей и подростков) выше, чем для взрослых (рис. 9.1).

Пищевые белки служат одним из источников пополнения фонда аминокислот и обеспечения равновесия процессов синтеза и распада белка в организме.

Биологическая ценность белка зависит, в первую очередь, от содержания и соотношения в нем незаменимых аминокислот. Эталонной биологической ценностью является яичный белок. Белки животных имеют более высокую биологическую ценность, чем белки из растений. Белки, в которых отсутствует хотя бы одна из незаменимых аминокислот, не имеют биологической ценности. В смешанной пище дефицит незаменимой аминокислоты в одном белке может компенсироваться другим белком. Например, пшеница содержит мало

9.1. Незаменимые факторы питания

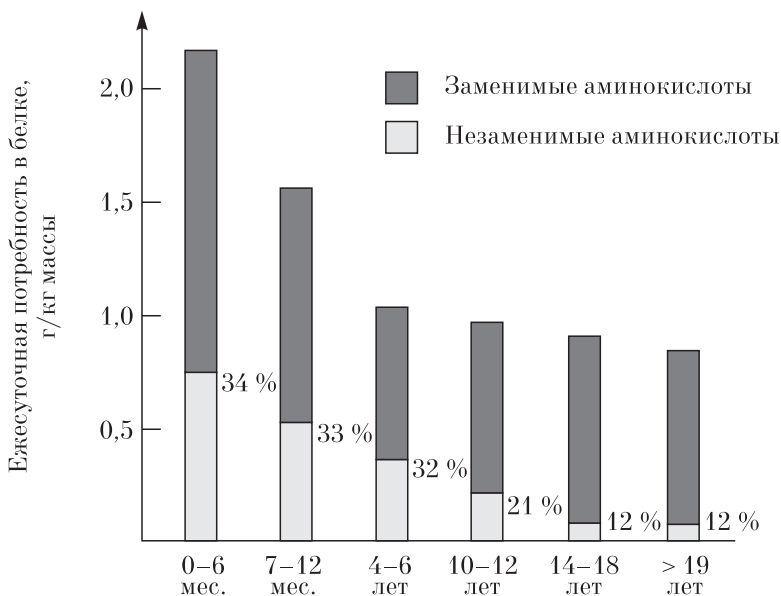


Рис. 9.1. Потребность организма в белке в зависимости от возраста

лизина, но богата метионином, а бобовые богаты лизином, но содержат мало метионина. Поэтому совместное использование этих белков может иметь высокую биологическую ценность.

Незаменимые аминокислоты и богатые ими продукты питания:

- *валин*: зерновые, бобовые, арахис, грибы, молочные продукты, мясо;
- *изолейцин*: миндаль, кешью, чечевица, рожь, соя, яйца, куриное мясо, рыба, печень, мясо;
- *лейцин*: чечевица, орехи, овес, неочищенный рис, рыба, яйца, курица, мясо;
- *лизин*: пшеница, орехи, молочные продукты, рыба, мясо;
- *метионин*: бобы, фасоль, чечевица, соя, молоко, яйца, рыба, мясо;
- *треонин*: орехи, бобы, молочные продукты, яйца, мясо;
- *триптофан*: бобовые, овес, финики, арахис, кунжут, кедровые орехи, молоко, творог, рыба, курица, индейка, мясо;
- *фенилаланин*: бобовые, орехи, говядина, куриное мясо, рыба, яйца, творог, молоко; также образуется в организме при распаде синтетического сахарозаменителя — аспартама, который активно используется в пищевой промышленности.

Частично-заменимыми аминокислотами являются *аргинин* и *гистидин*. Они не синтезируются в достаточном количестве в клетках детского организма. Аргинином богаты семена тыквы, арахис, кунжут, йогурт, сыр, свинина, говядина. Пищевыми источниками гистидина для человека являются соевые бобы, арахис, чечевица, тунец, лосось, мясо, курица.

Тирозин и *цистеин* относятся к **условно-заменимым аминокислотам**, поскольку синтез тирозина в клетках происходит из незаменимой аминокислоты — фенилаланина, а цистеина — при условии достаточного поступления метионина с пищей.

При недостатке необходимого количества белка в организме в первую очередь страдают органы и ткани, характеризующиеся высокой скоростью обновления; нарушаются процессы кальцификации костей, ослабляется функция эндокринной и иммунной систем. У детей наблюдается отставание физического и психического развития.

Еще в древности Гиппократ назвал и объяснил роль грудного молока, которое является источником веществ, необходимых для формирования первых зубов ребенка. Название «молочные» зубы произошло от слова «молоко». Дефицит белков у детей в период развития зубов приводит к уменьшению их размера и массы, нарушению структуры эмали, дегенерации соединительной ткани десны и периодонтальной связки, замедлению заживления ран и атрофии эпителия языка.

Углеводы. Суточная потребность для взрослого человека составляет 450–500 г, из них 60–80 % приходится на *полисахариды* (крахмал). Остальную часть составляют *дисахариды* (сахароза, лактоза, мальтоза, трегалоза) и совсем немного — *моносахариды* (глюкоза, фруктоза). Основная функция углеводов — **энергетическая**, но они выполняют и другие функции, рассмотренные нами в главе 3 «Химия и обмен углеводов».

Липиды. Суточная потребность в пищевых липидах составляет 1 г/кг массы тела, из них не менее 25 г должно поступать растительных липидов, содержащих ненасыщенные жирные кислоты. Триацилглицеролы составляют главную (по массе) часть липидов пищи. Они определяют энергетическое значение пищевых липидов, с которыми в организм поступают жирорастворимые витамины.

В организме не могут синтезироваться ω -3 и ω -6 жирные кислоты в связи с отсутствием ферментов — десатураз, способных катализировать реакции образования двойных связей далее C_9 . К ним относятся *линолевая кислота* ($C_{18:2}$, ω -6) и *линоленовая кислота* ($C_{18:3}$, ω -3). Они должны поступать с пищей. Так как ω -6 жирные кислоты синтезируют большинство растений, то основным пищевым источником ω -6 ПНЖК являются растительные масла. Главным пищевым источником ω -3 ПНЖК являются палтус, скумбрия, лосось, тунец, а также льняное, рапсовое, соевое масла. Оптимальное соотношение ω -3: ω -6 жирных кислот в пище 1:4.

Линолевая кислота в организме может превращаться в арахидоновую кислоту ($C_{20:4}$, ω -6). Арахидоновая кислота является незаменимой в организме только при недостатке линолевой кислоты. Из линоленовой кислоты в клетках могут синтезироваться длинноцепочечные ПНЖК ω -3: эйкозапентаеновая кислота ($C_{20:5}$, ω -3) и докозагексаеновая кислота ($C_{22:6}$, ω -3).

Минеральные вещества поступают в организм в растворенном состоянии с питьевой водой, частично с продуктами животного и растительного проис-

9.2. Гормоны, контролирующие пищевое поведение

хождения. Суточная потребность в минеральных веществах сильно колеблется, от нескольких граммов (макроэлементы) до нескольких миллиграммов и микрограммов (микроэлементы).

Важность получения минеральных веществ с пищей вызвана тем фактом, что эти элементы входят в состав ферментов и других необходимых организму веществ — участников биохимических реакций. При недостатке минеральных веществ нарушается не только работа ферментов, но и минерализация костей, твердых тканей зуба.

Витамины и витаминоподобные вещества (соединения) являются незаменимыми компонентами пищи. Они поступают в организм с растительными и животными продуктами. Кроме того, некоторые витамины в небольших количествах синтезируются микрофлорой кишечника человека.

Биологическая роль воды, минеральных веществ, витаминов и витаминоподобных соединений будет рассмотрена далее.

9.2. Гормоны, контролирующие пищевое поведение

Количество потребляемой пищи определяется многими факторами, в том числе регуляторами чувства голода и насыщения. Гормоны, регулирующие потребление пищи и аппетит, образуются в желудке, кишечнике, поджелудочной железе, жировой ткани и центральной нервной системе. Мишенью для них являются нейроны мозга, локализованные в зоне аркадного ядра гипоталамуса.

Существует две основные группы гормонов, регулирующих пищевое поведение:

- 1) гормоны, *увеличивающие* потребление пищи — нейропептид Y, грелин, β -эндорфин, соматостатин, анаболические стероиды, глюкокортикостероиды;
- 2) гормоны, *уменьшающие* потребление пищи — лептин, серотонин, холецистокинин, панкреатический полипептид (PYY₃₋₃₆), глюкагон.

Нейропептид Y (NPY) является одним из наиболее распространенных нейропептидов. Он состоит из 36 аминокислот. Высокие концентрации этого пептида обнаруживают в мозге (гипоталамической и кортикальной областях) и периферической нервной системе. Действуя на центр голода, нейропептид Y вызывает чувство голода, стимулирует пищевое поведение (поиск и потребление пищи).

Грелин — гормон голода; является пептидом, состоящим из 28 аминокислотных остатков. Грелин существует в гормонально неактивной (чистый пептид) и активной (октаноил-грелин) формах. Последняя образуется после прикрепления октановой кислоты.

Клетки, продуцирующие этот гормон, находятся в фундальном отделе желудка и тонком кишечнике. У человека уровень грелина повышается непосредственно перед приемом пищи и быстро снижается после еды.

Грелин активизирует клетки в дугообразном ядре, которые возбуждают аппетит, секретируя нейропептид Y. Грелин является участником сложного процесса регуляции энергетического гомеостаза (синтез АТФ, накопление жира, накопление гликогена, теплообмен).

Инсулин и лептин — регуляторы пищевого поведения. Оба эти гормона снижают потребление пищи. Ранее уже упоминалось, что инсулин секретируется из β -клеток поджелудочной железы, когда в крови увеличивается концентрация глюкозы. Такая повышенная секреция стимулирует адипоциты к образованию лептина.

Лептин (от греч. leptos — худой, тонкий) синтезируется в адипоцитах и является белковым гормоном, состоящим из 167 аминокислот. Причем чем больше в этих клетках накапливается триацилглицеролов, тем больше там образуется лептина.

Лептин служит связующим звеном между уровнем триацилглицеролов в адипоцитах и центральной нервной системой. Он действует на гипоталамус, блокируя синтез и высвобождение нейропептида Y (рис. 9.2). Если уровень лептина низок (голод), аппетит усиливается, а когда он высок (переедание), аппетит угнетается. Поэтому лептин часто называют *гормоном насыщения*.

Кроме того, действие лептина стимулирует симпатическую нервную систему. В результате повышается высвобождение норадреналина, который в жировой ткани, взаимодействуя с β_3 -адренергическими рецепторами, вызывает увеличение экспрессии гена, ответственного за синтез разобщающего белка митохондрий термогенина. Это ведет к разобщению процессов тканевого дыхания

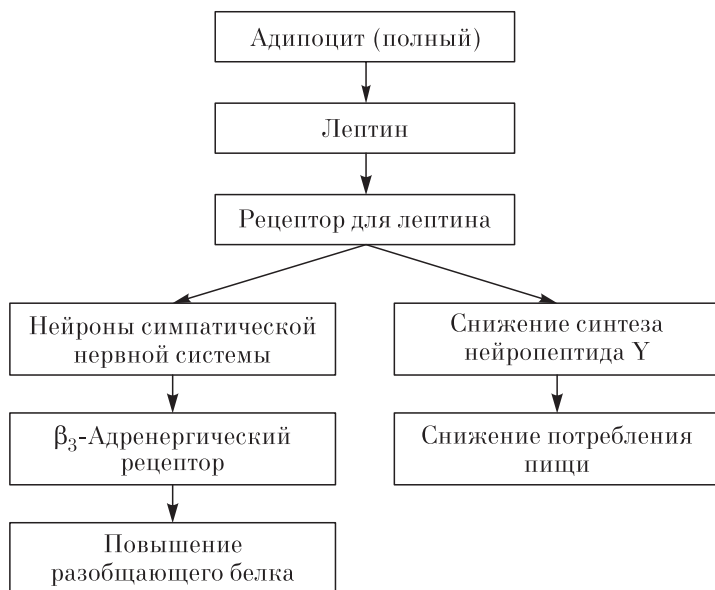


Рис. 9.2. Схематическое изображение механизма действия лептина

9.3. Метаболизм энергетических субстратов после приема пищи

и окислительного фосфорилирования (синтез АТФ) в митохондриях жировой ткани. Поэтому энергия, высвобождающаяся при окислении органических субстратов, не используется на образование АТФ, а рассеивается в виде тепла.

Снижение концентрации лептина ведет к развитию ожирения и рассматривается в качестве одного из факторов патогенеза сахарного диабета 2-го типа. Однако у людей с ожирением концентрация лептина в крови обычно повышена, что связывают с потерей чувствительности к лептину. Поэтому, несмотря на высокое содержание лептина в крови, в гипоталамусе продолжает синтезироваться и секретироваться нейропептид Y.

9.3. Метаболизм энергетических субстратов после приема пищи

После приема пищи в крови увеличивается концентрация глюкозы и инсулин высвобождается в кровоток, в то время как поступление туда глюкагона снижается (рис. 9.3). Всосавшиеся продукты переваривания компонентов пищи поступают в воротную вену и с током крови достигают печени. Инсулин стимулирует поступление значительного количества глюкозы в клетки печени. В гепатоцитах он активирует гликолиз, за счет этого образуется АТФ. Оставшееся количество поступающей глюкозы превращается здесь в гликоген и триацилглицеролы. В этот период в гепатоцитах идет активное образование из глюкозы жирных кислот и глицерола. Новосинтезированные триацилглицеролы при нормальных условиях в печени не задерживаются. Вместе с фосфолипидами и холестерином они упаковываются здесь в ЛПОНП, которые поступают в кровоток.

В кровотоке из триацилглицеролов, содержащихся в ЛПОНП, высвобождаются жирные кислоты, часть из которых поглощается клетками различных тканей, но значительная доля запасается в адипоцитах. Оставшаяся в кровотоке глюкоза также поступает в клетки периферических тканей. Инсулин стимулирует поглощение глюкозы миоцитами и адипоцитами. Он также стимулирует поглощение из кровотока жирных кислот адипоцитами. Глюкоза в жировой ткани идет на образование глицерола для последующего синтеза триацилглицеролов.

После приема пищи из просвета тонкого кишечника в энтероциты всасываются холестерол, жирные кислоты, моноацилглицеролы. Там осуществляется ресинтез триацилглицеролов и их упаковка с холестерином и фосфолипидами в транспортные формы — *хиломикроны* (ХМ). Через лимфатическую систему ХМ попадают в кровоток. Там из них высвобождаются жирные кислоты, которые поглощаются клетками тканей, и прежде всего жировой. В жировой ткани поступающие жирные кислоты запасаются в составе триацилглицеролов. Остатки ХМ из крови поглощаются гепатоцитами.

9.5. Особенность метаболизма при длительном голодании

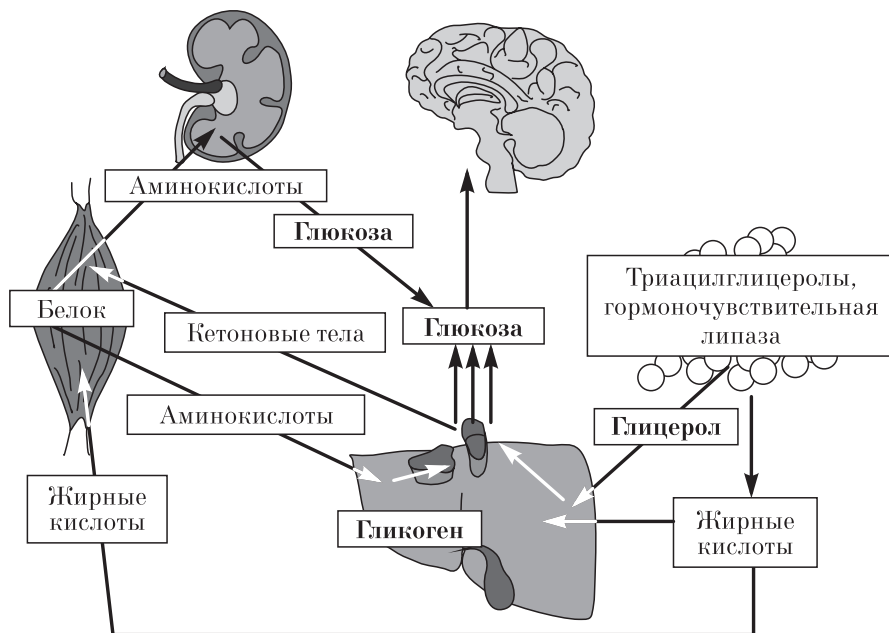


Рис. 9.4. Органная специализация метаболизма в состоянии организма натошак

аммиак, который в печени превращается в мочевины и в таком виде экскретируется с мочой.

Натошак нарастает значимость триацилглицеролов в качестве источников энергии. В то время как глицерол используется для глюконеогенеза, жирные кислоты подвергаются β -окислению, в особенности в клетках скелетных мышц, сердечной мышцы. В клетках печени эти жирные кислоты используются для образования кетоновых тел, которые поступают в кровоток. Отсюда кетоновые тела потребляются клетками мышц и сердца в качестве источника энергии, сохраняя глюкозу для клеток мозга.

9.5. Особенность метаболизма при длительном голодании

В этом состоянии практически весь белок в организме вовлекается в катаболические превращения. Это происходит приблизительно через 4–5 суток после приема пищи. В этот период мышцы перестают потреблять кетоновые тела в качестве источника энергии и полагаются исключительно на жирные кислоты, которые высвобождаются из жировой ткани. Это способствует увеличению концентрации кетоновых тел в кровотоке. Мозг, наоборот, начинает использовать в качестве источника энергии кетоновые тела. Потребность

в глюкозе остается. Она требуется для энергетических целей в эритроцитах. Интенсивность образования глюкозы в печени за счет глюконеогенеза уже снижается. Это позволяет сохранить мышечную ткань, так как здесь снижается катаболизм белков. Высвобождение аминокислот уменьшается, и в результате снижается интенсивность мочевинообразования (рис. 9.5).

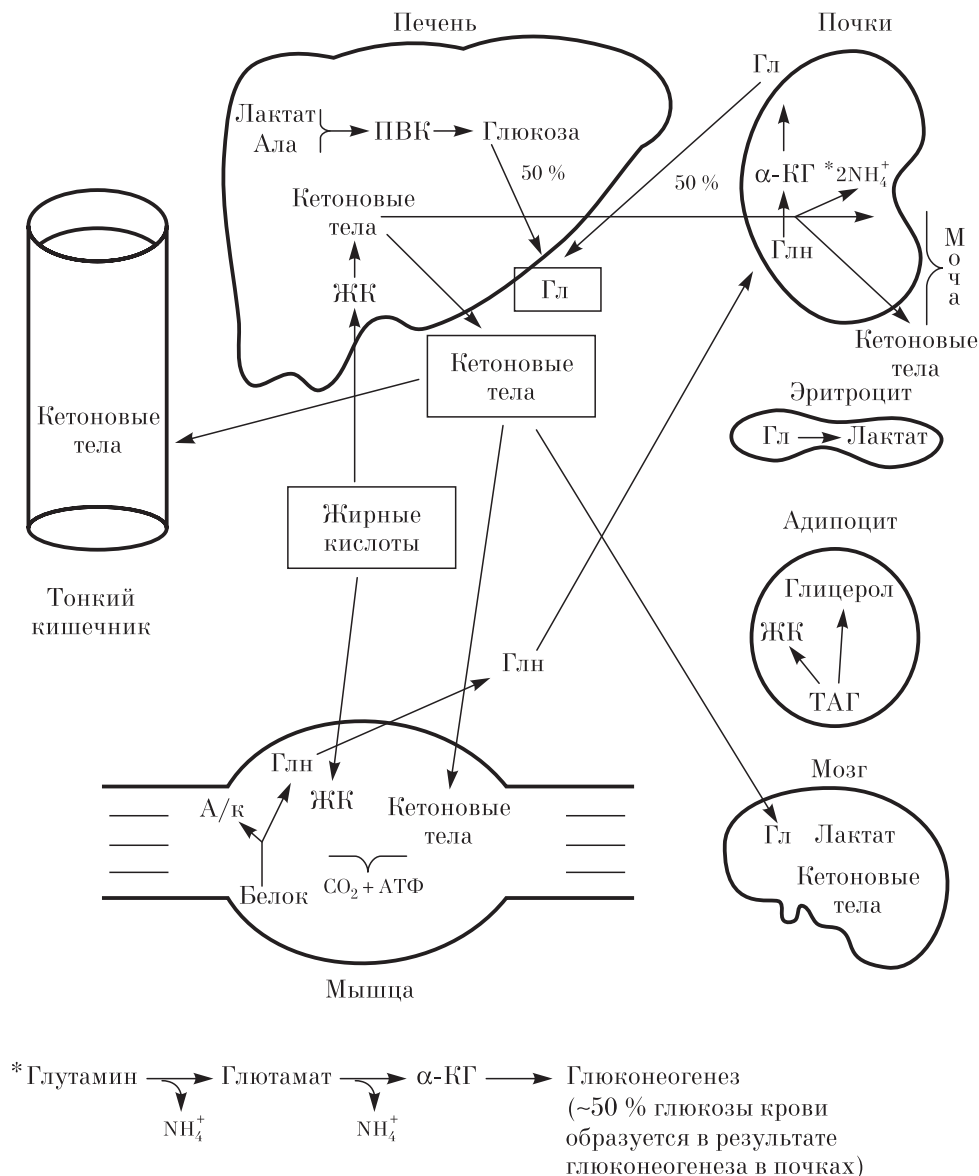


Рис. 9.5. Межорганный метаболизм в период длительного голодания

9.6. Витамины — незаменимые факторы питания

В период голодания важное место принадлежит жировой ткани. Длительность выживания зависит от количества депонированных липидов, поскольку мобилизуемые из их состава жирные кислоты в это время используются в качестве источника энергии всеми тканями организма, за исключением эритроцитов. Когда запасы триацилглицеролов иссякают, единственным источником энергии становятся белки. Вскоре количество белков уменьшается настолько, что сердце и почки перестают функционировать.

Расход жировых депо и до 1/2 белков организма влечет за собой смерть. В среднем голодание заканчивается летальным исходом, если оно продолжается около 60 дней. Индекс массы тела (вес в килограммах, деленный на квадрат роста в метрах), который ограничивает предел адаптации к голоданию, составляет 10–12 кг/м². В этот период в результате нарушения биосинтетических процессов и резкого угнетения митотической активности всех пролиферирующих тканей скорость распада белков уменьшается. Нарастает атрофия всех органов. Масса сердца и мозга уменьшается на 3–4 %, печени — вдвое, скелетной мускулатуры — на 1/3.

Из-за дефицита белка и прогрессирующей атрофии мышц в 3-й фазе голодания снижается скорость глюконеогенеза. Основным источником энергии для мозга становятся кетоновые тела.

9.6. Витамины — незаменимые факторы питания

История открытия витаминов связана с изучением роли различных пищевых веществ в жизнедеятельности организма. Российский ученый Н.И. Лунин впервые (1880) обратил внимание на то, что, помимо белков, жиров, углеводов, минеральных солей и воды, животным необходимы «некие особые факторы питания, без которых они заболевают и гибнут».

Витамины (от лат. *vita* — жизнь) — органические вещества, которые необходимы в малом количестве для нормального функционирования организма в поддержании его метаболической интеграции; не синтезируются в организме и должны поступать с пищей. Дефицит того или иного витамина в организме приводит к появлению специфических признаков и симптомов, а его устранение — к их исчезновению.

В отличие от других незаменимых факторов питания, витамины не являются пластическим материалом или источником энергии, но участвуют в биокатализе. Почти все водорастворимые витамины, а также жирорастворимый витамин К являются коферментами биохимических реакций. Витамины А, D, Е способны регулировать работу генетического аппарата клетки. Все это делает витамины незаменимыми в жизнедеятельности клетки.

Недостаток поступления витаминов с пищей, нарушение всасывания или их использования организмом приводит к развитию патологического состояния — *гиповитаминозу*, который проявляется характерной клинической

картиной (рахит, бери-бери, пеллагра, анемия и др.). Недостаточная обеспеченность витаминами D, K, B₁, B₂, B₁₂, C, B₉ причастна к возникновению заболеваний зубов и пародонта. Так, гиповитаминоз D проявляется нарушением метаболизма кальция при формировании зубов и костей, витамина K — тенденцией к кровоточивости, B₁ — нарушением метаболизма углеводов, рутина — хрупкостью капилляров и кровотечением, нарушением чувствительности слизистой оболочки полости рта, недостаток фолиевой кислоты, витаминов PP и B₂ — воспалительными изменениями мягких тканей (стоматит, глоссит, хейлит), атрофией сосочков языка. Существенный дефицит в организме витамина C инициирует развитие скорбута (цинги), характеризующегося выраженными явлениями гингивита с кровоточивостью десен, расшатыванием и выпадением зубов.

Термин «авитаминоз», т.е. отсутствие витамина в организме, вряд ли актуален, так как при полном отсутствии витамина в клетках прекращаются зависящие от него биохимические реакции, что приводит к их гибели и смерти организма. Гиповитаминозное состояние характерно для большого числа практически здоровых людей. Оно существенно усугубляется при любых заболеваниях, особенно при болезнях пищеварительной системы, когда нарушается всасывание витаминов в кишечнике и их использование в организме. К недостаточной обеспеченности витаминами приводит увеличение доли рафинированных и консервированных продуктов питания.

Чрезмерное потребление витаминных форм и (или) несбалансированное питание может вызвать *гипервитаминозное* состояние, которое также является патологическим. Особенно токсична передозировка витаминами A и D.

Абсолютно безопасные уровни потребления витаминов A и D превышают среднюю суточную потребность в 10 раз, витаминов B₆, E, B₁, B₂ и фолиевой кислоты — в 100 раз.

Соединения, которые не являются витаминами, но могут служить предшественниками их образования в организме, называются *провитаминами*. К ним относятся, например, каротины, из которых образуется витамин A. Эрго-стерол или 7-дегидрохолестерол под действием УФ-лучей превращаются соответственно в эргокальциферол (витамин D₂) и холекальциферол (витамин D₃).

В отличие от витаминов, есть вещества, обладающие антивитаминными свойствами. *Антивитамины* можно разделить на две основные группы. К первой относятся химические вещества, которые инактивируют витамин путем его расщепления, разрушения или связывания его молекул в неактивные формы, ко второй — химические вещества, структурно-подобные или структурно-родственные витаминам. Эти вещества вытесняют витамины из биологически активных соединений и таким образом делают эти соединения неактивными. В результате действия антивитаминов обеих групп нарушаются обменные процессы в организме.

Некоторые антивитамины используются в медицинской практике как лекарственные средства. Так, антивитамины K (варфарин, дикумарол) являются

9.6. Витамины — незаменимые факторы питания

антикоагулянтами, сульфаниламидные лекарственные препараты (антивитамины фолиевой кислоты) проявляют противомикробное действие, а противотуберкулезное средство изониазид (антивитамин РР) используется для лечения туберкулеза.

9.6.1. Классификация и номенклатура витаминов

По физико-химическим свойствам витамины делятся на две группы: *жирорастворимые* (витамины А, Е, К, витамины группы D) и *водорастворимые* (витамины группы В, витамин РР, Н, С). Для обозначения каждого из них существует буквенный символ, химическое название и название с учетом излечиваемого этим витамином заболевания с приставкой **анти-**. Например, витамин В₁, тиамин, антиневритный. Рекомендуется также использовать рациональные названия витаминов, отражающие их химическую природу, например: пиридоксин, пиридоксаль (спиртовая и альдегидная форма витамина В₆), ретиналь (альдегидная форма витамина А), эргокальциферол (витамин D₂) и холекальциферол (витамин D₃).

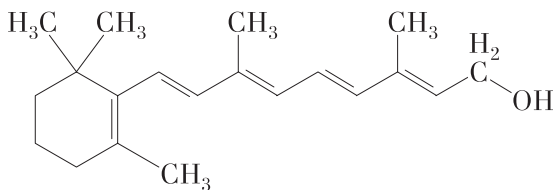
9.6.2. Жирорастворимые витамины

К жирорастворимым витаминам относятся витамины А, Е, К и группы D. Жирорастворимые витамины всасываются в желудочно-кишечном тракте только в присутствии липидов и желчных кислот. В клетках, наряду со стероидными гормонами, они выполняют функцию индукторов синтеза белка. Особенно высокой гормональной активностью обладают активная форма витамина D₃ и ретиноевая кислота (витамин А).

Витамин А (ретинол)

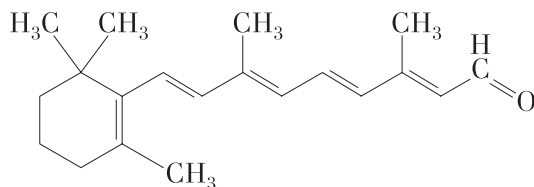
Витамин А включает ряд близких по структуре соединений: ретинол, ретиналь, ретиноевую кислоту и эфиры этих соединений.

Витамин А был открыт в 1940 г. и назван *фактором роста*. Ретинол представляет собой циклический непредельный одноатомный спирт, состоящий из β-иононового кольца и боковой цепи (двух остатков изопрена и первичной спиртовой группы).

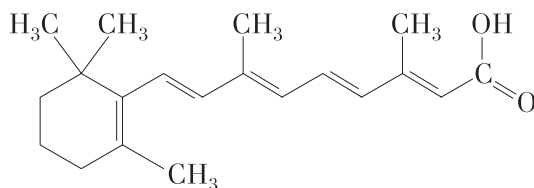


ретинол

Спиртовая форма витамина А, *ретинол*, в организме окисляется до *рети-наля* (альдегид витамина А) и *ретиновой кислоты* (вместо спиртовой группы образуется карбоксильная).



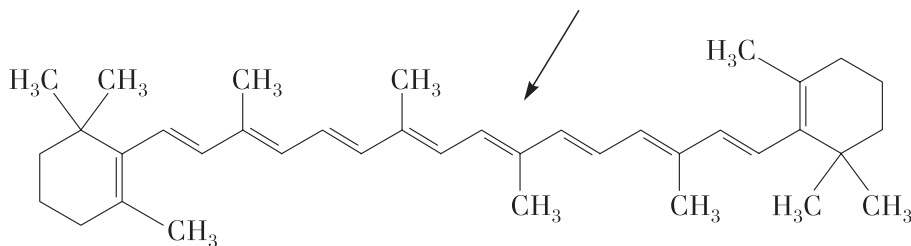
ретиаль



ретиновая кислота

Пищевые источники. Витамин А в виде эфира-пальмитата содержится рыбьем жире (трески, палтуса, морского окуня), коровьем масле, печени, молоке и молочных продуктах. Источником витамина А для человека являются также каротины. Наибольшее количество β -каротинов содержится в моркови (от 8 до 25 мг на 100 г сырого веса). Источником каротинов являются также красный перец, салат, тыква и томаты.

Провитамины. Витамин А может образовываться в слизистой кишечника и печени из провитаминов — α -, β - и γ -каротинов под воздействием каротин-оксигеназы. Наибольшей активностью обладает β -каротин. Ферментативный гидролиз одной молекулы β -каротина приводит к образованию двух молекул витамина А (стрелкой обозначено место разрыва связи).

 β -каротин

9.6. Витамины — незаменимые факторы питания

Следует заметить, что β -каротины полностью заменить витамин А не могут, так как лишь ограниченное их количество способно превратиться в ретинол.

Суточная потребность составляет 1,5–2,0 мг.

Метаболизм. Всасывание витамина и его провитаминов происходит в составе мицелл. В энтероцитах они включаются в состав хиломикронов. В крови витамин А связывается с ретинолсвязывающим белком (один из белков фракции α_1 -глобулинов). Ретинолсвязывающий белок обеспечивает растворимость ретинола, защиту его от окисления, транспорт и доставку в различные ткани. В сетчатке глаза ретинол превращается в ретиналь, а в печени — сначала в ретиналь, а затем в ретиноевую кислоту, которая выводится с желчью в виде глюкуронидов.

Депонируется витамин А в печени в форме эфиров пальмитиновой и уксусной кислот (ретинилпальмитата и ретинилацетата), а также в виде ретинилфосфата.

Ретиноевая кислота регулирует рост и дифференцировку клеток эмбриона и молодого организма, а также деление и дифференцировку быстро пролиферирующих тканей (в первую очередь эпителиальных, хряща и костной ткани). Это соединение принимает участие в регуляции синтеза белков цитоскелета, реакций распада и синтеза гликопротеинов. Недостаток витамина А приводит к нарушению синтеза гликопротеинов, что проявляется потерей защитных свойств слизистых оболочек.

Механизм регуляторного действия ретиноевой кислоты сходен со стероидными гормонами. Ретиноиды связываются со специфическими рецепторными белками в клеточных ядрах. Далее лиганд-рецепторный комплекс взаимодействует со специфическими участками ДНК, что оказывает влияние на транскрипцию отдельных генов.

Ретиноевая кислота, ретинол и его эфиры стимулируют реакции клеточного иммунитета, в частности влияют на деление иммунокомпетентных клеток, на синтез факторов специфической (иммуноглобулин) и неспецифической (интерферон, лизоцим) защиты организма от инфекционных и других заболеваний.

Ретиналь и светочувствительность глаз. В сетчатке глаза имеются специализированные фоторецепторные клетки двух типов — палочки и колбочки. Наибольшей светочувствительностью обладают палочки, а колбочки обеспечивают цветовое зрение (рис. 9.6). Палочка состоит из двух основных частей: наружного и внутреннего сегментов. Наружные сегменты палочек содержат уплощенные замкнутые мембранные пузырьки — диски, уложенные в стопку. Диски богаты белком *опсином*. Коферментом зрительного белка опсина служит 11-*цис*-ретиналь — альдегидное производное витамина А. Ретиналь и опсин образуют пигмент пурпурно-красного цвета — *родопсин*. Родопсин является светочувствительным хромопротеином. Механизм его участия в световосприятии заключается в следующем.

1. Молекула родопсина поглощает квант света, и 11-*цис*-ретиналь изомеризуется в *транс*-форму. В результате этой *фотохимической реакции* изменяются

геометрия ретиналя и белковая опсиновая часть рецепторов. Родопсин обесцвечивается и переходит в метародопсин II (рис. 9.6, а).

2. Метародопсин II взаимодействует с другим белком — *трансдуцином* (разновидность семейства G-белков). Трансдукцин состоит из трех протомеров (α -, β - и γ -субъединиц). В результате активации энергией фотона α -протомер трансдукцина обменивает ГДФ, который связан с ним в темновой фазе, на ГТФ (рис. 9.6, б).

3. Комплекс α -субъединицы трансдукцина с ГТФ активирует специфическую фосфодиэстеразу (ФДЭ), которая расщепляет цГМФ до ГМФ. Значение

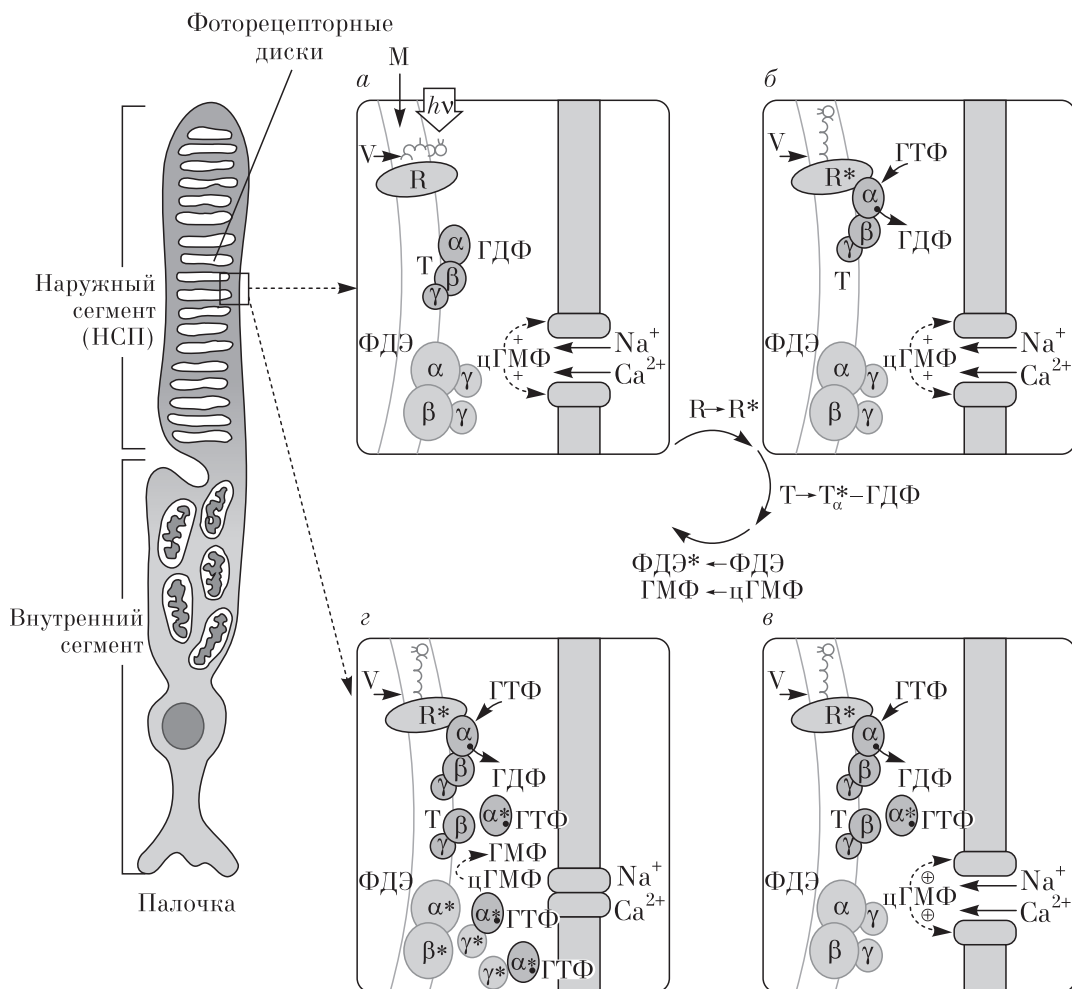


Рис. 9.6. Механизм восприятия света в сетчатке глаза:

М — мембрана наружного сегмента палочек; R — белок родопсин; R* — метародопсин II; $h\nu$ — энергия фотона; T — трансдукцин; V — витамин А

9.6. Витамин — незаменимые факторы питания

этой реакции — снижение концентрации цГМФ в цитоплазме наружного сегмента (рис. 9.9, в).

4. цГМФ стимулирует каскад событий, генерализующих зрительный сигнал в мозге. При уменьшении концентрации цГМФ $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -каналы в плазматической мембране наружного сегмента, которые были открыты в темноте и через которые внутрь рецепторных клеток входили ионы Na^+ и Ca^{2+} , закрываются. Уменьшение входа ионов Na^+ приводит к гиперполяризации мембраны, возникновению электрического импульса. Этот импульс преобразуется в мозге в зрительное восприятие (рис. 9.3, г).

В темноте высокий уровень цГМФ в палочках поддерживается благодаря активности гуанилатциклазы. Поэтому цГМФ-зависимые катионные каналы плазматической мембраны остаются открытыми, и катионы Na^+ и Ca^{2+} беспрепятственно поступают в клетку. В этом состоянии зрительная клетка постоянно выделяет нейромедиатор глутамат в синаптическую щель.

При освещении уровень цГМФ резко падает за счет активации фосфодиэстеразы, что приводит к перекрыванию ионных каналов. Так как ионы Na^+ и Ca^{2+} постоянно выкачиваются из клетки, концентрация их быстро падает. Это приводит к гиперполяризации клетки, что останавливает выделение нейромедиатора. Снижение концентрации ионов Ca^{2+} инициирует активацию гуанилатциклазы, что влечет за собой быстрый подъем уровня цГМФ настолько, что ионные каналы открываются вновь.

Участие в антиоксидантной защите организма. Благодаря наличию сопряженных двойных связей в молекуле *ретинол* способен взаимодействовать со свободными радикалами различных типов, в том числе и со свободными радикалами кислорода. Витамин А защищает организм от пероксидного стресса. Он способствует поддержанию SH-групп в составе самых разных соединений в восстановленном состоянии. В частности, препятствуя окислению SH-содержащих белков и образованию в них поперечных дисульфидных сшивок в составе кератина, ретинол тем самым препятствует кератинизации эпителия. При гиповитаминозе А усиление кератинизации кожи приводит к ускоренному слущиванию эпителия, развитию дерматита и раннему старению кожи.

Антиоксидантное действие ретинола проявляется также в том, что он значительно усиливает антиоксидантное действие витамина Е. Вместе с токоферолом и витамином С он обеспечивает включение селена (Se) в состав глутатионпероксидазы (фермента, обезвреживающего перекиси липидов).

Однако витамин А может проявлять себя и как прооксидант, так как он легко окисляется кислородом с образованием высокотоксичных перекисных продуктов. Полагают, что симптомы гипervитаминоза А как раз и обусловлены его прооксидантным действием на биомембраны. Особенно усиливается процесс перекисного окисления липидов.

Гиповитаминоз. Наиболее ранним симптомом недостаточности витамина А является *гемералопия* (куриная слепота) — резкое снижение темновой адаптации. Для этого состояния характерно также поражение кожи (*гиперкератоз*),

слизистых оболочек полости рта, кишечника, бронхов, мочеполовой системы. В результате облегчается инфицирование слизистых оболочек и кожи, что способствует развитию воспалительных процессов. Замедляется заживление ран.

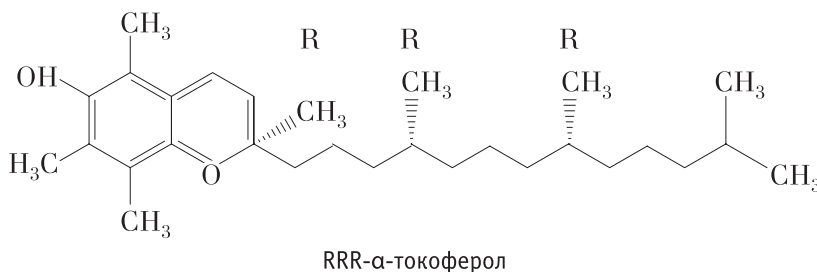
Дерматиты сопровождаются патологической пролиферацией, кератинизацией и слущиванием эпителия. Десквамация эпителия слезных каналов может приводить к их закупорке и уменьшению смачивания роговицы глаза слезной жидкостью — она высыхает (*ксерофтальмия*) и размягчается (*кератомалиция*) с образованием язв и бельма.

При **гипервитаминозе** развивается общее истощение организма, воспаление роговицы глаза, потеря аппетита, тошнота (при остром отравлении — рвота), понос, головные боли, боли в суставах, увеличение печени. Хроническое отравление витамином наблюдается при регулярном употреблении высоких доз витамина, больших количеств рыбьего жира. Случаи острого отравления со смертельным исходом наблюдали при употреблении в пищу печени акулы, белого медведя, морских животных (печень и жировая ткань — основные депо витамина).

Витамин Е (токоферол)

Название «токоферол» происходит от греч. *tokos* — потомство, *phero* — несу. Токоферол также называют *витамином размножения*.

Молекула токоферола состоит из кольца производного бензохинона и изопреноидной боковой цепи. Витамин Е включает природные и синтетические вещества, производные токола, характеризующиеся биологической активностью. Витамины группы Е объединяют группу токоферолов, обозначаемых начальными буквами греческого алфавита — α , β , γ и δ -токотриенолы. Между природным и синтетическим витамином Е существуют различия, что отражено в их классификации. Натуральные формы токоферола обозначаются как RRR-токоферолы (R обозначает конфигурацию метильной группы) и имеют единственный стереоизомер. Именно он является основной биологически активной формой.



Токоферолы — прозрачные, светло-желтые, вязкие масла, хорошо растворимые в большинстве органических растворителей. Медленно окисляются на воздухе, разрушаются под действием УФ-лучей.

9.6. Витамины — незаменимые факторы питания

Пищевые источники. Основной источник токоферола — свежие растительные масла: соевое, хлопковое, подсолнечное, арахисовое, кукурузное, облепиховое. Также источником витамина Е являются орехи, семечки, гречневая крупа, проросшие ростки пшеницы, листья салата и капусты. Из продуктов животного происхождения более всего токоферолов содержится в сливочном масле, сале, мясе, желтке яиц. В молоке этого витамина мало.

Суточная потребность составляет 10–20 мг.

Метаболизм. Витамин Е с продуктами питания поступает в желудочно-кишечный тракт, всасывается и в составе хиломикронов секретируется в кровяное русло. В печени витамин Е связывается с токоферолсвязывающими белками. Эти белки «экспортируют» витамин в кровь в составе ЛПОНП. В плазме крови происходит обмен токоферолом между ЛПОНП и другими липопротеинами.

Витамин Е поступает во внепеченочные ткани в составе ЛПНП после взаимодействия последних с соответствующими рецепторами. Кроме *рецептор*-опосредованного механизма имеется и другой, *ферментативно*-опосредованный, зависящий от активности липопротеинлипазы. Действие фермента на триацилглицеролы способствует высвобождению токоферола из хиломикронов и ЛПОНП, после чего витамин поступает в ткани путем пассивной диффузии. Структурная организация фосфолипидов клеточных мембран способна «узнавать» хиральную форму RRR- α -токоферола, благодаря чему витамин задерживается в мембране, где и выполняет свою функцию.

Биохимические функции. Токоферол является *антиоксидантом*. Антиоксидантные свойства обусловлены способностью подвижного гидроксила его молекулы непосредственно взаимодействовать со свободными радикалами кислорода, радикалами ненасыщенных жирных кислот и перекисями жирных кислот, способностью защищать от окисления двойные связи в молекулах каротина и витамина А. Мембраностабилизирующее действие витамина проявляется и в его свойстве предохранять от окисления SH-группы мембранных белков. Витамин Е (совместно с аскорбатом) способствует включению селена в состав активного центра глутатионпероксидазы, тем самым он обеспечивает ферментативную антиоксидантную защиту.

Витамин Е занимает такое положение в мембране, которое препятствует контакту кислорода с ненасыщенными липидами мембран. Он защищает биомембраны от окислительного повреждения и их перекисной деструкции.

Витамин Е необходим для *нормального функционирования убихинона* — компонента дыхательной цепи и главного антиоксиданта митохондрий, микросомных цитохромов и других гемсодержащих белков. Вследствие мембраностабилизирующего эффекта витамина Е в митохондриях увеличивается сопряжение тканевого дыхания с окислительным фосфорилированием.

Антигипоксантное действие токоферола объясняется его способностью стабилизировать митохондриальную мембрану и экономить потребление кислорода клетками.

Токоферол способствует *усвоению организмом белков и росту мышечной массы*. Витамин Е играет важную роль при формировании коллагеновых и эластичных волокон межклеточного вещества. Достаточный уровень витамина Е нормализует мышечную деятельность, предотвращая развитие мышечной слабости.

Витамин Е обладает способностью *угнетать активность фосфолипазы А₂*. Это подавляет образование лейкотриенов и простагландинов, способствующих формированию воспалительной реакции.

Витамин Е является эффективным *иммуномодулятором*, способствует укреплению иммунозащитных сил организма.

Гиповитаминоз. Главным его проявлением является повышение проницаемости мембран всех клеток и субклеточных структур, накопление в них продуктов ПОЛ. В результате развивается гемолиз эритроцитов, воспаление суставов (артрит) и кожи (дерматит); боли мышечного и нервного происхождения, вплоть до дегенеративных изменений в скелетных и сердечной мышцах; повышенная проницаемость и ломкость капилляров, которые проявляются в виде множественных кровоподтеков; некроз печени и размягчения участков мозга, особенно мозжечка; атрофия половых желез, приводящая к полному или частичному бесплодию.

Гипервитаминоз. Витамин Е не токсичен при значительных (10–20-кратных к суточной потребности) и длительных превышениях его дозировки. Его избыток выводится из организма с желчью.

Витамин К (нафтохинон)

Витамин К был открыт датским исследователем Хенриком Дамом в 1935 г. Он был назван витамином К по первой букве в немецко-скандинавском слове «Koagulation» (свертывание).

Функции витамина К рассмотрены в главе 11 «Биохимия крови».

Витамин D (кальциферол)

Кальциферол буквально означает «несущий кальций».

В группу витаминов D входят D₁ — эргостерол, D₂ — эргокальциферол и D₃ — холекальциферол. **Холекальциферол** наиболее важен для жизнедеятельности организма человека. Он синтезируется в ходе серии реакций, протекающих в коже, печени и почках, и накапливается в жировой ткани (рис. 9.7).

Суточная потребность для детей колеблется от 12,5 до 25 мкг (500–1000 МЕ), для взрослых она ниже — 2,5–10 мкг.

Метаболизм. Холекальциферол образуется в качестве промежуточного продукта при биосинтезе холестерина из 7-дегидрохолестерола в клетках кожи человека под влиянием УФ-лучей.

9.6. Витамины — незаменимые факторы питания

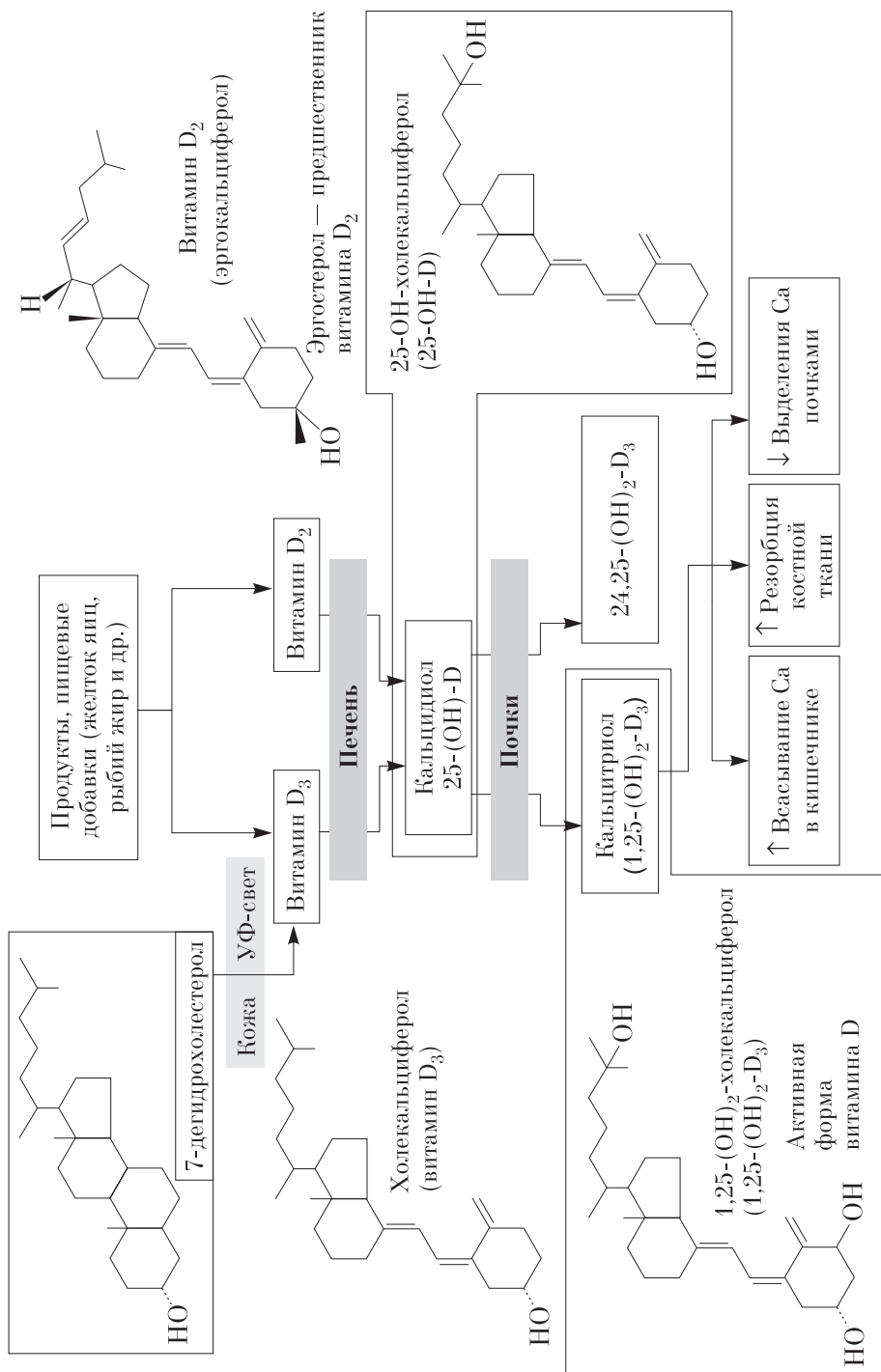


Рис. 9.7. Схема метаболизма и эффекты витамина D

Специальный транспортный белок переносит витамин D_3 и его метаболиты из кожи или кишечника в печень, где в эндоплазматическом ретикулууме клеток он подвергается 25-гидроксилированию с участием цитохрома P_{450} , НАДФН· H^+ , молекулярного кислорода и ионов магния.

Продукт реакции 25-(ОН)- D_3 поступает в плазму крови и с помощью связывающего белка транспортируется в почки. В почках осуществляется вторая реакция гидроксилирования (в положении C_1) и образуется 1,25-(ОН) $_2D_3$, т.е. 1,25-дигидроксихолекальциферол, или *кальцитриол*. Эта реакция активируется паратиреоидным гормоном, когда уровень кальция в крови снижается. Если уровень кальция адекватен физиологической потребности организма, то вторичное гидроксилирование происходит в положении C_{24} , при этом образуется неактивный метаболит 1,24-(ОН) $_2D_3$. В реакциях гидроксилирования принимает участие витамин С.

Биологическая роль. 1,25-(ОН) $_2D_3$ действует аналогично стероидным гормонам. Все эффекты витамина D опосредуются взаимодействием активной его формы (1,25-дигидроксихолекальциферола) с ядерным рецептором, который является фактором транскрипции. После попадания в ядро 1,25-(ОН) $_2$ -дигидроксихолекальциферол взаимодействует с рецептором и ускоряет его связывание с рецептором ретиноевой кислоты (рис. 9.8). Образовавшийся гетеродимер связывается с респонсивным элементом на молекуле ДНК и инициирует каскад молекулярных взаимодействий, которые модулируют транскрипцию специфических генов. Известно свыше 50 генов, экспрессия которых регулируется 1,25-дигидроксихолекальциферолом.

Эффекты действия витамина D зависят от типа клеток. Например, витамин D_3 стимулирует синтез белков RANKL, остеопонтина и остеокальцина,

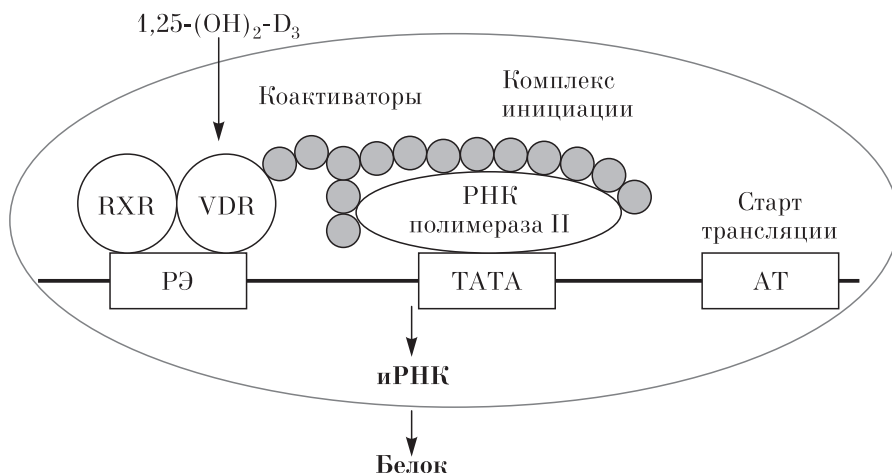


Рис. 9.8. Сигнальная система с участием витамина D:
РЭ — респонсивный элемент; VDR — рецептор витамина D;
RXR — рецептор ретиноевой кислоты

9.6. Витамины — незаменимые факторы питания

регулирующих обмен кальция в костной ткани, а также белков, обеспечивающих всасывание кальция в кишечнике и белков, необходимых для реабсорбции ионов кальция и фосфора клетками почечных канальцев. В разных клетках $1,25-(\text{OH})_2\text{-D}_3$ стимулирует синтез Ca^{2+} -АТФазы.

В *кишечнике* всасывание кальция осуществляется как путем облегченной диффузии (с участием кальцийсвязывающего белка), так и путем активного транспорта (с помощью Ca^{2+} -АТФазы). Одновременно ускоряется всасывание фосфора.

В *костной ткани* $1,25-(\text{OH})_2\text{-D}_3$ стимулирует процесс *демнерализации* (синергично с паратиринном). В *почечных канальцах* за счет активации синтеза Ca^{2+} -АТФазы витамин D приводит к *увеличению реабсорбции ионов кальция*; возрастает и реабсорбция фосфатов.

Пищевые источники. Витамин D_3 содержится исключительно в животной пище. Особенно богат им рыбий жир, печень, желток яиц. В растительных маслах и молоке присутствует витамин D_2 . Много его и в дрожжах, но биологически он менее активен.

Гиповитаминоз. Недостаток витамина D у детей приводит к *рахиту*. Основные проявления этого заболевания сводятся к симптоматике недостаточности кальция. Прежде всего страдает остеогенез: отмечается деформация скелета конечностей (искривление их в результате размягчения — *остеомаляции*), черепа (позднее заращение родничков), грудной клетки (появление своеобразных «четок» на костно-хрящевой границе ребер), задерживается прорезывание зубов. Развивается гипотония мышц (увеличенный живот), возрастает нервно-мышечная возбудимость (у младенца выявляется симптом облысения затылочка из-за частого вращения головкой), возможно появление судорог.

У взрослого недостаточность кальция в организме приводит к *кариесу* и *остеомаляции* (размягчение кости); у пожилых — к развитию *остеопороза* (снижение плотности костной ткани вследствие нарушения остеосинтеза). Разрушение неорганического матрикса костей при дефиците витамина D объясняется усиленным «вымыванием» кальция из костной ткани и нарушением реабсорбции кальция в почечных канальцах.

В целях профилактики обычно назначают витамин D_3 в дозе 300–500 МЕ (1 МЕ = 0,025 мкг холекальциферола) в сутки.

Гипервитаминоз. Избыточный прием витамина D приводит к интоксикации и сопровождается выраженной демнерализацией костей — вплоть до их переломов. Содержание кальция в крови повышается. Это приводит к кальцификации мягких тканей, особенно склонны к этому процессу почки (образование камней, развитие почечной недостаточности).

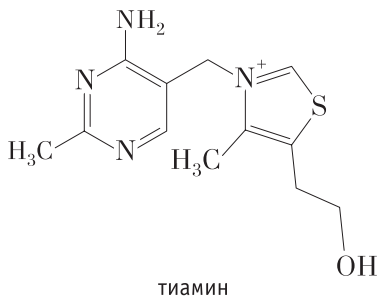
Интересно, что пигментация кожи (загар) является защитным фактором, предохраняющим от избыточного образования витамина D при УФ-облучении кожи. Однако у светлокожих жителей северных стран, несмотря на недостаток солнечной инсоляции, витамин-D-дефицитные состояния, как правило, не развиваются, так как их диета включает рыбий жир.

9.6.3. Водорастворимые витамины

Водорастворимые витамины в организм поступают в основном с продуктами растительного происхождения. Однако некоторые представители водорастворимых витаминов содержатся в животной пище в больших количествах, чем в растительной. Водорастворимые витамины легко всасываются из кишечника, не накапливаются в тканях (исключением является витамин В₁₂), быстро выводятся из организма, поэтому их необходимо ежедневно принимать с пищей. Поступая в организм, водорастворимые витамины образуют коферменты и участвуют в ферментативных реакциях.

Витамин В₁ (тиамин)

Химическая формула тиамина была установлена американским химиком Уильямсом в 1935 г. Она содержит два соединенных метиленовой связью кольца: пиримидиновое и тиазоловое.



Тиамин — белый кристаллический порошок, хорошо растворимый в воде. В щелочной среде он легко окисляется в тиохром(II) — желтое вещество, обладающее интенсивной синей флуоресценцией с $\lambda_{\text{макс}}$ 460–470 нм. Этот метод используется для определения тиамина в пищевых продуктах и лекарственных препаратах.

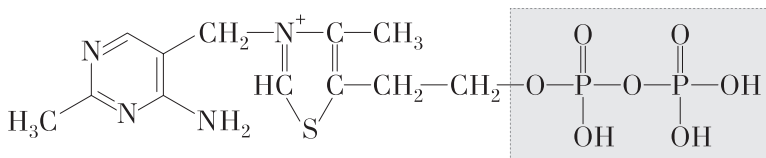
Пищевые источники. Тиамин широко распространен в живой природе. Синтезируется растениями и многими микроорганизмами, в частности некоторыми видами бактерий толстого кишечника человека. Животные и человек не синтезируют тиамин и должны получать его с пищей. Наиболее богаты тиамином дрожжи, хлеб и хлебобулочные изделия из муки грубого помола, крупы (гречневая, овсяная, пшенная); зернобобовые, печень, свинина.

Суточная потребность для взрослых составляет 1,4–2,2 мг в зависимости от энергозатрат. При избыточном углеводном питании потребность в витамине В₁ увеличивается; жиры, наоборот, уменьшают эту потребность.

Метаболизм. Всасывание тиамина происходит на всем протяжении тонкой кишки путем активного транспорта. Через 15 мин он обнаруживается в крови,

9.6. Витамины — незаменимые факторы питания

через 30 мин — в тканях. Этанол замедляет скорость всасывания тиамина после перорального приема. В плазме крови циркулирует преимущественно свободный тиамин. В тканях присутствуют свободный тиамин и его фосфорные эфиры: тиаминмонофосфат (ТМФ), тиаминдифосфат (синоним — тиаминпирофосфат, или ТПФ).



тиаминпирофосфат

ТПФ — основная форма, на долю которой приходится 80 % общего содержания тиамина.

Биологическая роль витамина B_1 определяется тем, что в виде ТПФ он входит в состав пируват- и α -кетоглутаратдегидрогеназных комплексов. Таким образом он участвует в центральных метаболических путях (окислительном декарбоксилировании пирувата и цикле трикарбоновых кислот), которые снабжают клетки энергией.

Тиамин опосредованно, т.е. вместе с пантотеновой кислотой, способствует синтезу нейромедиатора *ацетилхолина*.

В составе транскетолазы ТПФ участвует в пентозофосфатном пути окисления глюкозы, являющемся источником НАДФН· H^+ и рибозо-5-фосфата.

ТПФ принимает участие в окислительном декарбоксилировании α -кето-кислот с разветвленным углеродным скелетом, которые являются продуктами дезаминирования аминокислот — валина, изолейцина и лейцина. Эти реакции играют важную роль в катаболизме белков и энергопродукции.

Как правило, развитие дефицита тиамина связано с нарушением питания вследствие недостаточного поступления тиамина с пищей (питание очищенным рисом, продуктами из муки высокого (тонкого) помола) или результатом избыточного потребления продуктов, содержащих авитамины B_1 .

Авитамины. Окситиамин является структурным аналогом витамина B_1 и конкурирует с тиамином за место связывания в активном центре ТПФ-зависимых ферментов, тем самым нарушая работу этих ферментов. Другим известным антагонистом витамина B_1 является фермент тиаминаза. Он разрушает витамин B_1 . Этот фермент содержится в тканях некоторых видов пресноводной и морской рыбы (семейств сельдевых, карповых и корюшковых). Тиаминаза денатурируется при нагревании, поэтому рыбу при приготовлении необходимо подвергать термической обработке.

Гиповитаминоз. Недостаток тиамина в организме ведет к накоплению в крови и тканях недоокисленных продуктов обмена веществ. В результате

развивается заболевание *бери-бери*. В современном обществе оно встречается редко.

При полиневритной, или *сухой*, форме бери-бери на первый план выступает расстройство функции нервной системы (онемение пальцев, чувство «ползания мурашек», утрата периферических рефлексов, боль по ходу нервов, развитие параличей). Наиболее характерен симптом симметричного опускания ступни при ходьбе (овечья походка). Наблюдаются нарушения психической деятельности (раздражительность, забывчивость, страх, иногда галлюцинации, снижение интеллекта). Особая чувствительность нервной ткани к недостатку тиамина объясняется тем, что коферментная форма этого витамина абсолютно необходима нервным клеткам для усвоения глюкозы, которая является для них почти единственным источником энергии (большинство других клеток организма может использовать иные энергетические вещества, например жирные кислоты).

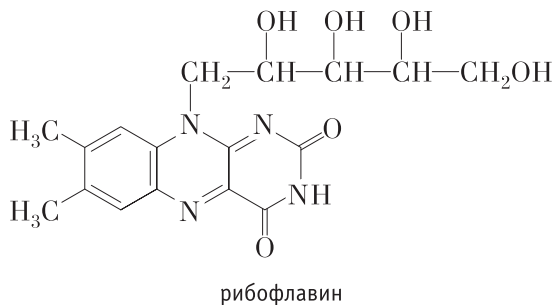
Нарушения со стороны пищеварительной системы проявляются резкой потерей аппетита, снижением секреции желудочного сока и соляной кислоты, атонией, диареей.

При *отечной* форме бери-бери преимущественно поражается сердечно-сосудистая система. Для этой формы болезни характерны высокое артериальное давление, одышка, тахикардия и нарастающая сердечная недостаточность с выраженными отеками.

При алкоголизме вследствие дефицита V_1 развивается синдром Вернике — Корсакова. Данный синдром характеризуется нарушением координации движений и зрительных функций (нистагм, офтальмоплегия), а также нарушением памяти, галлюцинациями, психозами.

Витамин V_2 (рибофлавин)

В основе структуры витамина V_2 лежит изоаллоксазин, соединенный со спиртом рибитолом.



Рибофлавин представляет собой игольчатые кристаллы желто-оранжевого цвета. Растворы рибофлавина дают зеленовато-желтую окраску с интенсивной зеленой флуоресценцией в УФ-свете, что позволяет установить подлинность

9.6. Витамины — незаменимые факторы питания

рибофлавина в продуктах питания. Рибофлавин легко окисляется и восстанавливается.

Пищевые источники. Источником витамина В₂ для человека являются молоко и молочные продукты, яйца, печень, почки, сердце животных, пивные и пекарские дрожжи, в меньшей степени крупы и овощи. Частично источником рибофлавина является микрофлора кишечника.

Суточная потребность для взрослых — 2–3 мг.

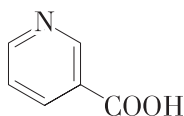
Биологическая роль. Рибофлавин входит в состав коферментов оксидоредуктаз — ФМН и ФАД. В частности, они являются коферментами дегидрогеназ в составе I и II комплекса дыхательной цепи, сукцинатдегидрогеназы (ЦТК), ацил-КоА-дегидрогеназы (β -окисление жирных кислот), некоторых оксидаз, например таких, как моноаминоксидазы (катаболизм аминов), ксантиноксидазы (распад пуриновых нуклеотидов). ФАД и ФМН также выполняют коферментную функцию в составе тиоредоксинредуктазы (биосинтез нуклеотидов), фолатредуктазы (обмен витамина В₉), глутатионредуктазы (восстановление глутатиона). В составе микросомной системы ФАД вместе с цитохромом Р₄₅₀ участвует в гидроксилировании ксенобиотиков.

Гиповитаминоз. Внешними проявлениями недостаточности рибофлавина у человека являются поражение слизистой оболочки губ и слущивание эпителия (*хейлоз*), изъязвления в углах рта (*ангулярный стоматит*), отек и покраснение языка (*глоссит*), дерматит носогубной складки. Поражаются слизистые оболочки ЖКТ. Конъюнктива глаза теряет блеск вследствие сухости, вызываемой закупоркой слезного канала слущивающимся эпителием, роговица прорастает сосудами и мутнеет, развивается катаракта (помутнение хрусталика).

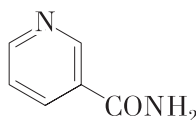
Гипервитаминоз. Гипервитаминозных состояний не наблюдается, так как рибофлавин не токсичен и его избыток выводится с мочой.

Витамин РР (никотиновая кислота (ниацин), никотинамид)

Витамин РР (от англ. preventive pellagra — предотвращающий пеллагру) — *никотиновая кислота* (β -пиридинкарбоновая кислота) и *никотинамид*.



никотиновая кислота



никотинамид

Никотиновая кислота представляет собой бесцветные кристаллы игольчатой формы, легко растворимые в воде и спирте. Никотиновая кислота термостабильна и сохраняет свою биологическую активность при кипячении. Устойчива к воздействию света, кислорода и щелочей.

Пищевые источники. Источником витамина РР являются печень, почки, сердце, мясо животных, рыба, черный хлеб, продукты растительного происхождения — пшеничные и рисовые отруби, бобовые. Витамин РР может синтезироваться в кишечнике бактериальной микрофлорой.

Поступивший с пищей витамин РР быстро всасывается в желудке и кишечнике, в основном путем простой диффузии. В организме человека и животных никотиновая кислота превращается в амид никотиновой кислоты. В печени возможен биосинтез ниацина из триптофана. Для синтеза 1 мг ниацина требуется около 60 мг триптофана. Для реакций превращения триптофана в НАД⁺ требуются витамин В₂, витамин В₆ и железо.

Никотиновая кислота и продукты ее превращения, главным образом в виде N-метилникотинамида, выделяются почками.

Суточная потребность для взрослых — 15–25 мг.

Биологическая роль витамина РР связана с коферментной функцией НАД⁺ и НАДФ⁺ и их участием в окислительно-восстановительных процессах в организме. В главе 1 (п. 1.7 «Коферменты») приведены структурные формулы этих коферментных форм. НАД⁺ входит в состав дегидрогеназ, таких как пируватдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, α -кетоглутаратдегидрогеназа, ферментов гликолиза — глицеральдегидфосфат дегидрогеназы, лактатдегидрогеназы, β -окисления жирных кислот (β -гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы), алкогольдегидрогеназы и альдегиддегидрогеназы (окисление этанола и уксусного альдегида), глутаматдегидрогеназы. В пентозофосфатном пути окисления глюкозы участвуют НАДФ⁺-зависимые глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа и 6-фосфоглюконатдегидрогеназа. НАД⁺ участвует в поли-АДФ-рибозилировании в процессе сшивки хромосомных разрывов и репарации ДНК, что замедляет апоптоз клеток.

НАДФН·Н⁺ участвует в восстановительных биосинтезах (синтезе жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов и др.), в реакциях гидроксирования, включая реакции обезвреживания ксенобиотиков. НАДФН·Н⁺ является необходимым компонентом антиоксидантной системы клетки и оксигеназного пути утилизации кислорода.

Гиповитаминоз. Проявления недостаточности витамина РР объединены в группу симптомов, получившую название «пеллагра», что в переводе с итальянского означает «шершавая кожа». Для пеллагры характерна триада симптомов (ЗД): дерматит (поражение кожи), диарея (нарушение функции желудочно-кишечного тракта), деменция (поражение центральной нервной системы). Начальный этап гиповитаминоза сопровождается воспалением слизистых оболочек рта (стоматит), языка (глоссит) и желудочно-кишечного тракта (диарея, сменяемая запорами). Появляются симметричные поражения открытых участков кожи (фотодерматит) — лица, шеи, кистей рук, развивается гипохромная анемия. Возникают глубокие нарушения центральной и периферической нервной системы, вплоть до паралича, мышечной атрофии и нарушений психики, что выражается в потере памяти, галлюцинациях и бреде.

9.6. Витамины — незаменимые факторы питания

Для предупреждения пеллагры важно достаточное содержание в пищевом рационе белков, содержащих триптофан, поскольку из него образуется никотиновая кислота.

Пантотеновая кислота (витамин B₅)

По химическому строению пантотеновая кислота состоит из остатков D-2,4-дигидрокси-3,3-диметилмасляной кислоты и β-аланина, соединенных пептидной связью.



Пантотеновая кислота (пантоил-β-аланин) — светло-желтая маслянистая жидкость, хорошо растворимая в воде и этаноле.

Пищевые источники. Пантотеновая кислота (от греч. *panthos* — вездесущий) широко распространена в природе. Источником пантотеновой кислоты являются рисовые и пшеничные отруби, дрожжи, печень, почки, мясо животных, рыба, яичный желток, икра, цветная капуста, картофель. В кишечнике человека пантотеновая кислота в небольших количествах продуцируется бактериями.

Метаболизм. Пантотеновая кислота выводится из организма с мочой и калом в неизменном виде.

Суточная потребность для взрослых — 10–15 мг.

Биологическую роль пантотеновая кислота выполняет в форме 4-фосфопантатеина, который входит в состав кофермента А (KoA-SH) и ацилпереносящего белка (АПБ-SH).

В составе кофермента А обнаружены адениловая кислота, пантотеновая кислота и тиоэтанолламин (рис. 9.9). Функциональной является сульфгидрильная группа — SH, которая и обеспечивает образование тиоэфиров при взаимодействии KoA с карбоксильными группами органических кислот.

Коэнзим А участвует в активации и переносе остатков карбоновых кислот (ацетил-, сукцинил-, малонил- и др.) в реакциях синтеза холестерина, гема, ацетилхолина, в активации, окислении, синтезе жирных кислот, синтезе кетонных тел, триацилглицеролов, сложных липидов, гексозаминов, в модификации

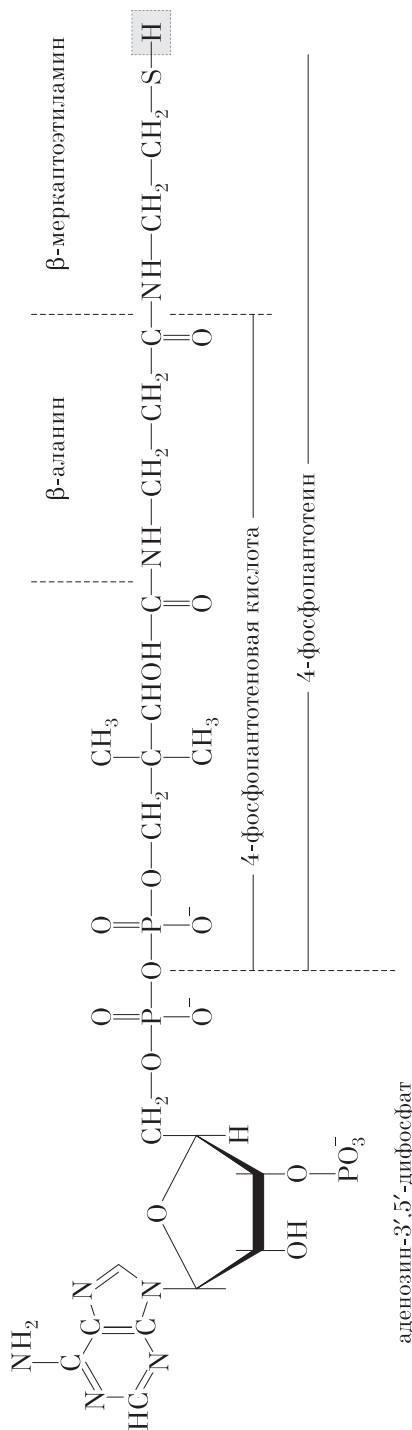


Рис. 9.9. Структурная формула кофермента А

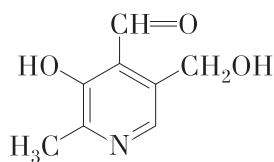
9.6. Витамины — незаменимые факторы питания

белков-гистонов и детоксикации (путем ацетилирования) чужеродных веществ в печени.

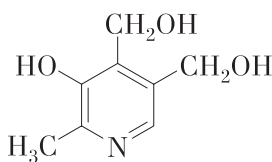
Гиповитаминоз пантотеновой кислоты у человека встречается редко, так как в обычных продуктах питания содержится достаточное количество витамина.

Витамин В₆ (пиридоксин)

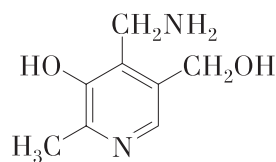
Витамин В₆ включает группу трех природных производных пиридина (*пиридоксин*, *пиридоксаль*, *пиридоксамин*), обладающих одинаковой витаминной активностью, но отличающихся друг от друга наличием спиртовой, альдегидной или аминогруппы.



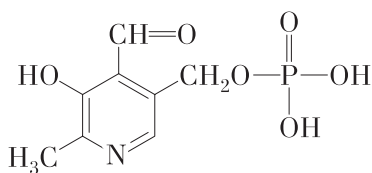
пиридоксаль



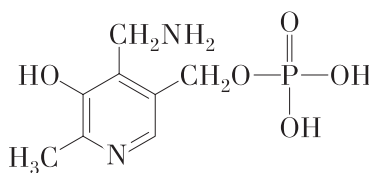
пиридоксин



пиридоксамин



пиридоксальфосфат



пиридоксаминфосфат

Пиридоксин хорошо растворяется в воде и этаноле, устойчив в кислой и щелочной среде, но легко разрушается под действием света при pH 7,0.

Пищевые источники. Витамином В₆ богаты бобовые, зерновые культуры, мясные продукты, рыба, картофель. Он синтезируется кишечной микрофлорой, частично восполняя потребность организма в этом витамине.

Суточная потребность составляет 2–2,2 мг. Потребность в витамине возрастает при увеличении количества белка в рационе, а также во время беременности и грудного вскармливания. Прием алкоголя и курение уменьшают содержание пиридоксальфосфата в тканях.

Биологическая роль. Всосавшись в тонком кишечнике, все формы витамина В₆ током крови разносятся к тканям и, проникая в клетки, фосфорилируются с участием АТФ и пиридоксалькиназ.

Коферментные функции выполняют пиридоксальфосфат и пиридоксаминфосфат в составе:

1) *аминотрансфераз аминокислот*, катализирующих обратимый перенос NH₂-группы от аминокислоты на α-кетокислоту. В этой реакции образуются новые α-кетокислоты и заменимые аминокислоты;

2) *декарбоксилаз аминокислот*, катализирующих реакцию отщепления карбоксильной группы от аминокислот, что приводит к образованию биогенных аминов (гистамина, серотонина, ГАМК и др.);

3) *моноаминоксидаз, гистаминазы (диаминоксидаза) и аминотрансферазы ГАМК*, обезвреживающих (окисляющих) биогенные амины;

4) *изомераз аминокислот*, с помощью которых D-аминокислоты превращаются в L-аминокислоты;

5) *синтазы δ -аминолевулиновой кислоты*, участвующей в биосинтезе гема гемоглобина и других гемсодержащих белков.

Коферментные формы витамина B_6 также участвуют в реакциях синтеза фосфолипидов и витамина PP. Помимо каталитического действия, пиридоксальфосфат необходим для активного транспорта некоторых аминокислот через клеточные мембраны. Он регулирует конформационное состояние гликогенфосфорилазы, катализирующей распад гликогена.

Гиповитаминоз. Основными проявлениями недостаточности витамина B_6 являются гипохромная анемия и судороги. Развитие гипохромной анемии объясняется нарушением биосинтеза гема вследствие низкой активности синтетазы δ -аминолевулиновой кислоты, коферментом которой является фосфопиридоксаль. Из-за нарушения образования гема содержание гемоглобина в эритроцитах снижается, а не утилизируемое железо откладывается в тканях.

Повышенная возбудимость и склонность к судорогам объясняются недостаточным образованием ГАМК (γ -аминомасляной кислоты) — медиатора торможения нейронов. Отмечается развитие сухого себорейного дерматита, стоматита и глоссита. Поражение кожи частично обусловлено недостаточностью витамина PP, в синтезе которого принимает участие витамин B_6 .

Наиболее часто гиповитаминоз B_6 встречается у маленьких детей при искусственном вскармливании стерилизованным молоком (в процессе стерилизации витамин B_6 разрушается) и при токсикозах в период беременности.

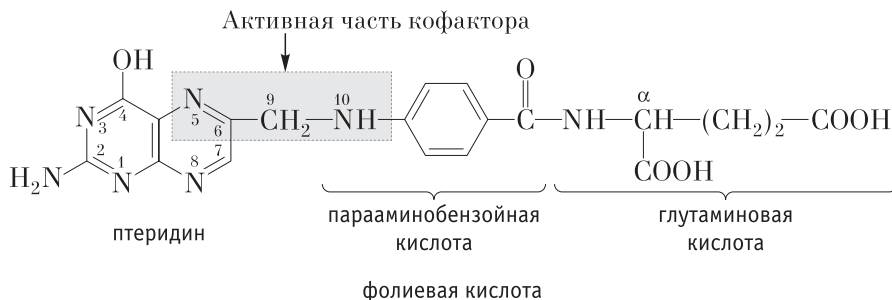
Фолиевая кислота (витамин B_9 , B_C)

Впервые данный витамин был выделен из зеленых листьев шпината (от лат. *folium* — лист) в 1941 г. Фолиевая кислота состоит из остатка птеридина, парааминобензойной кислоты и глутаминовой кислоты. Она плохо растворима в воде и органических растворителях, но хорошо растворима в щелочных растворах. Разрушается под действием света.

Пищевые источники. Наиболее богаты фолиевой кислотой свежие зеленые листья овощей, салат, шпинат, капуста, лук, помидоры, морковь, из продуктов животного происхождения — печень, почки, яичный желток, сыр, а также пивные и пекарские дрожжи. При кулинарной обработке пищи фолиевая кислота может разрушаться.

Суточная потребность варьируется от 100 до 200 мкг, однако из-за плохой всасываемости этого витамина рекомендуемая суточная доза составляет 400 мкг.

9.6. Витамины — незаменимые факторы питания



Метаболизм. Фолиевая кислота (ФК) метаболически неактивна, в клетках организма после восстановления птеридинового кольца может превращаться в дигидрофолиевую кислоту (ДФК) и активную форму — тетрагидрофолиевую кислоту (ТГФК) с помощью НАДФН·Н⁺-зависимых ферментов: фолатредуктазы (1) и дигидрофолатредуктазы (2):



Биологическая роль. ТГФК обладает коферментной функцией переноса одноуглеродных групп: формильной (—СНО), метильной (—СН₃), метиленовой (—СН₂—), метенильной (—СН—) и формиминогруппы (—СН—NH). Присоединение этих групп к пятому или десятому атому азота в составе ТГФК осуществляется ферментативно с образованием ковалентной связи. Одноуглеродные группы в составе ТГФК могут превращаться друг в друга (рис. 9.10).

Эти коферменты участвуют в синтезе пуриновых нуклеотидов, в превращениях дУМФ в дТМФ, гомоцистеина в метионин, обмене глицина и серина. Тесная связь фолиевых коферментов с метаболизмом нуклеиновых кислот объясняет, почему ее наличие особенно важно в период быстрого роста и развития организма.

Гиповитаминоз. Недостаточность фолиевой кислоты — явление, распространенное во всем мире; часто встречается среди неимущих людей, у престарелых, беременных женщин, новорожденных и у лиц, получающих в течение длительного периода времени антибиотики, которые подавляют кишечную микрофлору. Гиповитаминоз может возникнуть и в случае подавления микрофлоры кишечника лекарственными препаратами сульфаниламидной природы, при нарушении всасывания витамина в желудочно-кишечном тракте. Развитию гиповитаминоза фолиевой кислоты способствуют другие гиповитаминозы, так как для активирования и метаболизма фолиевой кислоты в организме необходимы витамины В₆, В₁₂, С и РР.

При дефиците фолиевой кислоты развиваются общая слабость, потеря массы, а в дальнейшем — *мегалобластическая макроцитарная анемия*. Причиной ее служит нарушение биосинтеза пуриновых нуклеотидов и дезоксири-

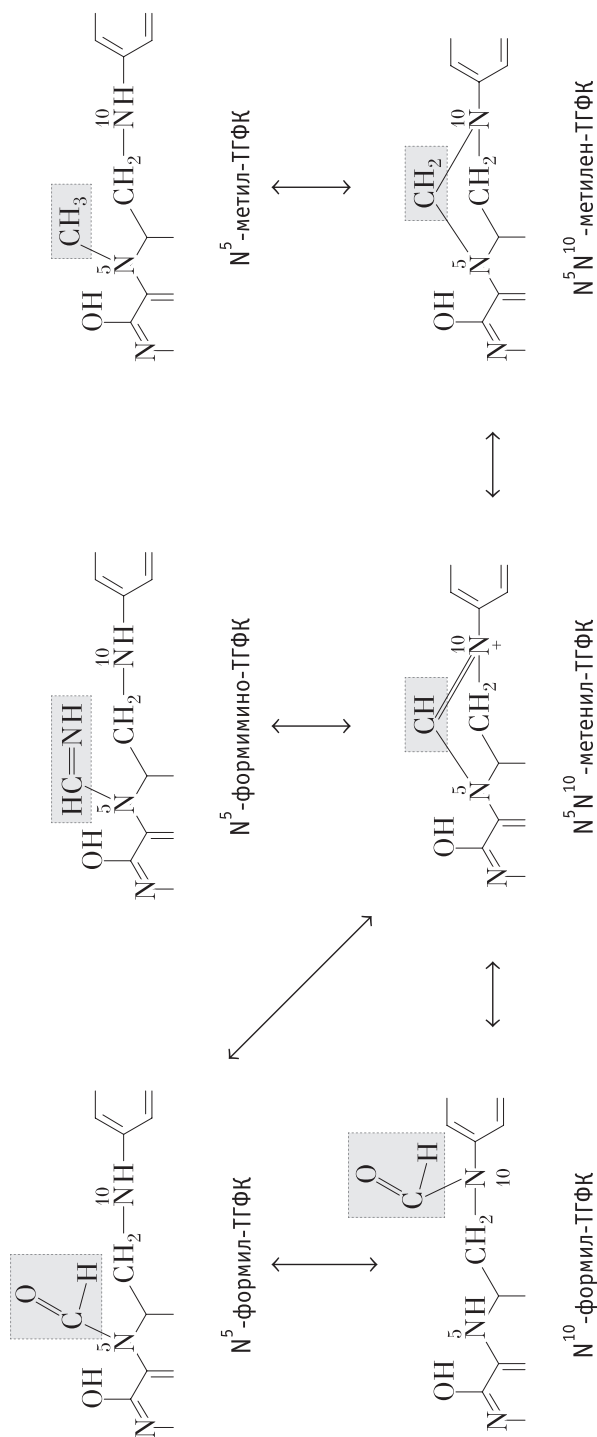


Рис. 9.10. Коферментные формы фолиевой кислоты и их взаимопревращения

9.6. Витамины — незаменимые факторы питания

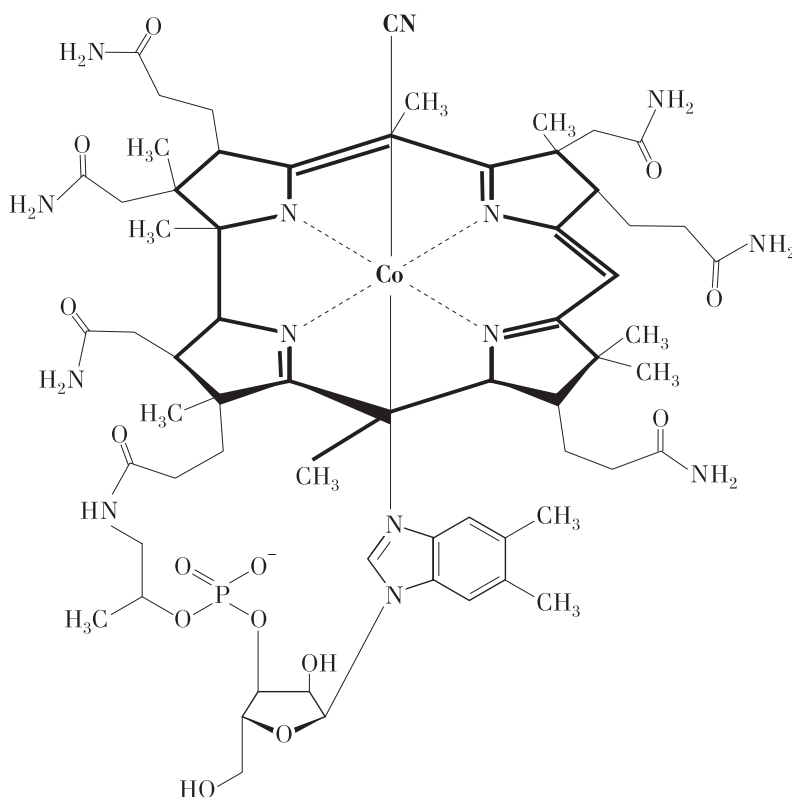
бонуклеотидов. В результате угнетается синтез ДНК и пролиферация кроветворных клеток. В крови появляются мегалобласты — молодые клетки с низким содержанием ДНК.

Дефицит фолиевой кислоты приводит к повышению уровня гомоцистеина в крови. Во время беременности это может быть причиной развития внутриутробной гипоксии плода и врожденных пороков развития (микроцефалия, спинномозговая грыжа, аномальное развитие лицевого черепа и др.).

Витамин B₁₂ (кобаламин)

Витаминами B₁₂ называют группу кобальтсодержащих биологически активных веществ, называемых *кобаламинами*. К ним относят *цианкобаламин*, *гидрокобаламин*, *метилкобаламин* и *аденозилкобаламин*. При этом цианкобаламин является лекарственной формой витамина B₁₂, а метилкобаламин и аденозилкобаламин — это метаболически активные формы его в организме.

Структура витамина B₁₂ отличается от строения всех других витаминов своей сложностью и наличием в его молекуле кобальта.

витамин B₁₂

В молекуле V_{12} центральный атом кобальта соединен с атомами азота четырех восстановленных пиррольных колец, образующих корриновое ядро. Коррин во многом похож на порфирины, входящие в состав гема.

Метаболизм. Париетальными клетками желудка синтезируется *внутренний фактор Касла* — гликопротеин, необходимый для активного всасывания витамина V_{12} в кишечнике. Известен еще один связывающий V_{12} белок — R-протеин слюны (другое название — *кобалофилин*). Этот протеин связывает и защищает витамин V_{12} от разрушения желудочным соком. В двенадцатиперстной кишке протеазы высвобождают V_{12} из комплекса с R-протеином, затем V_{12} связывается с внутренним фактором, и только в таком связанном с внутренним фактором виде он распознается рецепторами энтероцитов подвздошной кишки и всасывается. Примерно 1 % витамина V_{12} всасывается в кишечнике путем диффузии.

Транспорт кобаламина по крови осуществляется специфическими белками: транскобаламином I и транскобаламином II. Комплекс транскобаламин — V_{12} взаимодействует с рецепторами клеток печени, поступает внутрь клетки, там витамин высвобождается, а транскобаламин разрушается в лизосомах. Частично V_{12} поглощается клетками селезенки и почек, несколько меньше — клетками мышечной ткани. В печени и почках кобаламин превращается в свои коферментные формы — метил- и дезоксиаденозилкобаламин.

Витамин V_{12} может депонироваться в печени. Общие запасы кобаламина составляют 2–5 мг. Витамин выводится желчью, но в кишечнике основная часть его подвергается реабсорбции, т.е. ему свойственна энтерогепатическая циркуляция. При поступлении витамина V_{12} в количестве, превышающем связывающую способность транспортирующих белков, его избыток выводится с мочой.

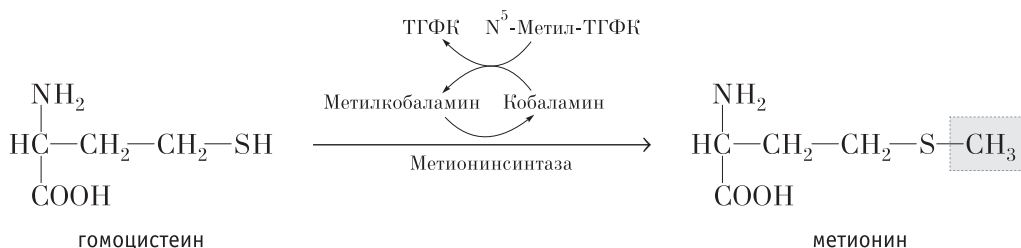
Пищевые источники. Витамин V_{12} синтезируется исключительно микроорганизмами, поэтому в содержащих его пищевых источниках он также является продуктом деятельности микроорганизмов. К источникам витамина V_{12} относятся печень животных, мясо, рыба, крабы, креветки, сыр, яйца, молоко. В растительной пище этот витамин отсутствует. Поэтому исключение из пищи мясных и молочных продуктов создает риск развития V_{12} -дефицитной анемии.

Суточная потребность составляет 3 мкг.

Биологическая роль. Витамин V_{12} входит в состав двух типов коферментов: метилкобаламина и 5'-дезоксиаденозилкобаламина, которые используются в транспорте одноуглеродных фрагментов и метаболизме фолиевой кислоты.

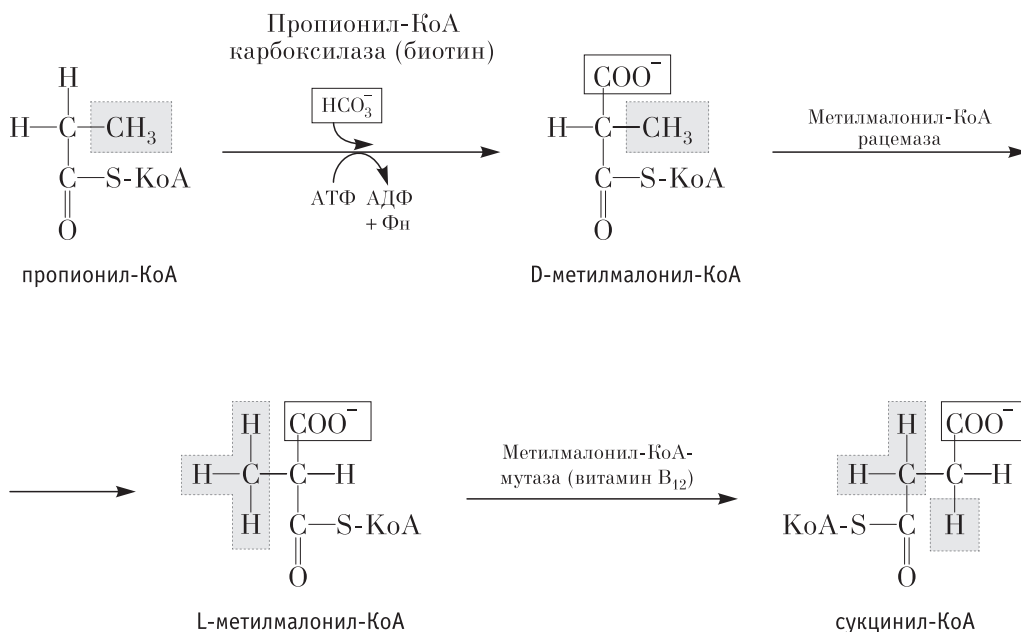
Как и в случае фолиевой кислоты, метилкобаламин принимает участие в превращении гомоцистеина в метионин. Фермент переносит метильную группу с 5'-метил-ТГФК на гомоцистеин с образованием метионина. Описанная реакция служит примером тесной взаимосвязи между двумя витаминами — фолиевой кислотой и кобаламином.

9.6. Витамины — незаменимые факторы питания



Метилкобаламин принимает участие в образовании пиримидиновых и пуриновых нуклеотидов, нуклеиновых кислот.

Кофермент 5'-дезоксаденозилкобаламин необходим в процессах превращения пропионил-КоА в сукцинил-КоА.



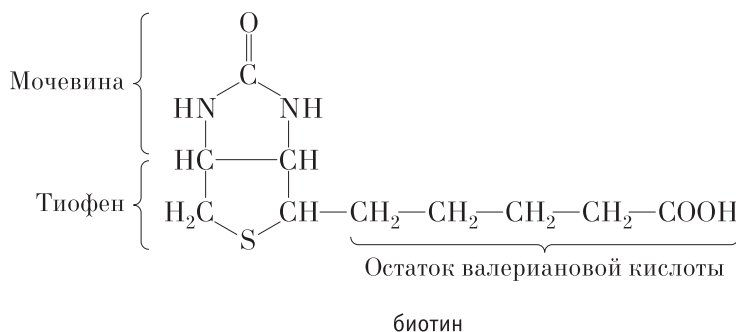
Эта реакция важна для катаболизма таких аминокислот, как метионин, треонин, валин, лейцин, изолейцин, а также для β -окисления жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов (см. главу 4 «Химия и обмен липидов»). Поэтому при дефиците витамина накапливается метилмалонил-КоА, определение уровня которого используется для диагностики гиповитаминоза B_{12} .

Гиповитаминоз. Дефицит кобаламина может быть следствием неправильного питания, вегетарианства, нарушения всасывания витамина, а также длительного приема блокаторов H^+/K^+ -АТФазы (омепразол и др.).

Недостаточность витамина В₁₂ приводит к развитию *злокачественной макрочитарной анемии*, так называемой *пернициозной анемии Аддисона — Вирмера*. Помимо нарушения кроветворной функции, резко снижается кислотность желудочного сока и усугубляется деятельность нервной системы (фуникулярный миелоз). Повреждаются периферическая нервная система, спинной и головной мозг. Неврологические симптомы сводятся к парестезиям, онемению кистей и ступней, неустойчивости походки, ослаблению памяти. Могут наблюдаться спутанность сознания и галлюцинации.

Витамин Н (биотин)

Биотин (от греч. *bios* — жизнь) был выделен в 1935 г. из яичного желтка. Молекула витамина Н состоит из имидазольного и тетрагидротиофенового колец, боковая цепь представлена валериановой кислотой. Биотин плохо растворяется в воде, но хорошо в спирте.



Пищевые источники. Витамином Н богаты бобовые, а также цветная капуста, грибы, из продуктов животного происхождения — печень, почки, молоко, яичный желток. Биотин синтезируется микрофлорой кишечника человека, что в значительной мере удовлетворяет потребности организма.

Суточная потребность составляет 150–200 мкг.

Биологическая роль. Витамин Н способствует усвоению тканями ионов бикарбоната и активирует реакции карбоксилирования и транскарбоксилирования. Связываясь с ионом гидрокарбоната (HCO_3^-), биотин превращается в карбоксибиотин и становится коферментом. Местом карбоксилирования является атом азота в составе имидазольного кольца. Целый ряд ферментов нуждаются для проявления своей активности в этом коферменте:

1) *пируваткарбоксилаза* — катализирует АТФ-зависимое образование оксалоацетата из пирувата и HCO_3^- . Эта реакция является одной из важнейших в глюконеогенезе. Кроме того, в клетках с помощью этой реакции восполняется запас оксалоацетата, необходимого для функционирования цикла Кребса (анаэробная реакция);

9.6. Витамины — незаменимые факторы питания

2) *ацетил-КоА-карбоксилаза* — катализирует первую реакцию биосинтеза жирных кислот. В ходе нее происходит перемещение карбоксильной группы бикарбоната на ацетил-КоА с образованием малонил-КоА;

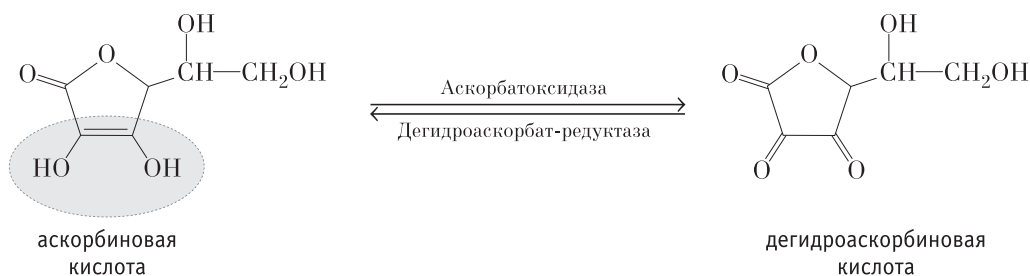
3) *пропионил-КоА-карбоксилаза* — участвует в окислении жирных кислот с нечетным числом атомов углерода. При этом происходит стереоспецифический перенос активированной карбоксильной группы от карбоксибиотина к пропионил-КоА с образованием метилмалонил-КоА (см. рис. 9.24).

Антивитамины. Авидин — гликопротеин белка куриного яйца — образует прочный комплекс с биотином, который не может расщепляться пищеварительными ферментами. Поэтому при частом употреблении сырых яиц прекращается всасывание присутствующего в пище биотина. Способность молекул авидина и биотина специфически связываться друг с другом используется в молекулярной биологии.

Гиповитаминоз. Для биотинового гиповитаминоза характерны поражение кожных покровов (дерматит), жирная себорея (повышенное выделение нейтральных липидов на поверхность кожи лица и волосистой части головы), алопеция (очаговое облысение), сонливость, усталость. Часто отмечаются боли в мышцах.

Витамин С (аскорбиновая кислота)

Витамин С является γ -лактоном, близким по структуре к глюкозе. Его молекула имеет два асимметрических атома углерода (^4C и ^5C) и четыре оптических изомера. Биологически активна только L-аскорбиновая кислота. Аскорбиновая кислота образует редокс-пару с дегидроаскорбиновой кислотой, сохраняющей витаминные свойства:



Водные растворы аскорбиновой кислоты быстро окисляются в присутствии кислорода даже при комнатной температуре. Аскорбиновая кислота разрушается при хранении продуктов и в процессе приготовления пищи.

Пищевые источники. Источником витамина С служит растительная пища. Им богаты перец, черная смородина, укроп, петрушка, капуста, щавель, цитрусовые, земляника, но особенно шиповник (0,8–1,2 г на 100 г сухих ягод). В пищевом рационе человека аскорбиновая кислота должна присутствовать

постоянно, так как она быстро расходуется, а ее избыток уже через 4 ч полностью выводится из организма. Многие животные (жвачные, крысы, птицы) способны синтезировать аскорбиновую кислоту за счет функционирования глюкозного пути окисления глюкозы, но человек получает ее только с пищей.

Суточная потребность составляет 100–200 мг.

Метаболизм. Аскорбиновая кислота всасывается путем простой диффузии на всем протяжении желудочно-кишечного тракта, но преимущественно это происходит в тонком кишечнике.

Дегидроаскорбиновая кислота, образующаяся в клетках из аскорбиновой кислоты ферментом аскорбатоксидазой, является неустойчивым соединением и легко окисляется в водной фазе с образованием 2,3-дикетогулоновой кислоты, которая уже не обладает витаминной активностью. Восстановление дегидроаскорбиновой кислоты в аскорбиновую осуществляется дегидроаскорбатредуктазой с участием глутатиона. Аскорбат и продукты его распада экскретируются с мочой.

Биологическая роль. Витамин С участвует в окислительно-восстановительных процессах, свертываемости крови, регенерации тканей, метаболизме ароматических аминокислот, иммунных реакциях, гидроксилировании веществ; повышает устойчивость организма к инфекциям, уменьшает сосудистую проницаемость, снижает потребность в витаминах В₁, В₂, А, Е, фолиевой кислоте, пантотеновой кислоте.

Витамин С участвует во всасывании *железа* из кишечника (см. главу 10 «Водно-минеральный обмен») и освобождении железа из комплекса с транспортным белком крови — трансферрином, облегчая поступление этого металла в ткани.

Витамин С может включаться в работу дыхательной цепи митохондрий, являясь *донором электронов* для цитохрома *c*. Он также необходим для биосинтеза карнитина.

Аскорбат играет важную роль в реакциях *гидроксилирования*. Пропин-гидроксилаза с участием витамина С, ионов железа, α -кетоглутарата и кислорода катализирует гидроксилирование аминокислоты пролина в составе «незрелого» коллагена. ОН-группы *оксипролина* участвуют в стабилизации структуры, формируя водородные связи между цепями триплетной спирали зрелого коллагена. Витамин С нужен также для образования *оксилизина* в коллагене. Остатки оксизина в коллагене служат для образования участков связывания с полисахаридами.

С участием витамина С происходят реакции гидроксилирования при биосинтезе гормонов корковой и мозговой части надпочечников, гидроксилирование п-гидроксифенилпирувата и превращение его в гомогентизиновую кислоту (катаболизм фенилаланина и тирозина), гидроксилирование триптофана и превращение его в 5-гидрокситриптофан в ходе синтеза серотонина.

Витамин С занимает доминирующее положение во внеклеточной антиоксидантной защите, значительно опережая в этом отношении глутатион.

9.7. Витаминоподобные вещества

Антиоксидантная функция аскорбиновой кислоты объясняется ее способностью легко отдавать два атома водорода, используемых в реакциях обезвреживания свободных радикалов. Важной функцией аскорбата является обезвреживание свободного радикала токоферола (витамина Е), благодаря чему предупреждается его окислительная деструкция.

Витамин С регулирует иммунологические реакции, активируя синтез антител, интерферона. Он способствует фагоцитозу, повышая сопротивляемость организма инфекциям.

Гиповитаминоз. Выраженный дефицит витамина С приводит к заболеванию — *цинге (скорбуту)*. Вследствие нарушения гидроксилирования пролина и лизина в коллагене, синтеза хондроитинсульфатов повышается проницаемость капилляров. Клинически это проявляется кровоточивостью десен, расшатыванием зубов, отеками и болями в суставах, поражением костей, нарушением заживления ран. Сниженное образование карнитина, обеспечивающего β -окисление жирных кислот и связанную с этим процессом энергопродукцию в миоцитах, способствует развитию мышечной слабости.

Еще одним проявлением гиповитаминоза С является *железодефицитная анемия*, которая развивается вследствие нарушения всасывания железа. Гиповитаминоз С всегда сопровождается ослаблением иммунзащитных сил организма, а также усилением реакций свободнорадикального окисления.

Гипервитаминоз. В больших дозах аскорбиновая кислота (1–10 г/сут) может вызвать диарею, повышение всасывания железа, повышает риск образования оксалатных камней в почках. При гипервитаминозе увеличивается артериальное давление, нарушается питание миокарда, возникает чувство жара, бессонница, снижается острота зрения. У беременных женщин может произойти выкидыш. Длительное применение больших доз аскорбиновой кислоты угнетает функциональную способность β -клеток островков Лангерганса (риск сахарного диабета), повышает концентрацию протромбина крови (риск тромбообразования).

9.7. Витаминоподобные вещества

Витаминоподобные вещества — группа условно заменимых факторов питания, напоминающих по биологическому действию витамины. Они образуются в организме, и в этом их принципиальное отличие от витаминов. Если же витаминоподобное вещество не синтезируется в организме, то без него можно обойтись без ущерба для качественного уровня жизни. К ним обычно относят холин, инозитол, липоевую кислоту, пангамовую кислоту, оротовую кислоту, парааминобензойную кислоту, биофлавоноиды и др.

Инозитол (или *инозит*) — шестиатомный циклический спирт, хорошо растворимый в воде. Инозит входит в состав фосфолипидов (фосфатидилинозитолов), содержащихся во всех тканях. Особенно богата ими нервная ткань.

Инозитол-1,4,5-трифосфат (ИТФ) является посредником в действии на клетку гормонов, способствуя высвобождению ионов кальция из кальцисом.

Карнитин — небелковая аминокислота. Он поступает в организм с продуктами питания и синтезируется в печени из аминокислоты лизина. Основная роль карнитина — участие в транспорте жирных кислот через митохондриальную мембрану внутрь митохондрий. Введение карнитина животным повышает образование энергии в митохондриях, стимулирует регенераторные процессы в миокарде. Имеются данные, что карнитин стимулирует внешне-секреторную функцию поджелудочной железы, активирует сперматогенез.

S-Метилметионин называют «противоязвенным» фактором или витамином U (от лат. *ulcus* — язва). Подобно метионину, S-метилметионин является *донором метильных групп* в реакциях синтеза холина и креатина. Показано его участие в синтезе метионина и некоторых других соединений, нуждающихся в метильных группах. Он оказывает липотропное действие на печень.

Холин — аминоэтиловый спирт, содержащий три метильные группы у атома азота. Он является метаболическим предшественником важного нейромедиатора — ацетилхолина. Фосфохолин, активируясь с помощью ЦДФ, используется для синтеза фосфатидилхолина (лецитина). Холин необходим и для синтеза другого фосфолипида — сфингомиелина. Он также является *донором метильных групп* в реакциях трансметилирования, например в реакциях синтеза метионина.

Пангамовая кислота. Основная биохимическая функция этого вещества, подобно предыдущим соединениям, — участие в процессах метилирования и трансметилирования в клетках. В качестве *донора метильных групп* пангамовая кислота участвует в синтезе метионина, холина, креатина, некоторых стероидных гормонов и катехоламинов.

Водно-минеральный обмен

Водно-минеральным обменом называется совокупность процессов поступления воды и электролитов в организм, распределения их во внутренней среде и выделения из организма.

10.1. Вода — важнейшая составная часть организма

Жизнь зародилась в воде мирового океана и часть этого океана по мере эволюции стала внутренней средой организмов. В организме человека выделяют два главных водных пространства: *внутриклеточное*, представленное суммой водного содержимого каждой клетки организма, и *внеклеточное*, которое включает жидкость, находящуюся вне клеток (табл. 10.1). Соответственно пространствам различают *внутриклеточную* и *внеклеточную* жидкость. Первая составляет 2/3, а вторая — 1/3 всего количества воды в организме. Внекле-

Таблица 10.1

Неоднородность воды в жидкостных пространствах организма

Пространство	Форма воды
Внутриклеточная вода (<i>интрацеллюлярная жидкость</i>)	Связанная с гидрофильными органическими и неорганическими веществами. Адгезированная на поверхности коллоидных частиц. Свободная наиболее лабильная часть воды, количество которой быстро меняется в норме и при патологических состояниях
Внеклеточная вода (<i>экстрацеллюлярная жидкость</i>)	Внутрисосудистая жидкость (плазма крови). Межклеточная (интерстициальная) жидкость. Трансцеллюлярная жидкость, которая находится в различных пространствах: <ul style="list-style-type: none"> • вода камер глаза; • спинномозговая жидкость; • синовиальная жидкость (суставы, сухожилия); • желудочный и кишечный соки; • жидкость полостей капсулы клубочка и канальцев (первичная моча); • жидкость серозных полостей (плевральной, перикарда, брюшной и др.)

точная жидкость локализована внутри сосудов и в межклеточном интерстициальном пространстве.

В большинстве тканей содержание воды составляет около 70–80 %. У девочек и женщин в связи с большим количеством жировой клетчатки, в которой воды мало, содержание ее ниже, чем у мальчиков и мужчин. Следует также отметить, что с возрастом доля воды в составе организма снижается.

Объем воды в организме *пополняется* из двух источников:

1) в ходе катаболических превращений — за сутки в среднем образуется 400 мл воды;

2) в результате потребления — за сутки объем выпитой воды должен составлять не менее 1,5 л или 25–30 мл/кг массы; еще до 1,5 л воды поступает с напитками, жидкой и твердой пищей.

Выведение воды из организма также осуществляется несколькими путями:

1) с выдыхаемым воздухом — за сутки выделяется в среднем 400 мл. Эта величина может возрастать при глубоком дыхании, дыхании сухим воздухом, при гипервентиляции, искусственной вентиляции легких;

2) через кожу — потери могут составлять от 500 мл/сут (так называемые «неощутимые» потери) до 2,0 л/ч (потоотделение при повышении температуры тела, физической работе);

3) через кишечник — за сутки из организма выводится 100–200 мл; при рвоте, диарее это количество возрастает;

4) с мочой (через почки) — у взрослого человека вода покидает организм в объеме 1000–1500 мл/сут.

В нормальных условиях вода из организма выделяется в количестве, соответствующем объему принимаемой жидкости. Поэтому потребность в воде определяется количеством выводимой жидкости. Потеря воды более 10 % вызывает тяжелые функциональные расстройства, а более 20 % — смерть.

Если баланс воды в организме так важен, закономерно возникает вопрос: почему?

1. Вода — хороший растворитель полярных молекул. Способность формировать водородные связи с другими молекулами — одна из причин хорошей растворимости в воде многих органических молекул. Моносахариды, аминокислоты и другие полярные соединения хорошо растворяются в воде, что обеспечивает их транспорт по крови и участие во внутриклеточных процессах. Свойства молекулы воды как диполя делают ее хорошим растворителем и многих солей. В результате ионы (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Cl^- , HCO_3^- , HPO_4^{2-}) постепенно переходят в раствор.

2. Вода формирует и стабилизирует структуры биополимеров. Особое место занимает взаимодействие воды с дифильными молекулами. Многие компоненты живых клеток, например фосфолипиды, белки и нуклеиновые кислоты, обладают дифильными свойствами. Поэтому в водных растворах неполярные, гидрофобные участки их молекул изолируются от водной фазы и стабилизируются силами гидрофобного взаимодействия, а заряженные группы, находясь

10.2. Минеральные вещества также незаменимы для организма

на поверхности молекулы, окружаются *гидратной оболочкой*, которая образуется из диполей молекул воды.

3. Вода является участником химических реакций (гидратации, гидролиза и др.), играющих важную роль в процессах жизнедеятельности.

4. Выполняет терморегуляторную функцию — поглощает большое количество тепловой энергии при минимальном повышении собственной температуры. Следовательно, вода защищает организм от перегрева и обеспечивает равномерное распределение тепла по всему организму.

5. Выполняет структурную функцию — придает форму и упругость клетке. Вода практически не сжимается (в жидком состоянии) и служит гидростатическим скелетом. В составе клетки вода занимает первое место среди всех химических соединений.

6. Выполняет транспортную функцию — помогает перемещать метаболиты в клетки и в самих клетках.

10.2. Минеральные вещества также незаменимы для организма

В водных пространствах находятся минеральные соединения. Одни из них содержатся в организме в концентрации, превышающей 50 мг/кг массы тела. Они получили название **макроэлементы**. К ним относятся натрий, калий, кальций, магний, фосфор, хлор, сера. Макроэлементам принадлежит важная роль в регуляции распределения и перемещения воды между клетками и межклеточными пространствами организма, создании электрических потенциалов на поверхности клеточных мембран, обеспечении механизмов возбудимости тканей, участии в процессах минерализации костей и зубов.

Другая группа минеральных веществ получила название **микроэлементы**. К ней относятся минеральные соединения в концентрации менее 50 мг/кг массы тела: железо, медь, цинк, селен, йод, марганец, кобальт, молибден, фтор и др. Они являются структурными компонентами белков, входят в состав активных центров ферментов, выполняют некоторые специфические функции (например, участие в кроветворении).

10.2.1. Макроэлементы

Натрий

В организме взрослого человека содержится 70–100 г натрия, из которых 75 % принадлежит обмениваемому натрию. Он обнаруживается во всех тканях главным образом в виде катионов Na^+ . Уровень натрия в плазме крови составляет 130–150 ммоль/л. Около 40 % всего натрия локализовано во внеклеточной жидкости, 50 % — в костях и хрящах, менее 10 % — внутри клеток.

Натрий — **главный внеклеточный катион**: среди всех катионов плазмы крови на его долю приходится более 90 %. Значительная часть этого количества (85 %) находится в свободной форме, а 15 % связано с белками.

Объем внутриклеточной жидкости примерно в 2 раза превышает объем внеклеточной жидкости, но концентрация натрия внутри клеток не достигает и 5 ммоль/л. Неравномерное распределение натрия по обе стороны клеточной мембраны обеспечивается работой Na^+/K^+ -АТФазы.

Основные функции натрия:

- 1) поддержание осмотического давления внеклеточных жидкостей и регуляция водного баланса;
- 2) участие в формировании потенциала действия в нервной и мышечной тканях;
- 3) компонент транспортных систем для аминокислот, глюкозы в мембранах эпителия кишечника и почек;
- 4) компонент внеклеточных буферных систем.

Натрий поступает в организм с поваренной солью, небольшое количество — с пищевыми добавками в виде бикарбоната, цитрата, сульфата и глутамата. В норме потребление NaCl не должно превышать 5 г/сут.

Основное количество натрия (около 95 %) выводится почками с мочой в виде натриевых солей фосфорной, серной, угольной и других кислот. Натрий выводится также с потом и через кишечник.

Обмен натрия регулируется альдостероном и натрийуретическим пептидом. Механизмы действия данных регуляторов будут рассмотрены ниже.

Гипернатриемия — состояние, при котором повышена концентрация натрия в сыворотке крови более 155 ммоль/л. Причинами могут служить избыточное его поступление или снижение потребления воды, гиперальдостеронизм, почечная недостаточность, несахарный диабет, применение диуретиков (фуросемид) и др. Симптоматически гипернатриемия проявляется повышением артериального давления, замедлением частоты сердечных сокращений, угнетением ЦНС, жаждой, сухостью слизистых, отечностью тканей, повышением температуры тела.

Гипонатриемия — состояние, при котором концентрация натрия в сыворотке крови снижена. Причинами гипонатриемии могут быть снижение выведения воды почками и высокое потребление жидкости (более 1 л/ч).

Калий

В отличие от натрия, калий является **внутриклеточным катионом**. У взрослых содержание калия составляет приблизительно 2 г/кг; 95 % его обменивается. Основное количество калия (90 %) находится внутри клеток в виде непрочных соединений с белками, углеводами и фосфором и менее 10 % — внеклеточно. Часть калия содержится в клетках в ионизированном виде и обеспечивает мембранный потенциал. В плазме и межклеточной жидкости находится

10.2. Минеральные вещества также незаменимы для организма

2–5 % общего калия. Во внеклеточной среде небольшое количество калия находится преимущественно в ионизированном виде. Наиболее богата калием мышечная ткань. В эритроцитах концентрация калия составляет 3,5–5,1 ммоль/л, это в 15–20 раз больше, чем в сыворотке крови.

Суточная потребность в калии взрослого человека — 2–3 г. Основным пищевым источником его являются продукты растительного происхождения (курага, картофель, яблоки, бананы).

Практически весь калий, поступающий с пищей, всасывается в кишечнике. Всасываясь, калий поступает в печень, а оттуда — с кровотоком в другие органы и ткани. Выведение калия осуществляется преимущественно почками (80–90 %), в меньшей степени — кишечником и потовыми железами.

Основные функции калия:

1) калий вместе с натрием создает и поддерживает осмотическое давление жидкостей организма (преимущественно внутриклеточной), участвует в регуляции кислотно-основного состояния;

2) K^+ — активатор ряда ферментов;

3) вместе с Na^+ он генерирует электрохимический потенциал в мембранах, который обеспечивает электрическую возбудимость нервных и мышечных клеток;

4) ионы калия влияют на сердечную проводимость; повышают тонус и силу гладкой и поперечнополосатой мускулатуры.

Поступление калия в клетки стимулирует инсулин. Существенное влияние на распределение калия оказывает изменение pH. При накоплении ионов водорода внутри клеток для поддержания электронейтральности ионы калия из клеток перемещаются в межклеточные пространства и кровь (рис. 10.1). Поэтому при ацидозе концентрация калия в сыворотке крови увеличивается, а при алкалозе — снижается.

Уровень калия в плазме крови отражает состояние мембранного потенциала клеток. Избыточная или очень низкая концентрация может приводить к угрожающим жизни состояниям в связи с нарушением работы сердца.

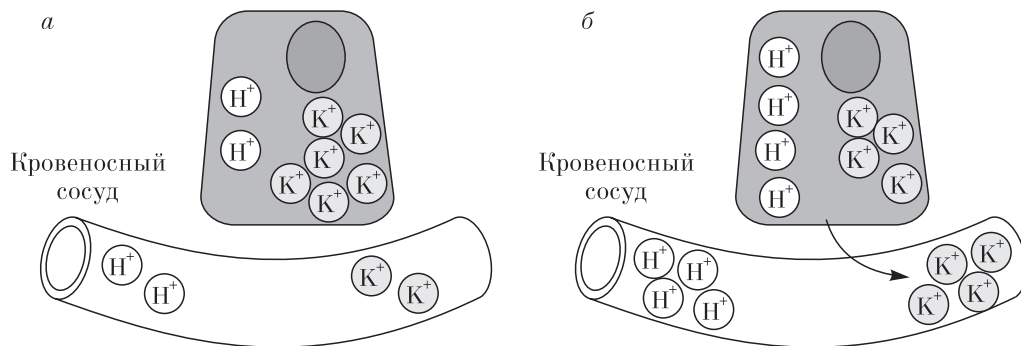


Рис. 10.1. Гиперкалиемия, связанная с ацидозом:
а — норма; б — ацидоз

Основным регулятором обмена Na^+ и K^+ является альдостерон, который стимулирует активность натриевых каналов, Na^+/K^+ -АТФазы. Тем самым повышается реабсорбция натрия и одновременно растет секреция калия почками.

Гипокалиемия — стойкое снижение концентрации калия в сыворотке крови до уровня менее 3,5 ммоль/л. Симптоматически гипокалиемия проявляется мышечными болями, слабостью. Характерны снижение интенсивности перистальтики кишечника, запоры. Возможно развитие периферической полинейропатии, признаком которой служат парестезии (снижение чувствительности). Стойкая гипокалиемия ассоциирована со значительным ухудшением работы сердца.

Гиперкалиемия наблюдается в том случае, если концентрация калия в сыворотке крови у взрослых людей повышается более 5,0 ммоль/л. Причины гиперкалиемии можно разделить на две группы:

- почечные — тяжелая почечная недостаточность, гипоальдостеронизм;
- внепочечные — попадание в организм избыточного количества калия, дефицит инсулина, массивный гемолиз, гиперосмолярность, ацидоз.

Тяжелая гиперкалиемия является опасным для жизни состоянием. Возникают парестезии, параличи мышц, аритмии (брадикардия), фибрилляция желудочков и остановка сердца.

Хлориды

Хлориды — главные анионы внеклеточной жидкости. Во внеклеточном пространстве находится 88 % всех хлоридов. Здесь они содержатся, в основном, в виде солей натрия, калия, кальция, магния. В норме концентрация хлоридов в сыворотке крови составляет 95–105 ммоль/л. С пищей в организм взрослого человека ежедневно поступает 1,8–7,1 г хлоридов.

В выделении хлоридов принимают участие желудочно-кишечный тракт, кожа и почки. Важнейшим регулятором выведения Cl^- из организма с мочой является альдостерон. Под влиянием альдостерона концентрация хлоридов в потовой жидкости, подобно натрию, уменьшается. Наследственное заболевание, связанное с нарушением выведения хлоридов, получило название *муковисцидоз*¹.

¹ *Муковисцидоз (кистозный фиброз)* — системное наследственное заболевание, обусловленное мутацией гена трансмембранного регулятора муковисцидоза. Изменяются физико-химические свойства секрета экзокринных желез (слизи, слезной жидкости, пота): он становится густым, с повышенным содержанием электролитов и белка, практически не эвакуируется из выводных протоков. Задержка вязкого секрета в протоках вызывает их расширение и формирование мелких кист, в наибольшей степени в бронхолегочной и пищеварительной системах. Электролитные нарушения связаны с высокой концентрацией кальция, натрия и хлора в секретах. Застой слизи приводит к атрофии (усыханию) железистой ткани и прогрессирующему фиброзу (постепенному замещению ткани железы соединительной тканью).

10.2. Минеральные вещества также незаменимы для организма

Биологическая роль хлоридов:

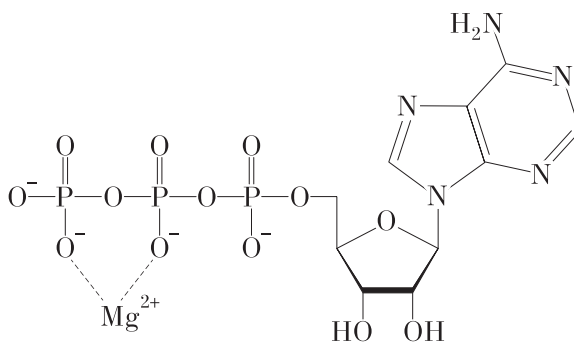
- 1) создание и поддержание осмотического давления (внеклеточной жидкости);
- 2) создание биоэлектрических потенциалов на мембранах;
- 3) регуляция кислотно-щелочного равновесия;
- 4) участие в синтезе HCl желудочного сока;
- 5) активация α -амилазы.

Гиперхлоремия наблюдается тогда, когда уровень хлоридов в плазме крови превышает 110 ммоль/л. Специфических клинических проявлений она не имеет и является частью других изменений обмена электролитов. Гиперхлоремия приводит к метаболическому ацидозу.

Гипохлоремия связана с потерями хлоридов через желудочно-кишечный тракт (например, вследствие постоянной рвоты) и обычно ассоциируется с метаболическим алкалозом.

Магний

Содержание магния в организме (25 г) занимает четвертое место после натрия, кальция и калия, а среди внутриклеточных катионов — второе после калия. Концентрация его в клетках в 3–15 раз выше, чем во внеклеточной среде. В клетке до 90 % магния связано с АТФ, поэтому уровень внутриклеточного АТФ является одним из значимых факторов, влияющих на накопление данного катиона.



комплекс магния и АТФ

Значительная доля магния находится в костной ткани (рис. 10.2), где он входит в состав кристаллов апатитов, которые рассматриваются как депо магния. В клетках магний сконцентрирован преимущественно в ядре.

Концентрация магния в плазме крови колеблется от 0,75 до 1,25 ммоль/л. Там большая часть его (60–70 %) находится в ионизированном состоянии (активная форма), а оставшаяся часть связана с белками и липидами.

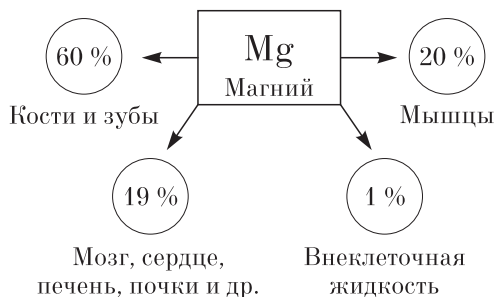


Рис. 10.2. Содержание магния в организме

Потребность в магнии составляет 300–400 мг/сут. В организм человека он поступает с водой и пищей. Из пищевых продуктов растительного происхождения наибольшее количество магния содержится в листьях петрушки, салата, орехах, гречке, горохе. Магний — структурный компонент хлорофилла.

Всасыванию подвергается около 30–40 % поступившего магния, преимущественно в двенадцатиперстной кишке. Продукты с высоким содержанием кальция, фосфатов, жиров, а также фитаты тормозят всасывание магния. Усиливают абсорбцию магния паратиреоидный гормон, витамин D (1,25-(ОН)₂-D₃).

Всосавшийся из кишечника магний по системе воротной вены попадает в печень, а затем с током крови — в другие органы, прежде всего в кости и мышечную ткань. Выводится магний с мочой и потом.

Функции магния в организме:

- 1) структурный компонент костей, зубов;
- 2) регулятор передачи нервных импульсов, напряжения и расслабления мышц (в том числе сердца и сосудистой стенки);
- 3) ионы магния способны формировать обратимые хелатоподобные соединения со многими органическими соединениями, в частности с АТФ;
- 4) структурный компонент нуклеиновых кислот, рибосом;
- 5) стабилизатор биологических мембран;
- 6) необходим для секреции паратирина;
- 7) угнетает ЦНС.

Дефицит магния в организме (*гипомагниемия*) проявляется синдромом «хронической усталости»¹. Характерными признаками *гипермагниемии* являются угнетение нейромышечной передачи, нарушение дыхания вплоть до его остановки. Со стороны сердечно-сосудистой системы отмечаются снижение артериального давления, брадикардия, асистолия.

¹ Слабость, снижение физической активности, апатия, нервозность, раздражительность, чувство тревоги, нарушение сна, судороги, мышечные боли, спазмы гладкой мускулатуры (ЖКТ и др.), аритмии, сердцебиения, кардиалгии, при беременности — гипертонус, невынашивание.

10.2. Минеральные вещества также незаменимы для организма

Кальций

В организме взрослого человека содержится 1,0–1,5 кг кальция, что составляет 1,5 % от массы тела. Основным местом хранения и источником кальция является костная ткань (около 99 % всего кальция), где он находится в основном в виде гидроксиапатитов, а также небольшого количества гидроксида и карбоната кальция. Лишь 0,1 % общего кальция находится во внеклеточной жидкости и около 1 % — внутри клеток.

Концентрация Ca^{2+} в плазме крови здоровых людей колеблется в пределах 2,12–2,6 ммоль/л. Он находится там в двух формах:

1) биологически активный ионизированный кальций (1,1–1,3 ммоль/л или около 50 %);

2) кальций, связанный с белками, главным образом с альбумином (45 %), а также с цитратом, сульфатом, фосфатом и карбонатом (5 %).

Суточная потребность в кальции для взрослого человека составляет 1000–1200 мг. Кальцием богаты молоко, сыр, творог, лук, шпинат, капуста, петрушка. Всасывается кальций в основном в верхних отделах тонкого кишечника при участии специфических Ca^{2+} -связывающих белков.

Различают *пассивное диффузное всасывание*, по градиенту концентрации кальция (парацеллюлярный механизм), и *активный трансцеллюлярный транспорт*, который включает кальцийсвязывающие белки (транспорт через мембрану энтероцита и в цитозоле энтероцита) и Ca^{2+} -АТФазу (транспорт через базальную мембрану энтероцита в кровяное русло).

Всего с пищей в организм взрослого человека поступает около 800 мкг кальция, из них всасывается примерно половина. Около 200 мкг кальция экскретируется почками, а оставшиеся 200 мкг поступают обратно в просвет кишечника с продуктами его секреции, желчью и слущенными эпителиальными клетками.

За сутки в первичную мочу поступает около 10 г кальция, но основная часть этого количества подвергается реабсорбции в проксимальных канальцах при участии Ca^{2+} -переносящих белков. Обратное всасывание кальция осуществляется, подобно абсорбции в тонком кишечнике, активным и пассивным механизмами, в которых принимают участие специальные белки — *клаудины*, Са-АТФаза и Na^+/K^+ -АТФаза.

Функции кальция в организме:

- 1) соли кальция — основа скелета и зубов;
- 2) Ca^{2+} регулирует нервно-мышечную возбудимость, сократительную и секреторную активность;
- 3) опосредует действие гормонов;
- 4) Ca^{2+} регулирует проницаемость клеточных мембран, адгезию и рост клеток;
- 5) участвует в каскадном механизме свертывания крови (IV фактор);
- 6) является антагонистом стронция.

Гипокальциемия может быть вызвана низким уровнем паратирин в крови, дефицитом витамина D, влиянием лекарственных препаратов. Для **гиперкальциемии** характерно стойкое повышение уровня кальция в крови (более 3,0 ммоль/л). Наиболее частой причиной развития гиперкальциемии является повышенная мобилизация кальция из костной ткани. Реже это состояние развивается вследствие повышенного всасывания кальция в желудочно-кишечном тракте или снижения экскреции кальция с мочой.

Фосфор

В костной ткани, почках и желудочно-кишечном тракте сосредоточено до 85 % всего фосфата, 14 % — в клетках органов и тканей и 1 % во внеклеточной жидкости (рис. 10.3).

С возрастом уровень фосфора в составе неорганических соединений сыворотки крови снижается и у взрослых составляет 1,29 ммоль/л. На него оказывает влияние функциональное состояние паращитовидных желез, щитовидной железы, обеспеченность витамином D и функция почек.

Экскреция фосфора осуществляется почками и через кишечник. Выведение фосфора с мочой с возрастом повышается. Около 90 % фосфора после его фильтрации в почках реабсорбируется. Регулятором реабсорбции выступает паратгормон. Повышенное количество паратгормона в крови уменьшает реабсорбцию, и наоборот, низкое содержание паратгормона увеличивает ее. Реабсорбция фосфата регулируется также кальцитонином и соматотропным гормоном.

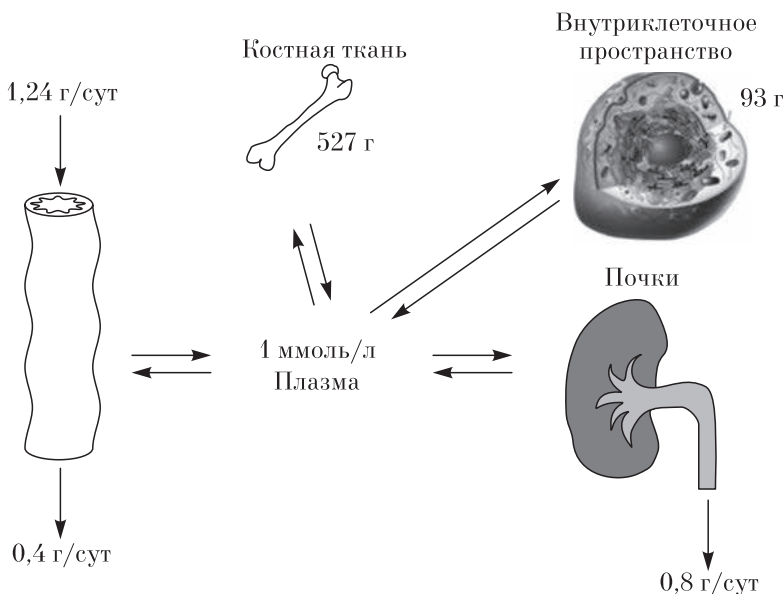


Рис. 10.3. Обмен фосфора в организме

10.2. Минеральные вещества также незаменимы для организма

За сутки в организм взрослого человека должно поступать около 1,2 г фосфора. Обычно он в достаточном количестве присутствует в пищевом рационе, так как содержится практически во всех пищевых продуктах. Всасывается около 50 % поступающего с пищей фосфора в виде фосфат-иона.

Функции фосфора в организме:

1) входит в состав кристаллов гидроксиапатита — основы костной ткани, дентина, цемента, эмали;

2) фосфат-ион входит в состав:

- нуклеотидов и нуклеиновых кислот, фосфолипидов, макроэргических соединений (креатинфосфата и др.);

- вторичных посредников в проведении гормонального сигнала в клетках (цАМФ, цГМФ, ИТФ);

- коферментных форм многих водорастворимых витаминов (тиаминпирофосфата, пиридоксальфосфата, ФАД, ФМН, НАД⁺ и НАДФ⁺). Присоединение фосфата к небольшой молекуле резко меняет ее способность проникать через мембраны, а присоединение к макромолекулам вызывает изменение их конформации и функциональной активности.

Гиперфосфатемия часто протекает бессимптомно. Наиболее распространенной причиной ее считается острая или хроническая почечная недостаточность. Гиперфосфатемия и фосфатурия, связанные с гиперкальциемией, могут появиться при передозировке витамина D.

Обмен фосфора тесно связан с обменом кальция в организме. В частности, при остром повышении уровня фосфатов в сыворотке крови может наступить резкое снижение уровня кальция и возникновение парестезии, судорог, нарушения психики, сердечного ритма, артериальной гипотензии.

Уровень фосфора в сыворотке крови с возрастом снижается. Считается, что **гипофосфатемия** развивается, когда концентрация фосфора в сыворотке становится ниже 0,81 ммоль/л. Выраженный дефицит фосфора в организме может привести к сердечной недостаточности. Она проявляется в желудочковой аритмии, артериальной гипотензии, дыхательной недостаточности вплоть до развития коматозного состояния.

Сера

Сера в организме функционирует в составе анионов (сульфат-анионы, сульфит-анионы) и как компонент органических соединений: серосодержащих аминокислот и белков, сульфатированных гетерополисахаридов, сульфолипидов, глутатиона, коэнзима А, биотина, тиамина, липоевой кислоты, S-метилметионина, таурина, S-аденозилметионина, фосфоаденозинфосфосульфата, металлотионеина. Дефицит серы возникает при недостаточном потреблении белка.

10.2.2. Микроэлементы

Железо

Большую часть микроэлементов составляют ионы металлов. Микроэлементы принимают непосредственное участие в катализе химических реакций, происходящих в организме. Их недостаток может быть причиной серьезных расстройств метаболизма. В чрезмерно высокой концентрации они могут быть токсичны.

В организме взрослого человека содержится 3–5 г железа (3,5–4,0 г у женщин и 4,0–5,0 г у мужчин), при этом на долю гемоглобина приходится 65 %, миоглобина и ферментов — 15 %. Около 20 % железа хранится в депо (ферритин и гемосидерин), 0,1–0,2 % входит в состав транспортной формы — трансферрина.

Железо находится в различных соединениях либо в двух-, либо в трехвалентной форме. Оно может быть *гемовым* (в составе гема и других порфиринов) либо *негемовым* (в составе фермента аконитазы и железосерных белков). Последние принадлежат полиферментным комплексам системы тканевого дыхания.

Функции железа в организме:

- 1) в составе гемоглобина принимает непосредственное участие в транспорте кислорода в крови;
- 2) в составе миоглобина — во внутриклеточном связывании и депонировании кислорода;
- 3) в составе цитохромов, FeS-белков осуществляет транспорт электронов в оксигеназном и оксидазном путях утилизации кислорода;
- 4) участвует в формировании активных центров оксидаз, гидроксилаз, пероксидаз, каталаз;
- 5) связывается с транспортными (трансферрин, лактоферрин) и депонирующими (ферритин, гемосидерин) белками;
- 6) ионы двухвалентного железа (Fe^{2+}) проявляют прооксидантные свойства.

Всасывание. При попадании в желудок под действием HCl желудочного сока железо высвобождается из компонентов пищи. Всасывание происходит в проксимальном отделе тонкого кишечника в количестве около 1,0–2,0 мг/сут (10–15 % железа пищи) в виде *двухвалентного* иона, в то время как с пищей поступает преимущественно *трехвалентное* железо. Для восстановления Fe^{3+} в Fe^{2+} используются аскорбиновая и соляная кислоты. В составе мясных продуктов железо находится в двухвалентной гемовой форме и поэтому хорошо всасывается.

Перемещение ионов через апикальную мембрану энтероцита происходит тремя путями (рис. 10.4):

- 1) *негемовое Fe(III)* взаимодействует с белком — интегрином и при помощи другого белка — *мобилферрина* перемещается в цитозоль;

10.2. Минеральные вещества также незаменимы для организма

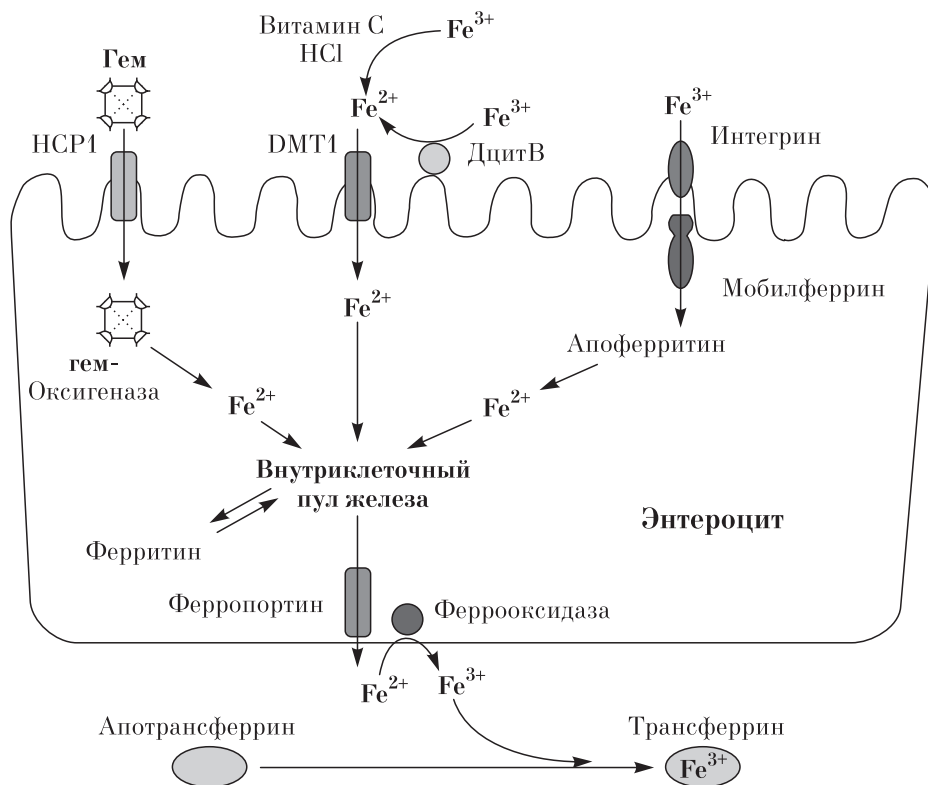


Рис. 10.4. Механизмы всасывания железа в кишечнике

2) *негемовое Fe(III)* восстанавливается до *Fe(II)* при помощи аскорбиновой кислоты, соляной кислоты или при участии ферроредуктазы (ДцитВ — дуоденальный цитохром *b*) и далее переносится внутрь белком *DMT-1* (англ. divalent metal transporter-1);

3) *гемовое железо* связывается с белком *HCP1* (англ. heme carrier protein 1) на поверхности мембраны энтероцита и в цитозоле высвобождается из гема при действии гемоксигеназы.

Из мясных продуктов всасыванию подвергается 20–30 % железа, из яиц и рыбы — 10–15 %, из растительных продуктов — 1–5 %. Наличие в пище фитиновой кислоты (сухие завтраки, растительные продукты), кофеина и танина (чай, кофе, напитки), фосфатов, оксалатов (растительные продукты) ухудшает всасывание железа, так как образуются нерастворимые комплексы.

После всасывания формируется пул внутриклеточного железа Fe^{2+} . В зависимости от насыщенности трансферрина железом оно может остаться в клетке в составе ферритина, который обладает оксидазной активностью и образует Fe^{3+} , или выйти из клетки, окисляясь *гефестином* (феррооксидазой) до Fe^{3+} , в кровотоке при помощи белка — *ферропортина*, и связаться в таком виде (Fe^{3+})

с *трансферрином* (см. рис. 10.4). В крови железо находится только в составе трансферрина, который является гетерогенным гликопротеином. Каждая молекула этого белка связывает два атома Fe^{3+} . Наряду с функцией транспортера железа, трансферрин в крови играет роль буфера для защиты тканей от токсического действия свободных ионов железа. Кроме того, он уменьшает выведение железа с мочой.

После связывания со специфическим мембранным рецептором трансферрин с железом поступает в клетку. После высвобождения железа рецептор трансферрина возвращается в плазматическую мембрану. Одновременно из клетки высвобождается апотрансферрин, способный связывать в кровотоке новые ионы железа.

Основным потребителем железа, транспортируемого трансферрином, выступают клетки костного мозга (эритробласты), где происходит синтез гемоглобина и железосерных белков. Значительно меньшая часть используется для биосинтеза ферментов или запасается в депо.

Роль депо железа выполняет *ферритин*. Он содержится в клетках печеночной паренхимы, в ретикулоэндотелиальных клетках костного мозга и селезенки. Ферритин представляет собой белок апоферритин, связанный с Fe^{3+} . Апоферритин состоит из 24 субъединиц, формирующих 6 каналов, через которые в центральную часть молекулы поступают ионы железа. Одна молекула белка может заключать в себе до 4,5 тыс. атомов железа. Ферритин способен запасать до 23 % (от своей массы) железа в виде фосфата или гидроксида.

Из ферритина железо высвобождается только после разрушения белка при участии лизосом или протеасом, при этом сначала восстанавливается в Fe^{2+} . При выходе из клетки Fe^{2+} окисляется медьсодержащими ферментами феррооксидазой-1 (церулоплазмин) и феррооксидазой-2 до Fe^{3+} для связывания с апотрансферрином.

Возможности депонирования с помощью ферритина ограничены и при наличии большого количества железа микроэлемент содержится в клетке в виде нерастворимого в воде комплекса — *гемосидерина*, который может накапливать до 35 % (от своей массы) гидроксида железа, образуя в клетках видимые в микроскоп гранулы. В состав гемосидерина, помимо ферритина, входят также нуклеотиды, липиды и углеводы. Оба депо служат источником железа, в том числе при кровопотерях, повышенном эритропоэзе, однако из гемосидерина металл мобилизуется намного медленнее.

Железо выводится из организма главным образом с мочой, желчью и слюной. Особенностью обмена железа является неспособность организма выделять (экскретировать) его большие количества.

Регуляция внутриклеточного обмена железа. В гемоглобинсинтезирующих ретикулоцитах костного мозга поступление, накопление и внутриклеточный обмен железа определяются совместным действием рецептора трансферрина, ферритином и синтазой δ -аминолевулиновой кислоты (ключевой фермент синтеза гема). Особую роль в этих процессах играет железосерный белок (ES-BP),

10.2. Минеральные вещества также незаменимы для организма

идентичный аконитазе. При низкой концентрации железа в клетке ES-BP связывается с определенным участком матричной РНК рецептора трансферрина и стимулирует синтез последнего. В результате содержание рецепторов трансферрина в клетке увеличивается и становится возможным дополнительное поступление железа в клетку.

Дефицит железа. В норме имеется четкое соответствие между всасыванием железа и его выведением. С 1 мл крови организм теряет около 0,5 мг железа (при концентрации гемоглобина 15 г/100 мл). Поэтому недостаток железа может возникать при потреблении бедной железом пищи, нарушении всасывания и хронической кровопотере. В результате снижается интенсивность синтеза гемоглобина (*железодефицитная анемия*) и его количество в эритроцитах уменьшается (*гипохромная анемия*); нарушаются также другие метаболические процессы, в которых принимает участие железо.

Избыток железа в организме. Железо накапливается в клетках при неадекватном его поступлении в организм (переливание крови) или снижении интенсивности выделения из организма. В этих случаях возникает избыток железа, который запасается в виде гемосидерина в клетках ретикулоэндотелиальной системы или в клетках паренхиматозных органов (печени, селезенки). Увеличение накопления железа без повреждения тканей называется *гемосидерозом*. Гемосидероз часто наблюдается при алкогольном повреждении печени.

Ежедневная потребность в железе для взрослых людей составляет 1–2 мг, при беременности — 2–4 мг. Поскольку всасыванию подвергается лишь около 10 % содержащегося в пище железа, его потребление (около 25 мг) должно существенно превышать суточную потребность. Наиболее богато железом мясо. Железо, содержащееся в рыбных продуктах, всасывается в 2 раза хуже.

Медь

Медь содержится во всех тканях организма. Общее количество меди у человека — 40–80 мг. Медь всасывается клетками кишечника при участии мембранного транспортера меди — белка СМТ1 (англ. copper membrane transporter 1). Всасывание и последующий метаболизм меди во многом зависят от адекватных поступлений цинка и марганца. Цинк может конкурировать с медью при всасывании в энтероциты.

В мембранах гепатоцитов, кроме СМТ1, содержатся белки металлотронеины и АТОХ1, которые обеспечивают поступление меди в гепатоцит. Покидают гепатоцит ионы меди при помощи другого белка, названного АТР7В, который способствует связыванию ионов меди с церулоплазмином и высвобождению его в кровоток. Около 90 % меди плазмы крови связано с церулоплазмином. Он имеет голубую окраску и обеспечивает перенос ионов меди к тканям. Наряду с этим, церулоплазмин обладает оксидазной активностью.

Часть меди из печени секретируется в желчный пузырь и удаляется через кишечник. Незначительное количество меди выделяется с мочой.

Роль меди в обмене веществ. Благодаря высокому редокс-потенциалу медь-содержащие оксидазы способны переносить электроны на молекулу кислорода. Медь входит в состав таких ферментов, как цитохромоксидаза (фермент дыхательной цепи), моноаминоксидаза (обезвреживание биогенных аминов), церулоплазмин, каталаза (обезвреживание пероксида водорода), тирозиназа (синтез меланина), супероксиддисмутаза (обезвреживание супероксидного радикала кислорода), лизилоксидаза (синтез коллагена и эластина).

Ежедневная потребность в меди составляет 2–3 мг. При недостатке меди в рационе может наблюдаться клиническая картина железодефицитной анемии, так как медь непосредственно участвует в метаболизме железа.

Основные пищевые источники меди — рыба, печень, ржаной хлеб, черная смородина.

Цинк

В организме человека содержится 2–3 г цинка, причем 99 % находится внутри клеток. Наиболее высокая концентрация металла обнаружена в β -клетках поджелудочной железы, где он принимает участие в депонировании инсулина, в предстательной железе и яичках. Цинк содержится в сперме, где он выполняет роль стабилизатора хроматина, в радужной и сетчатой оболочке глаза (кофактор ретинолдегидрогеназы, катализирующей превращение ретинола в ретиналь).

Цинк всасывается в тонкой и подвздошной кишках. Тормозят всасывание фитаты (поступают в организм с молочными продуктами). В крови он связывается с белками плазмы, в основном с альбумином, а также с α_2 -макроглобулином. Концентрация цинка в плазме составляет 15–20 мкмоль/л. Выделение цинка из организма происходит преимущественно через кишечник.

Участие цинка в метаболизме можно оценить исходя из того обстоятельства, что свыше 10 % генома человека кодируют белки, содержащие цинк:

1) основное количество (75 %) цинка крови приходится на эритроциты (он входит в состав карбангидразы);

2) 3 % его содержится в лейкоцитах (в составе фермента фосфатазы);

3) цинк является кофактором и других ферментов — панкреатической карбоксипептидазы, глутамат-, малат-, лактатдегидрогеназ, алкогольдегидрогеназы и др.;

4) путем образования координационных связей он стабилизирует четвертичную структуру белков, тем самым обеспечивает благоприятные условия для химического катализа;

5) цинк является составной частью ДНК-связывающих белков;

6) он служит стабилизатором мембран, является активатором тимулина — пептида, стимулирующего активность Т-лимфоцитов.

Приобретенный дефицит цинка (при остром воспалении, заболеваниях кишечника, печени и др.) приводит к расстройствам гуморального и клеточного

10.2. Минеральные вещества также незаменимы для организма

иммунного ответа, нарушению барьерной функции кожи, бесплодию, импотенции и выпадению волос. Развивается «куриная слепота», снижается обоняние.

Суточная потребность в цинке составляет 10–15 мг. При полноценном питании дефицит цинка не наблюдается, но при вегетарианской диете всасывание цинка снижается из-за образования его нерастворимых соединений с фитатами.

Хронический дефицит цинка с младенческого возраста приводит к развитию болезни Прасада, типичные проявления которой — карликовый рост, а также сниженный синтез и секреция половых гормонов.

Селен

Роль селена в метаболизме. Селен — мощный антиоксидант, функцию «защитника» от свободнорадикальной деструкции тканей и жидкостей организма может выполнять как самостоятельно (например, защищая SH-группы от окисления), так и в составе глутатионпероксидазы (металл входит в ее активный центр). Глутатионпероксидаза является важнейшим звеном ферментативной антиоксидантной системы организма, обезвреживающей пероксиды липидов, которые образуются в реакциях ПОЛ клеточных мембран. С антиоксидантными свойствами селена связано и его антиканцерогенное действие.

Селен — составная часть тироксин-5'-дейодазы, обеспечивающей синтез трийодтиронина. Таким образом, наряду с йодом, он принимает участие в метаболизме гормонов щитовидной железы.

Ежедневно в организм должно поступать с пищей 100 мкг селена, доза до 500 мкг/сут не превышает безопасный для здоровья уровень, но свыше 1500 мкг может быть токсичной.

Хроническая недостаточность селена проявляется кардиомиопатией, способной провоцировать приступы стенокардии и инфаркт миокарда. Нередко дисфункция щитовидной железы связана не с недостаточностью йода, а с дефицитом селена в организме.

В Беларуси отмечена недостаточность селена в пищевом рационе. Основные источники селена — печень, почки, яйца, морская рыба, моллюски, ракообразные. Для всасывания селена в кишечнике необходим метионин, которым богат творог.

Марганец

В организме содержится 10–15 мг марганца. Всасываясь из кишечника (не более 4 % от поступающего с пищей), марганец связывается в крови с β-глобулинами. Из кровотока он быстро поступает в клетки тканей и используется в основном в митохондриях. Поэтому ткани, богатые митохондриями, имеют относительно высокую концентрацию марганца. Основное депо

этого микроэлемента — костная ткань, а выделение из организма осуществляется в составе желчи с помощью кишечника.

Роль марганца в метаболизме:

1) необходим для активации ферментов: пируваткарбоксилазы и фосфоенолпируваткарбоксикиназы (глюконеогенез); аргиназы (синтез мочевины); изоцитратдегидрогеназы (цикл Кребса);

2) Mn^{2+} входит в состав активного центра митохондриальной супероксид-дисмутазы — важнейшего фермента антиоксидантной защиты;

3) участвуя в синтезе протеогликанов, марганец играет важную роль в обмене хрящевой и костной тканей.

Марганец как двухвалентный катион может заменять Mg^{2+} во многих реакциях, в частности в ДНК-полимеразной, при синтезе молекулы ДНК. Однако такая замена неравноценна. Синтез ДНК при этом осуществляется быстро, но с многочисленными ошибками.

Йод

Йод необходим для синтеза гормонов щитовидной железы — тироксина и трийодтиронина. Щитовидная железа активно захватывает из крови йод (I) и при участии йодидпероксидазы окисляет его в I_2 , который необходим для йодирования аминокислоты тирозина, используемого в синтезе тиреоидных гормонов.

Уменьшение поступления йода в организм приводит к развитию *зоба* — компенсаторному увеличению щитовидной железы. Увеличение массы железистой ткани на какое-то время обеспечивает поддержание необходимой концентрации тиреоидных гормонов в крови, однако продолжающийся дефицит йода приводит к развитию гипотиреоза.

Ежедневно в организм должно поступать с пищей 100–200 мкг йода. Основные источники этого микроэлемента — морепродукты (например, в камбале содержание йода достигает 60 мкг/100 г, в то время как в карпе — всего 6 мкг/100 г). Особенно много йода содержится в морской капусте (ламинарии).

В Беларуси значительное число регионов относится к йододефицитным. Поэтому в целях профилактики йодной недостаточности у населения йод добавляют в поваренную соль.

Кобальт

Содержание кобальта в организме человека составляет приблизительно 1–2 мг. Он быстро всасывается в кишечнике и быстро выводится из организма.

Известной функцией кобальта является его участие в построении кобаламина — витамина B_{12} . Установлено также, что кобальт ускоряет всасывание железа в кишечнике.

10.2. Минеральные вещества также незаменимы для организма

Фтор

Фтор содержится в пищевых продуктах, напитках и воде. Поступивший фтор в желудочно-кишечном тракте подвергается полному всасыванию.

Основным органом выделения фтора являются почки. В очень незначительном количестве он выводится из организма в составе кала, с потом и слюной.

У взрослого человека 99 % общего количества фтора находится в костях и зубах в виде фторапатита, остальное количество — в других тканях и межклеточной жидкости.

Биологическая роль фтора:

1) участвует в построении минерального матрикса костей и зубов, где находится в составе труднорастворимого фторапатита, который образуется путем обмена фтора на ионы Cl^- и OH^- в кристаллах хлор- и гидроксиапатитов. При недостатке фтора уменьшается содержание фторапатита в скелете, что является одной из важных причин развития остеопороза. Однако фтор ингибирует специфическую фосфотирозинфосфатазу остеобластов, поэтому избыток его, так же как и недостаток, нарушает структуру кости;

2) стимулирует *реминерализацию* костей и зубов. В ходе реминерализации происходит восполнение дефектного разрыхления кости за счет поступления туда кальция и фосфора. Поскольку *деминерализация* зуба ведет к кариесу, фтор проявляет антикариозный эффект: замещает OH^- -ион из гидроксиапатита, и минерал приобретает устойчивость к органическим кислотам, образуемым микроорганизмами;

3) проявляет защитный эффект: способен блокировать один из ферментов гликолиза — *енолазу* микроорганизмов. В результате прекращается синтез *лактата*, способствующего снижению pH ротовой жидкости и деминерализации эмали зубов.

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) в 1994 г. разработала рекомендации относительно потребления фтора. Согласно им, оптимальная суточная потребность во фторе составляет около 4 мг/сут. Источником для ее удовлетворения является вода — 1,2 мг (30 % от потребности), пища — 2,0 мг (50 %) и воздух — 0,8 мг (20 %). Поэтому в жарких странах концентрация фтора в воде должна составлять 0,5–0,8 мг/л, с умеренным климатом — 0,8–1,0 мг/л, в северных широтах — 1,0–1,2 мг/л. Из продуктов животного происхождения наиболее богаты фтором морская рыба и печень. В растительных продуктах его немного.

Концентрацию F измеряют в мг/л или в ppm (англ. parts per million): 1 мг/л = 1 ppm. В Республике Беларусь в воде, в среднем, содержится 0,2 ppm фтора, в употребляемых продуктах — 0,6 ppm, в воздухе — 0,5 ppm. Таким образом, жители Беларуси получают около 1,9 мг фтора/сут, что ниже суточной потребности.

Наиболее богаты фтором морепродукты, зеленый и черный чай, красное вино. Для профилактики кариеса используется фторированная зубная паста.

Однако избыточное поступление фтора приводит к *флуорозу*. Это заболевание, которое носит также название *пятнистая эмаль*, развивается при длительном приеме внутрь воды или продуктов с повышенным содержанием соединений фтора или при поступлении фтора из воздуха в загрязненной атмосфере. Заболевание носит эндемический характер и проявляется повышенной хрупкостью зубов, они легко крошатся и безболезненно стираются до корней. В тяжелых случаях поражаются кости скелета.

10.3. Регуляция водно-минерального обмена

Важнейшими параметрами водно-солевого гомеостаза являются осмотическое давление, pH, объем внутриклеточной и внеклеточной жидкости. Изменение этих параметров может привести к изменению артериального давления, ацидозу или алкалозу, дегидратации и отекам тканей. В тонкой регуляции водно-солевого баланса принимают участие антидиуретический гормон (АДГ), альдостерон, компоненты ренин-ангиотензиновой системы и предсердный натрийуретический фактор (ПНФ).

Антидиуретический гормон (АДГ), или **вазопрессин**, — олигопептид с молекулярной массой около 1100 а.е.м., содержащий 9 аминокислот, соединенных одним дисульфидным мостиком. Он синтезируется в нейронах гипоталамуса и поступает оттуда в нервные окончания задней доли гипофиза (нейрогипофиз). Повышение концентрации ионов натрия и увеличение осмотического давления внеклеточной жидкости вследствие снижения потребления воды или ее потери при сильном потоотделении, потреблении большого количества поваренной соли увеличивают секрецию АДГ (рис. 10.5).

Под влиянием АДГ увеличивается реабсорбция воды в почках и моча становится более концентрированной. Задержка таким путем воды в организме

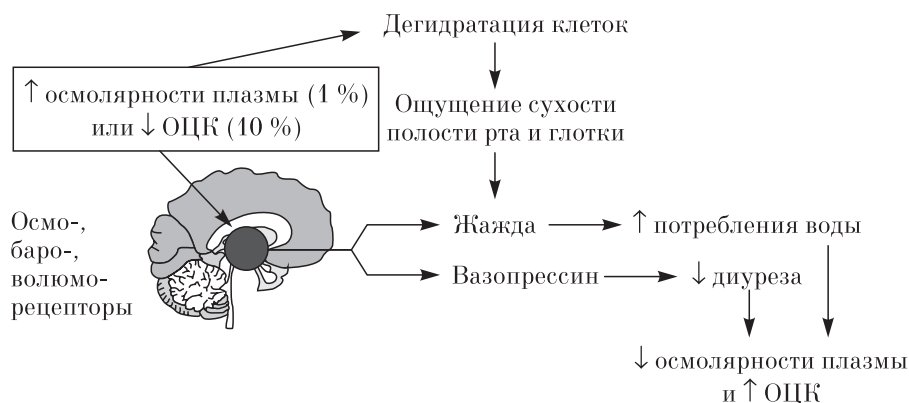


Рис. 10.5. Схема, иллюстрирующая механизм регуляции секреции АДГ (ОЦК — объем циркулирующей крови)

10.3. Регуляция водно-минерального обмена

способствует снижению осмолярности внеклеточной жидкости. Одновременно раздражаются рецепторы, чувствительные к уменьшению объема протекающей крови (*волюморепцепторы*). Они локализованы в предсердиях.

Рецепторы АДГ относятся к семейству рецепторов, сопряженных с тримерными G-белками. Различают два типа таких рецепторов: V_1 и V_2 . Рецепторы V_2 (группа G_s) расположены главным образом на базолатеральной мембране клеток собирательных трубочек и дистальных канальцев, которые относительно непроницаемы для молекул воды. Связывание АДГ с V_2 -рецепторами стимулирует аденилатциклазную систему и активирует ПКА, которая катализирует фосфорилирование аквапоринов 2, обычно встроенных в мембраны везикул, расположенных в цитозоле (рис. 10.6). Аквапорин 2 перемещается к апикальной мембране собирательных канальцев, встраивается в нее, образуя водные каналы. Это обеспечивает избирательную проницаемость мембраны клеток для воды, которые свободно диффундируют в клетки почечных канальцев и затем поступают в интерстициальное пространство. Результатом действия является усиление реабсорбции воды из почечных канальцев и снижение объема выделяемой мочи (антидиуретический эффект). В отсутствие АДГ вода не реабсорбируется и может выделяться в количестве, превышающем 20 л в сутки.

Рецепторы типа V_1 относятся к группе $G_{q/11}$ -рецепторов и встроены в мембраны гладкомышечных клеток сосудов. Взаимодействие АДГ с V_1 -рецептором вызывает активирование фосфолипазы C, которая катализирует гидролиз фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата в составе цитозольной мембраны с образованием инозитолтрифосфата и диацилглицерола (см. п. 8.9.2). Инозитолтрифосфат является лигандом рецепторов кальциевых каналов ЭР. Он стимулирует высвобождение Ca^{2+} в цитозоль, что вызывает сокращение гладкомышечного слоя сосудов. Этот эффект АДГ проявляется при высокой концентрации гормона. Поскольку сродство АДГ к рецептору V_2 выше, чем к рецептору V_1 , при физиологической концентрации гормона в основном проявляется его антидиуретическое действие (см. рис. 10.6).

Заболевание «несахарный диабет» (мочеизнурение) может служить примером нарушения функции сигнальной системы с участием вазопрессина. Оно сопровождается большой потерей воды, которая может привести к дегидратации организма.

Нефрогенный несахарный диабет возникает вследствие мутации гена рецептора АДГ типа V_2 (наследственная форма), следствием которого является неспособность почек реагировать на гормон. Несахарный диабет проявляется гипотонической полиурией (выделение большого количества мочи низкой плотности). Это сопровождается жаждой и усиленным потреблением воды.

Другой механизм регуляции объема внеклеточного жидкостного пространства осуществляется посредством гормона *альдостерона*. Механизм, опосредованный альдостероном, представляет собой многоступенчатый процесс. Он включает еще ряд других биологически активных соединений, в частности ренин

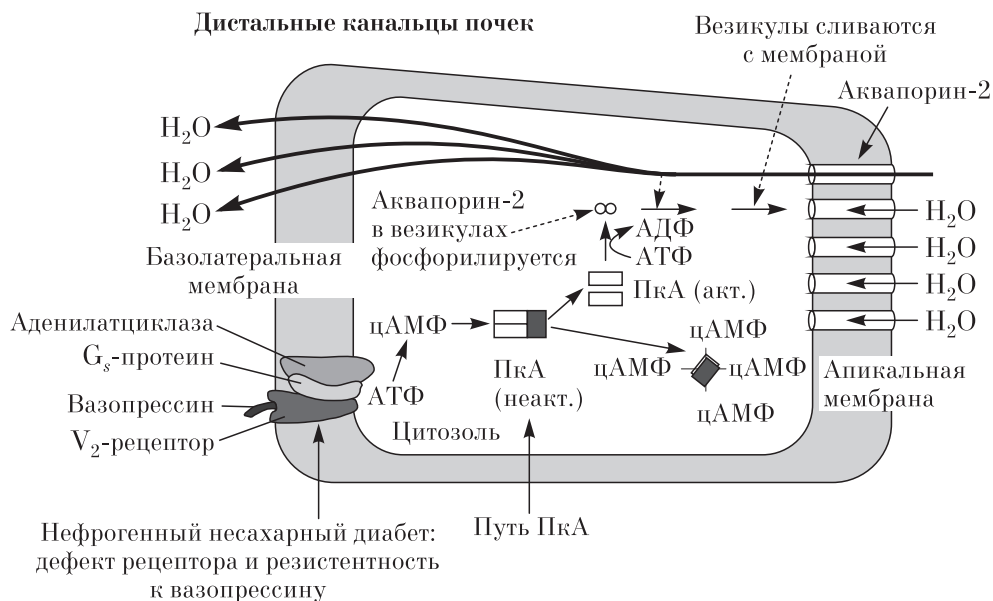
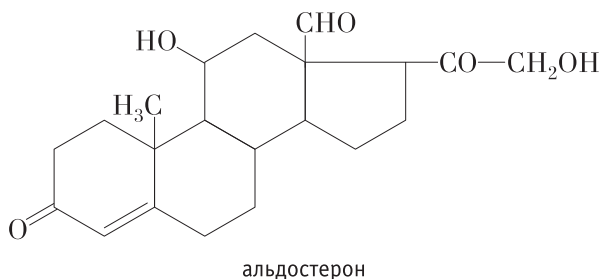


Рис. 10.6. Механизм действия вазопрессина на клетки дистальных канальцев почек (пояснение в тексте)

и ангиотензин. Поэтому более точное его название — *ренин-ангиотензин-альдостероновый механизм*.

Альдостерон относится к стероидным гормонам, так как он синтезируется из холестерина в клетках клубочкового слоя коры надпочечников.



Активаторами его синтеза и секреции являются снижение уровня Na^+ и повышение уровня K^+ в крови, снижение объема циркулирующей крови и (или) артериального давления.

Механизм действия альдостерона состоит в прямом влиянии на генетический аппарат ядра клеток со стимуляцией синтеза соответствующих РНК и активации синтеза транспортирующих катионы белков. Клетками-мишенями альдостерона является эпителий корковой части собирательных трубочек.

10.3. Регуляция водно-минерального обмена

Альдостерон увеличивает реабсорбцию натрия в дистальных отделах нефрона и вызывает экскрецию ионов калия и водорода. Конечным результатом действия минералокортикоидов является увеличение объема циркулирующей крови и повышение артериального давления.

Альдостерон, взаимодействуя с внутриклеточными рецепторами, стимулирует синтез белков. Эти белки могут быть:

- компонентами натриевых каналов и увеличивать реабсорбцию Na^+ из мочи;
- ферментами ЦТК, активность которых обеспечивает продукцию АТФ;
- Na^+/K^+ -АТФазой — насосом, который поддерживает низкую внутриклеточную концентрацию ионов натрия и высокую концентрацию ионов калия.

Важное место в регуляции синтеза и секреции альдостерона занимает *ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС)* (рис. 10.7). Под действием ренина (протеаза, секретируемая почками) один из белков в составе α -глобулиновой фракции плазмы крови — ангиотензин I превращается в ангиотензин II. Это превращение (удаление с С-конца дипептида) катализирует ангиотензинпревращающий фермент (АПФ).

Ангиотензин II стимулирует выделение надпочечниками альдостерона. Другим важным действием ангиотензина II в организме является снижение кровяного давления. Восстановление объема циркулирующей плазмы крови приводит к снижению секреции ренина. Дальнейшее расщепление ангиотензина II приводит к образованию ангиотензина III и других неактивных пептидов.

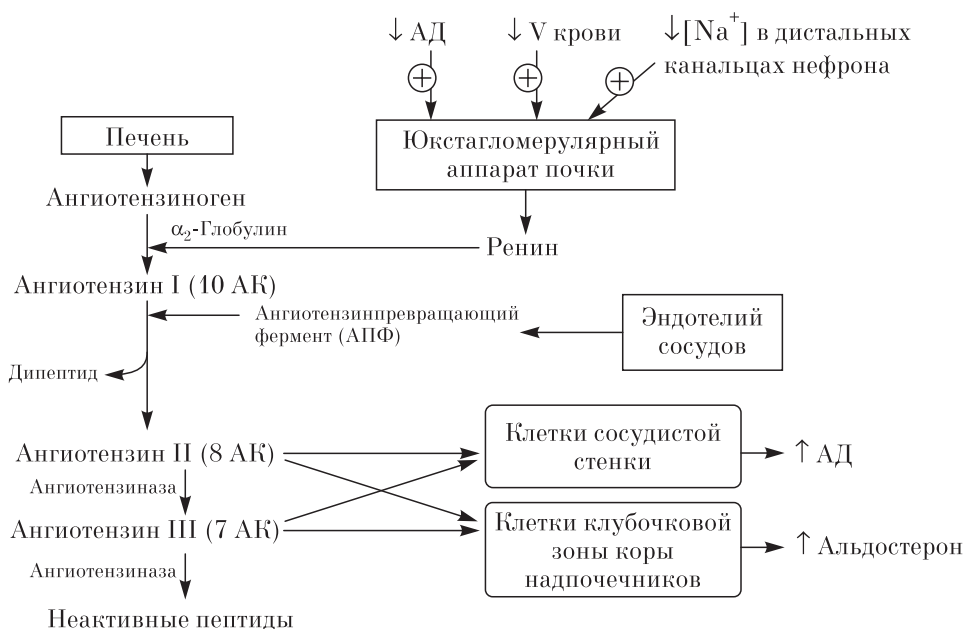


Рис. 10.7. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система

Еще одним свойством ангиотензина II является возбуждение в мозге так называемого *питьевого центра*, или *центра жажды*. Жажда возникает при повышении осмолярности внеклеточной жидкости. Вслед за возникновением ощущения жажды следует потребление воды. Это ведет к нормализации водного баланса.

Важным участником регуляции водно-минерального обмена является *предсердный натрийуретический пептид (НУП)*, который секретируется клетками предсердий при их растяжении вследствие увеличения объема крови. Воздействуя на клетки собирательных трубочек, он способствует увеличению почечной экскреции Na^+ и, следовательно, воды. Механизм действия НУП описан в главе 8 «Гормоны. Механизмы передачи гормональных сигналов».

10.4. Регуляция обмена кальция и фосфора

Концентрация Ca^{2+} в плазме регулируется с высокой точностью. Ее изменение всего на 1 % приводит в действие гомеостатические механизмы, восстанавливающие равновесие. В поддержании гомеостаза кальция принимают участие три основных регулятора: паратиреоидный гормон (паратгормон), витамин D и кальцитонин.

Наиболее важным регулятором является *паратгормон (ПТГ)*. Этот белок (84 аминокислотных остатка) секретируется паращитовидными железами в ответ на снижение содержания в плазме несвязанного кальция и магния. ПТГ синтезируется в форме предшественника. В состав его молекулы входит 115 аминокислотных остатков. В аппарате Гольджи происходит удаление сигнального пептида. Оттуда новообразованный ПТГ может переноситься для хранения или секретироваться в кровь.

Секреция гормона в кровь зависит от уровня ионов кальция. При увеличении его в крови пропорционально снижается количество ПТГ. Органами-мишенями для ПТГ являются почки и костная ткань. Здесь клетки снабжены специальными рецепторами, с которыми связывается этот гормон.

Паратгормон стимулирует резорбцию костной ткани и регулирует реабсорбцию кальция в почечных канальцах, предотвращая его потерю с мочой.

Влияя на выход кальция из костей, паратирин одновременно увеличивает и выход фосфатов. При этом, в отличие от кальция, происходит усиленное выведение фосфатов почками (*фосфатурия*). То есть, ПТГ, увеличивая уровень кальция, снижает концентрацию фосфатов в крови. Более подробная информация о действии паратгормона приведена в главе 15 «Биохимия костной ткани».

Кроме того, ПТГ стимулирует образование активной формы витамина D (кальцитриола). Как уже упоминалось ранее, кальцитриол образуется из витамина D_3 (холекальциферола) путем последовательного гидроксирования в печени (в положении C_{25}) и почках (в положении C_1). Активность фермента

10.4. Регуляция обмена кальция и фосфора

α_1 -гидроксилазы, катализирующего гидроксилирование в почках, регулируется паратрином. Следовательно, всасывание кальция из кишечника, опосредованное витамином D₃, также зависит от этого гормона.

Происхождение, механизм действия и регуляторная способность **кальцитриола** (дигидроксихолекальциферола, 1,25-(ОН)₂-D₃) подробно рассматривалась в главе 9 «Биохимия питания». Конечный его эффект заключается в нарастании уровня кальция и фосфатов в крови.

Кальцитонин является полипептидом (32 аминокислотных остатка) и секретируется С-клетками щитовидной железы. Регулятором его секреции выступает повышение концентрации Ca²⁺ в крови более 2,25 ммоль/л. Основной эффект гормона заключается в снижении уровня кальция и фосфора в крови. Свое действие он реализует путем связывания с 7-ТМС-(R) и последующей активации аденилатциклазы и фосфолипазы С. Кальцитонин ускоряет минерализацию *костной ткани* и стимулирует включение в нее фосфора. В *почках* гормон усиливает выведение кальция с мочой, но не фосфатов. Кальцитонин ингибирует активность и уменьшает количество остеокластов (см. главу 15 «Биохимия костной ткани»).

11

Биохимия крови

Химический состав крови отражает состояние обменных процессов в организме. Поэтому различные заболевания сопровождаются изменением содержания в крови тех или иных метаболитов, активности ферментов. Биохимический анализ крови проводится как с целью диагностики заболеваний, так и прогнозирования их течения, оценки эффективности проводимого лечения. Врач-стоматолог в своей практике нередко сталкивается с проблемой остановки кровотечения, причинами которого могут быть как непосредственное повреждение целостности ткани (эрозия сосудов, травматизация мягких тканей при удалении зубов, повреждение крупных сосудов при переломах лицевого скелета и др.), так и сопутствующие заболевания (гипертония, цирроз печени, гемофилия и др.). Болезни крови и органов кроветворения часто сопровождаются изменением слизистой оболочки полости рта, которое проявляется раньше, чем другие клинические признаки основного заболевания. Это заставляет пациентов первоначально обращаться за стоматологической помощью.

11.1. Свойства и функции крови

Кровь — жидкая подвижная соединительная ткань организма. Ее общий объем у взрослого человека составляет 5–6 л. Относительная плотность цельной крови колеблется от 1,050 до 1,064 г/см³, плазмы крови — от 1,024 до 1,030 г/см³. Благодаря высокому содержанию белков и эритроцитов кровь обладает значительной вязкостью, которая в 4–5 раз выше вязкости воды. Осмотическое давление плазмы крови определяется осмотической концентрацией, т.е. суммой всех частиц, находящихся в единице объема, — около 7,5 атм. При этом на долю онкотического давления, которое обусловлено суммарной концентрацией белков плазмы, приходится около 0,03 атм. (25–30 мм рт. ст.).

Благодаря работе сердца кровь циркулирует по замкнутой системе кровеносных сосудов и осуществляет различные функции:

- транспорт различных химических веществ. Кровь переносит кислород из легких к тканям и углекислый газ — из тканей в легкие в составе гемоглобина эритроцитов; доставляет продукты переваривания пищи из кишечника в ткани, а конечные продукты обмена — из тканей в выделительные

11.2. Состав крови

органы; перемещает промежуточные продукты обмена веществ, синтез и использование которых происходит в разных органах; доставляет гормоны от органов внутренней секреции к тканям-мишеням;

- поддержание постоянства температуры тела в разных его частях;
- поддержание кислотно-щелочного и водного баланса организма;
- защитная функция. Клетки крови — лейкоциты — обеспечивают клеточный иммунитет. Антитела, содержащиеся в плазме крови, обеспечивают гуморальный иммунитет. Кроме того, кровь обладает способностью свертываться и образовывать тромб, который закупоривает просвет поврежденного сосуда и останавливает кровотечение;

- резервная функция. Белки плазмы крови могут служить источником аминокислот.

11.2. Состав крови

Кровь состоит из жидкой части — **плазмы**, составляющей 55 % ее общего объема, и **форменных элементов**, к которым относят *эритроциты* (красные клетки), *лейкоциты* (белые клетки) и *тромбоциты*. Путем центрифугирования можно отделить форменные элементы от плазмы (рис. 11.1). Среди клеток крови преобладают эритроциты (45–50 % объема) крови. Остальные форменные элементы занимают только 5 % объема.

Объемные соотношения между форменными элементами и плазмой называют **гематокритом**.

Плазма крови состоит из *воды* (90–93 %) и *сухого остатка* (7–10 %). В ней содержатся белки, углеводы, липиды, электролиты, органические кислоты и основания. Водный и электролитный состав плазмы соответствует составу внеклеточной жидкости. Химический состав растворимых в плазме крови веществ относительно постоянен (табл. 11.1).

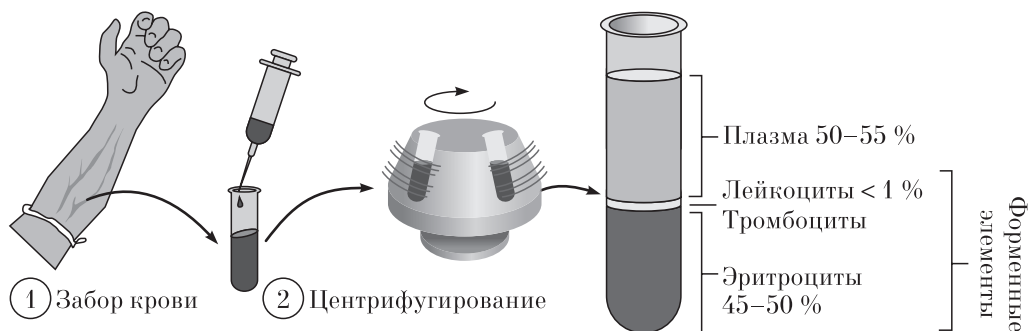


Рис. 11.1. Схематическое изображение разделения крови на жидкую часть (плазма) и форменные элементы

Таблица 11.1

Органические компоненты плазмы крови человека

Компонент	Плазма крови	Компонент	Плазма крови
Мочевина	2,5–8,3 ммоль/л	Холестерол	3,35–6,4 ммоль/л
Мочевая кислота	0,15–0,5 ммоль/л	Фосфолипиды	2,2–4,0 г/л
Креатинин	0,06–0,16 ммоль/л	Ацетон	0,2–0,6 ммоль/л
Креатин	0,08–0,11 ммоль/л	Ацетоацетат	0,05–0,19 ммоль/л
Азот аминокислот	2,9–4,3 ммоль/л	Молочная кислота	1,1–1,2 ммоль/л
Индиан	1–4 мкмоль/л	Пируват	0,07–0,14 ммоль/л
Глюкоза в цельной крови	3,3–5,5 ммоль/л	Лимонная кислота	0,10–0,15 ммоль/л
Глюкоза в плазме	3,9–6,1 ммоль/л	α -Кетоглутарат	0,02–0,07 ммоль/л
Пентозы	0,13–0,26 ммоль/л	Янтарная кислота	0,01–0,04 ммоль/л
Общие липиды	3,5–6,5 г/л	Билирубин общий	8,5–20,5 мкмоль/л
Триацилглицеролы	0,85–2,0 ммоль/л		

11.2.1. Белки плазмы крови и их функции

У взрослого здорового человека общее содержание белков в плазме составляет 65–85 г/л. Используя метод высаливания нейтральными солями, белки плазмы крови можно разделить на *три группы*: альбумины — 35–50 г/л, глобулины 20–30 г/л и фибриноген — 2–4 г/л. Обычным методом электрофореза в плазме крови обнаруживают *пять белковых фракций*: альбумин (55–65 %), α_1 -глобулины (2–4 %), α_2 -глобулины (6–12 %), β -глобулины (8–12 %) и γ -глобулины (12–22 %). Альбумин имеет наибольшую, а γ -глобулины — наименьшую подвижность в электрическом поле (рис. 11.2). Плазма крови, лишенная фибриногена, называется *сывороткой*.

При помощи современных методов электрофореза и иммуноэлектрофореза белки удастся разделить на более чем 30 фракций. Совокупность всех белков, содержащихся в плазме крови, называют *протеомом* плазмы крови. В рамках проекта изучения протеома было идентифицировано 7884 белков плазмы крови.

Белки плазмы крови синтезируются главным образом в печени. Там образуются альбумины, большинство α - и β -глобулинов, фибриноген, в то время как γ -глобулины плазмы крови синтезируются клетками селезенки, тимуса, костного мозга, лимфатических узлов.

Познакомимся с конкретными представителями белков плазмы крови.

Альбумин — главный простой белок плазмы крови человека (М.М. 66×10^3 а.е.м.). Он синтезируется в печени со скоростью 10–12 г/сут. Хорошо растворяется в воде, солевых растворах, кислотах и щелочах. Альбумины переносят ионы Ca^{2+} , жирные кислоты, билирубин, альдостерон, лекарственные вещества. Кроме того, альбумины играют важную роль в распределении воды

11.2. Состав крови

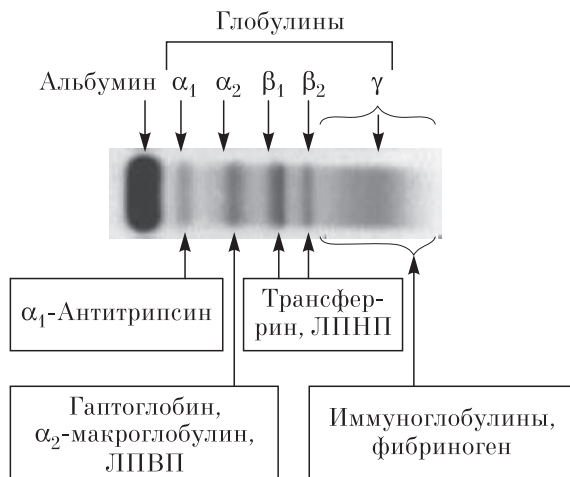


Рис. 11.2. Разделение белков плазмы крови на фракции методом электрофореза

в организме. Так как альбумины самые маленькие среди белков, но самые многочисленные, они на 80 % определяют коллоидно-осмотическое давление плазмы. Снижение количества белков в плазме приводит к выходу воды из сосудов и накоплению ее в межклеточных пространствах (отеки).

Церулоплазмин — медьсодержащий гликопротеин плазмы. Содержит 7–8 атомов меди, которые придают белку синий цвет. Обладает оксидазной активностью. Церулоплазмин катализирует окисление различных полифенолов, ароматических полиаминов и других веществ. Его оксидазные свойства проявляются при взаимодействии с аскорбиновой кислотой, соединениями двухвалентного железа.

Трансферрин — β_1 -гликопротеин плазмы крови. Состоит из двух одинаковых доменов, каждый из которых связывает по одному атому трехвалентного железа. С трансферрином могут связываться и другие металлы: Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cr^{3+} , Co^{3+} , Mn^{3+} , Cd^{3+} .

Гаптоглобин — гликопротеин плазмы крови, который специфически связывает внеклеточный гемоглобин (Hb), образуя с ним прочный нековалентный комплекс, не способный пройти через капилляры клубочка почек. Гаптоглобин таким образом предотвращает попадание свободного Hb в почки. Одна молекула гаптоглобина связывает одну молекулу гемоглобина.

Фибриноген, протромбин, некоторые другие факторы свертывания крови входят в группу белков системы гемостаза (белки, которые обеспечивают остановку кровотечения), а **плазминоген, активаторы и ингибиторы плазминогена** участвуют в «растворении» сформированного сгустка крови (фибринолизе).

В **систему комплемента** входит более 20 белков сыворотки крови, которые свободно циркулируют в крови в форме неактивных компонентов. В результате ограниченного протеолиза из них образуются различные *фрагменты си-*

стемы комплемента, которые способны активировать другие белки и вызывать изменение тонуса и проницаемости сосудов, хемотаксис клеток и их взаимодействие между собой, обеспечивать защиту от внешних патогенных факторов.

В регуляции тонуса кровеносных сосудов, кровяного давления, в процессах формирования воспалительного ответа, гемокоагуляции принимают участие белки *калликреин-кининовой системы* (калликреины, высокомолекулярный кининоген), *ангиотензиноген*, *ангиотензинпревращающий фермент*.

α_1 -Антитрипсин и α_2 -макроглобулин по химической структуре относятся к гликопротеинам. Синтезируются в печени, откуда секретируются в кровь, где замедляют активность широкого спектра протеаз. При недостатке этих белков развиваются нарушения в системах свертывания, фибринолиза и др.

γ -Глобулины (иммуноглобулины) выполняют функцию антител. Являясь гликопротеинами, они синтезируются клетками из семейства В-лимфоцитов. Их молекулы состоят из двух идентичных легких (L) и двух тяжелых (H) полипептидных цепей, связанных в форме тетрамера дисульфидными мостиками. Тип тяжелой (H) цепи определяет *класс* иммуноглобулина и его функциональные особенности. Известно пять классов γ -глобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, содержащих соответственно α -, δ -, ϵ -, γ - и μ -типы H-цепи (рис. 11.3).

Иммуноглобулины A (IgA) составляют 10–15 % от общего количества. Они преобладают в секретах желез слизистых оболочек.

Иммуноглобулины D (IgD) составляют около 0,2 % от общего количества иммуноглобулинов. Функционируют почти исключительно в качестве мембранных рецепторов для антигенов.

Иммуноглобулины E (IgE) составляют около 0,2 % от общего количества иммуноглобулинов. Защищают слизистые оболочки, контактирующие с окружающей средой. Они прикрепляются к специфическим рецепторам поверхности тучных клеток и базофилов. Если здесь происходит связывание с антигеном, то образуется комплекс, стимулирующий высвобождение из клеток медиаторов аллергических реакций.

Иммуноглобулины G (IgG) — это основные антитела плазмы крови. Они составляют около 70 % всех сывороточных иммуноглобулинов и продуцируются при обязательном участии Т-лимфоцитов. Проникая через плацентарный барьер, обеспечивают организм новорожденного естественным пассивным иммунитетом.

Иммуноглобулины M (IgM) составляют 5–10 % от общего количества. К классу иммуноглобулинов M принадлежат антитела против стрептококка, агглютинины групп крови. Иммуноглобулин M состоит из пяти взаимосвязанных димеров. Димеры в олигомерных IgA и IgM удерживаются благодаря связывающему J-пептиду (от англ. joining — присоединение).

Интерфероны — общее название, под которым в настоящее время объединяют ряд белков со сходными свойствами, выделяемых клетками организма в ответ на вторжение вируса. Лейкоциты продуцируют α -интерфероны, фибро-

11.3. Кисотно-основное состояние и буферные системы крови

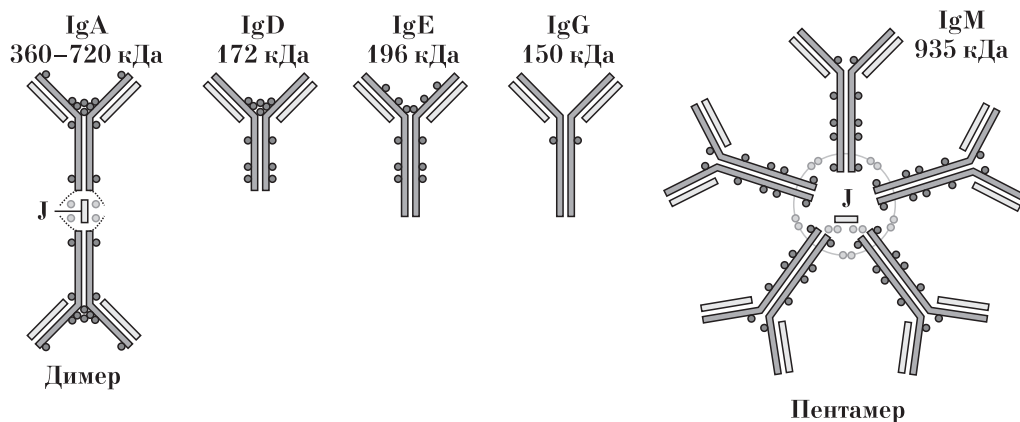


Рис. 11.3. Схема строения иммуноглобулинов крови

бласты — β -интерферон. γ -Интерфероны синтезируются стимулированными Т-лимфоцитами и макрофагами. Эти белки обладают способностью угнетать размножение вирусов в клетках, но не разрушают уже имеющиеся вирусные частицы. Интерфероны изменяют свойства клеточной мембраны, предотвращают адгезию и проникновение вируса внутрь клетки.

С-реактивный белок (получил свое название вследствие способности вступать в реакцию преципитации с С-полисахаридом пневмококков) отсутствует в сыворотке крови здорового организма, но обнаруживается при многих патологических состояниях, сопровождающихся воспалением и некрозом тканей. Появляется в острый период болезни, поэтому его называют белком «острой фазы».

Криоглобулин в сыворотке крови здоровых людей отсутствует и появляется в ней при патологических состояниях. Способность выпадать в осадок или желатинизироваться при температуре ниже 37°C — отличительное свойство этого белка. При электрофорезе передвигается вместе с γ -глобулинами.

11.3. Кислотно-основное состояние и буферные системы крови

Кислотно-основное состояние (КОС) — соотношение концентрации водородных (H^+) и гидроксильных (OH^-) ионов в жидкостях организма.

За сутки в организме взрослого человека образуется 20 тыс. мэкв кислых продуктов (в пересчете на HCl — 20 л 1 М раствора HCl). Несмотря на это, реакция среды в крови и тканях остается слабощелочной. Относительное постоянство рН внутренней среды организма обусловлено совместным действием буферных систем крови и ряда физиологических механизмов (дыхательная деятельность легких и выделительная функция почек).

Буферные системы состоят из слабых кислот и их солей с сильными основаниями. Количественной характеристикой буферного действия служит буферная емкость, которая зависит от абсолютных концентраций компонентов буфера.

11.3.1. Буферные системы крови

В норме pH крови колеблется от 7,36 до 7,44 (средняя величина 7,40).

Важнейшими буферными системами крови являются бикарбонатная, фосфатная, белковая и гемоглобиновая.

Бикарбонатная буферная система. Ее доля составляет около 10 % всей буферной емкости крови. Сопряженную кислотно-основную пару ее составляет угольная кислота (H_2CO_3), выполняющая роль донора протонов, и бикарбонат-ион HCO_3^- — акцептор протонов. Соотношение H_2CO_3 к HCO_3^- — 1:20.

Недиссоциированная угольная кислота находится в равновесии с количеством CO_2 , поэтому понятия «концентрация угольной кислоты» и «концентрация CO_2 » используются с одинаковым смыслом.

Механизм действия бикарбонатной системы заключается в том, что при выделении в кровь больших количеств кислых продуктов водородные ионы H^+ взаимодействуют с ионами бикарбоната HCO_3^- , что приводит к образованию угольной кислоты H_2CO_3 . Угольная кислота слабо диссоциирует в водной среде, тем самым в ее составе часть свободных катионов водорода находится в связанной форме. Последующее снижение концентрации H_2CO_3 достигается в результате ускоренного выделения CO_2 через легкие при гипервентиляции:

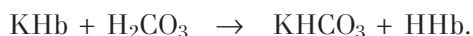


Если в крови увеличивается количество оснований, эквивалентом которых являются свободные OH^- -группы, они, взаимодействуя со слабой угольной кислотой, образуют ионы бикарбоната и воду. Кроме того, в этом случае происходит задержка в плазме крови некоторого количества CO_2 в результате гиповентиляции легких.

Как эффективный регулятор бикарбонатная буферная система функционирует в области pH 7,4 и тесно связана с гемоглобиновой буферной системой.

Гемоглобиновая буферная система является самой мощной буферной системой крови. Она в 9 раз мощнее бикарбонатного буфера. На ее долю приходится 75 % от всей буферной емкости крови. Гемоглобиновая буферная система состоит из неионизированного гемоглобина Hb (слабая органическая кислота, донор протонов) и калиевой соли гемоглобина KHb (сопряженное основание, акцептор протонов).

Буферные свойства гемоглобина обусловлены возможностью взаимодействия H_2CO_3 (или других кислот) с калиевой солью гемоглобина с образованием эквивалентного количества соответствующей калийной соли кислоты и свободного гемоглобина:



11.3. Кисотно-основное состояние и буферные системы крови

Система гемоглобина и система оксигемоглобина являются взаимопревращающимися системами и существуют как единое целое. Константа диссоциации кислотных групп гемоглобина меняется в зависимости от его насыщения кислородом. При насыщении кислородом гемоглобин становится более сильной кислотой (HHbO_2). В капиллярах большого круга кровообращения гемоглобин, отдавая кислород тканям, превращается в очень слабую органическую кислоту (HHb).

Из тканей образующийся в клетках CO_2 поступает в эритроциты. Здесь при участии карбоангидразы CO_2 взаимодействует с H_2O и образуется H_2CO_3 . После диссоциации угольной кислоты на H^+ и HCO_3^- , гидрокарбонат-ион выходит в плазму, а H^+ связывается Hb .

Гемоглобин (HHb), попадая в капилляры легких, превращается в оксигемоглобин (HHbO_2), что приводит к некоторому подкислению крови, вытеснению части H_2CO_3 из бикарбонатов и понижению щелочного резерва крови.

Фосфатная буферная система представляет собой сопряженную кислотно-основную пару, состоящую из иона H_2PO_4^- (донор протонов) и иона HPO_4^{2-} (акцептор протонов). Ее доля в буферной емкости крови невелика и составляет 1 %. В других тканях эта система является одной из основных. Буферное действие фосфатной системы основано на возможности связывания H^+ ионами HPO_4^{2-} с образованием H_2PO_4^- , а также ионов OH^- с ионами H_2PO_4^- с образованием воды и HPO_4^{2-} . Буферная пара $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ оказывает влияние при изменении рН в интервале от 6,1 до 7,7. Максимальная емкость фосфатного буфера проявляется вблизи значения рН 7,2. Действие фосфатного буфера контролируется выделительной функцией почек.

Белковая буферная система. Белки образуют буферную систему благодаря амфотерности, т.е. наличию кислотно-основных групп в молекуле: белок — COOH (кислота, донор протонов) и белок — NH_2 -сопряженное основание (акцептор протонов).

Диссоциация белков зависит от рН среды. При увеличении концентрации OH^- -ионов усиливается диссоциация COOH -групп. Ионы H^+ связывают OH^- , и рН сохраняется, белок выступает в роли кислоты. При увеличении H^+ подавляется диссоциация карбоксильных групп, группы NH_2 связывают избыток H^+ , рН сохраняется. При этом белок приобретает положительный заряд и выступает в роли основания. Белковая буферная система плазмы крови эффективна в области значений рН 7,2–7,4.

11.3.2. Нарушения кислотно-основного равновесия

Все нарушения кислотно-основного равновесия делятся на две группы: ацидозы и алкалозы.

При **ацидозе** концентрация водородных ионов в крови увеличивается, при этом рН, естественно, уменьшается. Снижение величины рН ниже 6,8 приводит к смерти.

В тех случаях, когда концентрация водородных ионов в крови уменьшается (соответственно, значение рН возрастает), развивается состояние **алкалоза**. Предел совместимости с жизнью — рН 8,0.

В зависимости от механизмов развития ацидоз и алкалоз разделяют на дыхательный и метаболический.

Дыхательный ацидоз возникает при гиповентиляции, т.е. уменьшении объема дыхания (бронхиальная астма, эмфизема легких, механическая асфиксия, нарушение функции дыхательных мышц). Это ведет к повышению парциального давления CO_2 в крови выше 50 мм рт. ст. и, как следствие, к накоплению H_2CO_3 и HCO_3^- . Одновременно повышается выделение с мочой аммонийных солей органических кислот.

Самым распространенным нарушением кислотно-основного равновесия является *метаболический ацидоз*. Он развивается при накоплении органических кислот в тканях и крови. Это бывает при сахарном диабете, голодании, заболеваниях желудочно-кишечного тракта, гипоксии, почечной недостаточности и т.д. У больных сахарным диабетом и при голодании происходит усиленное образование кетоновых тел, что сопровождается снижением концентрации H_2CO_3 в бикарбонатной буферной системе. При метаболическом ацидозе кислотность мочи и концентрация аммиака в моче увеличены.

Дыхательный алкалоз вызывается альвеолярной гипервентиляцией и отличается падением pCO_2 в артериальной крови. Возникает при активном усиленном дыхании (гипервентиляции), заболеваниях, сопровождающихся одышкой, а также при понижении артериального парциального давления O_2 до 70 мм рт. ст., что ведет к рефлекторной стимуляции дыхательного центра. Компенсируется это состояние снижением выделения протонов почками.

Метаболический алкалоз — состояние дефицита водородных ионов в крови (рН выше 7,45) в сочетании с избытком оснований. Возникает при гипокалиемии, потерях большого количества кислотных эквивалентов (рвота) или при поступлении большого количества щелочных эквивалентов из желудочно-кишечного тракта, что приводит к повышению щелочных резервов крови, при длительном лечении стероидными гормонами. При метаболическом алкалозе повышена концентрация HCO_3^- в плазме, увеличен щелочной резерв крови. Компенсация метаболического алкалоза осуществляется прежде всего за счет снижения возбудимости дыхательного центра при повышении рН, что приводит к снижению частоты дыхания и возникновению компенсаторной гиперкапнии¹. Кислотность мочи и содержание аммиака в ней понижены.

¹ *Гиперкапния* — повышенное содержание углекислого газа в крови.

11.4. Транспорт кислорода и углекислого газа кровью

11.4. Транспорт кислорода и углекислого газа кровью

В состоянии покоя ткани и органы человека потребляют *кислород* со скоростью около 200 мл/мин. При тяжелой физической работе количество потребляемого тканями кислорода возрастает в 10 и более раз (до 2–3 л/мин). Доставка от легких к тканям такого количества кислорода в виде газа, физически растворенного в плазме, невозможна вследствие его малой растворимости в плазме крови. Функцию переносчика кислорода в организме выполняет гемоглобин. При этом гемоглобин переходит в оксигемоглобин. 100 г гемоглобина могут связывать 134 мл кислорода, и в состоянии покоя за 1 мин ткани получают 200–240 мл кислорода.

В легочных капиллярах происходит насыщение крови кислородом, а в тканевых капиллярах, где парциальное давление кислорода резко снижено, осуществляется отдача кислорода тканям.

Зависимость между степенью насыщения гемоглобина кислородом и парциальным давлением (pO_2), можно выразить в виде *кривой насыщения гемоглобина кислородом*, или *кривой диссоциации оксигемоглобина*, которая имеет S-образную форму и характеризует сродство гемоглобина к кислороду (рис. 11.4).

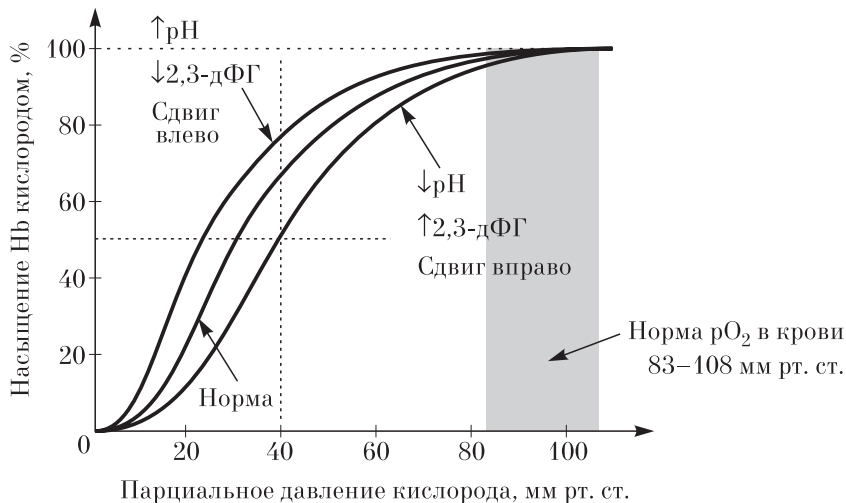


Рис. 11.4. Графическая кривая насыщения гемоглобина кислородом и ее изменение под влиянием регуляторов. По мере повышения pO_2 гемоглобин начинает быстро насыщаться кислородом, превращаясь в оксигемоглобин. При 40 мм рт. ст. содержание HbO_2 достигает уже 75 %. При парциальном давлении кислорода выше 80 мм рт. ст. степень насыщения гемоглобина кислородом составляет > 90 %. Скорость реакций связывания и высвобождения кислорода гемоглобином зависит от температуры, pH, содержания 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ).

Такой тип кривой показывает *кооперативное взаимодействие* (взаимовлияние протомеров олигомерного белка друг на друга).

Напомним, что гемоглобин — сложный олигомерный белок. Он состоит из четырех субъединиц, соединенных нековалентными связями. Каждая субъединица Нб содержит небелковую часть — гем. Гем состоит из четырех пиррольных колец, соединенных в плоскую молекулу метиленовыми мостиками. Атом железа занимает центральное положение в молекуле гема и может образовывать шесть координационных связей, четыре из которых удерживают Fe^{2+} в центре, соединяя его с атомами азота пиррольных колец, а пятая возникает между Fe^{2+} и атомом азота имидазольного кольца гистидина в составе глобиновой полипептидной цепи. Присоединяя молекулу кислорода, атом железа погружается в плоскость молекулы гема и изменяет конформацию глобина (рис. 11.5).

Поскольку субъединицы гемоглобина связаны между собой, то изменение конформации одной полипептидной цепи кооперативно вызывает конформационную перестройку других, что облегчает доступ кислорода к остальным гемам молекулы гемоглобина. В результате такое кооперативное взаимодействие протомеров гемоглобина ускоряет присоединение кислорода в 300 раз.

На способность гемоглобина связывать кислород влияет ряд факторов. Сродство гемоглобина к кислороду в первую очередь связано с *pH*. Чем ниже pH, тем меньше способность гемоглобина связывать кислород и тем выше P_{50} (парциальное напряжение кислорода, при котором 50 % гемоглобина связано с кислородом). В тканевых капиллярах pH ниже (поступает большое количество CO_2), в связи с чем гемоглобин легко отдает кислород. В легких CO_2 выделяется, pH повышается, и гемоглобин активно присоединяет кислород.

Таким образом, количество высвобождаемого гемоглобином O_2 в тканях регулируется продуктами катаболизма органических веществ: чем интенсивнее

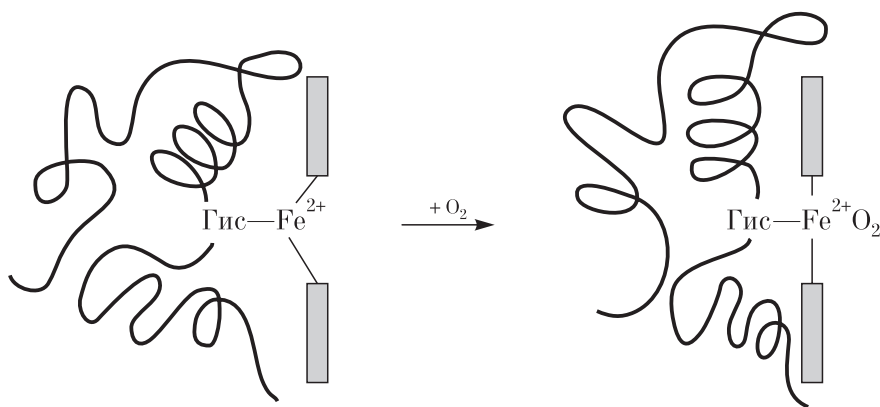


Рис. 11.5. Изменение конформации протомера гемоглобина при соединении с кислородом

11.4. Транспорт кислорода и углекислого газа кровью

распад веществ и выше концентрация CO_2 и H^+ , тем больше O_2 получают ткани за счет воздействия этих лигандов на гемоглобин и снижения его сродства к O_2 .

Способность гемоглобина связывать кислород зависит и от *температуры*. Чем выше температура, тем меньше сродство гемоглобина к кислороду (в тканях температура выше, чем в легких). Напротив, снижение температуры вызывает обратное явление.

Образующийся в эритроцитах 2,3-ДФГ является важным регулятором связывания кислорода с гемоглобином. Низкое содержание 2,3-ДФГ в легочных капиллярах повышает сродство гемоглобина к O_2 и способствует образованию оксигемоглобина. Увеличение концентрации 2,3-ДФГ, напротив, уменьшает сродство гемоглобина к O_2 и способствует отдаче кислорода тканям.

В целом за сутки с вдыхаемым воздухом в организм человека поступает примерно 600 л кислорода и выделяется в окружающую среду 480 л углекислого газа (примерно 943 г). В организме человека в состоянии покоя от тканей к легким каждую минуту переносится примерно 180 мл углекислого газа.

Организм располагает несколькими механизмами переноса *углекислого газа* от тканей к легким. Часть его переносится в физически растворенном виде, что составляет 7 % от всего количества переносимого углекислого газа.

Некоторое количество CO_2 может переноситься из тканей в легкие в виде *карбгемоглобина* (HbCO_2). CO_2 присоединяется к гемоглобину посредством карбаминовой связи. Карбгемоглобин — соединение нестойкое и очень быстро диссоциирует в легочных капиллярах с отщеплением CO_2 . В виде карбаминовой формы из тканей к легким переносится от 3 до 10 % всего углекислого газа, поступающего в кровь.

Основная масса CO_2 транспортируется с кровью к легким в форме бикарбоната, при этом также важнейшую роль играет гемоглобин эритроцитов. В легочных капиллярах свободный гемоглобин (Hb) эритроцитов присоединяет кислород и превращается в оксигемоглобин (HbO_2). Образование оксигемоглобина увеличивает его диссоциацию с высвобождением ионов H^+ . Ионы H^+ и HbO_2^- реагируют с KHCO_3 , в результате образуются H_2CO_3 и KHbO_2 . Образующаяся угольная кислота быстро расщепляется при участии карбоангидразы на воду и углекислый газ, который из-за низкого $p\text{CO}_2$ выделяется из эритроцитов в просвет альвеол (рис. 11.6).

По мере снижения концентрации бикарбоната в эритроцитах из плазмы крови в них поступают новые порции ионов HCO_3^- , а в плазму выходит эквивалентное количество ионов Cl^- .

В периферических капиллярах большого круга кровообращения гемоглобин эритроцитов отдает кислород тканям ($\text{KHbO}_2 \rightarrow \text{O}_2 + \text{KHb}$). Одновременно в эритроцит перемещается продукт обмена — углекислый газ (рис. 11.7).

Под влиянием фермента карбоангидразы углекислый газ взаимодействует с водой, при этом образуется угольная кислота. Возникающий за счет угольной

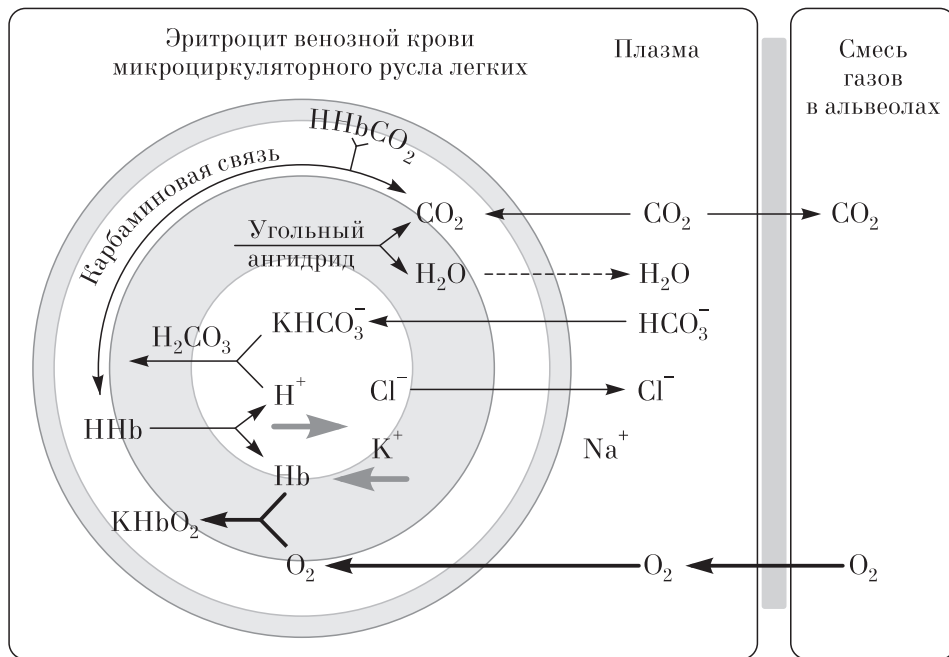


Рис. 11.6. Схема участия гемоглобина эритроцитов венозной крови в транспорте кислорода и углекислого газа

кислоты избыток водородных ионов связывается с гемоглобином, отдавшим кислород, а накапливающиеся анионы HCO_3^- выходят из эритроцита в плазму. В обмен на эти ионы в эритроцит поступают анионы хлора, в то время как натрий — другой составной элемент хлорида натрия, содержащегося в крови, — остается в плазме. В итоге в плазме крови повышается содержание бикарбоната натрия NaHCO_3 . В форме бикарбоната при участии гемоглобина эритроцитов с кровью транспортируется к легким более 80 % всего количества углекислого газа.

Сродство гемоглобина к оксиду углерода больше, чем к кислороду, примерно в 200 раз; следовательно, CO может вытеснять кислород из оксигемоглобина. Образующийся карбоксигемоглобин (HbCO) не способен служить переносчиком кислорода, и поэтому угарный газ (оксид углерода) является ядом. Уже при концентрации 0,1 % CO в воздухе больше половины Hb крови превращается в карбоксигемоглобин. В результате нарушается перенос кислорода от легких к тканям, развивается кислородное голодание и может быстро наступить смерть.

Метгемоглобин образуется при действии веществ, окисляющих двухвалентное железо гема до Fe^{3+} . В результате способность транспорта кислорода резко сокращается. Одновременно может происходить окисление глобина.

11.4. Транспорт кислорода и углекислого газа кровью

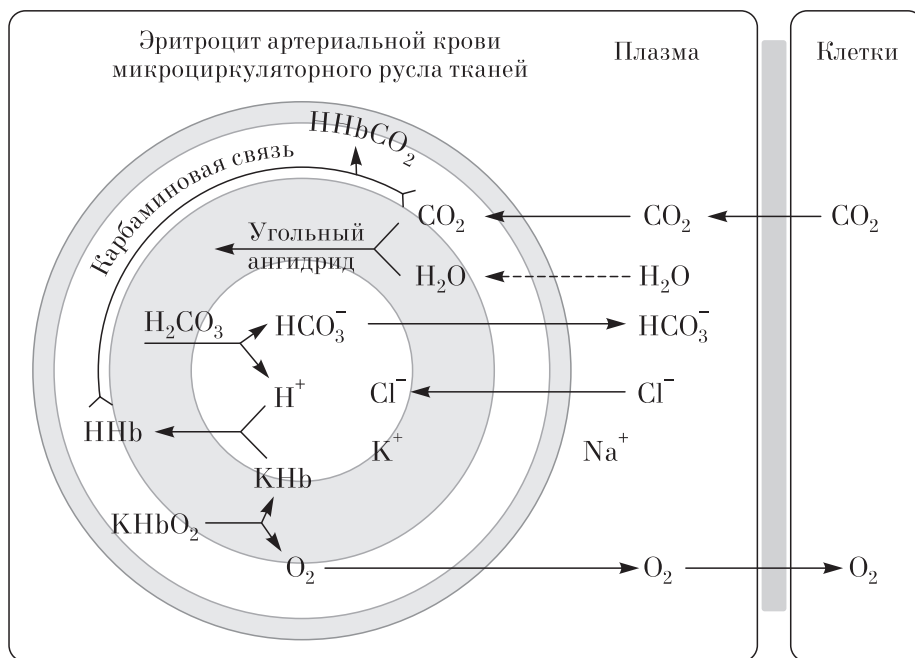


Рис. 11.7. Схема участия гемоглобина эритроцитов артериальной крови в транспорте кислорода и углекислого газа

Внутриутробный период развития организма характеризуется функционированием в крови *фетального гемоглобина* (HbF). Он обладает более высоким сродством к кислороду, чем гемоглобин А взрослых людей. Благодаря этому возможен оптимальный перенос кислорода от гемоглобина А матери к гемоглобину F плода.

Помимо нормальных представителей гемоглобина, известны более 100 его мутантных форм. К примеру, *серповидноклеточная анемия* возникает в результате точечной мутации гена β -глобина, которая приводит к замене в шестом положении β -полипептидной цепи Глу на Вал. Следовательно, у индивидуумов с HbS полярная группа боковых цепей (Глу) на внешней поверхности молекулы заменена неполярной гидрофобной группой (Вал) боковых цепей. Это приводит к полимеризации дезоксигемоглобина S с другими молекулами и его осаждению в эритроцитах. Эритроциты принимают форму серпа, они подвержены разрушению вследствие того, что у них изменяются эластические свойства мембраны. Массивный гемолиз вызывает нарушение кровообращения в капиллярной сети.

11.5. Система гемостаза

Система гемостаза — это совокупность функционально-морфологических и биохимических механизмов, обеспечивающих остановку кровотечения и поддерживающих кровь в жидком состоянии.

Значение системы гемостаза для сохранения жизнеспособности организма определяется тем, что она препятствует выведению крови из циркуляторного русла и тем самым способствует обеспечению нормального кровоснабжения органов, сохранению необходимого объема циркулирующей крови.

Систему гемостаза составляют и молекулы, действие которых направлено на сдерживание образования сгустка крови. *Антикоагулянтная система* представлена ингибиторами участников свертывания, ее компоненты препятствуют образованию сгустка крови. Другая система, *фибринолитическая*, обеспечивает медленное растворение сгустка. Ослабление процессов свертывания сопровождается склонностью к кровотечению. Следует учитывать, что низкая активность компонентов системы фибринолиза или высокая активность компонентов коагуляционного гемостаза повышают риск развития тромбоза.

Основными участниками свертывания крови являются *клетки крови*, главным образом *тромбоциты*, *сосудистая стенка* и *факторы свертывания крови*.

Биологически активные вещества, принимающие участие в свертывании крови и находящиеся в плазме, называют *плазменными факторами свертывания крови*. Большинство плазменных факторов свертывания крови синтезируются в печени и являются ферментами (сериновыми протеазами), которые катализируют ограниченный протеолиз своих субстратов.

Различают 13 плазменных факторов и 11 тромбоцитарных¹.

К *плазменным* факторам свертывания крови относятся:

- ф. I — фибриноген;
- ф. II — протромбин;
- ф. III — тканевый тромбопластин;
- ф. IV — ионы кальция;
- ф. V — проакцелерин;
- ф. VI — акцелерин (изъят из классификации, так как является активной формой ф. V);
- ф. VII — проконвертин;
- ф. VIII — антигемофильный глобулин А;
- ф. IX — антигемофильный глобулин В;
- ф. X — фактор Стюарта — Прауэра;

¹ Международный комитет по гемостазу присвоил римскую нумерацию плазменным факторам, арабскую нумерацию — тромбоцитарным. В норме белковые факторы свертывания крови находятся в плазме в неактивном состоянии. Если фактор активируется, то к его обозначению добавляют букву «а».

11.5. Система гемостаза

- ф. XI — плазменный предшественник тромбопластина, или антигемофильный глобулин С;

- ф. XII — контактный фактор (фактор Хагемана);

- ф. XIII — фибринстабилизирующий фактор или трансглутаминаза.

Среди *тромбоцитарных* факторов имеются:

- P_3 (тромбоцитарный тромбопластин) — липидно-белковый комплекс, на котором как на матрице происходит гемокоагуляция;

- P_6 (тромбостенин) — актино-миозиновый комплекс, обеспечивающий ретракцию тромба;

- P_{10} — серотонин;

- P_{11} — фибринстабилизирующий фактор.

Условно выделяют два механизма гемостаза: *сосудисто-тромбоцитарный* (первичный, или микроциркуляторный) и *коагуляционный* (вторичный, или макроциркуляторный).

Они тесно связаны между собой. В зависимости от условий меняется лишь доля участия того или иного механизма.

11.5.1. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз

В норме эндотелиальный слой сосудистой стенки обладает высокой тромборезистентностью и играет важную роль в сохранении жидкого состояния циркулирующей крови. Эндотелий сосудов предотвращает контактную активацию плазменных факторов свертывания и клеток крови благодаря несмачиваемости своей поверхности. Феномен несмачиваемости связан с синтезом эндотелиоцитами гепарансульфата. Кроме того, эндотелиоциты продуцируют факторы, ингибирующие агрегацию тромбоцитов и коагуляцию: NO, простагландин (простагландин I_2), АДФазу, тромбомодулин, тканевый активатор плазминогена (тАП).

У нормальных неактивных тромбоцитов поверхность мембраны гладкая, препятствующая их прилипанию к сосудистой стенке или друг к другу. При повреждении сосудистой стенки сначала развивается рефлекторный *спазм сосуда*, который позже поддерживается серотонином и адреналином, высвобождаемыми из активированных тромбоцитов.

Затем тромбоциты прилипают к краям поврежденного эндотелия (*адгезия тромбоцитов*), контактируют с другими тромбоцитами и с подлежащими под эндотелием белками межклеточного матрикса — коллагеном, фибронектином и ламинином. Адгезия осуществляется за счет фактора Виллебранда (гликопротеин, синтезируется эндотелиоцитами и мегакариоцитами), который связывается с тромбоцитарными рецепторами (гликопротеин Ib/IX) и образует мостик между волокнами коллагена и тромбоцитом. Агрегация тромбоцитов между собой опосредуется фибриногеном (гликопротеин IIb/IIIa) (рис. 11.8).

После фиксации тромбоцитов на субэндотелиальных структурах они очень быстро теряют свою дисковидную форму и распластываются на сосудистой

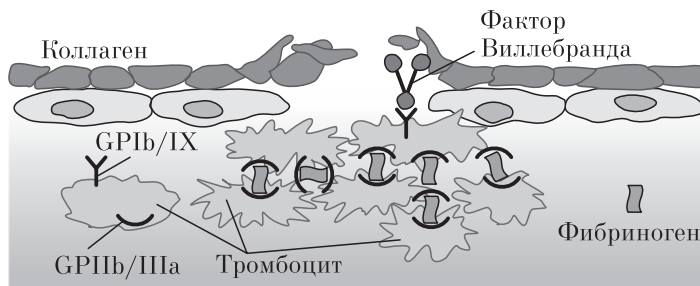


Рис. 11.8. Образование агрегатов тромбоцитов

стенке. Изменение формы тромбоцитов, увеличение подвижности и высвобождение содержимого их гранул составляют следующую стадию сосудисто-тромбоцитарного гемостаза — стадию *активации тромбоцитов*. Активированный тромбоцит набухает, округляется, формирует отростки и из дисковидной формы превращается в сферически-шиповидную. Из тромбоцитов высвобождаются факторы агрегации (АДФ, адреналин, норадреналин, продукты окисления арахидоновой кислоты, тромбин). Факторы агрегации активируют присоединение к месту повреждения новых тромбоцитов и возникают *агрегаты тромбоцитов*.

Активация тромбоцитов регулируется изменением в цитоплазме уровня цАМФ и концентрации ионов Ca^{2+} .

Вслед за активацией происходит *агрегация тромбоцитов*. Начальная агрегация тромбоцитов инициируется АДФ, выделяющимся при повреждении эндотелия. Процесс агрегации тромбоцитов, индуцируемый АДФ, носит двухфазный характер. *Первая* фаза продолжительностью до 2 минут — обратимая. В этой фазе агрегаты рыхлые, непрочные, легко разрушаются и недостаточно хорошо фиксируются. При продолжительной и интенсивной стимуляции тромбоцитов первая фаза сменяется фазой *необратимой агрегации*, которая сопровождается усилением высвобождения факторов агрегации, таких как серотонин, адреналин, тромбоксан A_2 , которые одновременно привлекают другие тромбоциты к агрегации, активируя их. Агрегация ускоряется фибриногеном, который связывает между собой соседние тромбоциты.

Образованный агрегат тромбоцитов превращается в тромб, который может надолго закрыть капилляр. В образовавшемся тромбе начинаются морфологические превращения тромбоцитов, которые приводят к их необратимым изменениям и разрушению. Мембрана тромбоцитов растворяется внутри агрегата, образуется единая тромбоцитарная структура. В этом заключается стадия *вязкого метаморфоза тромбоцитов*.

Завершается процесс *сокращением (ретракцией) тромба*. Благодаря сократительному белку тромбостенину, АТФ и Ca^{2+} тромбоциты подтягиваются друг к другу, тромбоцитарная пробка сокращается и уплотняется, наступает ее ретракция.

11.5. Система гемостаза

Описанный выше процесс обеспечивает остановку кровотечения *при повреждении капилляров* и служит одновременно инициатором процессов с участием белков плазмы крови. При больших повреждениях тканей и крупных сосудов включается коагуляционный гемостаз.

11.5.2. Коагуляционный гемостаз

Коагуляционный гемостаз — цепной каскадный ферментативный процесс, в ходе которого происходит взаимодействие и последовательная активация сериновых протеиназ на фосфолипидных матрицах (тромбопластинах), заканчивающийся превращением растворимого фибриногена в нерастворимый фибрин.

В этом процессе занято большое число белковых и небелковых факторов, входящих в состав плазмы, клеток крови, сосудистой стенки и тканей.

Коагуляционный гемостаз продолжается около 7 мин и состоит из четырех фаз. В *первую* фазу, самую продолжительную (5–7 мин), образуется *протромбиназный комплекс*. *Вторая* фаза процесса свертывания крови (продолжительность фазы около 3 с) заключается в том, что под действием протромбиназы из протромбина образуется активный протеолитический фермент — тромбин. Завершается процесс фазой образования фибрина (*третья* фаза). В эту фазу растворимый белок крови фибриноген под действием тромбина превращается в нерастворимый фибрин, образующий основу тромба (продолжительность фазы 2–5 с).

Каждая из этих реакций представляет собой образование активной протеазы из ее предшественника путем ограниченного протеолиза. Все они идут на фосфолипидных мембранах, требуют присутствия Ca^{2+} и простетических групп (кофакторов).

Четвертая фаза — посткоагуляционная или фаза ретракции (продолжительность 55–85 мин).

В зависимости от механизма протекания первой фазы различают внутренний и внешний пути свертывания крови. Оба они приводят к стадии активации фактора X и образованию тромбина, который катализирует превращение фибриногена в фибрин (рис. 11.9).

Реакции свертывания крови по **внешнему пути** начинаются с активации **ф. III** (тканевого тромбопластина), который представляет собой фосфолиппротеин. Он появляется в кровотоке после высвобождения из клеточных мембран при разрыве сосуда (травма, хирургическая операция, роды), повреждении клеток вследствие стаза крови, гипоксии, ацидоза, действия токсинов и быстро запускает внешний механизм свертывания.

На фосфолипидной матрице, роль которой выполняют фрагменты плазматических мембран тромбоцитов (там же содержится тромбоцитарный тромбопластин **Р₃**), в присутствии ионов Ca^{2+} (**ф. IV**) тканевой тромбопластин образует комплекс с **ф. VII** плазмы, превращая его в активную протеазу. Как только

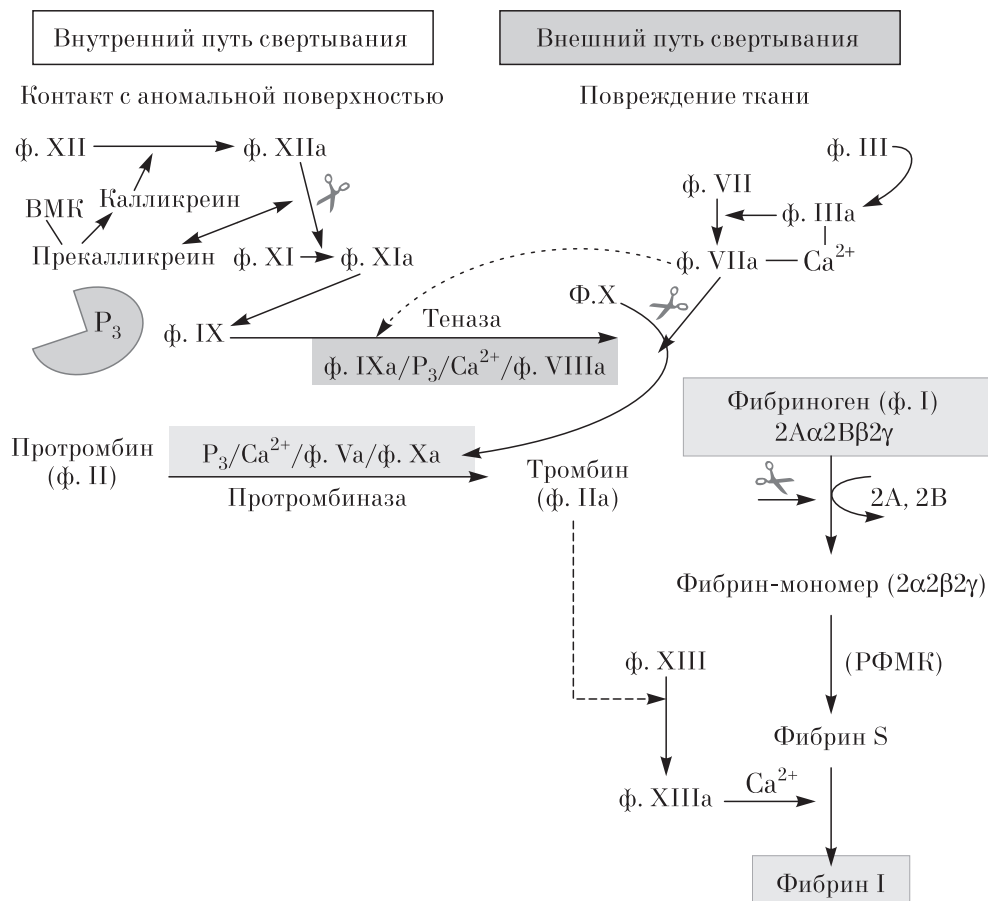


Рис. 11.9. Схема процессов коагуляционного гемостаза:

ф. I–XIII — факторы свертывания крови; ф. Ia–XIIIa — активные факторы свертывания крови; ВМК — высокомолекулярный кининоген; РФМК — растворимые фибрин-мономерные комплексы; P₃ — тромбоцитарный тромбопластин

в комплексе образуется активный ф. VIIa, он катализирует превращение ф. X в Ха. В этом же комплексе активируется ф. V. Образовавшийся ф. Ха — это сериновая протеаза, субстратом которой является протромбин (ф. II). **Фактор Va** обеспечивает взаимную ориентацию ф. Ха и протромбина, необходимую для превращения протромбина в тромбин (ф. IIa). Протромбин, факторы ф. Va и Ха совместно на клеточной или фосфолипидной поверхности с катионами кальция формируют конечный протромбиназный комплекс в коагуляционном каскаде. Данный комплекс увеличивает активность ф. Ха в 350 тыс. раз.

Внутренний путь — сравнительно медленный процесс. Во внутреннем пути все необходимые факторы присутствуют в крови, и свертывание крови

11.5. Система гемостаза

начинается с активации **ф. XII** (фактора Хагемана) при контакте с чужеродной (стекло, металл) или измененной поверхностью сосудистой стенки (атеросклероз, васкулит). Активирование **ф. XII** может осуществляться также иммунными комплексами, адреналином, жирными кислотами, уратами, холестеролом, триацилглицеролами, эндотоксинами и калликреином.

На аномальной поверхности образуется комплекс из **ф. XII**, высокомолекулярного кининогена (ВМК) и прекаллекреина. Поверхность активированных тромбоцитов также является высокоаффинной для этих факторов. После связывания с ВМК фактор XII медленно превращается в активную протеазу (**ф. XIIa**), которая, в свою очередь, катализирует превращение прекалликрина в калликреин, и активацию **ф. XI** (превращение его в активную форму — **ф. XIa**). В свою очередь, калликреин ускоряет превращение **ф. XII** в XIIa.

Фактор XIIa участвует в последующих реакциях свертывания. Как сериновая протеиназа, он катализирует превращение **ф. IX** в IXa. Этот процесс происходит на поверхности тромбоцита с участием тромбоцитарного тромбопластина (P_3) и ионов Ca^{2+} . Фактор IXa — это тоже активная сериновая протеаза, субстратом которой является фактор X. Активирование **ф. X** требует образования на поверхности тромбоцита целого ансамбля молекул, названного *теназой*: **ф. IXa**, Ca^{2+} , **ф. X**, **ф. VIII** и P_3 . В этих условиях **ф. IXa** катализирует ограниченный протеолиз **ф. X** и превращение его в активную форму, в то время как **ф. VIII** обеспечивает взаимную ориентацию **ф. IXa** и **ф. X**.

Появление протромбиназы (комплекс вышеназванных факторов и **ф. Xa**) свидетельствует о завершении *первой* фазы свертывания крови. Протромбиназа катализирует превращение протромбина в тромбин путем ограниченного протеолиза (*вторая* фаза). Образовавшийся тромбин ускоряет почти все предыдущие реакции коагуляции. Он активирует тромбоциты и способствует образованию протромбиназы.

Тромбин — ключевой фермент гемокоагуляции. Количество тромбина в крови строго контролируется. Появление в крови тромбина инициирует *третью* фазу свертывания крови — образование фибрина из фибриногена.

Фибриноген синтезируется в печени и содержится в плазме крови в концентрации 2–4 г/л. Молекула фибриногена состоит из шести полипептидных цепей ($2A\alpha 2B\beta 2\gamma$), которые связаны между собой дисульфидными связями (рис. 11.10). На концах полипептидных цепей $A\alpha$ и $B\beta$ находятся фибринопептиды А и В, которые содержат большое количество аспартата и глутамата. Это создает отрицательный заряд на N-концах молекул фибриногена и препятствует агрегации.

Тромбин отщепляет от фибриногена фибринопептиды А и В и образуется фибрин-мономер (2α , 2β и 2γ) (рис. 11.11).

Мономер фибрина соединяется с комплементарными молекулами фибрина, формируя фибрин-мономерные комплексы. Они растворимы в водной кислой среде, растворе мочевины и называются *фибрин S*.

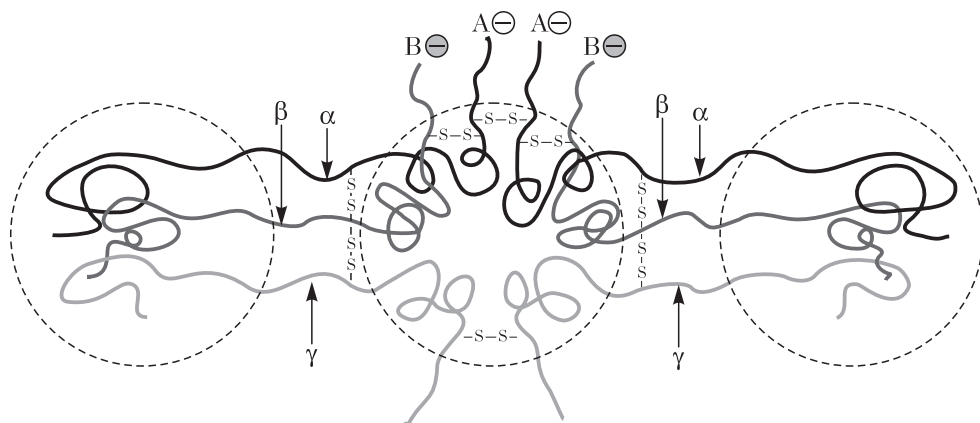


Рис. 11.10. Структура молекулы фибриногена

Под влиянием ф. XIIIa (трансглютаминазы) происходит образование нерастворимого фибрин-полимера (фибрин I, от англ. insoluble). Стабилизация фибрина происходит в результате образования амидной связи между аминогруппой лизина одной молекулы фибрина и карбоксильной группой глутамина другой молекулы фибрина (рис. 11.12).

Этот фермент активируется тромбином в присутствии ионов Ca^{2+} . Трансглютаминаза образует также амидные связи между фибрином и фибронектином,

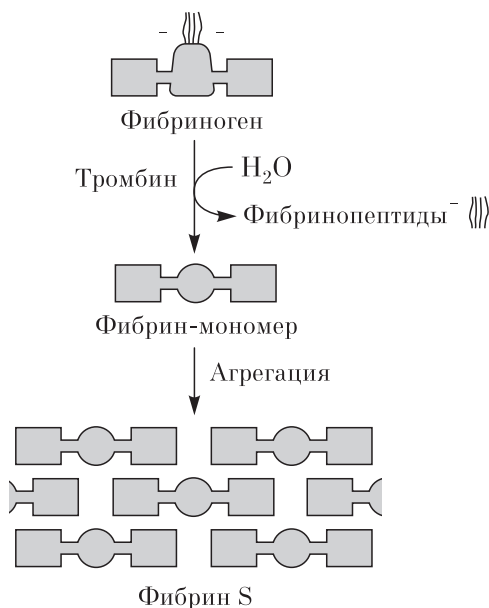


Рис. 11.11. Образование растворимого фибрина

11.5. Система гемостаза

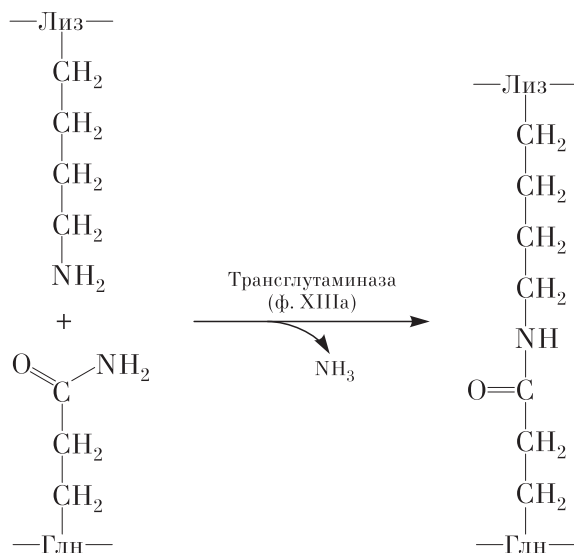


Рис. 11.12. Образование амидной связи между молекулами фибрина при его полимеризации

другими адгезивными белками. Таким образом, тромб фиксируется в месте повреждения сосуда. В фибриновых нитях оседают форменные элементы крови, в частности эритроциты, и формируется *кровавый сгусток*, или *тромб*, который закупоривает рану.

11.5.3. Роль ионов кальция в гемокоагуляции

Особую роль в системе свертывания крови играет Ca^{2+} (IV плазменный фактор свертывания крови). Содержание его в плазме крови составляет **1,1–1,3 ммоль/л**. Ионы кальция стабилизируют структуру тромбопластинов (фрагменты мембран клеток) и связывают на них витамин-К-зависимые факторы гемокоагуляции (ф. II, VII, IX, X) (рис. 11.13). Важным условием для образования таких комплексов является наличие у факторов необычной аминокислоты — γ -карбоксиглутаминовой.

Ионы кальция участвуют в ретракции гемостатического тромба. Ретракцию (сжатие фибринового геля) обеспечивает актомиозин тромбоцитов — тромбостенин. Это сократительный белок, обладающий АТФазной активностью. Ретракция кровяного сгустка предупреждает полную закупорку сосуда, создавая возможность восстановления кровотока. Этим завершаются фазы коагуляции.

Далее процесс вступает в *посткоагуляционную* фазу. В этот период происходит *фибринолиз* — медленное растворение сгустка при помощи специфического фермента — пламина.

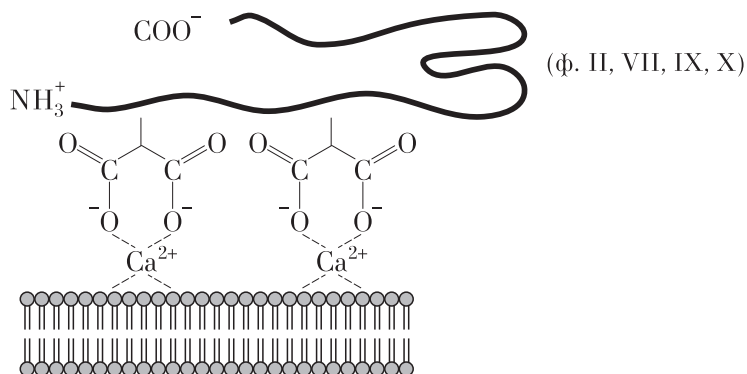
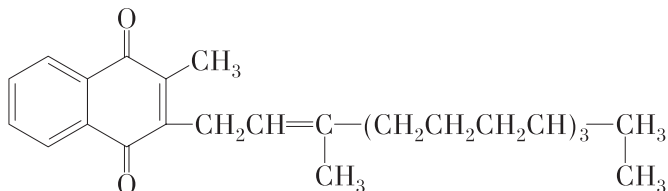


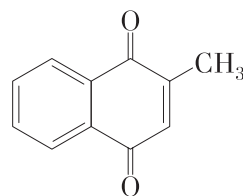
Рис. 11.13. Роль Ca^{2+} в связывании витамин-К-зависимых факторов гемокоагуляции на фрагментах клеточных мембран

11.5.4. Витамин К и его роль в гемокоагуляции

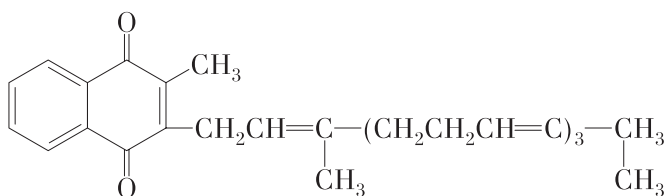
Витамин К (витамин коагуляции) включает в себя группу жирорастворимых витаминов, которые относятся к производным 2-метил-1,4-нафтохинона.



K_1 (филлохинон)



K_3 (менадион)



K_2 (менахинон)

Все члены семейства витамина К имеют метилированное нафтохиноновое кольцо и боковую цепь, содержащую различное число остатков изопрена. Наличие остатков изопрена сближает витамины К с другими жирорастворимыми витаминами (А, Е) и убихиноном (коэнзим Q).

Витамин K_1 (филлохинон) синтезируется растениями и содержится в цветной капусте, брокколи, шпинате, люцерне, зеленых томатах, рябине.

11.5. Система гемостаза



Рис. 11.14. Реакция образования γ-карбоксиглутаминовой кислоты

Витамин K₂ (менахинон) синтезируется сапрофитными бактериями тонкого кишечника человека. Известен ряд производных нафтохинона, обладающих антигеморрагическим действием, которые получены синтетическим путем. К их числу относятся *витамин K₃ (менадион)* и его водорастворимая форма — *викасол*.

Всасывание витамина К происходит в кишечнике при участии желчных кислот. Он принимает участие в посттрансляционной модификации II, VII, IX и X факторов системы свертывания крови, а также витамин-К-зависимых антикоагулянтов — протеинов С и S. γ-Карбоксилирование остатков глутаминовой кислоты в молекуле этих белков протекает после трансляции, в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов с участием γ-глутамилкарбоксилазы и диоксида углерода (рис. 11.14).

Роль кофактора в составе этого фермента выполняет восстановленная (гидрохиноновая) форма витамина К.

Наличие дополнительной γ-карбоксильной группы в остатках глутаминовой кислоты придает этим белкам способность связывать ионы кальция на фосфолипидной поверхности и, тем самым, активировать факторы гемокоагуляции.

Авитаминоз К у взрослого человека — явление редкое, встречается главным образом при дисбактериозах после лечения антибиотиками. Причиной **гиповитаминоза К** могут быть заболевания желудочно-кишечного тракта, сопровождающиеся нарушением всасывания жиров, заболевания печени, желчнокаменная болезнь. Ранний признак гиповитаминоза К — пониженное содержание протромбина в крови. Содержание витамин-К-зависимых факторов системы свертывания в плазме крови не изменяется, но нарушается их активация и способность связываться на фосфолипидной поверхности для участия в реакции гемокоагуляции.

11.6. Антикоагулянтная система

Наряду с веществами, способствующими свертыванию крови, в кровотоке находятся вещества, препятствующие гемокоагуляции. Они называются **естественными (физиологическими) антикоагулянтами**.

Антикоагулянты — это ингибиторы свертывания. В организме все естественные антикоагулянты по механизму образования разделяют на первичные и вторичные. **Первичные** антикоагулянты постоянно синтезируются и с постоянной скоростью выделяются в кровоток. Они ингибируют активные факторы коагуляции и не действуют на неактивные формы этих факторов. К первичным антикоагулянтам относят антитромбин III, гепарин, протеины С и S, α_2 -макроглобулин, α_1 -антитрипсин, антиконвертин.

Антитромбин III (АТ-III) — гликопротеин, который синтезируется в печени и эндотелиальных клетках. АТ-III — главный ингибитор тромбина. Он также необратимо ингибирует большинство сериновых протеиназ свертывающей системы (ф. Ха, XIIa, XIa, IXa), калликреин, а также плазмин. На долю АТ-III приходится почти 90 % всей антитромбиновой и более 75 % всей антикоагулянтной активности крови. Активатором АТ-III является гепарин. Без гепарина антитромбин III может инактивировать тромбин в крови, но медленно. Гепарин, образуя комплекс с антитромбином III, изменяет его конформацию и повышает сродство к сериновым протеазам. Затем гепарин высвобождается из комплекса и может активировать другие молекулы антитромбина III.

Гепарин (строение и свойства см. п. 14.1 «Белково-углеводные комплексы внеклеточного матрикса») — естественный антикоагулянт широкого спектра действия, образуется в тучных клетках и базофильных лейкоцитах. Кроме активации антитромбина III, антикоагуляционный эффект гепарина связан с прямым действием на систему свертывания крови за счет образования комплексов со многими факторами гемокоагуляции и проявляется в торможении I, II и III фаз свертывания.

Протеины С и S — витамин-К-зависимые гликопротеины, синтезируемые гепатоцитами. Протеин С синтезируется в неактивной форме и превращается в активную протеиназу тромбином. Протеин С катализирует расщепление в плазме крови ф. VIIIa и Va. Функция протеина С усиливается под влиянием протеина S, выполняющего роль кофактора.

α_2 -Макроглобулин является ингибитором взаимодействия тромбина с фибриногеном. На его долю приходится 3,5 % всего антитромбинового потенциала крови.

α_1 -Антитрипсин ингибирует тромбин, ф. XIa, калликреин, а также панкреатические и лейкоцитарные протеазы, ренин, урокиназу.

Антиконвертин (ингибитор пути тканевого фактора) синтезируется в основном эндотелиальными клетками, поэтому большее его количество находится на поверхности эндотелия. Антиконвертин ингибирует внешний

11.6. Антикоагулянтная система

механизм свертывания крови: связывает и инактивирует ф. Ха и комплекс ф. VIIa – Ca^{2+} – тканевый тромбопластин.

Вторичные антикоагулянты образуются в процессе свертывания крови и фибринолиза. Примером вторичных антикоагулянтов является *фибрин*, который адсорбирует и инактивирует тромбин. Продукты деградации фибрина нарушают полимеризацию фибрин-мономера, блокируют фибрин-мономер, угнетают агрегацию тромбоцитов.

В физиологических условиях содержание антикоагулянтов достаточно для сдерживания процессов гемокоагуляции. При усиленном тромбообразовании компенсаторно растет и уровень антикоагулянтов.

К факторам, замедляющим и предотвращающим гемокоагуляцию, относятся:

- 1) понижение температуры;
- 2) кальцийсвязывающие вещества — лимонная кислота, щавелевая кислота, этилендиаминтетраацетат (ЭДТА), что используется в лабораторной практике для получения плазмы крови и для консервирования крови;
- 3) гепарин;
- 4) гладкая поверхность (гладкие швы при сшивании сосудов в хирургии, покрытие силиконом или парафинирование канюль и емкостей для донорской крови).

Специфический ингибитор тромбина — природный антикоагулянт *гирудин* (от лат. *hirudo* — пиявка) — секрет слюнных желез медицинской пиявки.

В медицинской практике используются **искусственные антикоагулянты**. Они тормозят появление нитей фибрина, препятствуют тромбообразованию, способствуют прекращению роста уже возникших тромбов, усиливают воздействие на тромбы эндогенных фибринолитических ферментов.

В зависимости от механизма и времени развития эффекта различают антикоагулянты *прямые*, или *быстрого действия* (гепарин), эффективные *in vitro* и *in vivo*, и *непрямые* (антагонисты витамина К) или *антикоагулянты длительного действия* (варфарин, дикумарол, синкумар, фенилин, фениндион). Они действуют только *in vivo* и после латентного периода.

Непрямые антикоагулянты — это структурные аналоги витамина К. Являясь конкурентными ингибиторами НАДФН· H^+ -зависимой витамин-К-редуктазы (рис. 11.15), они блокируют восстановление неактивной (окисленной) формы витамина К в активную (восстановленную). Это нарушает синтез витамин-К-зависимых плазменных факторов гемостаза.

Антикоагулянты используют для профилактики и лечения тромбозов. Люди, постоянно получающие антикоагулянтную терапию, подвергаются повышенному риску развития кровотечений, в том числе в ходе операций в полости рта или удаления зубов.

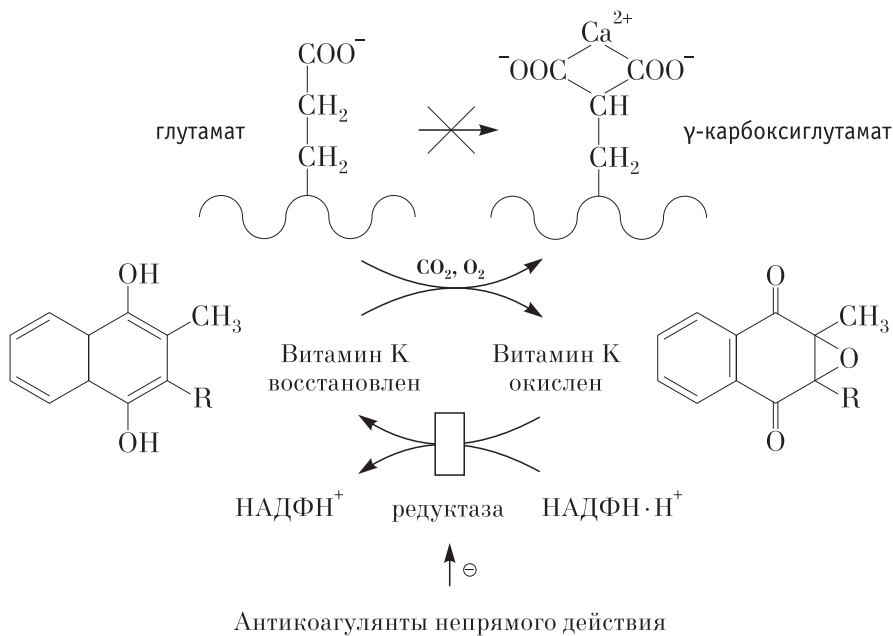


Рис. 11.15. Локализация действия непрямых антикоагулянтов

11.7. Фибринолитическая система

В отличие от прямых и непрямых антикоагулянтов, действие которых направлено на *предотвращение* тромбообразования, механизм действия тромболитических средств заключается в *растворении* фибринового тромба. Принцип их действия заключается в том, что они активируют систему фибринолиза.

Фибринолиз — это процесс расщепления фибрина на растворимые фрагменты (пептиды), в результате чего происходит лизис (растворение) фибринового сгустка. Фибринолиз начинается одновременно с ретракцией. Этот этап гемостаза предотвращает закупорку сосуда фибриновым тромбом. Фибринолиз может быть *ферментативный* (под действием плазмина или ферментов клеток крови) и *неферментативный* (комплексы гепарина с фибриногеном, тромбином, плазмином, адреналином, норадреналином, гистамином). В обоих случаях нестабилизированный фибрин разрушается. У здоровых людей активация фибринолиза всегда происходит вторично, в ответ на усиление гемокоагуляции.

Основным звеном фибринолиза является *плазминовая система*. В плазминовую систему входят (рис. 11.16):

- 1) плазмин;
- 2) его профермент плазминоген;

11.7. Фибринолитическая система

- 3) активаторы плазминогена;
- 4) проактиваторы плазминогена;
- 5) ингибиторы плазмина;
- 6) ингибиторы активаторов плазминогена.

Плазмин обладает высокой специфичностью к фибрину и фибриногену. В результате действия плазмина фибрин (фибриноген) распадается на растворимые фрагменты (пептиды), которые затем удаляются из кровотока клетками системы мононуклеарных фагоцитов.

В плазме крови содержится неактивный предшественник плазмина — **плазминоген**. По химической структуре он является гликопротеином и синтезируется в печени, костном мозге, почках. Формирование фибринового тромба сопровождается осаждением на нем профермента плазминогена и его активаторов.

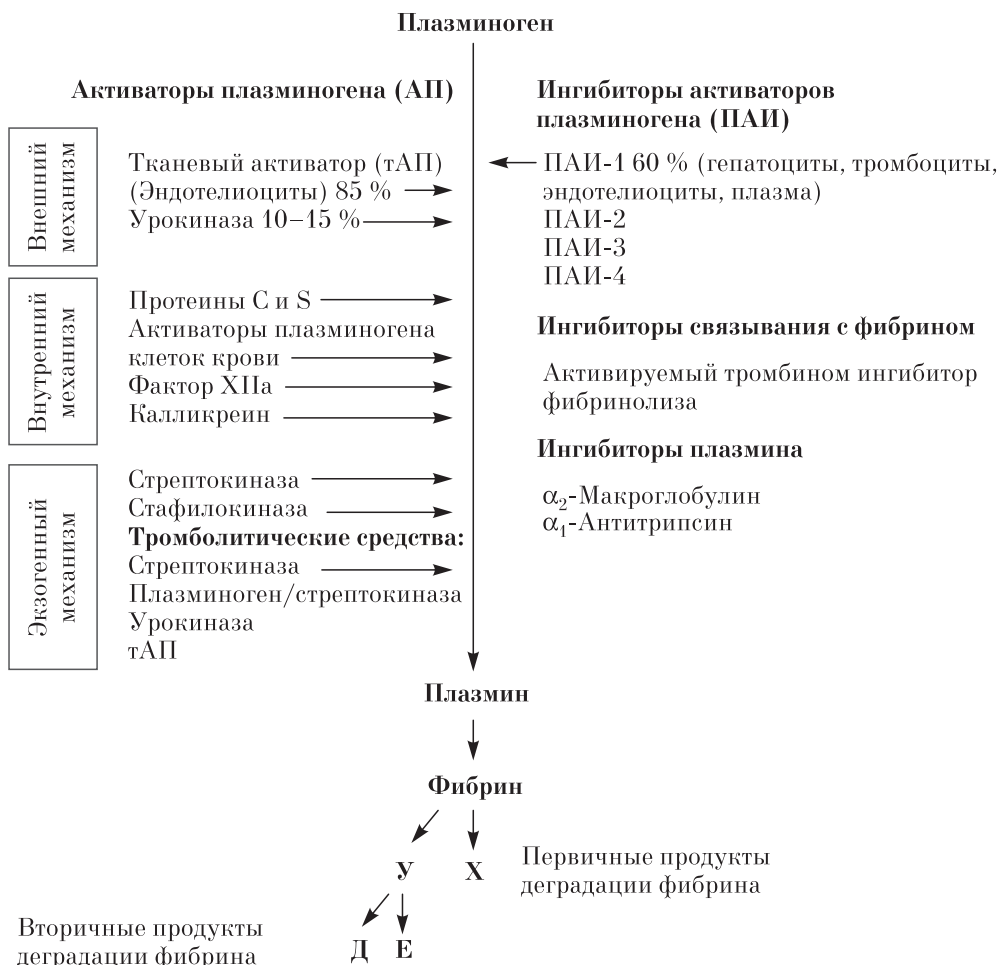


Рис. 11.16. Плазминовая система

Компоненты плазминовой системы адсорбируются на фибриновых нитях в лизин-связывающих сайтах, в которых плазминоген при помощи тканевого активатора плазминогена активируется в результате частичного протеолиза и превращается в плазмин.

Существует большое количество активаторов плазминогена, которые присутствуют в крови, других жидкостях и тканях организма человека:

- тканевой активатор плазминогена (т-АП) и урокиназа — ферменты (сериновые протеазы), катализирующие превращение плазминогена в плазмин. Он выделяется эндотелием, моноцитами и мегакариоцитами. Урокиназу продуцируют эпителиальные клетки почечных протоков, юктагломерулярные клетки, фибробласты, макрофаги, эндотелиоциты;

- фактор XII (фактор Хагемана) — контактный фактор, активатор плазминогена и прекалликреина;

- прекалликреин (фактор Флетчера) — контактный фактор, профермент калликреина, катализирующего образование кининов, но для этого должен сначала активироваться фактором Хагемана (ф. XIIa);

- высокомолекулярный кининоген (ВМК, фактор Фитцджеральда) — в кровотоке находится в комплексе с фактором XII, является рецептором прекалликреина;

- стрептокиназа используется в качестве активатора плазминогена в составе лекарственного препарата. Ее продуцируют некоторые штаммы β -гемолитического стрептококка. Сама стрептокиназа протеолитической активностью не обладает. Соединяясь с плазминогеном в соотношении (1:1), стрептокиназа приобретает ферментативную активность и способствует превращению молекулы плазминогена в плазмин как в тромбе, так и в плазме крови.

Активаторы превращения плазминогена в плазме образуются сосудистой стенкой (внутренняя активация) или тканями (внешняя активация). В свою очередь, внутренний механизм активации разделяют на Хагеман-зависимый (XIIa-зависимый) и Хагеман-независимый (XIIa-независимый). Хагеман-зависимый фибринолиз происходит под влиянием фактора XIIa, калликреина и высокомолекулярного кининогена. Этот путь носит срочный характер и необходим для очистки сосудистого русла от нестабилизированного фибрина, который образуется в процессе внутрисосудистого свертывания крови. Хагеман-независимый фибринолиз осуществляется калликреином и ВМК, но без фактора Хагемана. Внешний путь активации, доминирующий, осуществляется при участии активаторов плазминогена т-АП и урокиназы.

В норме фибринолитическая система находится в динамическом равновесии между ее активацией и ингибированием. Локальное или системное снижение фибринолитической активности приводит к тромбозам. С другой стороны, чрезмерное повышение фибринолитической активности может сопровождаться кровотечениями.

Ингибирование фибринолиза осуществляется на каждом этапе активации этого процесса. Основные физиологические ингибиторы фибринолиза подраз-

11.8. Коагулограмма

деляют на ингибиторы активаторов плазминогена (ПАИ-1, ПАИ-2, ПАИ-3, ПАИ-4), которые относятся к группе серпинов — ингибиторов сериновых протеаз; ингибиторы связывания с фибрином, к которым относится «ингибитор фибринолиза, активируемый тромбином»; и ингибиторы плазмина (α_2 -антиплазмин, α_2 -макроглобулин).

Ингибитор активатора плазминогена 1-го типа (ПАИ-1) — основной ингибитор фибринолиза, синтезируется эндотелием сосудов. Белок специфично ингибирует эффект т-АП и урокиназы, препятствуя их взаимодействию с плазминогеном. В свою очередь сам ПАИ-1 ингибируется протеином С. Таким образом, протеин С не только подавляет коагуляцию (через инактивацию факторов Va и VIIIa), но и усиливает фибринолиз.

«Ингибитор фибринолиза, активируемый тромбином» активируется тромбин-тромбомодулиновым комплексом и разрушает каталитическую поверхность фибрина (лизин-связывающий сайт), необходимую для действия т-АП. Кроме того, в более высокой концентрации этот белок прямо ингибирует плазминоген, что предотвращает преждевременный лизис тромба.

α_2 -Антиплазмин — фермент (сериновая протеаза), быстродействующий ингибитор плазмина. Он мешает плазминогену адсорбироваться на фибрине, снижая количество образующегося плазмина на поверхности сгустка и тем самым резко замедляя фибринолиз.

α_2 -Макроглобулин — инактивирует тромбин, фактор XIIa и плазмин. Механизм ингибирования заключается в образовании комплекса α_2 -макроглобулин — протеаза, который затем поступает в клетки печени и там разрушается.

11.8. Коагулограмма

Для оценки состояния системы свертывания крови на этапах диагностики и лечения пациентов используются *коагулологические тесты (коагулограмма)*, дающие не только общее представление о состоянии системы свертывания (время свертывания крови, продолжительность кровотечения, количество тромбоцитов), но и характеризующие состояние отдельных фаз свертывания и противосвертывающих систем (протромбиновое время, количество фибриногена, определение продуктов распада фибриногена и т.д.). Коагулограмма позволяет выявить риск гиперкоагуляции или кровотечения.

Ниже приведены некоторые из показателей коагулограммы, которые наиболее широко используются для определения в клинической практике.

Протромбиновый индекс (ПТИ) позволяет оценить состояние внешнего пути свертывания крови. Представляет собой отношение времени свертывания крови пациента к принятому стандарту. Нормальная величина показателя — 97–100 %.

Тромбиновое время (ТВ) характеризует конечный этап свертывания крови посредством измерения времени, необходимого для образования сгустка

фибрина в плазме при добавлении к ней тромбина. Нормальная величина составляет 11–18 с.

Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) является самой чувствительной характеристикой системы гемостаза и характеризует внутренний путь свертывания крови. Фактически, это длительность формирования сгустка крови. Увеличение АЧТВ связано с повышенным риском кровотечений, уменьшение — с тромбозом. Нормальное значение АЧТВ составляет 23–37 с.

Биохимия печени

Печень занимает центральное место в обмене веществ и является важнейшей «биохимической лабораторией» организма. Кровь притекает к этому органу из воротной вены и печеночной артерии, а вытекает через печеночные вены. Особенности анатомических связей с другими органами и ферментного аппарата печени дает ей возможность активно участвовать в обмене веществ и выполнять ряд важнейших функций, таких как гомеостатическая, депонирующая, антитоксическая, экскреторная, функция желчеобразования и пигментообразования.

Разнообразие функций обусловлено строением печени. Гепатоциты имеют хорошо развитый эндоплазматический ретикулум (ЭПР). В рибосомах и шероховатом ЭПР происходят синтез и достройка новосинтезированных белков. В отличие от шероховатого, на мембранах гладкого ЭПР нет рибосом. Он содержит многочисленные ферменты (цитохром P_{450} , десатуразы и др.), участвующие в синтезе жирных кислот, фосфолипидов, холестерина и других стероидов. Гладкий ЭПР играет важную роль в инактивации и детоксикации метаболитов, ксенобиотиков.

12.1. Роль печени в метаболизме белков

В печени образуются все белки плазмы крови за исключением иммуноглобулинов. К ним относятся белки свертывающей системы крови (протромбин, фибриноген, факторы свертывания V, VII, IX, X, XI, XII), альбумины (около 12 г/сут), α - и β -глобулины. Последние включают в себя транспортные белки (ферритин, церулоплазмин, транскортин, ретинолсвязывающий белок и др.), ферменты (липопротеинлипаза, холинэстераза, псевдохолинэстераза).

Печень также участвует в регуляции уровня аминокислот в плазме крови. Аминокислоты высвобождаются из белков в процессе пищеварения. Вслед за всасыванием с током крови они поступают в печень, где подвергаются переаминированию и дезаминированию (рис. 12.1). Безазотистые остатки аминокислот используются для синтеза глюкозы (глюконеогенез), α -кетокислот и в дальнейшем — для получения энергии. Другие аминокислоты в процессе

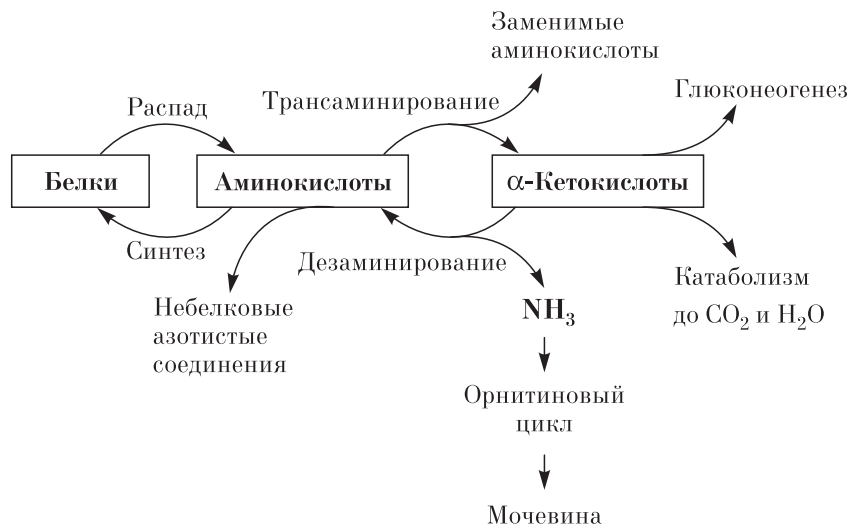


Рис. 12.1. Схема обмена аминокислот в печени

катаболизма превращаются в ацетоацетат (Лиз, Лей) или ацетил-КоА (Тир, Фен, Трп, Иле, Тре) и затем вовлекаются в синтез кетонových тел.

Аммиак, образующийся в печени в ходе дезаминирования аминокислот, глутамина, а также возникающий в процессе гниения белков в толстом кишечнике, превращается в мочевину и таким образом обезвреживается.

В печени синтезируются небелковые азотсодержащие вещества (холин, креатин, никотинамид, нуклеотиды и т.д.).

12.2. Роль печени в метаболизме липидов

Клетки печени контролируют соотношение между потреблением и синтезом липидов в организме. В гепатоцитах синтезируются, распадаются, удлиняются либо укорачиваются жирные кислоты; распадаются, синтезируются либо модифицируются триацилглицеролы; синтезируются фосфолипиды, 90 % холестерина всего организма, ЛПОНП и ЛПВП. Напомним, что из ЛПОНП в кровотоке образуются ЛПНП, с помощью которых новосинтезированный в печени холестерин поступает в клетки организма. Только в печени образуются кетонových тела и желчные кислоты. При этом желчные кислоты являются конечным продуктом катаболизма холестерина. Они входят в состав желчи, необходимой для переваривания липидов в кишечнике. Многие из перечисленных метаболических путей начинаются с ацетил-КоА, что позволяет рассматривать его в качестве ключевого метаболита липидного обмена вообще, и в печени в частности (рис. 12.2).

12.3. Роль печени в метаболизме углеводов

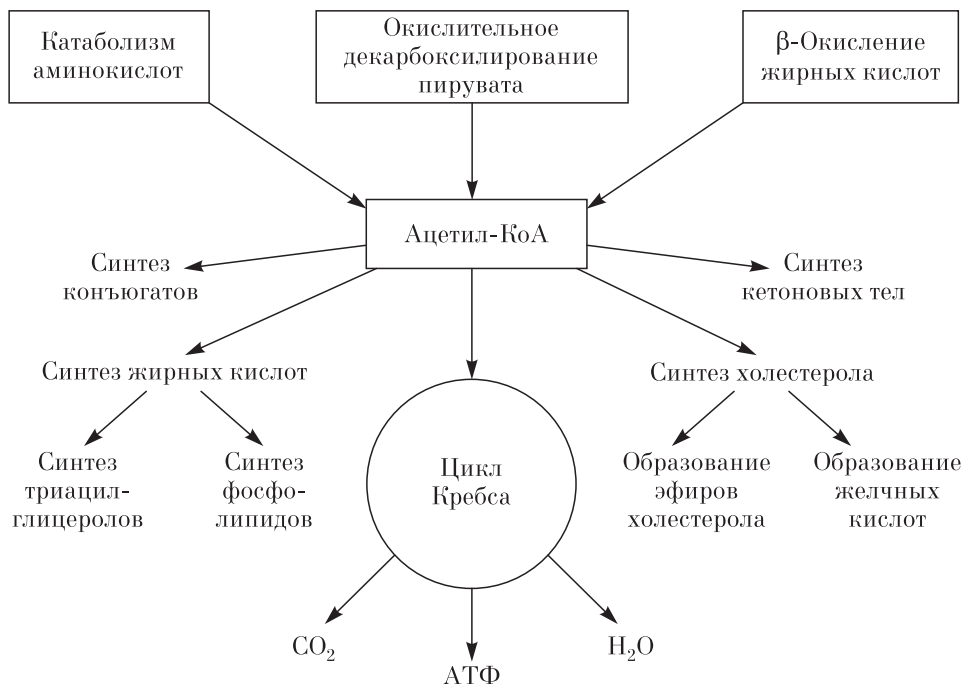


Рис. 12.2. Образование и использование ацетил-КоА в печени

12.3. Роль печени в метаболизме углеводов

Печень играет исключительную роль в поддержании уровня глюкозы в крови. На это направлены три механизма, которые были подробно рассмотрены в главе 3 «Химия и обмен углеводов». К ним относится, во-первых, способность печени депонировать глюкозу и затем поставлять ее по мере необходимости в общий кровоток. Это связано с синтезом в гепатоцитах фермента глюкозо-6-фосфатазы. С его участием высвобождающийся из гликогена глюкозо-6-фосфат превращается в свободную глюкозу, которая легко покидает клетки печени и поступает в кровоток.

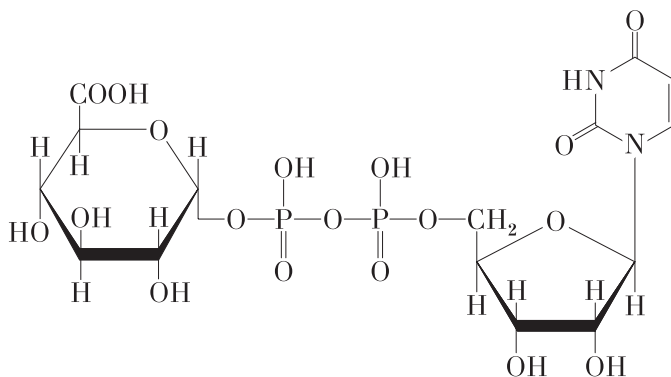
Во-вторых, в печени активно протекает глюконеогенез. В ходе этого метаболического пути глюкоза образуется из кетокислоты — *пирувата* и аминокислоты — *аланина* (поступают из мышц), спирта — *глицерола* (из жировой ткани), глюкогенных аминокислот пищи. Превращение лактата в глюкозу в цикле Кори и аланина в глюкозу в глюкозо-аланиновом цикле играет особую роль в обеспечении энергией эритроцитов и мышечных клеток.

В-третьих, в печени происходит превращение других гексоз (галактозы и фруктозы) в глюкозу.

Гликолиз и пентозофосфатный путь окисления глюкозы в печени поставляют метаболиты-предшественники для биосинтеза аминокислот, жирных кислот, глицерола и нуклеотидов. Глюкуроновый путь обмена глюкозы служит источником глюкуроновой кислоты, которая необходима для обезвреживания в печени ксенобиотиков, в том числе лекарственных препаратов, продуктов распада гема.

12.4. Антитоксическая функция печени

Печень играет ключевую роль в обезвреживании токсических веществ. В результате гнилостных процессов в кишечнике из тирозина образуются фенол и крезол, из триптофана — индол и скатол. Из организма могут выводиться только водорастворимые соединения, поэтому гидрофобные ксенобиотики должны приобрести способность растворения в воде за счет присоединения полярных групп. Это достигается путем *конъюгации*, т.е. связывания с полярными, отрицательно заряженными молекулами, например с активными формами глюкуроновой или серной кислот — *УДФ-глюкуроновой кислотой* и *ФАФС* (фосфоаденозинфосфосульфатом) (рис. 12.3). Реакции конъюгации катализируют ферменты *УДФ-глюкуронилтрансфераза* и *сульфотрансфераза*, соответственно.



УДФ-глюкуроновая кислота

Еще в одном механизме обезвреживания ксенобиотиков в печени участвуют микросомы. Ферменты микросомной системы, относящиеся к **монооксигеназам**, катализируют *окисление* стероидов, жирных кислот, ретиноидов, желчных кислот, биогенных аминов, лейкотриенов и экзогенных соединений, в том числе лекарственных вещества (рис. 12.4).

Монооксигеназы микросомной системы являются НАДФ-зависимыми ферментами и включают в свой состав цитохром P₄₅₀. Он представляет собой гемопротейн, обеспечивающий присоединение кислорода к обезвреживаемому

12.4. Антитоксическая функция

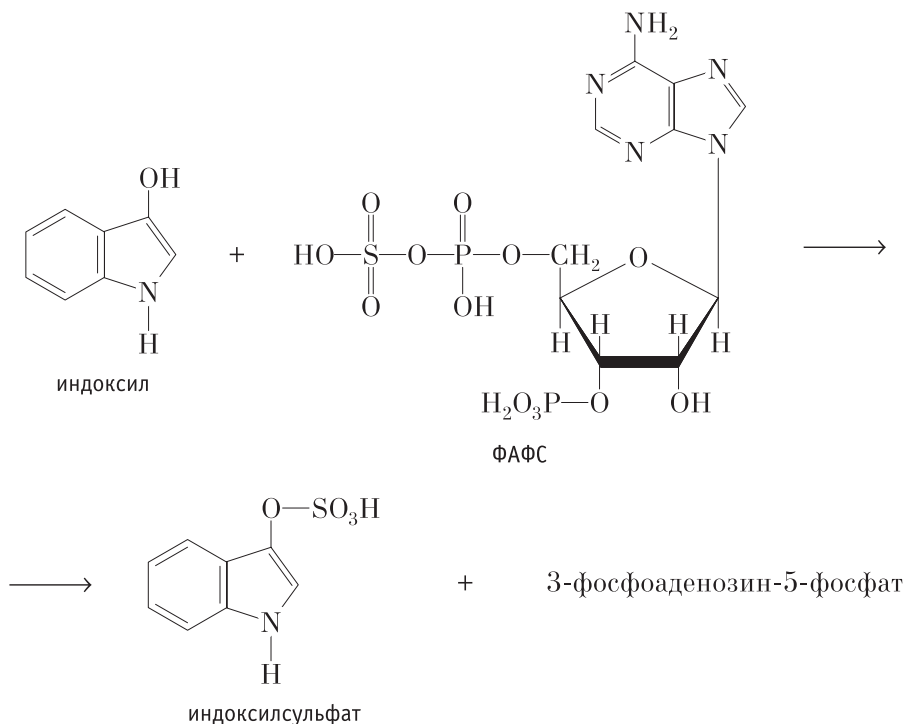


Рис. 12.3. Реакция конъюгации индоксила с участием фосфоаденозинфосфосульфата (ФАФС)

соединению. В большинстве случаев донором электронов для этой цепи служит НАДФН·Н⁺, источником которого является пентозофосфатный путь обмена глюкозы. Флавопротеин (НАДФН·Н⁺-цитохром Р₄₅₀-оксидоредуктаза) осуществляет перенос протонов и электронов с НАДФН·Н⁺ на коферменты ФАД и ФМН. От ФМН₂ электроны транспортируются на цитохром Р₄₅₀, а протоны — в окружающую среду.

Цитохром Р₄₅₀ переносит электроны на кислород, в результате один атом молекулы кислорода включается в окисляемое вещество R—H, образуя гидроксильную группу вещества R—OH, а другой атом, связывая два протона водо-

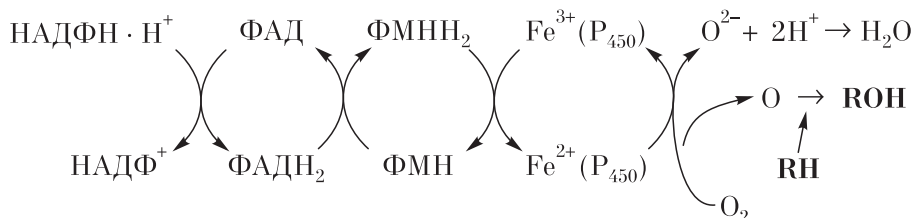
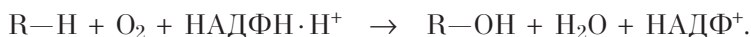


Рис. 12.4. Схема монооксигеназной цепи окисления соединений в микросомах

рода из среды, образует воду. Таким образом, реакции с участием цитохром Р₄₅₀-зависимых монооксигеназ приводят к гидроксилированию различных соединений. Схема реакции гидроксилирования вещества R—H имеет вид

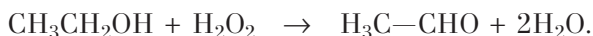


В печени также происходит *пероксисомное окисление*. Пероксисомы — специальные органеллы цитоплазмы гепатоцитов, которые осуществляют окисление различных веществ с помощью содержащихся в них ферментов: оксидазы мочевой кислоты, оксидаз аминокислот, каталазы. В частности, каталаза катализирует расщепление пероксида водорода с образованием воды и молекулярного кислорода.

В печени происходит окисление этанола. Основную роль в этом процессе играет цинксодержащий НАД⁺-зависимый фермент *алкогольдегидрогеназа* (АДГ), локализующийся преимущественно в клетках печени (95 %). АДГ катализирует обратимую реакцию, направление которой зависит от концентрации ацетальдегида и соотношения НАДН · Н⁺/НАД⁺ в клетке:



Каталаза пероксисом в печени также принимает участие в расщеплении примерно 2 % этанола. Этот фермент утилизирует пероксид водорода:



Образовавшийся из этанола ацетальдегид далее окисляется до уксусной кислоты двумя ферментами: ФАД-зависимой альдегидоксидазой и НАД-зависимой ацетальдегиддегидрогеназой.

В печени интенсивно протекают процессы метилирования и ацетилирования (например, витамин РР, метилируясь, превращается в N-метилникотинамид и выводится из организма).

Печень способна не только аккумулировать, но и обезвреживать тяжелые металлы. С помощью белка *металлотioneина*, содержащего остатки цистина, в печени связываются и обезвреживаются Cd²⁺, Cu²⁺, Hg²⁺, Zn²⁺. Образование металлотioneина индуцируется самими этими металлами.

Антитоксическая функция печени в клинической практике изучается с помощью различных нагрузочных тестов. Одним из них является проба Квика — Пытеля. Пациент принимает бензоат натрия, который в печени связывается с аминокислотой глицином и образуется гиппуровая кислота. В моче определяют количество образовавшейся гиппуровой кислоты. При поражении паренхимы печени ее синтез снижается и в моче, соответственно, определяется меньшее ее количество.

12.5. Экскреторная функция печени и желчеобразование

Гепатоциты продуцируют желчь со скоростью 500–700 мл/сут. Она образуется непрерывно, накапливаясь в желчном пузыре, где сгущается в результате всасывания воды и электролитов. В процессе пищеварения желчь из желчного пузыря поступает в двенадцатиперстную кишку, где включается в процессы переваривания и всасывания жиров и жирорастворимых веществ (в том числе витаминов).

С желчью из печени в кишечник экскретируются желчные кислоты и их соли, муцин, электролиты (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^-), холестерол, жирные кислоты. Там содержатся некоторые ферменты, например щелочная фосфатаза. Поэтому при нарушении оттока желчи активность щелочной фосфатазы в плазме крови возрастает (экскреторный фермент).

Избыток холестерина в желчи может привести к выпадению его в осадок и образованию камней. Такие камни опасны для организма, поскольку они способствуют развитию воспаления стенок желчного пузыря и желчевыводящих протоков (холецистит, холангит), создают препятствие для оттока желчи.

12.6. Роль печени в депонировании участников метаболизма

Печень служит местом депонирования энергетических источников. К примеру, содержание гликогена здесь достигает 10 % массы печени. Именно в печени сосредоточены запасы минеральных веществ, в том числе кобальта, меди, железа.

Печень участвует в метаболизме витаминов А, В₁₂, С, Е, К, D, РР и фолиевой кислоты. Витамин А (ретинол) здесь подвергается биотрансформации, превращаясь сначала в ретиноль, а затем в ретиноевую кислоту. В печени депонируется 90 % витамина А, содержащегося в организме, в виде эфиров — ретинолпальмитата, ретинолацетата и ретинолфосфата. В печени происходит один из этапов активации витамина D путем образования 25-гидроксичолекальциферола.

12.7. Синтез и распад гема. Роль печени в обмене и обезвреживании желчных пигментов

Синтез гема. Гем синтезируется в клетках всех тканей и органов, но наиболее активно — в печени и костном мозге. Гем является небелковым компонентом в составе жизненно важных сложных белков: гемоглобина, миоглобина,

цитохромов дыхательной цепи и цитохрома P_{450} , каталазы, тиреопероксидазы. Они участвуют в тканевом дыхании, транспорте кислорода и углекислого газа, окислительно-восстановительных реакциях, свето-, цветовосприятии и др.

Первая реакция синтеза гема — образование δ (дельта)-аминолевулиновой кислоты из глицина и сукцинил-КоА (рис. 12.5). Эту реакцию катализирует пиридоксальфосфатзависимый фермент митохондрий *δ -аминолевулинатсинтаза* (*δ -АЛС*). Он является ключевым ферментом в синтезе гема, поскольку от его активности зависит интенсивность всего процесса.

Из митохондрий δ -аминолевулиновая кислота поступает в цитоплазму, где проходят промежуточные этапы синтеза гема: соединение двух молекул δ -аминолевулиновой кислоты в молекулу порфобилиногена, дезаминирование порфобилиногена и ферментативное превращение в молекулу уропорфобилиногена III, декарбоксилирование последнего с образованием копропорфириногена III. Из цитоплазмы копропорфириноген III опять поступает в митохондрии, где проходят заключительные реакции синтеза гема. В результате двух последовательных окислительных реакций копропорфириноген III превращается в протопорфириноген IX, а протопорфириноген IX — в протопорфирин IX. Он является прямым предшественником гема и всех порфиринов. Фермент гемсинтаза (феррохелатаза), присоединяя к протопорфирину IX двухвалентное железо, превращает его в гем. Донором железа служит белок ферритин, депонирующий железо в клетках.

Синтезированный гем, соединяясь с α - и β -полипептидными цепями глобина, образует гемоглобин.

Регуляция синтеза гема. Активность δ -аминолевулинатсинтазы регулируется аллостерически и на уровне транскрипции гена фермента. Гем и гемоглобин являются аллостерическими ингибиторами синтеза δ -аминолевулинатсинтазы. Стероидные гормоны являются индукторами синтеза аминолевулинатсинтазы. Положительным модулятором δ -аминолевулинатсинтазы служит гипоксия тканей, которая в эритропоэтических тканях индуцирует синтез фермента. Дефицит пиридоксальфосфата снижает активность δ -аминолевулинатсинтазы.

δ -Аминолевулинатдегидратаза и гемсинтаза чрезвычайно чувствительны к свинцу и другим тяжелым металлам.

Гем регулирует синтез глобина: при снижении скорости синтеза гема синтез глобина в ретикулоцитах тормозится.



Рис. 12.5. Схема синтеза гема и его регуляция

12.7. Роль печени в обмене желчных пигментов

Нарушение образования гема может быть связано с нарушением питания (недостаток Fe, Co, Cu, фолиевой кислоты, витамина B₁₂). При этом развиваются различного рода анемии.

В результате генетических дефектов или нарушения регуляции ферментов, участвующих в биосинтезе гема, развиваются *порфирии*. Проявляются порфирии гемолитическим кризом, желудочно-кишечными и нервно-психическими расстройствами, фотодерматозом (под воздействием солнечных лучей на коже появляются эрозии, пузыри, глубокие трещины). Истончается и ломается слизистая полости рта, кровоточат десны, обнажаются корни зубов.

В связи с отложением порфиринов в эмали и дентине происходит окрашивание зубов (эритродонтия). Они приобретают пурпурно-коричневую окраску. Поражаются как временные, так и постоянные зубы. При исследовании в ультрафиолетовых лучах зубы дают яркое пурпурно-красное флюоресцирующее свечение.

Распад гема. Продолжительность жизни эритроцита составляет 120 дней. Разрушение эритроцитов происходит, главным образом, в печени, селезенке и костном мозге. В ходе разрушения из эритроцитов высвобождается *гемоглобин* (около 8–9 г/сут).

Распад гемоглобина начинается с образования гемоглобино-гаптоглобинового комплекса, который подвергается ферментативному окислению. Двухвалентное железо в составе гемоглобина окисляется до Fe³⁺. Затем начинается разрушение тетрапиррольной структуры гема. Происходит разрыв α-метиновой связи между I и II порфириновыми кольцами (рис. 12.6). Первая реакция катаболизма гема происходит при участии НАДФН·H⁺-зависимого ферментативного комплекса *гемоксигеназы*. Ферментная система локализована в мембране ЭПР. В результате образуется *вердоглобин* (пигмент зеленого цвета).

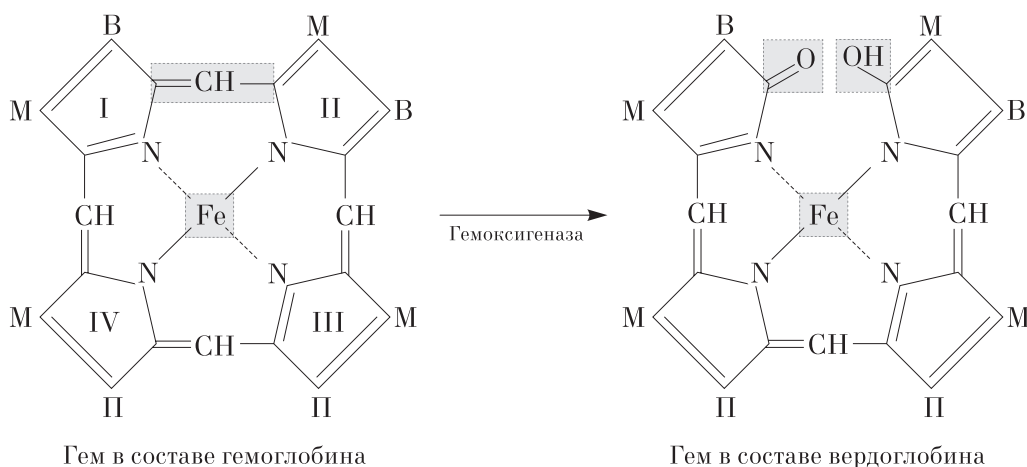


Рис. 12.6. Реакция образования вердоглобина

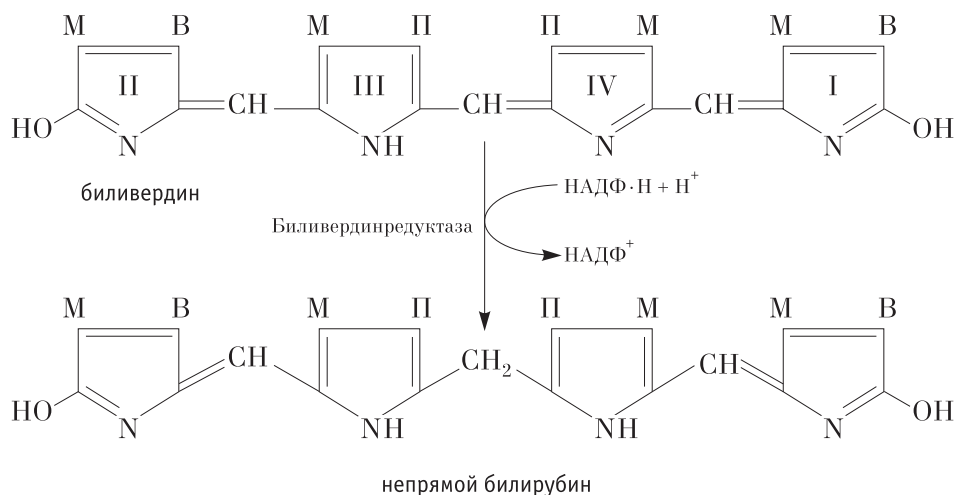


Рис. 12.7. Реакция образования непрямого билирубина

Дальнейший распад вердоглобина происходит спонтанно с освобождением белка *глобина* и образованием линейного тетрапиррола *биливердина*, монооксида углерода и Fe^{3+} . Железо образует комплекс с белком трансферрином, который поступает в ткани, где железо снова может быть использовано для синтеза новых молекул гемоглобина, или для синтеза других железосодержащих белков, или депонироваться в виде комплекса с белком ферритином.

Образовавшийся биливердин затем восстанавливается под действием *биливердинредуктазы* с образованием желто-зеленого пигмента *билирубина*, являющегося основным желчным пигментом у человека и животных (рис. 12.7).

Образовавшийся при распаде гемоглобина билирубин называется *непрямым, свободным* или *неконъюгированным* билирубином (рис. 12.8). Он не растворяется в воде, поэтому не проникает через почечный «фильтр». В крови непрямой билирубин находится в комплексе с альбумином. Для определения в крови непрямого билирубина необходимо предварительное осаждение белков спиртом (непрямая цветная реакция с диазореактивом Эрлиха).

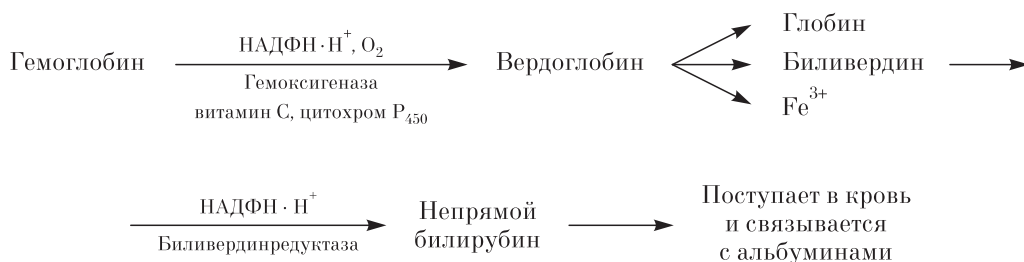
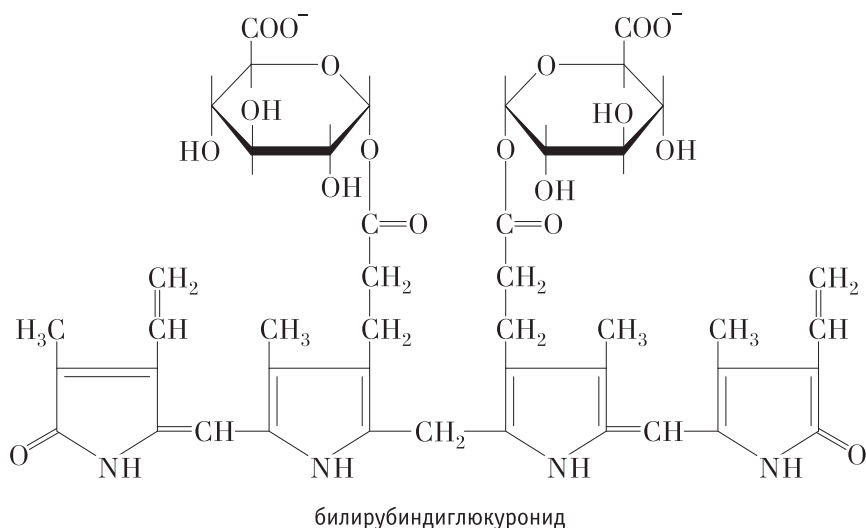


Рис. 12.8. Схема, иллюстрирующая происхождение непрямого билирубина в клетках РЭС

12.7. Роль печени в обмене желчных пигментов

Попадая в клетки печени посредством облегченной диффузии, непрямой билирубин под действием УДФ-глюкуронилтрансферазы (фермента эндоплазматического ретикулума) ковалентно связывается с двумя молекулами УДФ-глюкуроновой кислоты, образуя *билирубиндиглюкуронид*, который называется *связанным* или *конъюгированным* билирубином. Его называют также *прямым*, поскольку он легко дает цветную реакцию с диазореактивом Эрлиха. Прямой билирубин не токсичен, растворяется в воде, проходит через почечный барьер. В крови в норме его содержание не более 25 % от общего билирубина.



Прямой и небольшая часть непрямого билирубина вместе с желчью поступают в тонкий кишечник путем активного транспорта, т.е. против градиента концентрации (рис. 12.9). Поступившие с желчью билирубинглюкурониды в кишечнике гидролизуются специфическими бактериальными ферментами — β -глюкуронидазами, которые гидролизуют связь между билирубином и остатком глюкуроновой кислоты. Освободившийся в ходе этой реакции билирубин восстанавливается с образованием *мезобилирубина*. Последний в дистальных отделах тонкого кишечника под действием кишечной микрофлоры восстанавливается с образованием *уробилиногена* (бесцветное тетрапиррольное соединение).

Часть уробилиногена в тонкой кишке всасывается и через систему воротной вены переносится в печень, расщепляясь там до дипирролов. Основное же его количество в толстом кишечнике при участии анаэробной микрофлоры восстанавливается до *стеркобилиногена*. Значительная часть (80 %) стеркобилиногена выделяется с калом, окисляясь кислородом воздуха с образованием *стеркобилина*, придающего характерную окраску стулу. Небольшое количество стеркобилиногена всасывается через систему геморроидальных вен и попадает в систему большого круга кровообращения, минуя печень. В таком виде он выводится почками с мочой, придавая ей соломенно-желтую окраску.

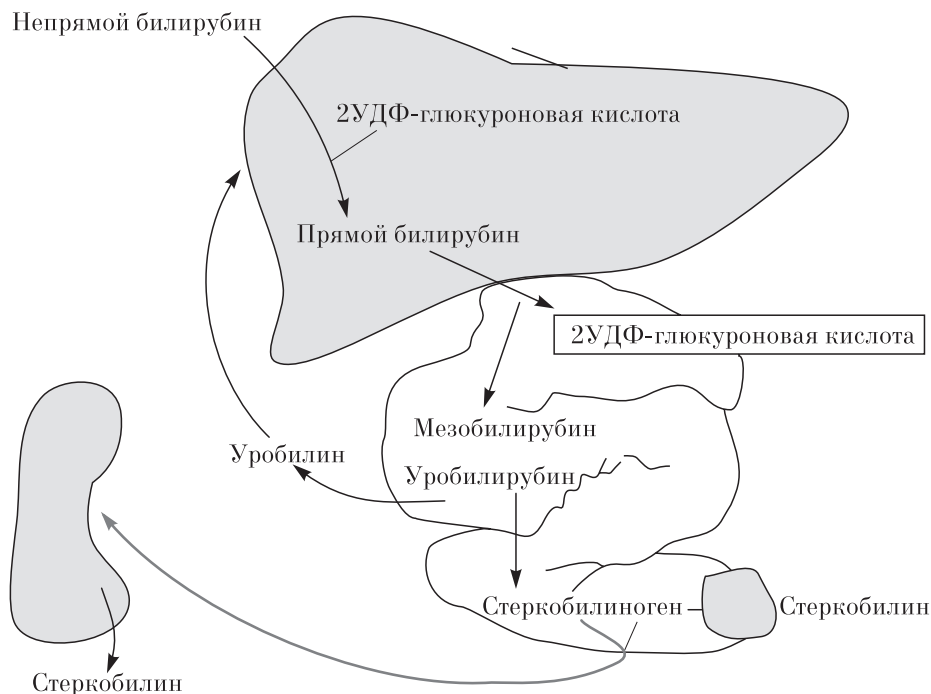


Рис. 12.9. Образование желчных пигментов

Нормальная концентрация общего билирубина в крови колеблется от 8,55 до 20,52 мкмоль/л, из них более 75 % приходится на долю свободного билирубина. При повышении концентрации общего билирубина в крови более 25 мкмоль/л у человека желтеют кожные покровы, слизистые оболочки и склеры. Такое состояние называется *желтуха*.

В зависимости от причины развития различают три вида желтух: гемолитическую, паренхиматозную и механическую.

Паренхиматозная желтуха (печеночная). В случаях тяжелого острого нарушения функциональной способности печени (к примеру, в результате отравления химическими веществами, инфекционного гепатита) происходит массивное разрушение клеток печени. Вследствие этого возникает дефицит УДФ-глюкуронилтрансферазы и снижается способность гепатоцитов к образованию глюкуронидов билирубина. Поэтому в плазме крови увеличивается концентрация непрямого билирубина. Нарушается также экскреция прямого билирубина в желчные капилляры, и он поступает в кровь. Развивается желтуха.

Повышенная концентрация *прямого билирубина* в крови неизбежно сопровождается его выделением с мочой. Кроме того, та часть *уробилиногена*, которая в норме подвергалась всасыванию в кровь с последующим расщеплением в печени, при паренхиматозной желтухе *циркулирует в кровотоке и выделяется с мочой в виде уробилина*. Стул и моча сохраняют окраску.

Биохимия мышечной ткани

Мышечная ткань играет важную роль в организме не только как ткань, обеспечивающая движение. Миоциты — важнейшие потребители глюкозы и место ее депонирования. Резистентность миоцитов к инсулину — основа развития диабета 2-го типа. Инфаркты сердечной мышцы — частая причина смерти и инвалидности среди людей, повышение тонуса мышечных клеток сосудов — основная причина гипертонической болезни. Нередки и врожденные нарушения функции этих клеток. Понимание особенностей метаболизма миоцитов — важное условие правильной тактики врача при лечении многих распространенных заболеваний.

13.1. Структура мышечной ткани

Мышечная ткань у взрослого мужчины составляет более 40 % общей массы тела, у детей — 25 %, у пожилых людей — 30 %. Масса мышц у женщин того же возраста обычно ниже, чем у мужчин. У спортсменов, которые специализируются в силовых видах спорта, мышечная масса может достигать 50–55 %, а у культуристов — 60–70 % общей массы тела. Основная функция мышечной ткани — обеспечение процессов движения.

В организме человека существует три типа мышц: *скелетные*, *сердечная* (миокард) и *гладкие*. Они различаются морфологически, биохимически и функционально. Основная функция мышц — *сократительная*. Она обеспечивается способностью мышечной клетки превращать химическую энергию в механическое движение при постоянном давлении и постоянной температуре.

Функциональной единицей мышечного волокна является *миофибрилла*. Миофибриллы занимают практически всю цитоплазму мышечного волокна (рис. 13.1), оттесняя ядра на периферию. Каждая миофибрилла построена из большого числа *саркомеров*, которые стыкуются друг с другом «конец в конец».

К Z-линиям (пластинкам) саркомера прикреплены тонкие нити, построенные из F-актина, тропомиозина и тропонина, между ними расположены толстые нити, состоящие из миозина. В процессе сокращения происходит втягивание тонких нитей в промежутки между толстыми.

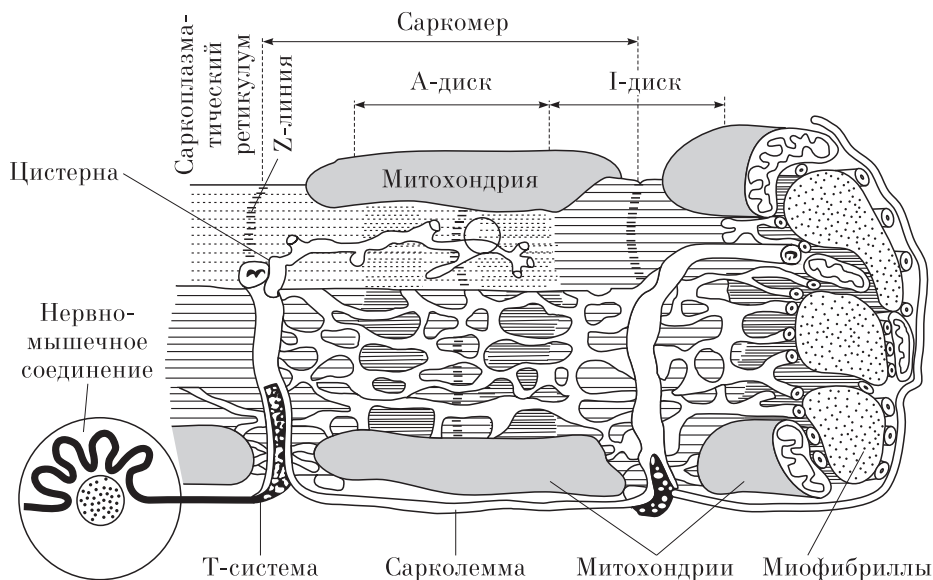


Рис. 13.1. Схема расположения компонентов мышечного волокна

13.2. Химический состав мышечной ткани

В мышечной ткани человека содержится 72–80 % воды и 20–28 % сухого остатка от массы мышцы. Большую часть сухого остатка образуют белки и другие органические соединения.

Белки мышечной ткани можно разделить на три основные группы: *саркоплазматические белки*, на долю которых приходится около 35 %, *миофибриллярные белки*, составляющие около 45 %, и *белки стромы*, количество которых достигает 20 %.

Основная масса саркоплазматических белков представлена ферментами, которые катализируют пути метаболизма глюкозы, аминокислот и липидов. К этой группе также относится миоглобин, депонирующий молекулярный кислород в мышцах.

К миофибриллярным белкам относятся сократительные белки: *миозин*, *актин* и *актомиозин*, — а также регуляторные белки: *тропомиозин*, *тропонин*, α - и β -*актинины*. Миофибриллярные белки обеспечивают сократительную функцию мышц.

Миозин — основной сократительный белок мышц, составляющий около 55 % общего количества мышечных белков. Из него состоят толстые нити миофибрилл. Молекулярная масса этого белка — около 470×10^3 а.е.м. В молекуле миозина различают длинную фибриллярную часть и глобулярные структуры (головки). Фибриллярная часть молекулы миозина имеет двуспиральную

13.2. Химический состав мышечной ткани

структуру. В составе молекулы выделяют шесть субъединиц: две тяжелые полипептидные цепи (М.М. 200×10^3 а.е.м.) и четыре легкие цепи (М.М. 1500–2700 а.е.м.), расположенные в глобулярной части (рис. 13.2). Основной функцией фибриллярной части молекулы миозина является способность образовывать хорошо упорядоченные пучки или толстые нити миозиновых филаментов. Глобулярные субъединицы молекул миозина обладают АТФазной активностью и связываются с актиновыми филаментами.

Молекула миозина содержит значительное количество глутаминовой аминокислоты и имеет большой отрицательный заряд, что усиливает связывание свободных ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} . Ионы Ca^{2+} стимулируют АТФазную активность миозина и скорость гидролиза АТФ. Химическая энергия, высвобождаемая в ходе данной ферментативной реакции, используется для изменения конформации белка миозина и генерации напряжения между толстыми и тонкими нитями миозина в сокращающейся мышце.

Актин — сократительный белок мышц, который составляет основу тонких нитей. Различают глобулярный G-актин и фибриллярный F-актин. G-Актин — белок с М.М. 42×10^3 а.е.м. На его долю приходится около 25 % общей массы мышечного белка. В присутствии Mg^{2+} актин нековалентно полимеризуется с образованием F-актина. Обе формы актина не обладают ферментативной активностью. Каждая молекула G-актина способна связывать один ион Ca^{2+} , который играет важную роль в инициировании сокращения.

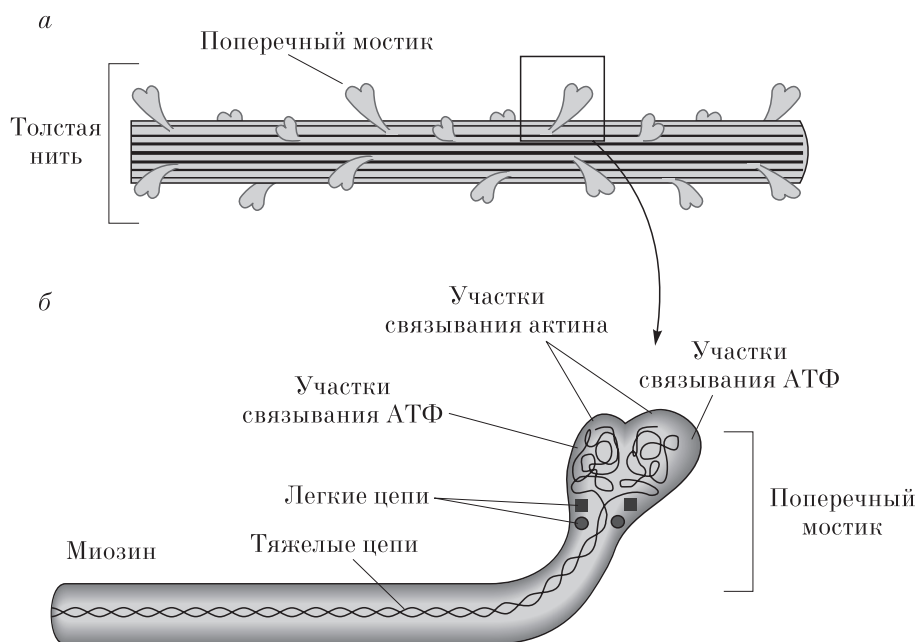


Рис. 13.2. Строение миозина (б) и толстой нити (а)

F-Актин активирует АТФазу миозина, что создает движущую силу процессу сокращения. Актин способен взаимодействовать с миозином, образуя актомиозиновый комплекс. Молярное соотношение актина и миозина в актомиозиновом комплексе $\sim 1:1$. Нить F-актина может связывать большое число молекул миозина. Существенным свойством актомиозинового комплекса является диссоциация его в присутствии АТФ и Mg^{2+} .

В состав тонких нитей входят также тропомиозин, тропонины, актинины.

Тропомиозин — это структурный белок актиновой нити, представляющий собой вытянутую в виде тяжа молекулу. Две его полипептидные цепи как бы обвивают актиновые нити (рис. 13.3). На концах каждой молекулы тропомиозина расположены белки тропониновой системы, наличие которой характерно только для поперечнополосатых мышц.

Тропонин (Тн) является регуляторным белком актиновой нити. Он состоит из трех субъединиц — ТнТ, ТнI и ТnC.

Тропонин Т (ТнТ) обеспечивает связывание этих белков с тропомиозином.

Тропонин I (ТнI) блокирует (ингибирует) взаимодействие актина с миозином.

Тропонин С (ТnC) — это Ca^{2+} -связывающий белок, структура и функции которого подобны широко распространенному в природе белку кальмодулину. Тропонин С, как и кальмодулин, связывает четыре иона Ca^{2+} на молекулу белка и имеет М.М. 17×10^3 а.е.м. В присутствии Ca^{2+} конформация тропонина С изменяется, что приводит к изменению положения тропонина по отношению к актину. В результате открывается центр взаимодействия актина с миозином.

Кроме этих белков, в мышечном сокращении участвует белок **актинин**. Обнаруживается он в зоне Z-линии, к которой крепятся концы F-актиновых молекул тонких нитей миофибрилл.

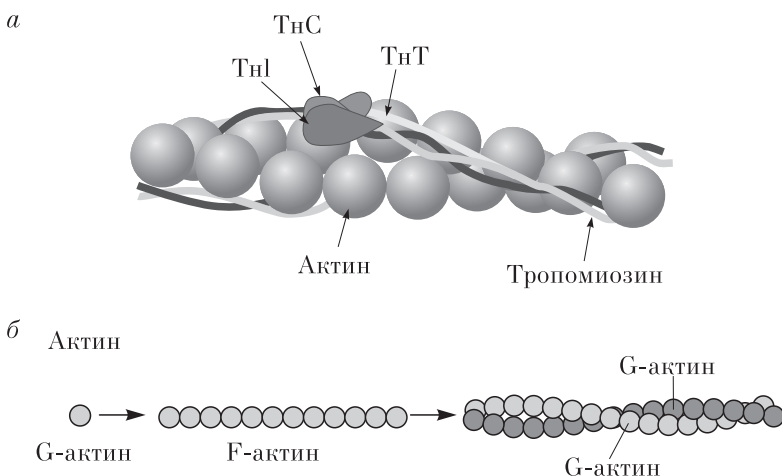


Рис. 13.3. Строение тонкой нити (а) глобулярного G-актина и фибриллярного F-актина (б)

13.3. Молекулярный механизм мышечного сокращения

Белки мышечной стромы в скелетной мышце представлены в основном *коллагеном* и *эластином*, которые входят в состав сарколеммы и Z-линий миофибрилл. Эти белки обладают эластичностью, большой упругостью, что имеет существенное значение для процесса сокращения и расслабления мышцы.

В состав сухого остатка мышц, наряду с белками, входят другие вещества, среди которых выделяют азотсодержащие, безазотистые и минеральные вещества.

К **азотсодержащим веществам** скелетных мышц относятся АТФ и продукты ее гидролиза — АДФ и АМФ, а также креатинфосфат, креатин, креатинин, карнозин, ансерин, свободные аминокислоты и др. АТФ и креатинфосфат служат источниками энергии для мышечного сокращения. Продукты их распада — АДФ, АМФ и креатин — могут оказывать регулирующее действие на обмен веществ в мышцах. Дипептид карнозин участвует в переносе фосфатных групп, стимулирует работу ионных насосов, увеличивает амплитуду мышечного сокращения, способствует восстановлению работоспособности.

Из клеточных мембран мышечной ткани выделен ряд азотсодержащих **фосфолипидов**: фосфатидилхолин (лецитин), фосфатидилэтаноламин (кефалин), фосфатидилсерин и др. Фосфолипиды могут быть поставщиками холина и жирных кислот. Другие азотсодержащие вещества: мочевины, мочевая кислота, пуриновые азотистые основания (аденин, гуанин), — являются промежуточными или конечными продуктами азотистого обмена и встречаются в мышцах в небольших количествах.

Среди важных **безазотистых соединений** мышечной ткани можно назвать *гликоген* — основной энергетический субстрат при напряженной работе. Его количество колеблется от 0,3 до 3,0 % общей массы мышц. В мышце содержится ряд промежуточных продуктов обмена углеводов — гексозофосфаты, пировиноградная и молочная кислоты. Из «безазотистых» липидов в мышечной ткани обнаруживаются триацилглицеролы в виде капелек жира, а также холестерол.

Минеральные вещества составляют 1–1,5 % общей массы мышц.

13.3. Молекулярный механизм мышечного сокращения

Молекулярный механизм мышечного сокращения предложен в 1950-е гг. в форме модели скользящих нитей. В состоянии покоя тропонин-тропомиозиновый комплекс блокирует связывающие миозин участки на актине. Головка миозина готова для проведения сокращения (рис. 13.4, 1).

Сокращение запускается нервным импульсом. Высвобождение ацетилхолина способствует формированию потенциала действия на поверхности саркоплазматической мембраны. Потенциал действия распространяется вглубь волокна через Т-системы, которые контактируют с мембранами саркоплазматического ретикула. Возбуждение способствует выходу ионов Ca^{2+}

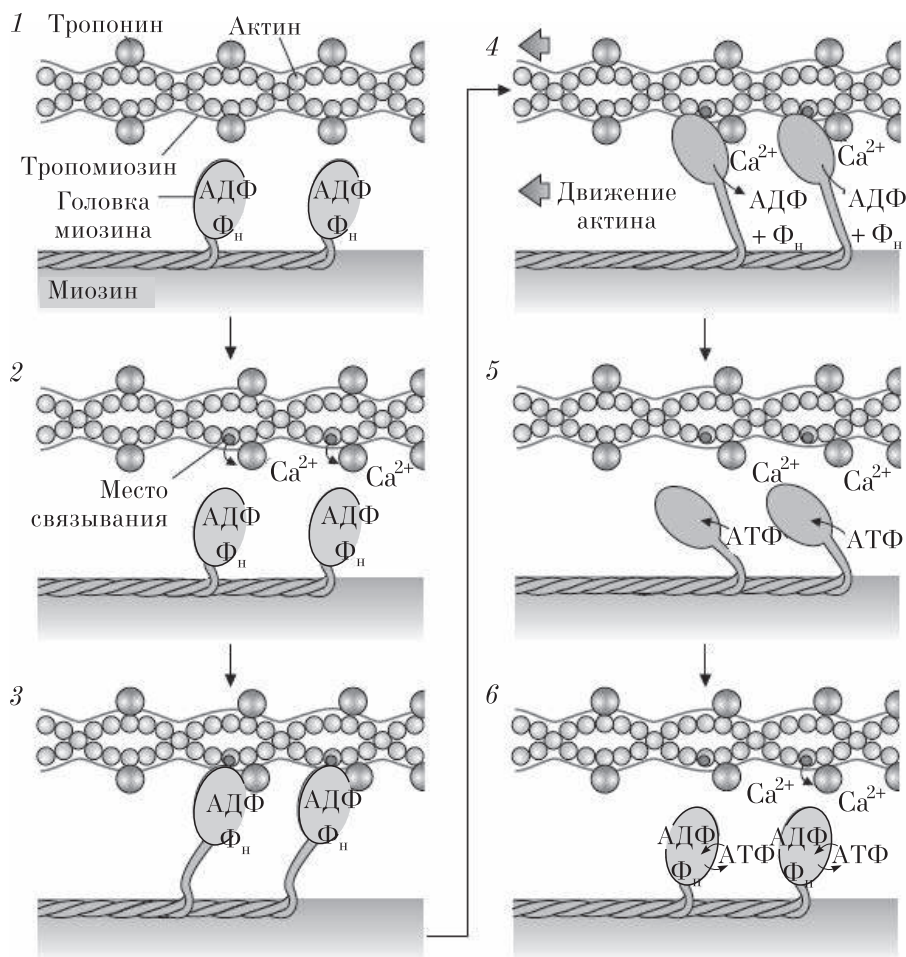


Рис. 13.4. Этапы мышечного сокращения (1–6)

из пузырьков ретикулума в саркоплазму, и концентрация Ca^{2+} в саркоплазме достигает 10^{-5} М (рис. 13.4, 2). Ионы Ca^{2+} затем связываются с тропонином С и меняют его конформацию. Эти изменения в силу эффекта кооперации передаются на субъединицу I и блокируют ее. Далее изменения достигают субъединицы Т, которая сдвигает в сторону молекулу тропомиозина, освобождая сразу 7 молекул актина.

Затем происходит поворот головки миозина (рис. 13.4, 3). Запасенная в нем энергия высвобождается, и головка миозина движется к центру саркомера (рабочий ход). При этом высвобождаются связанные с головкой миозина АДФ и фосфат,

После этого головка миозина отделяется от связывающего участка на молекуле актина и к ней присоединяется молекула АТФ (рис. 13.4, 4). Тут же

13.4. Источники энергии для обеспечения работы мышц

АТФаза головки миозина катализирует гидролиз АТФ на АДФ и фосфат. Энергия, высвобождаемая в ходе этой реакции, используется для реэнергизации головки миозина (рис. 13.4, 5), и если присутствуют ионы кальция и имеются достаточные резервы АТФ, весь цикл повторяется.

Как только связывающие участки на актине освободились, головка миозина связывается с ними, образуя поперечный мостик (рис. 13.4, 6).

13.4. Источники энергии для обеспечения работы мышц

В предыдущем разделе мы убедились в том, что АТФ абсолютно необходим для мышечного сокращения в качестве источника энергии. Скелетные мышцы для образования АТФ используют разнообразные субстраты.

1. Основным и непосредственным источником АТФ в мышцах является креатинфосфат.

2. АТФ может синтезироваться в анаэробных и аэробных условиях за счет окисления глюкозы, которая образуется при распаде гликогена или поступает из крови.

3. В аэробных условиях с этой же целью миоциты могут окислять кетонные тела, жирные кислоты и углеводородные радикалы аланина, аспартата, глутамата, валина, лейцина и изолейцина.

4. Источником быстрого восстановления уровня АТФ может быть превращение двух молекул АДФ в одну молекулу АТФ и одну молекулу АМФ, катализируемое аденилаткиназой (миокиназой) (рис. 13.5). Образовавшийся АМФ в ходе последующего дезаминирования превращается в ИМФ (инозинмонофосфат), что сдвигает реакцию в направлении образования АТФ.

АТФ и креатинфосфат. АТФ, являясь универсальным источником энергии, тем не менее, не может накапливаться в количествах, достаточных для создания резервов энергии, поскольку АТФ — мощный аллостерический регулятор метаболических процессов. Мышечные клетки решают эту проблему, сохраняя энергию в форме креатинфосфата. По мере необходимости креатинфосфат передает остаток фосфата на АДФ, синтезируя АТФ для мышечного сокращения.

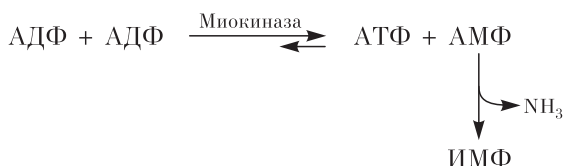


Рис. 13.5. Миокиназная реакция

Синтез креатина (рис. 13.6) начинается в почках и заканчивается в печени. В почках аргинин обменивается с глицином гуанидиловой группой с образованием гуанидиноацетата и орнитина, а в печени гуанидиноацетат метилируется с образованием креатина. Кровотоком креатин переносится к разным органам (скелетная мышца, сердце, мозг), где взаимодействует с АТФ, формируя макроэргическое соединение креатинфосфат.

Эта обратимая реакция катализируется креатинкиназой (КК). Поэтому клетки могут использовать креатинфосфат для регенерации АТФ. Различают креатинкиназу *митохондриальную* (*мхКК*) и *цитоплазматическую*. МхКК располагается на наружной поверхности внутренней мембраны митохондрий. Креатинкиназа состоит из двух субъединиц: М (англ. muscle — мышца) и В (англ. brain — мозг). В разных клетках она представлена разными

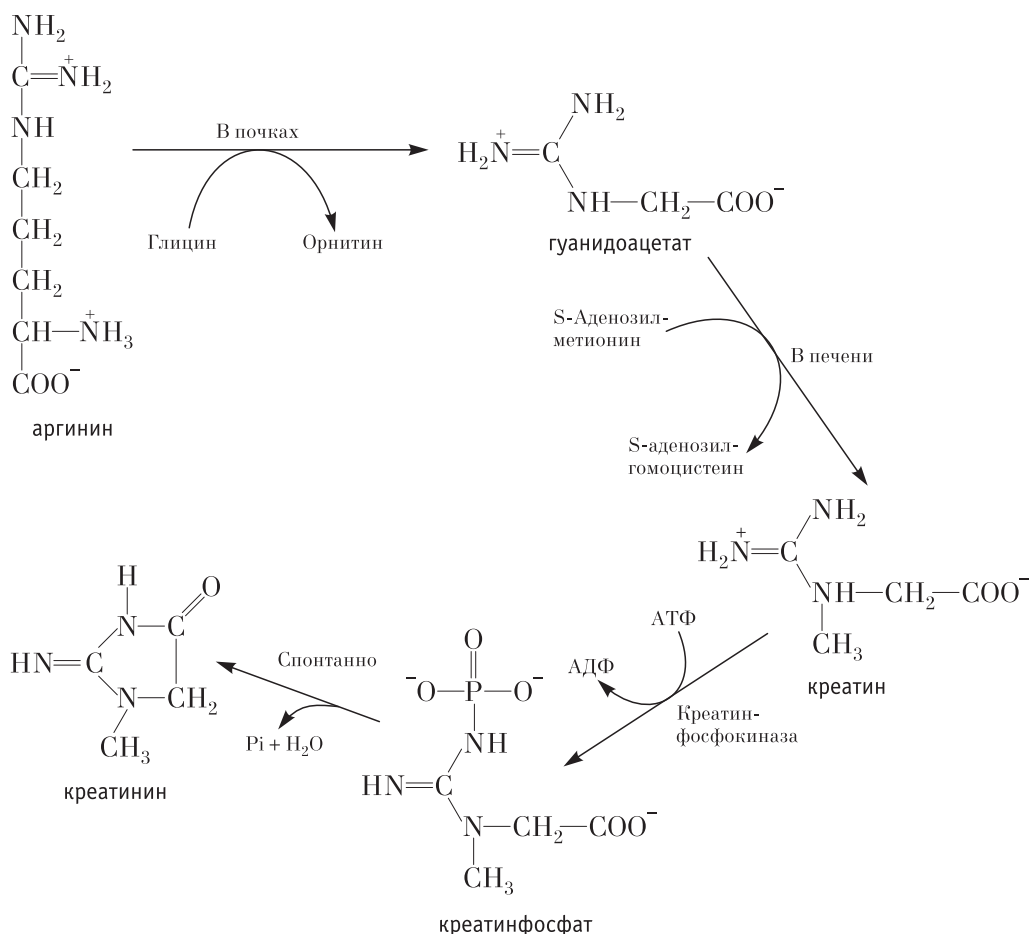


Рис. 13.6. Реакции и локализация синтеза креатина

13.4. Источники энергии для обеспечения работы мышц

изоферментами: ММ-изоформа характерна для скелетных мышц, ВВ — для мозга и МВ — для сердечной мышцы.

В механизмах переноса энергии при участии креатина принимает участие еще один фермент — *транслоказа адениловых нуклеотидов (ТАН)*. Весь механизм выглядит следующим образом: креатин из саркоплазмы проходит через каналаобразующий белок *порин* внешней мембраны митохондрий и связывается с активным центром мтКК. ТАН переносит АТФ из матрикса к этому ферменту и формируется креатинфосфат (рис. 13.7). Образовавшаяся молекула АДФ с помощью ТАН переносится обратно, в матрикс митохондрий. Креатинфосфат проходит через мембрану митохондрий в саркоплазму миофибрилл, где с помощью цитозольной креатинкиназы может использоваться в синтезе АТФ для мышечного сокращения.

Являясь своеобразным резервуаром богатых энергией фосфатов, креатинфосфат играет особенно важную роль в мышцах во время физических упражнений.

Креатинфосфат — соединение нестабильное. Оно спонтанно циклизуется с образованием креатинина, который выделяется почками с мочой. Количество креатинина, выделяемого каждый день, является постоянным и зависит от массы мышц человека. Это позволяет использовать его содержание в моче для сравнительного определения количества других соединений, выделяемых почками, а также в качестве индикатора экскреторной функции почек.

Анаэробный гликолиз. В мышечной ткани наиболее важным долгосрочным энергетическим резервом является гликоген. В покоей ткани содержание гликогена составляет до 2 % мышечной массы. При распаде под действием

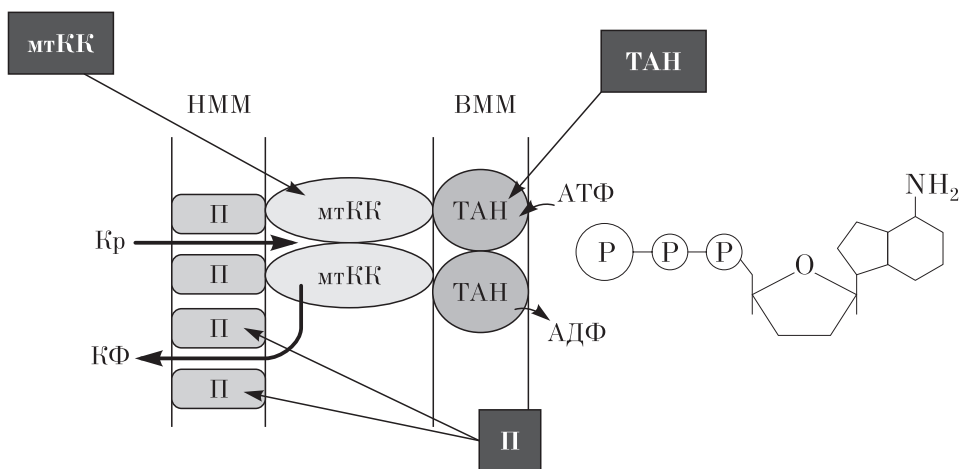


Рис. 13.7. Механизм переноса энергии при участии креатина:

мтКК — митохондриальная креатинкиназа; ТАН — транслоказа адениловых нуклеотидов; П — порин; НММ — наружная митохондриальная мембрана; ВММ — внутренняя митохондриальная мембрана; Кр — креатин; КФ — креатинфосфат

фосфоорилазы гликоген легко расщепляется с образованием глюкозо-1-фосфата, который в ходе последующего гликолиза превращается в пируват. При большой потребности в АТФ и недостаточном поступлении кислорода пируват за счет анаэробного гликолиза восстанавливается в молочную кислоту (лактат), которая диффундирует в кровь.

В *аэробных условиях* образующийся в ходе дихотомического расщепления глюкозы пируват поступает в митохондрии, где подвергается окислению. Сопряженные тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование — наиболее эффективный и постоянно действующий путь синтеза АТФ. Однако этот путь реализуется при условии хорошего снабжения мышц кислородом. Наряду с глюкозой, образующейся при расщеплении мышечного гликогена, для образования пирувата и ацетил-КоА используются и другие «энергоносители», присутствующие в крови: глюкоза, аминокислоты, жирные кислоты и кетоновые тела.

При значительном увеличении концентрации АДФ в саркоплазме источником быстрого восстановления уровня АТФ является *реакция, катализируемая аденилаткиназой (миокиназой)*. Суть этой реакции была описана выше. Такая ситуация возникает при выраженном мышечном утомлении, когда скорость процессов, принимающих участие в ресинтезе АТФ, не уравновешивает скорость расщепления АТФ. С этой точки зрения миокиназную реакцию можно рассматривать как аварийный механизм, обеспечивающий ресинтез АТФ в условиях, когда другие пути ресинтеза уже невозможны. Увеличение концентрации АМФ в саркоплазме в результате миокиназной реакции оказывает активирующее влияние на ферменты гликолиза (в частности, на фосфофруктокиназу) и скорость анаэробного ресинтеза АТФ.

Кратко подытожим энергообеспечение мышц в различные периоды мышечной активности. АТФ для мышечного сокращения поступает из нескольких источников.

1. В начале работы основным источником энергии служит *креатинфосфат*. Он образуется путем перефосфорилирования с АТФ и служит количественно важнейшей формой запасаания энергии в мышцах. В синтезе креатина принимают участие глицин и аргинин (почки), метионин (печень). После завершения синтеза креатин кровью доставляется в мозг, мышцы, сердце. Креатинфосфат после дефосфорилирования спонтанно циклизуется в креатинин и выделяется из организма с мочой. Количество выделяемого человеком креатинина *постоянно* и зависит от мышечной массы.

2. В течение первой минуты после начала работы для синтеза АТФ используются также *реакции субстратного фосфорилирования* в ходе анаэробного гликолиза. Источником глюкозы для этого процесса служит гликогенолиз.

3. При достаточном кровотоке и обеспечении мышц кислородом основным источником энергии для мышечного сокращения служат реакции *окислительного фосфорилирования*. В качестве основного окисляемого субстрата используются углеводы, жирные кислоты и другие субстраты.

13.5. Особенности метаболизма в сердечной мышце

4. В условиях тяжелой физической работы и некоторых других состояниях синтез АТФ может обеспечиваться *миокиназной реакцией*, при которой две молекулы АДФ превращаются в АТФ и АМФ. АМФ является мощным физиологическим активатором процессов окисления глюкозы и жирных кислот.

Образующаяся в анаэробных условиях *молочная кислота* в период покоя может окисляться в присутствии кислорода или током крови доставляться в печень и участвовать в реакциях *глюконеогенеза*.

13.5. Особенности метаболизма в сердечной мышце

В обычных условиях в качестве источника энергии сердце использует в основном жирные кислоты (60–80 %) и в меньшей мере — лактат и глюкозу (20–40 %), причем 98 % всей АТФ в сердце образуется путем окислительного фосфорилирования и только 2 % поставляются гликолизом. Лактат поступает в сердце при участии белка — транспортера монокарбоновых кислот, который также используется для транспорта кетонových тел. Однако кетонové тела в кардиомиоцитах используются в ограниченном количестве.

Лактат образуется в эритроцитах и работающих скелетных мышцах. В сердце он окисляется до двуокиси углерода и воды (лактат → пируват → ацетил-КоА → цикл Кребса). Реакции цикла Кори (вовлечение в глюконеогенез) — альтернативный путь использования лактата.

Глюкоза в кардиомиоцит поступает главным образом при участии глут-4 (90 %) и в меньшей мере — глут-1. Инсулин стимулирует увеличение количества транспортеров глут-4 в кардиальной мембране клетки. Увеличение числа глут-4 наблюдается также при ишемии.

Жирные кислоты поступают в сердечную мышцу так же, как и в другие типы мышечных клеток. При этом необходимы белки, связывающие жирные кислоты, и карнитинацилтрансфераза наружная для переноса их в митохондрии. Этот фермент является лимитирующим звеном, поскольку подвержен регуляторному влиянию малонил-КоА (аллостерический ингибитор). В свою очередь, образование малонил-КоА катализируется ацетил-КоА-карбоксилазой, а его расщепление зависит от активности фермента — малонил-КоА-декарбоксилазы.

Ишемические условия. При нарушении кровоснабжения сердце переключается на анаэробный метаболизм, увеличивается уровень свободных жирных кислот в крови. Резкое усиление окисления жирных кислот приводит к накоплению НАДН·Н⁺ в митохондриях, что, в свою очередь, тормозит работу аспартат-малатного шунта. В результате увеличивается уровень НАДН·Н и образование лактата в цитозоле, уровень ацетил-КоА в митохондриях. Последний ингибирует пируватдегидрогеназный комплекс и способствует накоплению пирувата и лактата в цитозоле. Повышение концентрации лактата ведет к снижению рН в цитозоле, тем самым изменяется градиент ионов на сарколемме,

который чрезвычайно важен для сердечной функции. На его поддержание необходима энергия гидролиза АТФ. Использование АТФ для восстановления градиента уменьшает количество АТФ, доступного для сердечных сокращений. Это осложняет способность сердца восстанавливаться после ишемии.

13.6. Особенности строения и функции гладких мышц

В отличие от скелетных мышц, гладкие мышцы лишены поперечных полос. Они состоят из длинных, заостренных на концах клеток, которые имеют только одно ядро и содержат как толстые, так и тонкие филаменты, ориентированные вдоль длинной оси клетки. Расположены эти филаменты не столь упорядоченно, как в клетках скелетной мускулатуры и клетках сердечной мышцы.

Сократительные белки гладкой мускулатуры отличаются от скелетных мышц. Прежде всего это относится к аминокислотной последовательности актина, хотя функциональное значение этих отличий неизвестно. Миозин гладкой мускулатуры, будучи сходен по структуре с миозином скелетных мышц, отличается по двум важным функциональным параметрам. Во-первых, его АТФазная активность почти в 10 раз ниже, чем у миозина скелетных мышц. Во-вторых, миозин имеет особые легкие цепи, фосфорилирование которых необходимо для взаимодействия с актиновыми филаментами и сокращения.

Фосфорилирование и дефосфорилирование легких цепей миозина гладких мышц производят специфические ферменты. Миозиновая АТФаза гладких мышц кальцийзависима, так как фосфорилирующий фермент (киназа легких цепей миозина), регулируется концентрацией ионов кальция. Гладкие мышцы, подобно скелетным мышцам, тоже сокращаются в ответ на повышение концентрации ионов кальция, однако пусковые механизмы их сокращения различны. В случае гладких мышц это не волевые команды, а импульсы, пришедшие по вегетативным нервам, или гормональные сигналы.

Гладкие мышцы специально приспособлены для того, чтобы поддерживать длительное напряжение, затрачивая на это в 5–10 раз меньше АТФ, чем понадобилось бы для выполнения той же задачи скелетной мышце. Медленное взаимодействие актина с миозином не позволяет гладкой мышце быстро сокращаться, но зато дает ей возможность сохранять постоянный мышечный тонус.

В мышечном волокне среди актиновых нитей разбросаны миозиновые нити. Их диаметр более чем в 2 раза превышает диаметр актиновых нитей. На электронных микрофотографиях обычно обнаруживают в 5–10 раз больше актиновых нитей, чем миозиновых.

Актиновые и миозиновые нити, содержащиеся в гладких мышцах, имеют химические характеристики, подобные актиновым и миозиновым нитям скелетных мышц. Однако в гладких мышцах нет тропонинового комплекса, необходимого для запуска сокращения скелетной мышцы.

13.6. Особенности строения и функции гладких мышц

Благодаря особым поперечным мостикам между миозиновыми нитями гладкомышечные клетки сокращаются с укорочением до 80 % (для скелетной мышцы эта величина составляет менее 30 %). Скорость присоединения их к актину и открепления от него значительно ниже, чем в скелетных мышцах. Частота таких циклов составляет $1/10$ – $1/300$ от величины этого показателя в скелетной мышце. Однако сила сокращения гладких мышц значительно выше. Возможной причиной медленной смены циклов присоединения и отделения от актина является гораздо меньшая, по сравнению со скелетной мышцей, АТФазная активность головок поперечных мостиков. В связи с этим скорость разрушения АТФ (источника энергии для движения головок поперечных мостиков) значительно снижена, соответственно замедлена скорость циклов. С медленной скоростью прикрепления к актину связывают и медленное начало сокращения.

Таким образом, соответственно частоте циклов при сокращении гладкой мышцы требуется лишь $1/10$ – $1/300$ энергии, потребляемой скелетной мышцей для поддержания той же степени напряжения. Такое малое потребление энергии гладкой мышцей чрезвычайно важно для экономии общей энергии организма, поскольку гладкие мышцы кишечника, мочевого пузыря, желчного пузыря и других органов практически постоянно находятся в состоянии тонического сокращения.

Как и в скелетной мышце, пусковым стимулом для сокращения большинства гладких мышц является увеличение количества внутриклеточных ионов кальция. В разных типах гладких мышц это увеличение может быть вызвано нервной стимуляцией, гормональной стимуляцией, растяжением волокна или даже изменением химического состава окружающей волокно среды. Отсутствие в гладких мышцах тропонина (регуляторного белка, который активируется кальцием) компенсируется другим регуляторным белком — *кальмодулином*. Активация и сокращение проходят в следующей последовательности:

- 1) ионы кальция связываются с кальмодулином;
- 2) комплекс кальмодулин — кальций соединяется с фосфорилирующим ферментом миозинкиназой и активирует ее;
- 3) одна из легких цепей каждой головки миозина, называемая *регуляторной*, фосфорилируется под действием миозинкиназы, и головка приобретает способность к повторному связыванию с актиновой нитью и осуществлению всего циклического процесса, лежащего в основе сокращения, как и в скелетной мышце.

Прекращение сокращения наступает, когда концентрация ионов кальция падает ниже критического уровня, что приводит к активированию фермента — *миозинфосфатазы*. Миозинфосфатаза локализуется в жидкостях гладкомышечной клетки и отщепляет фосфат от регуляторной легкой цепи. Поэтому время, необходимое для расслабления мышцы, в большой степени определяется количеством активной миозинфосфатазы в клетке.

13.7. Заболевания мышц

Мышечные дистрофии. Миозин, актин, тропомиозин и тропонин вместе составляют $3/4$ всех белков, сосредоточенных в мышечных волокнах. Оставшуюся долю составляют более 20 других белков. Они осуществляют такие функции, как прикрепление и организация нитей в саркомере, связывание саркомера с плазматической мембраной и внеклеточным матриксом. Мутации генов, которые кодируют эти белки, приводят к различным мышечным заболеваниям.

Наиболее часто мышечные дистрофии развиваются вследствие мутации гена, кодирующего белок, — *дистрофина*.

Ген дистрофина огромен по размеру. Он содержит 79 экзонов, состоящих из 2,3 млн пар нуклеотидов, т.е. один этот ген занимает 0,1 % всего человеческого генома (3×10^9 пар нуклеотидов) и почти половину генома *E. coli*.

Вероятно, такие большие размеры делают этот ген чрезвычайно подверженным *делециям*. Если мутация такого рода приведет к изменению рамки считывания генома, дистрофин не будет синтезироваться. В таком случае развивается очень тяжелое заболевание, известное под названием «мышечная дистрофия Дюшена». Если делеция сводится только к удалению некоторых экзонов, то образуется укороченный белок и развивается сравнительно мягкая форма заболевания, известного как «мышечная дистрофия Беккера». Ген дистрофина локализован на X-хромосоме, поэтому эти два заболевания поражают мужчин, унаследовавших его обычным X-сцепленным путем.

Миастения гравис. Это аутоиммунное заболевание возникает вследствие поражения нервномышечных синапсов. У больных отмечается сниженный потенциал концевой пластинки. Повторная стимуляция приводит к тому, что этот потенциал становится слишком малым для запуска последующих событий, связанных с проведением в миоциты нервного импульса. В результате мышечные волокна прекращают сокращаться. Назначение ингибитора ацетилхолинэстеразы постепенно может восстановить сократимость за счет того, что больше ацетилхолина будет оставаться в синапсе.

У больных миастенией гравис количество рецепторов к ацетилхолину в нервномышечных синапсах составляет только 20 % от нормального. Получены доказательства того, что потеря рецепторов обусловлена выработкой в организме аутоиммунных антител к ацетилхолиновым рецепторам. Однако до настоящего времени неизвестны причины, по которым у человека начинают вырабатываться эти антитела.

Биохимия соединительной ткани

Главными тканями позвоночных являются нервная, мышечная, эпителиальная и соединительная. Соединительная ткань составляет приблизительно 50 % массы тела. Она образует скелет, подкожную жировую клетчатку, дерму, зубы, кровь, лимфу, входит в состав всех внутренних органов. Соединительная ткань выполняет разнообразные функции: опорную, защитную, пластическую (структурообразующую), трофическую, кроветворную (красный костный мозг) и репаративную.

Соединительная ткань состоит из *внеклеточного матрикса* и *клеток* (рис. 14.1). При этом внеклеточное пространство, заполненное молекулами внеклеточного матрикса, занимает большую часть объема.

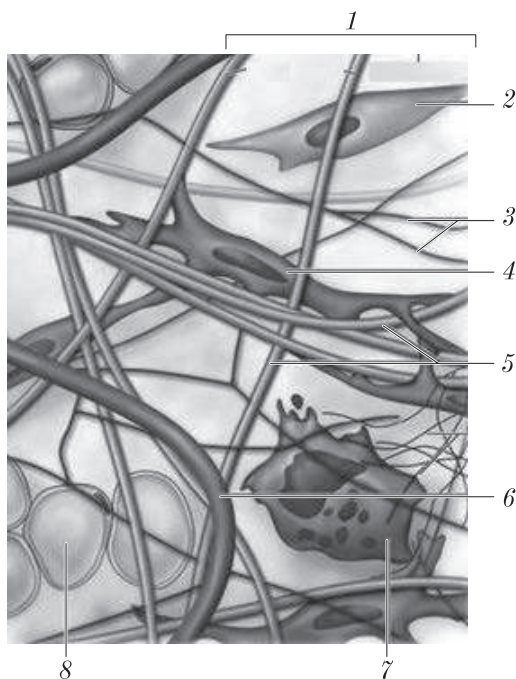


Рис. 14.1. Общий принцип строения соединительной ткани:

1 — межклеточный матрикс; 2 — мезенхимальная клетка; 3 — эластические волокна; 4 — фибробласт; 5 — коллагеновые волокна; 6 — кровеносный сосуд; 7 — макрофаг; 8 — адипоцит

Основные компоненты внеклеточного матрикса: структурные белки коллаген и эластин, гликозаминогликаны, протеогликианы, а также неколлагеновые белки — фибронектин, ламинин, тенасцин, остеонектин и др. От количества и состава компонентов внеклеточного матрикса зависит консистенция ткани. Матрикс хрящевой ткани — гелеобразный, матрикс кости, как и волокна сухожилий, — нерастворимые твердые вещества, а кровь и лимфа — это жидкая соединительная ткань, в которой межклеточным веществом является плазма.

Внеклеточный матрикс участвует во многих нормальных и патологических процессах. Например, он играет важную роль:

- в продвижении клеток во время эмбриогенеза;
- остром и хроническом воспалениях в тканях;
- метастазировании опухолевых клеток;
- в развитии заболеваний и пороков соединительной ткани — ревматоидный артрит, остеоартрит, остеохондроз, атеросклероз и др.;
- развитии коллагеновых заболеваний, связанных с генетическими нарушениями обмена молекул матрикса;
- развитии мукополисахаридозов, связанных с генетическими дефектами лизосомных гидролаз;
- в процессе старения, а также является основой для косметической и репаративной медицины.

14.1. Белково-углеводные комплексы внеклеточного матрикса

В состав межклеточного матрикса входят три основных класса белковых молекул:

- *протеогликианы (ПГ)* — представлены белками, соединенными с полисахаридами — гликозаминогликанами;
- *фибриллярные белки*:
 - преимущественно структурные белки (семейства коллагена и эластина);
 - преимущественно адгезивные белки (семейства фибронектина и ламинина).

Большинство из названных белков относится к группе белково-углеводных комплексов.

Белково-углеводные комплексы (БУК) классифицируются по двум критериям: доля углеводов в комплексе и качественный моносахаридный состав. Различают *протеогликианы* (свыше 90 % углеводов), *мукопротеины* (10–50 % углеводов) и *гликопротеины* (менее 10 % углеводов).

14.1. Белково-углеводные комплексы внеклеточного матрикса

14.1.1. Протеогликаны

Протеогликаны — высокомолекулярные соединения, состоящие из белка (5–10 %) и гликозаминогликанов (90–95 %). Они образуют основное вещество межклеточного матрикса соединительной ткани и могут составлять до 30 % сухой массы ткани.

Гликозаминогликаны (ГАГ) представляют собой неразветвленные цепи гетерополисахаридов. Для большинства ГАГ характерны следующие признаки: содержат сульфатированные сахара (кроме гиалуроновой кислоты); состоят из разных дисахаридных единиц; один из двух повторяющихся остатков в составе дисахарида — это аминсахар (N-ацетилглюкозамин или галактозамин), который у большинства ГАГ сульфатирован; второй сахар, как правило, — уроновая кислота (глюкуроновая или идуроновая); имеют короткие олигосахаридные цепи; сахара ковалентно связаны с белками в форме протеогликанов; синтезируются внутриклеточно и покидают клетку путем экзоцитоза.

Благодаря высокой гидрофильности и свободе выбора конформации, ГАГ занимают большие объемы, образуя гели при довольно низких концентрациях самого полисахарида. Это свойство ГАГ создает тургор тканей, позволяющий противостоять компрессионным силам. Например, суставной хрящ может противостоять давлению в сотни атмосфер.

Гликозаминогликаны классифицируют по строению остатков моносахаридов, типу связи между ними, числу и локализации сульфатных групп. Различают несколько семейств ГАГ:

- 1) гиалуронаты;
- 2) хондроитин- и дерматансульфаты;
- 3) гепарин и гепарансульфаты;
- 4) кератансульфаты.

Гиалуроновая кислота (гиалуронат) представляет собой полимер, состоящий из несulfатированных дисахаридных остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина, соединенных поочередно $\beta(1\rightarrow4)$ - и $\beta(1\rightarrow3)$ -гликозидными связями (рис. 14.2, а). Молекула гиалуроновой кислоты может содержать до 25 тыс. таких дисахаридных звеньев. Она не всегда соединена с белками, а если и соединяется, то эта связь нековалентная.

Гиалуронат синтезируется на базальной стороне эпителиального слоя и часто служит для создания свободного от клеток пространства, по которому потом мигрируют клетки во время морфогенеза и заживления ран.

Гиалуроновая кислота является одним из основных компонентов внеклеточного матрикса, содержится во многих биологических жидкостях (слюне, синовиальной жидкости и др.). Входит в состав кожи, хрящевой ткани, стекловидного тела, оболочки яйцеклеток и др. Основные функции гиалуроновой кислоты — связывание воды, поддержание тургора тканей, участие в гидродинамике тканей, процессах миграции и пролиферации клеток, а также в ряде взаимодействий с поверхностными рецепторами клеток.

Хондроитинсульфаты — представляют собой сульфатированные гликозаминогликаны, состоящие из цепи чередующихся сахаров (N-ацетилгалактозамина и глюкуроновой кислоты) (рис. 14.2, б). Каждая цепь содержит до 40 дисахаридных единиц. Хондроитинсульфаты являются важным составным компонентом агрекана — основного протеогликана хрящевого матрикса — и локализуются в местах кальцификации в эндохондральной кости.

В организме человека встречаются два вида хондроитинсульфатов: хондроитин-4-сульфат и хондроитин-6-сульфат. Они различаются не только по локализации сульфатной группы, но и по распределению в различных видах соединительной ткани. Хондроитин-4-сульфаты — компоненты роговицы глаза, костной и хрящевой ткани. Хондроитин-6-сульфаты являются специфическими компонентами сухожилий, связок, входят в состав сердечных клапанов, стекловидного тела.

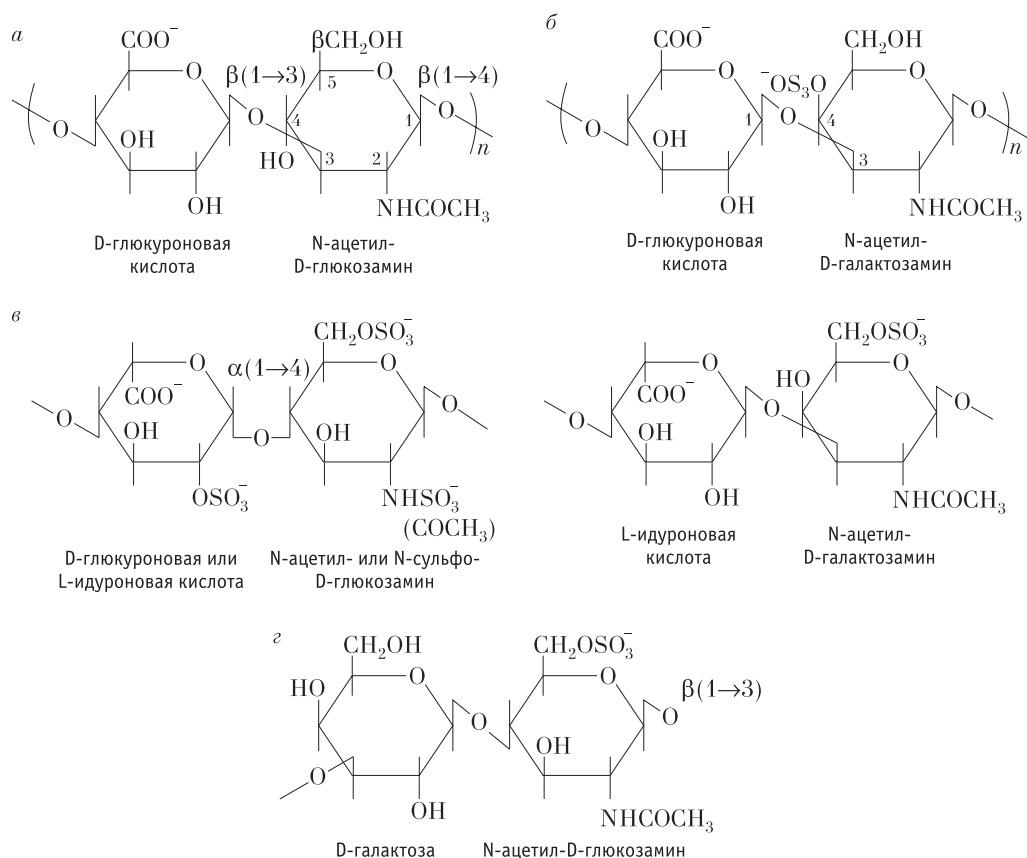


Рис. 14.2. Структура различных классов гликозаминогликанов:

а — гиалуроновая кислота ($n \leq 50\,000$); б — хондроитин-4-сульфат и дерматансульфат ($n \leq 250$); в — гепарин ($n = 15\text{--}30$); г — кератан-6-сульфат ($n = 20\text{--}40$) (пояснение в тексте)

14.1. Белково-углеводные комплексы внеклеточного матрикса

Дерматансульфат широко распространен в тканях животных; особенно он характерен для кожи, кровеносных сосудов, сердечных клапанов. В составе протеогликанов (бигликана и декорина) дерматансульфат содержится в межклеточном веществе хрящей, межпозвоночных дисков, менисков. Он резистентен к действию гиалуронидаз (тестикулярной и бактериальной). В этом одно из отличий дерматансульфата от хондроитинсульфатов. Кроме того, в состав дисахаридной единицы дерматансульфата входит L-идуоновая кислота (рис. 14.2, б).

Гепарин. В основе строения молекулы гепарина лежит полисахаридная цепь из повторяющихся дисахаридов — α -D-глюкозамина и двух типов уроновых кислот: глюкуроновой и идуоновой (рис. 14.2, в). Идуоновая кислота образуется из глюкуроновой уже после сборки молекулы гепарина при участии специальных ферментов — *эпимераз*. Большинство остатков α -D-глюкозамина сульфатировано по C₆-гидроксильной группе. Эта полисахаридная цепь связана с белковым ядром. Уникально строение белковой части этих протеогликанов. Она богата такими аминокислотами, как серин и глицин.

Благодаря наличию значительного количества отрицательно заряженных сульфатных и карбоксильных групп, молекула гепарина представляет собой сильный природный полианион, способный к образованию комплексов со многими белковыми соединениями поликатионной природы, несущими суммарный положительный заряд.

Гепарин является важным антикоагулянтом. Он связывается с факторами IX и XI, но наиболее важным является его взаимодействие с антитромбином III. Связываясь с ним в соотношении 1:1, гепарин резко усиливает ингибирующее действие антитромбина. Это связано с тем, что гепарин изменяет конформацию белка, усиливая взаимодействие с сериновыми пептидазами. Гепарин известен также как соединение, способное специфически связываться с липопротеинлипазой на стенках капилляров, вызывая выход фермента в кровоток и усиливая катаболизм хиломикронов.

Гепарин выделен из гранул тучных клеток, а также из печени, легких и кожи.

Гепарансульфат. Встречается преимущественно на клеточной поверхности. Отличие гепарансульфата от гепарина в том, что в гепарансульфате больше N-ацетильных групп, а в гепарине — N-сульфатных.

Кератансульфаты построены из повторяющихся дисахаридов, но, в отличие от других гликозаминогликанов, кератансульфаты вместо уроновой кислоты содержат остаток галактозы и N-ацетилглюкозамин (рис. 14.2, г). Это наиболее гетерогенные гликозаминогликаны; отличаются друг от друга по суммарному содержанию углеводов и распределению в разных тканях. Кератансульфат I, выделенный из роговицы глаза, и кератансульфат II, полученный из хрящевой ткани, различаются по степени сульфатированности и строению связи между кератансульфатом и пептидной частью протеогликана. Кератансульфат I и дерматансульфат присутствуют в роговице, располагаются между коллагеновыми волокнами и играют важную роль в ее прозрачности.

14.1.2. Состав протеогликанов

Обычно все гликозаминогликаны находятся в тканях в составе протеогликанов (ПГ), где они ковалентно соединены с белками (их также называют «кóровые», англ. core — сердцевина), синтезируемыми большинством клеток. Многие из этих протеогликанов охарактеризованы, им даны имена, такие как синдекан, бетагликан, серглицин, перлекан, агрекан, версикан, декорин, библикан и фибромодулин (табл. 14.1).

Таблица 14.1

Характеристика протеогликанов

Название	М.М. корового белка, а.е.м.	Тип ГАГ-цепей и их количество	Функция
Агрекан	210×10^3	ХДС, КС, 130	Опорная в хрящевой ткани
Бетагликан	36×10^3	ХДС, ДС, 1	Связывает TGF- β на поверхности клеток
Декорин	40×10^3	ХДС, ДС, 1	Связывает фибриллы коллагена I типа и TGF- β
Перлекан	600×10^3	ГС, 2–15	Структурная и фильтрующая функции в базальной мембране
Серглицин	20×10^3	ХДС, ДС, 10–15	Помогает упаковывать и хранить секретуемые молекулы в секреторных пузырьках лейкоцитов
Синдекан-1	32×10^3	ХДС, ГС, 1–3	Клеточная адгезия, связывает ФРФ

Примечание. ХДС — хондроитинсульфат; ГС — гепарансульфат; ДС — дерматансульфат; КС — кератансульфат; ФРФ — фактор роста фибробластов; TGF- β — трансформирующий фактор роста.

Присоединение полисахарида к белку осуществляется через связующую область, в состав которой чаще всего входит трисахарид галактоза-галактоза-ксилоза.

Выделяют три типа связи между ГАГ и коровыми белками:

1) О-гликозидная связь между ксилулозой и серином. Это уникальная для протеогликанов связь. Она характерна для большинства ПГ и образуется в пострибосомальном процессинге ПГ путем переноса ксилулозы на серин корового белка. Субстратом для такого переноса служит УДФ-ксилоза. Затем к ксилулозе добавляются два остатка галактозы, образуя связующий трисахарид. Цепь ГАГ растет путем постепенного наращивания такого трисахарида (рис. 14.3);

2) О-гликозидная связь между N-ацетилгалактозамином и серином (треонином), характерная для присоединения кератансульфата (рис. 14.4, а). Донором галактозамина является УДФ-N-ацетилгалактозамин;

3) N-гликозидная связь между N-ацетилглюкозамином и амидным азотом аспарагина (рис. 14.4, б). В образовании этого типа связи участвуют долихолпроизводные олигосахаридов.

14.1. Белково-углеводные комплексы внеклеточного матрикса

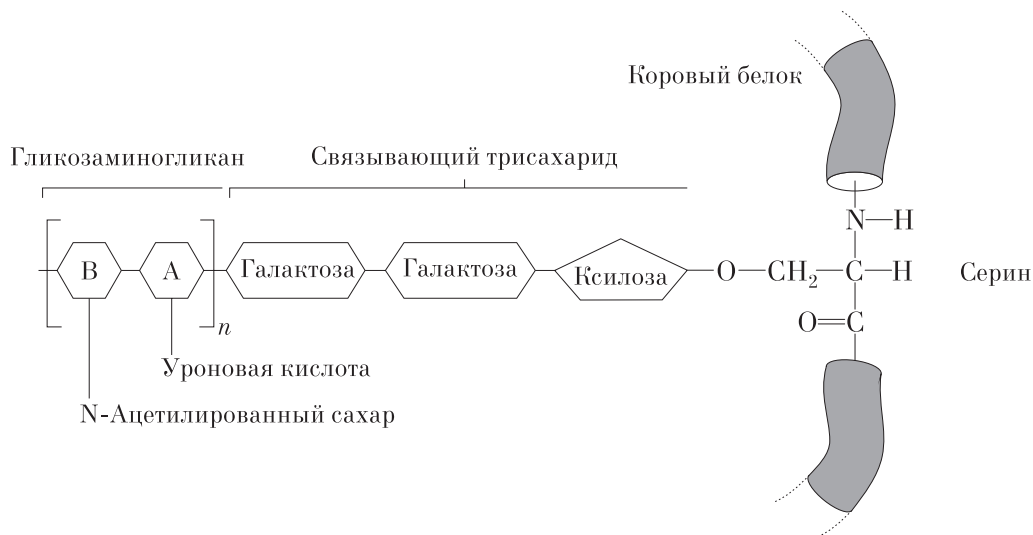


Рис. 14.3. Схематическое строение протеогликанов

Реакции синтеза гликозаминогликанов катализируют ферменты семейства трансфераз, обладающие абсолютной субстратной специфичностью. Эти трансферазы локализованы на мембранах аппарата Гольджи. Сюда по каналам ЭР поступает коровый белок, синтезированный на полирибосомах, к которому присоединяются моносахариды связующей области и затем наращивается вся полисахаридная цепь. Сульфатирование углеводной части происходит здесь

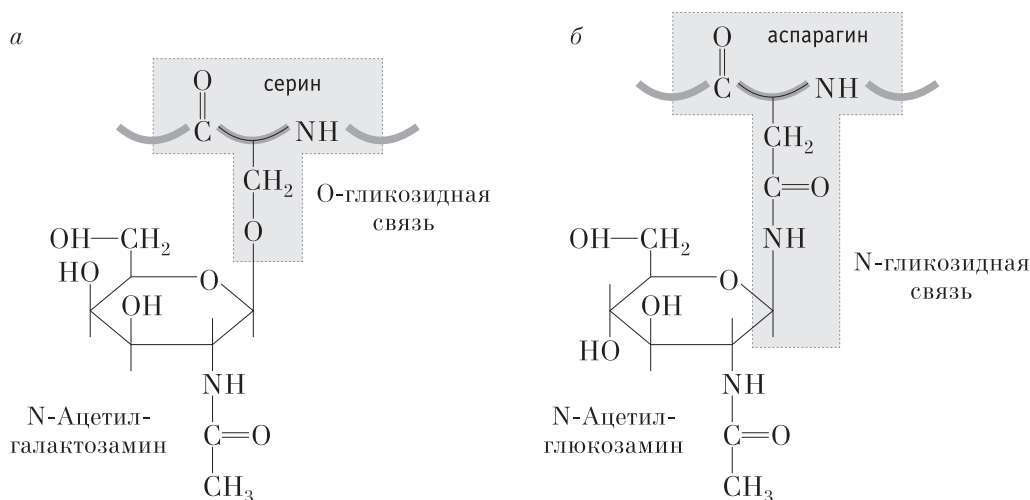


Рис. 14.4. Образование О-гликозидной (а) и N-гликозидной (б) связи в протеогликанах

с помощью сульфотрансфераз, донором сульфатной группы выступает ФАФС. На синтез гликозаминогликанов влияют глюкокортикоиды: они тормозят синтез гиалуроновой кислоты и сульфатированных гликозаминогликанов.

Протеогликаны могут образовывать огромные полимерные комплексы с размерами, соизмеримыми с размерами бактерий, а соединяясь с другими белками, они образуют сложные структуры, молекулярная масса которых может превышать 10^8 а.е.м. (рис. 14.5). Единая длинная молекула гиалуроната

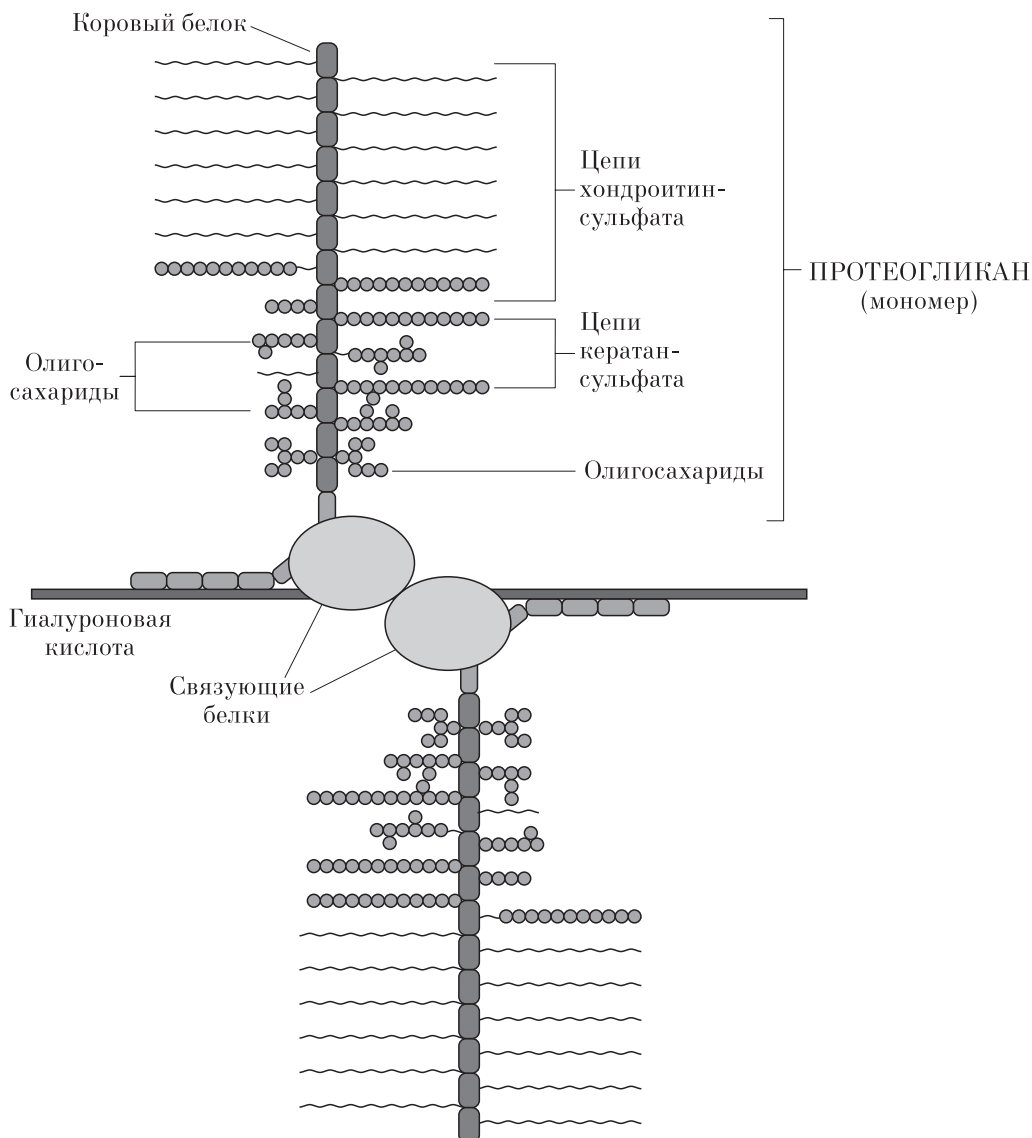


Рис. 14.5. Протеогликановый агрегат (схема)

14.1. Белково-углеводные комплексы внеклеточного матрикса

нековалентно связана со многими молекулами корового белка, каждая из которых содержит ковалентно связанные молекулы хондроитинсульфата и кератансульфата.

Например, такой структурный комплекс ПГ, как *агрекан*, является основной структуры хрящевого матрикса. Он содержит около 100 цепей хондроитинсульфата и 60 — кератансульфата.

14.1.3. Функции протеогликанов

Не все протеогликаны секретируются во внеклеточный матрикс. Находясь на поверхности клеток, они являются частью рецепторных комплексов. Другие ПГ являются интегральной частью плазматических мембран и имеют коровый белок, который пронизывает мембрану или соединен с липидами мембраны.

Протеогликаны могут быть компонентами внутриклеточных секреторных пузырьков, где способствуют упаковке и секреции новосинтезированных молекул. Они также участвуют в регуляции активности секретируемых сигнальных молекул. Обусловлено это тем, что связывание с ПГ может ограничивать пространство действия таких молекул (локализация действия) или стерически блокировать их активность, создавать резервуар сигнальных молекул, пролонгируя их действие, защищать их от расщепления. С другой стороны, изменяя конформацию или концентрируя такие молекулы, ПГ способствуют их более эффективному действию (например, рецепторы на плазматической мембране клетки).

Являясь структурными компонентами внеклеточного матрикса, протеогликаны:

- специфически взаимодействуют с коллагеном, эластином, ламинином, фибронектином и другими белками;
- как полианионы связывают поликатионы и катионы;
- обеспечивают тургор различных тканей;
- влияют на клеточную миграцию;
- противостоят компрессионным силам в хрящевой ткани;
- поддерживают прозрачность роговицы;
- выполняют структурную роль в склере;
- действуют как антикоагулянты;
- участвуя в формировании рецепторов на поверхности клеток, обеспечивают взаимодействие между клетками;
- регулируют фильтрацию в клубочках почек;
- входят в состав синаптических и других везикул клеток.

Некоторые функции тесно связаны друг с другом. Так, благодаря своему отрицательному заряду, полисахаридные цепи ПГ связывают осмотически активные ионы Na^+ , Ca^{2+} , K^+ . Создаваемая таким образом высокая концентрация ионов задерживает воду во внеклеточном матриксе, вызывая его набухание до плотного состояния. Одна молекула гиалуроновой кислоты способна

связать от 200 до 500 молекул воды. Это обстоятельство обуславливает так называемую ригидность внеклеточного матрикса, которая включает эластичность и упругость. Поэтому наибольшее количество протеогликанов, агреканов находится в межклеточном веществе межпозвонковых дисков и хрящей, менисков, сухожилий и связок и других анатомических структур, подвергающихся механической нагрузке и деформации.

14.1.4. Гликопротеины и мукопротеины

Гликопротеины и мукопротеины — это белково-углеводные комплексы с ковалентно присоединенными углеводными цепями. Различия между ними касаются лишь количества углеводов в комплексе. Если у гликопротеинов углеводы составляют до 10 %, то у мукопротеинов — до 50 % массы молекулы. В состав глико- и мукопротеинов входят гексозы и N-ацетилнейраминная кислота.

Количество олигосахаридных цепей, прикрепленных к одному белку, может варьироваться от одной до 30 и более. Многие белки могут содержать два типа связи. К примеру, гликофорин, важный гликопротеин эритроцитарной мембраны, содержит олигосахариды, которые связаны с белковым компонентом как O-, так и N-гликозидными связями.

Сборка комплексов происходит в комплексе Гольджи после поступления в этот комплекс белковой части этих молекул. При синтезе O-гликозидных протеогликанов дисахаридная единица поставляется поочередным присоединением урановой кислоты и аминсахара, используя их УДФ-производные. По окончании происходит сульфатирование некоторых аминсахаров.

При синтезе N-гликозидных протеогликанов углеводная цепь формируется на долихолфосфате и затем переносится к атому азота амидной группы аспарагина на белок с помощью фермента олигосахаридтрансферазы.

Подобно протеогликанам, функции глико- и мукопротеинов также многообразны:

- они являются структурными компонентами мембраны клетки, коллагеновых, эластиновых и фибриновых волокон, костного матрикса;
- они обеспечивают иммунную защиту. Иммуноглобулины, антигены гистосовместимости, комплемент, интерферон — вещества гликопротеиновой природы;
- являются компонентами гормонов, таких как тиреотропин, хорионический гонадотропин.

14.1.5. Нарушение распада белково-углеводных комплексов

Распад белково-углеводных комплексов (БУК) катализируется с участием большого набора лизосомальных гидролаз, включающих α -нейраминидазу, β -галактозидазу, β -гексозаминидазу, α - и β -маннозидазы, α -фукозидазу, эндо- β -N-ацетилглюкозаминидазу и аспартилглюкозаминидазу. Генетически

14.1. Белково-углеводные комплексы внеклеточного матрикса

детерминированный дефект указанных ферментов приводит к нарушению распада БУК. Эти заболевания называются *мукополисахаридозами* (от первоначального названия гликозаминогликанов — мукополисахариды). Они наследуются с участием X-хромосомы и аутомсомно. Частота возникновения — 1:100 тыс. новорожденных. У больных в лизосомах накапливаются продукты неполного расщепления БУК. Накапливаемые ГАГ видны в клетках хряща, фасций, сухожилий, периоста, кожи, оболочек мозга, сосудах, селезенке, печени. Эти заболевания носят системный характер и сопровождаются глубокой инвалидизацией пациентов, распространяющейся как на умственное, так и на физическое развитие, и сокращением их жизни.

14.1.6. Муцины — представители гликопротеинов (мукопротеинов)

Муцины (лат. mucus — слизь) — высокомолекулярные белки, содержащие кислые полисахариды и обычно имеющие олигомерную структуру. Различают секреторные и мембранные муцины. *Секреторные* муцины присутствуют в слюне, секретах бронхов и кишечника, семенной жидкости и выделениях из шейки матки, где играют роль смазки и формируют защитный физический барьер на эпителиальной поверхности. В суставах муцины играют роль смазочного материала, обуславливая уменьшение трения соприкасающихся поверхностей.

Содержание муцина в смешанной слюне составляет 0,9–6,0 г/л. Муцины слюны синтезируются в подчелюстных, подъязычных и малых слюнных железах. Секреты этих желез содержат муцины двух структурно отличных видов (МС1 и МС2) в различных пропорциях, что и определяет разницу в их вязкости. Наиболее вязкая слюна — это секрет подъязычной железы (коэффициент вязкости 13,4), подчелюстной (3,4) и околоушной (1,5).

На долю углеводов в составе муцина слюны приходится 60 %, белковая часть составляет 40 %. Муцины характеризуются большим содержанием О-связанных олигосахаридов в коровом белке и наличием повторяющихся аминокислот (тандемные повторы), к которым прикреплены олигосахаридные цепи. Эти последовательности богаты серином, треонином и пролином. К остаткам серина и треонина через О-гликозидную связь присоединены остатки N-ацетилнейраминовой кислоты, N-ацетилгалактозамина, фруктозы и галактозы.

Различают сиало- и сульфомуцины, отрицательный заряд которых обусловлен наличием дикарбоновых, сиаловых кислот и сульфата. Муцин относится к защитным белкам, стабилизирует минеральные вещества слюны, поддерживая ее мицеллярный состав, и образует защитную пленку на эмали зубов — *пелликулу*, которая обеспечивает смазку, защищает слизистую от воздействия факторов внешней среды и протеолитических ферментов, выделяемых бактериями, а также предотвращает ее высыхивание.

Отрицательный заряд муцинов также обеспечивает их адсорбцию гидроксиапатитами поверхности эмали зубов. В присутствии муцина ионы Ca^{2+} и HPO_4^{2-} не способны образовывать пересыщенные растворы, так как ионные

связи, возникающие между кальцием и белками, препятствуют осаждению солей кальция.

Мембраносвязанные муцины участвуют в различных межклеточных взаимодействиях (например, с участием селектинов). Муцины способны «маскировать» определенные поверхностные антигены, тем самым защищать клетки от иммунного надзора.

14.2. Белки соединительной ткани

14.2.1. Коллаген — главный белок внеклеточного матрикса

Коллагены — это семейство фибриллярных белков, найденных у всех многоклеточных живых организмов. Коллаген составляет около 30 % всех белков организма человека, т.е. примерно 6 % массы тела. В межклеточном матриксе молекулы коллагена образуют фибриллы. Фибриллы формируют волокна коллагена, которые обладают прочностью и практически нерастяжимы. Они могут выдерживать нагрузку, в тысячи раз превышающую их собственный вес. Необычные механические свойства коллагенов связаны с их первичной и пространственной структурами.

14.2.2. Особый тип пространственной организации коллагенов

Первичная структура коллагена представляет собой полипептидную цепь, состоящую из триад аминокислот. В триадах (Гли-Х-У) первая аминокислота всегда глицин (рис. 14.6). Пролин чаще встречается в положении Х, тогда как гидроксипролин (ОН-Про) — преимущественно в положении У. Кроме того, в этих местах может находиться лизин или гидроксизин, или любая другая аминокислота.

Отличительной особенностью аминокислотного состава коллагена является то, что, кроме высокого содержания глицина, аланина и остатков нестандартных аминокислот, таких, как 3-гидроксипролин, 4-гидроксипролин и 5-гидроксизин, в коллагене отсутствует триптофан, очень мало серосодержащих аминокислот, гистидина и тирозина.

Полипептидная цепь молекулы коллагена представляет собой левозакрученную спираль с тремя аминокислотными остатками на каждый шаг спирали. Водородные связи, характерные для α -спиралей, в коллагене не образуются.

Необходимость в глицине в каждой третьей позиции в α -цепи основана на снижении стерического напряжения. Другие аминокислоты имеют боковые цепи и могут разрушить суперспиральную структуру.

Три полипептидные цепи коллагена сворачиваются в тройную линейную правозакрученную суперспираль, образуя палочковидные молекулы диаметром 1,4 нм и длиной 300 нм. Такая молекула называется *тропоколлаген* (рис. 14.7).

14.2. Белки соединительной ткани

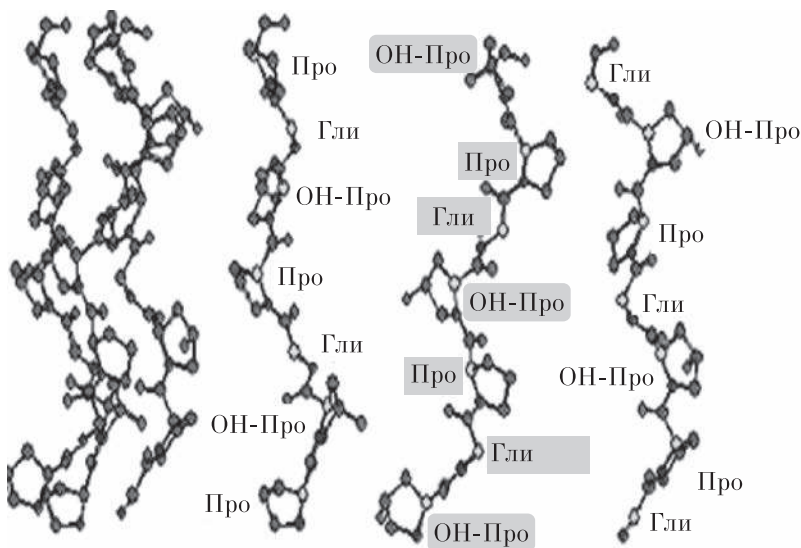


Рис. 14.6. Триплетные повторы аминокислот в каждой из трех α -цепей коллагена (пояснение в тексте)

Водородные связи между пептидными группировками и дисульфидные связи между остатками цистеина на N- и C-концах полипептидных цепей стабилизируют молекулу. Молекула тропоколлагена растворима в воде и не способна к образованию фибрилл.

α -Цепи кодируются более чем 40 генами. Гены коллагенов локализованы в разных хромосомах. Разные комбинации этих генов подвергаются экспрессии в разных тканях. Теоретически такое разнообразие может дать 10 тыс. типов тройных спиралей в составе коллагена. В настоящее время описано более 20 изоколлагенов. Они отличаются друг от друга аминокислотной последовательностью, составом (от 662 до 3152 аминокислотных остатков), а также степенью модификации — интенсивностью гидроксирования или гликозилирования. Более 90 % всех коллагенов высших организмов приходится на коллагены I, II, III и IV типов (табл. 14.2).



Рис. 14.7. Тройная спираль α -цепей коллагена (каждая α -цепь состоит из 1000 аминокислот или 330 триплетных повторов аминокислот)

Таблица 14.2

Характеристика некоторых коллагенов

Тип коллагена	Длина волокна, нм	Состав	Выделен из:
I	300	$[\alpha(I)]_2\alpha_2(I)$	Кость, роговица, дентин, клапаны сердца, стенки матки
II	300	$[\alpha(II)]_3$	Гиалиновый хрящ, стекловидное тело
III	300	$[\alpha(III)]_3$	Дерма, клапаны сердца, десна
IV	390	$[\alpha(IV)]_3$	Базальные мембраны

Изоколлагены I–III типов получили название *фибриллформирующих*, а изоколлагены IX и XII типов — *фибрилассоциируемых* (название объясняется тем, что они обычно связаны с коллагеновыми волокнами, которые образовали фибриллформирующие коллагены). Они обеспечивают соединение волокон с другими молекулами матрикса. Тип IV и VII называют *сетевыми* коллагенами. Они образуют сетевидные структуры и, чаще всего, находятся в базальных мембранах, обеспечивая связь клеточных слоев эпителия с подлежащей соединительной тканью. Это особенно важно для кожи.

14.2.3. Образование коллагеновых волокон

Синтез и созревание коллагена — сложный многоэтапный процесс, начинающийся в клетке и завершающийся в межклеточном матриксе. Он включает в себя целый ряд посттрансляционных изменений. Процессинг препроколлагена протекает следующим образом:

1. Внутриклеточно:

- 1) удаление сигнального пептида;
- 2) гидроксилирование пролина и лизина;
- 3) гликозилирование гидроксилизина;
- 4) образование внутри и межцепочечных S–S-связей в дополнительных пептидах;
- 5) образование тройной спирали.

2. Внеклеточно:

- 1) удаление дополнительных пептидов;
- 2) образование коллагеновых волокон с поперечной исчерченностью;
- 3) окислительное дезаминирование ε-аминогрупп лизина, гидроксилизина с образованием альдегидных групп;
- 4) образование поперечных связей в коллагеновых волокнах.

Индивидуальные цепи коллагена синтезируются на рибосомах в виде более длинных, чем зрелые цепи, предшественников — препро-α-цепей. У этих предшественников имеется гидрофобный «сигнальный» пептид на N-конце, содержащий около 100 аминокислот и дополнительные участки — N- и C-концевые пропептиды. Основная функция сигнального пептида — ориентация синтеза

14.2. Белки соединительной ткани

пептидных цепей в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР). После выполнения этой функции сигнальный пептид сразу же отщепляется.

В формировании коллагеновых фибрилл важную роль играют модифицированные аминокислоты: гидроксипролин и гидроксилизин. Гидроксирование пролина (рис. 14.8, а) необходимо для стабилизации тройной спирали коллагена. OH-группы гидроксипролина участвуют в образовании водородных связей. А гидроксирование лизина (рис. 14.8, б) очень важно для последующего образования ковалентных связей между молекулами коллагена при сборке коллагеновых фибрилл. Пролиловые и лизиловые остатки в Y-положении пептида Гли-X-Y подвергаются действию пролил-гидроксилазы и лизил-гидроксилазы соответственно. Необходимыми компонентами этой реакции являются α -кетоглутарат, O_2 и аскорбиновая кислота. Донором атома кислорода, который присоединяется к C_4 пролина, является молекула O_2 ,

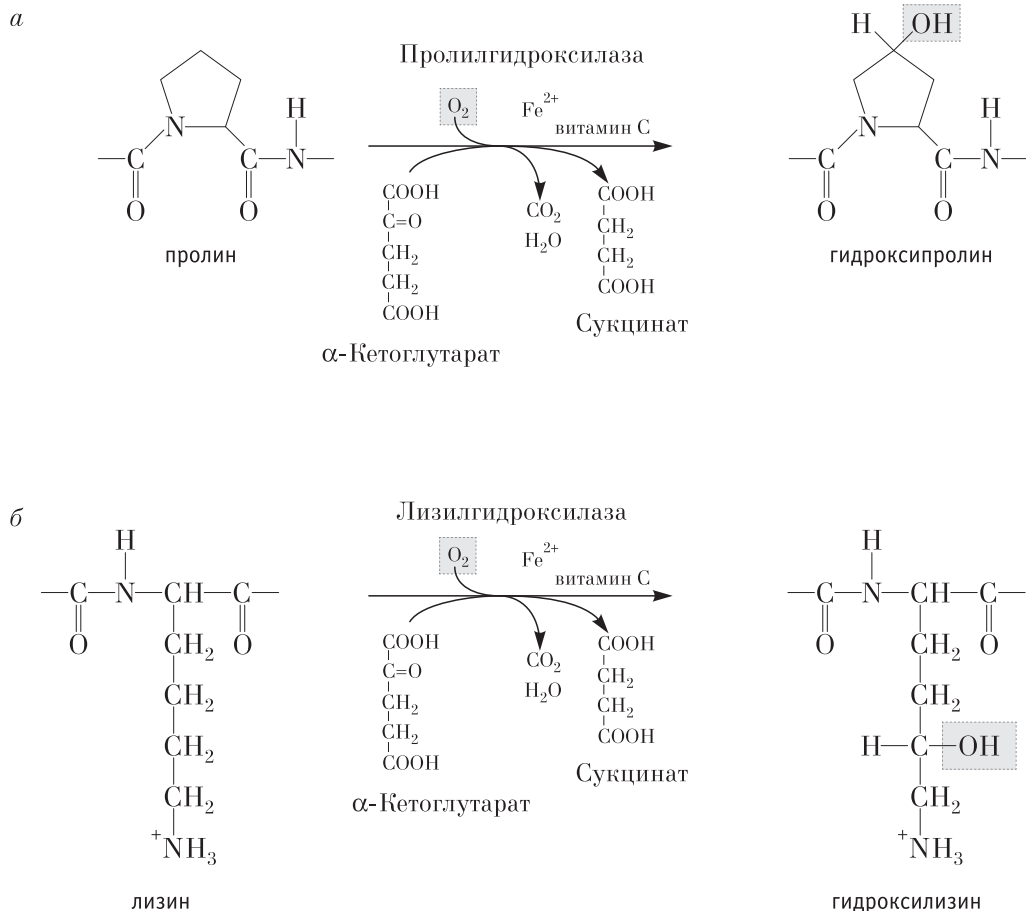
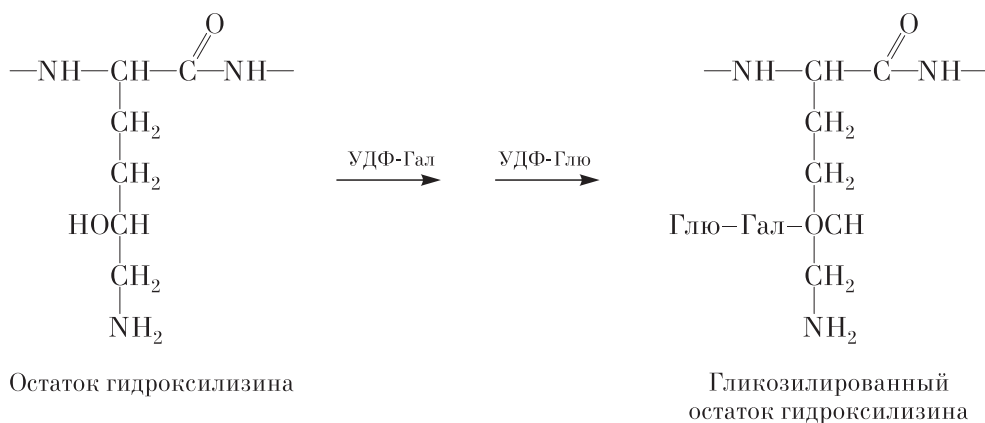


Рис. 14.8. Гидроксирование пролина (а) и лизина (б)

второй атом O_2 включается в сукцинат, который образуется при декарбоксилировании α -кетоглутарата, а из карбоксильной группы α -кетоглутарата выделяется CO_2 .

Гидроксилирование катализируется специфическими пролил- и лизилгидроксилазами, кофакторами которых являются аскорбиновая кислота¹, ионы Fe^{2+} , O_2 и α -кетоглутаровая кислота (см. рис. 14.8).

После завершения гидроксилирования в состав молекулы проколлагена вводятся углеводные остатки. Чаще всего этими углеводами служат галактоза или дисахарид галактозилглюкоза.



Они образуют ковалентную О-гликозидную связь с 5-ОН-группой гидроксилизина при участии специфических гликозилтрансфераз. Гликозилирование гидроксилизина происходит в коллагене, еще не претерпевшем спирализации, и завершается после образования тройной спирали. Число углеводных единиц в молекуле коллагена зависит от вида ткани.

В состав дополнительных пептидов молекулы проколлагена входят остатки цистеина, которые образуют внутри- и межцепочечные (только в С-пептидах) S—S-связи. Концевые пропептиды не образуют тройную спираль, а формируют глобулярные домены (рис. 14.9).

Кроме того, на их концах расположены карбоксильные и аминогруппы, которые в водной среде имеют электрический заряд. Эти группы сдерживают образование фибрилл и участвуют во внутриклеточном формировании тройных

¹ При *цинге* — заболевании, вызванном недостатком витамина С, нарушается гидроксилирование остатков пролина и лизина. В результате этого образуются менее прочные и стабильные коллагеновые волокна, что приводит к большой хрупкости и ломкости кровеносных сосудов. Клиническая картина цинги характеризуется возникновением множественных точечных кровоизлияний под кожу и слизистые оболочки, кровоточивостью десен, выпадением зубов, анемией.

14.2. Белки соединительной ткани

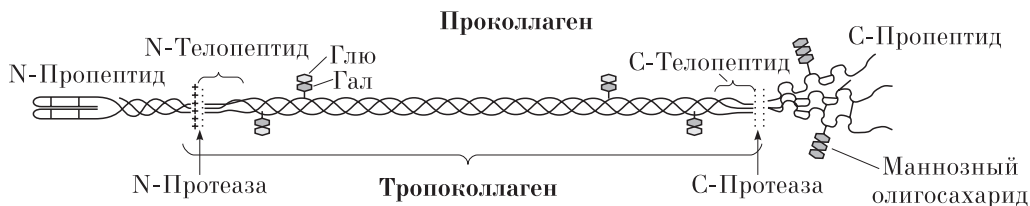


Рис. 14.9. Внеклеточный этап процессинга коллагена

спиралей, когда три полипептидные цепи сворачиваются в тройную линейную правозакрученную спираль — *тропоколлаген*, стабилизированную водородными связями.

Из ЭР молекулы проколлагена перемещаются в аппарат Гольджи, включаются в секреторные пузырьки и секретируются в межклеточное пространство.

После секреции фибриллярные проколлагеновые молекулы теряют дополнительные пептиды, образуя молекулы коллагена, которые объединяются в волокна. Удаление дополнительных пептидов катализируют внеклеточные ферменты — проколлагенаминопептидаза и проколлагенкарбоксипептидаза.

Образование поперечных ковалентных связей обеспечивает одно из важных свойств коллагеновых волокон — их механическую прочность. Лизилоксидаза катализирует окислительное дезаминирование ϵ -аминогруппы лизина в составе молекул коллагена (рис. 14.10). Коферментом этого фермента является пиридоксальфосфат. В проявлении активности его важное место занимают ионы меди.

После образования молекулы тропоколлагена между модифицированными остатками лизина и 5-гидроксилизина замыкаются поперечные ковалентные связи. Они стабилизируют фибриллы коллагена.

Образующиеся в результате реакции альдегидные группы соседних молекул коллагена соединяются между собой, обеспечивая образование ковалентных связей между молекулами, фибриллами, волокнами.

Количество поперечных связей в фибриллах коллагена зависит от функции и возраста ткани. Например, между молекулами коллагена ахиллова сухожилия шивок особенно много, так как для этой структуры важна большая прочность.

Процесс образования волокон основан на том, что растворимость коллагеновых молекул почти в 1000 раз меньше, чем молекул проколлагена. Это свойство обеспечивает их тенденцию к самоагрегации. Фибриллы образуются вблизи клетки, на ее поверхности или, часто, в секретируемых пузырьках, сливающихся с мембраной клетки. Под электронным микроскопом коллагеновые волокна имеют поперечную исчерченность с периодом 67 нм. Причиной такой исчерченности является способ укладки молекул коллагена в период фибриллогенеза. Молекулы коллагена не связаны между собой «конец

в конец», а между ними имеется промежуток в 35–40 нм. Каждая соседняя молекула в фибрилле смещена на $1/4$ своей длины относительно соседней (рис. 14.11).

В костной ткани эти промежутки играют роль центров минерализации, где откладываются кристаллы фосфата кальция.

С нарушением процессинга коллагена связаны многочисленные, чаще врожденные, нарушения (табл. 14.3).

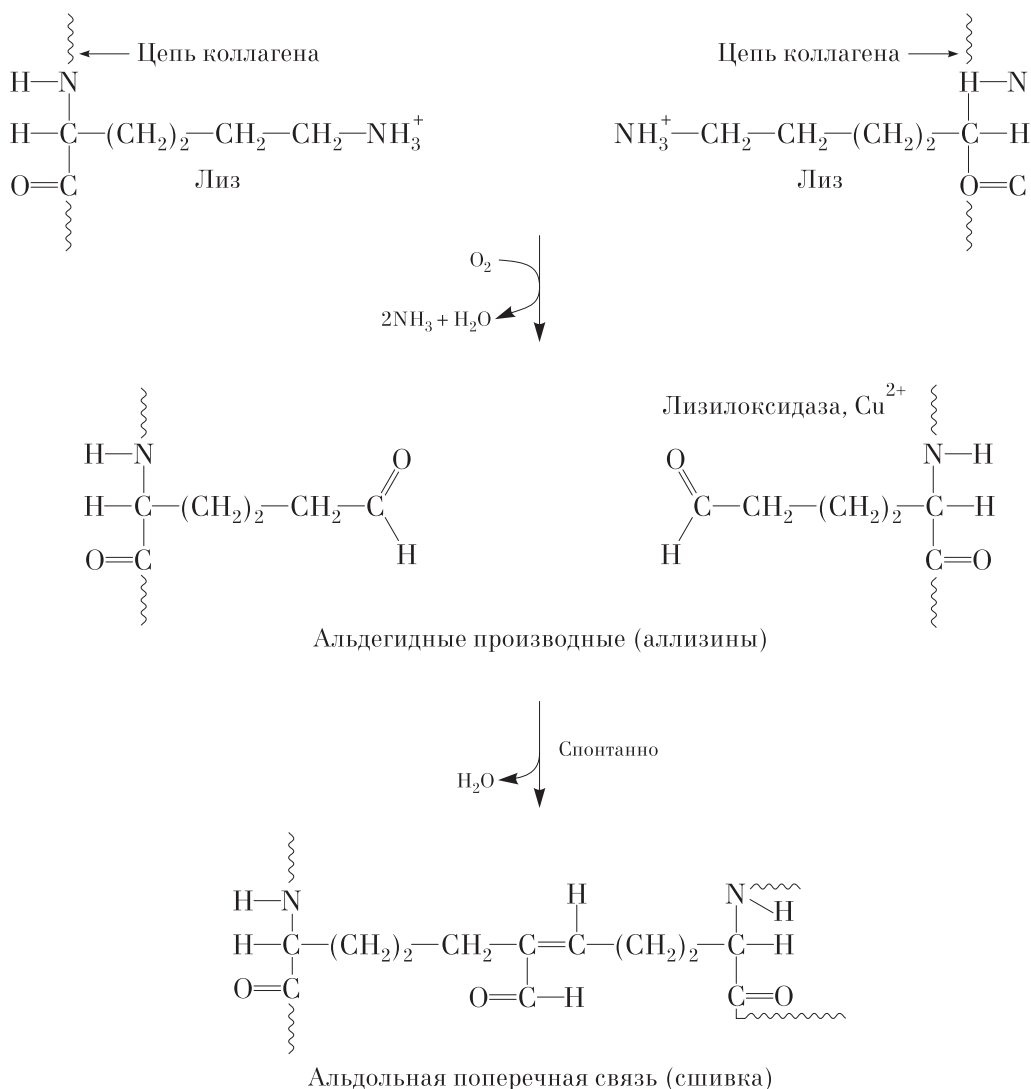


Рис. 14.10. Образование поперечных ковалентных связей

14.2. Белки соединительной ткани

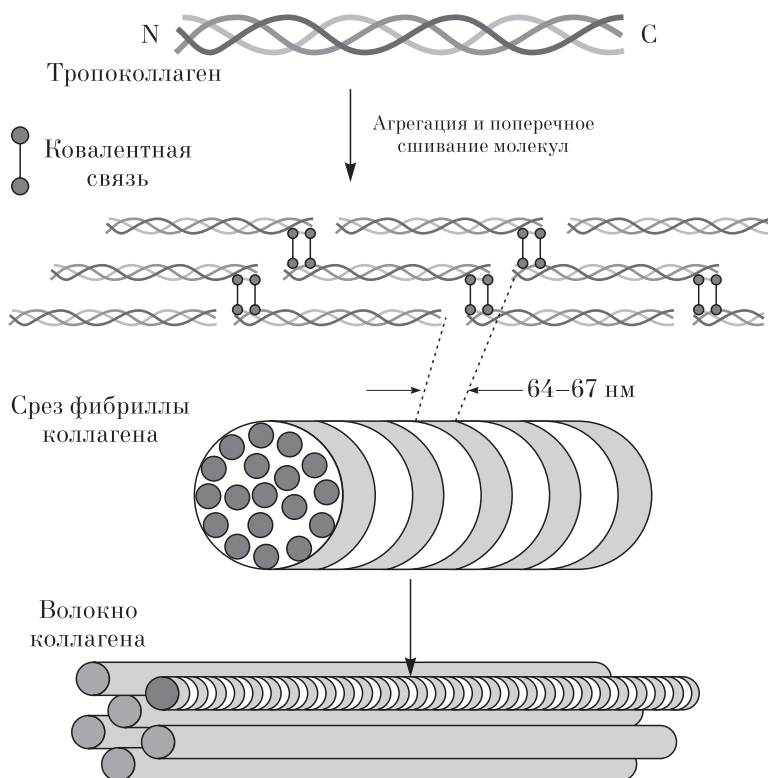


Рис. 14.11. Образование коллагеновых фибрилл и волокон

Таблица 14.3

Заболевания, вызванные нарушением процессинга коллагена

Болезнь	Дефект обмена	Клинические проявления
Несовершенный остеогенез	Дефекты генов, кодирующих $\alpha_1(\text{I})$ -цепи. Снижение количества коллагена I типа	Голубые склеры, повышенная ломкость и деформации костей
Синдром Элерс — Данлоса (IV тип)	Дефекты генов, кодирующих $\alpha_1(\text{III})$ -цепи. Нарушение структуры конца цепи коллагена	Самопроизвольные разрывы артерий, кишечника, матки, легко повреждаемая кожа
Синдром Элерс — Данлоса (V тип)	Уменьшение поперечных сшивков	Гиперподвижность суставов
Синдром Элерс — Данлоса (VI тип)	Низкая активность лизилгидроксилазы. Уменьшение количества гидроксизина	Нарушение роста, ломкость капилляров
Синдром Элерс — Данлоса (VII тип)	Низкая активность аминпроколлагенпептидазы	Гиперподвижность (разболтанность) суставов, плохое заживление ран

Окончание табл. 14.3

Болезнь	Дефект обмена	Клинические проявления
Болезнь Менке	Низкая активность лизилоксидазы и меди	Вьющиеся волосы, задержка роста
Синдром Марфана	Уменьшение количества поперечных сшивок	Аневризмы аорты, деформации скелета

Процессы роста, развития и старения сопровождаются значительными изменениями соединительной ткани. В частности, снижается интенсивность метаболизма коллагена; количество поперечных связей между молекулами тропоколлагена увеличивается, что делает их менее эластичными и ломкими; снижается величина количественного отношения гликозаминогликанов к коллагену; уменьшается количество связанной воды, что вызывает сухость кожи, изменение механических свойств хрящевой ткани и сухожилий, снижение прозрачности роговицы.

14.2.4. Семейство эластина

Способность соединительнотканых структур восстанавливать форму после механического воздействия связано с сетью эластических волокон, основой которых являются белки семейства эластина (рис. 14.12).

Эластин — гидрофильный белок, содержащий в своем составе около 750 аминокислот. Подобно коллагену, в его молекулу входит необычно много пролина

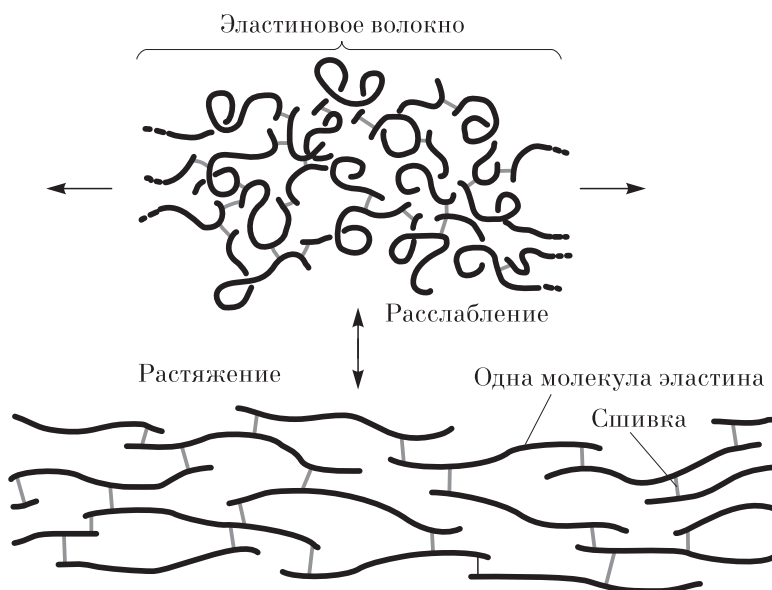


Рис. 14.12. Эластиновое волокно в действии

14.2. Белки соединительной ткани

и глицина. Однако эластин не гликозилирован и содержит мало гидроксипролина и гидроксилизина. Основные различия между коллагеном и эластином приводятся в табл. 14.4.

Таблица 14.4

Отличительные признаки коллагена и эластина

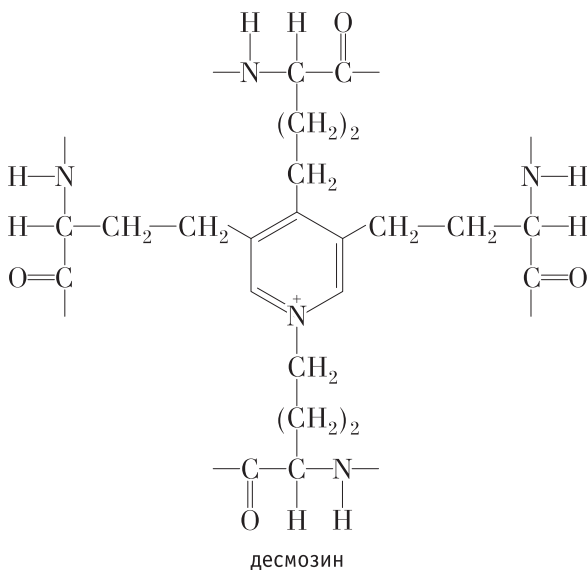
Коллаген	Эластин
Несколько разных генетических типов	Один генетический тип
Тройная спираль	Не образует тройной спирали
(Гли-Х-У) _n повторы в структуре	Нет повторов (Гли-Х-У)
Имеется гидроксипролин	Нет гидроксипролина
Содержит углеводы	Нет углеводов
Внутримолекулярные альдольные поперечные связи	Поперечные связи в форме десмозина
Во время синтеза образуются дополнительные пептиды	Дополнительных пептидов не образуется
Переваривается коллагеназой	Переваривается эластазой

Молекула эластина состоит из двух типов фрагментов, чередующихся вдоль цепи:

1) гидрофобные сегменты, которые ответственны за эластические свойства молекулы;

2) сегменты, богатые аланином и лизином.

Последние сегменты образуют α -спираль и участвуют в формировании поперечных связей между молекулами. В образовании поперечных связей участвуют десмозин или изодесмозин — продукты межмолекулярной конденсации лизинов.

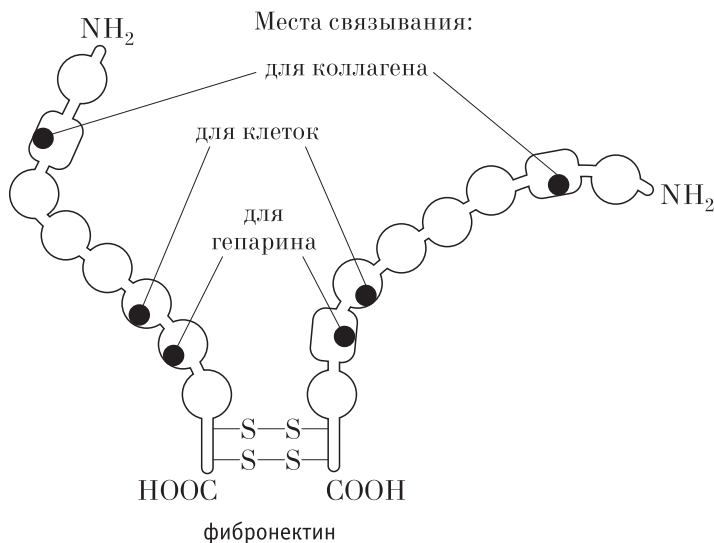


В образовании эластических волокон принимают участие большое число белков, объединенных в семейство эластина. Эластиновый остов волокна покрыт слоем микрофибрилл, имеющих диаметр 10 нм. Такие микрофибриллы встречаются в матриксе и без эластина. Они состоят из разных гликопротеинов, выполняющих важную роль в интеграции эластиновых волокон.

14.2.5. Адгезивные белки

Внеклеточный матрикс содержит большое число адгезивных неколлагеновых белков, структурной особенностью которых является наличие доменов, способных специфически связываться с другими макромолекулами и рецепторами на поверхности клетки. Непременным компонентом доменов, обеспечивающих взаимодействие с клетками, является последовательность аминокислот Арг-Гли-Асп (RGD).

Фибронектин является высокомолекулярным гликопротеином. Он представляет собой димер двух больших субъединиц, соединенных парой дисульфидных связей на С-концах. Домены содержат небольшие модули, каждый из которых многократно повторяется и обычно кодируется отдельными экзонами. Главный модуль фибронектина, включающий 90 аминокислот, повторяется 15 раз в каждой субъединице.



Две полипептидные цепи сходны, но не идентичны. В области С-концевых отделов они соединены дисульфидными связями. В каждой цепи имеется по несколько глобулярных доменов, соединенных гибкими полипептидными сегментами. Эти домены могут специфически связываться с другими молекулами или клетками.

14.2. Белки соединительной ткани

Существует несколько форм фибронектина, которые синтезируются разными клетками. *Растворимый*, или *плазменный*, фибронектин синтезируется гепатоцитами. *Нерастворимый*, или *тканевый*, фибронектин синтезируется в основном фибробластами и эпителиальными клетками. Обе формы фибронектина вовлекаются в разнообразные процессы. Они способствуют адгезии и распространению эпителиальных и мезенхимальных клеток, стимулируют пролиферацию и миграцию эмбриональных и опухолевых клеток, контролируют дифференцировку и поддержание цитоскелета клеток, активно участвуют в воспалительных и репаративных процессах. Каждая субъединица фибронектина содержит последовательность Арг-Гли-Асп (RGD), с помощью которой он может присоединяться к клеточным рецепторам (интегринам).

Фибронектин участвует в миграции клеток. Об этом свидетельствуют опыты, в ходе которых антитела против фибронектина, пептидов с RGD аминокислотными последовательностями и антитела против интегринов, рецепторов фибронектина, вызывали торможение миграции мезодермальных клеток в процессе гастрюляции амфибий.

В семейство фибронектина входит фибриллин. Относительно частым врожденным заболеванием, сопровождающимся поражением соединительной ткани, является синдром Марфана. При нем поражаются глаза (эктопия хрусталика), скелет (у многих больных развиваются длинные пальцы, арахнодактилия, разболтаны суставы) и сердечно-сосудистая система (слабость средней оболочки аорты, ведущая к расширению нисходящей аорты). Подобный синдром описан у 16-го президента США Авраама Линкольна. В большинстве случаев заболевание развивается вследствие мутации гена (хромосома 15), кодирующего белок фибриллин.

Фибриллин — это большой гликопротеин (М.М. ~ 350 тыс.), который является структурным компонентом микрофибрилл толщиной 10–20 нм найденных в ряде тканей. Они обеспечивают образование эластиновых волокон. Фибриллин найден в хрусталике, периосте, связан с эластиновыми волокнами в аорте. Такое расположение позволяет объяснить те нарушения, которые обнаруживаются при синдроме Марфана. Другой ген фибриллина обнаружен на хромосоме 5. Дефекты его выявлены у лиц с врожденной контрактурной арахнодактилией, но не с синдромом Марфана.

Более распространенным, чем фибронектин (особенно в матриксе эмбриональной ткани), является тенасцин.

Тенасцин представляет собой высокомолекулярный гликопротеиновый комплекс, состоящий из 6 идентичных пептидных цепей, связанных между собой дисульфидными связями в форме морской звезды.

Как и у фибронектина, каждая полипептидная цепь его состоит из нескольких коротких аминокислотных последовательностей, повторяющихся несколько раз, и имеет несколько функционально разных доменов. Одни из этих доменов связываются с трансмембранным протеогликаном — синдеканом, а другие связывают фибронектин.

В отличие от фибронектина, тенасцин может и ускорять, и ингибировать клеточную адгезию в зависимости от типа клеток. Адгезивная и антиадгезивные функции опосредуются разными доменами. Получены доказательства, что антиадгезивное взаимодействие играет важную роль в обеспечении перемещения клеток.

14.3. Базальные мембраны

Базальная мембрана — это тонкая пластинка (толщиной 40–120 нм). Она расположена под слоем эпителиальных клеток и отделяет слой этих клеток от подлежащей соединительной ткани, или окружает отдельные мышечные, жировые и швановские клетки, или разделяет два слоя клеток (почки, легкие).

В базальной мембране при электронной микроскопии различают два слоя: **электронопропускающий** (*lamina lucida*), прилежащий к базальным участкам мембран эпителиальных клеток, и **электроноплотный** (*lamina densa*), расположенный ниже предыдущего. В отдельных случаях можно выделить и третий слой, содержащий коллагеновые волокна подлежащей соединительной ткани.

В основе базальной мембраны лежит слоистая сеть, образованная коллагеном IV типа. Структура коллагена IV типа отличается большой гибкостью. Его тройная спираль прерывается в 26 местах участками аминокислотной последовательности неколлагенового типа.

Из-за дополнительных неколлагеновых доменов на N- и C-концах полипептидов, образующих коллаген IV типа, его молекула длиннее (400 нм), чем у других коллагенов, формирующих фибриллы (300 нм) (рис. 14.13). Двумерная сеточка этого коллагена — компонент внеклеточного матрикса или базальной мембраны, которая служит поверхностью для прикрепления большинства эндотелиальных и эпителиальных клеток или окружает мышечные и жировые клетки.

Зрелые α -цепи содержат три основных домена: короткий N-концевой 7S-домен, длинный центральный коллагеновый домен и C-концевой неколлагеновый 1 (NC1) домен из 30230 аминокислот. Коллагеновый домен определяется наличием участков триплетных повторов Гли-X-Y, что позволяет формировать устойчивые, жесткие тройные спирали.

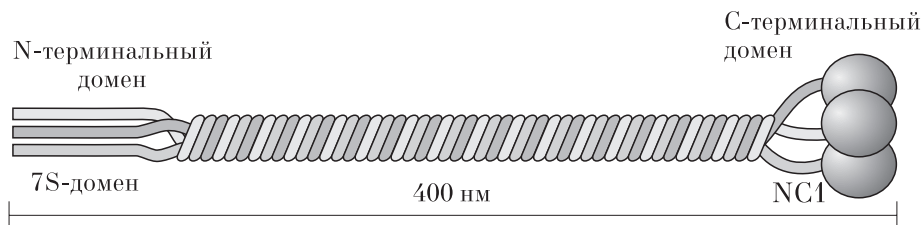


Рис. 14.13. Структурные особенности коллагена IV типа

14.3. Базальные мембраны

Коллаген IV типа (подобно фибриллассоциированным коллагенам) не требует дополнительные пептиды после секреции. Эти пептиды способствуют образованию длинных фибрилл путем конденсации «бок в бок».

Вначале идет соединение двух цепей С-концевыми участками (NC1-домен) с образованием димеров, которые N-концами (7S-домен) ассоциируются с тремя другими молекулами с образованием тетрамеров.

Результат такой ассоциации — подвижная многослойная структура, стабилизированная дисульфидными и другими ковалентными связями. При этом образуется нерастворимая сеть, к которой присоединяются другие молекулы.

В базальной мембране кожи коллаген IV типа образует специальные адгезивные волокна. При тяжелом кожном заболевании, получившем название «пузырчатка», эти волокна отсутствуют и эпидермис легко отделяется от соединительной ткани.

Помимо коллагена IV типа, из всех типов базальных мембран выделены гепарансульфатный протеогликан — перлекан — и гликопротеины — ламинин и энтактин.

Ламинин — один из первых белков внеклеточного матрикса у развивающегося эмбриона. Молекулярная масса ламинина около 8500×10^3 а.е.м. Он состоит из трех полипептидных цепей (α , β , γ), организованных в форме крестообразной структуры. Каждая цепь ламинина содержит несколько глобулярных и стержневидных доменов, на которых имеются специфические центры связывания для различных веществ. Ламинин имеет несколько центров связывания с клетками, взаимодействует со всеми структурными компонентами базальных мембран, включая коллаген IV типа, фибронектин, интегрин, гепарансульфат (рис. 14.14).

Молекула **энтактина** напоминает по форме гирию, связывается с одной молекулой ламинина в местах соединения длинной и коротких цепей ламинина.

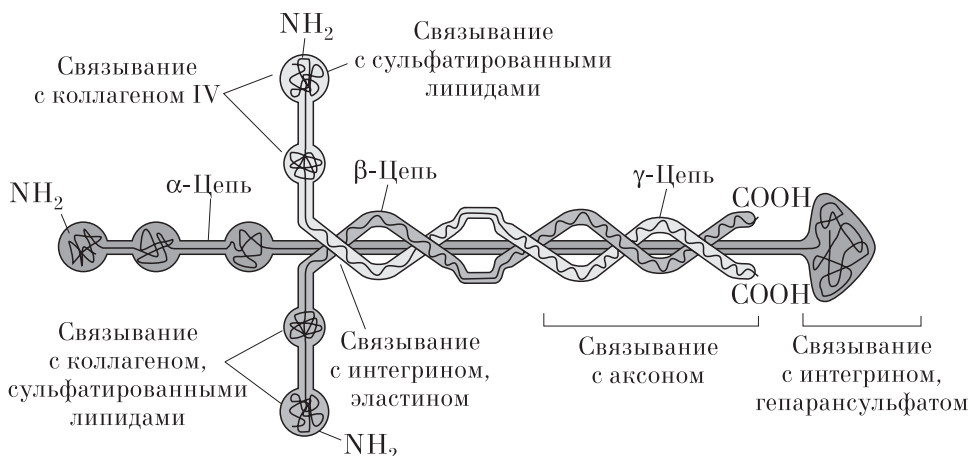


Рис. 14.14. Схема строения ламинина

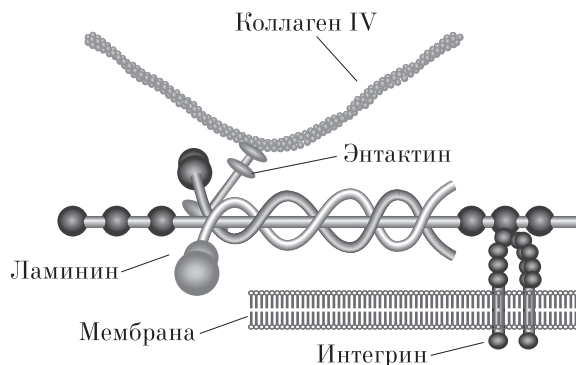


Рис. 14.15. Белки — компоненты базальной мембраны

Энтактин соединяется также с молекулой коллагена, образуя дополнительную связь между ламинином и коллагеном (рис. 14.15).

Функции базальной мембраны. Базальная мембрана (почки) действует как молекулярный фильтр при образовании мочи. Для выполнения этой функции важным является гепарансульфат. Его удаление резко нарушает фильтрующие функции базальной мембраны. Кроме того, базальная мембрана играет роль селективного барьера для движущихся клеток. Она отделяет эпителий от прямого контакта с фибробластами, но не может остановить макрофаги и лимфоциты, проходящие через нее.

Базальная мембрана участвует в регенерации при заживлении ран. При повреждении мышцы, нервов или эпителия базальная мембрана создает «подмости» для мигрирующих клеток, изменяя архитектуру поврежденной ткани. В некоторых случаях (кожа, роговица) изменяется химический состав базальной мембраны, например, добавлением фибронектина, который ускоряет миграцию клеток для заживления.

14.4. Распад молекул межклеточного матрикса

Образование матрикса, его распад или ремоделирование — всё это важные и необходимые процессы перестройки тканей. Они сопутствуют развитию организма, заживлению ран, некрозу опухолей или воспалению.

Ключевыми компонентами обмена молекул внеклеточного матрикса и его регуляции являются *металлопротеазы матрикса (МПМ)* и их ингибиторы (тканевые ингибиторы металлопротеаз матрикса, ТИМПМ). Активность МПМ зависит от цинка. Эти ферменты катализируют распад молекул внеклеточного матрикса (протеогликанов, гликопротеинов и коллагенов). Клетки секретируют МПМ в форме проматаллопротеаз. Механизм их активирования *in vivo* пока не известен. Биологическое время полураспада белково-углеводных комплексов колеблется от нескольких дней (протеогликанов кожи) до нескольких месяцев (зрелый коллаген кожи).

Биохимия костной ткани

15.1. Костная ткань — разновидность соединительной ткани

Выделяют три типа костной ткани: дентиноидную, ретикулофиброзную (грубоволокнистую) и пластинчатую. *Дентиноидная* костная ткань представлена клетками — одонтобластами, которые окружены внеклеточным матриксом, состоящим из коллагеновых волокон и минерализованного основного аморфного вещества. Основу внеклеточного матрикса *ретикулофиброзной* костной ткани составляют мощные пучки коллагеновых волокон, имеющие различное направление. Без определенной ориентации располагаются в матриксе и остециты. У высших позвоночных во взрослом состоянии ретикулофиброзная костная ткань встречается в местах зарастания черепных швов и прикрепления сухожилий к костям.

Большая часть скелета взрослого человека представлена *пластинчатой* костной тканью. Она состоит из костных пластинок, образованных *костными клетками*, и внеклеточного минерализованного матрикса с коллагеновыми волокнами, ориентированными в определенном направлении. В соседних пластинках волокна имеют разное направление, что обеспечивает большую прочность пластинчатой костной ткани. Пластинчатая костная ткань, в свою очередь, представлена двумя формами — компактной и губчатой.

Основными органическими составляющими минерализованных тканей являются белки, протеогликаны, фосфолипиды и цитрат. На их долю приходится 1 % в составе эмали зуба и 30 % в костной ткани. Среди *белков* хрящевой ткани ведущее место принадлежит коллагену II типа. Другим важным и специфическим для хряща компонентом является *протеогликан*. Конечная функция хряща определяется функцией этих двух основных типов молекул. Коллагеновые волокна, прочные на разрыв, усиливают механические свойства довольно непрочного протеогликана. Протеогликан образует гель, который в 5 раз больше по объему в воде, чем в окружении коллагена. Причем возможности связывания воды гелем зависят от взаимодействия между этими

двумя основными белками хряща. В ходе остеогенеза хрящ постепенно замещается более твердой костной тканью. После рождения рост скелета продолжается, но клеточная активность направлена главным образом на перестройку (ремоделирование) уже существующей костной ткани.

Метаболизм костной ткани в этот период включает ее резорбцию (разрушение) и образование (остеогенез). В ходе остеогенеза происходит обновление и реорганизация органического матрикса и его минерализация. Этот процесс ускоряется при изменении физической нагрузки на костную ткань: при потере веса, в результате исправления расположения зубов с помощью брекетов, воспалительного процесса в костной ткани при ревматоидном артрите и периодонтите, гормональных сдвигах (нехватка эстрогенов, гиперпаратиреоз).

15.2. Образование костной ткани и ее разрушение осуществляют разные клетки

В костной ткани клетки функционально разделяются на образующие межклеточный матрикс (остеобластический ряд) и остеокласты, выполняющие резорбтивные функции (рис. 15.1). Предшественниками остеобластов у взрослого человека являются *стволовые стромальные клетки (ССК)*. Они представляют собой малодифференцированные клетки мезенхимного происхождения, способные при определенных условиях дифференцироваться по остеобластическому пути, и составляют клеточный резерв костной ткани, который используется в физиологических условиях или при посттравматическом восстановлении. У взрослого эти клетки способны дифференцироваться не только в костные и хрящевые клетки, но и в другие клетки — фибробласты, адипоциты и гладкомышечные клетки. Дифференцировка сопряжена со снижением транскрипции генов, кодирующих белки, которые принимают участие в пролиферации и адгезии, и повышением транскрипции генов остеобласт-специфических белков.

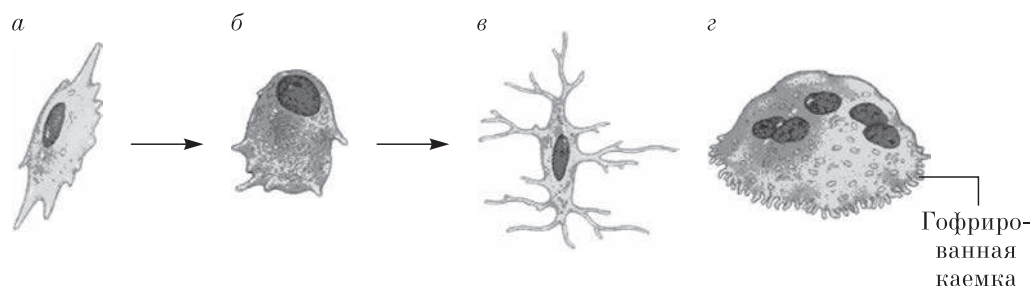


Рис. 15.1. Основные клетки костной ткани:

а — остеогенные клетки — предшественники остеобластов; *б* — остеобласты (формируют костный матрикс); *в* — остеоциты (поддерживают обмен костного матрикса); *г* — остеокласты (обеспечивают резорбцию костной ткани)

15.2. Образование костной ткани и ее разрушение осуществляют разные клетки

Процесс сопровождается образованием межклеточного матрикса, богатого коллагенами II, III и IX типов, с последующим, по мере дифференцировки, переходом на X тип и затем — на синтез основного белка матрикса костной ткани, коллагена I типа. Остеогенные клетки синтезируют также ряд неколлагеновых белков матрикса.

Популяция остеогенных клеток неоднородна. Выделяют два типа клеток — *детерминированные* и *индуцибельные* остеогенные клетки-предшественники. Первые реализуют свои остеогенные функции без участия каких-либо индукторов, вторые для проявления своих функций нуждаются в специальных индукторах.

Остеобласты имеют кубическую или призматическую форму. Ядро расположено эксцентрично (см. рис. 15.1). По своему фенотипу остеобласты — типичные активно синтезирующие и секретирующие клетки, причем секреция синтезированных веществ может осуществляться всей поверхностью клетки. В остеобластах имеется хорошо развитая гранулярная эндоплазматическая сеть, заполняющая практически всю цитоплазму, множество рибосом и полисом, что свидетельствует об активных синтетических процессах, происходящих в клетке.

Остеобласты секретируют подавляющее большинство компонентов органического костного матрикса — коллаген I типа, щелочную фосфатазу, остеокальцин, костный сиалопротеин, остеопонтин, костные морфогенетические белки, трансформирующие факторы роста, тромбоспондин, остеонектин, коллагеназу и др. Остеобластам принадлежит ведущая роль и в минерализации органического матрикса.

Остеоциты — финальная стадия дифференцировки остеобластов (см. рис. 15.1). Остеоциты способны синтезировать белки и полисахариды межклеточного матрикса, принимают участие в минерализации костной ткани. Совместно с выстилающими клетками остеоциты воспринимают любые изменения упругого напряжения костной ткани и, трансформируя механические стимулы в биохимические сигналы, инициируют процессы ремоделирования.

Остеоциты имеют длинные отростки, расположенные в костных канальцах. Посредством щелевых контактов они связаны между собой, с выстилающими клетками и остеобластами. Остеобластам отводят роль посредников сигналов в костной резорбции. Щелевые контакты обеспечивают переход некоторых молекул (Ca^{2+} , цАМФ) из клетки в клетку, а также координированный ответ клеток на локальный механический или химический сигнал.

На другой тип клеток, остеокласты, возложена иная функция — резорбция костной ткани. Остеокласты — крупный многоядерный симпласт, образовавшийся в результате слияния нескольких клеток-предшественников. Совместно с остеобластами они обеспечивают ремоделирование костной ткани в эмбриональном, постнатальном и регенерационном остеогенезе. Предшественниками остеокластов являются циркулирующие в крови мононуклеарные клетки, которые, достигая участков резорбции, сливаются друг с другом и дают начало остеокластам.

Структура остеокластов характеризуется выраженной специализацией отдельных его компартментов. Клетки живут 3–4 недели. Спустя этот период они теряют ядро и становятся неактивными.

15.3. Состояние межклеточного матрикса — основная забота остеобластов и остеокластов

Межклеточный матрикс костной ткани состоит из органического (25 %), неорганического (50 %) компонентов и воды (25 %). Без учета воды доля органического и неорганического компонентов повышается (рис. 15.2). В составе **органического компонента** 90–95 % межклеточного матрикса принадлежит коллагену I типа. Оставшуюся часть составляют неколлагеновые белки.

Молекула коллагена I типа имеет молекулярную массу около 300×10^3 а.е.м. и длину 280–300 нм. Она состоит из двух α_1 -цепей и одной α_2 -цепи 1-го типа, обвитых одна вокруг другой и образующих правовращающую спираль. Помимо коллагена, остеобласты синтезируют разнообразные неколлагеновые белки.

Белки, обеспечивающие локальную регуляцию остеогенеза. К ним относятся ряд факторов роста (фактор роста фибробластов, трансформирующие факторы роста, костные морфогенетические белки), которые представляют собой цитокины.

Белки, обеспечивающие адгезию клеток с межклеточным матриксом. Они имеют RGD (Арг-Гли-Асп) домен, который специфически узнается мембранными рецепторами (интегринами). К этой группе белков относятся *костный*

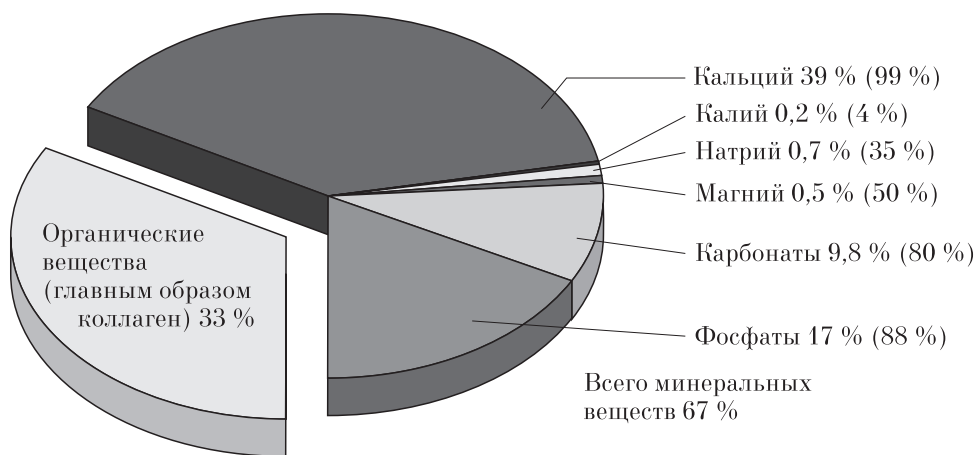


Рис. 15.2. Состав плотных компонентов костной ткани (без воды) (в скобках указано количество в процентах от общего содержания в организме)

15.3. Состояние межклеточного матрикса

сиалопротеин, остеопонтин, фибронектин. Эти белки способны интенсивно связываться с кальцием и участвовать в минерализации костной ткани.

Костный сиалопротеин обнаруживается только в минерализованных тканях: костях, дентине, цементе. Практически 30 % серина в составе этого белка находится в фосфорилированном состоянии. В его состав также входят повторяющиеся остатки глутаминовой кислоты, остатки сульфатированного тирозина и цепи гликозаминогликана — кератансульфата. Благодаря отрицательному заряду, сиалопротеин способен связываться с Ca^{2+} и гидроксиапатитами.

Взаимодействие сиалопротеина с рецепторами на поверхности остеокластов приводит к активации клеток и прикреплению их к поверхности кости. Такой же способностью обладает гликопротеин — *остеопонтин*. В зонах минерализации костной ткани концентрация этого белка в 10 раз выше, чем других белков. По сравнению с сиалопротеином, он содержит меньше углеводов.

Активированные остеокласты в местах прикрепления секретируют кислую фосфатазу, которая катализирует отщепление остатков фосфорной кислоты от остеопонтина и сиалопротеина. В результате изменяется заряд этих белков и пространственное расположение атомов в составе их молекул. Нарушается комплементарность рецепторов к этим белкам, остеокласты теряют активность и переходят в последующую стадию ремоделирования костной ткани.

Таким образом, в фосфорилированном состоянии адгезивные белки остеопонтин и сиалопротеин стимулируют резорбцию кости и ингибируют образование гидроксиапатитов. В дефосфорилированном состоянии связь остеокластов с костью утрачивается и происходит замедление разрушения костной ткани.

γ -Карбоксилированные белки (остеокальцин). Эти белки в своем составе имеют γ -карбоксиглутаминовую кислоту, которая образуется в пострибосомальную фазу их синтеза путем карбоксилирования глутаминовой кислоты с участием витамина К. Наличие γ -карбоксиглутаминовой кислоты придает этим белкам способность связывать ионы кальция. Остеокальцин синтезируется и секретируется остеобластами, остеоцитами и одонтобластами. Помимо ионов кальция, к нему могут присоединяться и другие катионы в последовательности $\text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Ba}^{2+}$.

Связывание кальция с остеокальцином снижает образование центров кристаллизации. Это предотвращает избыточную минерализацию кости. Таким образом, снижение синтеза и секреции остеокальцина сопряжено с усилением процессов минерализации костной ткани. В остеобластах транскрипцию гена остеокальцина усиливает кальцитриол, поэтому определение уровня остеокальцина в крови является чувствительным и специфичным тестом оценки функциональной активности остеобластов.

Гликопротеины (щелочная фосфатаза, остеонектин) — активные участники минерализации костной ткани. Остеонектин в составе молекулы имеет центры связывания со многими структурами межклеточного матрикса соединительной ткани: коллагеном, альбумином, тромбоспондином, фактором роста тромбоцитов, клеточными рецепторами. Способность остеонектина связывать

Ca^{2+} , коллаген I типа и гидроксиапатиты способствует образованию центров кристаллизации и началу процесса минерализации костной ткани.

Протеогликаны — обеспечивают связывание ионов, регулируют активность клеток костной ткани (подробно см. п. 14.1.1. «Протеогликаны»).

15.4. Минеральный компонент костной ткани

Для хрящевой и костной тканей, дентина, цемента, эмали характерно высокое содержание минеральных компонентов, основным среди которых является кальция гидроксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Отличительной особенностью минерализованных тканей является разная *степень минерализации*, т.е. отношение концентрации минерального компонента к органическому. Это отношение нарастает в следующем порядке: кость < цемент < дентин < эмаль.

15.4.1. Между внутри- и внеклеточным пространствами существует градиент концентрации кальция

Концентрация кальция во внеклеточной жидкости составляет около 5 ммоль/л и является строго регулируемой величиной. Внутриклеточная концентрация ионов кальция, наоборот, колеблется от 0,1 до 10 мкмоль/л, во внутриклеточных органеллах — от 1 до 20 мкмоль/л. При таком 5000–10000-кратном различии концентраций создаются условия для возникновения трансмембранных электрических градиентов.

В организме содержится примерно 1 кг кальция, 99 % этой массы сосредоточено в костях, где вместе с фосфатами кальций формирует кристаллы гидроксиапатита — неорганического компонента скелета. Кость является достаточно динамической тканью. Процессы распада и образования костной ткани протекают постоянно. Основная масса кальция обычно не участвует в обменных процессах. Только около 1 % его вовлекается в метаболизм, выполняя важную роль источника кальция для внеклеточной жидкости.

В плазме кальций находится в трех формах:

- в виде комплексов с органическими кислотами;
- связанный с белками;
- в форме ионов.

Около 6 % всего кальция входит в состав комплексов с цитратом, фосфатом и другими анионами, а оставшийся примерно поровну делится между кальцием, связанным с белками, и свободным кальцием (ионизированный кальций). Концентрация ионизированного кальция в плазме крови составляет 1,1–1,3 ммоль/л. Именно ионизированный кальций выступает в качестве биологически активной формы кальция.

Плазма крови насыщена ионами кальция и фосфора. При этом белки плазмы выполняют защитную роль, предупреждая кальцификацию. Колебания

15.4. Минеральный компонент костной ткани

уровня белков сопровождаются и колебаниями уровня кальция. Например, при уменьшении альбуминов на 1 г/100 мл уровень кальция снижается на 0,8 мг/100 мл, и наоборот, при повышении уровня альбуминов увеличивается концентрация кальция.

15.4.2. Фосфаты кальция — природные минералы и основа минерального компонента межклеточного матрикса

Ортофосфаты кальция — соли трехосновной фосфорной кислоты, поэтому они могут быть в форме однозамещенных (H_2PO_4^-), двухзамещенных (HPO_4^{2-}) или фосфат-ионов (PO_4^{3-}). В состав тканей зубов, костей и дентина входят соли HPO_4^{2-} или PO_4^{3-} . Пирофосфаты встречаются в зубных камнях. В растворах ион пирофосфата оказывает существенный эффект на кристаллизацию некоторых ортофосфатов кальция. Предполагается, что этот эффект важен для контроля величины кристаллов в костях, содержащих небольшие количества пирофосфатов.

Все фосфорнокислые соли кальция представляют собой белые порошки, которые слабо- или нерастворимы в воде, но растворяются в разбавленных кислотах. Известно множество природных форм фосфатов кальция.

Витлокит ($\text{Ca}_9\text{Mg}(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6$) — одна из форм безводного трикальцийфосфата, содержит двухвалентные ионы (Mg^{2+} , Mn^{2+} или Fe^{2+}), которые входят в состав кристаллической решетки. Образует ромбические кристаллы. Около 10 % фосфата в нем находится в форме HPO_4^{2-} . В организме встречается редко. Обнаружен в составе зубных камней и в зонах кариозного повреждения эмали.

Монетит (CaHPO_4) и **брушит** ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) — вторичные соли фосфорной кислоты. Также редко встречаются в организме. Монетит кристаллизуется в форме треугольных пластинок, но иногда бывают палочки и призмы. Кристаллы брушита имеют клиновидную форму. Растворимость кристаллов монетита зависит от pH. Она быстро увеличивается при pH ниже 6,0. Брушит обнаружен в составе дентина, зубных камней. Растворимость брушита в кислой среде также увеличивается, но в еще большей степени. При нагревании брушит превращается в монетит. При хранении оба минерала гидролизуются в гидроксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

Октакальцийфосфат ($\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) представляет промежуточное связующее звено между кислыми фосфатами — монетитом и брушитом и основной солью — гидроксиапатитом. Подобно брушиту и апатиту он входит в состав зубных камней. Как видно из формулы, октакальцийфосфат содержит кислый фосфатный ион, но не имеет гидроксильных. Содержание воды также колеблется в широких пределах. По своей структуре он напоминает кристаллы апатита, имеет слоистую структуру с чередованием слоев соли толщиной 1,1 нм и слоев воды толщиной 0,8 нм. Учитывая тесную связь с апатитами, он играет важную роль в нуклеации апатитных солей.

Кристаллы октакальцийфосфата растут в форме тонких пластинок до 250 мкм длиной. Подобно монетиту и брушиту, октакальцийфосфат нестабилен в воде и легко гидролизуется в апатит, особенно в теплом щелочном растворе. Низкая концентрация фтора (20–100 мкг/л) резко ускоряет скорость гидролиза. Это привело к предположению о том, что ионы фтора необходимы для отложения апатитов в плотных тканях.

15.4.3. Апатиты

Апатиты имеют общую формулу $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{X}_2$, где X — фтор, хлор или OH^- -ионы. Термин «апатит» происходит от греч. «обманиваю». Это связано с тем, что апатиты встречается в природе в разных видах и имеют внешнее сходство с другими минералами.

Гидроксиапатиты ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) преобладают в животном мире. Они являются основной минеральной составляющей костей (около 50 % общей массы кости) и зубов (96 % в эмали). В медицине синтетический гидроксиапатит используется как наполнитель, замещающий части утерянной кости (в травматологии и ортопедии, хирургии кисти), и как покрытие имплантов, способствующее нарастанию новой кости. В стоматологии гидроксиапатит применяется в зубных пастах как элемент, реминерализующий и укрепляющий зубную эмаль. Фторапатиты широко распространены в природе, прежде всего как почвенные минералы. Их даже используют для получения фосфора в промышленности.

Наряду с тем что апатиты — довольно устойчивые соединения, они легко обмениваются с окружающей средой. В результате в их составе могут появляться другие ионы (табл. 15.1).

Таблица 15.1

Замещаемые ионы и заместители в составе апатитов

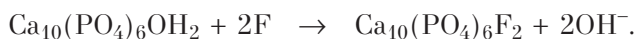
Замещаемые ионы	Заместители
PO_4^{3-}	AsO_3^{3-} , HPO_4^{2-} , CO_2
Ca^{2+}	Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Na^+ , H_2O , K^+ , Mg^{2+}
OH^-	F^- , Cl^- , Br^- , I^- , H_2O
2OH^-	CO_3^{2-} , O_2^{2-}

Преимущественным фактором, определяющим возможность замены, является размер атома. Схожесть в зарядах имеет второстепенное значение. Такой принцип замены носит название *изоморфное замещение*. Тем не менее, в ходе такого замещения поддерживается общее распределение зарядов по принципу $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-2x}$, где $0 < x < 1$. Потеря в Ca^{2+} частично компенсируется потерей OH^- -ионов и частично H^+ , присоединенных к фосфату.

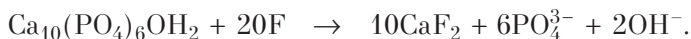
15.4. Минеральный компонент костной ткани

Карбонатный апатит. Если основная соль кальция фосфата осаждается при комнатной температуре или температуре тела в присутствии карбоната-иона или гидрокарбонат-иона, то образующийся апатит будет содержать в своем составе несколько процентов карбоната или гидрокарбоната. Карбонат уменьшает кристалличность апатита и делает его более аморфным. Такая структура напоминает структуру апатитов костей или эмали (рис. 15.3). Карбонатный апатит входит в состав дентина, зубных камней.

Фтороапатит ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$). Это наиболее стабильный из всех апатитов (температура плавления 1680°C). В водной среде реакция взаимодействия фтора с фосфатами кальция зависит от концентрации фтора. Если она сравнительно невысока (до $0,5\text{ г/л}$), то образуются кристаллы фтороапатита:



При высоких концентрациях фтора ($> 2\text{ г/л}$) кристаллы не образуются:



Фтор резко уменьшает растворимость гидроксипапатитов в кислой среде. Таким же, но значительно меньшим эффектом обладают ионы цинка, олова. Наоборот, в присутствии ионов цитрата, карбоната, магния наблюдается повышение растворимости.

Стронциевый апатит. Учитывая вышеуказанные замены в кристаллической решетке апатитов, стронций может вытеснять или заменять вакантные

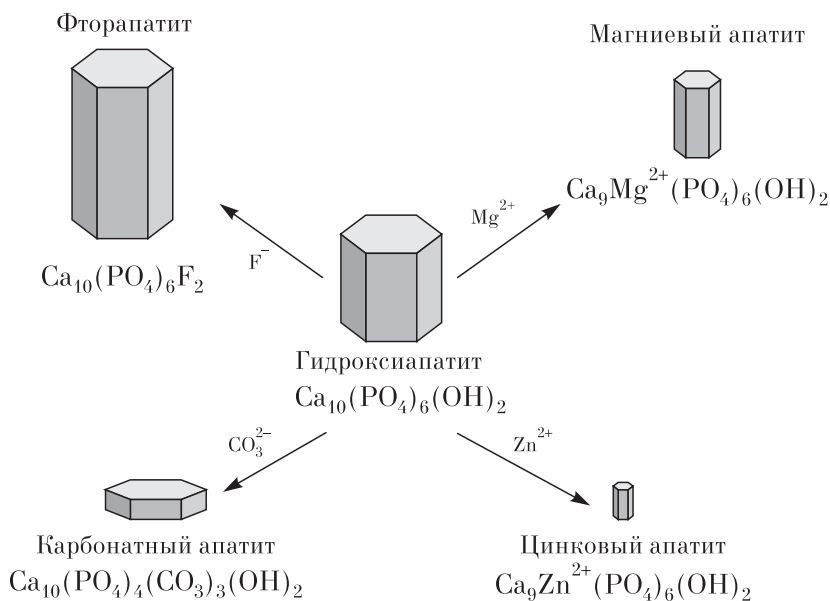
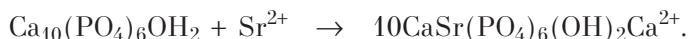


Рис. 15.3. Призматическая форма и соотношение размеров кристаллов различных апатитов

места для кальция. Это приводит к нарушению структуры кристаллов. В Забайкалье, вдоль берегов небольшой реки Уров, описано заболевание, получившее название «уровская болезнь». Оно сопровождается короткопалостью у людей и поражением костного скелета у животных. В местности, загрязненной радионуклидами, неблагоприятное влияние стронциевого апатита на организм человека обусловлено депонированием радиоактивного стронция:



15.5. Принципы минерализации костной ткани

15.5.1. Изменение кристаллической решетки апатитов

Кристаллы апатитов, образуясь в растворах, могут изменяться за счет обмена с ионами, находящимися в этом растворе. В живых системах это свойство апатитов делает их высокочувствительными к ионному составу крови и межклеточной жидкости, который, в свою очередь, зависит от характера пищи и состава потребляемой воды. Сам процесс обмена элементов кристаллической решетки протекает в несколько этапов, каждый из которых имеет свою скорость.

Первый этап протекает довольно быстро, в течение нескольких минут. Это обмен между гидратной оболочкой кристалла и подвижной жидкостью, в которую погружен кристалл. Он ведет к повышению концентрации отдельных ионов в непосредственной близости кристалла. В этом этапе участвуют многие ионы, разные по размерам и свойствам. На *втором* этапе идет обмен между ионами гидратной оболочки и поверхностью кристаллов. Здесь происходит отрыв элементов с поверхности кристалла и замена их на ионы гидратной оболочки. В этот процесс включаются ионы фосфорной кислоты, кальция, фтора, стронция, натрия и другие равные им по размерам ионы. Продолжительность этапа составляет несколько часов. Наконец, на *третьем* этапе происходит проникновение ионов вглубь кристаллов. Это медленный процесс. Он может проходить в форме изоморфного замещения или заполнения вакантных мест. Он длится месяцами и годами.

15.5.2. Образование кристаллов начинается с нуклеации

Минерализация широко распространена в животном мире. У позвоночных в основе минерализации костного скелета лежит образование кристаллов с участием фосфата кальция. В патологических условиях свыше 20 других солей могут подвергаться кристаллизации (мочевые, желчные, зубные камни).

Внеклеточная жидкость, из которой происходит осаждение соли, представляет собой пересыщенный раствор фосфата кальция. Процесс осаждения

15.5. Принципы минерализации костной ткани

можно разделить на две стадии: вначале идет *нуклеация*, т.е. образование плотного остатка, а затем — *рост кристаллов* из ядра.

Различают два типа нуклеации. Если нуклеация идет в пересыщенном растворе без участия другой фазы, ее называют *гомогенной*, если нуклеацию инициирует другая фаза (часто твердая фаза), то *гетерогенной*. Второй механизм встречается чаще, поскольку трудно создать чисто однофазный раствор. В обоих типах нуклеации ядра кристаллов небольшие, от 0,5 до 2 нм в диаметре.

Процесс гомогенной нуклеации может быть представлен следующим образом. Вначале некоторое число ионов образует пары или триплеты. Такие же кластеры образуют соседние ионы. Они могут объединяться между собой. Кластеры неустойчивы, они быстро распадаются и вновь образуются. Если имеется пересыщенный раствор, то могут возникнуть кластеры с размером радиусов выше критического¹, которые могут стать источниками дальнейшего роста кристаллов.

В ходе гетерогенной нуклеации рост кристаллов (обозначим их АХ) может иметь место, если в супернасыщенный раствор добавить какой-то другой кристалл *S*. Образование кластера определенной величины (ядра) на поверхности *S* включает поверхностную адсорбцию, диффузию на поверхности и последующее включение в кластер. Матрица *S* при этом может играть роль направляющей в образовании кристаллов АХ. Такой феномен называют *эпитаксисом*, а процесс образования критических кластеров — *эпитаксической нуклеацией*.

15.5.3. Минерализация в тканях — постоянно протекающий процесс

Наиболее ранняя теория минерализации тканей была предложена в 1923 г. В соответствии с ней для образования кристаллов в тканях важным является локальное высвобождение фосфата при участии активной щелочной фосфатазы из органических молекул. Однако эта теория не могла объяснить высокую активность фермента во многих неминерализующихся тканях.

Когда было показано, что внеклеточная жидкость пересыщена солями фосфата кальция, стало ясно, что кальцификации должна предшествовать нуклеация. После выяснения важности гетерогенного типа нуклеации (см. п. 15.5.2) первым предполагаемым кандидатом на роль неподвижной фазы стал коллаген.

В настоящее время считается, что инициаторами минерализации служит не сам коллаген, а молекулы, которые могут с ним связываться. На роль таких молекул претендуют протеоглики, гликозаминогликаны, белки, содержащие γ -карбоксиглутаминовую кислоту, или фосфопротеины. Например, хондрокальцин является кальцийсвязывающим белком, который локализован в минерализующемся фронте хряща. Остеонектин — фосфогликопротеин из костной

¹ Критический радиус кристалла. Если радиус ядра выше критического, происходит дальнейший рост кристалла, если ниже — кристалл растворяется.

ткани, связывая гидроксиапатит и коллаген одновременно, может обеспечивать нуклеацию апатита из раствора фосфата кальция.

Несмотря на основную роль физико-химических факторов в минерализации, регуляцию ее осуществляет клетка. Эту функцию выполняют остеобласты. Минерализации предшествует усиленное снабжение клеток кислородом. Это способствует протеканию аэробного гликолиза и последующего окислительного фосфорилирования. АТФ требуется остеобластам для синтеза коллагена, неколлагеновых матричных белков, протеогликанов, кислых глицерофосфолипидов и ферментов.

Минерализация начинается с секреции остеобластами белков (рис. 15.4). Остеокальцин и другие сиалопротеины связывают внеклеточные ионы кальция, повышая их локальную концентрацию. Тем самым формируется сигнал, который стимулирует высвобождение небольших матричных пузырьков, содержащих щелочную фосфатазу и пирофосфатазу. Эти ферменты катализируют высвобождение фосфата из органических субстратов в межклеточном

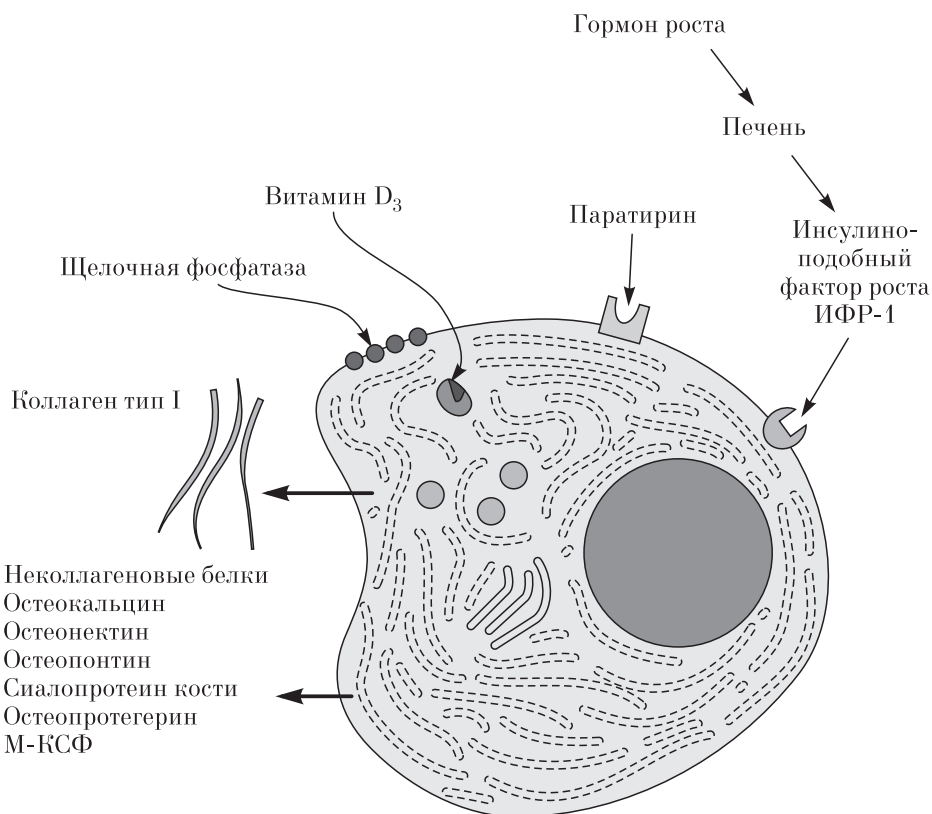


Рис. 15.4. Схематическое изображение остеобласта (М-КСФ — белковый фактор, стимулирующий образование колоний макрофагов)

15.5. Принципы минерализации костной ткани

пространстве, который, связываясь с кальцием, формирует первичный фосфат кальция. Последний служит в качестве «приманки», которая стимулирует образование кристаллов гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

Иными словами, роль зон нуклеации выполняют пузырьки. В них формируются центры кристаллизации, где происходит рост микрокристаллов. Там сосредоточено большое количество Ca^{2+} , глицерофосфолипидов, пирофосфатазы, щелочной фосфатазы, АТФ- и АМФ-гидролаз. Ионы кальция закачиваются в мембранные пузырьки Ca^{2+} -АТФазой. Их концентрация там в 20–25 раз выше, чем в остеобластах. Значительное количество кальция в пузырьках связано с отрицательно заряженными фосфолипидами: фосфатидилсеринем, фосфатидилинозитолдифосфатом (рис. 15.5, а).

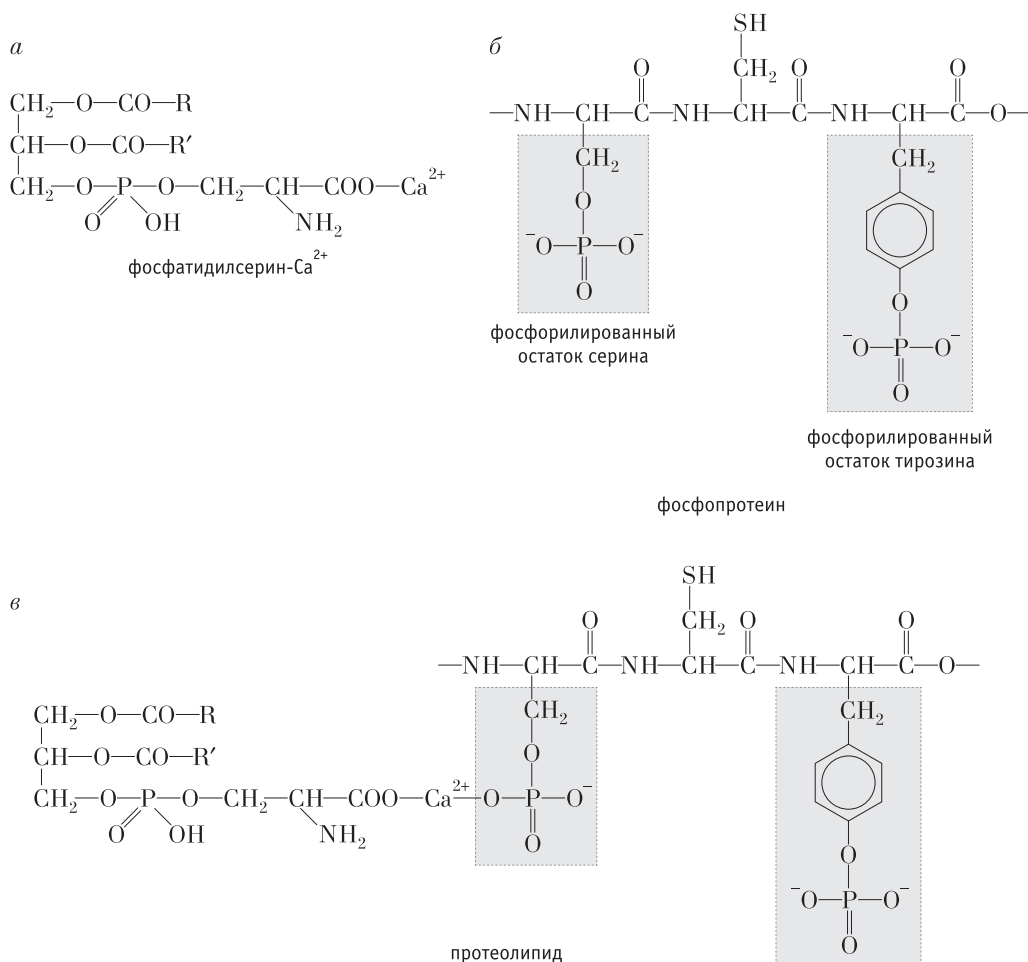


Рис. 15.5. Инициация кристаллизации с участием глицерофосфолипидов

Пузырьки транспортируются во внеклеточное пространство и там разрушаются. Содержимое высвобождается в зону минерализации. Пирофосфатаза в этот период катализирует расщепление пирофосфата, увеличивая тем самым концентрацию PO_4^{3-} во внеклеточном пространстве. Ca^{2+} и PO_4^{3-} связываются с белками матрикса, усиливая зону минерализации, инициируя образование центров кристаллизации.

Образование центров кристаллизации служит исходной точкой высокоорганизованного роста кристаллов гидроксиапатита. Для этого здесь очень важно присутствие фосфопротеинов, в составе которых к остаткам аминокислот серина, треонина и лизина присоединены фосфат-ионы (рис. 15.5, б). Реакции фосфорилирования этих аминокислот катализируются протеинкиназой. В результате взаимодействия кислых фосфолипидов, связанных с ионами кальция, с фосфопротеинами образуются протеолипиды. Последние и дают начало центрам кристаллизации (рис. 15.5, в).

Наиболее активно Ca^{2+} и PO_4^{3-} связываются остеоонектином, γ -карбоксилированными белками, другими неколлагеновыми белками. Синтез и секреция этих белков усиливается на стадии остеогенеза. Они располагаются между фибриллами коллагена. Тем самым обеспечивается их правильная ориентация и участие в образовании апатитов. Центры кристаллизации формируются в каналах, образованных микрофибриллами коллагена.

Особая роль в образовании центров кристаллизации принадлежит остаткам галактозилированного гидроксизина в составе молекул коллагена. Как только в межклеточном матриксе остаток галактозы отщепляется от молекулы коллагена, величина положительного заряда в радикале гидроксизина возрастает. Группы NH_3^+ в составе лизина взаимодействуют с ионами PO_4^{3-} . Образовавшиеся структуры обеспечивают направленный рост микрокристаллов путем связывания ионов Ca^{2+} .

Такие кристаллы постепенно окружают остеобласты и сливаются с кристаллами, образующимися вокруг других клеток. По завершении процесса кристаллизации остеобласты оказываются «замурованными» в минерализованном матриксе. Они теряют свою активность и превращаются в остециты.

Параллельно с формированием костной ткани постоянно протекает и другой процесс — ее *резорбция*. Она выполняет ряд важных функций, среди которых следует отметить восстановление возможных повреждений костной ткани и высвобождение минеральных соединений, необходимых для жизнедеятельности других клеток.

Как упоминалось выше, активный остеокласт образуется путем слияния нескольких клеток предшественников и обладает всеми необходимыми функциями, позволяющими «растворять» костный межклеточный матрикс (рис. 15.6). Высокая концентрация протонов поддерживается работой H^+ -АТФазы (протонного насоса), расположенного в складках плазматической мембраны остеокласта, обращенной к костной поверхности. Этот насос подобен H^+ -АТФазе обкладочных клеток желудка, участвующих в образовании HCl . Ферменты

15.5. Принципы минерализации костной ткани

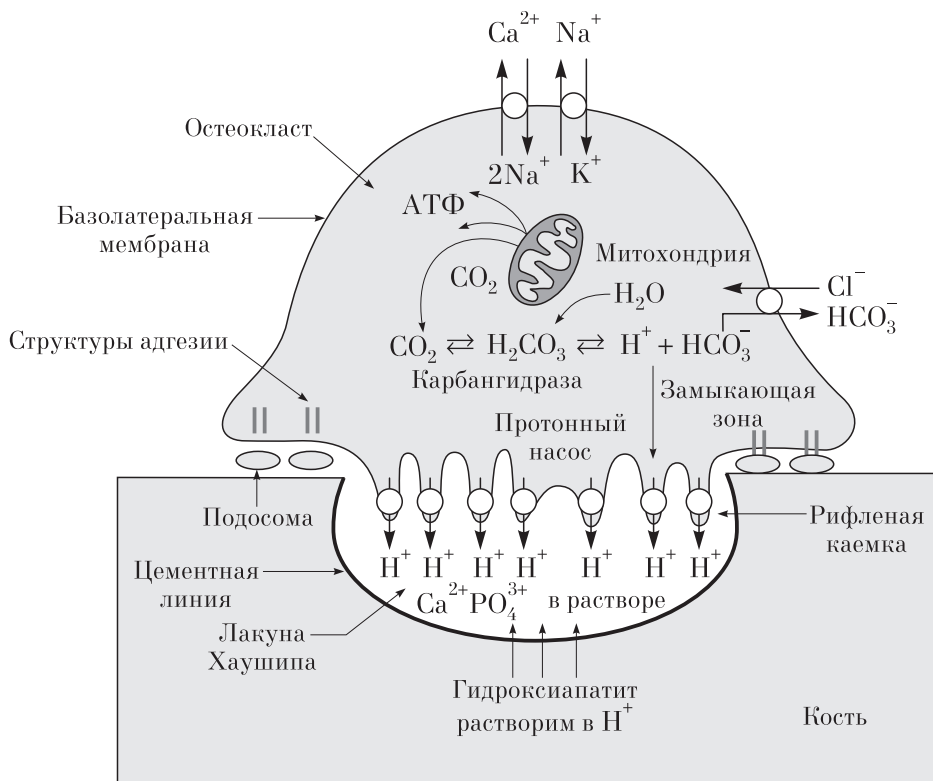


Рис. 15.6. Активация остеокласта в процессе резорбции кости

лизосом, катализирующие гидролиз макромолекул матрикса, секретируются путем экзоцитоза. Продукты растворения гидроксиапатита поступают в клетку и активно удаляются в межклеточное пространство при участии Na^+/K^+ -АТФазы и Ca^{2+}/Na^+ -АТФазы. Результатом работы остеокласта становится так называемая *лакуна Хаушипа*. Спустя определенный период времени остеокласты погибают путем апоптоза и сформированная ими полость заполняется остеобластами, которые производят межклеточный матрикс с последующей его минерализацией.

Функциональной готовности этих клеток способствуют молекулярно-клеточные события, которые условно можно разделить на две группы. Во-первых, это прочная адгезия клетки к костной ткани. Прикрепление клетки происходит не по всей поверхности соприкосновения, а только по краям, где образуется зона замыкания. В ее формировании принимают участие, со стороны костной поверхности, белки с RGD-последовательностью аминокислот (остео-понтин). Они связываются с интегрином мембраны остеокласта, который, в свою очередь, при участии двух белков (виникулина и талина) связывается с цитоскелетом клетки (рис. 15.7). Во-вторых, система ферментов и каналов внутри

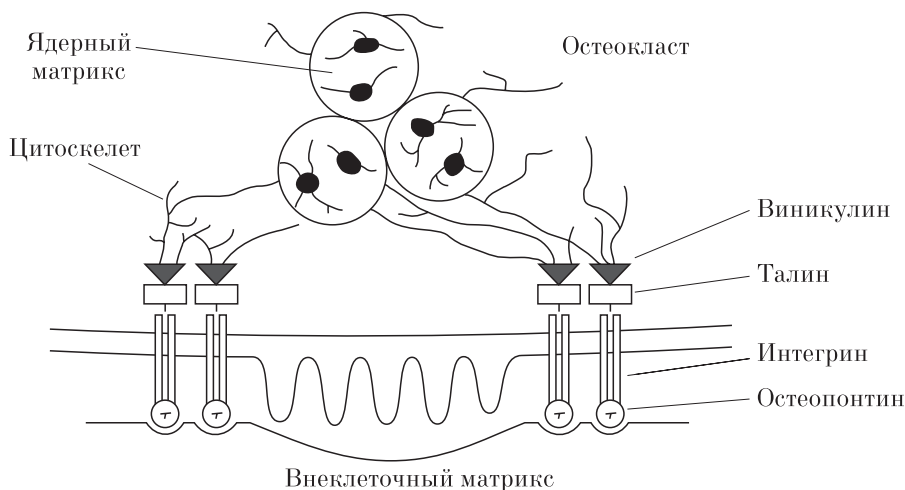


Рис. 15.7. Схема строения зоны контакта остеокласта с поверхностью кости

зоны замыкания позволяет создать высокую концентрацию протонов, необходимых для растворения гидроксиапатита, катализировать гидролиз макромолекул матрикса и удалять из этой зоны продукты гидролиза, компоненты кристаллов гидроксиапатита.

15.6. Формирование и резорбция кости — сопряженные процессы

Процессы ремоделирования костной ткани обеспечиваются так называемой базовой многоклеточной единицей (БМЕ), состоящей из системы клеток остеобластов и остеокластов, тесно взаимодействующих между собой. Время от времени в отдельных участках костной ткани под влиянием факторов регуляции формируется БМЕ. В каждый данный момент времени в костной системе человека функционирует $(2-3) \times 10^6$ таких БМЕ. Работа их протекает циклически (рис. 15.8). Клетки, выстилающие кость (1), в определенном месте сокращаются, обнажая небольшой участок кости, свободный от клеток (2). К этому участку присоединяются остеокласты (3), которые обеспечивают резорбцию части кости (4) (процесс длится 1–3 недели). Затем они подвергаются апоптозу (5) и в образовавшуюся полость поступают остеобласты, которые секретируют молекулы органического матрикса (6). Вслед за этим матрикс подвергается минерализации.

Предположение о том, что стимуляция резорбции костной ткани требует взаимодействия между клетками остеобластической и остеокластической линий, было выдвинуто много лет назад. Однако его молекулярный механизм был

15.6. Формирование и резорбция кости — сопряженные процессы

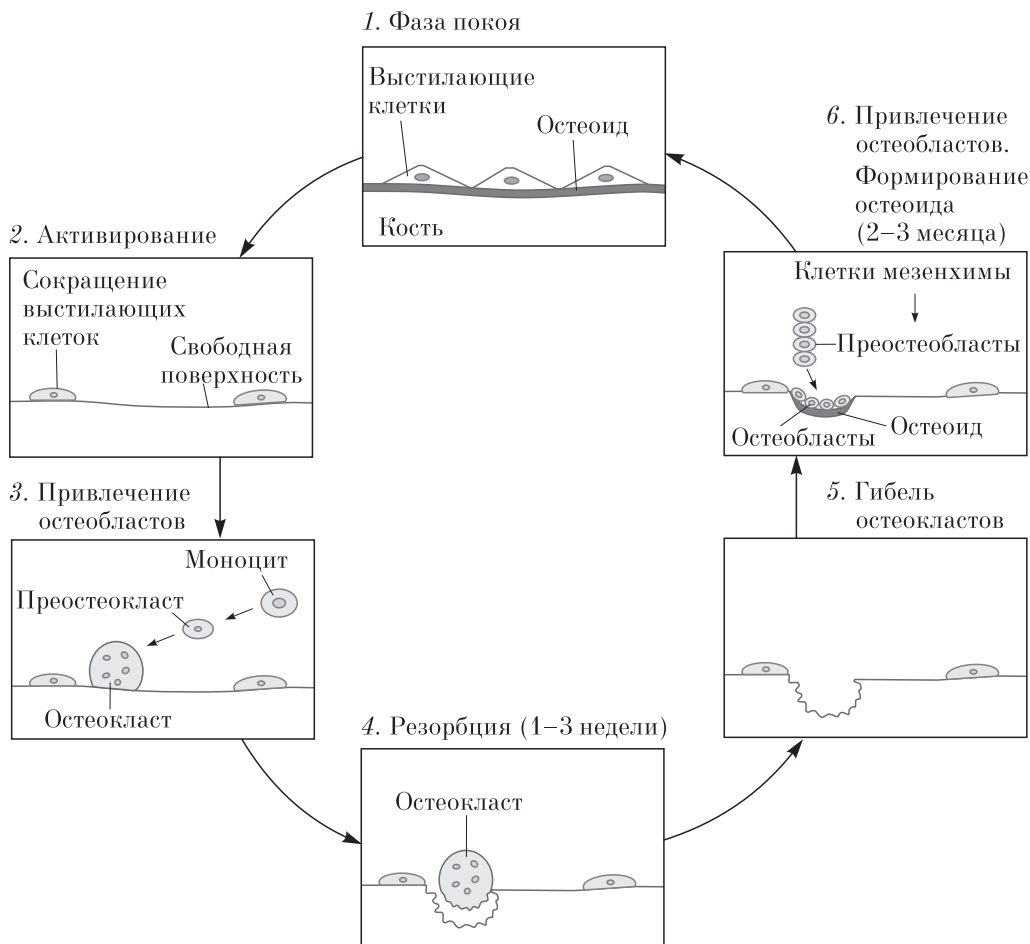


Рис. 15.8. Фазы цикла ремоделирования костной ткани

идентифицирован относительно недавно с открытием новых членов семейства фактора некроза опухоли, его лигандов и рецепторов, которые играют ключевую роль в формировании, дифференцировке и проявлении активности остеокластов и могут выступать молекулярными посредниками многих регуляторов.

Молекулярная основа межклеточного взаимодействия может быть представлена следующим образом (рис. 15.9). RANKL (англ. receptor activation of NF- κ B ligand) — трансмембранный лиганд на поверхности остеобластов — связывается с RANK-рецептором на гемопоэтических клетках — предшественниках остеокластов. Образовавшийся комплекс индуцирует процесс дифференцировки и созревания остеокластов.

В условиях физиологического ремоделирования для активации резорбции кости требуется контакт между клетками остеокластической и остеобластической

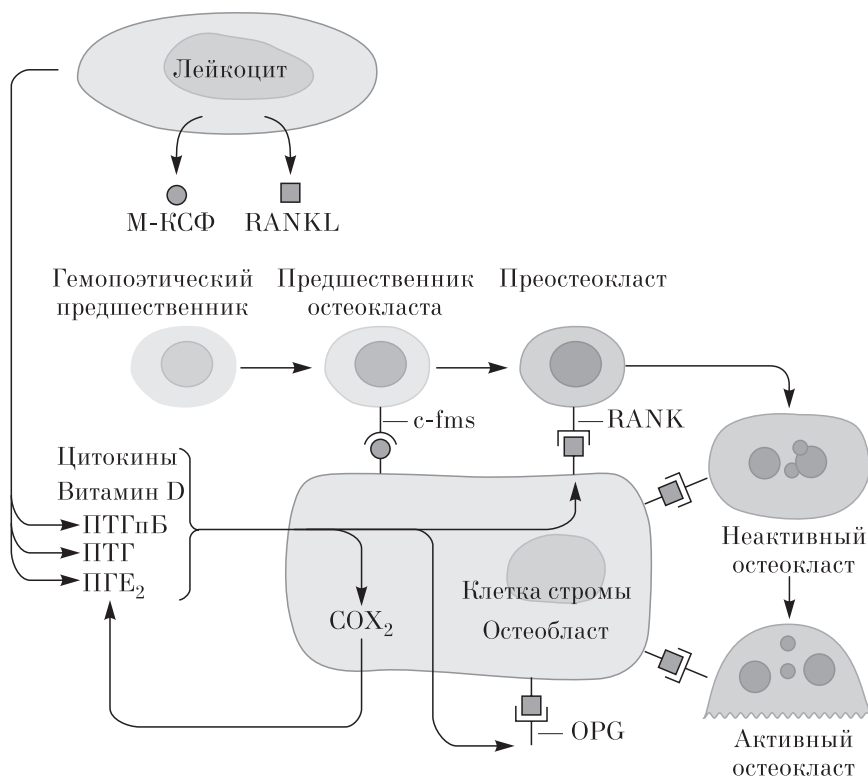


Рис. 15.9. Регуляция образования остеокласта и его активности

линий. Белковый фактор, стимулирующий образование колоний макрофагов (М-КСФ), взаимодействует со своим рецептором (c-fms), стимулируя дифференцировку и пролиферацию гемопоэтических клеток-предшественников. Они, превращаясь в преостеокласты, экспрессируют RANK. Дифференцировка остеокласта и его активность стимулируются взаимодействием RANK/RANKL, и это взаимодействие может быть заблокировано OPG (фактор, ингибирующий остеокластогенез). Факторы, стимулирующие резорбцию костной ткани, могут также активировать циклоксигеназу (COX₂). Этот фермент за счет синтеза простагландинов усиливает влияние на RANKL и OPG. В патологических состояниях воспалительные и злокачественные клетки могут стимулировать остеокластогенез, синтезируя М-КСФ и RANKL, белок, подобный паратирину (ПТГпБ), цитокины и простагландины.

Остеопротегерин (OPG) также секретируется остеобластами. Он является мощным ингибитором костной резорбции. OPG действует как «мнимый» лиганд, «приманка» для рецептора, блокирует взаимодействие RANKL с RANK и таким образом ингибирует формирование зрелых остеокластов, нарушая процесс остеокластогенеза и резорбцию костной ткани. Баланс между RANKL

15.7. Локальные и системные факторы регуляции в костной ткани

и OPG фактически определяет интенсивность резорбции кости. Полагают, что клетки стромально-остеобластического происхождения продуцируют RANKL для регуляции физиологического ремоделирования кости. В патологических состояниях источником RANKL могут стать также другие клетки.

15.7. Локальные и системные факторы регуляции деятельности клеток в костной ткани

Примерно 10 % всей костной ткани ремоделируется в течение года. До 30-летнего возраста у человека процессы формирования костной ткани преобладают над ее резорбцией. Наибольшее значение костной массы в ходе онтогенеза определяется как **пиковая костная масса** (рис. 15.10). Затем до 35–40 лет поддерживается нулевой баланс — период относительного равновесия, который сменяется периодом потери костной массы. У мужчин она составляет 0,5–2 % в год, у женщин — 2–3 %, с преимущественным ускорением в течение 5–10 лет после менопаузы.

Дисбаланс между резорбцией и формированием костной ткани, за счет ослабления последнего, является существенным компонентом патогенеза остеопороза. Частично это может быть связано с возрастными изменениями способности остеобластов к репликации и дифференцировке. Однако наиболее вероятной причиной являются специфические дефекты в синтезе или активности системных и локальных факторов роста, регулирующих функцию остеобластов.

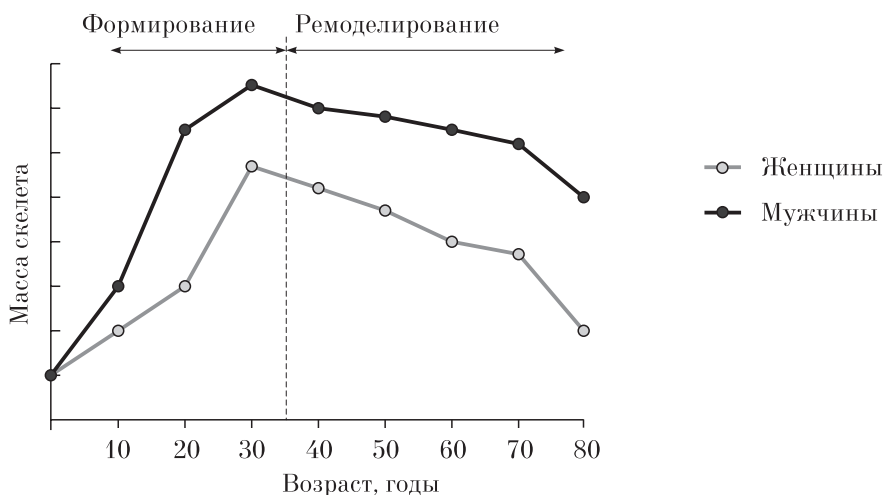


Рис. 15.10. Изменения плотности костной ткани в зависимости от возраста мужчин и женщин

Дело в том, что в регуляции сопряжения процессов резорбции костной ткани и ее формирования задействовано большое число участников. Плотность костной ткани — результирующая производная взаимодействия этих регуляторов (рис. 15.11). Все факторы, регулирующие функции остеобластов, остеокластов и, в целом, обеспечивающие рост и развитие костной ткани, делятся на локальные и системные. К **локальным** регуляторам относятся цитокины, факторы роста, присутствующие в минерализованном матриксе, простагландины, секретируемые клетками костной ткани, они обеспечивают пара- и аутокринную регуляцию.

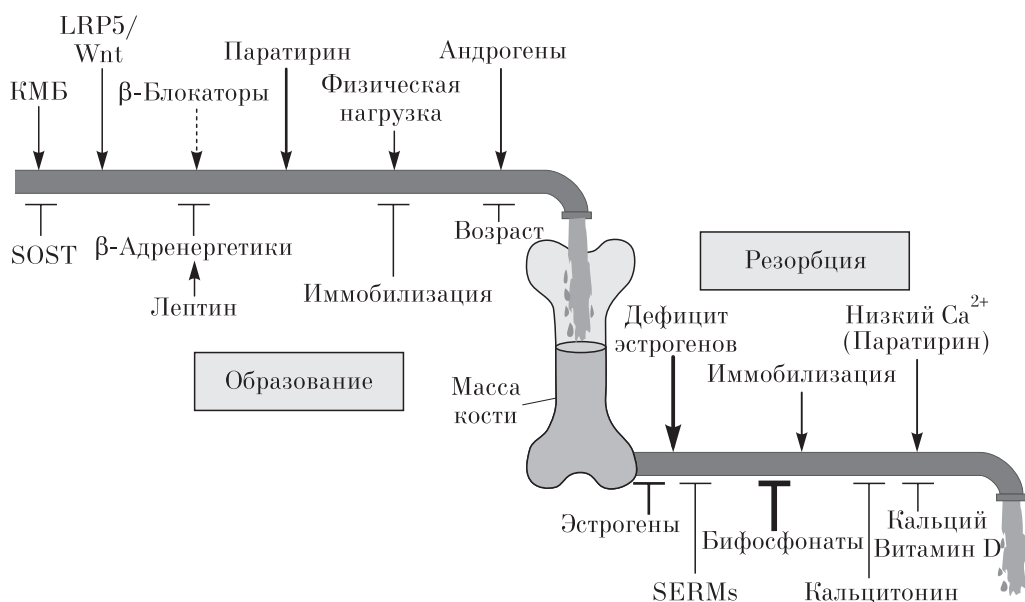


Рис. 15.11. Плотность костной ткани — результат взаимодействия регуляторов, действующих на участников ремоделирования:

SOST — ген, кодирующий белок склеростин; SERM (Selective Estrogen Receptor Modulator) — селективный модулятор эстрогеновых рецепторов; КМБ — костный морфогенетический белок; Wnt-белок¹; LRP5² — белок-участник пути передачи сигнала, опосредованного Wnt

¹ Гликопротеины Wnt — это семейство секретируемых клетками сигнальных молекул, которые участвуют в координации поведения клеток в организме. Эти белки, открытые еще в начале 1980-х гг. в качестве маркеров многих видов раковых заболеваний, оказались ключевыми регуляторами эмбрионального развития, процессов регенерации, роста костей, дифференцировки стволовых клеток и массы других процессов, связанных с морфогенезом и определением клеточной судьбы.

² Ген этого белка сопряжен с геном рецептора для липопротеинов низкой плотности (англ. low-density lipoprotein receptor-related protein 5, LRP5).

15.7. Локальные и системные факторы регуляции в костной ткани

К *системным* регуляторам относятся, прежде всего, паратгормон, кальцитриол, кальцитонин, эстрогены и андрогены. Другие гормоны (соматотропин, йодсодержащие гормоны щитовидной железы, глюкокортикоиды, инсулин, глюкагон) вовлечены в регуляцию метаболизма в костной ткани в меньшей степени.

Несмотря на то что выше была описана роль отдельных гормонов в поддержании уровня кальция в организме, есть необходимость дополнить эту информацию с учетом влияния на клетки-участники ремоделирования костной ткани.

Паратгормон стимулирует резорбцию костной ткани, усиливая деятельность остеокластов. Рецепторы для этого гормона расположены только в их цитозольной мембране и цитозольной мембране остеобластов. Сигнал внутри клеток передается через аденилатциклазную систему. Образующийся цАМФ стимулирует протеинкиназу А, которая, в свою очередь, катализирует фосфорилирование белков-транспортёров Ca^{2+} . В результате в цитозоле остеобластов растёт концентрация Ca^{2+} . Там ионы Ca^{2+} формируют комплекс с кальмодулином, который взаимодействует с кальций-кальмодулин-зависимыми протеинкиназами и активирует их. От них посредством фосфорилирования соответствующих белков сигнал поступает к хроматину. Изменяется транскрипция, что приводит к снижению синтеза коллагена и неколлагеновых белков.

В то же время гормон усиливает образование и секрецию цитокинов, стимулирующих функциональную способность остеокластов, и неколлагеновых белков, опосредующих присоединение остеокластов к поверхности кости. Паратгормон также усиливает продукцию коллагеназы и цитратсинтазы.

Цитокины взаимодействуют с мембранными рецепторами остеокластов. В дальнейшем проведение сигнала в ядро включаются протеинкиназы. Активируется синтез карбангидразы, коллагеназы и других лизосомных ферментов, а также синтез мембранных белков: H^+ -АТФазы, H^+/K^+ -АТФазы, белка, транспортирующего Cl^-/H^+ .

Паратгормон контролирует также длительность резорбции. Когда в остеобластах увеличивается концентрация цАМФ и Ca^{2+} , они связываются с регуляторными центрами в молекуле рецептора для этого гормона. В результате изменяется конформация рецептора и снижается его сродство к паратгормону. Как следствие, в клетке ослабляется регуляторное влияние гормона. Активированные остеокласты секретируют кислую фосфатазу, которая катализирует дефосфорилирование адгезивных белков. Из-за этого они теряют способность прикрепления к поверхности кости и уровень резорбции постепенно снижается.

Кальцитриол. Клетками-мишенями для него являются остеобласты, преостеобласты и моноциты. В ядрах этих клеток сосредоточены рецепторы для кальцитриола. Их синтез, по крайней мере в энтероцитах, контролируют эстрогены. Эти же гормоны усиливают образование фермента α_1 -гидроксилазы в почках. Именно α_1 -гидроксилаза ответственна за образование биологически активной формы витамина D — 1,25-дигидроксихолекальциферола. При этом

ответ на проведение сигнала у каждого типа клеток свой. Так, если кальцитриол взаимодействует с рецепторами преостеобластов, он стимулирует дифференцировку этих клеток, а также синтез и секрецию коллагена, щелочной фосфатазы. Действие гормона на процесс транскрипции в зрелых остеобластах вызывает снижение синтеза этих же белков, но стимулируется синтез неколлагеновых белков, активирующих остеокласты, таких как остеокальцин, остеопонтин, сиалопротеин. Действие кальцитриола на моноциты приводит к увеличению образования зрелых многоядерных остеокластов.

Кальцитонин является прямым ингибитором активности остеокластов и процесса созревания остеокластов. На поверхности каждой клетки имеется около 300 тыс. рецепторов для кальцитонина, а проведение сигнала в клетку происходит посредством активации аденилатциклазы или фосфолипазы C. Каждый из этих путей стимулирует поступление Ca^{2+} в цитозоль остеокластов из зоны резорбции кости. Это приводит к деполяризации мембраны, разрыву связи между клеткой и поверхностью кости, опосредованной Ca^{2+} . В результате рифленая граница исчезает и клетки переходят в неактивное состояние. Кальцитонин оказывает влияние на минерализацию молодых растущих костей. Поэтому он ускоряет костеобразование в детском и подростковом возрасте.

Кортизол снижает синтез минерализующихся матричных белков. Клетками-мишенями для этого гормона являются остеобласты. Напомним, что этот гормон связывается со своими рецепторами в цитозоле и затем уже в ядре оказывает влияние на процессы транскрипции. В результате замедляется пролиферация клеток, синтез коллагена I типа, некоторых неколлагеновых белков, протеогликанов и остеонектина. Кортизол не только затормаживает остеогенез, но и стимулирует резорбцию костной ткани за счет увеличения синтеза рецепторов к паратгормону и мембраносвязанных G-белков, вовлекаемых в проведение сигнала в клетку.

Половые гормоны (эстрогены и андрогены) в течение всей жизни оказывают влияние на костную ткань. Они контролируют метаболические процессы достижения пика костной массы и уровень ее последующего снижения. Остеобласты содержат рецепторы для этих гормонов. После взаимодействия с ними гормона изменяется экспрессия остеопротегерина. Этот белок снижает образование многоядерных остеокластов, тем самым замедляя процесс резорбции костной ткани. Эстрогены стимулируют синтез коллагена I типа, щелочной фосфатазы, остеонектина и других органических соединений в остеобластах. Снижение синтеза эстрогенов у девочек в подростковом возрасте ведет к изменению периодонта и костеобразования. Как упоминалось выше, под влиянием этих гормонов увеличивается образование активной формы витамина D — кальцитриола.

С возрастом концентрация эстрогенов в крови падает, снижается образование остеопротегерина, вплоть до полного прекращения в период менопаузы. Остеокласты при этом разрушают костную ткань, а остеобласты не могут эффективно ее нарабатывать. Развивается остеопороз.

15.7. Локальные и системные факторы регуляции в костной ткани

Среди локальных факторов регуляции костеобразования хорошо известна связь полиморфизма генов, кодирующих *костный морфогенетический белок*, с низкими значениями костной массы и ростом вероятности переломов. Подобная связь обнаружена и в случаях полиморфизмов генов, кодирующих *инсулиноподобный фактор роста 1* (ИФР-1) и *трансформирующий фактор роста β* . Ингибирование продукции ИФР-1 имеет большое значение в развитии остеопороза и задержки роста в детском возрасте.

Свою долю в регуляцию плотности костной ткани вносят и изменения образования и распада цитокинов, простагландинов, NO и лейкотриенов. О том, что цитокины (*интерлейкин 1*) и *простагландины (ПГ)* могут влиять на состояние костной ткани, известно уже свыше 30 лет. Среди простагландинов особое место занимает ПГ E₂, который образуется остеобластами при участии индуцируемой циклооксигеназы 2. Синтез этого фермента активируется большинством факторов, которые стимулируют резорбцию костной ткани. Поэтому ингибиторы циклооксигеназы применяются в медицинской практике для улучшения реакции костной ткани на механическую нагрузку.

В остеобластах также синтезируется NO, который является кофактором для анаболической реакции на механическую нагрузку. В отличие от простагландинов, NO ингибирует резорбцию кости, стимулируя образование остеопротегерина, что способствует увеличению плотности костной ткани. Лейкотриены, которые образуются под влиянием липооксигеназы, стимулируют резорбцию и ингибируют формирование костной ткани.

За последующие годы было открыто много других локальных факторов, способных влиять на резорбцию кости и ее формирование. В будущем предстоит затратить еще много усилий для того, чтобы понять их конкретную роль и пути сигнализации в метаболизме костной ткани.

16

Биохимия тканей зуба и жидкостей полости рта

А. Ткани зуба

16.1. Общая характеристика тканей зуба

Зубы представляют довольно сложно устроенный орган, состоящий из разных тканей, отличающихся по строению и происхождению (рис. 16.1). В состав зубов входит три вида плотных тканей: *эмаль*, *дентин* и *цемент*, а также разновидность рыхлой соединительной ткани, входящей в пульпу зуба. Пульпа заполняет полость зуба. В ней находятся кровеносные сосуды

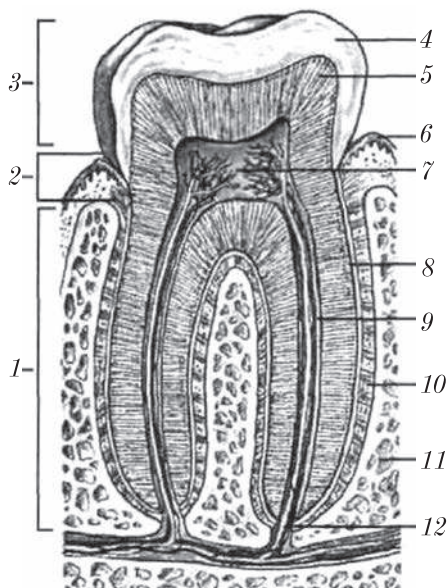


Рис. 16.1. Общий план структурной организации зуба:

1 — корень; 2 — шейка; 3 — коронка; 4 — эмаль; 5 — дентин; 6 — десна; 7 — пульпарная полость зуба, заполненная пульпой; 8 — цемент; 9 — канал корня; 10 — периодонтальные волокна; 11 — альвеола (костная лунка); 12 — апикальное отверстие

16.2. Эмаль

и нервные окончания. Составные части зуба отличаются друг от друга не только своим гистологическим строением, но и химическим составом (табл. 16.1). Существует значительная разница между молочными и постоянными зубами.

Таблица 16.1

Состав минерализованных тканей, %

Ткань	Вещества		
	минеральные	органические	вода
Эмаль	95	1,2	3,8
Дентин	70	20	10
Цемент	65	25	10
Кость	45	30	25

Эмаль составляет до 20–25 % всех тканей зуба и расположена только в области коронки зуба. Основным структурным образованием эмали является *эмалевая призма* (диаметром от 4 до 6 мкм), состоящая из кристаллов гидроксиапатита. Эмаль — это самая твердая ткань. По шкале твердости она приближается к кварцу. В построении эмали участвуют клетки *амелобласты* (функционируют только до прорезывания коронки зуба). Они синтезируют органический матрикс эмали и способствуют формированию кристаллов апатитов. Для зрелой эмали характерна дегенерация амелобластов (бесклеточная структура), поэтому зрелая эмаль не способна к регенерации при повреждениях.

Основу зуба составляет **дентин**. Эта часть зуба менее минерализована. В дентине, в отличие от эмали, имеются клетки *одонтобласты*, которые покрывают внутреннюю часть зуба, его полость. Эти клетки позволяют дентину сохранять способность к регенерации в течение всей жизни зуба.

Корень зуба покрыт тонким слоем **цемента**, который по многим показателям не отличается от костной ткани. Корень зуба прочно вставляется в костную ткань и прикрепляется периодонтальными связками.

Все минерализованные ткани зуба, кроме зрелой эмали, содержат небольшое количество клеток, которые участвуют в синтезе органической основы матрикса зуба, состоящей из белков, протеогликанов и других органических веществ.

16.2. Эмаль

Доля органических и минеральных веществ в эмали значительно изменяется в онтогенезе. В эмбриональном периоде органические соединения составляют около 20 % от состава эмали. Зрелая эмаль прорезавшегося зуба содержит 0,4–2,0 % органических веществ, 95 % минеральных веществ, оставшуюся часть составляет вода. Вода эмали включает две фракции: *свободную* воду,

содержащуюся в системе пор эмали и испаряющуюся при высушивании зуба, и связанную (кристаллическую) воду, образующую гидратную оболочку кристаллов гидроксиапатита. Толщина эмали неодинакова и колеблется от 1,62 мм на уровне жевательных бугорков зубов до 0,01 мм в области шейки зуба.

Основная масса неорганических компонентов эмали представлена кристаллами гидроксиапатита (75 %), карбонатного апатита¹ (12 %), фторапатита (1 %) и других форм апатитов (состав и разновидности апатитов рассмотрены в главе 15 «Биохимия костной ткани»). В эмали кристаллы гидроксиапатита мельче, чем в дентине и костной ткани, имеют игольчатую форму и плотно упакованы. Имеются и аморфные участки неорганического матрикса.

В эмали, по сравнению с другими твердыми тканями, отмечается наиболее высокая концентрация Ca^{2+} и PO_4^{3-} . Содержание кальция и фосфора в эмали составляет 33,6–39,4 и 16,0–18,0 % соответственно. Обычно содержание кальция снаружи составляет 37,8 %, а внутри — 34,5 %, фосфатов — 18 и 15 % соответственно. При этом соотношение Ca/P сохраняется *постоянным* — 1,7. Такая же закономерность распределения концентрационного градиента в эмали относится к хлоридам.

Кроме солей фосфата кальция, в составе эмали обнаружены свыше 30 разных элементов. Вторым по популярности после кальция является магний (0,25–0,56 %). В относительно больших количествах присутствуют цинк (20–25 мг на 100 г сухого остатка), железо (от 2 до 40 мг на 100 г). Минеральный состав эмали может колебаться в зависимости от характера питания, но процентное соотношение кальция, фосфора и карбоната довольно постоянно.

Минеральные вещества неравномерно распределены в эмали. Поверхностные слои более плотные. Содержание фтора, карбонатов, натрия, магния и железа в эмали уменьшается в направлении от поверхности эмали к дентину. Наоборот, количество воды и органических компонентов увеличивается в этом же направлении.

Таким образом, поверхностный слой эмали является гиперминерализованной зоной с максимальной концентрацией F, достигающей 5 г/кг. В более глубоких слоях эмали концентрация F снижается. Количество фтора связано с его содержанием в питьевой воде. Высокую концентрацию F в поверхност-

¹ Карбонатные апатиты эмали имеют двойственное происхождение. В непосредственной близости от границы между эмалью и дентином они образуются за счет общего пула HCO_3^- и за счет продукции HCO_3^- одонтобластами, в которых достаточно O_2 для активных аэробных процессов, основных поставщиков CO_2 . В поверхностных слоях эмали карбонатапатиты образуются за счет деятельности микрофлоры зубного камня, которая создает большие количества HCO_3^- . В результате в этих участках $[\text{HCO}_3^-]$ настолько превышает $[\text{PO}_4^{3-}]$, что возможен процесс замещения. Накопление карбонатного апатита свыше 3–4% от общей массы гидроксиапатитов снижает устойчивость эмали к кариесу.

16.2. Эмаль

ном слое эмали рассматривают как фактор, обеспечивающий ее резистентность к кариесу.

Содержание стронция, свинца и некоторых других микроэлементов в эмали колеблется и зависит от количества их в воде и почве данной местности. Медь и стронций распределяются равномерно по всей эмали. Свинец накапливается на поверхности эмали.

Содержание органических веществ (белков, липидов, моносахаридов, цитрата) в зрелой эмали составляет 1,1 % от сухой массы.

До прорезывания зубов эмаль покрыта мембраной, содержащей бесклеточный слой (толщина ~ 1 мкм) и слой (толщина ~ 10 мкм), который состоит из клеток, производивших эмаль. Эта мембрана после прорезывания быстро разрушается, а зубы покрываются кутикулой, состоящей из органической матрицы слюнного происхождения и десквамированного эпителия. На поверхности ее находятся бактерии. Синтезируемые ими продукты и мертвые бактерии создают так называемые *бляшки*. Бляшки могут кальцифицироваться с образованием зубных камней.

16.2.1. Белки эмали

Основными белками эмали являются *амелогенины*, *энамелины*, *амелобластины* и *тафтелины*. Они кодируются кластером генов, расположенным на хромосоме 4 вместе с другими белками костной ткани и дентина. Исключение составляет *амелогенин* — основной белковый продукт амелобластов. Он кодируется двумя гомологичными генами, AMELX и AMELY на X- и Y-хромосомах соответственно. Различия в кодируемых здесь белках являются причиной отличия структуры эмали у мужчин и женщин.

Разница X- и Y-хромосомных версий гена *амелогенина* (AMELX и AMELY соответственно) используется для определения пола в судебной медицине. Благодаря делеции интрона, AMELX 1 отличается от соответствующего интрона 1 из AMELY шестью парами нуклеотидов. Это различие обнаруживают при помощи ПЦР с последующим гель-электрофорезом: две полосы ДНК (106 и 112 пар нуклеотидов) в случае присутствия генов AMELX и AMELY (мужчины) или одна полоса ДНК (106 пар нуклеотидов) у женщин (AMELX). Однако из-за генетических вариаций AMELY, а также из-за особенностей ПЦР этот метод определения пола не всегда достаточно точен.

В настоящее время путем клонирования генов, кодирующих амелогенины, удалось установить первичную структуру этих белков. Первые 33 аминокислоты на N-конце одинаковы у разных видов животных. В составе амелогенинов содержится большое количество остатков пролина, лейцина, гистидина, глутаминовой кислоты, которые связывают ионы Ca^{2+} и PO_4^{3-} и участвуют в образовании центров нуклеации и минерализации, но отсутствуют гидроксипролин и цистеин, характерные для коллагена и кератинов. Молекулярная масса их не превышает 30×10^3 а.е.м. Они гидрофобны и склонны к агрегации.

В ходе минерализации они расщепляются под влиянием пептидаз. Поэтому по мере созревания эмали в ней увеличивается доля низкомолекулярных амелогенинов, достигая 90 %.

В синтезе амелогенинов на ранней стадии развития зуба участвуют как амелобласты, так и одонтобласты, однако большая часть этих белков синтезируется амелобластами (соотношение амелобласты/одонтобласты 320:1). На стадии созревания эмали оно меняется в сторону уменьшения (20:1).

В процессе синтеза белки подвергаются посттрансляционной модификации, которая включает фосфорилирование и гликозилирование полипептидных цепей. Фосфат присоединяется к остаткам серина (рис. 16.2). Гликозилирование происходит в комплексе Гольджи и заключается в присоединении остатков галактозамина, глюкозамина и сиаловых кислот.

Энамелин — большой белок, относится к гликофосфопротеинам (1142 аминокислоты) и представлен в развивающемся зубе несколькими изоформами, которые образуются путем протеолиза. Все они богаты аспарагиновой и глутаминовой кислотами, пролином и глицином и сильно гликозилированы (содержат до 4 % гексозаминов и нейраминовой кислоты). Они секретируются медленнее, чем амелогенины, но сохраняются лучше по мере созревания эмали.

Вначале синтезируется белок-предшественник с М.М. 130×10^3 а.е.м. На разных стадиях развития эмали появляются его изоформы с меньшей молекулярной массой. Из энамелина 89×10^3 а.е.м. образуется энамелин 32×10^3 а.е.м., который является амелопротеиназой, участвующей в деградации высокомолекулярных белков. Энамелин с молекулярной массой 67×10^3 а.е.м. содержит большое количество аспарагиновой и глутаминовой кислот, аланина, лейцина и лизина. Он по аминокислотному составу схож с альбумином сыворотки крови.

Энамелины играют важную роль в нуклеации и росте кристаллов. Важными для функции являются гликозилированные участки молекулы, содержащие остатки N-ацетилглюкозамина. Они образуют поперечные сшивки с богатыми тирозином участками молекул амелогенинов, что обеспечивает формирование наносфер и призм эмали.

Амелобластин, называемый также *амелин* или *шеатлин*, у человека содержит 421 аминокислоту. Он относится к адгезивным белкам. За счет способности

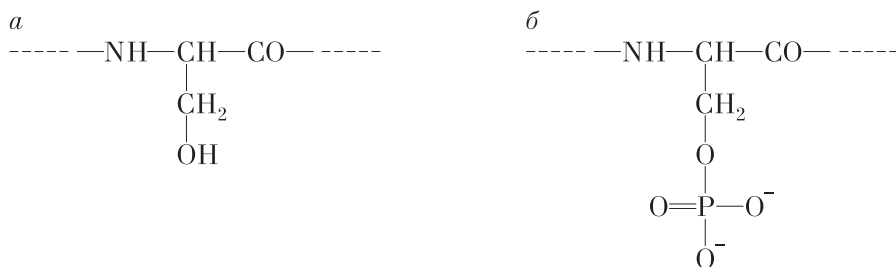


Рис. 16.2. Посттрансляционная модификация белков:
а — серил в составе белка; б — фосфосерил в составе белка

16.2. Эмаль

к адгезии амелобластин стабилизирует амелобласты во время секреции матрикса и способствует формированию кристаллов. Вначале синтезируется амелобластин с М.М. 68×10^3 а.е.м. В результате его ограниченного протеолиза появляется множество белков с меньшей молекулярной массой. В стадию созревания эмали амелобластин исчезает.

Тафтелин — кислый фосфорилированный гликопротеин с М.М. $43,8 \times 10^3$ а.е.м. В его составе определяется один гликозилированный участок и пять остатков цистеина. Он формируется на короткое время только в процессе развития эмали.

Взаимосвязь между белками внеклеточного матрикса обеспечивает белок с М.М. 39×10^3 а.е.м., сходный по строению с тафтелином и получивший название **тафтелин-интерактивный белок (TIP-39)**. Он синтезируется как амелобластами, так и одонтобластами. TIP-39, как и тафтелин, способен к образованию доменов, в которых присутствуют надвторичные структуры типа спираль — β -поворот — спираль. В С-концевой области располагается домен, обеспечивающий его связывание с белком **клатрином**, который выстилает секреторные гранулы. Предполагают, что TIP-39 участвует в транспорте синтезированных амелобластами белков в межклеточный матрикс эмалевого органа. Этот белок также участвует во внутриклеточном переносе амелогенина. Комплексы тафтелина и TIP-39 обеспечивают связь между дентином и амелобластами.

Новосинтезированные белки упаковываются в везикулы, которые перемещаются к апикальной поверхности клеток. Там гидрофобные молекулы амелогенина агрегируют между собой и собираются в наносферы (рис. 16.3). Сборка наносфер осуществляется в цитоплазме без участия АТФ. В момент

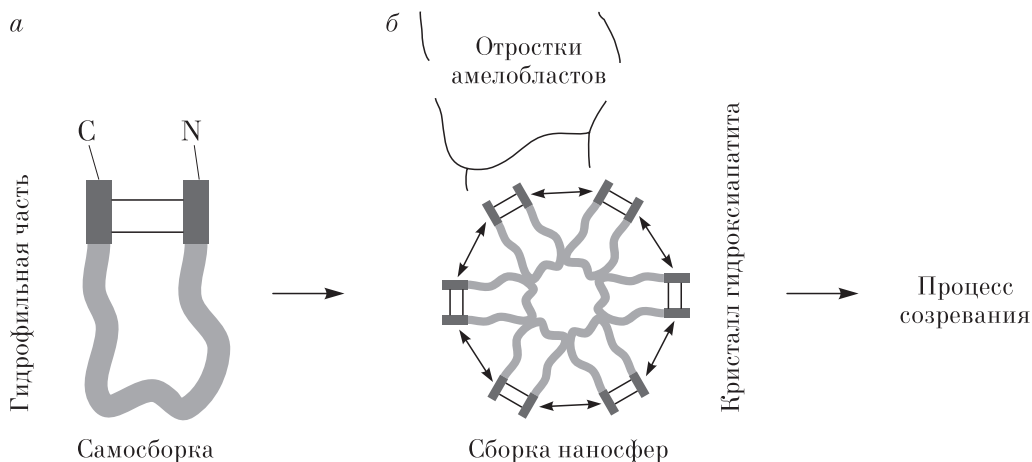


Рис. 16.3. Формирование наносфер в процессе амелогенеза:

а — образование связи в амелогенине между аминокислотами N- и С-концевой области;
б — собранные из шести амелогенинов наносферы участвуют в процессе созревания эмали

образования наносфер осуществляется направленная поставка ионов окта-кальцийфосфата для формирования кристаллов.

Среди белков в созревающей эмали находятся сериновые протеазы, металлопротеазы (коллагеназа), фосфатаза. Эти ферменты участвуют в разрушении белков на стадии минерализации.

Созревание эмали сопровождается значительным снижением содержания органических компонентов и изменением аминокислотного состава пептидов и белков. Происходит распад амелогенинов и замедление распада энамелинов. Энамелины при этом прочно присоединяются к кристаллам апатита.

Наружная поверхность эмали содержит меньше белков, чем внутренняя часть. Белки и пептиды, расположенные снаружи, более растворимы в воде.

16.2.2. Молекулярная организация и формирование эмали (амелогенез)

Существуют разные представления о молекулярной организации зрелой эмали. Согласно одному из них, основой эмали является белковая матрица. Важное место в ее формировании отводится выделенному из эмали Са-связывающему белку (Са-СБ) с молекулярной массой 20×10^3 а.е.м. Трехмерная сеть эмали образуется путем объединения в пространстве молекул Са-СБ при помощи ионов кальция (рис. 16.4). Эта сеть становится зоной нуклеации для ориентированного роста кристаллов гидроксиапатита. Сеть, образованная молекулами Са-связывающего белка, фиксирована на волокнах амелогенинов.

Кристаллы апатитов эмали отличаются от кристаллов других плотных тканей своими размерами (1600×400 Å по сравнению с 640×40 Å для костной ткани). В свою очередь, кристаллы объединяются в призмы. Межпризматические пространства заполнены органическими молекулами и водой. После удаления минеральных компонентов остается тонкая сеть органической матрицы.

Образование эмали зуба (амелогенез) связано с дифференцировкой клеток внутреннего эмалевого эпителия. Преэнамелобласты начинают развиваться параллельно с преодонтобластами. Эти клетки содержат большое количество свободных рибосом, митохондрий, комплекс Гольджи и включения гликогена. Дифференцировка клеток эмалевого органа регулируется факторами роста.

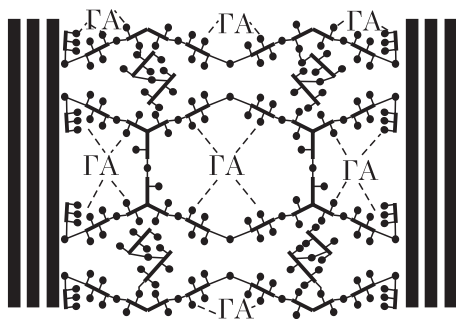


Рис. 16.4. Зона нуклеации для роста кристаллов гидроксиапатита в эмали (ГА — гидроксиапатит)

16.2. Эмаль

Отложение первых слоев дентина индуцирует образование секреторно-активных энамелобластов, которые начинают продуцировать эмаль поверх образующегося слоя дентина.

Амелогенез связан с секрецией энамелобластами набора специфических белков и состоит из трех стадий:

- *первая стадия (секреторная)* включает инициацию формирования внеклеточного матрикса, постепенную деградацию органического матрикса и рост кристаллов, упорядоченное размещение кристаллов, контроль за дальнейшим ростом кристаллов в длину и ширину, формирование призматической структуры кристаллов эмали;
- *на второй стадии (созревания)* удаляются остатки белковых молекул, и состав компонентов приближается к таковому для зрелой эмали; завершается рост кристаллов, и эмаль насыщается ионами магния и фтора;
- *на третьей стадии (зрелая эмаль)* вслед за деградацией клеточного слоя эмалевого органа формирование эмали заканчивается.

Сначала формируется органический матрикс, который лишен минералов и состоит из белков, располагающихся на наружной стороне клеток. Отложение минералов происходит прежде всего у фронта минерализации вблизи мембран амелобластов. Кристаллы эмали растут в длину на внеклеточных участках роста возле секреторной поверхности мембраны амелобластов. Роль инициаторов кристаллизации выполняют остатки глутаминовой кислоты, аспартат и фосфорилированный серин в составе амелогенинов. Во время секреторной стадии кристаллы эмали растут ступенчато, в форме приращений (4 мкм). Каждому приращению соответствует количество кристаллов, которое формируется за одни сутки.

Основную роль в направленном росте кристаллов играют амелогенины. Формируя наносферы, они окружают растущий кристалл. Здесь они подвергаются медленному протеолизу. Гидрофобные домены этих белков образуют связи с эмалинами. Тем самым формируются агрегаты наносфер, которые сдерживают боковой рост кристаллов. Дальнейшему созреванию способствует фрагментация белков под действием сериновых пептидаз и освобождение поверхности кристаллов от наносфер.

Каждый кристалл окружен гидратной оболочкой, получившей название *эмалевая лимфа*; по сути дела, это вода, связанная с кристаллами. Для того чтобы попасть в кристалл или покинуть его, вещество должно пройти через эту гидратную оболочку. Внутри кристалла также присутствует вода — *внутрикристаллическая*, от которой зависят свойства эмали, ее растворимость и проницаемость.

В период созревания амелобласты присоединяются к матриксу эмали и формируют микроворсинки. С их помощью за счет абсорбции происходит удаление остатков органических компонентов матрикса эмали. Из-за колебаний pH жидкости, окружающей кристаллы эмали, происходит медленный процесс замены относительно неустойчивого карбонатного апатита на более

кислотоустойчивые формы. К окончанию стадии созревания примерно 90 % объема эмали занято минералом, который содержит меньше 1 % остаточных белков.

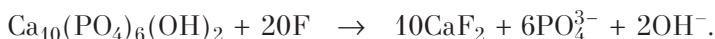
16.2.3. Эмаль после прорезывания зубов

После прорезывания зубов и гибели амелобластов эмаль утрачивает способность к регенерации, однако структура кристаллов минеральных компонентов эмали может меняться благодаря процессам изоморфного замещения элементов кристаллической решетки апатитов эмали микроэлементами, присутствующими в слюне или поступающими из дентина. Возможности такого замещения показаны в главе 15 «Биохимия костной ткани».

Ранее уже отмечалось, что во время секреторной фазы в эмали образуется значительное количество карбонатного апатита, который в фазу созревания разрушается и замещается гидроксиапатитом. Условная химическая формула карбонатного апатита — $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$. Основным источником иона HCO_3^- в тканях зуба является аэробное окисление глюкозы в одонтоблестах и микроорганизмах полости рта. Поэтому пища, обогащенная углеводами, приводит к увеличению доли карбонатного апатита в эмали зуба. Аккумуляция его до уровня 3–4 % от общей массы гидроксиапатитов может вызвать развитие кариеса.

Ионы фтора значительно повышают устойчивость апатитов в кислой среде. Поверхностные слои эмали содержат значительное количество фторапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$. Человек в сутки получает около 3 мг фтора (0,5–1,1 мг с пищей и 2,2–2,5 мг с водой). Фтор, находящийся в продуктах питания, всасывается хуже, чем фториды, находящиеся в воде.

Для высоких концентраций фтора характерна реакция



16.2.4. От компонентов к минерализации эмали

Первичная минерализация эмали представляет двухступенчатый процесс, включающий инициацию и последующий рост кристаллов (эпитаксию). Для роста кристаллов необходимы белки с небольшой молекулярной массой. Для этой цели в составе секреторных гранул содержатся высокомолекулярные гликофосфопротеины, которые подвергаются ограниченному расщеплению протеолитическими ферментами — энамелизинами, калликреином и матриксными сериновыми протеиназами.

Энамелизин секретируется в начальной стадии созревания эмали как амелобластами, так и одонтоблестах, а калликреин-4 — только амелобластами. Каждая протеиназа обладает субстратной специфичностью и расщепляет пептидные связи, образованные определенными аминокислотами. Процесс про-

16.2. Эмаль

теолиза носит каскадный характер, что сопровождается образованием белков с разной молекулярной массой и различными функциями. Так, энамелизин гидролизует амелогенины с М.М. 25×10^3 а.е.м.; в результате образуются белки с М.М. 20×10^3 а.е.м., которые далее подвергаются гидролизу при участии слабощелочной протеиназы — калликреина-4. В результате протеолиза высвобождаются амелогенины с М.М. 6 и 13×10^3 а.е.м.

Для образования кристаллов гидроксиапатита необходима высокая концентрация Ca^{2+} . В транспорте Ca^{2+} участвуют Са-связывающие белки. Наличие большого количества глутамата и аспартата в эмалевых низкомолекулярных белках и других протеинах минерализованных тканей позволяет присоединять Ca^{2+} к карбоксильным группам этих аминокислот; Ca^{2+} также связывается с остатками фосфосерила. Присоединение кальция и фосфата к белкам эмали заканчивается формированием кристаллитов гидроксиапатита (рис. 16.5).

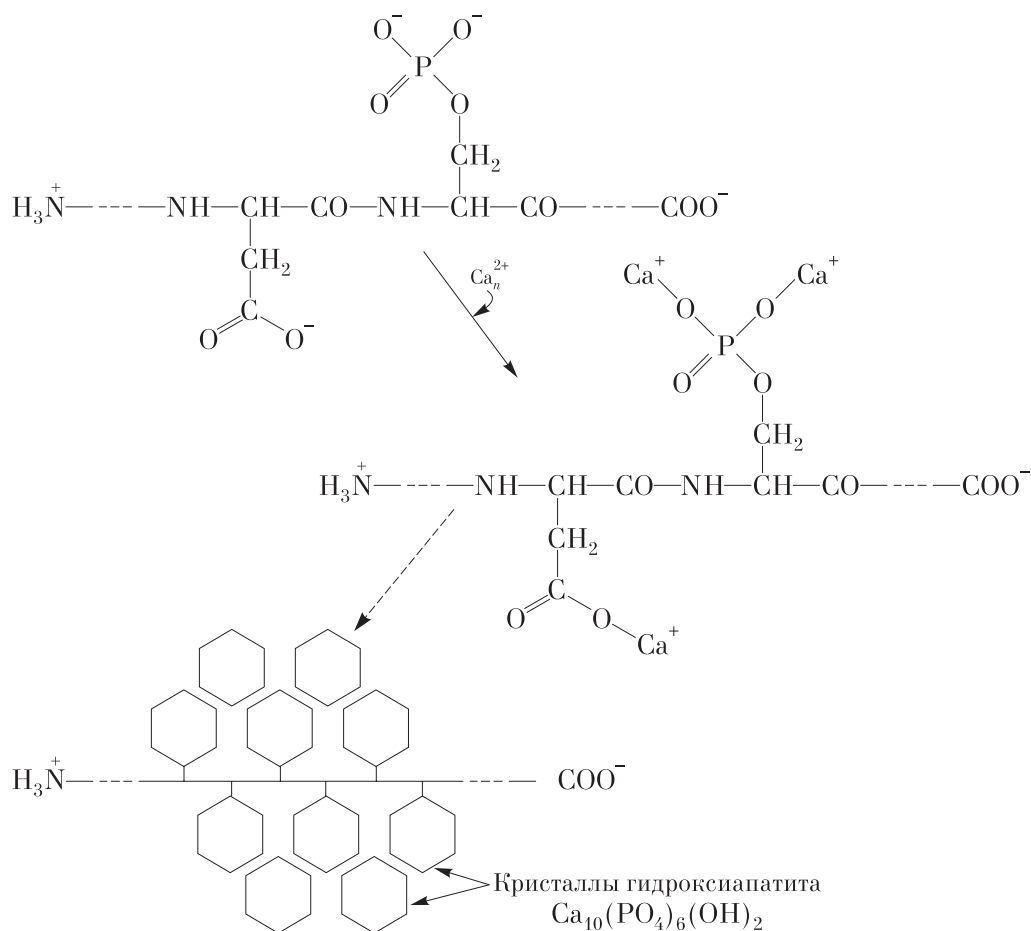


Рис. 16.5. Формирование кристаллитов гидроксиапатита

Вначале образуются длинные и тонкие кристаллиты, которые встраиваются в органический матрикс параллельно друг другу. В более позднем периоде кристаллиты утолщаются и превращаются в плоские шестиугольные призмы (см. рис. 16.5). Упорядоченное построение и форма кристаллов эмали отличается от бесформенных пластинчатых призм кристаллов кости и дентина. Уникальность эмалевых кристаллов обусловлена особенностью их формирования и роста. Рост кристаллов регулируется ионами Ca^{2+} и PO_4^{3-} , которые транспортируются от амелобластического слоя в эмалевый матрикс. В регуляции роста кристалла в длину, ширину и толщину участвуют амелогенины, упакованные в наносферы (рис. 16.6).

Первичная эмаль является незрелой. В ее составе 30 % принадлежит органическому матриксу и 70 % — минеральным солям. Во вторичной минерализации участвуют энамелобласты, которые содержат большое количество Са-связывающего белка. Через энамелобласты к эмали переносятся неорганические ионы и удаляются органические вещества и вода.

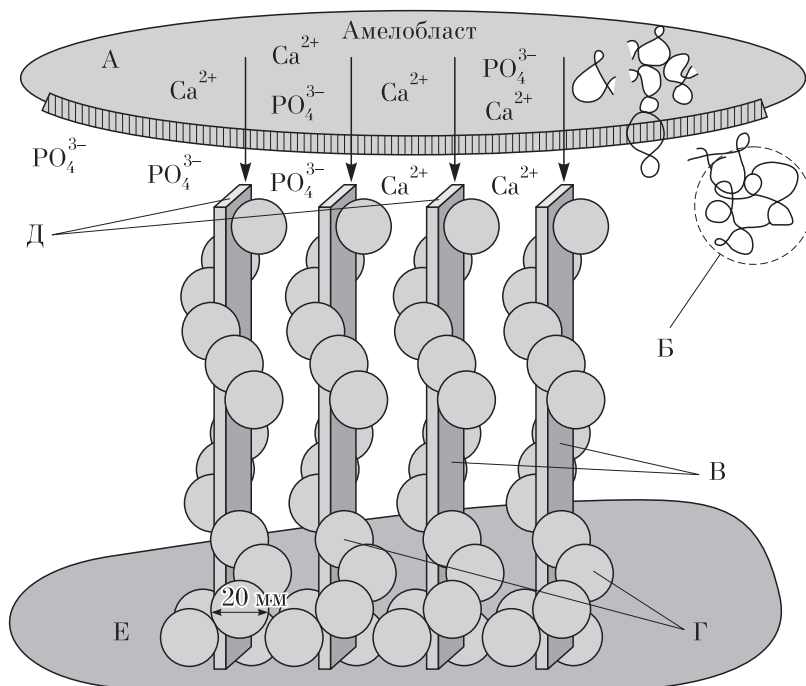


Рис. 16.6. Регуляция роста кристалла:

А — клеточная мембрана амелобласта; Б — собранная наносфера; В — начальные кристаллиты; Г — ансамбли из наносфер, располагающиеся на поверхности первичных кристаллов; Д — кристаллиты присоединяют дополнительные ионы кальция и фосфата; Е — минерализованный матрикс дентина

16.2. Эмаль

Окончательная минерализация эмали происходит уже после прорезывания зуба, и особенно интенсивно — в течение первого года нахождения коронки зуба в полости рта. Часть неорганических веществ поступает со стороны дентина, но основное их количество поставляют слюна. В связи с этим для полноценной третичной минерализации очень важен минеральный состав и pH слюны.

Большое влияние на состояние эмали оказывают биологические покрытия эмали. Они образуются при участии химических компонентов слюны и бактерий ротовой полости. Различают *кутикулу*, *пелликулу* и *зубной налет*.

16.2.5. Поверхностные образования на эмали

Кутикула. Как упоминалось выше, перед прорезыванием эмаль покрыта слоем редуцированного эпителия, который опосредует дегенерацию мезенхимы и способствует прорезыванию. После прорезывания он вместе с продуктом амелобластов — гликопротеинами составляет основу кутикулы — кратковременного покрытия эмали толщиной 10–11 мкм. Затем кутикула стирается.

После контакта со слюной на поверхности эмали прорезавшегося зуба формируется новое покрытие — пелликула зуба, постепенно перерастающее в зубной налет. Эти покрытия эмали могут формироваться, в отличие от кутикулы, на протяжении всей жизни.

Пелликула. Если с поверхности эмали тщательно снять зубной налет, то останется тонкий слой органического материала. Этот слой называют *пелликулой* (рис. 16.7). Его можно выделить, если зубы быстро обработать соляной кислотой. Отсутствие гидроксипролина и гидроксилизина отличает эти белки от коллагена.

Возможность участия микроорганизмов в формировании пелликулы вытекает из того обстоятельства, что на срезе ее под электронным микроскопом выявляются фрагменты стенок бактерий. Это подтверждается и анализом аминокислотного состава пелликулы.

Толщина пелликулы 1–4 мкм. На ее формирование влияет pH слюны. Она образуется в течение 20–30 мин. На поверхности эмали адсорбируются специфические белки слюны при участии ионных связей и гидрофобного взаимодействия.

В образовании пелликулы участвуют кислые и гликозилированные белки, богатые пролином, — лактоферрин, лактопероксидаза, гистатин-1, цистатин SAIII и в более низких концентрациях — лизоцим и гистатин-5. Пелликула обладает избирательной проницаемостью и обеспечивает процессы диффузии ионов в поверхностный слой эмали, а также защищает эмаль зубов от воздействия химических агентов. Зубная пелликула представляет собой барьер, через который регулируются процессы минерализации и деминерализации эмали, а также осуществляется контроль за составом микробной флоры, участвующей в образовании зубного налета.

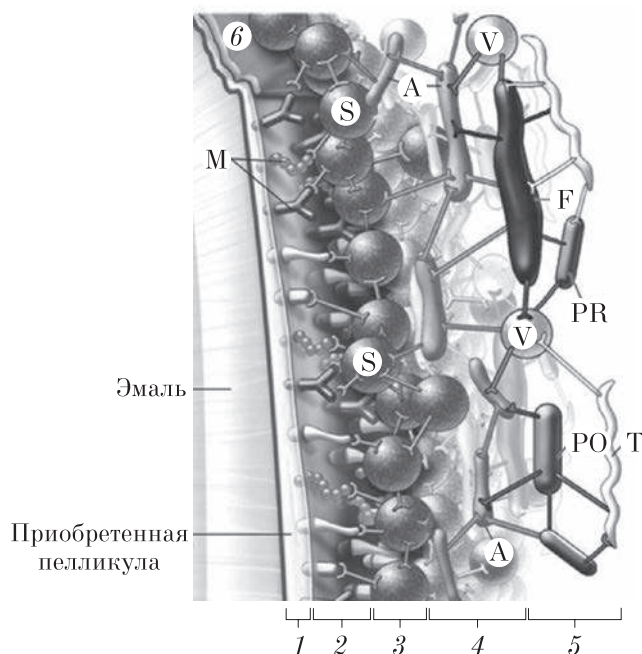


Рис. 16.7. Основные этапы превращения пелликулы в зубной налет (пояснения в тексте)

После механической очистки пелликула восстанавливается на поверхности эмали в течение нескольких часов. В дальнейшем пелликула может перерасти в зубной налет, а последний может стать основой формирования зубных камней. Такие покрытия эмалевой поверхности могут играть определенную роль в развитии патологических процессов.

Зубной налет (зубная бляшка). Это слой бактериальных клеток и органического матрикса, который откладывается на эмали поверх пелликулы. В отличие от пелликулы, зубной налет обычно удаляется при чистке зубов.

Зубной налет образуется следующим образом (см. рис. 16.7).

1. Сразу после чистки зубов их поверхность покрывается тонким слоем белков слюны (приобретенная пелликула).

2. Волокна белков, антител, ферментов слюны, остатки разрушенных бактерий и других молекул слюны связываются с пелликулой (М).

3. Самые первые бактерии, заселяющие поверхность зуба, — стрептококки (S). У этих бактерий есть специфичные рецепторы, которыми они связываются с внешними молекулами пелликулы. Стрептококки подобным образом связываются друг с другом, формируя основу зубной бляшки (налета). Другие виды стрептококка группы *mutans*, используют углеводы пищи для образования и секреции гликанов, которые увеличивают массу матрикса и служат источником углеводов.

16.2. Эмаль

4. Следующая фаза — дополнительное заселение микроорганизмами, чаще нитевидными бактериями рода *Actinomyces* (А).

5. После создания такой зубной сеточки наступает следующая фаза образования налета, которая придает зубной бляшке заключительные свойства. Бактерии, присоединяющиеся на этом этапе, часто являются анаэробами (*Fusobacterium* (F), *Porphyromonas* (PO), *Prevotella* (PR), *Veillonella* (V) и *Trepone* (T)).

6. Повреждение эмали наступает, если стрептококки на поверхности эмали используют углеводы с образованием молочной, уксусной и других кислот. Когда эти кислоты попадают на зубную поверхность и растворяют ее, развивается кариес зуба.

В отличие от пелликулы, зубной налет обычно удаляется при чистке зубов. Состав зубного налета непостоянен и по мере его старения меняется. Это зависит от состава микрофлоры и метаболических реакций, протекающих с участием микроорганизмов. По мере роста налета начинает преобладать анаэробная флора, для которой характерны высокая ферментативная активность и образование органических кислот.

Зубной налет на 78–80 % состоит из воды. Сухой остаток содержит минеральные вещества, небольшие органические молекулы, а также молекулы белков, полисахаридов и липидов. Они поступают из слюны или являются продуктами жизнедеятельности бактерий. Минеральные компоненты эмали могут также поступать в зубной налет. Количество этих компонентов широко варьируется. По мере созревания зубного налета содержание кальция и фосфора может увеличиваться.

Спектр микроэлементов в зубном налете довольно широк. Можно назвать ионы Sr^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Mn^{3+} и др. Содержание фтора в зубном налете может быть во много раз больше, чем в слюне (6–180 мкг/г). Это определяется внешними и внутренними факторами: концентрацией фтора в воде, способностью бактерий накапливать фтор, образованием кристаллов фторапатита в налете и т.д.

Содержание липидов в зубном налете невелико. Обнаруживаются триацилглицеролы, холестерол, глицерофосфолипиды. По мере созревания налета количество липидов может нарастать.

Около 8 % сухой массы зубного налета приходится на долю белков. Аминокислотный состав белков зубного налета сходен с аминокислотным составом белков слюны и эпителиальных клеток. В зубном налете также обнаруживаются свободные аминокислоты и пептиды. Они поступают из слюны или являются продуктами жизнедеятельности бактерий. Помимо аминокислот, обнаруживаются продукты их гниения — H_2S , аммиак, крезол, фенол, метилмеркаптан, индол, скатол, а также органические кислоты и низкомолекулярные летучие альдегиды, кетоны, придающие неприятный запах дыханию (*галитоз*).

В зубном налете содержится довольно большой набор моносахаридов (фруктоза, глюкоза, гексозамины, сиаловые кислоты) и полисахаридов (глюкозами-

ногликаны и гомополисахариды). Их количество может составлять 7–14 % от сухой массы зубного налета.

Зубной камень — это минерализованный зубной налет. Процесс минерализации налета длится около двух недель, но первые признаки минерализации появляются через 1–3 суток. Зубной камень образуется путем насыщения зубного налета кристаллами фосфата кальция. Наиболее часто зубные камни возникают на поверхности зубного налета язычной стороны зуба, вблизи протоков слюнных желез.

Полностью сформированный камень — это безжизненная субстанция, хотя в местах частичной минерализации могут находиться бактерии.

В образовании зубных камней выделяют три основных этапа, характерных для процессов биологической минерализации:

- 1) образование органического матрикса (зубного налета) микроорганизмами ротовой полости;
- 2) отложение минеральных соединений на органическом матриксе с образованием центров кристаллизации;
- 3) рост кристаллов в центрах минерализации.

Образованию камня способствует локальное повышение pH ротовой жидкости за счет гидролиза мочевины слюны бактериальной уреазой.

На начальных этапах развития камня формируется *брушит* $[\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ (до 50 % среди всех кристаллов). Кристаллы брушита имеют клиновидную форму. Накопление их ведет к формированию легко удаляемого зубного камня. Кроме брушита образуются кристаллы *витлокита* и *монетита*. Кристаллы витлокита имеют форму ромба. В их структуру входит безводный фосфат кальция $[\text{Ca}_3\text{PO}_4]_2$ и ионы Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} . *Монетит* представляет собой вторичную соль фосфорной кислоты $[\text{CaHPO}_4]$, которая кристаллизуется в виде треугольных пластинок. Растворимость кристаллов монетита быстро увеличивается при кислых значениях pH среды.

Промежуточным связующим звеном между кислыми солями (монетитом и брушитом) и основной солью (гидрок시아патитом) является *октакальцийфосфат* $[\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$. Он напоминает кристаллы гидрок시아патита, но имеет слоистую структуру с чередованием слоев соли толщиной 1,1 нм и слоев воды толщиной 0,8 нм. Кристаллы октакальцийфосфата растут в форме тонких пластинок длиной до 250 мкм. Они содержат кислый фосфатный ион и не имеют гидроксильных групп. Октакальцийфосфат играет важную роль в нуклеации апатитных солей и, подобно монетиту и брушиту, при щелочных значениях pH среды превращается в гидрок시아патит.

Кроме неорганических веществ, которые составляют основную массу зубного камня, в нем содержатся органические соединения. В зависимости от вида камня (наддесневой, темный наддесневой, поддесневой) относительное количество белка составляет от 0,5 до 2,5 %. В зубном камне содержатся продукты гидролиза белков. Некоторые из них могут связывать ионы кальция (глутаминовая и аспарагиновая кислоты) или фосфата (серин, треонин, лизин),

16.3. Дентин

что способствует минерализации зубного налета и дальнейшему образованию зубного камня.

Доля углеводов в составе зубного камня может достигать 10 %. Они представлены главным образом гликозаминогликанами и моносахаридами, галактозой, фруктозой, маннозой и аминасахарами. Содержание липидов невелико. Фосфолипиды (глицерофосфолипиды) являются продуктами распада клеточных мембран микроорганизмов, могут инициировать минерализацию.

16.3. Дентин

Подобно костной ткани, дентин регенерирует на протяжении всей жизни. В отличие от костной ткани, в составе дентина меньше органических компонентов (19–21 % от массы дентина, в костной ткани — 35 %). Одонтобласты располагаются на границе дентина и пульпы.

После прорезывания зубов дентиногенез замедляется. Дентин чувствителен к трению, кариесу, хирургическому вмешательству. Это первичная ткань зуба, она появляется раньше эмали и цемента. Вокруг коронки дентин покрыт эмалью, в корневой части зуба — цементом, поэтому он не контактирует с внешней средой и тканями, соседствующими с зубом.

Образование дентина обеспечивают одонтобласты (рис. 16.8). Они синтезируют и секретируют коллаген и неколлагеновые матриксные белки, цитрат, фосфолипиды и гликозаминогликаны. В сформировавшемся зубе одонтобласты продолжают быть метаболически активными за счет процессов, протекающих в дентиновых канальцах. Канальцы выполняют функцию посредников между пульпой, эмалью и цементом. Через них осуществляется доставка в эти ткани незаменимых питательных веществ, в том числе минеральных компонентов.

Процессы формирования дентина подобны механизмам прямого остеогенеза, которые подробно описаны в главе 15 «Биохимия костной ткани». Одонтобласты вначале синтезируют органический матрикс, построенный из белков и полисахаридов, и одновременно формируют матричные пузырьки, содержащие внутри кристаллы апатитов. После разрыва пузырьков отдельные кристаллиты сливаются между собой.

Важная роль в формировании кристаллов в пузырьках отводится фосфорилированным молекулам, в частности фосфолипидам. Ионы кальция поступают в межклеточное пространство при участии кальциевых каналов плазматической мембраны одонтобластов.

Дентинные канальцы, содержащие отростки одонтобластов, пронизывают всю толщину дентина — от границы дентина с эмалью до полости пульпы — и образуют систему анастомозов с большим количеством ветвлений. Их количество больше в дентине корня по сравнению с дентином коронки зуба.

Одонтобласты образуются из клеток пульпы на протяжении всей жизни человека. Процесс клеточной дифференцировки контролируют регуляторные

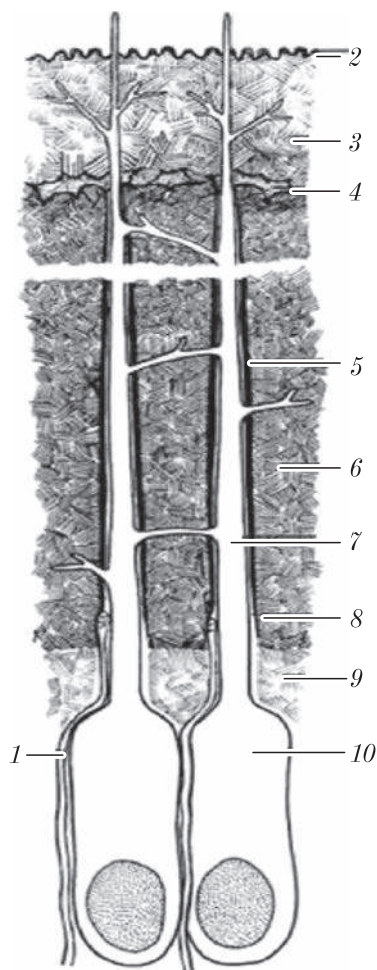


Рис. 16.8. Одонтобласт, дентин и каналцы:
 1 — нерв; 2 — граница дентин/эмаль; 3 — плащевой дентин; 4 — интерглобулярный дентин; 5 — перитубулярный дентин; 6 — интертубулярный дентин; 7 — отросток одонтобласта; 8 — перидонтобластическое пространство; 9 — преддентин; 10 — одонтобласт

белки. Несмотря на то что метаболизм дентина (образование матрикса), минерализация и ремоделирование (восстановление) имеют много общего с костной тканью, в дентине эти процессы идут медленнее. При повреждении дентина эти клетки восстанавливают матрикс и регулируют его минерализацию. В стоматологической практике используют препараты, стимулирующие все эти процессы.

16.3.1. Механизмы дентиногенеза

Первоначально синтезируются и секретируются коллаген и фибронектин, которые формируют волокна и обеспечивают связь с клетками. Неколлагеновые белки после трансляции модифицируются протеинкиназами (фосфорилирование), протеазами (фрагментация) и сульфатазами (сульфатирование).

16.3. Дентин

Ионы кальция взаимодействуют со специальными доменами белков и связывают фосфаты, образуя ядра нуклеации.

Белки, участвующие в дентиногенезе, делятся на *коллагеновые* (90 %) и *неколлагеновые* (около 10 %), которые, в свою очередь, разделяют на фосфорилированные и нефосфорилированные. Основные коллагены дентина — коллаген I типа (около 89 %), III и V типов (1–3 %).

Фосфорилированными белками дентина являются белки семейства SIBLING (англ. — Small integrin-binding ligand n-linked glycoprotein). Сиалофосфопротеин дентина подвергается ограниченному протеолизу и разделяется на три белка. Один из них — фосфопротеин дентина (известен как *фосфофорин*) — отщепляется от С-конца. Он синтезируется только в одонтобластах и секретируется оттуда во внеклеточное пространство. В его составе из 1 тыс. аминокислотных остатков 426 являются остатками серина и 447 — остатками аспарагиновой кислоты. Фосфорилирование остатков серина в 2 раза увеличивает количество Са-связывающих групп в белках. Участие повторов Асп-Сер-Сер в составе молекулы фосфофорина в нуклеации при образовании кристаллов апатита делает этот белок основным участником образования центров кристаллизации.

Из нефосфорилированных белков в дентине содержится *остеокальцин*. Находящиеся в составе его молекулы три остатка γ -карбоксиглутаминовой кислоты прочно связаны с апатитом. Этот белок ингибирует рост кристаллов. Его синтез контролирует витамин D₃.

Остеонектин (М.М. 43×10^3 а.е.м.) связывает кальций, по структуре похож на белки, участвующие в свертывании крови. Широко распространен в тканях. Связывается с коллагеном и апатитом. В дентине содержится небольшое количество других белков: альбумина, β - и γ -глобулинов, — которые попадают сюда из кровеносных сосудов пульпы.

Помимо белков, 1 % в составе дентина принадлежит *цитрату*. Он образует соли с кальцием и служит в качестве своеобразного аккумулятора, который восполняет дефицит ионов в кристаллической решетке гидроксиапатита.

16.3.2. Несовершенный дентиногенез

При введении ингибиторов матричных синтезов, к которым, в частности, относятся антибиотики тетрациклинового ряда, у детей возникает множественная гипоплазия эмали и дентина (тетрациклиновые зубы). Это обусловлено тем, что тетрациклины связываются с 30S-субъединицей рибосомы и блокируют присоединение аминоксил-тРНК в А-центр рибосомы. Тем самым нарушается элонгация полипептидной цепи. Нарушение синтеза белка, в свою очередь, изменяет процессы образования первичных кристаллов гидроксиапатитов в твердых тканях зуба.

16.4. Периодонт

Периодонт — это система крепления зуба в костной ткани челюстей, которая включает цементное вещество зубов, периодонтальные связки, десну, альвеолярную кость (см. рис. 16.1). В его образовании принимают участие клетки разнообразного происхождения: остеобласты, остеокласты (важны при болезнях периодонта и для подвижности зубов), фибробласты (наиболее распространены), эпителиоциты, макрофаги (важные защитные клетки), цементобласты, цементокласты (только в патологических условиях).

Клетки периодонта располагаются в три слоя: на границе с альвеолярной костью находятся клетки остеобластического ряда; в среднем слое располагаются фибробласты различной степени зрелости, макрофаги, тучные клетки и эпителиальные островки; на границе с цементом преобладают малодифференцированные клетки и цементобласты. Основное вещество представлено коллагеновыми волокнами и протеогликанами.

Среди множества функций, выполняемых периодонтом (опорная, сенсорная, трофическая, гомеостатическая, защитная), важнейшей является *репаративная*. Периодонт участвует в восстановительных процессах путем образования цемента как при переломе корня зуба, так и при резорбции его поверхностных слоев. Благодаря механизмам репарации, как правило, не происходит сращивание корня зуба с альвеолой (*анкилоз*). Процессы репарации включают замещение фибробластов, других клеток и ресинтез молекул межклеточного матрикса. Скорость обновления коллагена в периодонте в 2 раза выше, чем в десне, и в 4 раза, чем в коже. Любые нарушения синтеза коллагена быстро сказываются на состоянии периодонта. Так, недостаточность витамина С в первую очередь проявляется поражением периодонта, расшатыванием зубов.

Процессы репарации коллагена в периодонте снижаются с возрастом. При потере зуба-антагониста уменьшается жевательная нагрузка на оставшийся зуб. Следствием является снижение репарации коллагена и его упорядоченности. Периодонт атрофируется.

16.5. Цемент

Цемент — плотная бессосудистая соединительная ткань, которая покрывает корни зубов. По составу он подобен костной ткани. Цемент состоит из неорганического компонента — 68–70 % (кристаллы гидроксиапатита и др.) и из органических веществ — 30–32 % (коллаген, другие белки, полисахариды).

Цемент начинает формироваться самым последним в процессе развития зуба при образовании корня после завершения образования коронки и незадолго до прорезывания.

16.5. Цемент

Цемент подразделяется на *бесклеточный* (*первичный*) и *клеточный* (*вторичный*). В местах наиболее активного роста корней (область бифуркации, трифуркации, верхушки корня) сохраняется клеточный цемент. Цемент формируется на протяжении всей жизни зуба и откладывается в виде вторичного на поверхности имеющегося первичного. Клеточный цемент состоит из цементацитов, цементабластов, межклеточного вещества.

Контакт малодифференцированных соединительнотканых клеток зубного мешочка с дентином индуцирует дифференцировку этих клеток в *цементобласты* — клетки, образующие цемент (рис. 16.9). Это клетки кубической формы с высоким содержанием митохондрий, крупным комплексом Гольджи, хорошо развитой гранулярной эндоплазматической сетью. Они начинают секрецию органического матрикса цемента поверх слоя промежуточного цемента на поверхности дентина.

Образование цемента протекает в две фазы. Во время *первой* фазы образуется органический матрикс. Цементобласты секретируют молекулы коллагена и протеогликанов. Основным коллагеном является коллаген I типа. Новые коллагеновые фибриллы и короткие коллагеновые волокна отличаются своей ориентацией от аналогичных структур дентина. Это основа слоя бесклеточного цемента, который в дальнейшем утолщается вследствие отложения волокон и последующей минерализации.

Вторая фаза — минерализация путем формирования кристаллов гидроксиапатита. Этот процесс протекает при участии матричных пузырьков подобно остеогенезу и является ритмическим процессом, в котором отложение нового слоя цемента сочетается с обызвествлением ранее сформированного. Наружная поверхность цемента покрыта цементобластами, между которыми в цемент вплетаются коллагеновые волокна периодонтальной связки, называемые *шарпеевскими волокнами*.

По мере образования цемента цементобласты либо перемещаются на его периферию, либо замуровываются в нем, располагаясь в лакунах и превращаясь в цементациты. Первым образуется цемент, *не содержащий клеток*. Он медленно откладывается по мере прорезывания зуба, покрывая 2/3 поверхности его корня, в части, прилежащей к коронке.

После прорезывания зуба образуется цемент, *содержащий клетки*. Клеточный цемент располагается в апикальной трети корня зуба. Его формирование происходит быстрее, чем

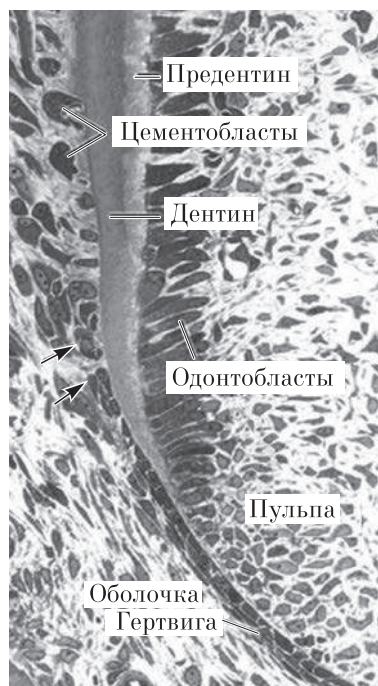


Рис. 16.9. Участники развития цемента

бесклеточного цемента, однако по степени минерализации он уступает ему. Образование вторичного цемента является непрерывным процессом, вследствие чего слой цемента с возрастом утолщается. Вторичный цемент участвует в репаративных процессах и в адаптации поддерживающего аппарата зуба к изменяющимся нагрузкам.

Повреждения часто сопровождаются резорбцией цемента, разрывами коллагеновых пучков, кровоизлияниями и некрозом. Прилежащая костная ткань подвергается резорбции, расширяется периодонтальное пространство, и зуб становится более подвижным. В дальнейшем поврежденные участки замещаются вследствие активных репаративных процессов в периодонте. При его травмировании возможно развитие реакции, сопровождающейся активацией остеобластов. Это приводит к образованию костной ткани, которая свяжет корень зуба с дном зубной альвеолы.

16.6. Пульпа

Пульпа — единственная неминерализованная ткань зуба. По сути, это разновидность соединительной ткани, которая заполняет полость зуба в области коронки и корневого канала. В ней содержатся нервы и кровеносные сосуды.

Пульпу называют *энергетическим центром зуба*, поскольку она потребляет много кислорода для обеспечения аэробного окисления глюкозы и окислительно-восстановительных реакций, составляющих центральные катаболические пути. В клетках пульпы интенсивно протекают биосинтез РНК и белка, которые также требуют много энергии и обеспечения необходимыми субстратами. Присутствующие здесь кислая и щелочная фосфатазы участвуют в реакциях минерального обмена. Метаболизм аминокислот осуществляется с помощью трансаминаз и пептидаз. Доставка в клетки пищевых компонентов происходит через кровеносные сосуды. Из пульпы эти компоненты поступают в дентин и эмаль коронковой части зуба. Твердые ткани корневой части также снабжаются из пульпы и периодонта.

Основная функция пульпы — поддержка структуры дентина. Там синтезируются все его органические компоненты. Любые механические воздействия на зуб вызывают ответную реакцию дентина, которая проявляется в образовании вторичного дентина. Кроме того, макрофаги и дендритные клетки пульпы обеспечивают защиту полости зуба и периодонта от инфекции.

Б. Биологические жидкости полости рта

16.7. Общая характеристика слюны и ротовой жидкости

В зависимости от состава выделяемой слюны различают *белковые*, *слизистые* и *смешанные* секреторные отделы. Околоушные слюнные железы и некоторые железы языка выделяют жидкий белковый секрет. Мелкие слюнные железы вырабатывают более густую и вязкую слюну, содержащую гликопротеины. Подчелюстные и подъязычные, а также слюнные железы губ, щек и кончика языка выделяют смешанный белково-слизистый секрет.

Большую часть слюны образуют подчелюстные слюнные железы (70 %), околоушные (25 %), подъязычные (4 %) и малые (1 %). Такая слюна называется *собственно слюной* или *проточной слюной*.

В сутки у взрослого человека выделяется 1500–2000 мл слюны. Однако скорость секреции меняется в зависимости от ряда факторов: возраста (после 55–60 лет слюноотделение замедляется), нервного возбуждения, пищевого раздражителя. Секреция нестимулированной слюны связана с ее защитной функцией; в то же время стимулированное слюноотделение необходимо для успешного переваривания (образования пищевого комка и глотания).

Важность слюны наилучшим образом демонстрируется у тех пациентов, у которых секрет слюнных желез не поступает в полость рта. При синдроме Шегрена (аутоиммунное заболевание), а также при раке после высоких доз облучения у пациентов отмечается резко выраженная сухость полости рта. Вследствие проблем с глотанием во время еды они должны постоянно пить воду.

В настоящее время стоматологи выделяют новое заболевание — «жвачную болезнь», при котором наблюдается атрофия слюнных желез вследствие неправильного использования жевательной резинки.

16.7.1. Молекулярные механизмы образования слюны

По механизму выделения слюны секреторными отделами все слюнные железы относятся к экзокринно-мезокриноным. В этом случае секрет выделяется из клетки без разрушения железистых клеток в растворенном виде через ее апикальную мембрану в просвет ацинуса, а в дальнейшем поступает в полость рта (рис. 16.10).

Активный транспорт, синтез и секреция белков требуют затрат энергии АТФ.

Образование первичного слюнного секрета. Секрет слюнных желез содержит воду, ионы и белки. Образование первичного секрета связано с током крови по кровеносным сосудам, окружающим секреторные отделы. Кровеносные

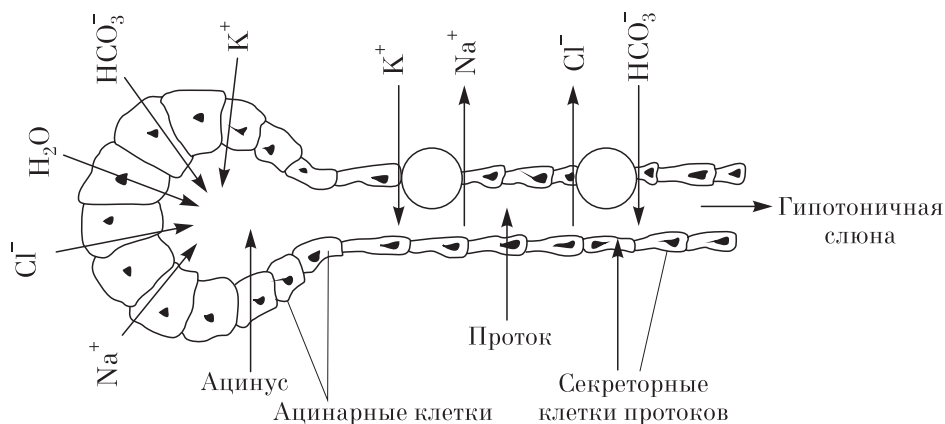


Рис. 16.10. Транспортные системы в слюнных железах, участвующие в формировании слюнного секрета

капилляры слюнных желез характеризуются высокой проницаемостью, которая в 10 раз выше, чем в капиллярах скелетных мышц. Она обусловлена наличием в клетках слюнных желез активного калликреина, который расщепляет кининогены. Образующиеся кинины (каллидин и брадикинин) изменяют проницаемость сосудов, ток воды и ионов во внеклеточном пространстве.

Секреция электролитов и воды в секреторных клетках. Электролитный состав слюны и ее объем определяется деятельностью ацинарных клеток и клеток протоков. Транспорт электролитов в ацинарных клетках состоит из двух этапов:

- 1) перенос ионов и воды через базолатеральную мембрану в клетку;
- 2) их выход через апикальную мембрану в просвет протоков.

В клетках выводных протоков осуществляется не только секреция, но и реабсорбция воды и электролитов. Транспорт воды и ионов происходит также в околклеточном пространстве по механизму активного и пассивного транспорта. Через базолатеральную мембрану внутрь клетки поступают ионы Ca^{2+} , Cl^- , K^+ , Na^+ , PO_4^{3-} , а также глюкоза и аминокислоты. В дальнейшем они используются для синтеза секреторных белков.

Молекула глюкозы подвергается аэробному распаду до конечных продуктов CO_2 и H_2O с образованием молекул АТФ. Большая часть молекул АТФ используется для работы транспортных систем. При участии карбоангидразы молекулы CO_2 и H_2O образуют угольную кислоту, которая диссоциирует на H^+ и HCO_3^- . Поступивший в клетку ортофосфат идет на образование молекул АТФ, а избыток выделяется через апикальную мембрану с помощью белка-переносчика.

Повышение концентрации ионов Na^+ и Cl^- внутри клетки вызывает ток воды в клетку, который обеспечивается с помощью белков аквапоринов. Аквапорины с большой скоростью транспортируют жидкость через мембраны клеток

16.7. Общая характеристика слюны и ротовой жидкости

эпителия и эндотелия. Часть аквапоринов является белками мембранных каналов и присутствует в виде тетрамеров. В ряде случаев аквапорины находятся во внутриклеточных везикулах и переносятся в мембрану в результате стимуляции вазопрессином, мускарином (аквапорин-5). Аквапорины 0, 1, 2, 4, 5, 8, 10 избирательно пропускают воду; аквапорины 3, 7, 9 пропускают не только воду, но и глицерол, мочевины, а аквапорин-6 — нитраты.

В слюнных железах аквапорин-1 локализован в эндотелиальных клетках капилляров, а аквапорин-3 присутствует в базолатеральной мембране ацинарных клеток. Приток воды в ацинарную клетку приводит к интеграции в апикальную плазматическую мембрану белка аквапорина-5, обеспечивающего выход воды из клетки в слюнный проток. Одновременно ионы Ca^{2+} активируют ионные каналы в апикальной мембране, за счет которых с выведением воды в выводные протоки клетку покидают и ионы. Образовавшаяся первичная слюна изотонична плазме крови и близка к ней по составу электролитов (рис. 16.11).

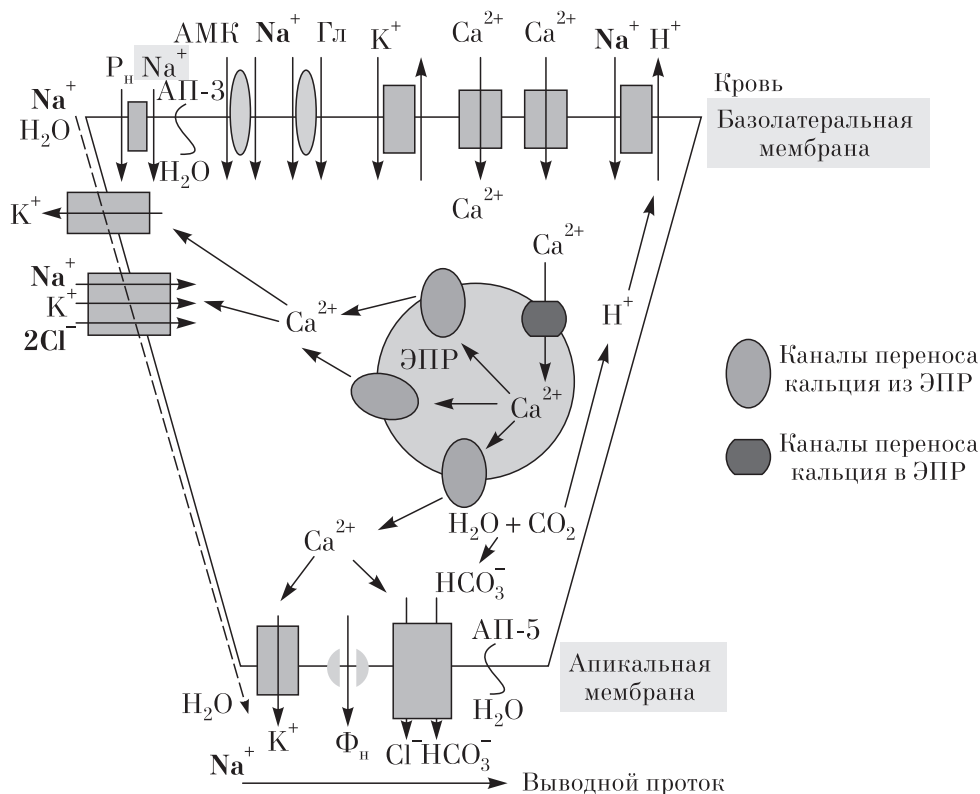


Рис. 16.11. Клеточные механизмы транспорта ионов через мембраны ацинарных клеток:

АП — аквапорин; АМК — аминокислоты; Гл — глюкоза; $\text{Ф}_\text{н}$ — фосфат неорганический

Из просвета выводных протоков, где находится изотоническая слюна, происходит реабсорбция ионов Na^+ и Cl^- . В клетках исчерченных протоков, где имеется большое количество митохондрий, образуется множество молекул CO_2 и H_2O . При участии карбоангидразы угольная кислота диссоциирует на H^+ и HCO_3^- . Ионы H^+ выводятся в обмен на ионы Na^+ , а HCO_3^- — на Cl^- . На базолатеральной мембране локализуются транспортные белки Na^+/K^+ -АТФаза и Cl^- -канал, через которые ионы Na^+ и Cl^- поступают из клетки в кровь (рис. 16.12).

Регуляция слюноотделения. Центр слюноотделения локализован в продолговатом мозге и контролируется супрабульбарными отделами головного мозга, включая ядра гипоталамуса и кору больших полушарий. Он тормозится или стимулируется по принципу безусловных и условных рефлексов. Стимуляторами слюноотделения при приеме пищи выступают раздражения пяти типов рецепторов в полости рта: вкусовых, температурных, тактильных, болевых, обонятельных. Варьирование состава и количества слюны достигается изменением возбудимости, числа и вида возбужденных нейронов центром слюноотделения и, соответственно, числа и вида инициированных клеток слюнных желез.

Объем слюноотделения определяется в основном возбуждением М-холинергических нейронов, усиливающих синтез и выделение секрета ацинарными клетками, кровоснабжением этих клеток и выведением секрета в систему протоков сокращениями миоэпителиальных клеток (рис. 16.13). Ацетилхолин в миоэпителиальных и ацинарных клетках связывается с рецептором, и через G-белок активирует фосфолипазу С. Фосфолипаза С гидролизует фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат, и образующийся инозитолтрифосфат (ИФ_3) повышает концен-

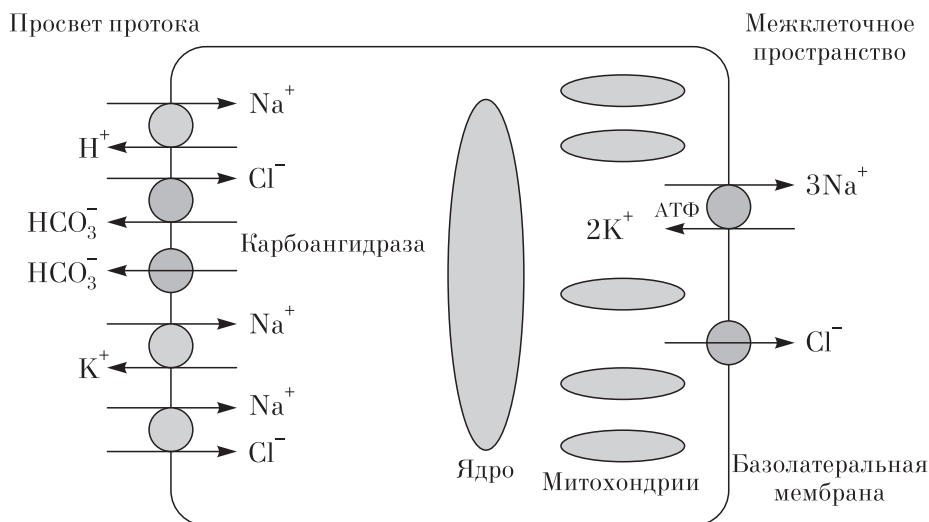


Рис. 16.12. Формирование слюны в клетках выводных протоков слюнных желез

16.7. Общая характеристика слюны и ротовой жидкости

трацию ионов Ca^{2+} внутри клетки. Ионы Ca^{2+} , поступающие из депо, связываются с белком *кальмодулином*. В миоэпителиальных клетках активированная кальцием киназа фосфорилирует легкие цепи гладкомышечного миозина, который взаимодействует с актином, что вызывает их сокращение. Миоэпителиальные клетки прикрепляются при помощи полудесмосом к базальной мембране и содержат в цитоплазме белки — цитокератины, гладкомышечные актины, миозины, α -актинины. От тела клетки отходят отростки, охватывающие эпителиальные клетки желез. Сокращаясь, миоэпителиальные клетки способствуют продвижению секрета из концевых отделов по выводным протокам желез.

Слюноотделение также регулируется симпатической иннервацией, гормонами и нейропептидами. Освобождаемые нейротрансмиттеры — адреналин и норадреналин — связываются со специфическими адренорецепторами на базолатеральной мембране ацинарной клетки. Образовавшийся комплекс передает

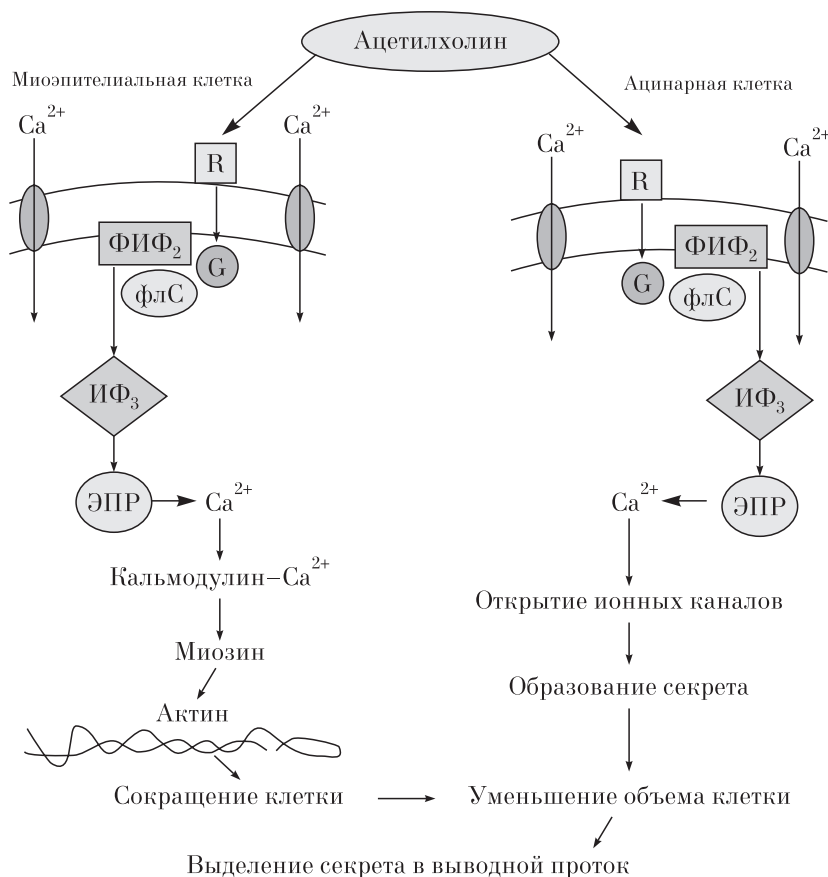


Рис. 16.13. Роль ацетилхолина в образовании и выделении секрета в секреторных отделах слюнных желез

сигналы через G_s -белки, что сопровождается активацией протеинкиназы А с последующим синтезом белков и их экзоцитозом из клетки.

После связывания адреналина с α -адренорецепторами образуется молекула 1,4,5-инозитолтрифосфата, которая стимулирует мобилизацию Ca^{2+} и открытие кальцийзависимых каналов с последующей секрецией жидкости. За время секреции ацинарные клетки теряют ионы Ca^{2+} , что сопровождается изменением проницаемости их мембран.

На кровоток и повышение проницаемости сосудов также влияют активные пептиды *каллидин* и *брадикинин*. В образовании кининов участвует сериновая трипсиноподобная протеиназа *калликреин*, вырабатываемая клетками слюнных протоков. Калликреин вызывает ограниченный протеолиз глобулярных белков кининогенов с образованием биологически активных пептидов — кининов. Брадикинин связывается с соответствующими рецепторами, что приводит к мобилизации внутриклеточного кальция с последующим активированием протеинкиназы С, запускающей каскад передачи сигнала внутри клетки через оксид азота, цГМФ, простагландины. Образование таких вторичных посредников в эндотелиальных и мышечных клетках обеспечивает расширение сосудов слюнных желез и слизистых оболочек. Это приводит к гиперемии, повышению проницаемости сосудов, снижению артериального давления.

В регуляции сосудистого тонуса также участвует аспарагиновая протеиназа *ренин*. Ренин концентрируется в гранулярных извитых протоках подчелюстных желез вместе с фактором роста эпителия. В слюнных железах образуется ренина больше, чем в почках (см. главу 10 «Водно-минеральный обмен»).

16.7.2. Ротовая жидкость

В полости рта находится не чистый секрет слюнных желез, а биологическая жидкость, получившая название **ротовая жидкость**. Это суммарный секрет всех слюнных желез, детрит полости рта, микрофлора, содержимое десневых карманов, десневая жидкость, продукты жизнедеятельности микроорганизмов, локализованных в мягком зубном налете, продукты распада мигрирующих в слюну лейкоцитов, остатки пищи и т.д.

Ротовая жидкость, или смешанная слюна, представляет собой вязкую жидкость с относительной плотностью 1,001–1,017 г/см³. Колебания рН слюны зависят от гигиенического состояния полости рта, характера пищи, скорости секреции. При низкой скорости секреции рН слюны сдвигается в кислую сторону, при стимуляции слюноотделения — в щелочную.

Основные функции ротовой жидкости:

- *защитная* — увлажняет и очищает ткани ротовой полости, поддерживает видовой состав микрофлоры полости рта, формирует защитный барьер из муцина и других железистых белков, лейкоцитов. Участвует в образовании пелликулы зубов, предотвращает осаждение из слюны перенасыщенного раствора фосфата кальция;

16.7. Общая характеристика слюны и ротовой жидкости

- *минерализующая* — минерализация эмали после прорезывания, поддержка оптимального состава эмали и восстановление при повреждениях;
- *очищающая* — механическое и химическое очищение полости рта;
- *пищеварительная* — обволакивает пищевые частицы муцином, облегчает проглатывание, вызывает растворение солей, сахаров, расщепление поли- и олигосахаридов;
- *выделительная* — со слюной выделяются низкомолекулярные азотосодержащие соединения (мочевина), катионы и анионы, метаболиты гормонов и лекарственных веществ.

Ротовая жидкость содержит большое число молекул разной природы (табл. 16.2). Общее количество плотных веществ в смешанной слюне составляет от 3 до 8 г/л, в среднем — 6 г/л. Из этого количества на долю растворенных веществ приходится 80 %, а на долю суспендированных веществ — около 20 %. Функции большинства молекул достаточно хорошо известны.

Таблица 16.2

Химический состав ротовой жидкости

Компонент	Содержание
Вода	98–99 %
Плотные вещества	1,4–1,5 %
Органические вещества	1 %
Осадок	70 мг/л
Хлориды	2,5–3,0 г/л
Ионы кальция	40–50 мг/л
Фосфаты	190–200 мг/л
Фтор	0,06–1,8 мг/л
Остаточный азот	100–200 мг/л
pH	6,4–7,3
Белок	2–3 г/л
Амилаза	380 мг/л
Иммуноглобулин А	190 мг/л
Иммуноглобулин G	14 мг/л
Иммуноглобулин М	2 мг/л
Фракции белков (электрофорез):	
альбумины	7–8 %
α-глобулины	11–12 %
β-глобулины	45 %
γ-глобулины	18 %
лизоцим	18–20 %
Муцин	3 г/л

Окончание табл. 16.2

Компонент	Содержание
Углеводы гликопротеинов:	
гексозамины	100 мг/л
фукоза	90 мг/л
нейраминовая кислота	12 мг/л
общие гексозы	195 мг/л
Глюкоза	10–100 мг/л
Молочная кислота	33 мг/л
Пировиноградная кислота	9 мг/л
Мочевина	200 мг/л
Холестерол	80 мг/л

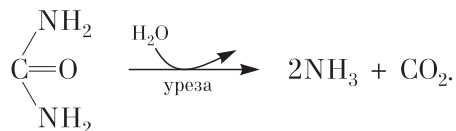
Центральное место занимают ионы натрия и калия. Они обеспечивают осмотическое давление, буферную емкость и мицеллярную структуру слюны.

Смешанная слюна имеет близкое к нейтральному значение pH (5,6–7,9), которое зависит от уровня саливации (поэтому днем pH выше, чем ночью), гигиены полости рта и состава пищи.

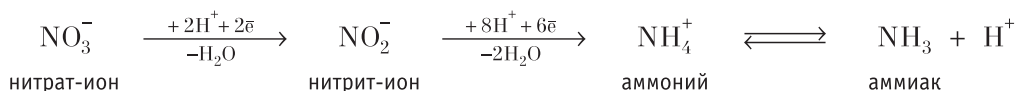
Буферная емкость слюны — это способность нейтрализовать кислоты и основания при взаимодействии гидрокарбонатной, фосфатной и белковой систем. Доля бикарбонатной системы в буферной емкости слюны составляет 80 %. Но система в достаточной степени нестабильна, потому что карбоангидраза легко превращает HCO_3^- в CO_2 :



В ротовой полости pH зависит также от содержания аммиака. Источником ионов аммония является мочевины, проникающая в слюну из крови. В ротовой полости происходит ее гидролиз с помощью уреазы:



Кроме того, нитраты под влиянием нитрат- и нитритредуктазы превращаются в NH_3 :



16.7. Общая характеристика слюны и ротовой жидкости

Увеличение концентрации аммиака в ротовой жидкости вызывает ее небольшое защелачивание. Гораздо более мощный эффект на pH слюны оказывают микроорганизмы, окисляющие глюкозу анаэробным путем. Конечный продукт окисления (*лактат*) сдвигает pH слюны в кислую сторону. Прием в течение длительного времени пищи, богатой углеводами, снижает, а прием высокобелковой — повышает буферную емкость слюны. Высокая буферная емкость слюны относится к числу факторов, повышающих резистентность зубов к кариесу.

На pH ротовой жидкости оказывают влияние и суточные биоритмы (утром pH сравнительно ниже, чем в середине дня, и имеет тенденцию к повышению вечером; ночью ниже, чем днем); возраст (снижение с увеличением возраста); беременность (снижение pH); стоматологические и соматические заболевания.

Значительные изменения pH в слюне встречаются редко, даже у людей, склонных к кариесу. Однако в случае, если они происходят, резко изменяется состояние насыщения фосфатом кальция. Это обусловлено тем обстоятельством, что концентрация его в слюне намного превышает таковую в крови. К тому же в крови, в отличие от слюны, концентрация водородных ионов высокостабильна благодаря физиологическим и химическим системам регуляции кислотно-щелочного равновесия. В слюне емкость буферных систем небольшая. Поэтому колебания pH слюны могут приводить или к значительному снижению ее минерализующей способности (закисление), или к ее усилению и образованию зубных камней.

Среди веществ, растворенных в ротовой жидкости, значительная часть принадлежит белкам. Там они выполняют важные функции, связанные с защитой, процессами минерализации и участием в пищеварении (см. рис. 16.13).

16.7.3. Белки ротовой жидкости

В смешанной слюне около 1 тыс. белков, 306 из них идентифицированы. Источниками белков ротовой жидкости являются секреты больших и малых слюнных желез, клетки — микроорганизмы, лейкоциты, слущенный эпителий, плазма крови. Различают белки-*ферменты* (α -амилаза, лизоцим, калликреин, карбоангидраза, пероксидаза, лактоферрин, протеазы, липаза, фосфатазы и др.) и белки — *участники минерализации и защиты* (муцины, иммуноглобулины A, G, M, гистатины, цистатины, статерины и белки, богатые пролином) (рис. 16.14).

Муцины слюны. Это высокомолекулярные белки, обладающие важной защитной функцией. Они придают слюне вязкость благодаря способности связывать большое количество воды, защищают поверхность от бактериального загрязнения (см. п. 3.3 «Обмен углеводов»). Бактериальная защита обеспечивается белками *иммуноглобулинами* (главным образом иммуноглобулином A), присоединенными к муцину, и некоторыми другими белками. В частности, гликопротеины могут усиливать или ослаблять присоединение бактерий к поверхности зуба.

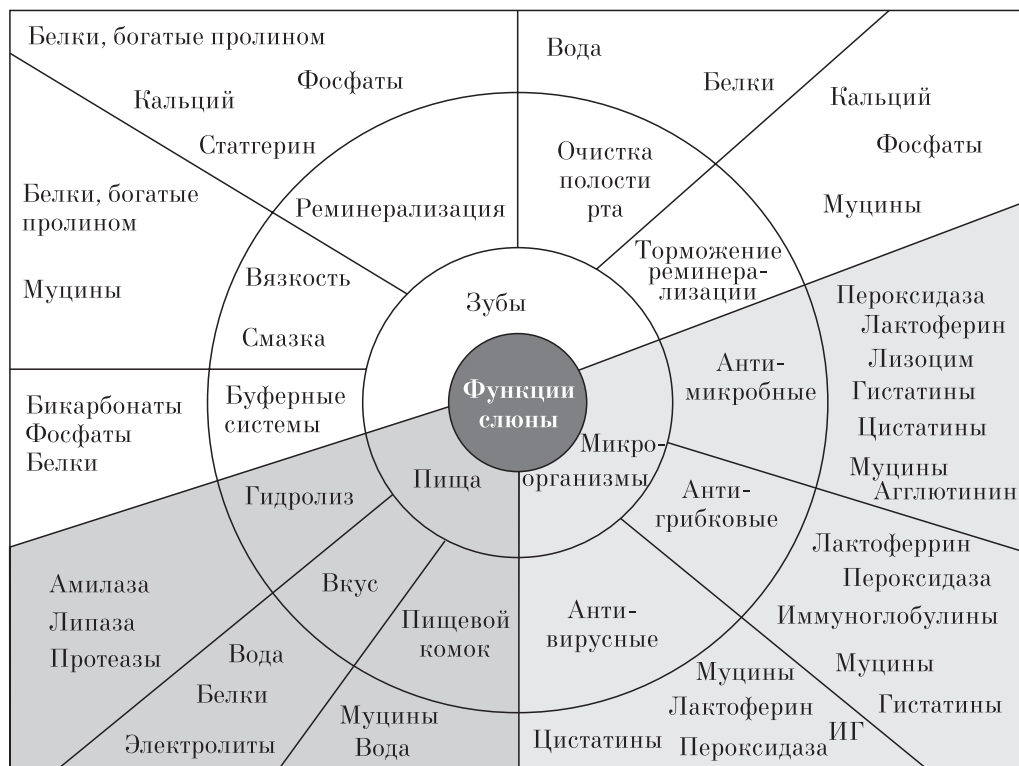


Рис. 16.14. Функции белков ротовой жидкости

Группа белков, богатых пролином. Проллин составляет от 16 до 33 % от всех аминокислот, входящих в состав этих белков. Среди них различают *кислые белки* с одинаковой последовательностью на N-конце. Их объединяет также высокое содержание фосфорной кислоты. Имея большой заряд и некоторую асимметрию в его распределении, эти белки могут тормозить рост кристаллов в слюне, пересыщенной фосфатами кальция. Если удалить фосфатные группы, связанные с серином, то способность ингибировать рост кристаллов исчезает. Кроме того, связывание ионов кальция за счет C-концевых доменов в составе полипептидной цепи этих белков придает им способность связывать различные микроорганизмы в ротовой полости, особенно *Actinomyces viscosus*, тем самым участвуя в образовании зубного налета.

Другой группой белков, богатых пролином, являются *гликозилированные белки*. Они также содержат большое количество пролина и могут, подобно муцинам, гидратироваться. Поэтому они принимают участие в смачивании пищи и ее проглатывании.

Основные белки, богатые пролином, взаимодействуют с мембраной стрептококка, нарушая ее проницаемость и тем самым вызывая гибель микроорганизмов.

16.7. Общая характеристика слюны и ротовой жидкости

Кроме того, они защищают слизистую полости рта за счет связывания пищевого танина, а присутствие танинов в пище стимулирует синтез этих белков.

Статгерин является фосфопротеином. Содержит много остатков тирозина, 15 % пролина, 25 % кислых аминокислот. Связывая ионы кальция, он предотвращает образование кальций-фосфатных солей на поверхности зуба, в ротовой полости и в слюнных железах. При этом он не только тормозит рост кристаллов, но и фазу нуклеации (образование «приманки» будущего кристалла).

Лактоферрин. Такое название он получил потому, что впервые был выделен из молока, хотя присутствует и в слезной жидкости, панкреатическом, желудочном соке и т.д. Его молекула состоит из двух одинаковых по структуре доменов, каждый из которых имеет центр, связывающий железо. Присоединение железа одновременно приводит к связыванию карбонат-иона (CO_3^{2-}), который уравнивает положительный заряд иона железа (Fe^{2+}). Связывая ионы железа, лактоферрин лишает бактерии этого важного элемента и ограничивает их рост. Вместе с тем, некоторые бактерии усваивают и такое, связанное с лактоферрином, железо.

Лизоцим синтезируется эпителиальными клетками протоков слюнных желез. Еще одним источником этого белка являются нейтрофилы, поступающие в ротовую полость. Его бактерицидное действие основано на том, что он катализирует гидролиз β -гликозидной связи (1 \rightarrow 4) между N-ацетилглюкозамином и N-ацетилмуравовой кислотой в полисахаридах клеточной оболочки микроорганизмов. Наиболее чувствительны к нему грамположительная флора и некоторые вирусы. Микрофлора стимулирует синтез лизоцима, но при заболеваниях полости рта, таких как стоматит, гингивит, маргинальный периодонтит, образование лизоцима снижается.

Основным источником **РНКаз** и **ДНКаз** в смешанной слюне являются лейкоциты крови. При некоторых воспалительных заболеваниях ротовой полости секреция их увеличивается. Эти ферменты резко замедляют рост и размножение многих микроорганизмов в ротовой полости.

Пероксидаза — еще один фермент, участвующий в защитной функции ротовой жидкости. Обязательным условием его действия является присутствие пероксида водорода, поэтому микроорганизмы, продуцирующие пероксид водорода, более чувствительны к действию пероксидазы слюны. Повреждающее действие системы «пероксидаза — перекись водорода» на микроорганизмы опосредуется образованием промежуточных окислителей органической и неорганической природы. Для этого необходимо участие анионов CNS^- , Cl^- , I^- , Br^- . Слюнные железы секретируют их в значительном количестве. Эти анионы взаимозаменяемы. Так, в результате взаимодействия пероксидазы с H_2O_2 и Cl^- образуется активный анион HOCl^- . Он стимулирует превращение аминокислотных остатков белков микроорганизмов в токсичные альдегиды, оказывая повреждающее действие на микробные клетки.

16.7.4. Минерализующая функция слюны (ротовой жидкости)

Эта функция слюны включает механизмы, способствующие поступлению минеральных веществ в эмаль, и механизмы, препятствующие обратному их выходу. В зрелых зубах поддерживается подвижное равновесие этих двух процессов. В физиологических условиях оно сдвинуто в сторону образования кристаллов апатитов эмали.

Минерализующая функция ротовой жидкости зависит от содержания в ней кальция и фосфатов. Основным источником ионов кальция (75 % их содержания в смешанной слюне) являются подчелюстные железы. В первичном секрете их концентрация невелика, но благодаря обратному всасыванию воды в слюнных протоках она увеличивается до 2,1–2,3 ммоль/л.

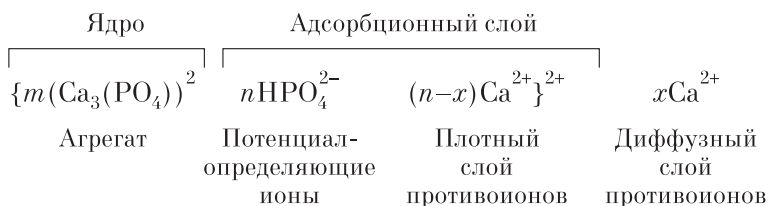
В смешанной слюне концентрация кальция мало отличается от его концентрации в плазме крови. По мере роста организма она увеличивается, достигая максимума в среднем возрасте. Кальций слюны неоднороден. Примерно половину его составляет ионизированный кальций; 15 % связано с белками; около 30 % связано с цитратом, фосфатом и карбонатом. Электростатически связанный и свободный кальций определяют направление процесса «минерализация – растворение».

Соотношение ионизированного кальция и общего его количества показывает долю, которая способна участвовать в реминерализации эмали. У здоровых людей она составляет 0,54. Снижение этого соотношения приводит к появлению вакантных мест в кристаллической решетке эмали и повышению ее проницаемости для других ионов.

Общее количество фосфатов в слюне в 2–3 раза выше, чем в крови, и составляет 7 ммоль/л. Подавляющая доля его (70–95 %) принадлежит неорганическим фосфатам HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- и PO_4^{3-} . Небольшое количество фосфатов входит в состав фосфопротеинов слюны.

Смешанная слюна пересыщена фосфатом и ионами кальция. Однако в норме это не приводит к накоплению минеральных компонентов на поверхности зубов. Это обусловлено мицеллярной структурой слюны, а также присутствием в составе ротовой жидкости специальных белков, препятствующих спонтанному осаждению из растворов, пересыщенных кальцием и фосфатами.

Мицеллы слюны. Соли кальция поддерживаются в псевдоразвешенном состоянии в слюне за счет образования коллоидных структур — мицелл. Состав мицелл описывается следующей формулой:



16.7. Общая характеристика слюны и ротовой жидкости

Ядро мицеллы состоит из молекул фосфата кальция $[(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)_m]$, на поверхности которых ионы гидрофосфата (HPO_4^{2-}) окружены водно-белковой оболочкой, образующейся в избытке так называемых *потенциалопределяющих ионов* (рис. 16.15, а). Ионы кальция присутствуют в адсорбтивном и диффузном слоях мицеллы. Благодаря способности некоторых белков связывать кальций, ионы кальция перемещаются в диффузный слой, который усиливает стабильность мицеллы. Следует заметить, что стабильности коллоидных мицелл способствуют также физиологическая концентрация Na^+ и K^+ (рис. 16.15, б) и pH смешанной слюны, близкий к нейтральному.

Изменение состава, количества, pH слюны воздействует на структуру мицеллы и реминерализующие свойства слюны. Так, снижение pH вызывает протонирование фосфатных групп в потенциал-формирующем слое:



В результате отрицательный заряд мицеллы уменьшается; ионы кальция уходят из диффузного слоя, стабильность мицелл снижается, а вероятность их агрегации увеличивается. Слюна становится ненасыщенной кальцием и фосфатами и теряет способность к участию в реминерализации. Если pH ротовой жидкости длительное время составляет 6,2, то слюна превращается в *деминерализующую жидкость*.

Если pH увеличивается, то H_2PO_4^- быстро депротонируется. Далее ионы PO_4^{3-} взаимодействуют с кальцием, образуя плохо растворимую соль $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ — основу зубного камня:



Увеличение концентрации K^+ и Na^+ в смешанной слюне ведет к потере фосфатных ионов потенциал-формирующим слоем мицеллы и образованию растворимых солей (K_2HPO_4 и Na_2HPO_4). Они способствуют росту зубного камня. Этот процесс сопровождается изменением структуры мицелл, потерей их стабильности и их слиянием. Образование микрокристаллов увеличивает способность слюны к реминерализации. Такое же изменение кристаллической структуры наблюдается у пациентов с активным кариесом и в других патологических ситуациях.

Доставляя кальций, фосфат и другие ионы в эмаль зуба, слюна обеспечивает снижение микропространств в кристаллической решетке. По сути, слюна помогает контакту этих ионов с поверхностью эмали, и, если слюна насыщена ими, они диффундируют в эмаль. В период после прорезывания зубов именно эти процессы ведут к созреванию эмали и она приобретает твердость. Уплотнение или утолщение зубного налета лишает слюну возможности проявлять такое свое действие.

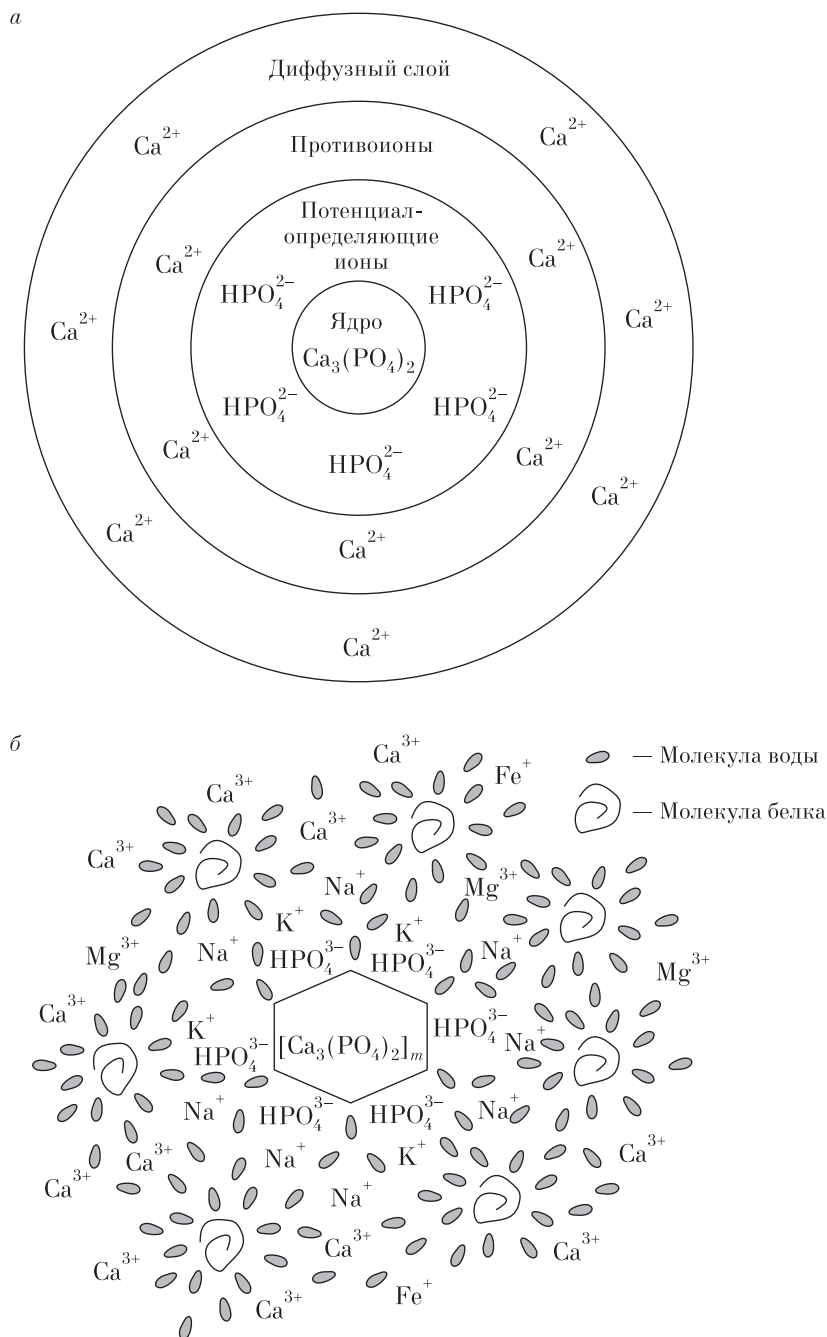


Рис. 16.15. Схематическое изображение мицеллы фосфата кальция:
a — ядро и слои мицеллы; *б* — молекулы белков, гидрофосфат-ион
и катионы металлов в составе мицеллы

16.7. Общая характеристика слюны и ротовой жидкости

В зависимости от характера пищи и природы микроорганизмов, в зубном налете могут реализоваться две противоположные ситуации:

1) формируется кислая среда, в которой происходит деминерализация эмали и развитие кариеса;

2) формируется щелочная среда. В таких условиях создаются условия для выпадения в осадок солей кальция и образования зубного камня.

Таким образом, высокая концентрация кальция и фосфатов в составе ротовой жидкости необходима для поддержания постоянства тканей зуба. Этот механизм включает три основных процесса:

- регуляцию pH;
- препятствие в растворении эмали зуба;
- включение ионов в минерализованные ткани.

Когда в плазме крови увеличивается концентрация ионов тяжелых металлов, происходит их выведение через слюнные железы. Поступив со слюной в ротовую полость, они взаимодействуют с выделенными микроорганизмами молекулами сероводорода с образованием сульфидов металлов. Так появляется «свинцовая кайма» на поверхности эмали зубов.

На минерализующую функцию оказывает влияние и количество секретируемой слюны. Скорость слюноотделения колеблется в широких пределах (от 0,03 до 2,4 мл/мин) и зависит от разных факторов. Например, в ночное время количество слюны уменьшается, что способствует проявлению действия так называемых *кариесогенных факторов*. У людей с низкой секреторной активностью (*гипосаливация*) или полным отсутствием слюны (*ксеростомия*) кариес развивается значительно чаще.

16.7.5. Роль биохимического исследования слюны в диагностике заболеваний ротовой полости. Изменение состава жидкостей ротовой полости при различных патологических состояниях

В последнее десятилетие возросло внимание исследователей к изучению свойств слюнного секрета у человека. Это связано не только с бурным развитием аналитической техники, но и с растущим интересом к уникальным свойствам слюны и диагностическим возможностям, связанным с ней. Медиков вообще, и стоматологов в частности, привлекают доступность слюнной жидкости, возможность частого взятия проб и полная безопасность при этом для здоровья пациента. Основное же внимание исследователей сосредоточено на слюне как объекте исследования для диагностики патологических состояний разнообразных систем организма.

Нестимулированную смешанную слюну получают при сплевывании после полоскания ротовой полости. В выделившейся за определенное время слюне с учетом ее объема определяют вязкость, pH, содержание электролитов, ферментов, муцина, других белков и пептидов.

Количественный и качественный состав слюны зависит от физиологического статуса и возраста. Так, в слюне грудных детей до 6 мес. содержится в 2 раза больше ионов Na^+ по сравнению со слюной взрослого, что связано с процессами реабсорбции в слюнных железах. С возрастом в слюне увеличивается количество иммуноглобулина А, тиоцианатов и форм изоферментов амилазы.

Измерение концентрации гормонов в слюне позволяет оценить состояние надпочечников, гонадотропную функцию, ритмы образования и выделения гормонов. Слюну исследуют для оценки метаболизма лекарственных веществ, например фенбарбитала, препаратов лития, салицилатов, диазепама и др.

Изменение состава слюны наблюдаются при поражении слюнных желез. При хроническом паротите возрастает транссудация сывороточных белков, в частности альбумина, увеличивается секреция калликреина, лизоцима; их количество нарастает в период обострения. При опухолях меняется не только количество секретируемой слюны, в ней появляются дополнительные фракции белков, преимущественно сывороточного происхождения.

Хотя в составе слюны при кариесе не выявлено значительных отклонений, установлено, что у кариесрезистентных лиц содержание амилазы значительно выше, чем у кариесвосприимчивых. При кариесе увеличивается активность кислой фосфатазы, меняется активность лактатдегидрогеназы, снижается рН слюны и скорость слюноотделения.

Воспаление пародонта сопровождается повышением в слюне активности катепсинов D и В, других протеиназ. В слюне растёт активность АЛТ и АСТ. Для пародонтита характерно повышение активности гиалуронидазы, β -глюкуронидазы и ее ингибитора. Активность пероксидазы возрастает, а содержание лизоцима снижается. При воспалении периодонта и патологии слизистой оболочки полости рта активируется свободнорадикальное окисление, которое характеризуется увеличением в слюне количества малонового диальдегида и повышением активности супероксиддисмутазы. Из плазмы крови при кровоточивости десен, а также через десневую жидкость в слюну поступает глутатионпероксидаза, активность которой в норме не определяется. При маргинальном периодонтите также меняется активность нитратредуктазы и содержание нитритов. При периодонтите легкой и средней тяжести активность нитратредуктазы снижается, однако при обострении процесса, при тяжелом течении заболевания активность фермента возрастает по сравнению с нормой вдвое, а количество нитритов уменьшается в 4 раза.

16.8. Десневая жидкость

Десневая жидкость — это жидкое содержимое десневой бороздки¹. Представляет собой физиологическую среду сложного состава. В ней содержатся лейкоциты, эпителий, микроорганизмы, электролиты, белки, ферменты и т.д. За сутки в ротовую полость поступает 0,5–2,5 мл десневой жидкости.

У людей со здоровым периодонтом десневая жидкость представляет собой транссудат сыворотки крови, поэтому содержание минеральных веществ в десневой жидкости такое же, как и в плазме крови. Микробный состав десневой жидкости подобен таковому у зубного налета. Из десневой жидкости выделены многие ферменты, характерные для крови, эпителия слизистой. Важной особенностью является то, что через десневую бороздку в ротовую полость поступают лейкоциты. Поэтому десневую жидкость рассматривают как важную часть антимикробной защиты.

Белковый состав десневой жидкости и сыворотки крови одинаков. Количество общего белка в десневой жидкости составляет 61–68 г/л. Оно не меняется при развитии маргинального периодонтита и не зависит от степени тяжести воспаления и гигиены полости рта. В десневую жидкость из плазмы крови поступают альбумин и глобулины. Глобулины представлены ферментами, иммуноглобулинами и рядом других белков — компонентов систем комплемента и фибринолиза, лактоферрином.

Наиболее характерные ферменты лейкоцитов десневой жидкости, оказывающие защитное действие на ткани пародонта, — кислая фосфатаза (маркер лизосом), щелочная фосфатаза; различные гликозидазы, протеиназы (катепсины, эластаза, коллагеназа); лизоцим, фосфолипазы, миелопероксидаза и др. Они повышают проницаемость капилляров и облегчают дальнейший выход лейкоцитов, атакуют бактерии, разрушают клетку в целом (фосфолипазы, лизоцим). Щелочная фосфатаза необходима для выполнения фагоцитарной функции лейкоцитов.

При поражении периодонта десневая жидкость формируется за счет осмотической экссудации. В результате там накапливаются молекулы — продукты метаболизма бактерий и компонентов зубного налета.

¹ *Десневая бороздка* — узкое щелевидное пространство между зубом и десной, располагающееся от края свободной десны до эпителия прикрепления. Глубина варьируется в пределах 0,5–3,0 мм и составляет в среднем 1,8 мм; содержит жидкость.

16.9. Эмалевая жидкость

В зрелой эмали до 3,8 % воды, из них примерно 3,0–3,3 % составляет связанная вода, присутствующая в гидратной оболочке на поверхности кристаллов.

В незрелой эмали количество воды достигает 20 %, с возрастом ее объем уменьшается. Около 0,5 % приходится на свободную воду, располагающуюся в микропространствах.

Кристаллы гидроксиапатита создают в эмали эффект молекулярного сита, через которое в эмалевую жидкость проникают небольшие органические молекулы и минеральные ионы. Эмалевая жидкость распределяется неравномерно. В поверхностных участках эмали жидкости немного и ее количество увеличивается по направлению к эмалево-дентинной границе. В отличие от воды гидратных оболочек кристаллов, эмалевая жидкость более подвижна и ее можно удалить, прогревая зубные ткани при относительно невысоких температурах. Движение жидкости обусловлено капиллярным механизмом, и по жидкости диффундируют ионы и молекулы. Хотя эмаль не содержит клеток и не способна к регенерации, однако в ней постоянно происходит обмен веществ. В эмаль ионы поступают преимущественно из слюны, а также через дентин из пульпы зуба.

Предметный указатель

А

- Аденилатциклаза 46, 109, 110, 150, 171, 282, 286, 287, 298, 306, 379, 484
S-Аденозилметионин 208, 211–212, 247, 365
Аденозиндифосфат (АДФ) 52–54, 71, 113, 238–239, 427–433
Аденозин-5'-монофосфат (АМФ) 53–54, 222, 236–238, 427–429
Аденозинмонофосфат (цАМФ) 109–110, 184, 223, 265, 283–286, 292, 298, 365, 396, 465, 483
Аденозинтрифосфат (АТФ) 33–34, 52–57, 71–74, 81–87, 113, 223, 236–241, 245, 250, 256, 427
Адиipoциты 131, 169–171, 318, 319, 464
Адреналин 109–110, 131, 170, 208, 210, 212, 276, 305, 396, 406, 511
Адренорецепторы 282, 306
Азотистый баланс 188–191
Аквапорины 375, 508–509
Акромегалия 299
Активаторы 41–44, 198, 291, 383, 407–408
Аланин 16–18, 213–215, 341, 413, 448
Аланиновая трансаминаза 50, 203–204
Алкалоз 214, 359, 361, 374, 387–388
Алкогольдегидрогеназа (АДГ) 27, 124, 416
Альбумины 382–383, 411–413, 467, 469, 503, 513, 522, 523
Альдегиддегидрогеназа 340, 416
Альдолаза 112
Альдостерон 277, 307–308, 360, 374
Амелин 490–491
Амелобласт(ы) 487, 489–491, 493–497
Амелогенез 492–494
Амелогенин(ы) 489–492, 495–496
 α -Амилаза 98–100, 513, 515
Аминоацил-тРНК 258–261
Аминоацил-тРНК-синтетаза (АРСаза) 256, 258
Аминокислоты
~ активирование 257–258
~ всасывание 200–201
~ гликогенные 120, 206–207
~ дезаминирование 204–206
~ декарбоксилирование 208–212
~ заменимые 190, 207, 343
~ изоэлектрическая точка 18
~ кетогенные 206–207
~ классификация 15–17, 190
~ незаменимые 190, 208, 315
~ непротеиногенные 16
~ протеиногенные 15–16
~ свойства 17–18
 δ -Аминолевулинатсинтаза (δ -АЛС) 418
Амины биогенные 208–212, 305–306
Аммиак см. Ионы аммония/аммиак
Ангиотензины 374–378, 384
Андрогены 277, 295, 309, 482, 484
Анемия 87, 324, 419
~ Аддисона — Бирмера 350
~ В₁₂-дефицитная 348

~ гипохромная 340, 344, 369
 ~ железодефицитная 353, 369
 ~ макроцитарная 345, 350
 ~ мегалобластическая 241, 345
 ~ серповидноклеточная 272, 393
 Антивитамины 324–325, 337, 351
 Антикоагулянты 404–405, 441, 445
 Антиоксидантная система 128, 329, 331, 340, 352–353, 371
 Антиплазмин 194, 409
 Антитела 201, 381, 384, 436
 Антитрипсин 194, 198, 384, 404
 Антитромбин III 194, 404, 441
 Апатит(ы) 470–472, 492, 494, 503
 ~ гидроксипатит 365, 468–470, 476–479, 487, 488, 494–497, 500, 504–505, 524
 ~ карбонатный 471, 488, 493, 494
 ~ стронциевый 471
 ~ фторapatит 373, 471, 488, 494, 499
 Апобелки (апопротеины) 157–165
 Апоптомический путь 125–129
 Апофермент 28
 Апоферритин 368
 Аргиназа 27, 31, 216–217
 Аргинин 16, 17, 21, 27, 72, 216, 227, 263, 295, 315, 430
 Аргининосукцинат 216
 Аргининосукцинатаза 216–217
 АРСаза 256, 258
 Аспарагин 16, 72, 212–215, 442, 446, 503
 Аспартат 118, 216, 239–241, 433, 495
 Аспартаминотрансфераза (АсАТ) 50, 203–204
 Аспирин 43, 184
 Атеросклероз 136, 164–165, 169, 438
 АТФ см. Аденозинтрифосфат (АТФ)
 Ca²⁺-АТФаза 288, 363, 475
 АХАТ см. Холестеролацилтрансфераза
 Ацетальдегид 124, 416
 Ацетил-КоА 52, 56, 61, 67, 84, 165–173, 177, 184, 206, 412, 433

Ацетил-КоА-карбоксилаза 178, 351, 433
 Ацетилхолин 337, 341, 354, 427, 436, 510–511
 Ацетоацетат 185–187, 382, 412
 Ацетоацетил-КоА 184–187, 206
 Ацетоацетил-КоА-трансфераза 185
 Ацетон см. Тела ацетоновые (кетонные)
 Ацидоз 123, 214, 305, 359, 361, 374, 387–388, 397
 Ацилглицеролы 143–144
 Ацил-КоА 66, 79, 86, 155, 170, 172–176, 339
 Ацил-КоА-карбоксилаза 292
 Ацил-КоА-синтаза 155–157, 169, 176–182, 292
 Ацилпереносающий белок (АПБ) 178–182
 Ацилтрансфераза 155

Б

Белки 14, 18–23, 191–193, 255, 314, 382–385, 448, 458–460, 487, 489–492, 515
 ~ G-белки 278, 281–283, 287
 ~ богатые пролином 497, 515–518
 ~ гидроксирование 263, 450–452
 ~ гидролиз 48, 190–198, 263, 495, 500
 ~ гликозилирование 450, 490, 497, 516
 ~ глобулярные 24, 424
 ~ конформация 21–22, 44, 48, 71, 280, 293
 ~ модификация 47, 263, 267, 490
 ~ негистоновые 226, 267
 ~ недостаточность 189, 316
 ~ обмен 188, 231
 ~ осаждение 24–25, 407, 420
 ~ переваривание 194–198
 ~ плазмы крови 382–385
 ~ простые 277
 ~ растворимость 24–25
 ~ свойства 24–25
 ~ структура 18–23
 ~ вторичная 20–21
 ~ надвторичная 21

Предметный указатель

~ первичная 18–19
~ третичная 21–22
~ четвертичная 23–24
~ точка изоэлектрическая 18, 24
~ фосфорилирование 284–286, 290–293, 375, 434, 502–503
~ функции 382
~ ценность биологическая 314–316
~ электрофорез 18, 382–383, 385
Белковая потребность 188–189
Белково-углеводные комплексы 438–448
Белок-репрессор 264–265
Бери-бери 324, 338
Билирубин 130, 382–383, 420–422
Биотин *см.* *Витамин Н*
Биоэнергетика 51–55, 64–84
Болезнь
~ Аддисона — Бирмера 350
~ Паркинсона 212
Брожение спиртовое 124
Брушит 469, 500
Буферные системы 386–387, 514–515

В

Вазопрессин 277, 286, 297–298, 374–376, 509
Валин 16–17, 21, 315, 337, 349, 429
Взаимодействия
~ гидрофобные 21, 27, 356
~ ионные 21, 23, 27, 447–448
Викасол 403
Витаминоподобные вещества 353–354
Витамины 323–353
~ А (ретинол) 141, 325–330, 417
~ В₁ (тиамин) 67–68, 124–126, 336–338, 365
~ В₂ (рибофлавин) 65–68, 338–339
~ В₅ (пантотеновая кислота) 341–343, 352
~ В₆ (пиридоксин) 202–203, 208, 325, 343–344
~ В₉ (В₁₂, фолиевая кислота) 42, 160, 236, 339, 344–347

~ В₁₂ (кобаламин) 160, 176, 336, 347–350, 417
~ С (аскорбиновая кислота) 63, 88, 130, 351–353, 417, 451–452
~ D (кальциферол) 63, 141, 332–335, 417, 483–484
~ Е (токоферол) 141, 330–332, 417
~ Н (биотин) 120, 178, 350–351, 365
~ К (нафтохинон) 332, 402–403, 405, 417
~ РР (никотиновая кислота) 64–65, 339–341, 417
~ классификация 325
Витлокит 469, 500
Внеклеточная жидкость 472–473
Внеклеточный матрикс 437–438, 445, 458
Водно-минеральный обмен 355–379, 374–378
Воски 144–145
Восстановительный путь 125
Высаливание 24

Г

Галактоза 92, 99–100, 149–150, 442, 452
Галитоз 199, 499
ГАМК *см.* *Кислота γ-аминомасляная (ГАМК)*
Ганглиозиды 92, 149–150
Гаптоглобин 383, 419
Гастрин 287
Гексокиназа 27, 103–104, 106, 115, 117, 292
Гем 78, 294, 348, 366–367, 390, 417–422
Гемоглобин 116, 344, 366, 389–393, 417–419
~ буферные свойства 386–387
~ распад 419–420
~ четвертичная структура 23–24, 390–391
Гемосидероз 369
Гемостаз 394–403, 406–409
~ коагуляционный 397–401
~ сосудисто-тромбоцитарный 395–397

- Геном 226, 248, 264–265, 270–273, 370, 436
- Гены
- ~ мутация 248, 250, 272–273, 375, 393, 436, 459
 - ~ оператор 264–265
 - ~ регулятор 264
 - ~ структурные 263–264
 - ~ экспрессия 264–265
- Гепарин 130, 404–405, 439–441
- Гетерополисахариды 96
- Гиалуронат см. *Кислота гиалуроновая*
- Гибридизация 269, 271–273
- Гидроксизин 352, 448–453, 455, 457, 497
- Гидроксипролин 352, 448–451, 457, 497
- Гидролазы 33
- Гидролиз 33, 54, 61, 98, 152–154, 191–194, 477
- Гипервитаминозы 324, 329–330, 332, 335, 339, 353
- Гипергликемия 104, 132, 292, 305
- Гиперкалиемия 359–360
- Гиперкальциемия 364
- Гипермагниемия 362
- Гипернатриемия 358
- Гипертиреоз 132, 303
- Гиперурикемия 232
- Гиперфосфатемия 365
- Гиперхлоремия 361
- Гиповитаминозы 323–324, 329, 332, 335, 337, 339, 340, 343, 344, 345, 349, 351, 353, 403
- Гипогликемия 132
- Гипокалиемия 360
- Гипокальциемия 364
- Гипоксия 87, 219, 347, 388, 397, 418
- Гипомагниемия 362
- Гипонатриемия 358
- Гипофосфатемия 365
- Гипохлоремия 361
- Гистамин 208–209, 212, 276, 282, 344
- Гистатин(ы) 497, 515
- Гистидин 17, 189, 209, 276, 315, 390, 489
- Гистоны 227–228, 267
- Гликоген 94, 95, 105–110, 131, 134, 413, 431–432
- Гликогенез 106–107, 131, 304–306
- Гликогенолиз 107–110, 212, 306, 320, 432
- Гликогенсинтаза 106–107, 131, 304–305
- Гликогенфосфорилаза 107–110, 131, 305
- Гликозаминогликаны (ГАГ) 96, 439–442, 473
- Гликозилирование 164, 443, 450, 490, 497
- Гликолиз 23, 54, 104, 111–117
- Гликолипиды 89, 149–150
- Гликолитическая оксидоредукция 113–115
- Гликопротеины 89, 96, 277, 438, 446, 467, 482, 515
- Гликохолевая кислота 151–152
- Глицерол 105, 155, 169–171, 320–321, 413, 509
- Глицерофосфолипиды 145–149
- Глицин 16
- Глобулины 382–384, 411, 513, 523
- Глутамат см. *Кислота глутаминовая*
- Глутаматдегидрогеназа (ГДГ) 50, 205–206
- Глутамин 16, 213–214, 236–240, 412
- Глутатион 128, 201, 352, 365
- Глутатионпероксидаза 128, 331, 371, 522
- Глутатионредуктаза 339
- Глюкагон 59, 109–110, 131, 277, 286, 305, 317, 320, 483
- Глюкогенез 304–305
- Глюкоза 89–90, 104–105, 131, 316, 382, 433, 514
- ~ окисление 111–118
 - ~ транспорт 101–103
 - ~ фосфорилирование 103–104
- Глюкозный транспортер (ГЛЮТ) 102–103

Предметный указатель

Глюкозо-6-фосфат 44, 52, 103–104, 111, 121, 128, 131, 413
Глюкозо-6-фосфатаза 120, 121, 123, 131, 413
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа 126, 128, 340
Глюкозурия 132–133
Глюкокиназа 103–104, 106–107
Глюкокортикоиды 132, 184, 295, 308, 444, 483
Глюконеогенез 104, 119–123, 320
Глюкуроновый путь 129–130
ГМФ см. Гуанозинмонофосфат
Гомополисахариды 94–96, 97, 500
Гомоцистеин 345, 347, 348
Гонадотропины 298
Гормон(ы)
~ адrenокортикотропный (АКТГ) 170, 277, 286, 298, 307–308
~ белково-пептидные 277
~ гипоталамуса 286–287, 296–297
~ гипофиза 286–287, 298–300
~ железы поджелудочной 304–305
~ железы щитовидной 85, 296, 300–303, 483
~ женские 309–312
~ мужские 309–310
~ надпочечников, коркового слоя 305–306
~ половые 306, 309–312, 484
~ производные аминокислот 276, 305
~ стероидные 277, 295–296, 306–312
График Лайнуивера — Берка 40
Грелин 317–318
Группа простетическая 76
Гуанилатциклаза 279, 295, 329
Гуанин 220, 222, 232, 236
Гуанозин 222, 232
Гуанозинмонофосфат циклический (цГМФ) 223, 279, 283, 285, 294–295, 328–329
Гуанозинтрифосфат (ГТФ) 52, 223, 250, 256

Д

Дегидрогеназы 31, 64–66, 79
Дезаминирование аминокислот 204–206
Дезоксирибоза 91, 222–223, 224
Дезоксирибонуклеотиды 225, 241–243, 246
Декарбоксилазы аминокислот 208, 344
Декарбоксилирование 33, 208
~ глутамата 208
~ α-кетокислот 70
~ окислительное 61, 67–69, 118
~ пирувата 67–69, 124
Декстраны 97, 98, 134
Дентин 486, 487, 493, 501–503
Дентиногенез 501, 502–503
Десневая бороздака/жидкость 523
2,3-Дифосфоглицерат (2,3-ДФГ) 116, 117, 389
Домены 21
Дыхание тканевое 63, 66, 73–74, 77, 81

Е

Еноил-редуктаза 181
Енолаза 113

Ж

Железа
~ парацистовидная 276, 364, 378
~ поджелудочная 152, 194, 276, 304–305, 354
~ щитовидная 85, 132, 263, 276–277, 296–298, 300–312, 364, 371, 379
Железо 366–369
~ гемовое 128, 366, 367
~ комплексы с белками 74, 368
~ негемовое 74, 366, 367
Желтуха 422
Желчные кислоты 151–152, 164, 412, 417
Желчные пигменты 417–422 см. также Билирубин
Желчь 130, 164, 348, 363, 368, 417, 421

Жирные кислоты 85, 138–139, 412, 429, 432–433

~ активирование 171

~ биосинтез 176–182

~ внутриклеточный обмен 171–184

~ всасывание 154

~ высшие 138

~ незаменимые 139, 144

~ ненасыщенные 138–139

~ β -окисление 171–175

~ транспорт 154, 159, 172

~ удлинение цепи 182

Жировая ткань 103, 158–159, 169

З

Зуб(ы) 486–524

Зубной камень 500

Зубной налет 135, 498–500

И

Изоаллоксазин 65–66, 338

Изолейцин 16, 17, 315, 337, 349, 429

Изомеразы 31, 33

Изопреновые единицы 166

Изоферменты 23–24, 115, 522

Иммуноглобулины 384, 446

Ингибирование 41–43

Ингибиторы

~ синтез белка 267

~ трипсина 194

~ факторов свертывания крови *см. Анти-коагулянты*

~ ферментов 41–43

Инозитол-1,4,5-трифосфат (ИТФ) 288, 354

Инозитол-1,4,5-фосфат 365

Инсулин 131, 277, 290–293, 304–305, 318–319

Инсулиноподобный фактор роста 1 (ИФР-1) 485

Интегрины 466

Интерлейкины 485

Интерфероны 384–385

Интроны 251, 254–255, 269, 489

Ионы аммония/аммиак 204, 205, 212–218, 235, 240, 412

ИТФ *см. Инозитол-1,4,5-трифосфат (ИТФ)*

Й

Йод 298, 300, 357, 371, 372

Йодсодержащие гормоны 85, 296, 300–303, 483

К

Кадаверин 199

Калий 357, 358–360, 377, 514

Кальмодулин 288–289, 426, 435, 483, 511

Кальций 357, 363–364

~ вторичный посредник 288

~ фактор свертывания крови 401

Кальцитонин 277, 286, 300, 364, 378, 484

Кальцитриол 277, 334, 378–379, 467, 483–484

Карбамоилфосфат 215, 217, 240

Карбегемоглобин 391

Карбоангидраза 196, 515

Карбоксилирование 175, 263, 350, 467

Карбоксипептидазы 192, 198, 370

Карнес 133, 335, 373, 489, 499, 501

Карнитин 16, 34, 172, 352–354

Каротины 142, 324, 326–327

Катаболизм 56, 60–61

Каталаза 25, 32, 176, 205, 366, 370, 416

Катализ 25, 34–43, 41, 147, 192

Каталитический участок 26

Катехоламины 210–212, 287, 303, 305–306

Кератансульфат 439, 441, 442, 445, 467

Кератомалиция 330

α -Кетоглутарат 70, 72, 203, 205–207, 451

α -Кетокислоты 202–204, 207, 337, 343, 411, 413

Кетонемия 186

Предметный указатель

- Кетоновые тела 184–187
Кетонурия 186
Киназа фосфорилазы 109
Кислота
~ адениловая 222, 341
~ δ -аминолевулиновая 368, 418
~ γ -аминомасляная (ГАМК) 208–209, 212, 344
~ арахидоновая 139–140, 147, 182–184, 277, 316
~ аскорбиновая см. *Витамин С (аскорбиновая кислота)*
~ N-ацетилнейраминовая 150, 446–447
~ ацетилсалициловая см. *Аспирин*
~ гиалуроновая (гиалуронат) 130, 439, 444–445
~ гликохолевая 151
~ глутаминовая 16, 21, 201, 204, 205–206, 208, 213–214, 215, 263, 329, 403, 495
~ глюкоуриновая 94, 105, 129, 414, 421, 439
~ γ -карбоксиглутаминовая 401, 467, 473, 503
~ линолевая 139, 140, 316
~ линоленовая 140, 316
~ липовая 67–68, 70, 353, 365
~ молочная 197, 382, 427, 432, 433, 499, 514
~ мочева 218, 232, 234, 243, 382, 427
~ никотиновая см. *Витамин РР*
~ олеиновая 139–140
~ оротовая 240, 353
~ пальмитиновая 139, 140, 173, 177, 182
~ пантотеновая см. *Витамин В₅*
~ парааминобензойная (ПАБК) 42, 353
~ пировиноградная см. *Пируват*
~ рибонуклеиновая см. *РНК*
~ стеариновая 139, 140
~ тетрагидрофолиевая (ТГФК) 236–237, 242, 345
~ УДФ-глюкоуриновая 88, 129–130, 200, 414, 421
~ уксусная (ацетат) 94, 134, 177, 285, 416, 499
~ уридиловая 223, 240
~ фенилпировиноградная 50
~ фолиевая см. *Витамин В₉ (В_С, фолиевая кислота)*
~ фосфатидная 145–146, 155
~ фосфорная см. *Фосфат неограниченный*
~ фумаровая см. *Фумарат*
~ хенодезоксихолевая 151
~ холевая 151
~ щавелевоуксусная см. *Оксалоацетат*
~ яблочная 71
~ янтарная 42, 86, 382
Кислотно-основное состояние 359, 385–386
Клетчатка 92, 94, 101, 314
Клонирование 270–271, 489
Кобаламин см. *Витамин В₁₂*
Кобальт 347, 348, 357, 372, 417
Код (генетический) 256–257
Кодон 256–259, 261
Коллаген 427, 448–458, 473, 484, 503, 504–505
Комплекс
~ α -кетоглутаратдегидрогеназный 70, 71
~ дыхательной цепи 71, 74–87
~ пируватдегидрогеназный 26, 67, 69, 118, 174
~ фермент-субстратный 36, 39, 42, 44
Комплементарность 22, 25, 44, 226, 245, 254
Константа Михаэлиса 39, 40
Конфигурация 90
Конформация 21–22, 44, 48, 71, 279–280, 293
Концентрация протонов 196, 385, 476
Кортизол 277, 308, 484
Кортиколиберин 286, 296
Кортикостероиды 277
Кортикотропин см. *Гормон адrenoкортикотропный (АКТГ)*

Кофермент(ы) 28–31, 55
Коэнзим(ы)
~ А 67, 172, 341, 365
~ Q 75, 78, 79, 86, 402
Коэффициент фосфорилирования 84
Крахмал 92, 95, 98, 316
Креатин 218, 354, 382, 412, 427, 430
Креатинин 218, 382, 427, 431, 432
Креатинкиназа 23, 34, 50, 430, 431
Креатинфосфат 52, 365, 427, 429–431, 432
Кренинизм 302
Кровь
~ клетки 381
~ плазма 381–382
~ свертывание 394–403
~ состав 381–385
~ функции 380–381
Ксенобиотики 63, 88, 127, 130, 339, 414
Кутикула 489, 497
Кэп 254, 259
Кэпирование 253

Л

Лактаза 100
Лактат 23, 105, 111, 120, 123, 373, 413, 433
Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) 23, 31, 113, 115, 134, 340, 370, 522
Лактоза 92, 98–100, 264, 265
Лактоферрин 366, 497, 515, 517, 523
Лактулоза 93
Леваны 97, 98, 134
Лейкотриены 182, 184, 277, 308, 332, 485
Лейкоциты 184, 210, 370, 381, 512, 523
Лейцин 16, 17, 21, 315, 337, 349, 429
Лептин 317–319
Лецитин см. Фосфатидилхолин(ы)
Лецитинхолестеролацилтрансфераза (ЛХАТ) 163
Лиазы 31, 33, 48, 185, 307
Либерины 296

Лигазы 31, 33–34
Лизин 16, 199, 203, 227, 263, 315, 448, 476, 500
Лизосомы 43, 159, 161, 192, 447
Лизоцим 14, 513, 515, 517, 522, 523
Липаза 33, 46, 152–153, 160, 170
Липиды
~ классификация 137–150
~ неомыляемые 138–142
~ окисление перекисное 85, 329
~ омыляемые 142–150
~ переваривание 150–154
Липогенез 171, 175, 299, 308
Липолиз 170–171, 187, 292, 299, 305, 308
Липопротеинлипаза 148, 158–159, 331, 411
Липопротеины 157–165, 331

М

Магний 357, 361–362, 488
Макроглобулин 189, 198, 370, 384, 404, 409
Макроэлементы 41, 357–365
Макроэрги 52, 54, 222, 430
Малат 71, 73, 78, 120, 121, 218
Малатдегидрогеназа 23, 340
Малонат 42, 86
Малонил-КоА 175, 177–179, 181–182, 351, 433
Мальтаза 100
Мальтоза 93–94, 98, 316
Марганец 357, 371–372
Мевалонат 166–168
Медь 78, 357, 369–370, 489
Мезобилирубин 421
Меланин 370
Меланотропины 277
Мессенджеры (посредники) 147, 283–284
Метаболизм 55–60, 319–329
~ интеграция 319–323

Предметный указатель

~ межорганний 319–322
~ регуляция 44–46, 317–319
Металлопротеины 264, 416
Метгемоглобин 128, 392
Метилкобаламин 28, 347–350
S-Метилметионин 354, 365
Метионин 16, 17, 160, 199, 212, 315, 348, 349, 371, 432
Методы молекулярной биологии 268–273
Микросомное окисление 414–416
Микроэлементы 41, 357, 366–379
Микседема 303
Минерализация 472–478
~ костной ткани 317, 464, 473–478
~ эмали 494–497
Минералокортикоиды 295, 377
Минеральные вещества 314, 316, 357–374, 427, 488
Миоглобин 366, 417, 424
Митохондрии 73–74
~ дыхание 73, 83
~ ингибиторы 86–87
Мицеллы 154, 518–521
Монетит 469, 500
Моноаминоксидаза(ы) (МАО) 212, 339, 370
Моноацилглицеролы (МАГ) 153, 155–156, 319
Мононуклеотиды 220, 223, 232
Моноксигеназы 32, 63, 414
Моносахариды 89–92, 94, 100, 128, 316, 356
Моча 215, 355, 374, 422, 432
Мукополисахариды 48, 96, 447
Мукопротеины 438, 446
Мутации 248, 250, 272–273, 436
Муцин(ы) 447–448, 515

Н

Надпочечники 142, 305–312, 377
~ корковое вещество 306–312
~ мозговое вещество 132, 211, 305–306

Насос протонный 82, 196, 475–477
Натрий 101, 357–358, 392, 514
Недостаточность белковая 189, 316
Никотинамидадениндинуклеотид (НАД) 29, 64–65
Норадреналин 170, 208, 210–212, 276, 305–306, 396, 406, 511
Нуклеация 469, 472–473
Нуклеиновые кислоты 14, 89, 220, 231–232, 258
~ строение 220–225
~ функции 224–230
Нуклеозиды 221–222, 232
Нуклеопroteины 220–243
Нуклеосомы 227
Нуклеотидазы 232
Нуклеотиды 220–243
~ пиримидиновые 221–224, 234–235, 239–241
~ пуриновые 221–224, 232–234, 236–239

О

Обезвреживание аминов
~ аммиака 213–217
~ билирубина непрямого 130, 420–421
~ ксенобиотиков 130, 414
Обмен азотистый 188–219, 427
Оболочка гидратная 24
Одонтобласты 487, 490, 501
 β -Окисление 171–175
Окисление биологическое 61–66
~ микросомальное 63
~ свободное 64
Оксалоацетат 61, 71–72, 119–121, 206–207, 218
Оксигемоглобин 389–392
Оксигеназы 31–32, 62
Оксидаза(ы) 27, 31, 77, 204, 344, 383, 416
Оксид азота 294, 512
Оксидоредуктазы 31, 63, 77–78
Окситоцин 277, 287, 297, 298

Октакальцийфосфат 469, 500
Олигосахариды 92–94, 446
Орнитин 216
Основания азотистые 218, 220–226
~ минорные 221
~ пиримидиновые 221–222, 239–241, 248–249
~ пуриновые 221, 236–238, 427
Остеобласт(ы) 148, 464–466, 474, 476–485
Остеогенез 335, 464–466, 476
Остеокальцин 465, 467, 484
Остеокласты 464–466, 478, 483–484
Остеонектин 438, 467, 473, 476, 484, 503
Остеопонтин 467, 484
Остеопороз 335, 373, 484–485
Остеоцит(ы) 463, 465–466, 476

П

Паратирин 335, 362, 364, 378–379, 474
Пектин 95, 101, 314
Пеллагра 324, 340
Пелликула 497–498
Пентозофосфатный путь 125–129
Пепсин 38, 48, 192–194, 196–198
Пепсиноген 194, 196, 198
Пептидная связь 19–23, 191–192
Переаминирование 202–204
Периодонт 486, 504
Пероксидазы 32, 517, 522
Пероксисомы 416
Пигментная ксеродермия 250
Пиридоксальфосфат 208, 343–344, 418, 453
Пиридоксин 325, 343–344
Пируват 66–68, 134, 177, 382, 427, 432, 514
~ в синтезе глюкозы 105–110, 119–122
~ декарбоксилирование *см. Декарбоксилирование окислительное*
Пируватдегидрогеназа 26, 67–68
Пируватдекарбоксилаза 124
Пируваткарбоксилаза 72, 120

Пируваткиназа 113
Пищеварение
~ полостное 61, 194
~ пристеночное 61, 99, 194
Плазмиды 271
Плазмин 48, 194, 401, 404, 406–409
Плазминоген 383, 395, 406–409
Подагра 232–234
Поджелудочная железа *см. Железа поджелудочная*
Полиаденилирование 253–254
Полимеразная цепная реакция (ПЦР) 271–273
Полипептиды 277, 298, 304–305, 317, 379
Полирибосомы 443
Полисахариды 94–98
Полиурия 305
Порфирины 30, 72, 366, 418–419
Порфирия 419
Посредники *см. Мессенджеры (посредники)*
Праймер 246–247, 250, 271
Прегненолон 298, 306–307
Принцип комплементарности 226, 249, 256
Провитамины 324
Прогестерон 277, 295, 307, 309, 311
Проинсулин 304
Прокариоты
~ регуляция транскрипции 250
~ рибосомы 229
Пролин 16, 17, 19, 208, 448–451, 516
Промотор 250–253, 264
Простагландины 182–184, 485
Простациклины 144, 183–184
Протеиназа 192, 495, 523
Протеинкиназа(ы) 284–286
~ А 286–287
~ В 292
~ С 285, 292

Предметный указатель

~ G 285
~ цАМФ-зависимая 284, 292
Протеины *см. Белки*
Протеогликаны 89, 96, 438, 439–441
Протеолиз 191–194
~ ингибиторы 193
~ неограниченный (тотальный) 191
~ ограниченный 191, 263
Протеолитические ферменты 192
Протромбин 383, 394, 397–399, 403, 409
Процессинг 255, 442, 450, 453–455
Путресцин 199
Путь метаболический 55–60

Р

Разобшение 84–85
Разобщители 85
Реакция анаплеротическая 350
Резорбция 378, 464–466, 476–485
Репарация 248–250
Репликация 245–248
Репрессоры 123, 251, 264–265, 280, 296
Ресинтез
~ триацилглицеролов 155
~ фосфолипидов 155–156
Рестриктазы 268–269, 271–273
Ретикулоциты 368, 418
Ретровирусы 269
Рецепторы
~ адренергические 286–287
~ гормонов 275–306
~ инсулина 290–293
~ классификация 277–281
~ мембранные 278–279, 286–294
~ тирозинкиназы 290–294
~ ядерные 277–278, 296, 310
Рибитол 338
Рибоза 91, 222, 223, 224, 241
Рибозимы 14, 229, 261
Рибонуклеотиды 220–222, 241, 251
~ синтез 235

Рибосомы 229, 256, 261–262
Рибофлавин 338–339
Рилизинг-факторы 296
РНК
~ биосинтез 250–253
~ вирусная 269
~ матричная (информационная) 229–230, 256
~ модификация 263
~ рибосомная 229
~ сплайсинг 253–255
~ структура 224, 229
~ вторичная 230
~ первичная 224–225, 230
~ третичная 229–230
~ транспортная 229–230, 256
~ ядерная 229
РНКаза 231–232
РНК-полимераза 250–254, 266
~ ДНК-зависимая 250
~ субъединицы 229
РНК-праймеры 246–247
Родопсин 327–328
Ротовая жидкость 507–521

С

Саркомеры 423, 436
Сахараза 100, 101
Сахарный диабет 125, 304
Сахароза 93, 316
Свободные радикалы кислорода 64
Связь
~ водородная 21, 23, 27, 245, 352, 356, 448–449
~ гидрофобная 27
~ гликозидная 93–94, 99, 105, 221, 237, 439, 442, 447, 517
~ дисульфидная 19, 21–22, 163, 304, 329, 384, 458
~ ионная 23, 27, 447
~ ковалентная 19, 21, 345
~ нековалентная 21, 23

~ пептидная 19–21, 191–192
~ фосфодиэфирная 224–225, 245
Селен 301, 329, 331, 357, 371
Серин 17, 43, 147, 208, 442, 447, 476, 500, 503
Серотонин 208, 209, 276, 317, 344, 352, 395
Сиалопротеин 465, 467, 474, 484
Синдром Вернике—Корсакова 338
НО-Синтаза 295, 312
Синтаза жирных кислот 178
Синтез белка 255–263
~ ингибиторы 267–268
Синтез жирных кислот 176–182
Система(ы)
~ аденилатциклазная 286–287, 375, 483
~ антикоагулянтная 404–405
~ крови буферные 385–388
~ ренин-ангиотензин-альдостероновая 377–378
~ фибринолитическая 406–409
Сквален 142, 168–169
Скорбут *см.* Цинга
Слюна 447, 507–512
Сок желудочный 194–196
Соляная кислота 194–196
Соматолиберин 296, 299
Соматомедин 299
Соматостатин 297, 304, 317
Соматотропин (СТГ) 277, 299–300, 483
Сорбит 105, 125, 135
Сорбитолдегидрогеназа 125
Специфичность действия 27
~ абсолютная 27
~ групповая 27
~ клеточная 23
~ органный 23–24
~ стереохимическая 27
~ субстратная 25, 27
Спирты высшие 141
Сплайсинг 253–255
Статгерин 515

Стеркобилин 421–422
Стеркобилиноген 421–422
Стероиды 141–142, 277, 309
Стрептокиназа 408
Субъединицы 229
Сукцинат 42, 61, 71–73, 79, 86
Сукцинатдегидрогеназы 42, 71, 86
Сукцинил-КоА 52, 70–73, 175, 185
Сульфолипиды 142, 149–150
Сульфотрансферазы 414, 444
Супероксид-анион 64, 127
Супероксиддисмутаза 370, 372, 522
Сурфактант легких 148
Сфингозин 148–149
Сфинголипиды 145, 148–149
Сфингомиелины 149, 354

Т

Таурин 151, 365
Тафтелины(ы) 489–491
ТГФК *см.* Кислота тетрагидрофолиевая
Тела ацетоновые (кетонные) 24, 136, 184–187, 382
Теломераза 247–248
Теломеры 247
Теория
~ Кошленда 27–28
~ окислительного фосфорилирования 83
Термогенин 85, 318
Терпены 142
Тестостерон 309–310
Тиамин *см.* Витамин B₁
Тимин 221, 223, 235
Тиреоглобулин 300–301
Тиреолиберин 287, 296
Тиреотропин 89, 277, 286, 298, 301–302, 446
Тирозин 16, 17, 18, 199, 209, 211, 263, 276, 290, 292, 300, 301, 305, 316, 352, 372, 414, 448, 490
Тирозинкиназа 278, 293, 304
Тироксин 85, 132, 276, 300, 301, 372

Предметный указатель

Токоферол 330–331
Трансаминазы 202–203, 212
Трансаминирование 202–204
Транскетолаза 126, 337
Транскортин 277, 308, 311, 411
Транскриптон 250, 265
Транскрипция 250–255, 256, 264, 265, 483
~ инициация 251, 264
~ регуляция 43
Транслоказы 34, 83, 87, 172, 431
Трансляция 255–263, 267
Транспорт
~ кислорода/углекислого газа 389–393
~ электронов 54, 65, 80, 82–83
Трансферазы 31, 32
Трансферрин 311, 352, 366–369, 383, 420
Треонин 16, 17, 203, 263, 284, 286, 315, 349, 447, 476, 500
Триацилглицеролы
~ биосинтез 169–170
~ гидролиз 170–171
~ ресинтез 155–157, 319
Трипсин 31, 48, 153, 192, 194, 197, 198
Триптофан 16, 17, 18, 64, 199, 209, 276, 315, 340, 341, 352, 414, 448
Тромбин 48, 396–397, 397, 400, 404–406, 409, 410
Тромбоксан(ы) 182, 183, 277
Тромбоциты 381, 394–396, 399
Тропомозин 423, 424, 426, 428, 436
Тропонин 423, 424, 426, 428, 435, 436

У

Убиквитин 193, 228
Убихинон (убихинол) *см. Коэнзим Q*
Углеводы 22, 56, 88–135
~ классификация 89–98
~ переваривание 98–100
Уравнение
~ Лайнуивера — Берка 40
~ Михаэлиса — Ментен 39, 40, 45

Уридинмонофосфат (УМФ) 223, 240
Уробилиноген 421–422

Ф

ФАД *см. Флавинадениндинуклеотид (ФАД)*
Фактор(ы) белковые
~ инициации 256, 258–262
~ Касла внутренний 348
~ свертывания крови 263, 271, 312, 383, 394–395
~ терминации 261–262
~ элонгации 261
ФАФС *см. Фосфоаденозинфосфосульфат (ФАФС)*
3-ФГА 112
Фенилаланин 16, 17, 18, 199, 209, 210, 315–316, 352
Ферменты 14–50
~ активность 28, 36–41
~ аллостерические 45
~ влияние температуры 28, 37
~ внутриклеточные 204
~ гибридные 23
~ единицы активности 36
~ ингибиторы 41–44
~ кинетика реакций 36–40
~ классификация 31–34
~ клеточные 23
~ кооперативность 28, 44–45
~ механизм действия 35–36
~ pH-оптимум 37–38, 196
~ органспецифичные 23
~ протеолитические 47–48, 191–192
~ регуляция активности 43–48
~ специфичность действия 27
~ стереоспецифичность 27
~ субстратная 28
~ формы множественные *см. Изоферменты*
Ферритин 366–368, 411, 418, 420
Фибрин 48, 397, 399, 401, 405, 409

- Фибриноген 89, 383, 394–397, 399
Фибринолиз 191, 383–384, 401, 405–409
Фибронектин 308, 395, 400, 438, 445, 458–462, 467, 502
Филлохиноны 402–403
Флавинадениндинуклеотид (ФАД) 28, 31, 64–65
Флавиномононуклеотид (ФМН) 28, 31, 64–65
Флавопротеины 65, 66, 86, 415
Фолиевая кислота *см. Витамин B₉*
Фолиевые коферменты 236–237, 242, 345
Фоллитропин (ФСГ) 271, 277, 299
Фосфатаза
~ глюкозо-6-фосфата 109, 121
~ кислая 50, 467, 523
~ щелочная 50, 148, 417, 467–468, 523
Фосфатидилинозитол(ы) 145–146, 288, 292–293, 375, 475, 510
Фосфатидилсерин(ы) 145–148, 427, 475
Фосфатидилхолин(ы) 145, 145–147, 155, 163, 354, 427
Фосфатидилэтаноламин 145–147, 427
Фосфат неорганический 33, 121, 128, 222–223, 291, 509
3-Фосфоаденозин-5-фосфосульфат (ФАФС) 200, 223, 414–415, 444
2-Фосфоглицерат 113
3-Фосфоглицерат 113, 117, 121, 208
Фосфоглицераткиназа 113–114
3-Фосфоглицериновый альдегид 127–128
Фосфоглюкомутаза 106, 109
6-Фосфоглюконатдегидрогеназа 126, 128
Фосфоенолпируват 52, 113, 121
Фосфоенолпируваткарбоксикиназа 120–123, 302, 372
Фосфолипаза(ы)
~ A₁ 153–154
~ A₂ 145, 153–154, 291
~ C 153, 282, 287–288, 298, 375, 379, 484, 510
~ D 153–154
Фосфолипиды 145–149
~ гидролиз 153
~ синтез 155–156, 160
~ функции 147–149
Фосфопротеины 473, 476, 503, 517–518
Фосфор 335, 357, 364–365, 373, 378–379, 488, 499
Фосфорибозилпирофосфат 235–241
Фосфорилаза(ы) 108–110, 304
Фосфорилирование
~ окислительное 54, 81–87, 432
~ разобщение 84–85
~ субстратное 54, 71, 113, 432
~ фотосинтетическое 54
Фосфофруктокиназа 115–116, 122
Фрагменты Оказаки 246
Фруктоза 92, 99–100, 105, 316
Фруктозо-4,6-дифосфат 112, 116, 121–122, 134
Фруктозо-2,6-дифосфат 115, 116, 122
Фруктозо-1,6-дифосфатаза 120–123, 131
Фруктозо-6-фосфат 52, 105, 111, 115–117, 121, 127–128, 133
ФСГ *см. Фоллитропин*
Фтор 357, 373–374, 470–472, 488, 493–494, 499, 513
Фторопатиты 373, 470–471, 488, 494
Фумараза 71
Фумарат 42, 61, 71, 206, 217–218, 237
- Х**
- Хиломикроны 158–159, 319
Химотрипсин 31, 48, 192, 194, 197
Хиральный центр 90, 331
Хлориды 360–361, 513
Холестерол 141–142
~ биосинтез 166–169
~ свободный 157, 162–164, 306
~ эфиры 142, 153–157, 160–164
Холестеролацилтрансфераза (АХАТ) 155–156, 160–162

Холецистокинин 197, 287

Холин 353–354

Холинэстераза 148, 411

Холофермент 28

Хондроитинсульфат 353, 440–443, 445

Хромопротеины 327

ЦцАМФ *см.* Аденозинмонофосфат (цАМФ)цГМФ *см.* Гуанозинмонофосфат циклический (цГМФ)

ЦДФ-холин 155, 223

Целлюлоза 92, 94, 101, 314

Цемент 486–487, 504–506

Цепь дыхательная 60–61, 74–87, 119

Цереброзиды 92, 149–150

Церулоплазмин 368–369, 383

Цианиды 86–87

Цикл

~ Кори 123–124

~ Кребса 60, 69–73, 84, 119, 217, 237, 372

~ мочевинообразования 215–217

~ пентозофосфатный 125–128

~ трикарбоновых кислот (ЦТК) 69–73, 84, 217

Цинга 324, 353, 452

Цинк 264, 357, 370–371, 471, 488

Цистатины 515

Цистеин 16, 17, 74, 179–181, 263, 316

Цитидинмонофосфат (ЦМФ) 223

Цитозин 221, 223, 228, 248

Цитохромоксидаза 78, 370

Цитохромы 63, 77–78, 80–81, 86–87

Цитрат 44–45, 70–71, 177

Цитруллин 16, 215, 217

Ш

Шапероны 280, 310, 312

Шифр фермента 34

Э

Эйкозаноиды 139, 182–187, 277–278

Экзопептидазы 192

Эластаза 48, 192, 194, 197, 457, 523

Эластин 427, 438, 456–458

Электрофорез 268, 272–273, 382–383

Эмалевая жидкость 524

Эмаль 486, 487–501, 506, 518–519, 524

Эмульгирование жира 150–151

Эмалины 489–492

Эндонуклеазы 232, 249, 268

Эндопептидазы 192, 194

Эндоплазматическая сеть 465

Эндорфины 317

Эндоцитоз 159, 161, 164, 275

Энергетический обмен 51–87

Энергия 34–35, 51–87, 429–431

Энзимодиагностика 49–50

Энзимопатии 50, 101

Энтерокиназа 198

Энтероциты 101, 154, 157, 319–320, 369, 483

Эпитаксис 473

Эргокальциферол 141, 324–325, 332

Эритромицин 267

Эритроциты 102, 128, 370, 381, 387, 391, 393, 401

Эстераза 33

Эстрадиол 309–312

Эстрогены 277, 295, 299, 309–312, 464, 482, 484

Эстрон 309–310

Этанол 24, 124, 314, 337, 340, 416

Этаноламин 145, 147, 153, 160

Эукариоты 34, 178, 193, 229, 246, 250–260, 264–265, 269, 286

Я

Ядро клетки 220, 293

Учебное издание

Таганович Анатолий Дмитриевич
Девина Елена Анатольевна

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ В СТОМАТОЛОГИИ

Учебное пособие

Ответственный за выпуск *С.В. Исаенко*

Подписано в печать 21.12.2021. Формат 60×90 ¹/₁₆. Бумага офсетная. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 43,88. Уч.-изд. л. 36,62. Тираж 500 экз. Заказ

Общество с ограниченной ответственностью «Новое знание». Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/276 от 23.12.2015. Пр. Пушкина, д. 15а, Минск, Республика Беларусь. Почтовый адрес: а/я 79, 220050, Минск, Республика Беларусь.
Телефон/факс: (10-375-17) 360-20-02; e-mail: nk@wnk.biz; <http://wnk.biz>

Отпечатано в ООО «ХКФ Юнисофт». 61036, г. Харьков, ул. Морозова, 136
www.unisoft.ua

Свидетельство ДК № 5250 от 24.11.2016.