

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования Первый Московский государственный медицинский
университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения
Российской Федерации (Сеченовский Университет)



СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Е.Г. Зезеров

БИОХИМИЯ

наглядный курс

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ



МЕДИЦИНСКОЕ ИНФОРМАЦИОННОЕ АГЕНТСТВО

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования Первый Московский государственный медицинский
университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения
Российской Федерации (Сеченовский Университет)



СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Е.Г. Зезеров

БИОХИМИЯ: наглядный курс

Учебное пособие

*Рекомендовано Координационным советом по области образования
«Здравоохранение и медицинские науки» в качестве учебного пособия
для использования в образовательных учреждениях, реализующих
основные профессиональные образовательные программы высшего
образования по направлению подготовки специалитета*



Медицинское информационное агентство
МОСКВА
2019



УДК 61:577.1(075.8)

ББК 28.072я73

З-47

Получена положительная рецензия Экспертной комиссии по работе с учебными изданиями ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) № 370 ЭКУ от 17 мая 2018 г.

Автор

Зезеров Евгений Гаврилович — доктор биологических наук, врач, профессор по специальности «Биохимия», академик Российской академии естественных наук (РАЕН), лауреат Государственной премии СССР, профессор кафедры биохимии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, полковник медицинской службы.

Зезеров, Е.Г.

З-47 Биохимия: наглядный курс : Учебное пособие. — Москва : ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2019. — 280 с. : ил.

ISBN 978-5-9986-0355-6

Настоящее учебное пособие является кратким и компактным изложением курса биохимии для студентов разных факультетов Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Пособие составлено на основании опыта 29-летнего ежегодного чтения автором полного курса лекций, а также с учетом монографии Е.Г. Зезерова «Биохимия общая, медицинская и фармакологическая. Курс лекций» (Москва : «Изд-во «Медицинское информационное агентство», 2014, в книжном варианте 456 с.) с приложением аудиоварианта в исполнении автора на CD-ROM, в котором представлены лекции основного курса, а также дополнительные лекции «Биохимия атеросклероза» и «Биохимия алкоголизма». Настоящая монография служит по своей сути справочным пособием по биохимии и составлена в форме презентаций отдельных лекций.

Книга предназначена для студентов медицинских, фармацевтических вузов и врачей разных специальностей.

УДК 61:577.1(075.8)

ББК 28.072я73

ISBN 978-5-9986-0355-6

© Зезеров Е.Г., 2019

© ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 2019

© Оформление ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2019

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





Зезеров Евгений Гаврилович



Оглавление

Введение	6
1. Аминокислоты. Структура и функции белков	11
2. Сложные и олигомерные белки. Миоглобин и гемоглобин	20
3. Ферменты (структура, классификация, механизм действия, специфичность)	29
4. Регуляция активности ферментов. Ингибиторы, лекарства и ферменты. Энзимодиагностика	36
5. Нуклеиновые кислоты. Репликация и репарация ДНК	45
6. Биосинтез РНК (транскрипция) и белка (трансляция)	53
7. Ингибиторы матричных биосинтезов. Регуляция действия генов	62
8. Полиморфизм белков и генов. Молекулярная генетика	68
9. Мембраны клеток	76
10. Энергетический обмен. Цепь переноса электронов (ЦПЭ)	90
11. Общий путь катаболизма	99
12. Строение и переваривание углеводов. Метаболизм гликогена (первая Нобелевская премия в области биохимии — 1902 г.)	106
13. Гликолитический путь распада глюкозы	116
14. Глюконеогенез. Регуляция гликолиза и глюконеогенеза	123
15. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы. Обмен глюкозы в разных тканях. Изменение уровня глюкозы крови в норме и при патологии	132
16. Межклеточный матрикс	138
17. Липиды: структура, функции, переваривание и ассимиляция	146
18. Биосинтез жирных кислот и жиров	155



19. Мобилизация жира. Катаболизм жирных кислот. Кетоновые тела. Эйкозаноиды	163
20. Холестерол и его функции	172
21. Переваривание белков. Катаболизм аминокислот	185
22. Обмен аммиака. Биосинтез мочевины и заменимых аминокислот	193
23. Обмен алифатических, ароматических и гетероциклических аминокислот	201
24. Нуклеотиды. Метаболизм пуриновых нуклеотидов (первая Нобелевская премия в области биохимии — 1902 г.)	215
25. Пиримидиновые нуклеотиды. Дезоксирибонуклеотиды	220
26. Гормоны гипоталамуса, гипофиза, поджелудочной железы, надпочечников, щитовидной железы	224
27. Инсулин. Регуляция метаболизма в случае сахарного диабета и голодания	232
28. Роль гормонов в регуляции метаболизма воды и солей	241
29. Детоксикация ксенобиотиков. Катаболизм гема. Биотрансформация лекарств. Химический канцерогенез	250
30. Биохимия крови	259
31. Свертывание крови	268
Литература	273



Введение

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

В соответствии с официальными учебными программами для вузов РФ по многим дисциплинам, в том числе по «Биохимии», лекция для группы или потока студентов — первая и обязательная форма обучения перед практическими занятиями и индивидуальной работой преподавателя со студентом.

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

На основе собственного опыта 29-летнего чтения полных курсов лекций по биохимии студентам практически всех факультетов Первого МГМУ на русском и французском языке мною в 2014 г. был издан более



краткий и компактный курс из 34 лекций в книжном варианте (на 456 с.) и продублирован в виде авторского аудиоварианта на диске, который приложен к этой монографии (Зезеров Е.Г. Биохимия общая, медицинская и фармакологическая. Курс лекций. — М.: Изд-во «МИА», 2014. — 456 с. + CD-ROM). За прошедшие годы студенты нашего университета использовали с успехом эти учебные пособия, особенно для ускоренного или самостоятельного овладения курсом биохимии в случае длительного пропуска занятий и лекций по разным причинам.

Однако в связи с некоторым сокращением объема преподаваемых на 1-м курсе теоретических дисциплин и в связи с началом обучения студентов на кафедре биохимии с 1-го курса (вместо традиционного 2-го курса) ряд студентов должен отчасти опираться не только на знания, полученные ими в Первом МГМУ, но и на свои школьные знания по биологии и химии. Поэтому наряду с имеющимися у нас учебниками и учебными пособиями на 500–800 страницах целесообразно дать возможность некоторым студентам учиться по еще более компактным и более легкоусвояемым изданиям.

В этом плане мною подготовлен и предлагается в качестве учебного пособия данный сборник (на 278 страницах) в виде презентаций отдельных лекций. Это пособие составлено на основе изданной мною в 2014 г. монографии — курса лекций и с учетом последнего опыта работы со студентами в новых условиях.

Настоящий сборник презентаций лекций предназначен для студентов медицинских и фармацевтического факультетов Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, обучающихся по специальностям: 060101 65 «Лечебное дело», 060105 65 «Медико-профилактическое дело», 060103 65 «Педиатрия», 060301 (060108) 65 «Фармация». Каждая лекция содержит фрагменты общей биохимии (статическая, динамическая и функциональная биохимия), а также фрагменты, необходимые и актуальные для будущих врачей: молекулярные основы патологии человека, биохимические принципы и методы лабораторной диагностики заболеваний и их лечения, механизм действия лекарств. Эти разделы пополнены информацией, предоставленной крупными специалистами-биохимиками Москвы в процессе чтения ими лекций на элективе ММА им. И.М. Сеченова «Медицинская биохимия», которым я руководил и также читал лекции в течение 15 лет. Продолжительность одной лекции, как правило, один астрономический час (60 минут). Поэтому приходилось строго отбирать минимально необходимый материал и в отличие от учебников кратко и сжато объяснять сущность проблем, не дублируя основной учебник, не повторяя его длинных схем и не представляя длинных метаболических цепей с их формулами.



Наша кафедра была создана А.Д. Булыгинским в 1863 г. в составе медицинского факультета Императорского Московского университета. Первоначальное название кафедры — «кафедра медицинской химии и физики», а с 1884 г. — «кафедра медицинской химии». А.Д. Булыгинский работал в области биохимии пищеварения, изучал желчные кислоты и состав мочи. Считаю интересным сопоставить год (1890) создания аналогичной кафедры медицинской (физиологической) химии в Медико-хирургической академии в Санкт-Петербурге (позже Военно-медицинская академия), первым заведующим которой был А.Я. Данилевский. Он также оставил научные труды в области биохимии пищеварения и биохимии белков.

Я в качестве слушателя (студента) занимался в течение 5 лет научной работой (под руководством будущего академика АМН СССР и РАМН А.Н. Климова) на кафедре биохимии Военно-медицинской академии, которую закончил в 1957 г. Тема моих студенческих работ — реакции гликолиза, дыхание и синтез АТФ в связи с токсическим действием антибиотиков на организм человека. В последующие годы (1957–1990) в НИУ МО СССР под руководством академика АМН СССР и РАМН И.П. Ашмарина я занимался исследованиями в области биохимии и иммунохимии вирусов и риккетсий, за что в 1982 г. мне и троим ученикам моей научной школы была присуждена Государственная премия СССР. Часть соответствующих трудов (микрометоды биохимического анализа, выделение и критерии очистки нуклеиновых кислот микроорганизмов в связи с их биологической активностью, биохимический и иммунохимический состав некоторых вирусов и риккетсий в аспекте молекулярных или химических вакцин нового типа, биохимия анабиоза, биостатистика) опубликована в научных журналах и в монографии «Стандартизация методов вирусологических исследований» (М.: Изд-во «Медицина», 1974).

Перечисляю всех заведующих нашей кафедрой и соответствующие годы:

Булыгинский Александр Дмитриевич (1863–1907);

Гулевич Владимир Сергеевич (1907–1933), имя В.С. Гулевича носит наша кафедра;

Збарский Борис Ильич (1934–1952);

Мардашев Сергей Руфович (1952–1973);

Николаев Александр Яковлевич (1973–1994);

Северин Евгений Сергеевич (1994–2009);

Северин Сергей Евгеньевич (2009–2016);

Глухов Александр Иванович (с 2016 г.).

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



университета) и ее сотрудники имеют в своем активе научные труды в следующих разделах биохимии.

1. Мышечные белки — Иванов И.И., Обельчук Л.И.
2. Ферменты, строение и регуляция их активности — Мардашев С.Р., Березов Т.Т., Покровский А.А., Дебов С.С., Северин Е.С., Северин С.Е., Глухов А.И., Воспелъникова Н.Д., Силаева С.А., Волкова Н.П., Зезеров Е.Г., Андрианова Л.Е., Замятнин А.А.
3. Энзимодиагностика заболеваний человека — Мардашев С.Р., Березов Т.Т., Дебов С.С., Покровский А.А., Николаев А.Я., Буробин В.А., Северин С.Е., Глухов А.И., Лихачева Н.В.
4. Структура нуклеиновых кислот и нуклеопротеинов, репликация, репарация и денатурация ДНК, микроРНК — Дебов С.С., Вотрин И.И., Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В., Глухов А.И., Зезеров Е.Г., Москалёва Е.Ю., Голенченко В.А., Еремеева М.В., Замятнин А.А.
5. Теломераза — Глухов А.И., Северин С.Е., Лесничук С.А., Зезеров Е.Г., Поляковский К.А.
6. Полимеразная цепная реакция и ее использование в медицинской практике — Глухов А.И., Северин Е.С., Северин С.Е., Забежинская О.М.
7. Трансляция — Николаев А.Я., Вотрин И.И., Хасигов П.З., Зезеров Е.Г.
8. Генная инженерия — Дебов С.С., Вотрин И.И., Глухов А.И., Замятнин А.А.
9. Биохимия клеточных мембран, их рецепторов, каналов и белков-переносчиков — Голенченко В.А., Лесничук С.А., Бурт А.Ю., Тагилова А.К., Грызунова Г.К., Замятнин А.А.
10. Энергетический обмен, углеводы — Броуде Л.М., Северин С.Е.-старший, Губарева А.Е., Алейникова Т.Л., Зезеров Е.Г., Титова Т.А., Грызунова Г.К., Усай Л.И., Шлапакова Т.И.
11. Желчные кислоты, состав мочи, диагностическое значение анализа мочи — Булыгинский А.Д., Глухов А.И.
12. Патология обмена липидов, атеросклероз, перекисное окисление липидов, эйкозаноиды — Губарева А.Е., Зезеров Е.Г., Дендеберова Р.С.
13. Обмен аминокислот и белков — Збарский Б.И., Мардашев С.Р., Николаев А.Я., Северин Е.С., Березов Т.Т., Обельчук Л.И., Лихачева Н.В., Павлова Н.А., Авдеева Л.В.
14. Обмен гистидина — Мардашев С.Р., Буробин В.А., Федоров С.А., Осипов Е.В., Лихачева Н.В., Корлякова О.В.
15. Нуклеотиды и их обмен — Дебов С.С., Николаев А.Я., Силаева С.А., Авдеева Л.В., Силуянова С.Н., Глухов А.И.
16. Свертывание крови — Зыкова Е.С.
17. В области канцерогенеза (молекулярные механизмы, диагностика и лечение заболеваний) работали или работают Збарский Б.И., Дебов С.С.,



Мардашев С.Р., Васильев Ю.М., Северин Е.С., Северин С.Е., Глухов А.И., Зезеров Е.Г., Замятнин А.А., Силаева С.А., Белушкина Н.Н., Астахов Д.В., Родина А.В., Забежинская О.М., Поляковский К.А., Бутнару Д.В.

18. Гормоны, факторы роста, гормональная патология — Обельчук Л.И., Васильева И.В.

19. Биохимия обмена этанола и биохимия алкоголизма — Зезеров Е.Г., Дендеберова Р.С.

20. Биохимия иммунитета и иммунокомпетентных клеток — Москалёва Е.Ю., Зезеров Е.Г., Данилевский М.И., Косенков Д.А.

Е.Г. Зезеров
Москва, 2018 г.



Аминокислоты. Структура и функции белков

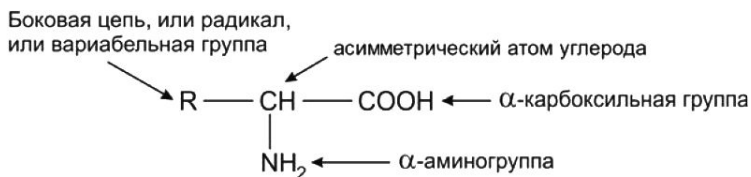
Две классификации АК

Аминокислоты (АК) — мономеры, формирующие полимер — белок. Надо знать две классификации АК:

1) химическая; общая формула АК (кроме пролина); частные формулы необходимо выучить по учебникам биоорганической химии или биохимии;

2) физико-химические свойства радикалов АК.

Общая формула аминокислот




Физико-химические свойства радикалов аминокислот

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



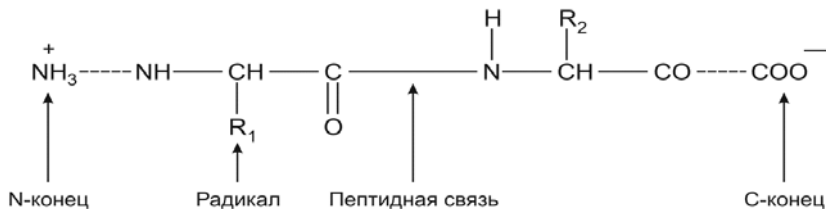
Строение белков

Виды различных структур белка

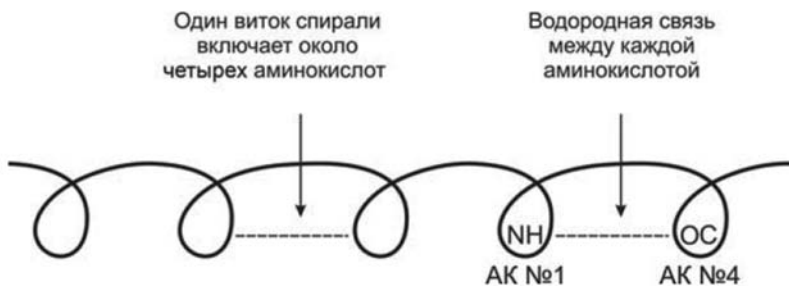
Структура Показатели	Первичная структура	Конформация одной пептидной цепи			Четвертичная структура (количество цепей — две и более)	
		вторичная структура	третичная структура (одна цепь)			
Понятие	Порядок чередования аминокислот в полипептидной цепи	Способ укладки полипептидной цепи в форме α-спирали или β-структуры	Пространственное укладывание полипептидной цепи, обусловленное межрадикальными взаимодействиями			
Связи, участвующие в формировании структуры	Пептидные	Водородные	Межрадикальные			
			дисульфидные	ионные		
Группы, участвующие в образовании связей	α-амино- и α-карбоксильные	α-спираль: NH-группа данного остатка аминокислоты и -CO-группа четвертого от него остатка в пептидном остовете. β-структура: NH-группа и CO-группа сближенных участков пептидного остова	Сульфидрильные или тиольные	Противоположно заряженные	Алифатические, ароматические	Группы, при сближении которых водород расположен между двумя электроотрицательными элементами
			$\text{—CH}_2\text{—SH}$	$\text{—NH}_3^+ \text{—} \text{OOC—}$	$\text{—CH}_3 \text{—} \text{C}_6\text{H}_5 \text{—}$	



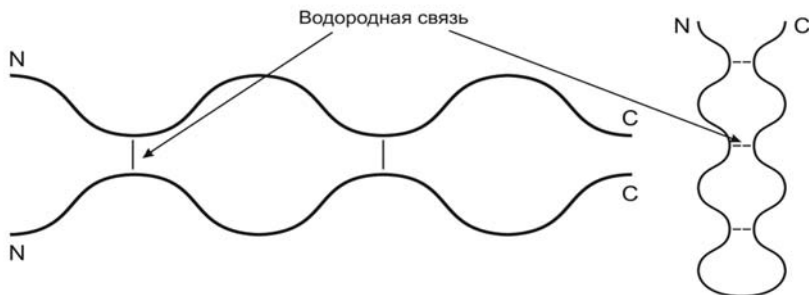
Первичная структура — последовательность АК в полипептидной цепи. АК соединены пептидной связью



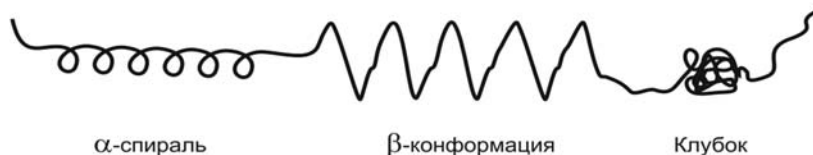
Вторичная структура (α-спираль)



Вторичная структура — бета (β)-складчатая структура (бета-конформация)

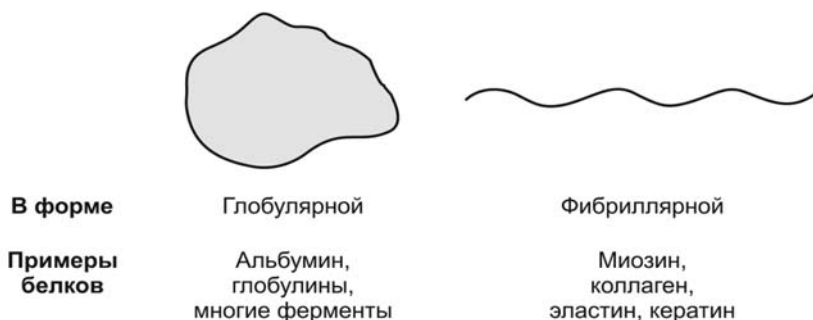


Варианты вторичных структур белка, образованных водородными связями пептидного остова —CO ---- HN—

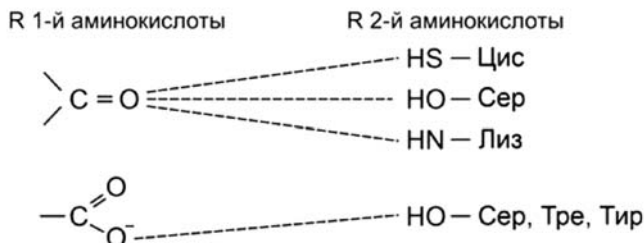


Третичная структура — это пространственные изгибы вторичных структур с участием водородных, ионных, дисульфидных связей и гидрофобных взаимодействий (связей).

Два варианта третичных структур, образованных межрадикальными связями



Особенности водородных связей третичных и четвертичных структур белка



Супервторичная структура

Существует неудачный термин — «супервторичная структура». В таких белках имеется специфическое сочетание элементов вторичной структуры, соединенных обычными междирадикальными связями. Поэтому это просто вариант третичной или четвертичной структуры белка. Например, положительно заряженные молекулы ядерных гистонов соединены между собой гидрофобными связями между радикалами лейцинов разных молекул.

Четвертичная структура

Четвертичная структура олигомерных белков, состоящих из двух и более полипептидных цепей, формируется при взаимодействии разных полипептидных цепей с помощью 4 междирадикальных связей: ионной, водородной, дисульфидной и гидрофобной.

Биохимия белков

Мы рассмотрели вопросы биоорганической химии белков. Теперь — биохимия белков, которая сводится к двум аспектам.

1. Первый аспект. Белки очень специфичны, и это их свойство обусловлено специфичностью их первичной структуры. Два фактора — 20 возможных кодируемых АК как мономеров в полимере-белке и множественные их сочетания. Вот причина специфичности белков по структуре и функциям.

Если в молекуле белка все 20 АК представлены однократно, то таких вариантов специфических молекул может быть 10^{18} .

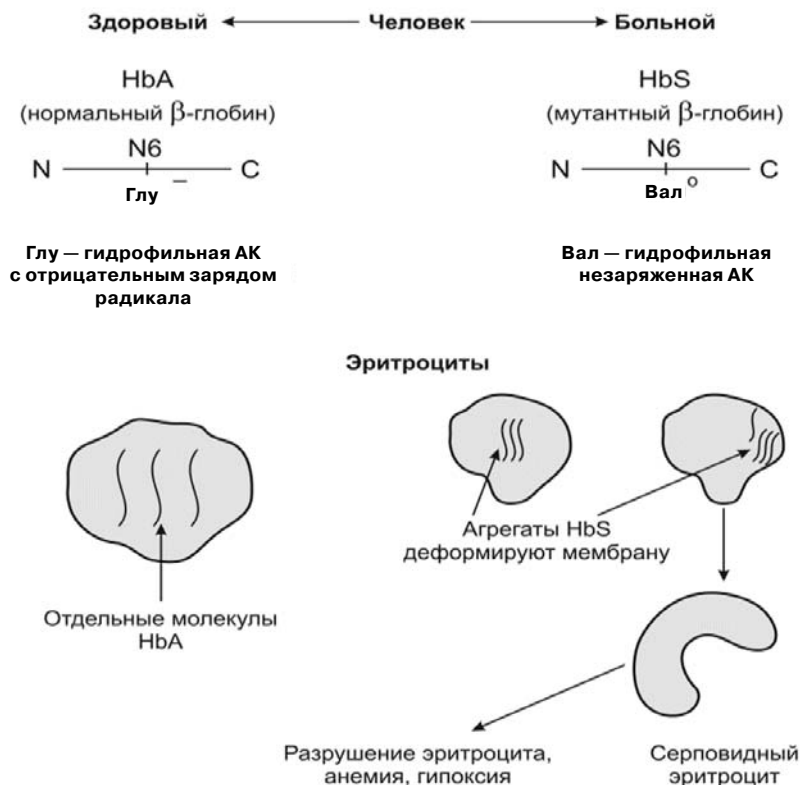
Примеры, демонстрирующие роль первичной структуры белка

Первый пример

Замена всего одной АК (Глу на Вал) в гемоглобине HbA увеличивает гидрофобность молекулы. Возникают агрегаты молекул HbS (рисунок), которые деформируют мембрану эритроцита, что приводит к образованию серповидной формы клетки и разрушению части из них (гемолизу). Так развивается серповидно-клеточная анемия.



Серповидно-клеточная анемия



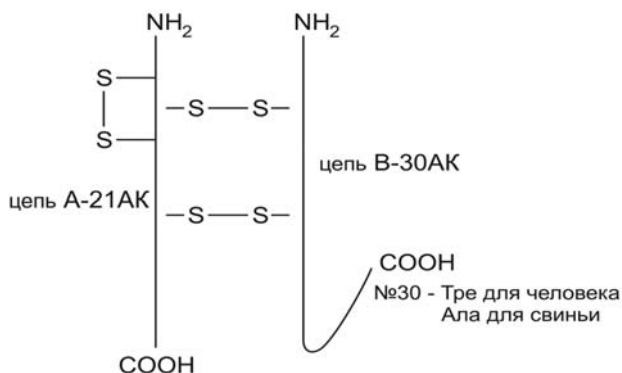
Второй пример. Было создано три вида препаратов инсулина (51 АК) как лекарств для больных сахарным диабетом: инсулин человека — свиный (отличие по одной АК) — коровы (отличие по трем АК). И соответственно слева направо в этом ряду уменьшается лекарственная эффективность препаратов.

Третий пример. Сравнение структуры и функции двух гормонов — антидиуретического гомона и окситоцина (изучите по учебнику).

Четвертый пример. Феномен ренативации или ренатурации белков (в следующей лекции).



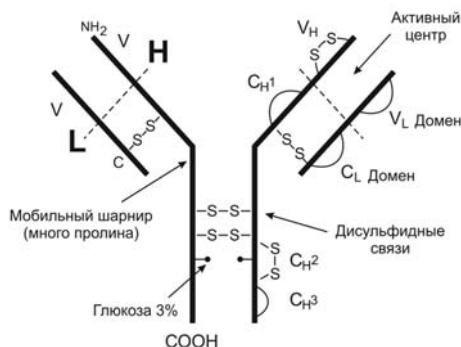
Инсулин



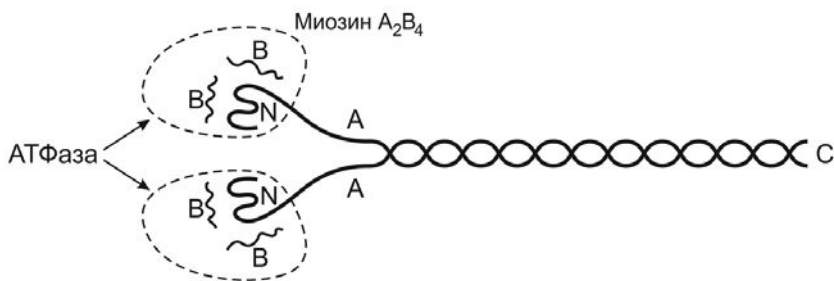
2. Второй аспект биохимии белков. Функционирование белков. Как они работают и почему эта работа специфична?

На поверхности молекулы белка имеется ниша — углубление, специфичность которой обусловлена третичной структурой (для иммуноглобулинов и для миозина — четвертичной структурой), т.е. радикалами АК. Это активный центр белка (фермента) или центр связывания лиганда (субстрата). Лиганды — разные молекулы, присоединяющиеся к белку в процессе выполнения белком своих функций с этим лигандом.

Иммуноглобулин IgG-тетрамер L₂H₂. Активные центры (два) сформированы четвертичной структурой — сочетанием доменов легкой L и тяжелой H цепей (V_LV_H).



Миозин — фермент (АТФаза) как простой, фибриллярный, олигомерный белок. Активные центры (два) образованы четвертичной структурой путем сочетания трех цепей АВВ.



Лиганды

Лиганды могут быть эндогенные и экзогенные. Они образуют, как правило, нековалентные слабые связи с белком, но это взаимодействие очень специфично, т.к. активный центр и его лиганд строго комплементарны. **Комплементарность** — стереометрическое и химическое соответствие двух молекул белок–лиганд, что является основой специфичности функций белка. В процессе взаимодействия белка с лигандом комплементарность и специфичность усиливаются. Это феномен конформационной лабильности (индуцированное соответствие), который увеличивает специфичность и активность белка-фермента.

Взаимодействие белок–лиганд



Сложные и олигомерные белки. Гемоглобин и миоглобин

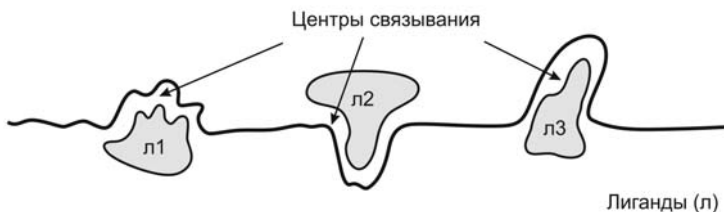
Разнообразие видов белков

Простые белки состоят из одних АК.

Сложные белки (холопротеины) включают также небелковые неорганические или другие органические (не АК) вещества. Они состоят из апопротеина (АК) и протетической группы (без АК).

Доменные белки имеют в одной цепи несколько активных центров (центров связывания) для разных лигандов, т.е. выполняют разные функции, например полифункциональные ферменты, катализирующие последовательные реакции в метаболических цепях (рисунок).

Доменный белок



Олигомерные белки (см. ниже)

Разнообразие и связи в сложных белках

Сложные белки

Протетическая группа	Сокращенное обозначение белка	Связи между белковой и небелковой составляющими белка
Нуклеиновые кислоты Липиды Металлы	НП ЛП МП	Нековалентные
Углеводы Фосфор Иод	ГП ФП НП	Ковалентные



Вопрос о характере связей между нуклеиновыми кислотами (НК) и аминокислотами (АК) белков был предметом острых дискуссий в СССР в период господства в биологии идеологии Т.Д. Лысенко.

Это было связано с принципиальной оценкой биологической активности инфекционных вирусных ДНК и РНК, бактериальных трансформирующих ДНК. Их активность пытались объяснить примесью белка как интегрального компонента, ответственного за указанную активность.

Между примесью остаточных пептидов, отдельных АК и микробными изолированными ДНК и РНК возможны редкие ковалентные связи (сложноэфирные, фосфоамидные), что никак не может дискредитировать собственную биологическую активность предельно очищенных нуклеиновых кислот вирусов и бактерий (Зезеров Е.Г., Ашмарин И.П., Ключарев Л.А. // Вестник Ленинградского университета, сер. Биол. — 1967, № 9. — Вып. 2. — С. 93–105).

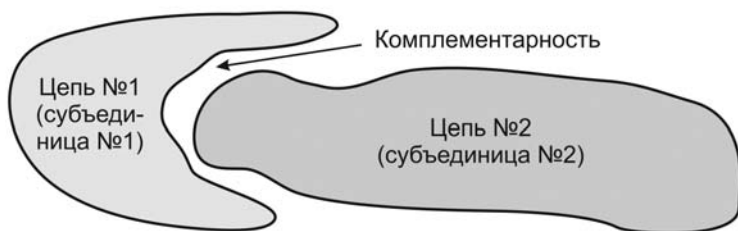
Белки с четвертичной структурой

Олигомерные белки с высшей четвертичной структурой содержат несколько одинаковых (гомоолигомеры) или разных (гетероолигомеры) цепей. Их особенности.

1. После раздельного синтеза отдельных цепей в рибосомах они объединяются (4 вида связей) с формированием единой молекулы по принципу комплементарности.

2. Биологическая (ферментативная) активность этих белков регулируется аллостерическим способом (рассмотрим позже).

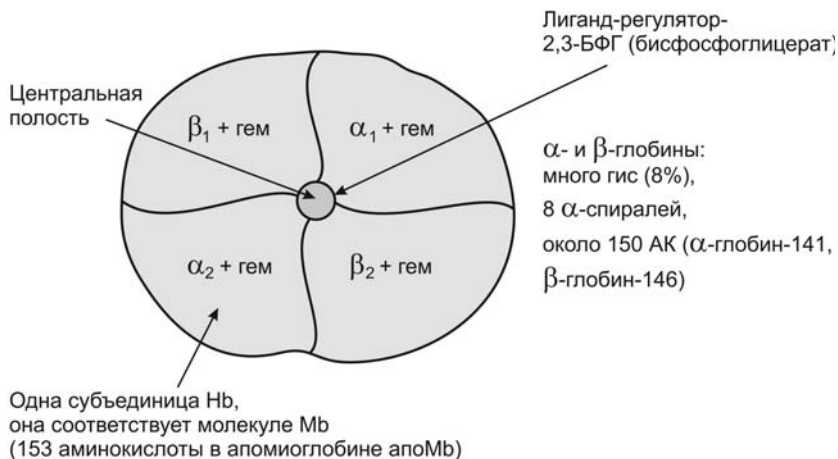
Олигомерный белок



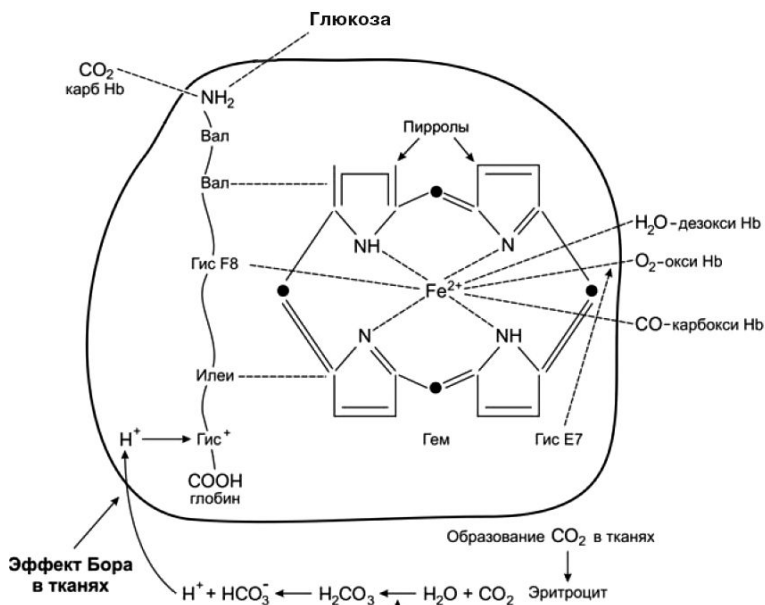
Сравнение свойств миоглобина и гемоглобина

Показатель	Миоглобин	Гемоглобин
Высшая структура	Третичная	Четвертичная
Число полипептидных цепей	1	4
Белок	Сложный	Сложный
Простетическая группа	1 гем	4 гема
Общая структура	1 апоMb + 1 гем	2 α -глобина 2 β -глобина 4 гема
Итог	Сложный неолигомерный белок	Сложный олигомер- ный доменный белок

Строение молекулы гемоглобина (Hb)



Строение одной субъединицы Hb



Основная функция Hb и Mb

Mb с высшей третичной структурой и Hb с высшей четвертичной структурой связывают кислород по-разному. Это определяется особенностями их структур, а также возможностью аллостерической регуляции для Hb с помощью CO₂, протонов (эффект Бора) и 2,3 БФГ, которые вытесняют кислород из оксигемоглобина (Hb-O₂) эритроцитов в капиллярах с поступлением его в ткани.

Hb связывает четыре рабочих лиганда:

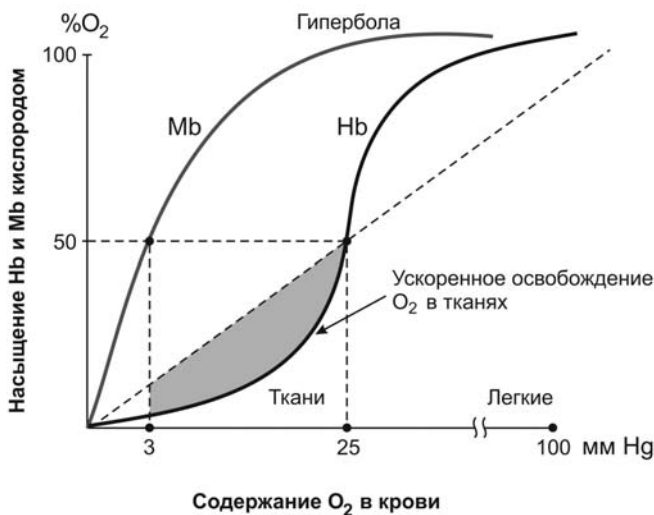
- 1) своим активным центром (Fe²⁺ гема) — лиганды O₂, H₂O, CO — координационной связью и
- 2) активным центром в глобине — лигад CO₂ — ковалентной связью.



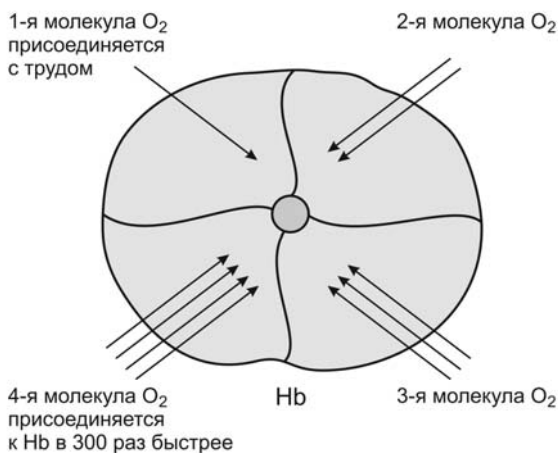
В легких дезокси-Нб присоединяет четыре молекулы O_2 , а в капиллярах окси-Нб отдает кислород в ткани при участии факторов:

- регуляторных аллостерических лигандов 2,3-БФГ и тканевого CO_2 или протонов (эффект Бора) и
- благодаря своей четвертичной структуре («кооперативное изменение конформации протомеров»). Соответствующая S-образная кривая диссоциации окси-Нб показывает, что в капиллярах он быстро освобождает кислород, а в легких, наоборот, быстро его связывает. Эту особенность диссоциации создают указанные три фактора. Миоглобин с высшей третичной структурой такой особенностью не обладает и относительно равномерно (пропорционально) связывает кислород по гиперболе до насыщения.

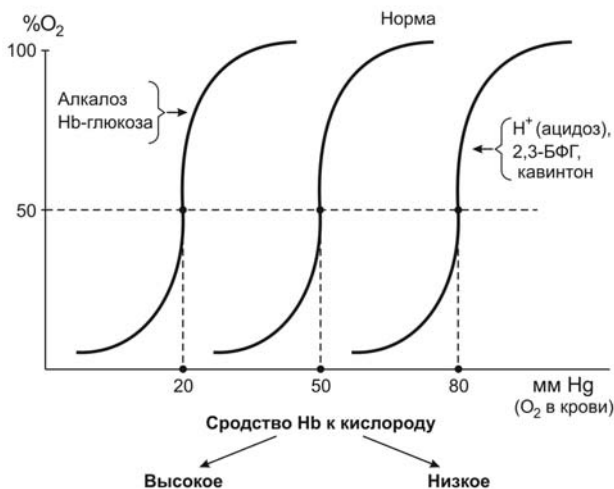
Кривые связывания кислорода Нб и Мб в зависимости от концентрации кислорода в крови



Последовательное присоединение четырех молекул кислорода к одной молекуле дезоксигемоглобина в легких — следствие четвертичной структуры молекулы гемоглобина



Факторы, изменяющие сродство Hb к кислороду



На сродство Hb к кислороду влияют также следующие факторы:

- а) увеличение рН крови при патологии (алкалоз) и гликозилирование Hb у сахарного диабетика повышают сродство Hb к O_2 (сдвиг кривой диссоциации влево) и создают гипоксию;
- б) напротив, ацидоз и кавинтон (винпоцетин) уменьшают это сродство (сдвиг вправо) и увеличивают поступление O_2 в ткани. Назначение кавинтона больным при инсульте несколько нормализует оксигенацию мозга. Аналогично действует эндогенный 2,3-БФГ, содержание которого повышается в результате катаболизма глюкозы у сердечно-сосудистых больных, альпинистов и жителей высокогорья.

Гемоглобинопатии

1. Ненаследственные формы при сахарном диабете, болезни Конна (алкалоз), отравлениях угарным газом CO, окислителями (нитратами-нитритами) и соответствующими лекарствами (фенацетин), повышающими степень окисления Fe гема до +3 (MetHb). При хронической почечной недостаточности уменьшается синтез в почках эритропоэтина — активатора эритропоэза и синтеза гема.

2. Наследственные гемоглобинопатии: серповидно-клеточная и другие формы анемии, мутации гена MetHb-редуктазы и талассемии (нарушение синтеза глобинов).

Денатурация белков — это разрушение разных связей под действием денатурирующих агентов. Последние разрывают водородные, ионные, гидрофобные, дисульфидные связи, но не затрагивают пептидные связи.

- Денатурирующие агенты: высокая температура, кислоты и щелочи, спирты, фенол, мочевины, восстанавливающие агенты типа цистеина, тяжелые металлы, серебро, алкалоиды.
- После удаления агента при определенных условиях возможно восстановление всех структур белка и его функций за счет сохраненной первичной структуры. Это феномен ренатурации или ренативации белков.



Денатурация белков

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

Схема «химической» денатурации и ренативации РНКазы



Денатурация белков

1. Раскрывает глобулы молекул белка и обнажает их внутренние гидрофобные радикалы, что увеличивает химическую реакционную способность белка.
2. Соответственно уменьшается растворимость белка в водных средах.
3. Увеличивает доступность пептидных связей для протеолитических ферментов ЖКТ. Поэтому сыроедение не рекомендуется.



Области использования денатурации:

- 1) для очистки и разделения белков;
- 2) для инактивации ферментов бактерий с помощью лекарств-денатурантов-антисептиков;
- 3) для полной стерилизации предметов и инструментов (асептика);
- 4) для эпиляции волос.

Физико-химические свойства белка и аминокислот (АК)

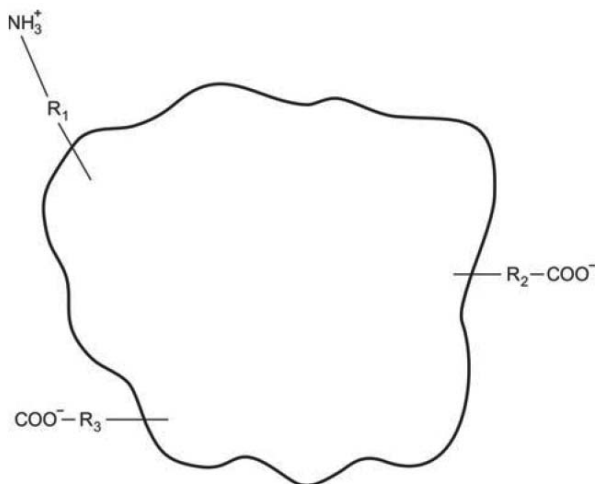
1. АК — амфотерные вещества, которые могут в химических реакциях реагировать как кислоты, так и как щелочи.

2. Изоэлектрическая точка белка pI есть величина индекса pH в среде вокруг белка, при которой суммарный заряд молекулы равен нулю.

Например, белок на следующем рисунке имеет суммарный заряд на своей поверхности:

$$(1+) + (2-) = (1-) \text{ и поэтому индекс } pI < 7,4.$$

3. Растворимость белка в воде и крови зависит от выраженности гидратной оболочки, которую детерминируют: свойства самой молекулы белка и свойства окружающей среды.

Схема строения поверхностного слоя белка в крови при $pH = 7,4$ 

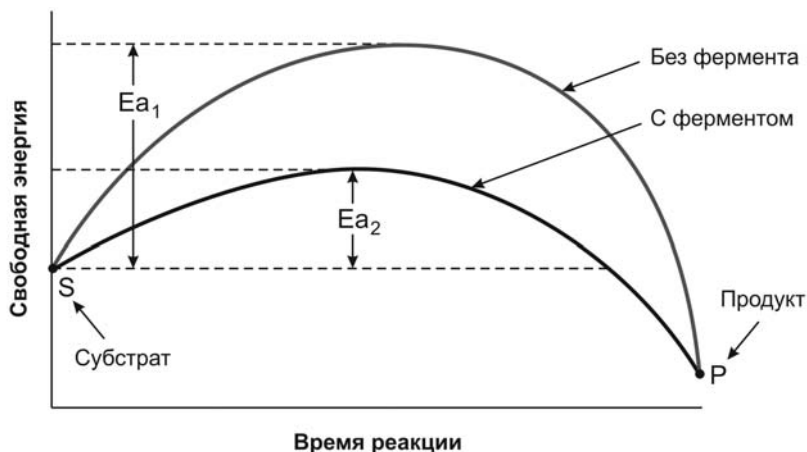
Ферменты (структура, классификация, механизм действия, специфичность)

Вторая Нобелевская премия в области биохимии была присуждена в 1907 г. Эдуарду Бюхнеру, доказавшему наличие ферментов в бесклеточном экстракте дрожжей. Получение в очищенном виде белков-ферментов, способных к кристаллизации, также было оценено в виде Нобелевской премии в 1946 г.

Катализаторы, в том числе ферменты, ускоряют химические и биохимические реакции путем снижения энергии активации реакций.

Однако неорганические катализаторы и биологические ферменты-катализаторы имеют ряд отличий: ферменты в большей мере снижают энергию активации для одной и той же реакции (например, для реакции разложения перекиси водорода) и поэтому их активность (по скорости реакции) выше, для них существуют специальные биологические регуляторы активности и они менее устойчивы к факторам внешней среды (температура, атмосферное давление, состав окружающей среды и др.).

Энергетика катализа



Строение ферментов

Существуют два типа ферментов.

Ферменты — простые белки, состоят только из аминокислот (пепсин, трипсин, РНКаза и др.).

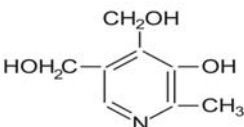
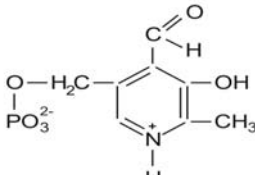
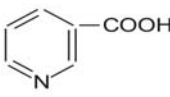
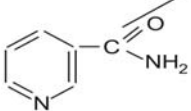
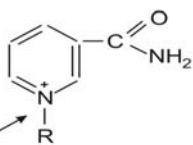
Ферменты — сложные белки.

Холофермент \leftrightarrow апофермент (из АК) + кофактор.

Кофакторы являются:

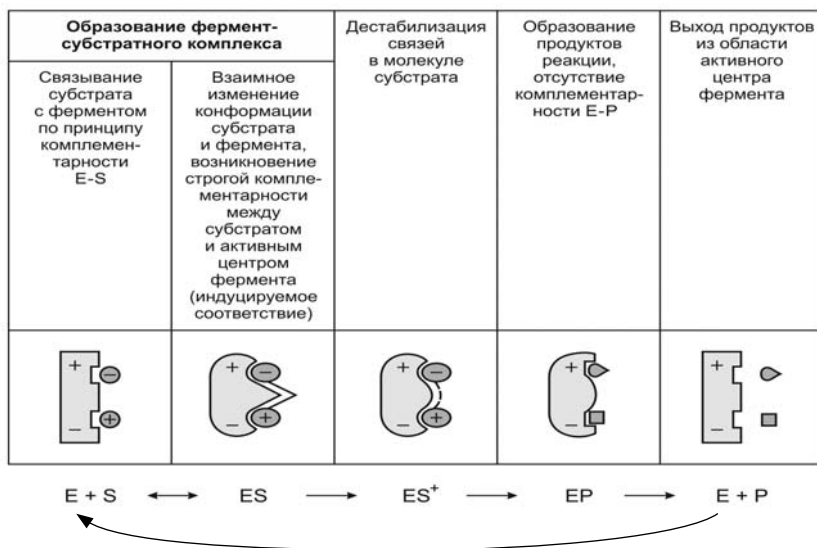
- органическими веществами — производными витаминов (т.е. коферментами) и другими соединениями (гем, глутатион);
- ионами металлов Mg, Cu, Mo, Zn, Fe.

Строение сложных белков-ферментов и их коферменты

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



Механизм действия ферментов



Классификация ферментов

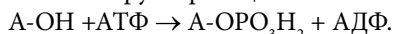
В соответствии с шестью основными типами химических реакций принято выделять шесть классов ферментов.

Класс оксидоредуктаз включает три подкласса:

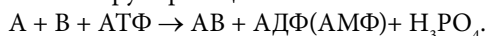
- дегидрогеназы переносят водород между субстратами;
- оксидазы переносят электроны в состав кислорода;
- оксигеназы катализируют внедрение в субстраты одного (монооксигеназы-гидроксилазы) или двух (диоксигеназы) атомов кислорода.

Класс трансфераз катализирует перенос групп атомов (аминогрупп, фосфатов):

- из них киназы катализируют реакции:



Класс лигаз катализирует реакции синтеза:



Класс гидролаз катализирует разрыв ковалентной связи с участием воды.

Класс лиаз катализирует разрыв ковалентной связи без участия воды.

Класс изомераз катализирует превращения изомеров между собой.



Единицы активности ферментов

Одна количественная единица Е или международная единица МЕ — это такое количество фермента, которое катализирует превращение 1 микромоля субстрата S в продукт P (убыль S) или образование 1 микромоля P (увеличение P) за 1 минуту:

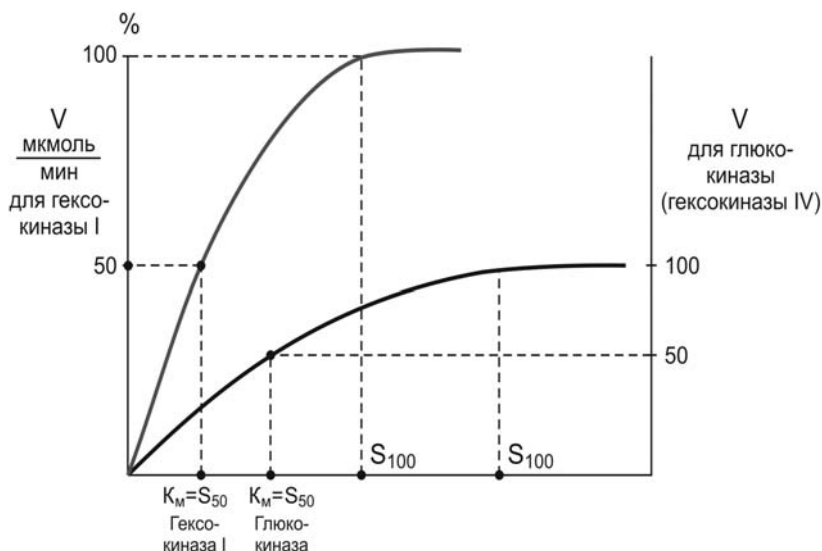
$$1 \text{ МЕ} = 1 \text{ мкмоль S(P)/мин.}$$

Эта количественная единица широко используется в клинической энзимодиагностике заболеваний человека.

Качественные единицы служат критериями качества ферментов в научных работах, но пока не используются в клинике.

1. Одна единица удельной активности = 1 МЕ/ мг белка-фермента.
2. Константа Михаэлиса K_M также характеризует качество фермента, а именно, сродство фермента к субстрату, т.е. способность фермента образовывать комплекс ES. Геометрический расчет K_M представлен на графике. Чем меньше K_M , тем выше сродство и качество фермента.

Определение K_M : K_M численно равна концентрации субстрата S, при которой скорость реакции V равна половине максимальной (50%).



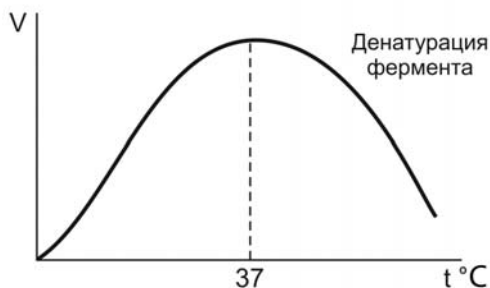
Условия определения активности ферментов в клинических биохимических лабораториях

Энзимодиагностика должна проводиться в стандартных и оптимальных условиях, а именно:

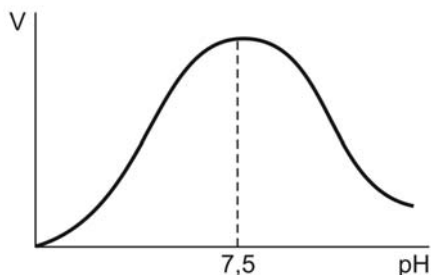
- концентрация субстрата в пробе — насыщающая $S_{100\%}$ для выявления максимальной активности фермента (см. предыдущий график);
- температура реакции — оптимальная (см. рис. зависимости V от t °C), для человека это 37 °C;
- pH среды реакции — оптимальная для данного фермента (см. рис. зависимости V от pH);
- время реакции — начальный период прямой зависимости P от времени инкубации (см. рис.);
- использовать несколько доз сыворотки пациента для более точного расчета (см. рис. зависимости V от объема сыворотки).

Зависимость активности фермента

(скорость реакции V) от температуры t °C



Зависимость V от величины pH среды



Выход продукта реакции в динамике



Зависимость скорости реакции V от количества сыворотки (фермента)



Специфичность ферментов

Существует два вида специфичности.

1. Специфичность к субстрату — субстратная специфичность:
 - а) абсолютная, т.е. один фермент \rightarrow один субстрат или $1\text{ E} \rightarrow 1\text{ S}$;
 - б) относительная — для одного фермента имеется несколько родственных субстратов;
 - в) стереоспецифичность — субстратами являются или D- или L-изомеры вещества.
2. Каталитическая специфичность, или специфичность путей превращения одного и того же субстрата. Например, глюкозо-6-фосфат (S) является одним и тем же субстратом для 4 ферментов (с одинаковым рецептором в активном центре ферментов), которые катализируют образование 4 разных продуктов Р (в этих ферментах различные каталитические участки активных центров).



Специфичность ферментов (модель)



Регуляция активности ферментов. Ингибиторы, лекарства и ферменты. Энзимодиагностика

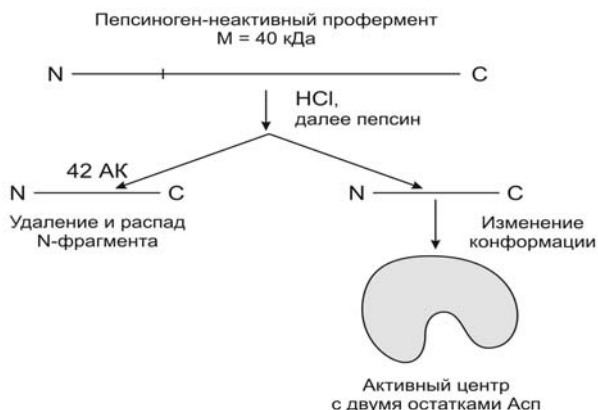
Эндогенная регуляция активности ферментов в организме

Качественная и количественная регуляция активности
ферментов (Е)

Регуляция	Клетка № 1 2	Активность фермента в клетке №2	Скорость регуляции	Уровень регуляции
Количес- венная	 	Выше	Более медленная	Транскрипция или трансля- ция
Качествен- ная	 	Выше или ниже	Более высокая	Модификация молекулы фермента

Четыре типа качественной регуляции

1. Необратимая регуляция частичным протеолизом.



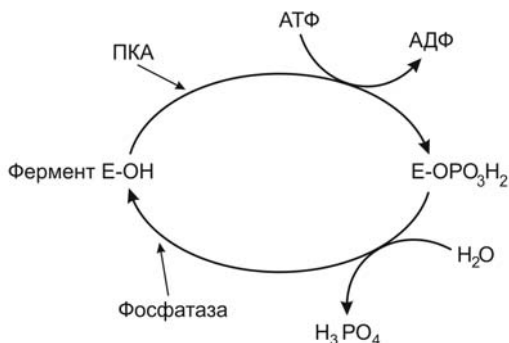
2. Обратимая регуляция: белок \rightarrow фермент.

Примеры:

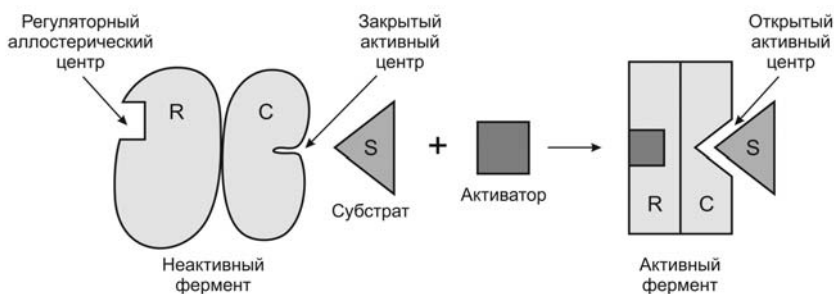
- белок-активатор: α -субъединица (с ГТФ) G-белка активирует аденилатциклазу;
- белки-ингибиторы: R-субъединицы протеинкиназы A, ингибиторы тромбина (антитромбин III, α_2 -макроглобулин, гирудин пиявок).

3. Обратимая регуляция фосфорилированием–дефосфорилированием.

Активны: E-OH — гликогенсинтаза, E- OPO_3H_2 — гликогенфосфоорилаза.



4. Обратимая аллостерическая активация.

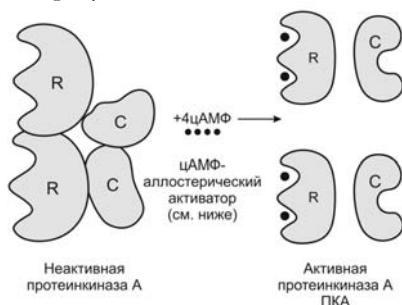


При аллостерическом ингибировании эффектор-ингибитор также присоединяется к аллостерическому регуляторному центру субъединицы R, изменяет ее конформацию, эти изменения передаются на субъединицу C и ее активный каталитический центр закрывается (как модель).



Для протеинкиназы A:

- белок-белковое ингибирование и
- аллостерическая регуляция — активация.



Метаболические цепи (пути)

В клетке практически отсутствуют монореакции типа $S \rightarrow P$.

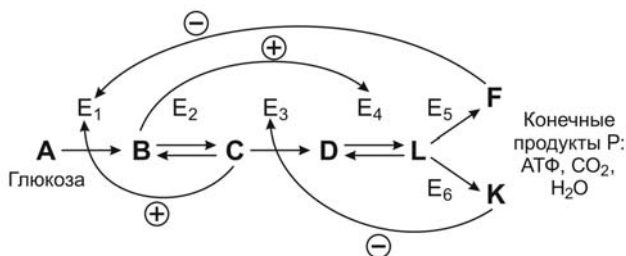
Обычно идут серии последовательных реакций со своими ферментами: аэробный гликолиз — 10, синтез холестерина из глюкозы — 39. В этих цепях регулируются только некоторые ферменты.

Признаки регуляторных ферментов (схема):

- 1) ферменты 1-й реакции — E_1 ;
- 2) ферменты необратимых реакций — E_1, E_3 ;
- 3) ферменты реакций при разветвлении цепи — E_5, E_6 ;
- 4) ферменты самых медленных реакций.

Эти регуляторные ферменты, как правило, являются олигомерными и регулируются аллостерическим способом.

Варианты метаболических цепей



Экзогенные ингибиторы ферментов (лекарства, яды, токсины)

Ингибиторы воздействуют на активность ферментов, образуя с ними связи и уменьшая этим или блокируя функционирование активного центра. Они могут быть:

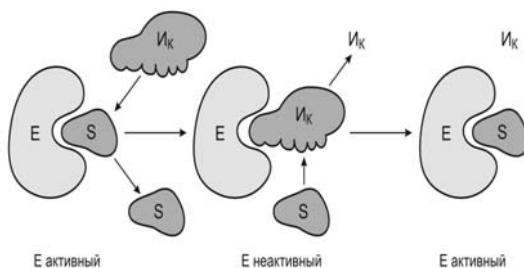
- 1) обратимыми — связи E-S нековалентные и
- 2) необратимыми — связи ковалентные, прочные.

Виды обратимых ингибиторов:

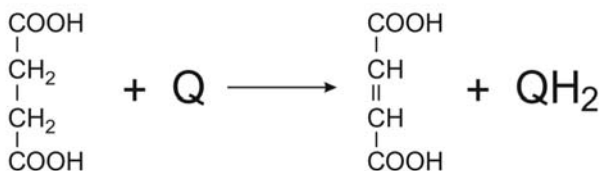
- а) конкурентные — для ингибиторов — аналогов субстрата фермента;
- б) неконкурентные;
- 3) ингибитор — плохой субстрат образует долгоживущий комплекс E-S, «замораживая» в этом комплексе молекулы фермента и выключая их из работы.

Конкурентное обратимое ингибирование и реактивация фермента субстратом

Ингибитор I_K вытесняет близкий по структуре субстрат S из активного центра, а избыток субстрата S аналогично занимает свое место, восстанавливая активность фермента.

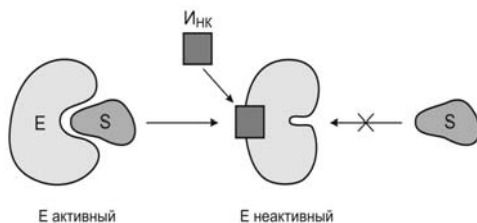


Реакция, катализируемая сукцинатдегидрогеназой. Для этого фермента малоновая кислота $\text{COOH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ является обратимым конкурентным ингибитором.



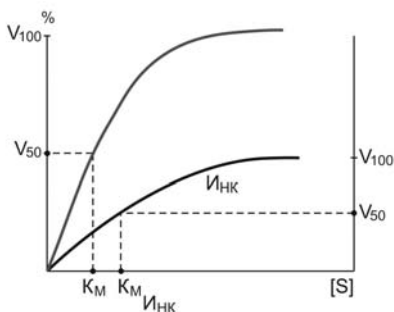
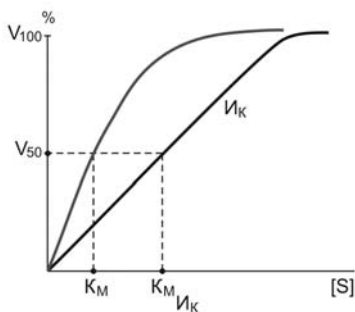
Неконкурентное обратимое ингибирование

Ингибитор Инк взаимодействует с ферментом вне его активного центра, но изменяет первично конформацию фермента и вторично — его активного центра.



Кинетика обратимого ингибирования.

Конкурентный ингибитор увеличивает K_M и не влияет на $V_{100\%}$. Неконкурентный ингибитор увеличивает K_M и уменьшает $V_{100\%}$.



Необратимые ингибиторы, в том числе лекарства

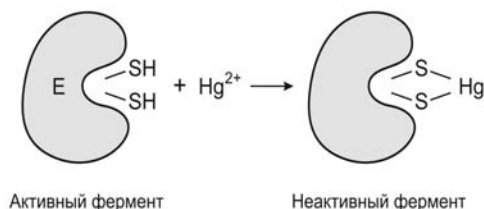
Образуют ковалентные связи с разными химическими группами белков-ферментов преимущественно в активном центре:

- 1) с тиольной или сульфгидрильной группой в молекуле фермента $E-SH$;
- 2) с гидроксильной группой $E-OH$.



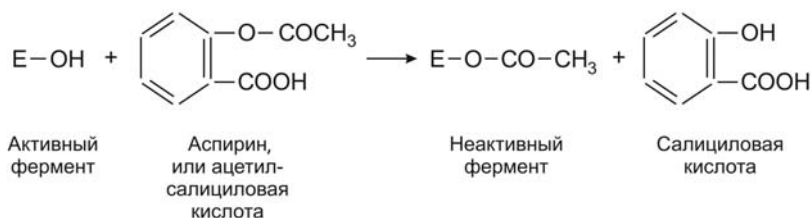
Необратимое ингибирование по SH-группе

Металлы и органические вещества образуют ковалентную связь с SH-группой фермента и его инактивируют.

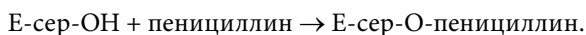


Необратимое ингибирование по OH-группе в активном центре (АЦ) фермента

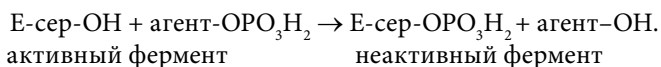
1. Аспирин инактивирует циклооксигеназу I и далее синтез эйкозаноидов воспаления:



2. Пенициллин ингибирует гликозилтрансферазу Gr+ бактерий и соответственно синтез пептидогликанов их стенки и размножение бактерий:

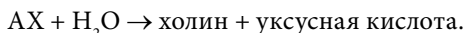


3. Фосфорилирующие агенты (лекарства типа армина для лечения глаукомы, химические ОВ — зарин, заман и др.) фосфорилируют гидроксил в АЦ и инактивируют ферменты:



Ингибиторы (лекарства) и парасимпатический синапс

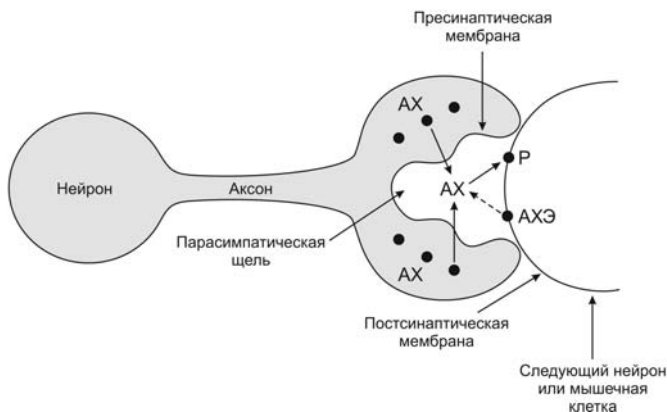
Возбуждающий медиатор — ацетилхолин (АХ). После его импульсного выброса в парасимпатическую щель он взаимодействует со своим рецептором на постсинаптической мембране следующей нервной или мышечной клетки. Так сигнал передается дальше, а АХ разрушается ацетилхолинэстеразой (АХЭ) постсинаптической мембраны:



Существует ряд веществ и лекарств — ингибиторов АХЭ и ингибиторов рецептора АХ.

Ингибиторы АХЭ усиливают, а ингибиторы рецептора АХ блокируют парасимпатическую трансмиссию (передачу импульсов).

Строение парасимпатического синапса



Ингибиторы ацетилхолинэстеразы:

- 1) обратимые конкурентные — прозерин и калимин (аналоги АХ) используются для усиления парасимпатической иннервации (атония кишечника, мочевого пузыря, травмы);
- 2) необратимые ингибиторы фосфорилирующего типа — армин (использовался для лечения глаукомы), зарин и заман (боевые ОВ).

Ингибиторы холинорецепторов для АХ — обратимые конкурентные как аналоги АХ:

- а) для мускариновых рецепторов АХ — атропин, платифиллин, токсин мухомора;



б) для никотиновых рецепторов АХ — никотин, яд кураре и змей, лекарство дитилин (димер из 2 молекул АХ) для блокады скелетных мышц (например, дыхательных и др.) при краткосрочных операциях. Сам АХ взаимодействует с обоими видами своих рецепторов.

ЭНЗИМОДИАГНОСТИКА — выявление в крови человека повышенной концентрации органоспецифических ферментов.

В крови имеются практически все многочисленные ферменты человека. Большая их часть попадает в кровь при естественной гибели разных клеток и их содержание у здорового человека известно и нормировано. При патологии в результате воспаления и повышения проницаемости мембран, а также при некрозе и полном разрушении клеток концентрация многих ферментов в крови повышается, что указывает на патологию конкретного органа. Но для энзимодиагностики пригодны только, во-первых, органоспецифические ферменты (таблица). Во-вторых, эти ферменты должны обладать определенной стабильностью и сохранять свою активность в пробах крови, транспортируемых в лаборатории.

Органоспецифичные ферменты

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

Полиморфизм ферментов

(Зезеров Е.Г. // Биохимия. — 1973. — Т. 38, № 3. — С. 650–652)

Многие органоспецифические ферменты имеют четвертичную структуру (олигомерные ферменты) и представлены несколькими вариантами, т.е. полиморфными формами (изоферментами). Они катализируют одну и ту же реакцию, но обладают несколько различающейся первичной структурой белка и, следовательно, своих фрагментов ДНК (генов), а так-



же имеют отличия по распределению в органах человека, по константе Михаэлиса, уровню активности и по эндогенным регуляторам.

Такой полиморфизм характерен для лактатдегидрогеназы — ЛДГ (5 изоферментов, см. рисунок) и для креатинкиназы — КК (3 изофермента). В частности, при инфаркте миокарда в крови увеличен уровень этих диагностических ферментов, и особенно их изоферментов ЛДГ₁ и КК-МВ.

Изоферменты лактатдегидрогеназы (разделение в электрофорезе)



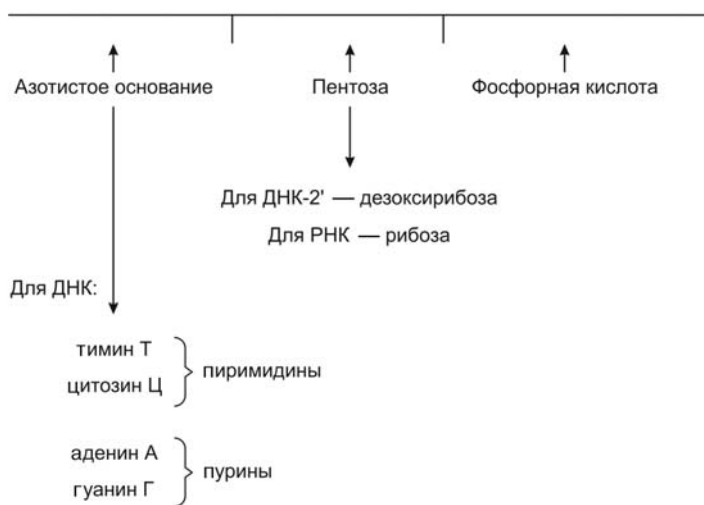
Абзимы, или каталитические тела

В заключение напоминаю о существовании особых ферментов, которые и по структуре, и по функциям совмещают в одной молекуле свойства и антител, и ферментов. Эти абзимы (*antibody enzyme* — *abzyme*) в начале их изучения считались искусственно созданными гибридными молекулами. Позже установлено, что они могут образовываться в организме человека с различной патологией, в основном аутоиммунной природы. Подробности — в главе Е.Г. Зезерова «Элементы физиологии и биохимии иммунитета» учебного пособия для студентов МГУ и ММА (под ред. акад. И.П. Ашмарина) «Патологическая физиология и биохимия» (М.: Экзамен, 2005. — С. 326–365).



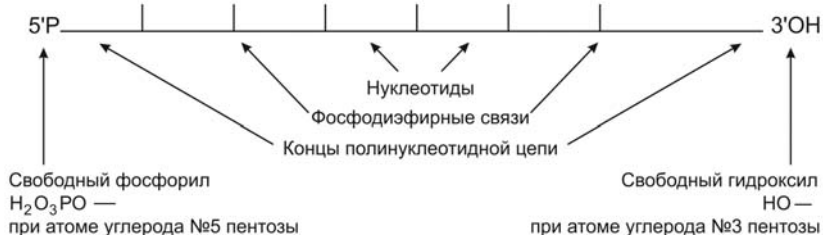
Нуклеиновые кислоты. Репликация и репарация ДНК

Структура нуклеотида — мономера для ДНК и РНК

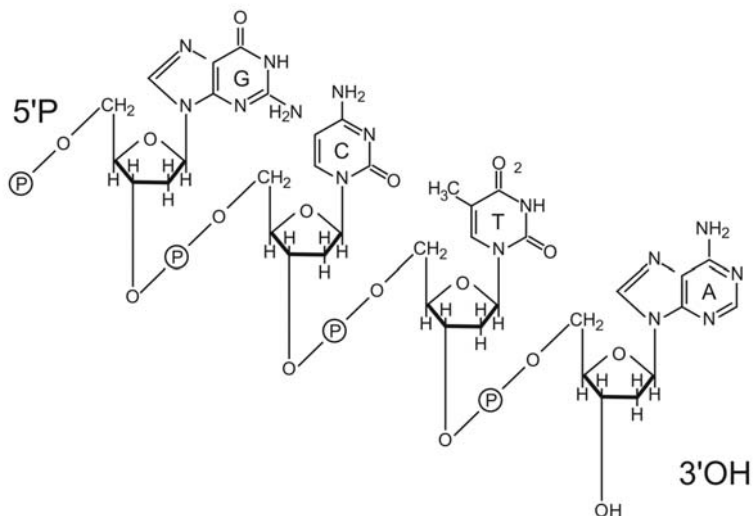


Для РНК: урацил У и цитозин Ц (пиримидины); аденин А и гуанин Г (пурины)

Первичная структура ДНК — последовательность нуклеотидов в полинуклеотидной цепи



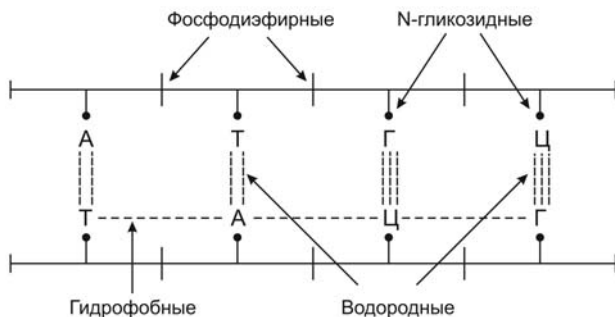
Фрагмент молекулы ДНК



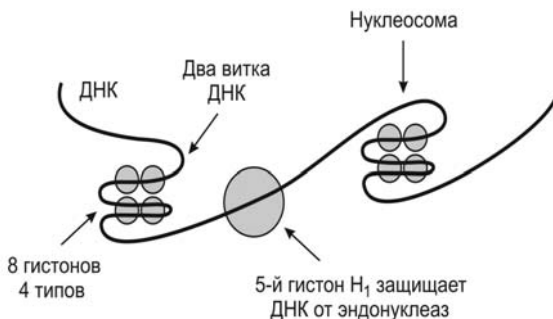
Правозакрученная спираль двух антипараллельных цепей — вторичная структура ДНК



Фрагмент структуры ДНК с четырьмя видами связей в молекуле



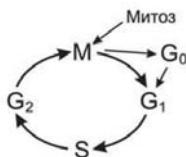
Третичная структура ДНК



Общие принципы матричных биосинтезов

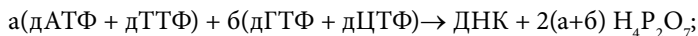
1. Все эти синтезы происходят на матрице — одной нити ДНК или РНК.
2. Направление чтения нуклеотидной матрицы ферментами — от 3'-конца к 5'-концу.
3. Направление синтеза новой цепи ДНК или РНК — от 5'-конца к 3'-концу.
4. Направление чтения мРНК рибосомой — от 5'-конца к 3'-концу.
5. Направление синтеза белка — от N-конца к С-концу.
6. Все матричные биосинтезы состоят из этапов инициации, элонгации, терминации, модификации продукта (кроме репарации в последнем случае).

Биосинтез ДНК (репликация) происходит в S-фазу митоза.



Суммарное уравнение репликации

Набор изоферментов ДНК-полимераз и кофакторы Mg, Zn



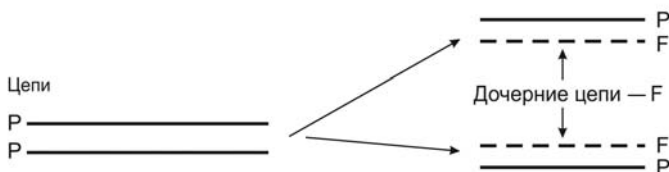
дНТФ являются субстратами и источниками энергии для синтеза.



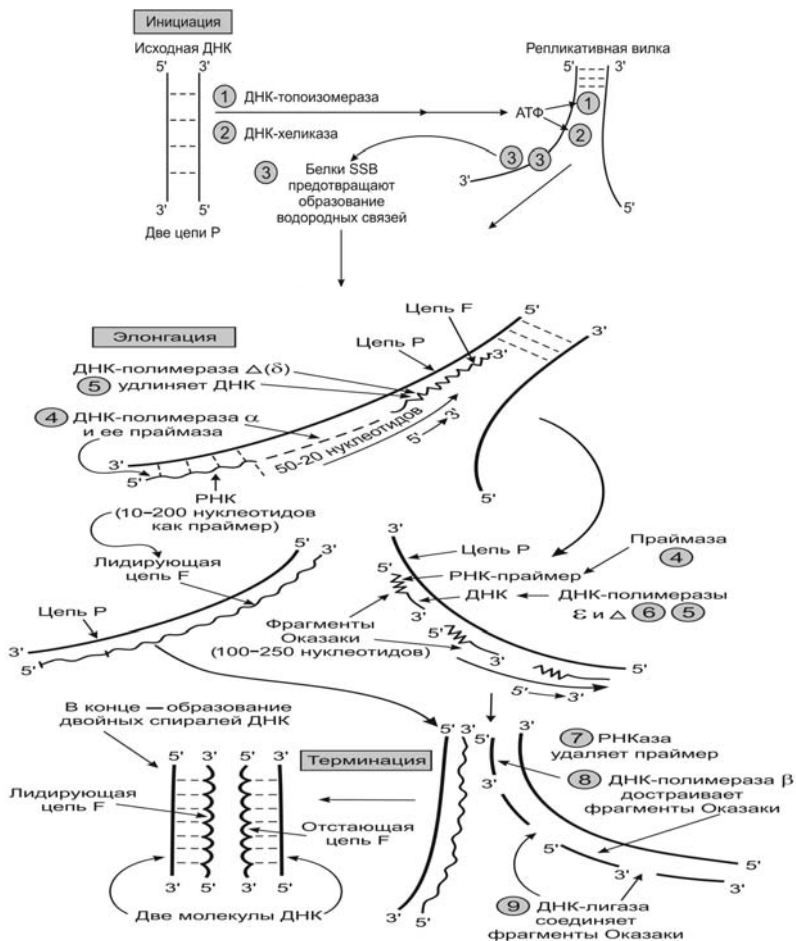
Полуконсервативный синтез ДНК

Исходная или родительская ДНК — Р

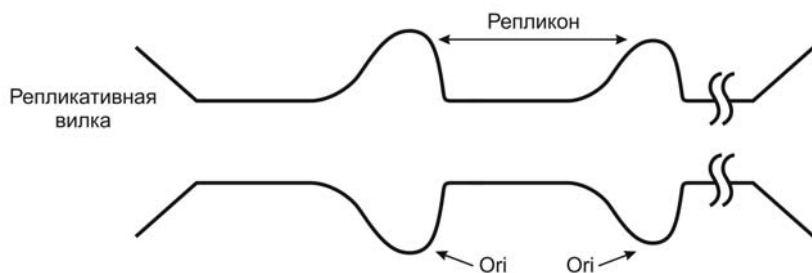
Две дочерние ДНК



Биосинтез ДНК — репликация или редупликация. Участвуют 8 ферментов и один белок



Множественные точки начала репликации — ориджины (Ori) — помогают многократно ускорить удвоение молекулы ДНК.



Пострепликативная модификация ДНК

I. Метилирование. В синтезированных молекулах ДНК происходит метилирование аденина по азоту N_6 и цитозина по углероду C_5 . Это необходимо для формирования структуры хромосом, регуляции транскрипции и репарации.

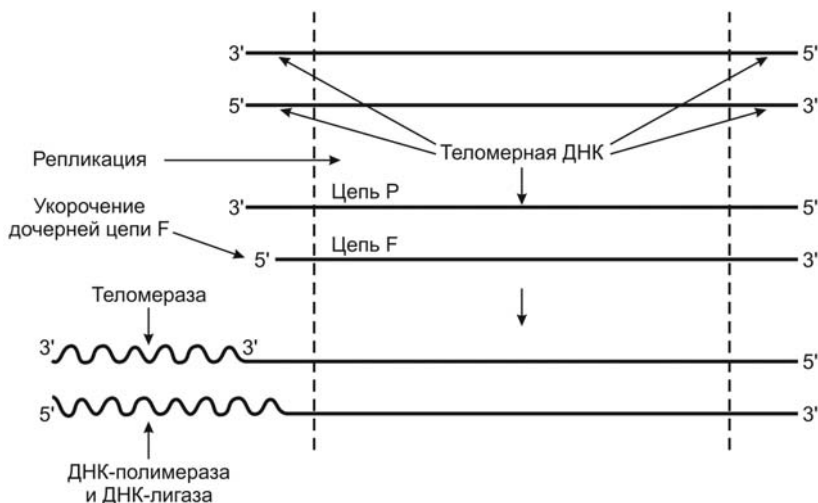
II. Изменение длины цепей — укорочение длины синтезированных цепей за счет распада РНК-праймеров на 5'-концах в теломерной области.

Длина теломерной (концевой) ДНК определяет продолжительность жизни клетки.

После укорочения теломер до границ генов (20–30 циклов репликации) клетка погибает. Однако в половых, стволовых и опухолевых клетках имеется теломераза, которая восстанавливает длину теломерной ДНК и сохраняет жизнеспособность клетки. В клинической практике обнаружение в паренхиматозном органе теломеразы свидетельствует об инициации или о наличии в органе злокачественной опухоли, в частности рака простаты (Глухов А.И., 2003; Зезеров Е.Г. Сб. научн. трудов РАЕН. — М., 2008. — С. 149–156; Глыбочко П.В., Зезеров Е.Г., Глухов А.И., Аляев Ю.Г., Поляковский К.А. и др. (на английском языке) // The Prostate, USA. — 2014. — V. 74, № 10. — P. 1043–1051).



Концевые теломеры, их укорочение после каждого цикла репликации и застройка в стволовых, половых и опухолевых клетках с помощью теломеразы



Репарация исправляет неправильно синтезированную или поврежденную ДНК

I. Репликативная репарация. ДНК-полимеразы могут ошибаться при синтезе, например нарушать правило комплементарности ($A = T, G \equiv C$) из-за химической неизбежности существования таутомерных изомеров азотистых оснований. Эти ошибки исправляются изоформами ДНК-полимераз ϵ и δ до стадии метилирования цепей ДНК.

II. Повреждения ДНК различными эндогенными или экзогенными агентами исправляются разными способами в ходе пострепликативной или экзизионной репарации.

1. Универсальный способ репарации любых нарушений структуры ДНК в одной цепи с помощью 4 ферментов с разрывом этой цепи.

2. «Мини-способ» без разрыва цепи с помощью ДНК-N-гликозидаз и ДНК-инсертас.

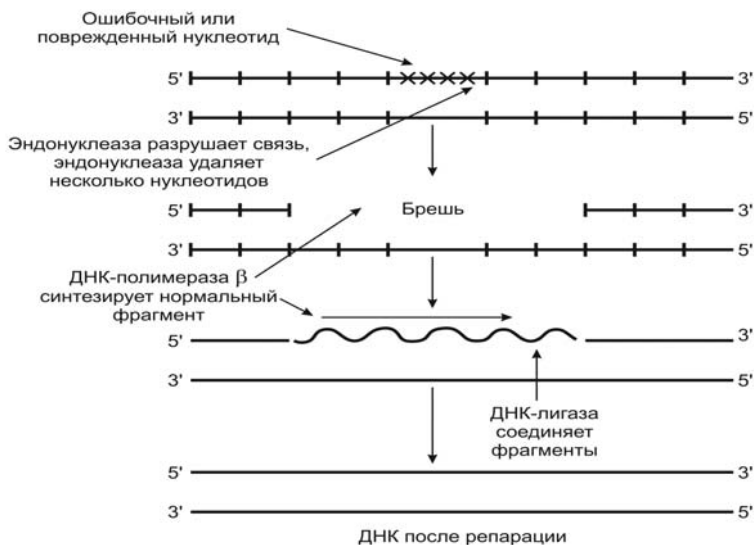
3. Индуцированные УФ-лучами димеры Т-Т и Т-Ц в одной цепи могут быть также репарированы ферментом фотолиазой, разрушающей ковалентные связи в этих димерах.

4. Двухнитевые разрывы в ДНК активируют белок p53 (супрессор опухолей), который как фактор транскрипции останавливает репликацию (точнее — митоз на стадии $G_1 \rightarrow S$) и даже может вызвать программируе-

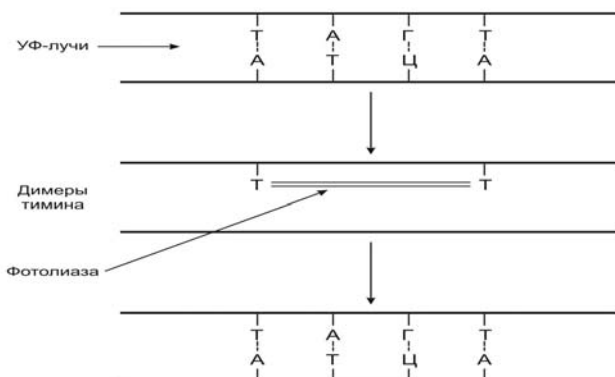


мую гибель таких клеток (апоптоз). При мутациях гена p53 репликация в поврежденных клетках продолжается и возникает рак (Зезеров Е.Г. // Вопросы онкологии. — 2001. — Т. 47, №2. — С. 174–181).

Универсальный способ пострепликативной репарации ДНК



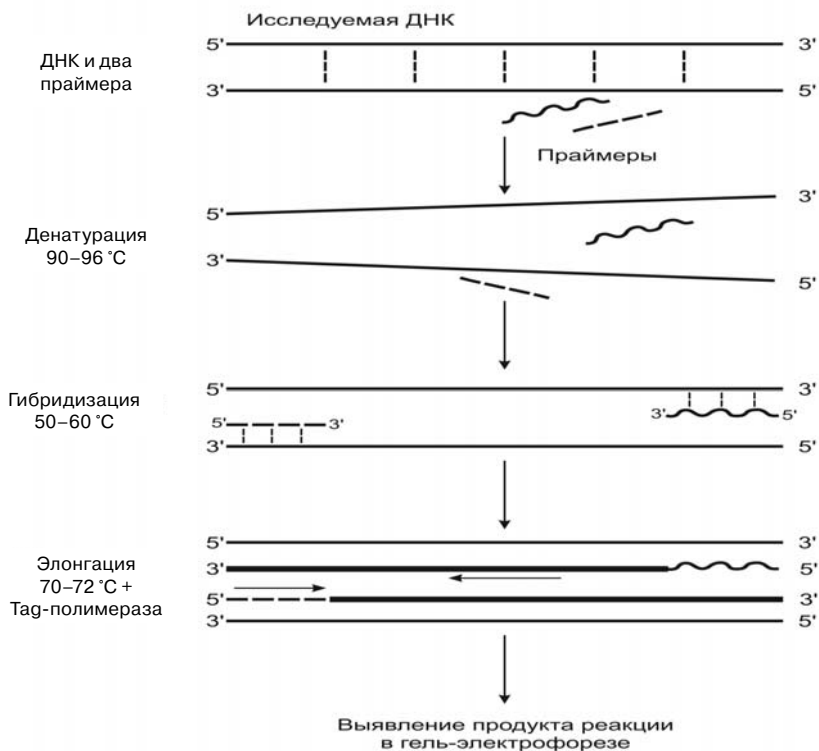
Специфическая репарация ультрафиолетовых повреждений ДНК



Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — основа современной генной диагностики

ПЦР является «мини-репликацией» отдельных генов в пробирке, в которые помещается исследуемая ДНК, субстраты — дНТФ, два ДНК-праймера на исследуемый ген или его фрагмент (экзон), термостабильная ДНК-полимераза. После 20–30 циклов (в каждом цикле несколько этапов — см. схему) продукт(ы) ПЦР — фрагмент(ы) ДНК идентифицируется в гель — электрофорезе. Обнаружение фрагмента, соответствующего праймерам, свидетельствует о наличии в исследуемой ДНК нормального или патологического гена.

Этапы полимеразной цепной реакции (ПЦР)



Биосинтез РНК (транскрипция) и белка (трансляция)

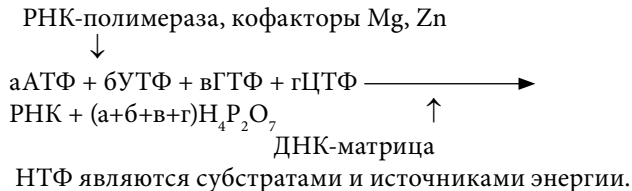
Виды РНК

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

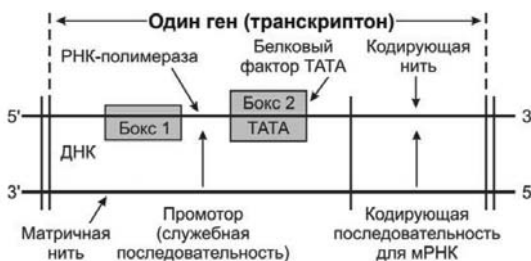
Наиболее важная РНК-полимераза II является олигомерным ферментом, состоящим из пяти субъединиц в комплексе с кофакторами Mg и Zn.

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

Суммарное уравнение транскрипции

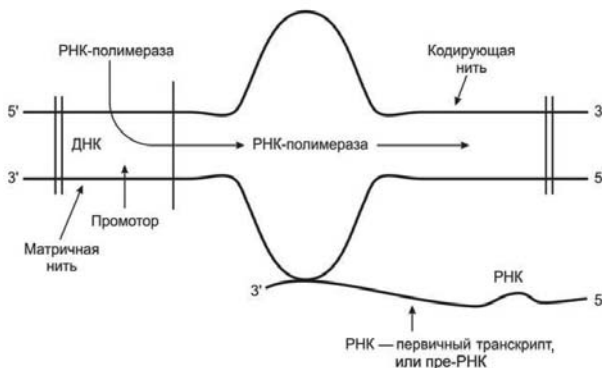


Инициация синтеза мРНК



РНК-полимераза II вместе с факторами инициации транскрипции (включая белковый фактор ТАТА) присоединяется к промотору гена в ДНК, разрушает водородные связи и расплетает ДНК в области транскрибируемого гена, перемещается в кодирующую часть гена, синтезирует первичный транскрипт (пре-РНК) на матричной нити ДНК. Пре-РНК освобождается от ДНК в ядре клетки и подвергается модификации — «созреванию».

Продолжение транскрипции — элонгация



«Созревание» и формирование мРНК состоит из следующих этапов.

1. Сплайсинг — из пре-РНК вырезаются «немые» участки — интроны, и сшиваются между собой экзоны. Процесс катализируют малые ядерные РНК (мяРНК), работающие как ферменты-рибозимы. Роль интронов пока не выяснена.

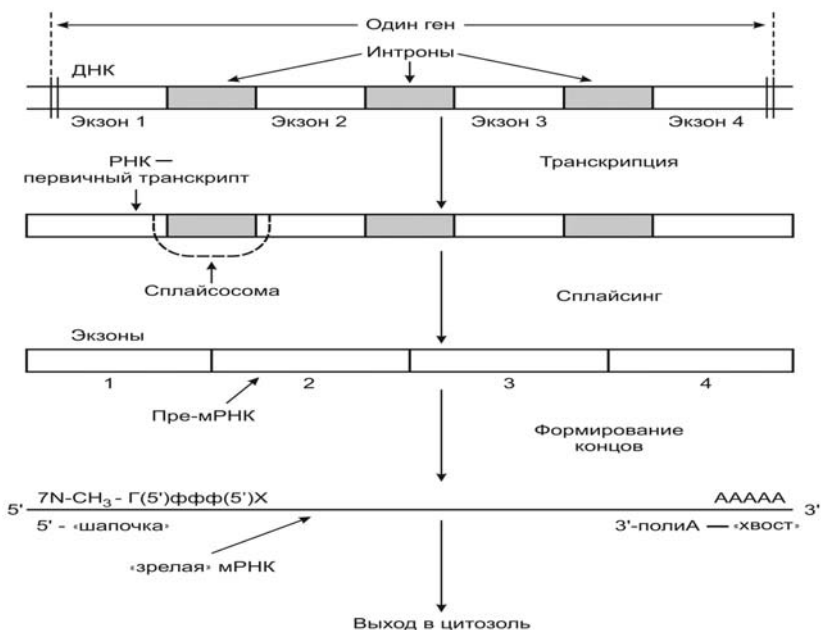
2. Достройка концевых участков молекулы мРНК:

- на 5'-конце синтезируется метилированная «шапочка»;
- на 3'-конце — «хвост» полиА (50–200 остатков АМФ).



Концевые участки защищают мРНК от разрушения РНКазами и участвуют в инициации трансляции (функция 5'-конца) и в транспорте мРНК из ядра в цитозоль (функция 3'-конца) (Зезеров Е.Г. // Биохимия. — 1974. — Т. 39, №3. — С. 674–676; 1977. — Т. 42, №5. — С. 771–783; работа выполнена под руководством академика АМН СССР и РАМН И.П. Ашмарина).

Созревание мРНК



Альтернативный сплайсинг

Некоторые гены и их пре-РНК содержат большой набор экзонов, которые могут объединяться по-разному и формировать различные мРНК для белков с отличающейся первичной структурой. Так возникают изоформы белков и ферментов или один и тот же ген в разных органах иногда кодирует различные белки.

Из пре-РНК для тРНК удаляется только один интрон, а к 3'-концу присоединяется одинаковый для всех тРНК акцепторный триплет 5'-ЦЦА-3', с которым связывается сложноэфирной связью своя аминокислота. Три рРНК (кроме 5S рРНК) формируются без сплайсинга путем нарезания на фрагменты общего первичного транскрипта (пре-РНК).

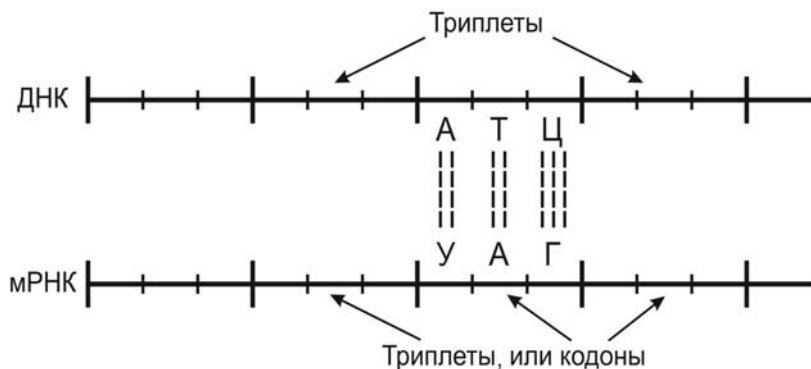


Генетический код

Свойства

1. Код триплетный — 61 кодон для 20 аминокислот (АК), три нонсенс-(стоп-)кодона УАГ, УАА, УГА.
2. Код специфический — 1 кодон → 1 АК.
3. Код вырожденный — несколько разных кодонов могут кодировать одну АК (например, шесть разных кодонов в мРНК для шести разных антикодонов в шести изоакцепторных тРНК для серина).
4. Код однонаправленный — чтение его рибосомой от 5'- к 3'-концу мРНК.
5. Код универсальный, непрерывный, неперекрывающийся.

Генетический код. Триплеты (кодоны)

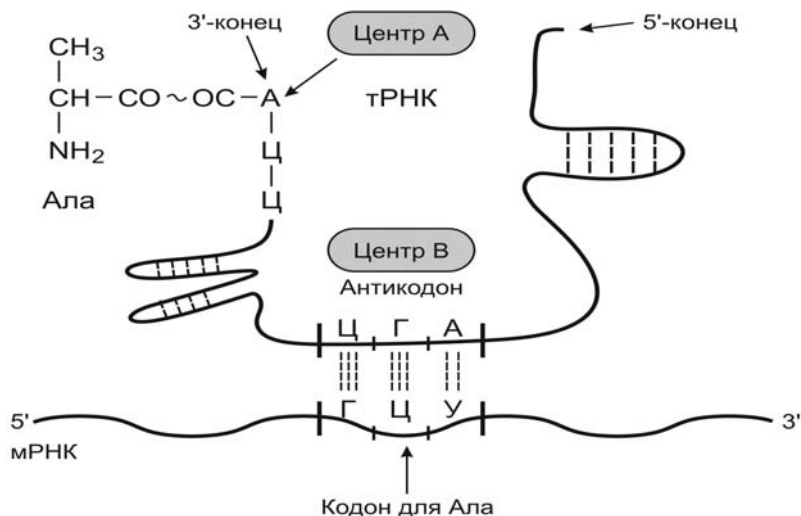


Транспортные РНК (тРНК)

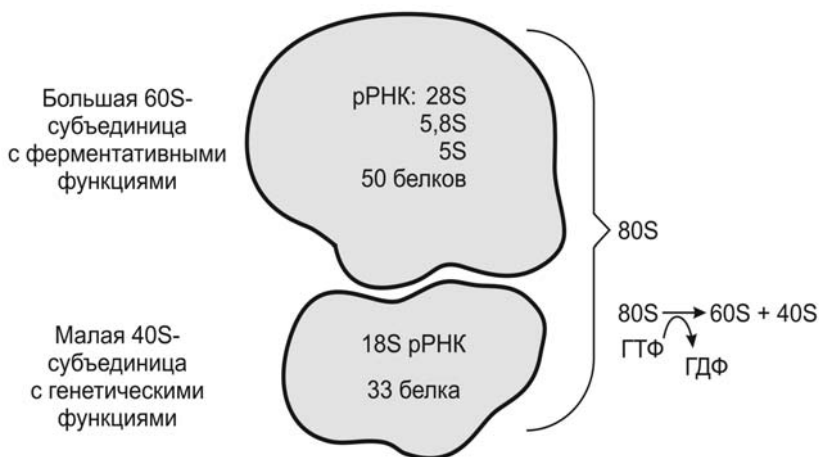
Небольшие молекулы (70–90 АК) с модифицированными нуклеотидами, которые создают для тРНК конформацию клеверного листа. Имеют центр А — для связывания АК и центр В — антикодон для взаимодействия со своим кодоном в мРНК. 61 значащий кодон обслуживает 20 кодируемых АК. Поэтому часть тРНК является изоакцепторными (шесть для серина).



Взаимодействие тРНК с мРНК и аминокислотой: тРНК — посредник (адаптор) между мРНК и белком



Трансляция (синтез белка). Рибосомы



Роль рибосомальной РНК (рРНК):

- 1) формирует остов («скелет») рибосомы;
- 2) 18S рРНК малой 40S-субъединицы рибосомы обеспечивает взаимодействие своей 40S-субъединицы с 5'-концом мРНК; генетическая роль 40S-субъединицы — это связывание мРНК, чтение ее кода и обеспечение рассмотренного выше взаимодействия кодон-антикодон;
- 3) 28S рРНК (в составе большой ферментативной 60S-субъединицы рибосомы) как небелковый фермент (рибозим) катализирует образование пептидной связи в процессе трансляции.

Трансляция (синтез белка)

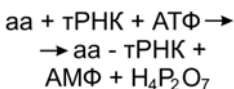
(Зезеров Е.Г. // Биохимия. — 1960. — Т. 25, №4. — С. 727–734, работа выполнена под руководством академика И.П. Ашмарина)

Все этапы трансляции представлены ниже.

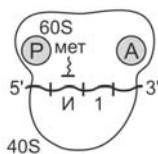
Подготовительный этап. Аминоацил-тРНК-синтетазы (с абсолютной субстратной специфичностью) катализируют в цитозоле присоединение АК к своей тРНК и энергетически активируют АК с помощью АТФ. Далее комплексы АК-тРНК доставляют АК в рибосомы.

Последующие этапы инициации, элонгации (три фазы) и терминации также требуют затрат энергии в виде ГТФ и АТФ, кроме фазы образования пептидной связи. В последнем случае используется энергия комплекса АК~тРНК. Внерибосомные факторы EF и RF как ГТФазы расщепляют ГТФ с освобождением необходимой энергии. Всего для включения одной АК в белок необходимо затратить 6 макроэргических молекул (2 АТФ и 4 ГТФ).

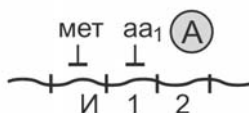
Подготовительный этап — активация аминокислоты с участием аминоксил-тРНК-синтетаз:



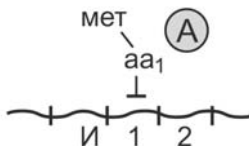
Этап инициации трансляции происходит для всех белков путем доставки в рибосому инициаторного метионина в составе комплекса мет-тРНК. И — инициаторный кодон АУГ:



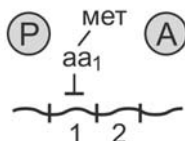
Элонгация. Фаза связывания комплекса тРНК — первая АК (aa_1) и мРНК:



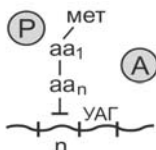
Элонгация. Фаза образования пептидной связи:



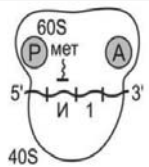
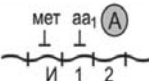
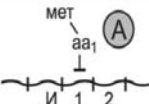
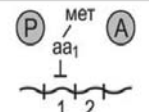
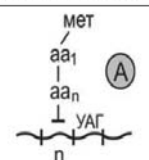
Элонгация. Фаза транслокации:



Терминация. Белок приблизился к терминирующему кодону УАГ, освободился от последней тРНК и рибосомы, далее переходит в цитозоль. Трансляция закончена.

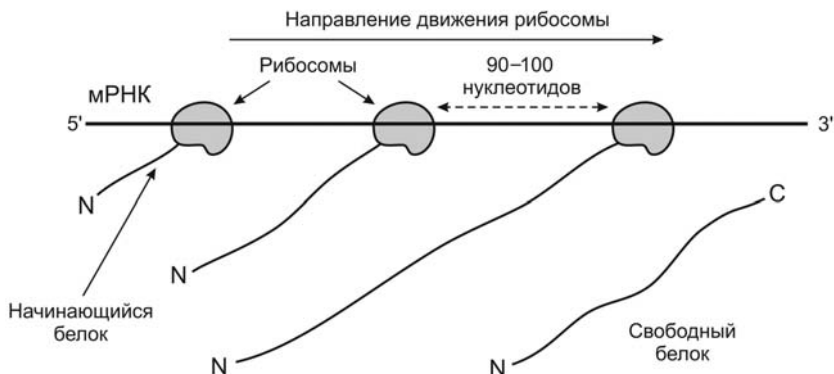


Этапы биосинтеза белка

Этап трансляции	Схематическое изображение	Пояснение	Источник энергии	Внерибосомальный фактор
Активация аминокислоты (aa) — образование aa-тРНК	$aa + \text{тРНК} + \text{АТФ} \rightarrow aa\text{-тРНК} + \text{АМФ} + \text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$	Аминокислота присоединяется карбоксильной группой к 3'-гидроксильной группе акцепторного участка тРНК	АТФ	—
Инициация		С малой (40S) субъединицы рибосомы последовательно связывается мРНК, мет-тРНК и большая субъединица (60S). Формируются два функциональных центра: пептидный Р и связывания А	ГТФ АТФ	IF — 10 видов
Элонгация: а) связывание aa-тРНК		В центр связывания А присоединяется aa ₁ -тРНК, комплементарная первому смысловому кодону мРНК	ГТФ	EF — 1
б) образование пептидной связи		Остаток метионина мет-тРНК переносится на аминогруппу остатка aa ₁ -тРНК (пептидотрансферазная реакция)	Макроэргическая связь в мет-тРНК	—
в) транслокация		Перемещение рибосомы на один кодон по мРНК в направлении от 5'-к 3'-концу. Дипептидил-тРНК оказывается в области пептидного центра рибосомы Р. Центр связывания А освобождается	ГТФ	EF — 2
Все стадии элонгации повторяются столько раз, сколько смысловых кодонов содержит мРНК				
Терминация		В области центра связывания оказывается один из терминирующих триплетов. Синтез белка прекращается	ГТФ	RF



Полирибосома. На мРНК находятся несколько рибосом с растущими цепями белка, что обеспечивает срочный синтез белков, необходимых в большом количестве.



Посттрансляционная модификация белка

1. Еще в процессе синтеза в рибосоме шапероны контролируют и корректируют правильность создаваемой конформации белковой цепи.
2. Удаление инициаторного метионина на N-конце всех полипептидных цепей.
3. Химическая модификация полипептидов: гликозилирование, фосфорилирование, йодирование, образование дополнительных радикальных гидроксильных и карбоксильных групп, частичный протеолиз, присоединение простетической группы (для сложных белков) и объединение отдельных цепей в олигомерный белок.



Ингибиторы матричных биосинтезов. Регуляция действия генов

Ингибиторы матричных биосинтезов

Антибиотики — ингибиторы синтеза белка бактерий

Антибиотик	Мишень для действия антибиотика в процессе трансляции согласно табл. на с. 60	Антибиотик эффективен против
Стрептомицин	Инициация	Возбудителя туберкулеза
Тетрациклин	Элонгация, фаза а	Бактерии Gr+, Gr- и риккетсии Gr-
Амфениколы (хлорамфеникол)	Элонгация, фаза б	Бактерии Gr+ и Gr-, риккетсии Gr-
Макролиды (эритромицин)	Элонгация, фаза в	Бактерии Gr+

Из ингибиторов синтеза белка у человека надо выделить

1. **Интерфероны** образуются в организме в ответ на индукторы — вирусы, некоторые чужеродные и лекарственные вещества (двухцепочечная РНК). Интерфероны — небольшие белки, часть — гликопротеины. Образуются в лейкоцитах (α -интерфероны), фибробластах (β) и Т-лимфоцитах (γ) с разной активностью. Как местные гормоны интерфероны тормозят синтез белков вирусов и белков самой зараженной клетки, которая погибает и процесс распространения вируса прекращается. Механизм действия: фосфорилирование и инактивация фактора инициации трансляции IF2, индукция синтеза 2'-, 5'-олигоА, который нарушает сплайсинг и активирует РНКазы.



Ингибиторы матричных биосинтезов, в том числе лекарства

Объект	Ингибитор	Механизм действия
<i>Ингибиторы трансляции</i>		
Бактерии	Антибиотики	См. табл. на с. 62 данной лекции
Бактерии, клетки человека и животных	Пуромицин — аналог Тир — тРНК ^{тир}	Преждевременная терминация
Человек	Экзотоксин дифтерии	АДФ — рибозилирование и ингибирование фактора транслокации EF2
Человек и животные	Интерфероны — лекарства против генерализации вирусной инфекции	Фосфорилирование и инаktivация фактора инициации IF2, разрушение РНК, нарушение сплайсинга мРНК
Человек и животные	Рицин (N-гликозидаза)	Удаление аденина и инаktivация 28S рРНК
<i>Ингибиторы транскрипции</i>		
Бактерии	Рифамицины	Ингибиторы β -субъединицы РНК-полимеразы
Человек	Токсин грибов α -аманитин	Ингибитор РНК-полимеразы II
<i>Ингибиторы репликации и/или транскрипции</i>		
Человек и животные	Противоопухолевые препараты («антибиотики»)	Интеркаляция в ДНК (дауномицин и др.), ингибиторы ДНК-топоизомеразы II (новобиоцин) и др.

2. **Фрагмент дифтерийного экзотоксина** катализирует АДФ-рибозилирование с инаktivацией фактора элонгации трансляции EF2 в клетках зева и гортани, что приводит к патологии.

3. **Ингибиторы репликации и/или транскрипции** — для человека актуальны как противоопухолевые препараты с разным механизмом действия:

- интеркаляторы (дауномицин и др.) внедряются в ДНК и препятствуют расплетанию цепей ДНК, необходимому для синтеза ДНК или РНК;
- ингибиторы ДНК-топоизомеразы II (новобиоцин и др.) и соответственно репликации;



- аномальные нуклеозиды ингибируют репликацию, например азидотимидин — репликацию кДНК вируса иммунодефицита человека (ВИЧ).

Регуляция действия генов

I. Регуляция репликации — циклинзависимые протеинкиназы на уровне транскрипции координируют синтез ферментов репликации для каждой фазы митоза. При возникновении повреждений и нарушений в структуре ДНК активируется белок p53 (супрессор опухолей), который как фактор транскрипции останавливает репликацию (точнее — митоз на стадии $G_1 \rightarrow S$) и даже включает механизм гибели клеток (апоптоз). Поэтому при мутациях гена p53 возникает неконтролируемое размножение клеток и рак (Зезеров Е.Г. // Вопросы онкологии. — 2001. — Т. 47, №2. — С. 174–181).

II. Перестройка генов — увеличение количества одинаковых генов рРНК или тРНК для ускоренного синтеза некоторых белков (амплификация генов); перестройка генов в предшественниках В-лимфоцитов (хромосомы №2, 14, 22) для формирования генов антител.

III. Утрата генов при созревании эритроидных клеток (эритробласты–нормобласты–ретикулоциты) с образованием эритроцитов.

IV. Регуляция транскрипции и трансляции изменяет количество ферментов в клетке. Существуют два вида такой регуляции.

А. Краткосрочная, временная или адаптивная регуляция в соответствии с физиологическим или патологическим состоянием происходит чаще на уровне транскрипции.

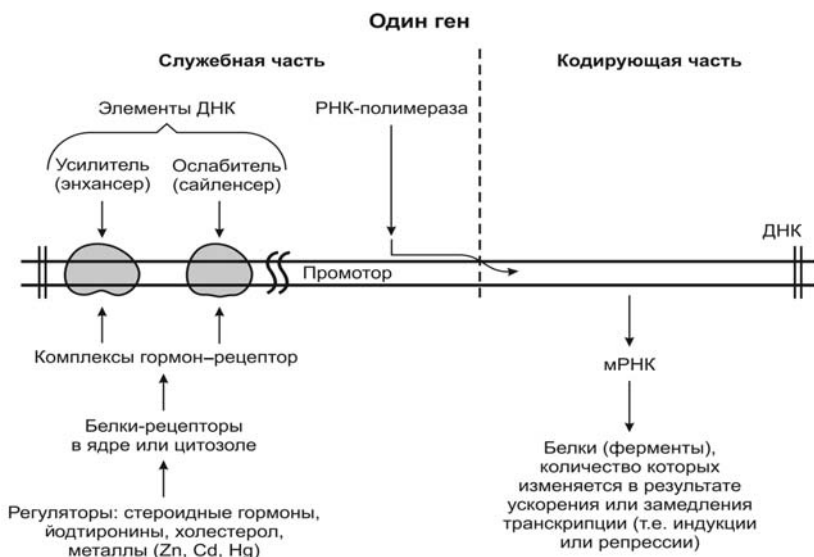
Примеры: а) голод → кортизол → усиление транскрипции гена регуляторного фермента глюконеогенеза (карбоксикиназы фосфоэнолпирувата) → синтез эндогенной глюкозы; б) избыток холестерина выключает регуляторный фермент его синтеза. Более редкая регуляция на уровне трансляции — это регуляция синтеза гемоглобина.

Б. Длительная или онтогенетическая регуляция на уровне транскрипции обеспечивает стойкую дифференциацию клеток в процессе индивидуального развития человека.

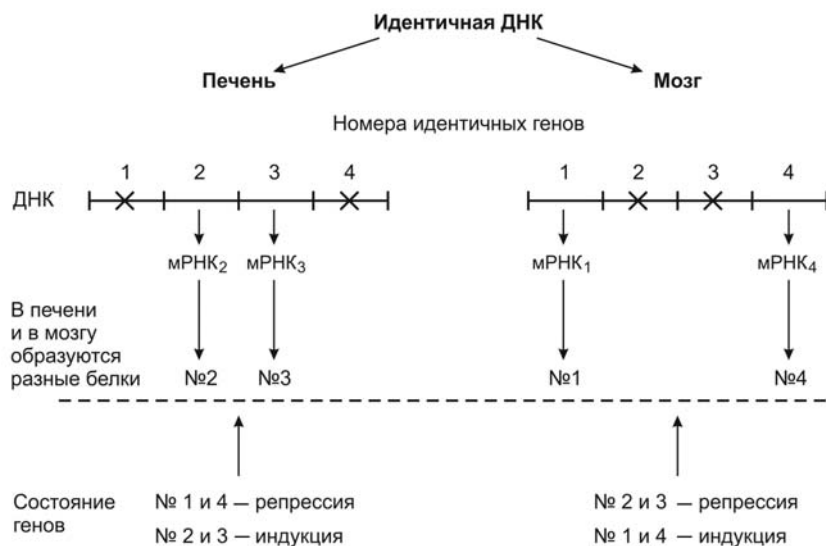
Из одной оплодотворенной человеческой гетерозиготы образуется около 200 дифференцированных специализированных клеток. Все они имеют одинаковый набор из 23 пар хромосом с одинаковыми молекулами ДНК и генами (кроме В-лимфоцитов), но с разными белками, ферментами, морфологией и функциями. Почему? Краткое объяснение в соответствии со следующей схемой: в клетках печени и мозга происходит стойкая репрессия или индукция разных генов.



Краткосрочная (адаптивная) регуляция действия генов человека на уровне транскрипции



Длительная (онтогенетическая) регуляция действия генов человека



Молекулярные механизмы длительной регуляции — длительного выключения транскрипции

1. Метилирование в ДНК N_6 -аденина и C_5 -цитозина с помощью ДНК-метилаз.
2. Конденсация ДНК при участии ДНК-топоизомераз делает невозможным локальное расхождение цепей ДНК, необходимое для транскрипции.
3. Активация ядерных деацетилаз приводит к деацетилированию гистонов, обнажению их катионообразующих групп Лиз⁺ и Арг⁺ и к усилению ионного взаимодействия гистонов⁺ с ДНК⁻, т.е. также к затруднению транскрипции.

Молекулярные механизмы стойкой активации других генов являются противоположными. В высокодифференцированных плазматических клетках специальный промотор или энхансер стойко активирует работу генов, кодирующих синтез легкой L- и тяжелой H-цепей антител.

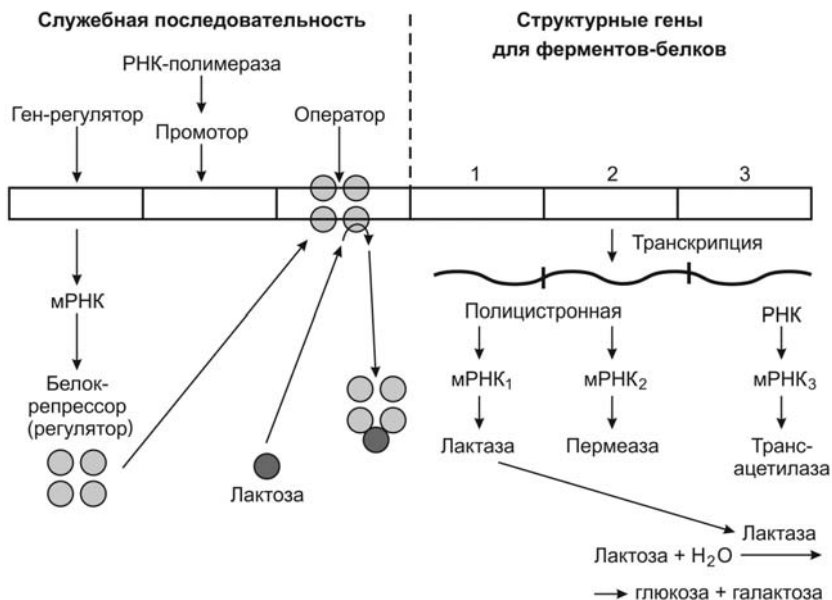
Наконец, в процессе онтогенеза от стадии эмбриона до взрослого человека происходит чередование последовательной (во времени) индукции и репрессии в 11-й хромосоме генов 2-го глобина для Hb. Так обеспечивается поэтапный синтез: HbE → HbF → HbA и HbA₂.

Бактериальные опероны

Регуляцию действия генов у бактерий можно показать на примере индуцибельного Лак-оперона, представляющего из себя блок служебных и структурных генов, обеспечивающих синтез белков и ферментов, необходимых для усвоения бактериями лактозы. Регуляция считается адаптивной (лактоза в питательной среде включает оперон) и осуществляется на уровне транскрипции (рисунок). Опероны бактерий, выполняющих синтез аминокислот, напротив, репрессибельны, т.е. избыток аминокислот выключает эти опероны.



Адаптивная регуляция действия генов бактерий на уровне транскрипции. Лактозный индуцибельный оперон



Полиморфизм белков и генов. Молекулярная генетика

Полиморфизм белков и генов

В лекции №4 были рассмотрены особенности строения и функционирования изоферментов. Небольшие различия в первичной структуре белка серии изоферментов одного типа фермента закодированы в первичной структуре их генов (ДНК). Для лактатдегидрогеназы (ЛДГ) два отдельных гена кодируют белковые цепи М и Н, из которых при сочетаниях по 4 цепи образуется 5 изоферментов. Два разных гена креатинкиназы (КК) также кодируют цепи М и В, но при их сочетании по 2 цепи формируется 3 изофермента (ММ — в скелетных мышцах, МВ — в миокарде и ВВ — в мозгу). Для клиницистов важным является повышение в крови активности изоферментов ЛДГ₁ (Н₄) и КК (МВ) как показателей возможного инфаркта миокарда.

Лучший пример полиморфизма белков — 4 изоформы гемоглобина Нб. Все они транспортируют кислород из легких в ткани, но функционируют на разных этапах жизни человека. Эти изоформы Нб имеют одинаковый α -глобин (ген в хромосоме 16) и разные вторые глобины, все 4 гена которых находятся в 11-й хромосоме.

Изоформы (изобелки) гемоглобина человека возникают в результате одновременной или последовательной работы разных генов второго глобина.

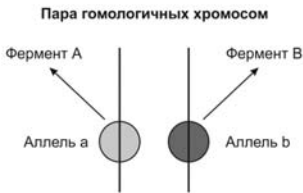
Кроме кодирования серии изоферментов-изобелков разными генами другой генетической причиной полиморфизма служит одновременная экспрессия обоих аллелей одного гена (кододоминантность). Аллели а и в кодируют гликозилтрансферазы А и В в клетке эритроидного ряда, которые катализируют синтез в одной клетке антигенов А и В. Так возникает группа IV (AB) крови человека.



Изоформы (изобелки) гемоглобина человека

Изоформа гемоглобина	Содержание в крови взрослого человека, %	Структура
HbA (главный)	96	2 α -, 2 β -глобина; 4 гема ↓ AK-H21 — Гис ⁺
HbA ₂	2	2 α -, 2 Δ -глобина; 4 гема
Эмбриональный HbF, главный для эмбриона и для ребенка в течение первого года жизни	2	2 α -, 2 γ -глобина, 4 гема ↓ AK-H21 — Сер ⁰
HbE эмбриона в течение 6 месяцев беременности	0	2 α , 2 ξ -глобина, 4 гема

Образование полиморфных белков благодаря кодоминантной (одновременной) экспрессии обоих аллелей одного гена: гетерозиготы по гену серповидно-клеточной анемии (HbA/HbS), группа крови IV (AB) человека:

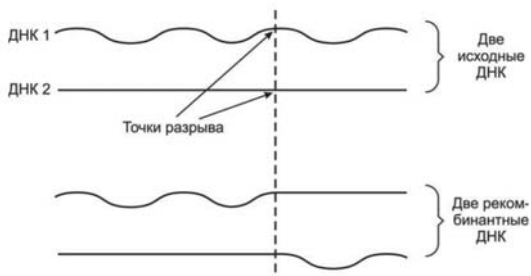


Молекулярные основы изменчивости биологических видов

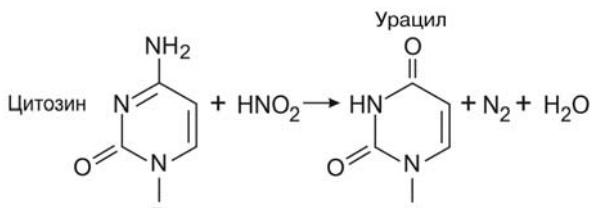
Изменчивость Характеристика	Генетическая или наследственная	Фенотипическая, или ненаследственная, или модификационная
Молекулярный механизм	Изменение первичной структуры ДНК или геномной РНК	Изменение первичной структуры мРНК и белка
Уровень процесса изменчивости	Рекомбинация в процессе кроссинговера,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



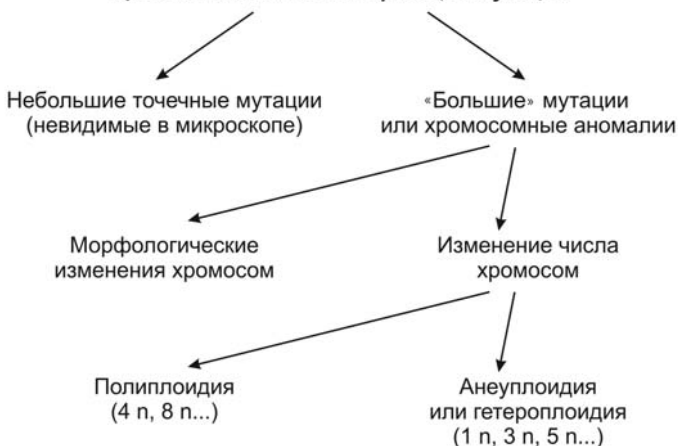
Равный кроссинговер — формирование рекомбинантных гамет. Представлен механизм разрыва — соединения хромосом гетерозигот как одна из моделей механизма рекомбинативной изменчивости.



Мутации. Исторически первый пример химического мутагенеза вируса табачной мозаики: при окислении азотистой кислотой цитозин в РНК ВТМ превращается в урацил, т.е. изменяется первичная структура вирусного генома — РНК.



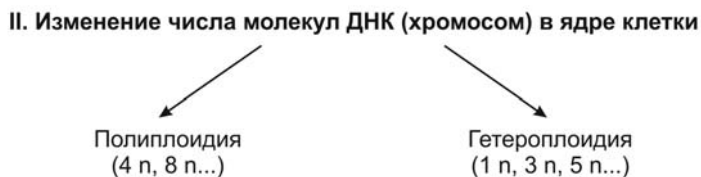
Цитологическая классификация мутаций



Молекулярный механизм мутаций



Молекулярный механизм второй группы мутаций связан с нарушениями (изменениями) репликации ДНК или ее регуляции.



Мутации, обусловленные изменением первичной структуры ДНК, разнообразны.

Наиболее наглядные их варианты представлены в таблице с указанием общих и частных названий, с демонстрацией вторичных изменений первичной структуры мРНК и белка и с указанием возможных особенностей функций мутантных белков-ферментов.



Мутации типа замен, вставок и делеций (выпаждений) нуклеотидов

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

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



Мутации типа замен нуклеотидов представлены демонстративно в таблице.

Мутации типа вставок нуклеотидов в ДНК или их выпадений (делеций) требуют понимания, что рамки чтения генетического кода — это границы между триплетами (кодонами) в ДНК и мРНК. При вставках-делециях нуклеотидов на границе кодонов в количестве, кратном трем ($3N$), рамка не сдвигается (см. отдельную схему) и белок просто удлиняется или укорачивается на N аминокислот.

При вставках-делециях нуклеотидов в количестве, не кратном трем, рамка чтения кода в ДНК и мРНК сдвигается и в полипептидной цепи от места мутации и далее к С-концу белка формируется новая (случайная) последовательность аминокислот (см. другую отдельную схему).

Мутация — вставка трех нуклеотидов на границе кодонов без сдвига рамки чтения генетического кода



Мутация — вставка одного нуклеотида со сдвигом рамки чтения генетического кода



Изменение функциональной активности мутантных белков-ферментов (информация представлена в таблице, см. выше)

Дополнительно рассматриваем следующие ситуации.

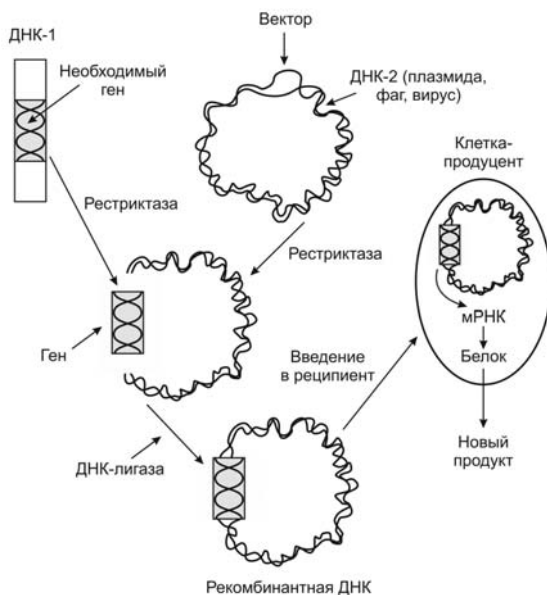
1. При наличии мутации (изменения в ДНК) функция белка остается прежней из-за вырожденности генетического кода или вследствие того, что изменения аминокислот в белке несущественны для работы его центра связывания лиганда.

2. При небольшом изменении активности фермента (повышении-понижении) вероятны миссенс-мутации или делеции-вставки без сдвига рамки чтения кода.

3. При мутациях со сдвигом рамки чтения кода активность белка-фермента или изменяется значительно, или утрачена, или является новой.

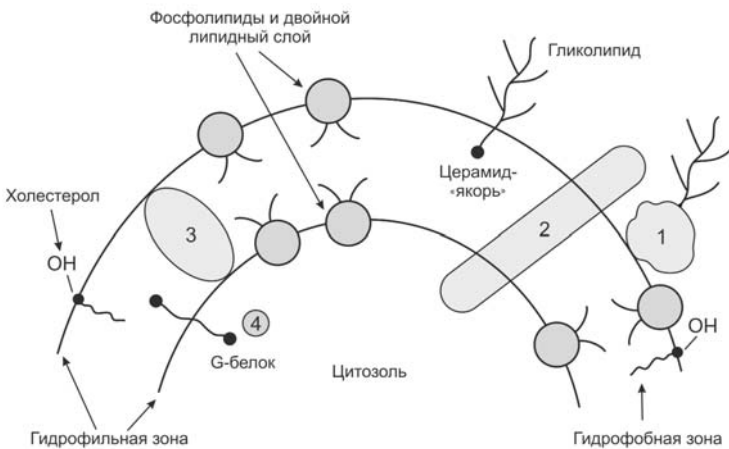
4. Полная инактивация белка-фермента возможна также при нонсенс-мутациях с образованием укороченного белка.



Генетическая инженерия (приведена базовая схема процесса)

Мембраны клеток

Типовое биохимическое строение цитоплазматической мембраны



I. Белки мембран (нумерация соответствует рисунку)

1. Периферические белки в комплексе с углеводами (гликопротеины).
2. Трансмембранные белки с гидрофобными аминокислотами (АК) внутри мембраны и с гидрофильными АК на внешнем и внутреннем N- и С-концах полипептидной цепи.
3. Интегральные белки из гидрофобных АК внутри мембраны.
4. Заякоренные белки вне мембраны, связанные липидной ножкой, находящейся в самой мембране.

II. Липиды мембран

1. Амфифильные фосфолипиды (схема):
 - а) глицерофосфолипиды с полярной головкой и гидрофобными двумя «хвостами» жирных кислот; создают двойной липидный слой мембраны (лецитин);



б) сфингофосфолипиды; сфингомиелин — главный компонент миелиновой оболочки аксонов нейронов.

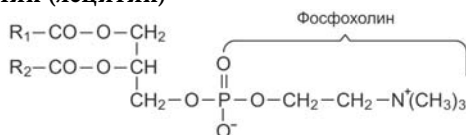
2. Амфифильные гликолипиды или цереброзиды (в нейронах — ганглиозиды) с липидной ножкой (церамидом) в мембране и с углеводами на ее поверхности. Роль: детерминируют группы крови системы А, В, О, участвуют как рецепторы-антигены во взаимодействии клетки с антителами.

3. Гидрофобный и слабогидрофильный холестерол.

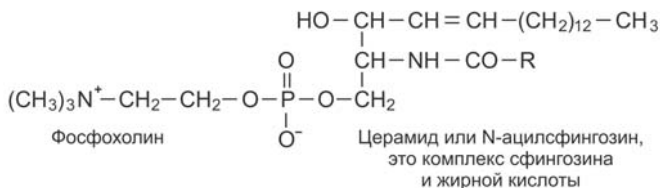
Амфифильный фосфолипид (фосфатидилхолин, фосфатидилсерин)



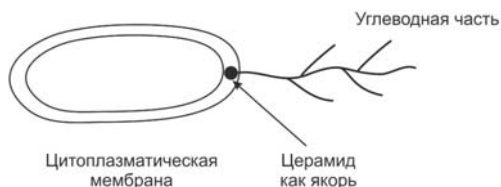
Фосфатидилхолин (лецитин)



Сфингомиелин — компонент миелиновой оболочки

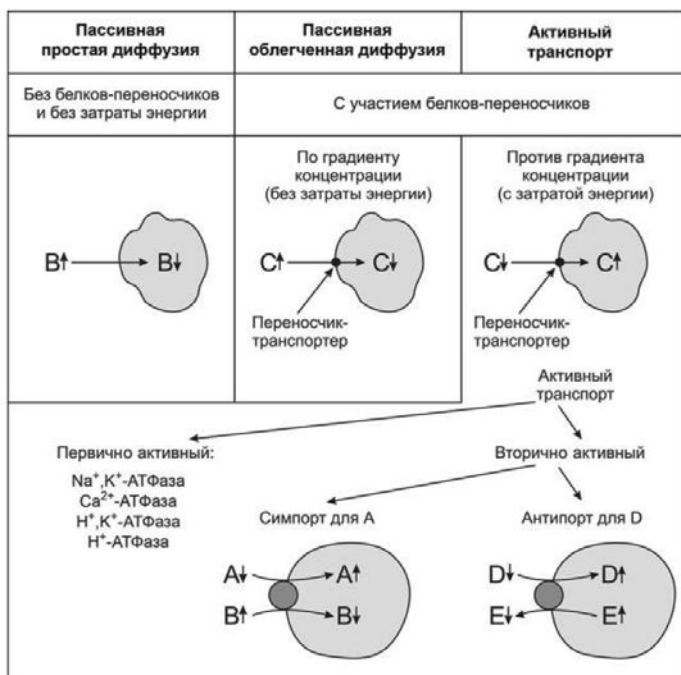


Гликолипид или амфифильный цереброзид мембраны



Перенос веществ через мембраны

Способ транспорта веществ через мембраны зависит от необходимости функционирования белка-переносчика и затрат энергии для транспорта



1. Пассивная простая диффузия обеспечивает доставку в клетку гидрофобных веществ, отсутствующих в клетке или имеющих в небольшом количестве (стероидные гормоны, йодтиронины, лекарства и др.).

2. Пассивная облегченная диффузия также не требует энергии для транспорта (перенос по градиенту концентрации вещества), но использует белок-переносчик, т.к. транспортируются через гидрофобную мембрану гидрофильные вещества (глюкоза, мочевины, некоторые АК, небольшие белки).

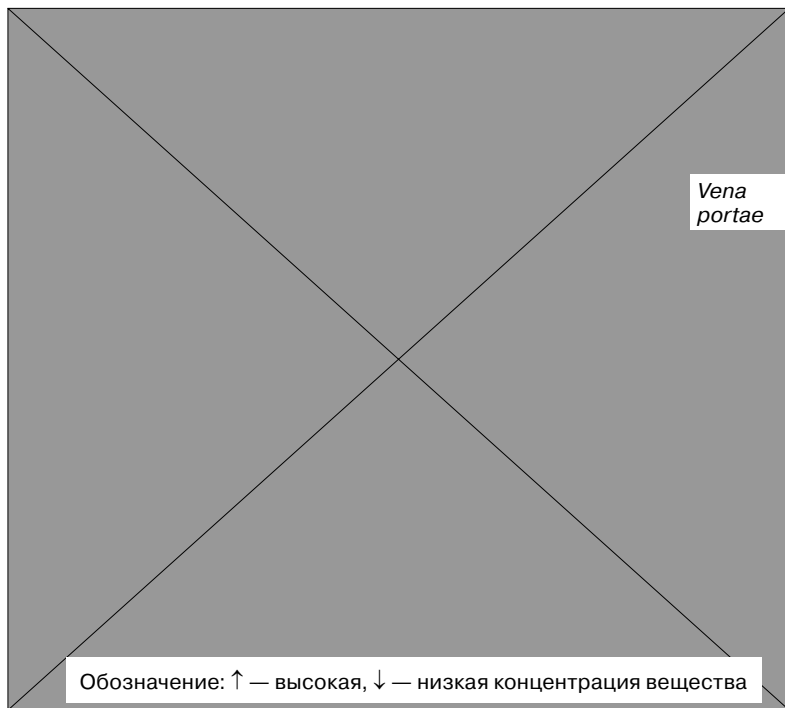
3. Активный транспорт идет против градиента концентрации и требует затрат энергии и белков-переносчиков для гидрофильных молекул и ионов. Для первично активного транспорта нужны белки — ионные насосы или АТФазы и энергия АТФ, при вторично активном переносе источник энергии — энергия градиента концентрации другого вспомогательного вещества в 2 вариантах (симпорт и антипорт, см. таблицу).



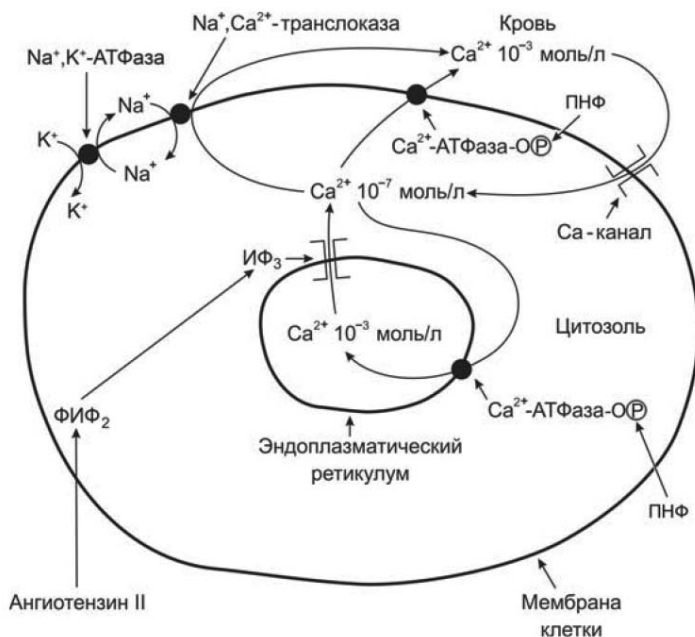
Частные особенности транспорта веществ через мембраны клетки

- Для переноса воды существуют у многих видов (от бактерий до человека) особые белки-аквапорины.
- Для переноса ионов необходимы селективные специфические для каждого иона каналы, которые могут работать в обе стороны под влиянием регуляторов (гормоны, медиаторы, оксид азота, ИФ₃, цНМФ). Отдельно представлена схема транспорта иона Са через мембраны.
- Для всасывания пищевой глюкозы в стенку тощей кишки возможны два механизма в зависимости от содержания глюкозы в пище (схема).

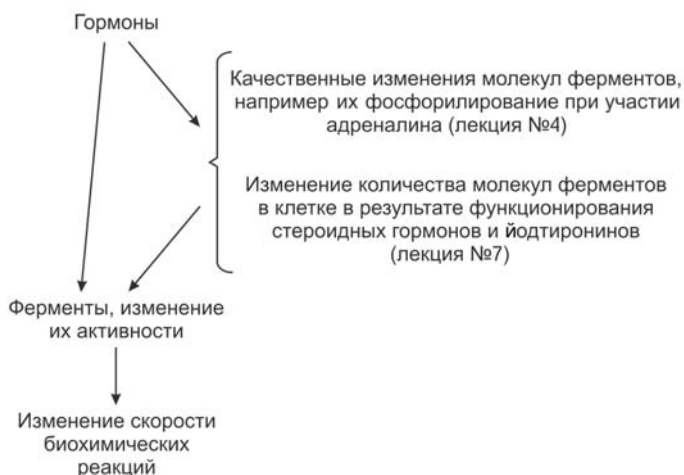
Механизмы всасывания глюкозы в тонком кишечнике: при высокой и умеренной концентрации пищевой глюкозы в полости кишечника — облегченная диффузия, при низкой — вторично активный транспорт по механизму симпорта с NaCl.



Транспорт ионов кальция через клеточные мембраны и влияние гормонов ангиотензина II и его антагониста ПНФ (предсердного натрийуретического фактора) на потоки кальция



Принципиальная схема механизма действия гормонов на метаболизм



Специальная терминология для характеристики передачи сигналов гормонов в клетку

1. Сигнальные молекулы, или первичные вестники (первичные мессенджеры), — сами гормоны, эйкозаноиды, цитокины, факторы роста.
2. Рецепторы гормонов в цитоплазматической мембране или внутри клетки.
3. Вторичные вестники (вторичные мессенджеры) для гормонов, не проникающих в клетку: цАМФ, цГМФ, Са, ДАГ, ИФ₃.
4. Вспомогательные ферменты: протеинкиназы А, G, С, кальций-кальмодулинзависимые протеинкиназы, фосфатазы.
5. Метаболические ферменты, непосредственно катализирующие реакции обмена углеводов, липидов, белков.
6. Метаболизм — анаболизм (синтезы) и катаболизм (распады веществ).

Классификация гормонов и их рецепторов по механизму передачи сигналов внутрь клеток

I. Механизм передачи через некаталитические рецепторы цитоплазматических мембран:

- 1) аденилатциклазная система (АЦС) — для адреналина, глюкагона и некоторых других гидрофильных гормонов;
- 2) инозитолфосфатная система (ИФС) — для ангиотензина II, для адреналина в печени и в случае антидиуретического гормона для гладкой мускулатуры артерий.

II. Механизм передачи через каталитические цитоплазматические рецепторы — для инсулина и предсердного натриуретического фактора.

Оба механизма (I и II) относятся к гидрофильным гормонам, не проникающим в клетку, которые через вторичные мессенджеры первично качественно изменяют структуру ферментов, а вторично — их активность. Для инсулина характерны дополнительные механизмы (см. ниже).

III. Механизм передачи через некаталитические внутриклеточные рецепторы (в цитозоле или ядре) — для стероидных гормонов и йодтиронинов. Все они, как гидрофобные молекулы, проникают внутрь клетки способом простой диффузии и далее в комплексе со своими внутриклеточными рецепторами соединяются с регуляторными зонами генов и на уровне транскрипции изменяют количество метаболических ферментов в клетке и, следовательно, повышают или понижают общую ферментативную активность клетки.

Каждый гормон секретируется в кровь из эндокринной железы при определенных физиологических, экстремальных или патологических



состояниях человека. Это соответствие: статус человека — гормон надо хорошо знать для правильной оценки и решения ситуационных задач. Ниже представлена соответствующая таблица.

Физиологическое состояние человека	Гормон	Химическая структура	Физико-химические свойства	Место синтеза
Прием пищи	Инсулин	Белок	Гидрофильный	Глюкоза \uparrow - β -кл. <i>pancreas</i>
Голод	Глюкагон	Пептид	Гидрофильный	Глюкоза \downarrow - α -кл. <i>pancreas</i>
Голод	Кортизол	Стероид	Гидрофобный	Глюкоза \downarrow - над-почечники
Физическая работа срочная	Адреналин	Модифицированный тирозин	Гидрофильный	Надпочечники
Рост, развитие	Йодтиронины	То же	Гидрофобный	Щитовидная железа
Стресс	Адреналин, кортизол	См. выше		
Половые функции	Тестостерон, эстрогены, прогестины	Стероиды	Гидрофобные	Половые железы

Поэтапный подробный анализ представляемых ниже пяти систем передачи сигналов гормонами в рамках лекции нецелесообразен. Выделим отдельные вопросы.

1. Существует несколько типов и подтипов адренорецепторов — трансмембранных гликопротеинов. Такой полиморфизм адренорецепторов отражен в приводимой ниже схеме.

2. Регуляция адреналином метаболизма гликогена в печени может осуществляться через АЦС или ИФС и сводится к фосфорилированию гликогенфосфорилазы и гликогенсинтазы и к изменению их активности: соответственно повышение и понижение.

3. Для инсулина характерен двойной механизм изменения активности метаболических ферментов.

Гидрофильный инсулин активирует тирозинкиназу своего цитоплазматического рецептора, затем следует каскад реакций с участием вспомогательных ферментов киназ и фосфатаз. Далее потоки сигналов раздваиваются:

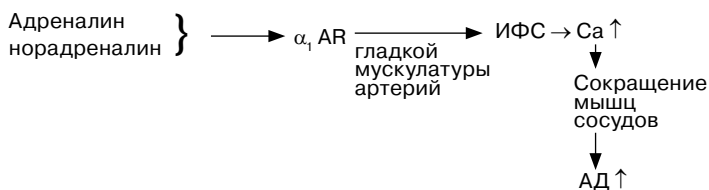
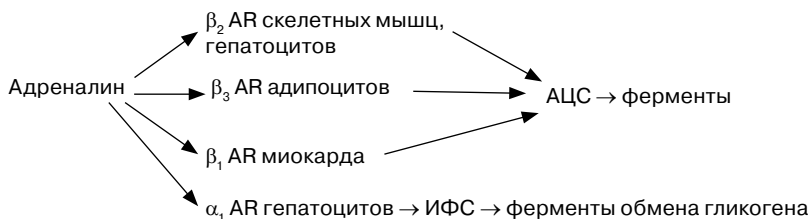


- а) активированные фосфатазы дефосфорилируют метаболические ферменты и качественно изменяют их активность — повышают или понижают;
- б) киназы фосфорилируют факторы транскрипции, меняют их способность участвовать в транскрипции (индукция или репрессия) и этим количественно изменяют ферментативную активность клеток-мишеней (гепатоциты, адипоциты, миоциты).

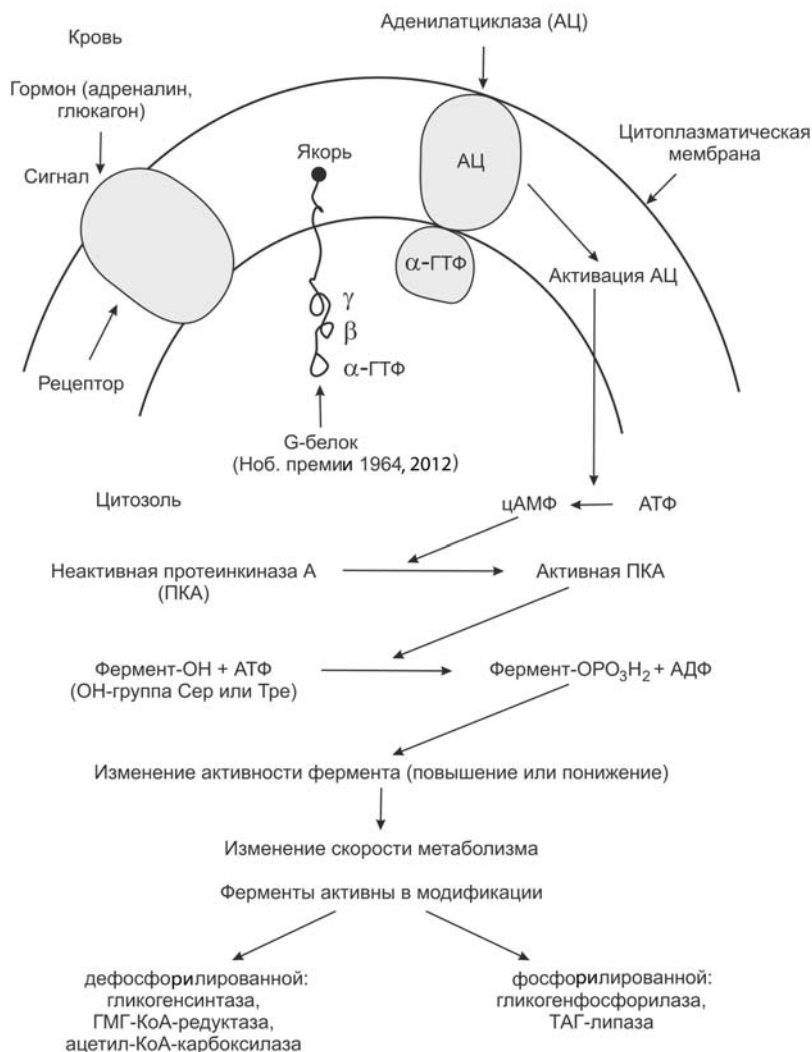
Адренорецепторы в разных тканях

Полиморфизм адренорецепторов — AR

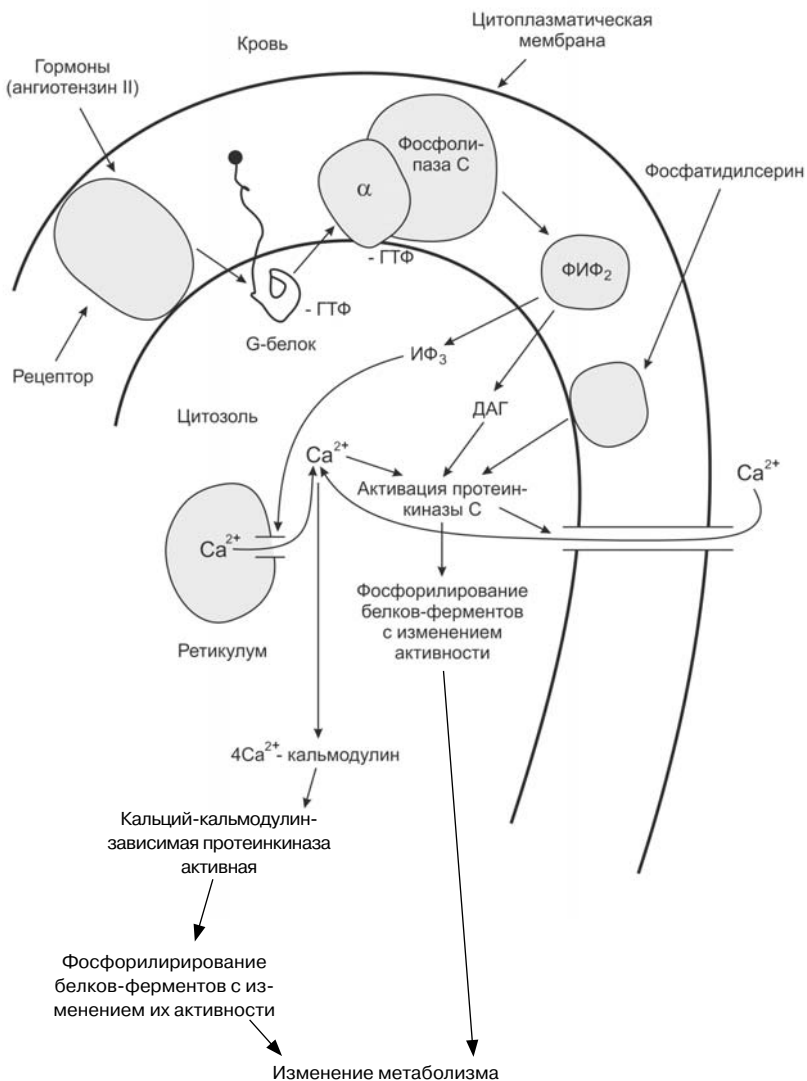
изоформы — β и α



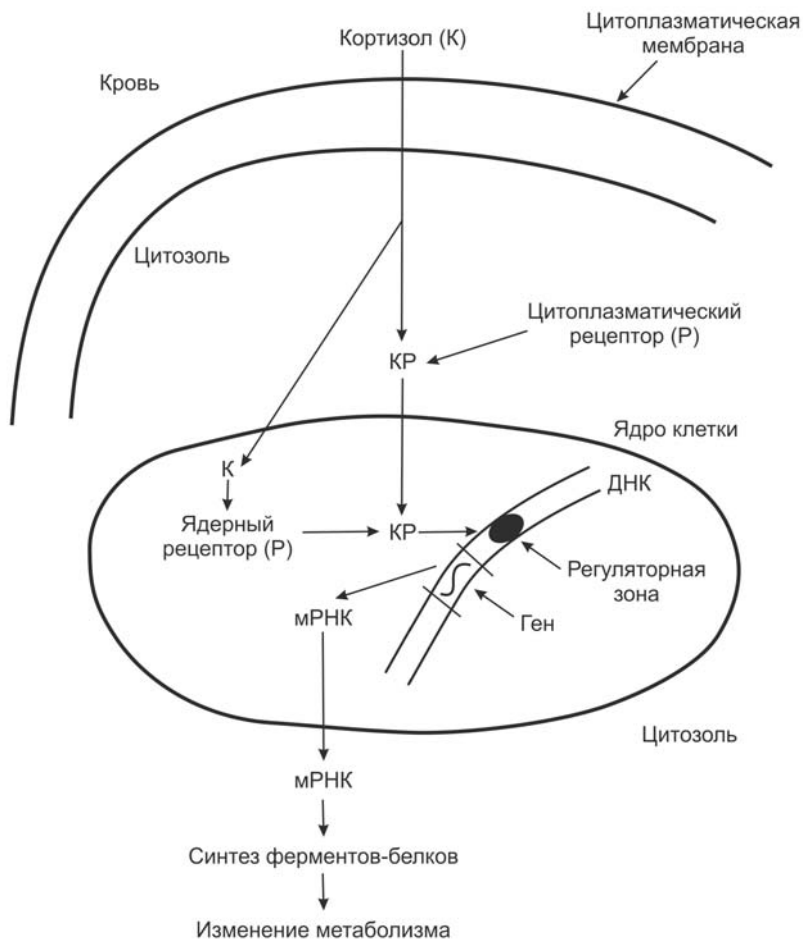
Аденилатциклазная система (АЦС) передачи сигналов гормонами внутрь клеток



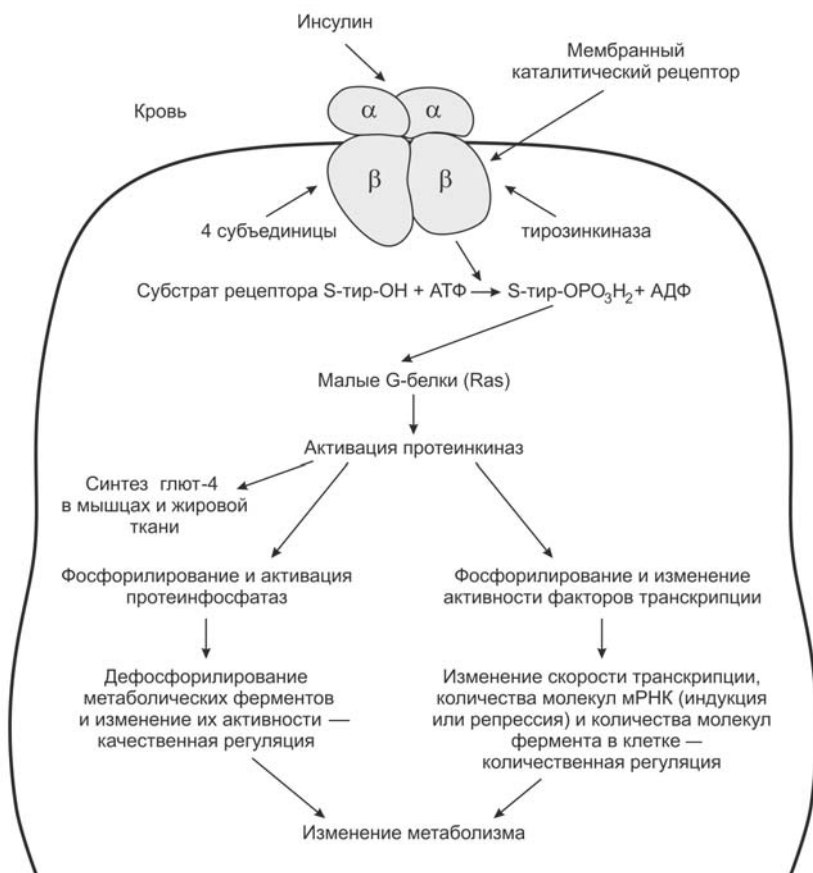
Инозитолфосфатная система (ИФС) передачи сигналов гормонами внутрь клеток



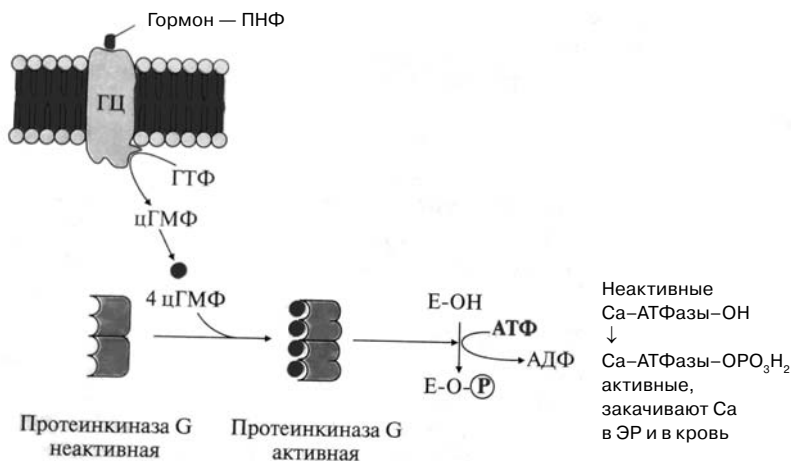
Механизм передачи сигналов стероидными гормонами и йодтиронидами внутрь клеток



Механизм регуляции инсулином ферментативной активности в клетках мышц, жировой ткани и печени



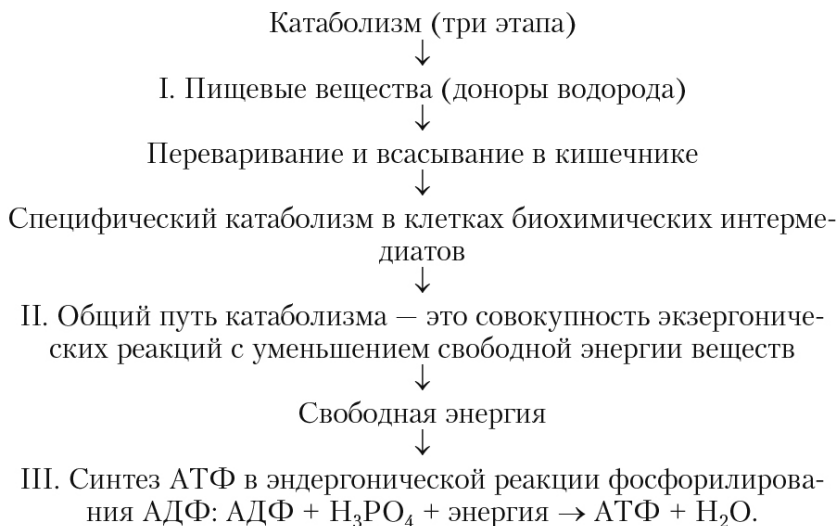
Предсердный натриуретический фактор (ПНФ) как гидрофильный гормон через гуанилатциклазную систему (ГЦС) фосфорилирует и активирует Ca^{2+} -АТФазу, которая уменьшает концентрацию кальция в цитозоле за счет транспорта его в кровь и эндоплазматический ретикулум, т.е. конечный эффект ПНФ прямо противоположен эффекту ангиотензина II (см. выше схему транспорта кальция). Детали — в лекции №28.



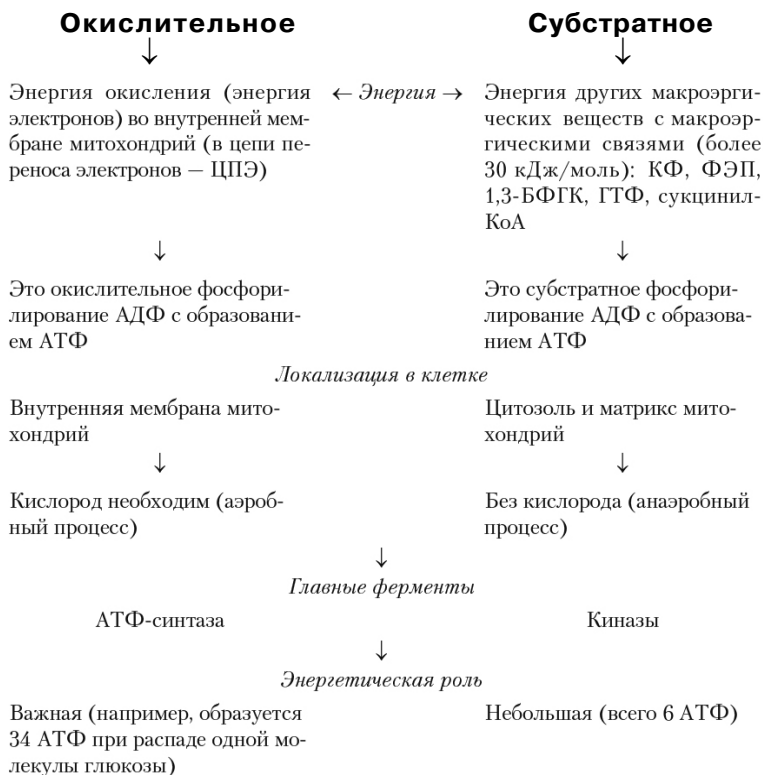
Энергетический обмен. Цепь переноса электронов (ЦПЭ)

Метаболизм — это

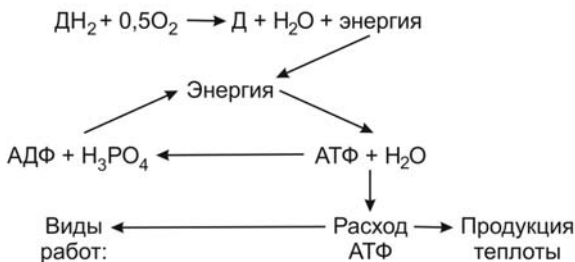
1) катаболизм и 2) анаболизм



Два метода синтеза АТФ путем фосфорилирования АДФ



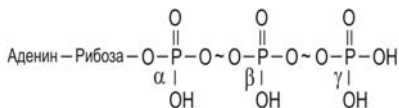
Цикл АТФ–АДФ



Виды работ с использованием энергии АТФ:

- 1) химическая — синтезы веществ (анаболизм);
- 2) механическая (работа мышц);
- 3) электрическая (нервные импульсы);
- 4) работа по активному транспорту метаболитов в клетке.

Строение основной макроэргической молекулы АТФ: одна макроэргическая связь (тильда) содержит энергию в количестве 30 кДж/моль в стандартных условиях и 50 кДж/моль в клетке.



~ Тильда, знак макроэргической связи

Окислительное фосфорилирование АДФ происходит во внутренней мембране митохондрий за счет энергии потока электронов — цепь переноса электронов (ЦПЭ).

Этот синтез АТФ состоит из двух процессов.

I. Окисление вторичных доноров водорода НАДН, ФАДН₂, QH₂ с переносом двух электронов на один атом кислорода и с образованием воды и, главное, с дробным освобождением энергии.

II. 40–70% свободной энергии используется для синтеза АТФ:



Остальная энергия рассеивается в организме в виде теплоты и создает у человека температуру около 37 °С.

Представленная на следующей странице схема характеризует все компоненты ЦПЭ и показывает окисление, т.е. перенос электронов и протонов от метаболитов на кислород.

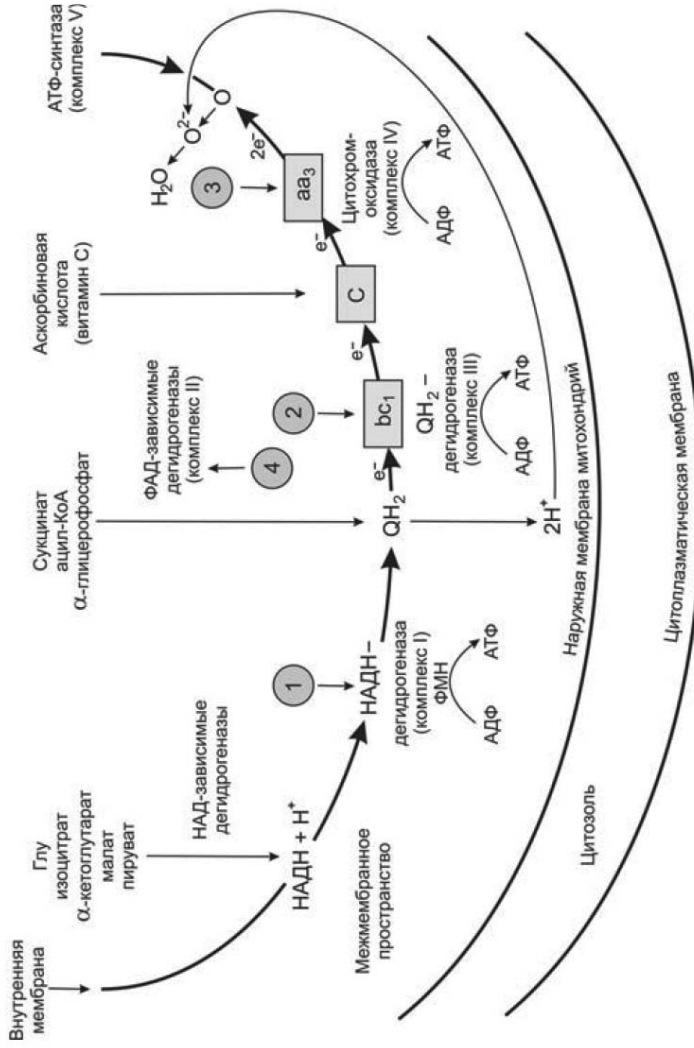
Электроны перемещаются по внутренней мембране митохондрий, а «химические» протоны через межмембранное пространство достигают атом кислорода с двумя дополнительными электронами и образуется вода.

В примечании к схеме приведены активаторы и ингибиторы ферментов и процессов в ЦПЭ. Движущей силой ЦПЭ является редокс-потенциал компонентов, т.е. их сродство к электронам. Наибольшее сродство — у атома кислорода как главного акцептора электронов.



Митохондриальная дыхательная цепь — цепь переноса электронов

Матрикс митохондрий

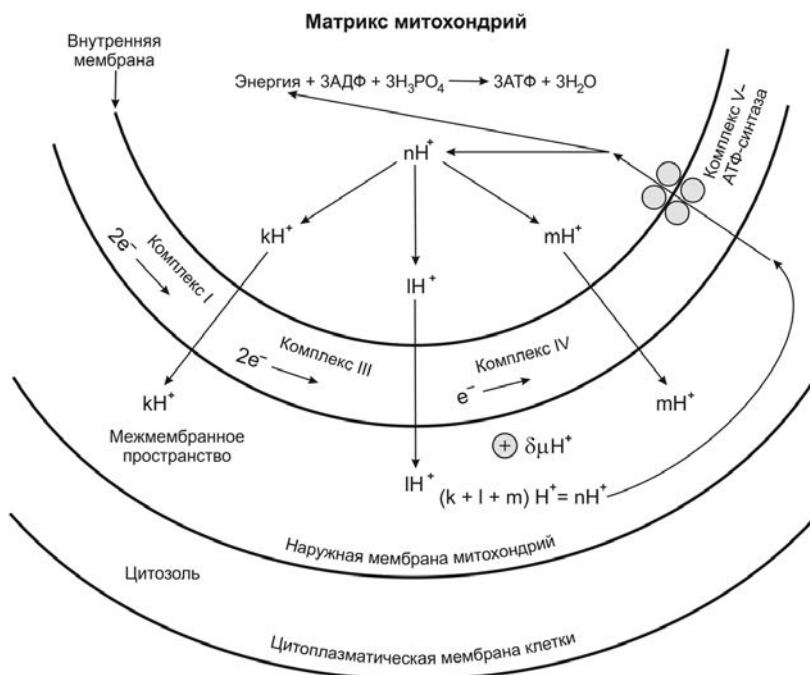


Примечания.

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



Второй процесс — непосредственный синтез АТФ в митохондриях методом окислительного фосфорилирования АДФ:



Рассмотренная хемиосмотическая теория окислительного фосфорилирования АТФ по Митчеллу (Нобелевская премия, 1978) объясняет: при движении электронов вдоль ЦПЭ комплексы ферментов I, III, IV одновременно перекачивают векторные протоны из матрикса митохондрий в межмембранное пространство и положительно заряжают внутреннюю мембрану. Возникает второй потенциал — трансмембранный электрохимический или физическая форма энергии. Далее благодаря кинетической энергии векторных протонов при участии активированной ими АТФ-синтазы (комплекс V) образуется АТФ.



В итоге в митохондриях создаются цикл векторных протонов и цикл АТФ–АДФ, обеспечивающий энергией все виды работ в цитозоле.

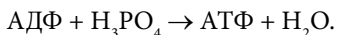


Коэффициенты Р/О, или, точнее, АТФ/О, показывают, сколько молекул АТФ синтезируется при поглощении митохондрией одного атома кислорода. Разные носители энергии — доноры водорода (на схеме) обладают разной энергией, реализуемой в точках сопряжения. Поэтому для них коэффициенты Р/О будут отличаться (теоретические величины 3, 2, 1).

Регуляция ЦПЭ

I. Активаторы синтеза АТФ

- векторные протоны и создаваемый ими трансмембранный потенциал внутренней мембраны активируют АТФ-синтазу;
- АДФ ускоряет работу ЦПЭ и синтез АТФ, сдвигая вправо равновесие реакции синтеза АТФ по закону действующих масс:



Биохимический жаргон для последней регуляции — «дыхательный контроль».

II. Разобшители

Разобшители ЦПЭ — гидрофобные эндогенные (йодтиронины, билирубин и др.) и экзогенные (динитрофенол, дикумарол и др.) вещества создают в гидрофобной мембране дополнительный канал для возврата векторных протонов в матрикс митохондрий, уменьшая этим трансмембранный потенциал и синтез АТФ. Но перенос электронов и поглощение O_2 не тормозится, а энергия окисления рассеивается в виде теплоты и повышает температуру тела. Эндогенные разобшители обеспечивают здоровому человеку температуру тела до 37°C .

Разобшители окисления и фосфорилирования АДФ



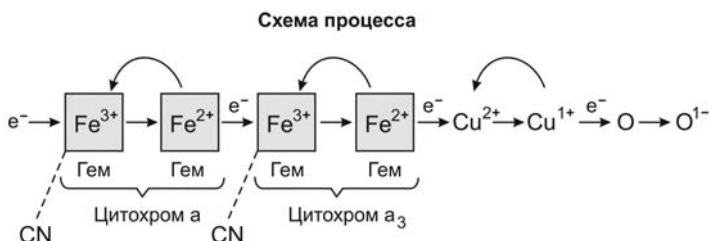
III. Ингибиторы ферментов ЦПЭ

Для каждого из четырех ферментативных комплексов ЦПЭ существуют ингибиторы, представленные на общей схеме ЦПЭ (стр. 93). Они тормозят перемещение электронов вдоль цепи и поглощение кислорода; вторично тормозят перемещение векторных протонов поперек цепи (через внутреннюю мембрану) и поэтому уменьшают синтез АТФ.

Среди ингибиторов имеются:

- лекарства — барбитураты (снотворное амитал, амобарбитал), тормозящие начальный комплекс I (НАДН-дегидрогеназу);
- цианиды блокируют конечный комплекс IV (цитохромоксидазу), через который проходят потоки электронов от всех их доноров и потому цианиды вызывают быстрый летальный эффект.

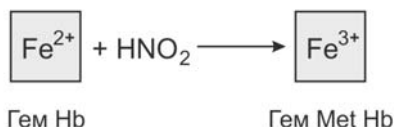
Механизм переноса электронов цитохромами и медью на кислород и ингибирование цитохромоксидазы цианидами



Цианиды образуют стабильный комплекс с железом гема Fe³⁺ цитохромоксидазы (ЦХО) и таким образом блокируют дальнейший перенос электронов на кислород и синтез АТФ.

Антидоты при отравлениях цианидами

- Глюкоза (внутривенно) связывает своей альдегидной группой цианид по типу шиффовых оснований.
- Нитриты окисляют Fe²⁺ до Fe³⁺ во всех молекулах организма, содержащих гем, и больше всего в Hb, который связывает почти все цианиды и освобождает ЦХО от смертельного яда. Образовавшийся Met-Hb плохо переносит O₂, может вызвать гипоксию, но предотвращает смертельный исход.



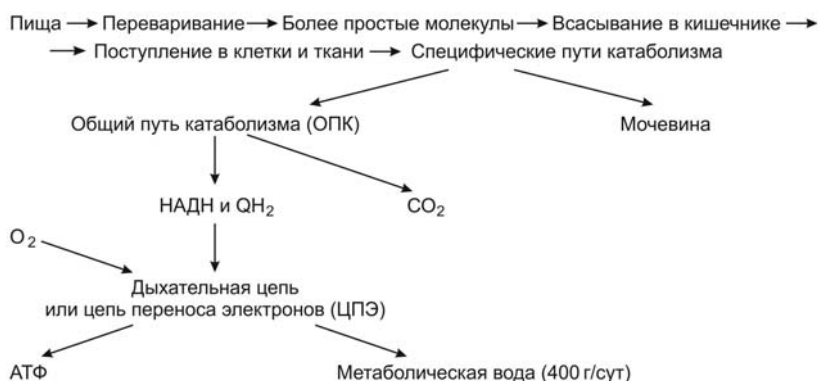
Научно-биографическая справка

Автор настоящей лекции Е.Г. Зезеров в 1956–1957 гг. в период обучения в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова проводил на кафедре биохимии экспериментальную работу (под руководством будущего академика АМН СССР А.Н. Климова) и показал, что антибиотик стрептомицин в животных тканях тормозит декарбоксилирование пирувата и синтез цитрата, а также угнетает окислительное фосфорилирование АДФ и синтез АТФ, что объясняет его побочное токсическое действие на людей (Симпозиум ИЭМ АМН СССР «Фосфорилирование и функция». — Ленинград: Изд-во «ИЭМ», 1960. — С. 129–136).



Общий путь катаболизма

Общая схема катаболизма белков, жиров и углеводов



Специфические термины энергетического обмена

1. Первичные доноры водорода — промежуточные продукты катаболизма:

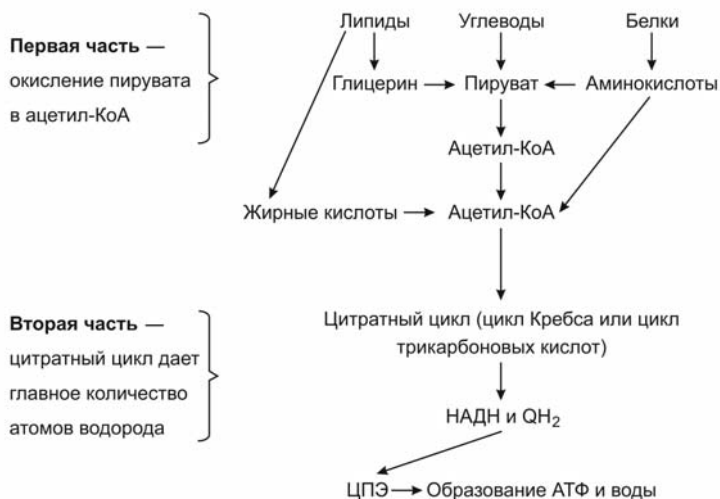
- а) специфических путей катаболизма — пируват, глутаминовая кислота, жирные кислоты, этанол, глицерол-3-фосфат;
- б) общего пути катаболизма — изоцитрат, α -кетоглутарат, малат, сукцинат.

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

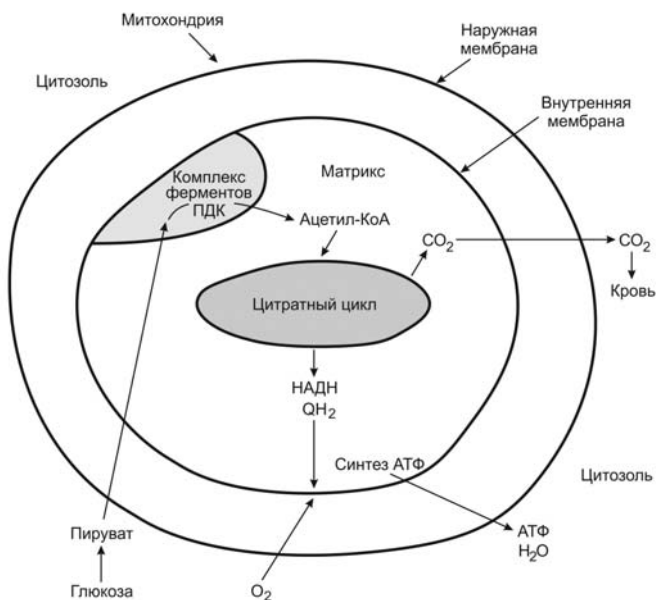
3. Вторичные доноры водорода для ЦПЭ — НАДН, ФАДН₂, QH_2 .



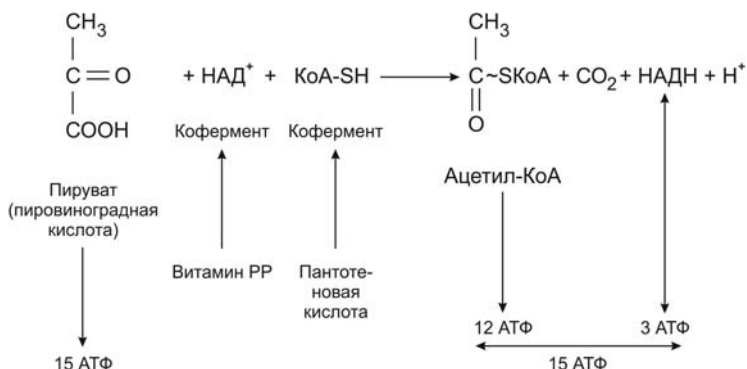
Общий путь катаболизма (ОПК) и ЦПЭ



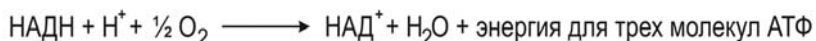
ОПК и ЦПЭ в митохондриях



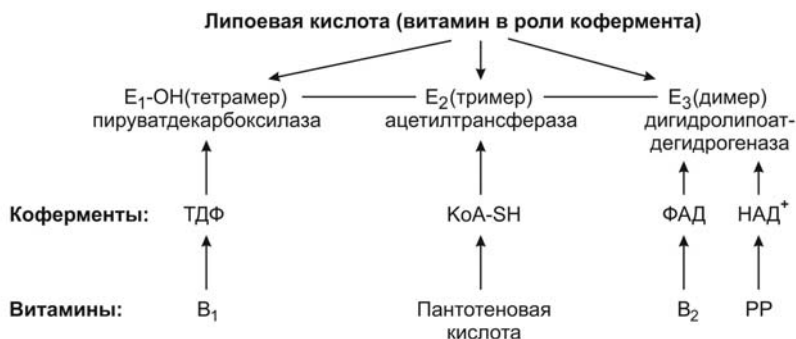
Окислительное декарбоксилирование пирувата (первый этап)



Второй этап процесса окисления пирувата в ацетил-КоА. Оба этапа строго сопряжены



Структура пируватдегидрогеназного комплекса (ПДК)



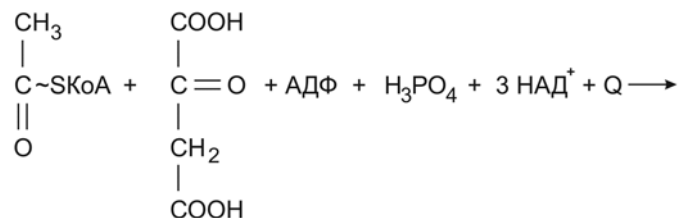
Итого: в составе ПДК пять витаминов и коферментов, три основных фермента и два регуляторных фермента:

- 1) фосфатаза дефосфорилирует и активирует E₁ (E₁-ОН); активатор фосфатазы — инсулин;
- 2) протеинкиназа, напротив, фосфорилирует и инактивирует E₁ (E₁-ОРО₃H₂).

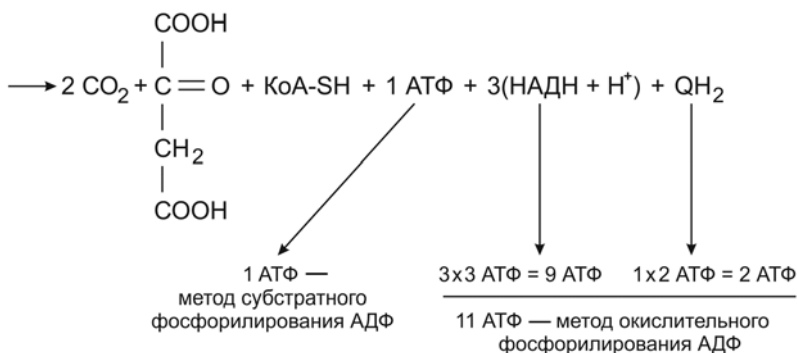


Образовавшийся при участии ПДК ацетил-КоА вступает в цитратный цикл (ЦТК) и «сгорает» в нем до двух молекул CO_2 с одновременным синтезом в ЦТК и в ЦПЭ 12 АТФ.

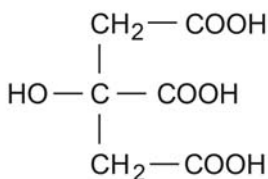
Суммарное уравнение цитратного цикла



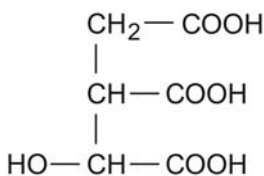
Ацетил-КоА Оксалоацетат



Формулы лимонной кислоты и ее соли — цитрата



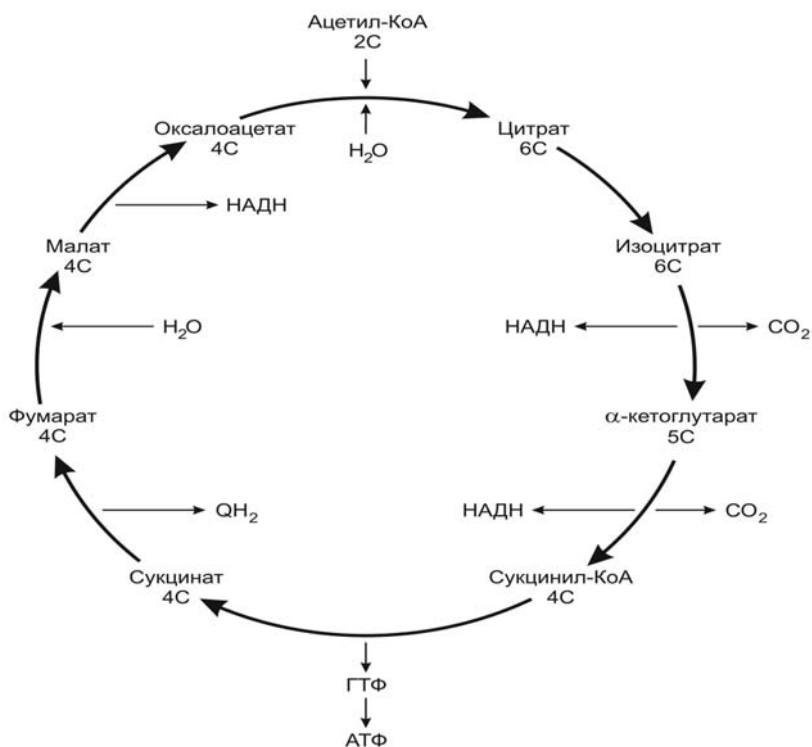
Лимонная кислота,
соль — цитрат



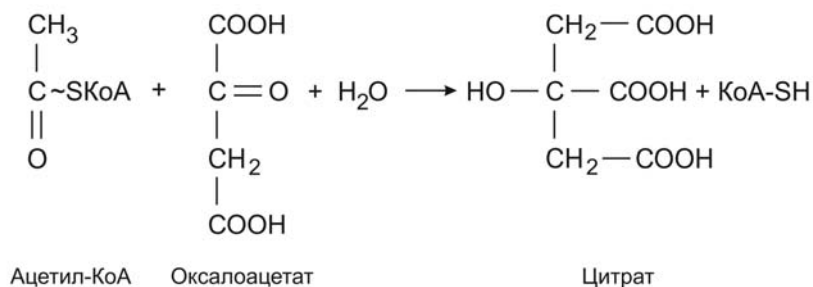
Изолимонная кислота,
соль — изоцитрат



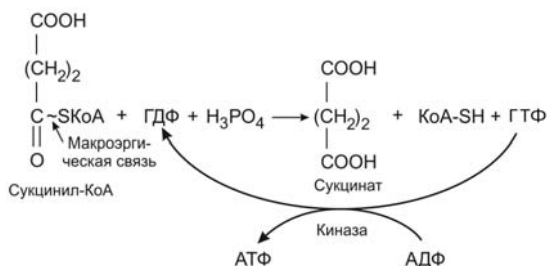
Цитратный цикл, цикл трикарбоновых кислот, цикл Кребса — полная схема



Первая реакция цитратного цикла



Реакции субстратного фосфорилирования ГДФ, АДФ и синтеза АТФ

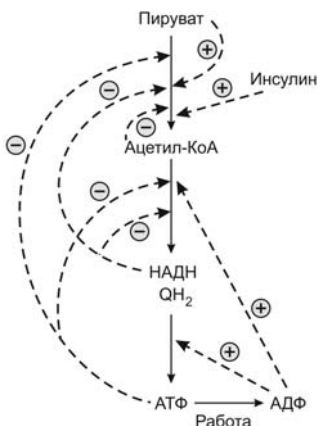


Регуляторы ферментов общего пути катаболизма

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

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

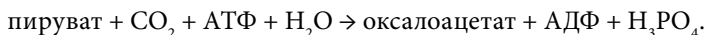
Схема регуляции ОПК и ЦПЭ: (+) — активация, (-) — ингибирование



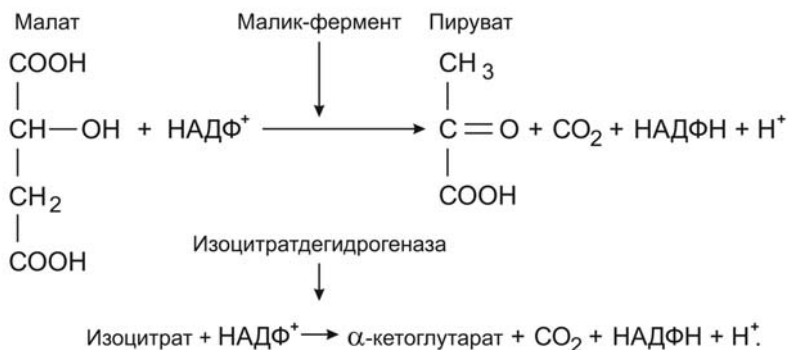
Анаболические функции ОПК

I. На базе многих метаболитов ОПК образуются другие соединения: аминокислоты, жирные кислоты, холестерол, кетоновые тела, гем.

II. В процессе ЦТК участвует в качестве «катализатора-переносчика» оксалоацетат (щавелевоуксусная кислота). Для пополнения его фонда постоянно происходит реакция, которую катализирует пируваткарбоксилаза (кофакторы — биотин и Mn):



III. Важнейшая анаболическая функция ОПК — синтез НАДФН:



Нарушения энергетического обмена, дефицит АТФ, гипоенергетическое состояние

Дефицит АТФ возникает при гипоксии, отравлениях ядами и ингибиторами ферментов, при дефектах питания с недостатком глюкозы, жиров, витаминов и при некоторых заболеваниях (сахарный диабет и др.). Так, при дефиците в пище витамина B_1 снижается активность ПДК, пируват превращается в лактат — это лактат-ацидоз.

Наследственные гипоенергетические состояния развиваются при мутациях генов ферментов энергетического обмена, находящихся в ДНК ядра или митохондрий. Например, мутационный дефицит пируваткарбоксилазы приводит к наследственному лактат-ацидозу вследствие превращения избытка пирувата в лактат.

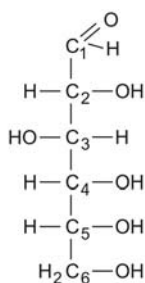


Строение и переваривание углеводов.

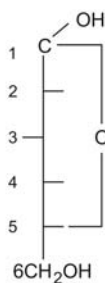
Метаболизм гликогена

(первая Нобелевская премия в области биохимии — 1902 г.)

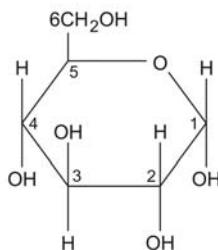
Варианты структур глюкозы — эти формулы надо знать!



Линейная структура

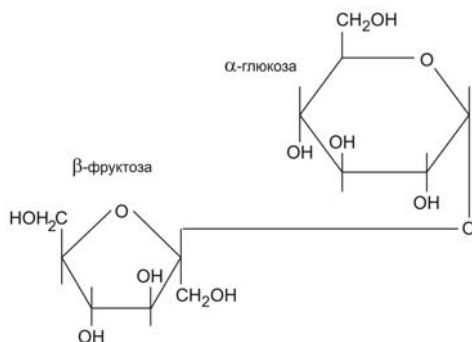


Циклическая структура по Колли и Толлинсу



Циклическая структура α -глюкозы по Хеурсу

Дисахарид — сахароза или α -глюкопиранозил-1 \rightarrow 2/- β -фруктофуранозид



Классификация углеводов

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

Роль углеводов:

- 1) энергетическая — для образования АТФ;
- 2) пластическая — для синтеза других соединений;
- 3) структурная — формирование мембран;
- 4) защитная роль гетерополисахаридов;
- 5) участие в процессах детоксикации.

Источники углеводов:

- а) пища — 400–500 г/сут;
- б) эндогенный синтез.

Переваривание углеводов

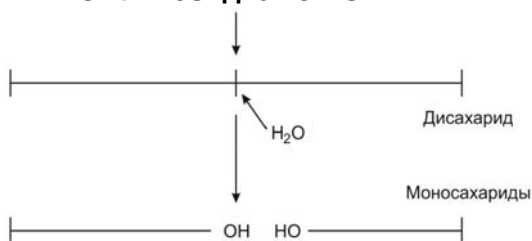
Отдел желудочно-кишечного тракта	Локализация фермента	Ферменты	Катализируемая реакция		Гидролизуемая связь
			Субстрат + H ₂ O	Конечный продукт	
Ротовая полость	Слюна	α -амилаза	Крахмал	→ Мальтоза + изомальтоза	$\alpha 1 \rightarrow 4$
Двенадцатиперстная кишка	Панкреатический сок	α -амилаза	Крахмал	→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

Переваривание углеводов происходит с помощью гликозидаз (класс гидролаз), разрушающих О-гликозидные связи.



Схема распада дисахаридов при участии дисахаридаз

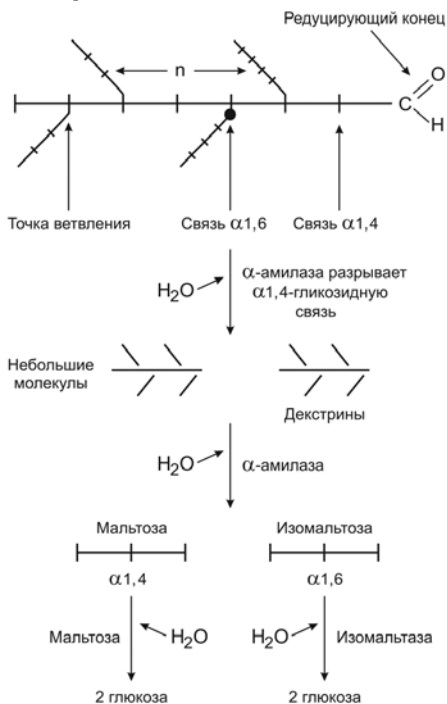
О-гликозидная связь



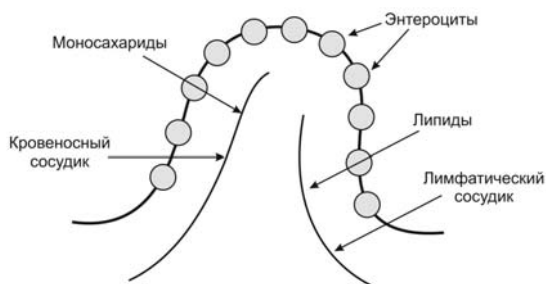
α -амилаза как эндогликозидаза катализирует распад внутренних О-гликозидных связей в крахмале, гликогене и декстринах. Остальные ферменты как экзогликозидазы освобождают свободные моносахариды.

Переваривание крахмала и гликогена происходит последовательно с участием амилазы, мальтазы ($\alpha 1,4$ -связи) и изомальтазы ($\alpha 1,6$ -связи) до свободной глюкозы (схема).

Переваривание крахмала и гликогена



Далее происходит всасывание моносахаридов в ворсинки слизистой тонкого кишечника

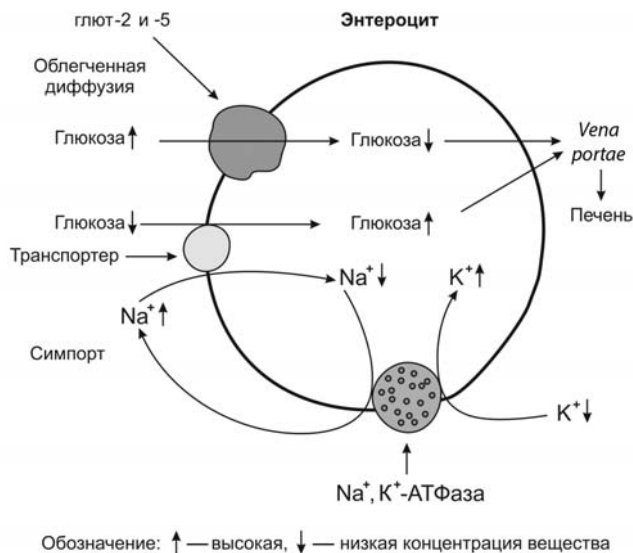


Два способа всасывания глюкозы

1. При большой и умеренной концентрации в полости кишечника — способ облегченной диффузии с белком-переносчиком ГЛЮТ-2 и ГЛЮТ-5.
2. При низкой концентрации — вторично активный транспорт по механизму симпорта с помощью NaCl.

При наличии у больного язвы желудка сахароза без распада может поступать в кровь и ее обнаружение в крови свидетельствует о язвенной патологии.

Механизмы всасывания глюкозы в тонком кишечнике



Нарушения переваривания углеводов

I. Непереносимость молока (лактозы) из-за дефицита активности лактазы. Причины:

- мутации гена лактазы (симптомы выявляются у новорожденных до прикорма);
- репрессии гена лактазы (нарушения возникают обычно у взрослых людей);
- инфекционные и неинфекционные заболевания ЖКТ и повреждение энтероцитов, продуцирующих лактазу.

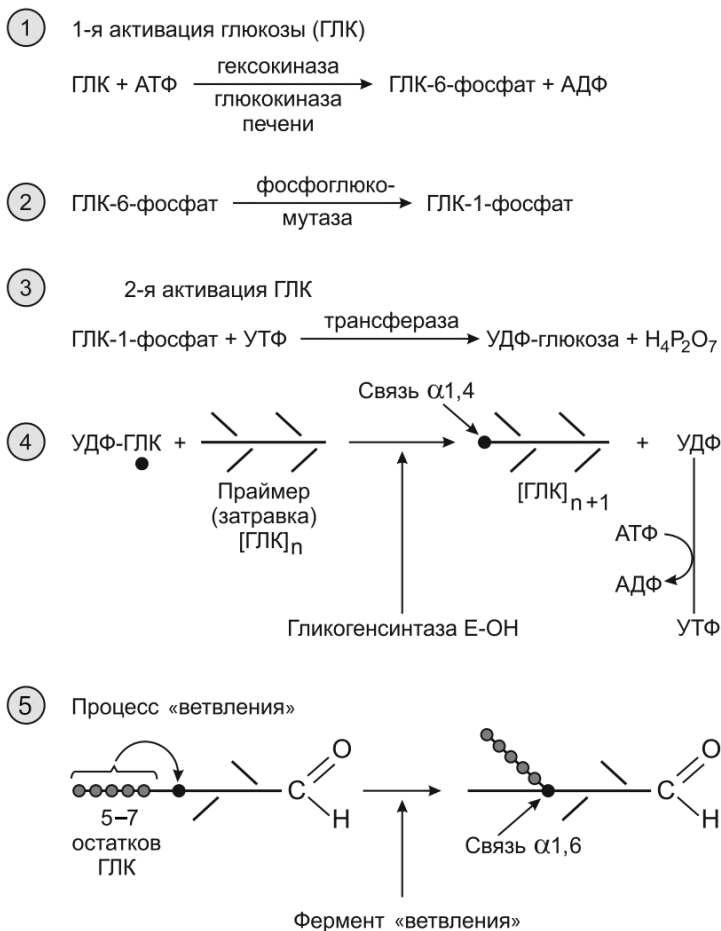
II. Мутационная недостаточность сахарозно-изомальтазного комплекса ферментов проявляется после введения новорожденным прикорма с сахарозой и крахмалом.

Симптомы всех рассмотренных нарушений — диарея, метеоризм с болевыми ощущениями.

Синтез гликогена

Синтез происходит в цитозоле разных органов, но особенно интенсивно в печени (содержание 2–6%) и в мышцах (0,5–2%). Молекула глюкозы энергетически активируется в двух реакциях (№1 и 3, схема) и присоединяется к затравке-праймеру $[\text{ГЛК}]_n$ связью $\alpha 1,4$ (реакция №4) при участии регуляторного фермента гликогенсинтазы Е–ОН. Фрагменты из 5–7 остатков глюкозы связываются с линейной цепью $\alpha 1,6$ -гликозидными связями (фермент «ветвления»).



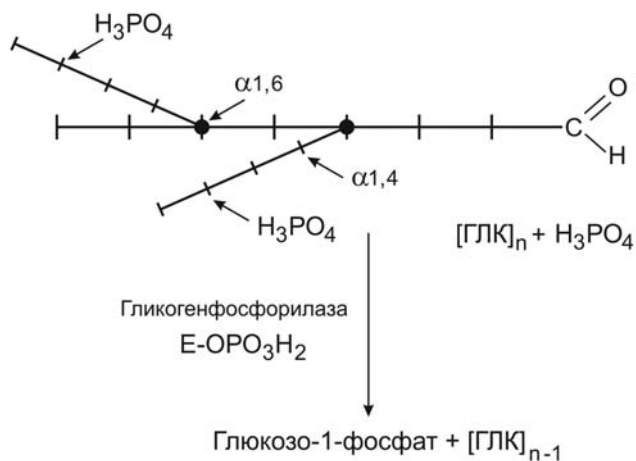


Гликоген — онкотически малоактивное депо глюкозы

Гликоген расходуется при физической работе, стрессе, голодании (в течение первых суток) и при болезнях. Распад происходит по $\alpha 1,4$ -связям (регуляторный фермент гликогенфосфорилаза $\text{Е-ОРО}_3\text{H}_2$, схема) с освобождением глюкозо-1-фосфата (90%) и по $\alpha 1,6$ -связям («деветящий» фермент, схема) с отщеплением чистой глюкозы (10%). Глюкозо-6-фосфат в мышцах вступает в гликолиз, а в печени дефосфорилируется и поступает в кровь для обеспечения энергией органов (схема).



Первый этап распада гликогена



Различия в процессах распада гликогена в печени и мышцах

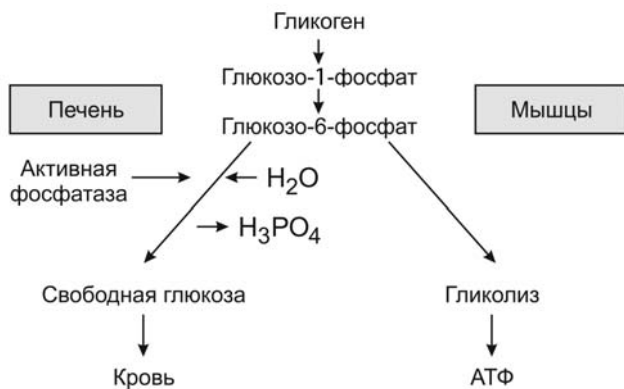
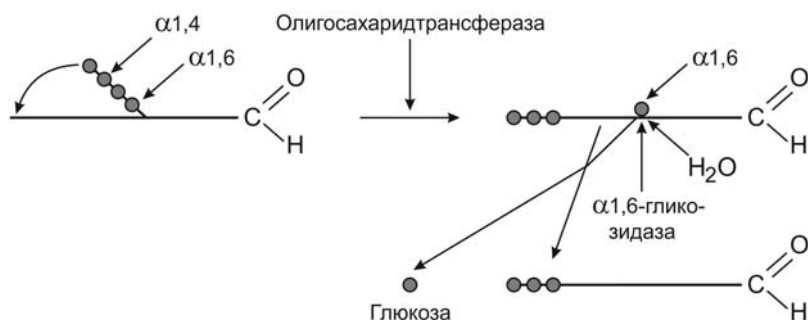


Схема работы «девящего» фермента

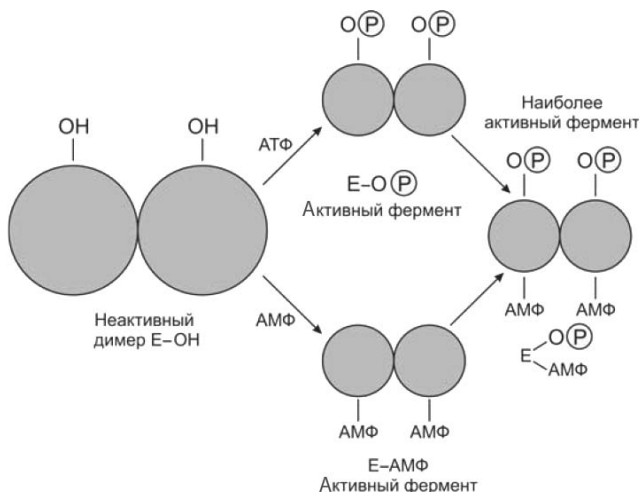


Регуляция метаболизма гликогена

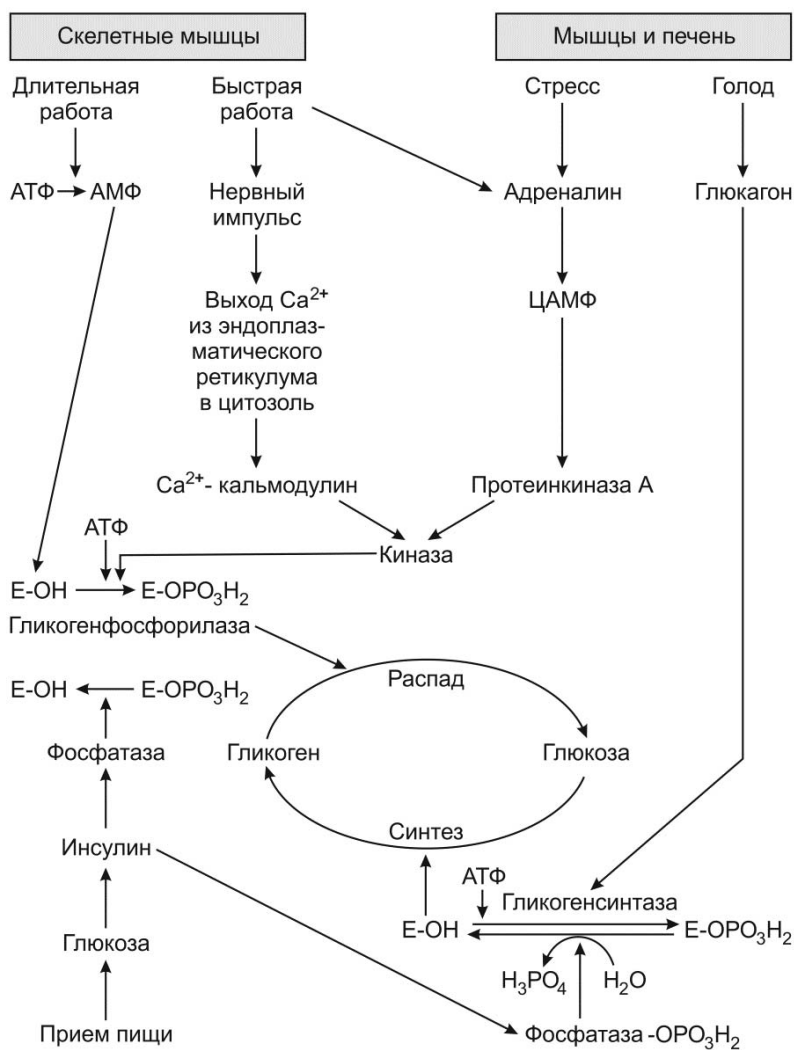
1. Быстрая работа, голод, стресс. Адреналин и глюкагон через аденилатциклазную систему передачи сигнала фосфорилируют и активируют гликогенфосфорилазу и происходит распад гликогена.

2. После еды пищевая глюкоза стимулирует секрецию инсулина, который дефосфорилирует гликогенсинтазу, активируя ее и включая синтез гликогена.

3. Длительная физическая работа приводит к распаду АТФ и накоплению в мышцах АМФ и АДФ, которые аллостерически активируют мышечную гликогенфосфорилазу без ее фосфорилирования. Продолжается распад гликогена:



Общая схема регуляции обмена гликогена



Наследственные мутационные нарушения обмена гликогена

I. Агликогенозы — результат мутаций любого фермента синтеза гликогена. Симптомы (до приема пищи): тошнота, рвота, судороги.

II. Гликогенозы — дефект любого фермента распада приводит к накоплению гликогена в органах. Симптомы:

- а) при печеночной форме — увеличенная печень и тошнота, рвота;
- б) при мышечной форме — мышечная слабость, боли и судороги в мышцах при физической нагрузке.

Общее для всех форм болезни — гипогликоземия утром натощак до завтрака.

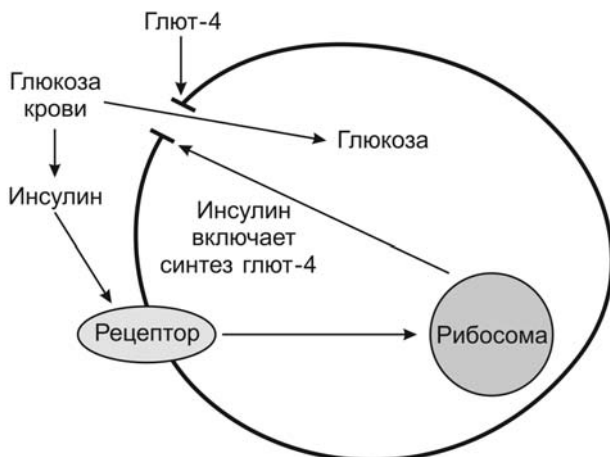


Гликолитический путь распада глюкозы

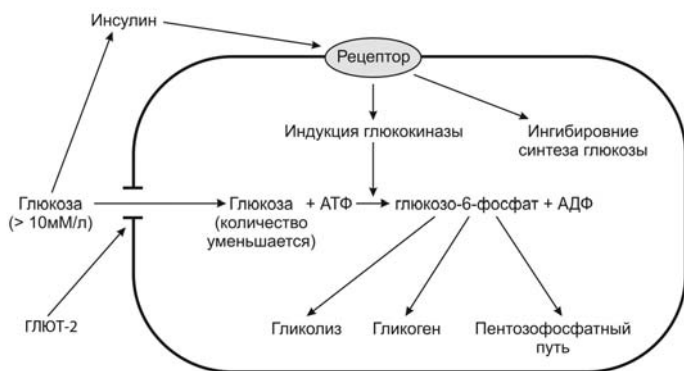
Пищевая и синтезированная в печени глюкоза поступает в клетки органов с использованием белков-переносчиков ГЛЮТ и без затраты энергии — метод облегченной диффузии.



Транспорт глюкозы в клетки мышц и жировой ткани происходит при участии инсулина с указанными особенностями.



Транспорт пищевой глюкозы из крови (при ее избытке) в гепатоциты при участии инсулина:



При умеренной концентрации пищевой глюкозы в крови (до 10 ммоль/л или 180 мг/дл), когда уровень инсулина недостаточный и он не активирует глюкокиназу, пищевая глюкоза не проникает в печень и поступает в общий круг кровообращения для снабжения энергией других органов. Такое распределение глюкозы в организме обеспечивается за счет особенностей свойств двух первых изоферментов катаболизма глюкозы, катализирующих одну и ту же реакцию:



но находящихся или в печени (глюкокиназа), или в других органах (гексокиназа) и имеющих разные эффекторы (см. таблицу).

Свойства изоферментов гексокиназы

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



В клетке существует два разных процесса распада глюкозы: гликолитический или дихотомический катаболизм с образованием из одной гексозы двух триоз и пентозофосфатный либо апотомический путь с отщеплением от гексоз по одному атому углерода в виде CO_2 .

Два вида гликолиза

1. Анаэробный гликолиз при отсутствии в клетке митохондрий (эритроциты) или при недостатке кислорода (мышцы в начале работы и быстро размножающиеся раковые клетки) заканчивается лактатом с малым выходом энергии — 2 АТФ.

2. Аэробный гликолиз при достаточном уровне кислорода заканчивается пируватом (выход — 8 АТФ), который далее обязательно окисляется до CO_2 , H_2O и АТФ (выход — 38 АТФ). Поэтому самостоятельно аэробный гликолиз не существует. Полный распад глюкозы до CO_2 — это «аэробный катаболизм» из трех этапов (аэробный гликолиз, ОПК, ЦПЭ).

Энергетическая характеристика гликолизмов

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

Примечание.

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

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

Оба гликолиза состоят из 10 общих реакций с разными ферментами и из частных реакций.

Десять реакций разделены на три этапа:

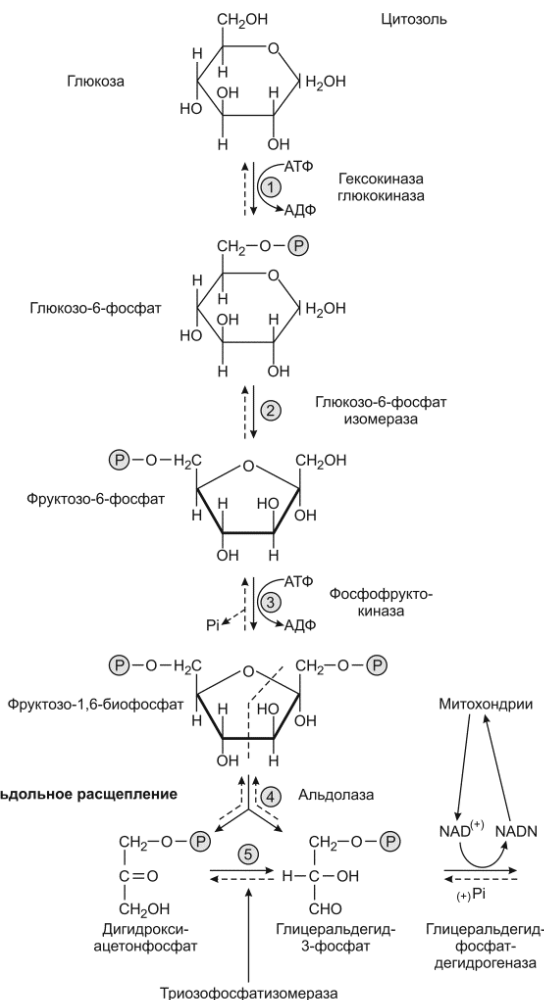
- 1) энергетическая активация глюкозы путем двойного фосфорилирования с затратой 2 АТФ;
- 2) альдольное расщепление на две триозы;
- 3) окисление и синтез АТФ (субстратное фосфорилирование АДФ).



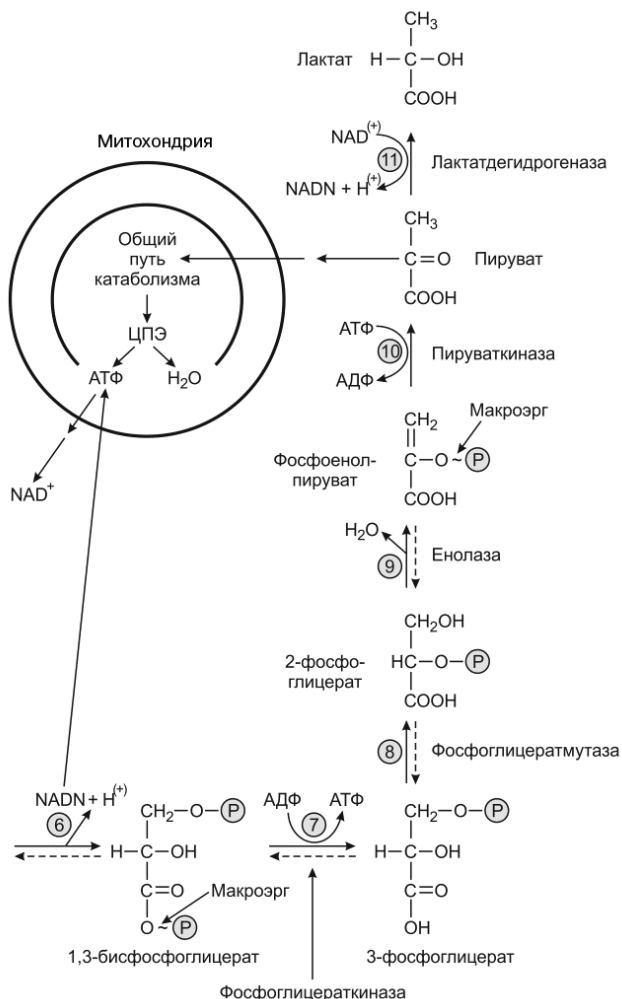
Студентам полезно запомнить: необратимые и регулируемые реакции (№1, 3, 10); реакции с расходом (№1, 3) и синтезом АТФ методом субстратного фосфорилирования (№7, 10); единственную окислительно-восстановительную реакцию (№6), общую для обоих гликолизом, но поставляющую 1 НАДН для синтеза 3 АТФ (методом окислительного фосфорилирования) в митохондриях (6 АТФ для двух триоз) в случае аэробного гликолиза.

Реакции гликолитического распада глюкозы

I. Энергетическая активация глюкозы путем ее фосфорилирования



III. Реакции фосфорилирования и синтеза АТФ

**Различия между аэробным и анаэробным гликолизами**

1. Конец процессов — пируват для 1-го и лактат для 2-го.
2. Анаэробный гликолиз — самостоятельный процесс, аэробный гликолиз — часть полного аэробного катаболизма глюкозы.
3. Второй гликолиз — всегда в эритроцитах и мышцах в начальный период их работы, 1-й — в большинстве других клеток.



4. Локализация в клетке — 2-й в цитозоле, 1-й в цитозоле и митохондриях.

5. Энергетическая эффективность выше у 1-го — см. таблицу.

6. Регенерация НАД⁺ для постоянно идущей реакции №6:

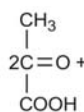
а) в анаэробном гликолизе — за счет реакции №11, катализируемой лактатдегидрогеназой;

б) в аэробном гликолизе — за счет окисления НАДН в митохондриях (механизм челноков); в случае основного малат-аспартатного челнока:

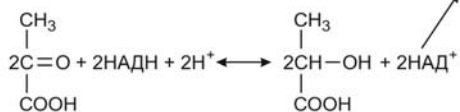


Лактатдегидрогеназа

Возврат в реакцию №6



Пируват



Лактат
эритроцитов и мышц

Значение гликолитического распада глюкозы:

- 1) энергетическое, это главный источник для мозга, почек и др. и единственный для эритроцитов;
- 2) пластическое — из метаболитов распада глюкозы синтезируются аминокислоты, жирные кислоты, жиры, холестерол, нуклеотиды, гем.

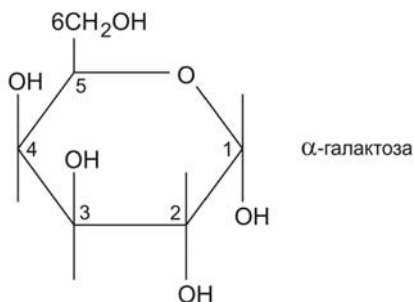
В период моего обучения в Ленинградской Военно-медицинской академии и работы на кафедре биохимии под руководством будущего академика АМН СССР А.Н. Климова мною были изучены реакции гликолиза и гликогенолиза: гексокиназная (№1 — по схеме), фосфофруктокиназная (№3), альдолазная (№4), фосфоглюкомутазная. Был использован разработанный мною в количественном варианте метод распределительной хроматографии на бумаге гексозофосфорных эфиров. Установлено, что стрептомицин и пенициллин в животных тканях при высоких концентрациях не влияют на эти реакции (Труды Военно-медицинской академии. — Л.: Изд-во ВМА, 1958. — Т. 83. — С. 94–111), но стрептомицин угнетает окислительное фосфорилирование АДФ и синтез АТФ (снижает величину коэффициента Р/О) (Фосфорилирование и функция. Симпозиум ИЭМ АМН СССР. — Л.: Изд-во ИЭМ, 1960. — С. 129–136).



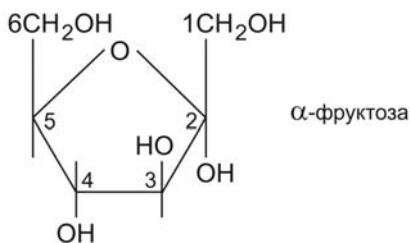
Наследственные нарушения обмена моносахаридов

Известны только нарушения обмена галактозы и фруктозы, но не глюкозы. Последние приводят к гибели плода до рождения.

Галактоземия новорожденных вызвана мутационным дефицитом галактокиназы и галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы с накоплением в организме метаболитов-предшественников, которые вызывают патологию (катаракта, цирроз печени, поражение мозга и почек). Поэтому по приказу министра здравоохранения РФ у новорожденных должен проверяться уровень галактозы в крови.



Фруктоземия встречается очень редко. Возникает при мутациях генов фруктокиназы и альдолазы с накоплением в крови фруктозы и фруктозо-1-фосфата и с компенсаторным понижением уровня глюкозы.



Глюконеогенез. Регуляция гликолиза и глюконеогенеза

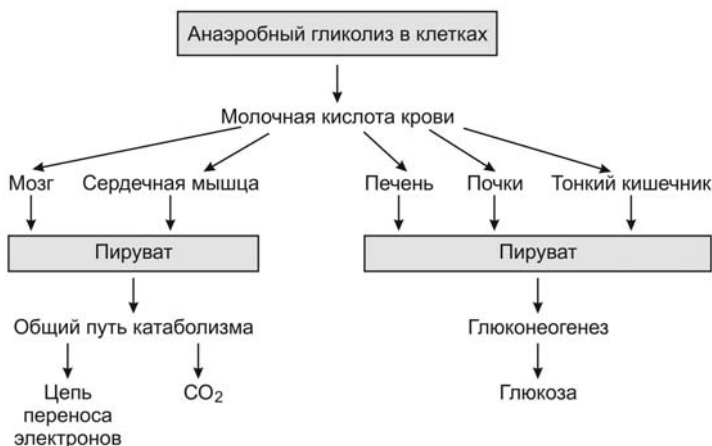
Глюконеогенез

В дополнение к пищевой глюкозе в организме синтезируется эндогенная глюкоза. Процесс происходит в разных органах, но наиболее интенсивно в печени, коре почек и в кишечнике. Источники: молочная кислота, гликогенные аминокислоты, глицерол жира.

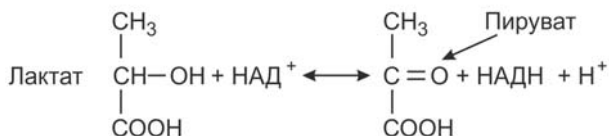
При синтезе используются обратимые реакции гликолиза и четыре собственных необратимые реакции в обход трех необратимых реакций гликолиза.

Молочная кислота (лактат) — постоянный субстрат для образования глюкозы.

Метаболизм молочной кислоты



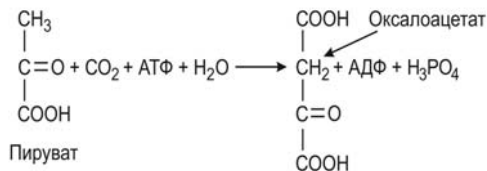
Первая реакция — это обратимая реакция гликолиза (№11), катализируемая лактатдегидрогеназой (ЛДГ), которая у человека существует в виде пяти изоферментов.



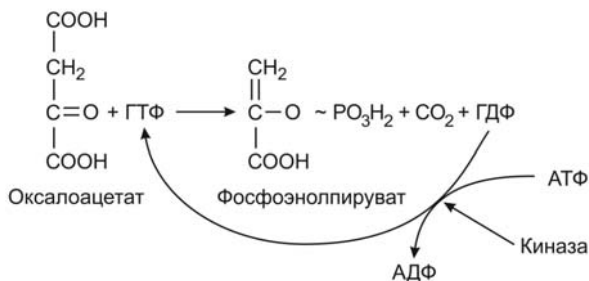
Последующие реакции глюконеогенеза

Большая часть реакций является также обратимыми реакциями гликолиза, кроме трех необратимых реакций гликолиза №10, 3 и 1. Вместо них в глюконеогенезе происходят собственные четыре необратимые реакции №12, 13, 14, 15.

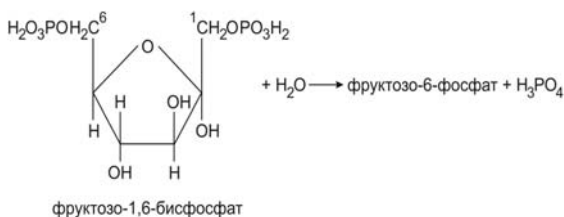
Реакция № 12 (вместо реакции № 10 гликолиза), фермент пируваткарбоксилаза с кофакторами — биотином и Mn^{2+} . Только эта реакция идет в митохондриях, все остальные — в цитозоле.



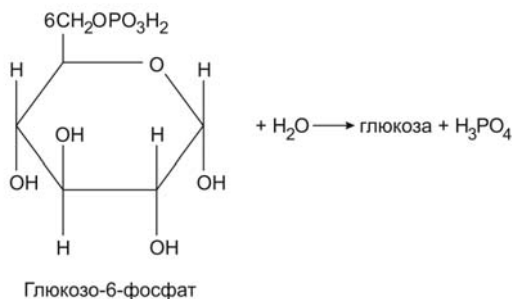
Реакция №13 также вместо реакции гликолиза №10. Фермент — карбоксикиназа фосфоэнлпирувата:



Реакция №14 вместо реакции №3 гликолиза. Фермент — фруктозо-1,6-бисфосфатаза:



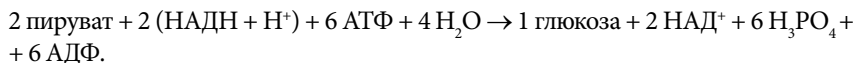
Реакция №15 вместо реакции № 1 гликолиза. Фермент — глюкозо-6-фосфатаза:



Расход АТФ в реакциях глюконеогенеза

Реакция	Расход молекул АТФ
№ 12 необратимая	1 АТФ
№ 13 необратимая	1 (ГТФ) АТФ
№ 7 обратимая реакция гликолиза	1 АТФ
ИТОГ	3 АТФ × 2 = 6 АТФ для синтеза 1 молекулы глюкозы из двух молекул пирувата надо затратить шесть молекул АТФ

Общая реакция синтеза глюкозы из пирувата:



В следующей таблице дана сравнительная характеристика реакций гликолиза и глюконеогенеза.

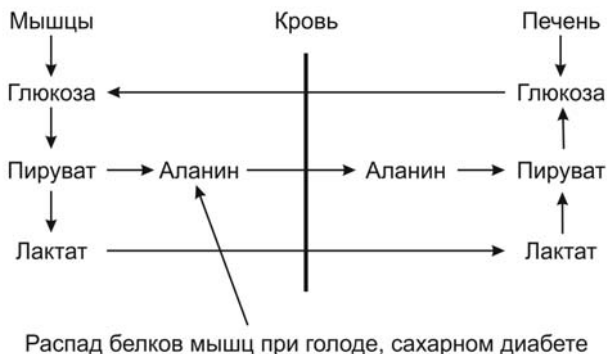


Реакции	Гликолиз	Глюконеогенез
Необратимые	1, 3, 10	12–15
Регулируемые	1, 3, 10	12–15
С расходом АТФ	1, 3	7, 12, 13
С образованием АТФ способом: а) субстратного фосфорилирования	7, 10	—
б) окислительного фосфорилирования для аэробного гликолиза	Окисление в митохондриях НАДН, синтезированного в реакции №6	—
Окислительно-восстановительные: а) в анаэробном гликолизе	— 6, 11	6 —
б) в аэробном гликолизе	6 и реакция окисления НАДН в митохондриях	—

Глюкозолактатный цикл или цикл Кори

При быстрой мышечной работе энергию поставляет анаэробный гликолиз с низким выходом АТФ (2 молекулы) и с удалением из мышц в кровь недоокисленного лактата. Последний поступает в печень, там превращается в глюкозу, которая вновь используется мышцами для продолжения работы. Это цикл! Дополнительно аланин ускоряет перенос в печень триоз (глюкозоаланиновый цикл).

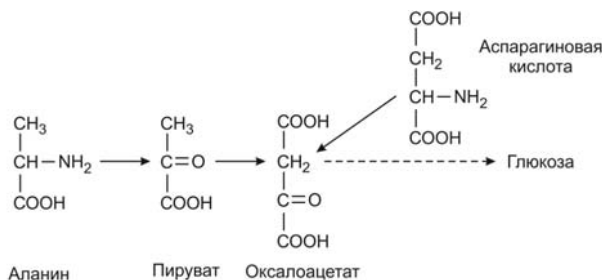
Цикл Кори



Второй субстрат для глюконеогенеза — гликогенные аминокислоты.



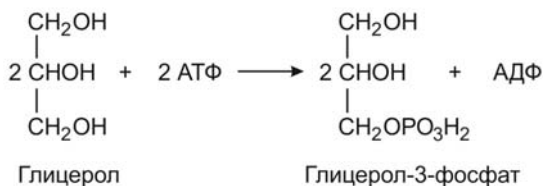
Схема синтеза глюкозы из аланина и аспарагиновой кислоты



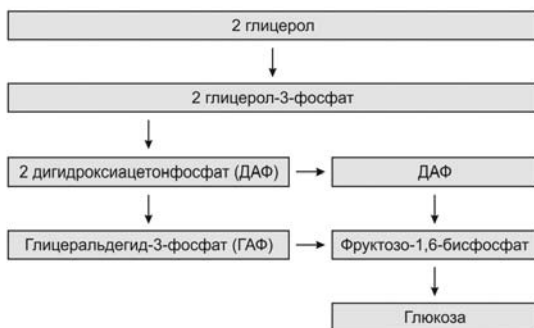
Третий источник: жиры распадаются в адипоцитах, глицерол поступает в печень для синтеза глюкозы.



Первая реакция — фосфорилирование глицерола, фермент — глицеролкиназа.



Последующие реакции



Регуляция гликолиза и глюконеогенеза

Эти два процесса противоположны, не могут идти одновременно, что обеспечивается наличием:

- регуляторных ферментов, катализирующих необратимые реакции (таблица);
- активаторов и ингибиторов этих ферментов (с разным механизмом действия), среди которых главными являются гормоны голода (глюкагон, кортизол) и инсулин, функционирующий после еды при достаточной концентрации глюкозы в крови и органах (схема).



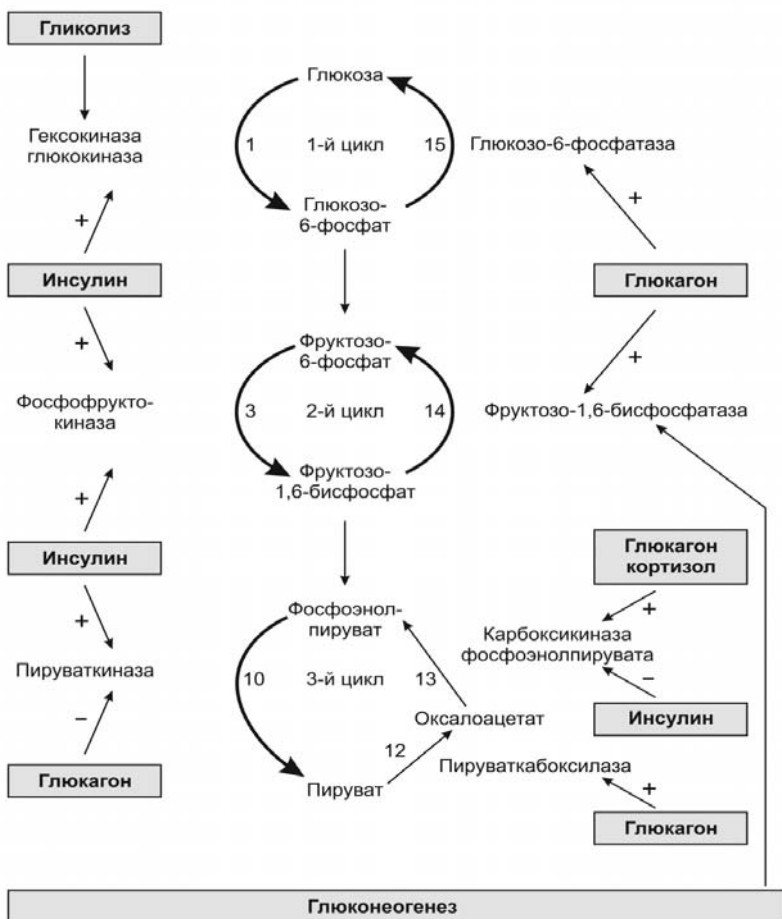
Регуляторные ферменты гликолиза и глюконеогенеза

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

Примечание. Сокращения: ф — фосфорилирование; деф — дефосфорилирование; и — индукция; р — репрессия; нм — непрямым механизмом регуляции; для других эффекторов — аллостерическая регуляция.



Регуляция метаболизма глюкозы и три регуляторных цикла



Понятие о субстратных циклах в регуляции метаболизма глюкозы

Три таких цикла метаболизма субстратов могли бы существовать, если бы регуляция отсутствовала (схема). Эти циклы привели бы к дезорганизации метаболизма и расходу АТФ. Указанные в таблице и на схеме гормоны и другие эффекторы активируют или ингибируют регуляторные ферменты и нормализуют обмен глюкозы.

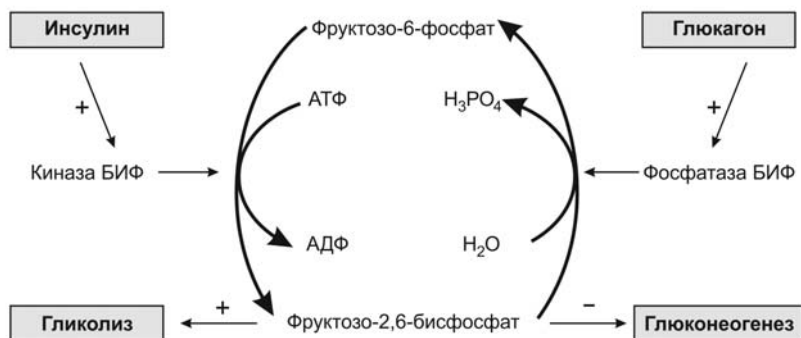


В заключение привожу 4-й цикл — цикл бифункционального фермента (БИФ).

Молекула БИФ имеет две активности:

- киназа катализирует синтез фруктозо-2,6-бисфосфата как аллостерического активатора фосфофруктокиназы гликолиза и как ингибитора фруктозо-1,6-бисфосфатазы глюконеогенеза;
- фосфатаза катализирует обратную реакцию распада фруктозо-2,6-бисфосфата и, следовательно, активирует глюконеогенез и ингибирует гликолиз.

Цикл работы бифункционального фермента — БИФ



Пентозофосфатный путь превращения глюкозы. Обмен глюкозы в разных тканях. Изменение уровня глюкозы крови в норме и при патологии

Пентозофосфатный путь распада глюкозы (ПФП)

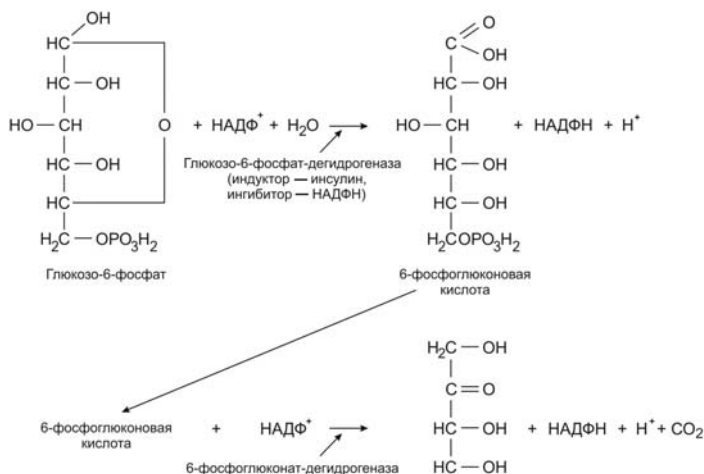
Кроме гликолитического или дихотомического пути существует пентозофосфатный или апотомический путь с отщеплением от молекулы глюкозы по одному атому углерода в виде CO_2 .

Подготовительная фаза с ферментами глюкокиназой (в печени) и гексокиназой (в других органах):



Первая необратимая окислительная фаза ПФП с регуляторным ферментом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой (схема).

Пентозофосфатный путь (1-я фаза)

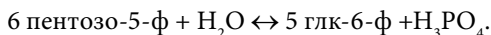


Две фазы пентозофосфатного пути

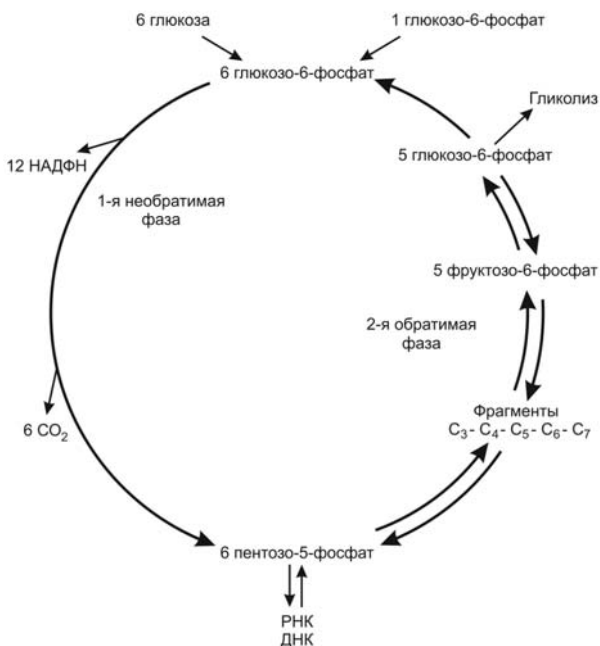
Суммарное уравнение 1-й необратимой окислительной фазы:



Вторая обратимая неокислительная фаза включает много реакций переноса 2 и 3 углеродных фрагментов. Общая реакция:



Две фазы объединяются в пентозофосфатный цикл



Полный цикл происходит в печени, надпочечниках, жировой ткани, половых и молочных железах в целях образования пентоз и НАДФН. Пентозы нужны для синтеза нуклеотидов, нуклеиновых кислот и нуклеотидных коферментов. НАДФН используется в реакциях восстановительных синтезов в качестве донора водорода и энергии (образование жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов, детоксикация ксенобиотиков, катаболизм гема, биотрансформация лекарств). Эритроцитам необходим только НАДФН для защиты гемоглобина и мембраны от окисления.



Особенности метаболизма углеводов в разных тканях

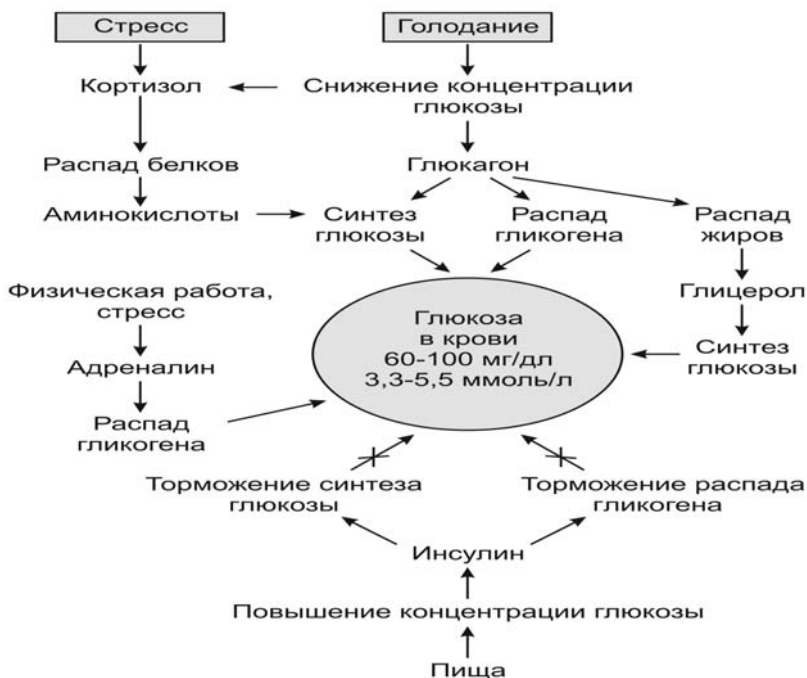
Орган или ткань	Глюкоза		Гликоген		Пентозо-фосфат-ный путь
	синтез	катаболизм (гликолиз)	синтез	распад	
Печень	+++	++	+++	+++	+++
Жировая ткань	—	++	—	—	+++
Мышцы	—	+++	+++	+++	+
Эритроциты	—	+++	+	+	+++
Мозг	—	+++	+	+	+

Метаболизм глюкозы и гликогена при разных физиологических состояниях человека

Показатель	Перевари-вание пищи	Голод	Физиче-ская работа	Стресс
Главные гормоны крови	Инсулин	Глюкагон Кортизол	Адреналин	Адреналин Кортизол
Концентрация глюкозы	Увеличение	Уменьшение	↑ ↓	Увеличение
Глюконеогенез	Уменьшение	Увеличение	—	Увеличение
Распад гликогена	Уменьшение	Увеличение	Увеличение	Увеличение
Синтез гликогена	Увеличение	Уменьшение	Уменьшение	—
Гликолиз	Увеличение	Уменьшение	Увеличение	Увеличение
ОПК	Увеличение	Уменьшение	Увеличение	Увеличение



Регуляция концентрации глюкозы крови



Клинический тест «сахарная кривая» для диагностики скрытого сахарного диабета (4 контрольные точки для врача-эндокринолога)



Нарушения обмена углеводов

1. Нарушения переваривания углеводов.
2. Сезонное повышенное влечение к углеводам (и к алкоголю?).
3. Галактоземия и фруктоземия.
4. Сахарный и стероидный диабет.
5. Нарушения обмена гликогена.
6. Большие дозы алкоголя угнетают глюконеогенез и приводят к гипогликемии:

окисление этанола \rightarrow избыток НАДН сдвигает равновесие налево в реакциях:

- а) лактат + НАД⁺ \leftrightarrow НАДН + пируват $\rightarrow \rightarrow$ глюкоза
- б) глицерофосфат + НАД⁺ \leftrightarrow НАДН + диоксиацетонфосфат \rightarrow глюкоза.

В итоге уменьшается количество пирувата, диоксиацетонфосфата и образующейся из них глюкозы.

7. Нарушения окислительной фазы ПФП (мутации гена глк-6-фосфатдегидрогеназы) вызывают гемолиз и анемию.

P.S. Отдельная лекция «Биохимия алкоголизма» представлена в аудио-курсе Е.Г. Зезерова (приложение к монографии «Биохимия. Курс лекций». — Изд-во МИА, 2014).

Цикл печатных работ Е.Г. Зезерова по метаболизму этанола и по биохимии алкоголизма

1. Зезеров Е.Г. Биохимические механизмы острого и хронического действия этанола на организм человека // *Вопр. биол., мед., фарм. химии.* — 1998, №2. — С. 47–54.
2. Зезеров Е.Г. Алкоголизм. Биохимические основы патологических процессов (под ред. член-корр. РАН Е.С. Северина). — М.: Изд-во Медицина, 2000. — С. 211–230.
3. Зезеров Е.Г. Алкоголизм. Элементы патобиохимии и патофизиологии (под ред. академика РАМН И.П. Ашмарина). — М.: Изд-во Экзамен, 2005. — С. 303–325.

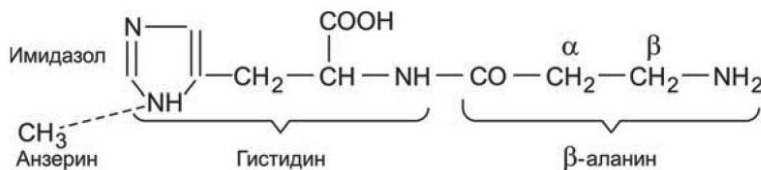
Работы В.С. Гулевича и С.Е. Северина-ст. по гистидиновым дипептидам

Заведующий нашей кафедрой биохимии (1907–1933) В.С. Гулевич открыл в мышцах карнозин (1900), который активирует энергетический обмен, ПФ-цикл, нейтрализует лактат в мышцах и является антиоксидантом (С.Е. Северин-ст., В.С. Гулевич).



Карнозин и анзерин

В заключение цикла лекций по энергетическому обмену и биохимии углеводов считаю необходимым отдать дань уважения выдающимся биохимикам, работавшим на нашей кафедре, — академикам АН СССР С.Е. Северину-старшему и В.С. Гулевичу. Последний — заведующий нашей кафедрой биохимии в 1907–1933 гг. — в 1900 г. открыл в мышцах гистидиновый (имидазольный) дипептид — карнозин:



В 60-е годы прошлого века С.Е. Северин-старший подробно изучил роль имидазолсодержащих дипептидов (карнозина и анзерина) и показал, что они через ферменты активируют энергетический обмен (гликолиз, гликогенолиз, цитратный цикл, окислительное фосфорилирование АДФ), пентозофосфатный цикл, нейтрализуют лактат в мышцах и являются антиоксидантами.

В биохимической научной литературе описан соответствующий феномен Северина: карнозин и другие имидазольные производные восстанавливают функциональную активность мышц (после их утомления или действия миорелаксантов) путем повышения выброса ацетилхолина в синаптическую щель парасимпатического синапса.



Межклеточный матрикс

Клетки в тканях находятся в окружении межклеточного матрикса, который может быть жидким (плазма крови), волокнистым (соединительная ткань) и твердым (кости).

Межклеточный матрикс (ММ) создает каркас ткани, участвует в дифференциации клеток и выполняет специфические функции.

Три компонента ММ.

1. Фибриллярные белки (коллаген, эластин).
2. Агрегаты протеогликанов с гиалуроновой кислотой.
3. Нефибриллярные белки (фибронектин и др.).

Коллаген — главный белок соединительной ткани.

Состоит из трех полипептидных цепей (по 1000 АК), связанных в основном водородными связями за счет гидроксипролина (Гпро). Формирует правозакрученную спираль. В самом ММ молекулы коллагена или тропоколлагена образуют сетку, соединяясь между собой ковалентными сшивками (шиффовы основания, альдольная конденсация и пиридиновые связи).

Цепи коллагена содержат много редких АК (см. формулы), в частности Про и Гпро (25%), Гли (30 %), в особой последовательности: $-\{\text{Гли}-\text{Про}-\text{Гпро или Глиз}\}_n-$.

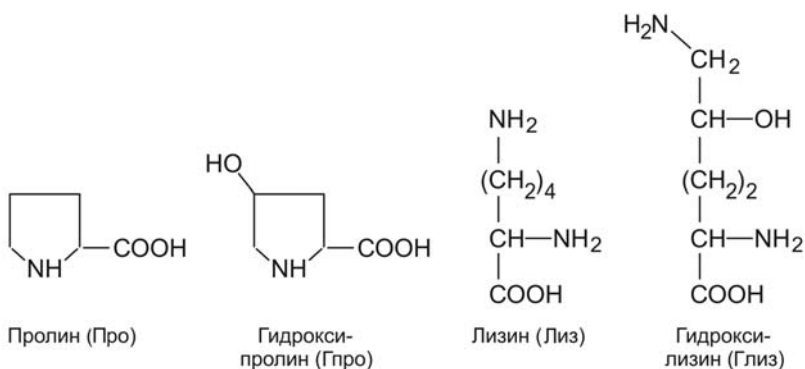
Почти весь Гпро человека находится в коллагене и его содержание в моче служит маркером распада костей при раке.

Полипептидные цепи образуют О-гликозидные связи с гексозами.

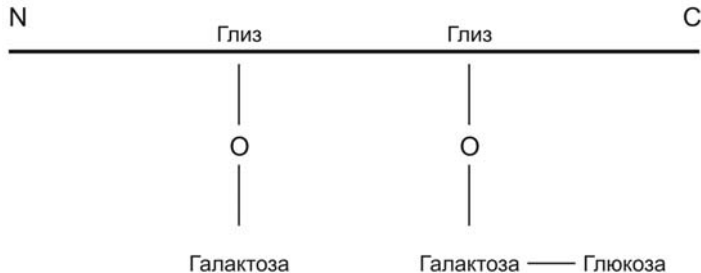
Существует около 30 отдельных цепей коллагена с разной первичной структурой, из которых при объединении по три цепи формируется около 19 типов тропоколлагенов для разных тканей: тип 1 — для костей, тип 2 — для хрящей, тип 4 — для базальных мембран.

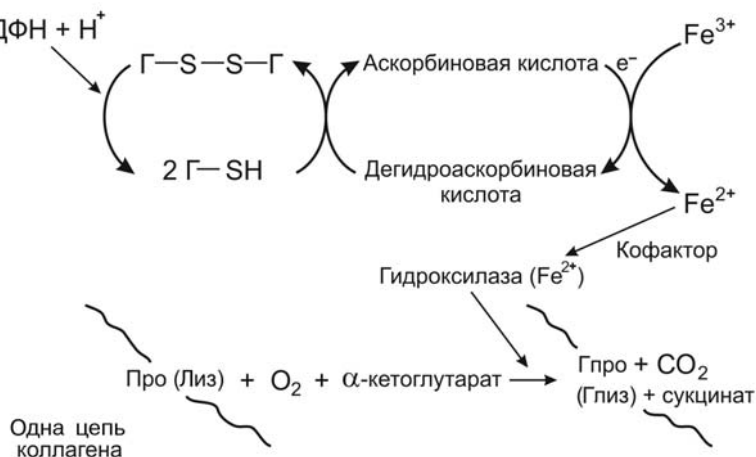


Типовые аминокислоты коллагена



Гликозилирование гидроксилизина отдельных свободных цепей коллагена в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР)



Гидроксилирование Про и Лиз в эндоплазматическом ретикулуме:

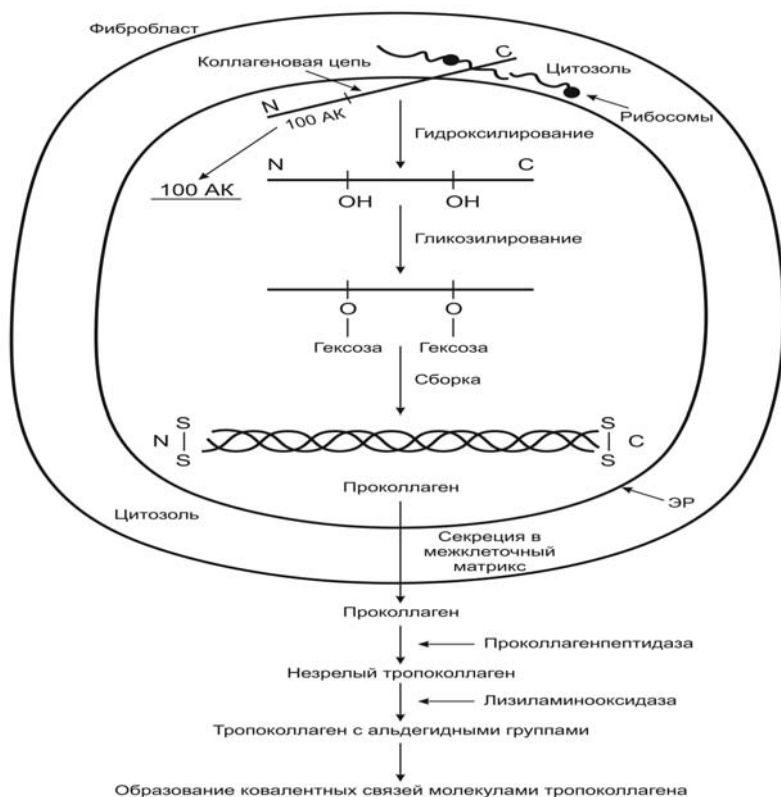
Примечание: Г-SH — восстановленный глутатион

В приведенных реакциях гидроксилирования Про и Лиз участвует аскорбиновая кислота (витамин С) как донор электронов для иона железа Fe^{3+} . При пищевом недостатке витамина С уменьшается количество кофактора Fe^{2+} для гидроксилазы и уменьшается содержание в коллагене Гпро и Глиз. Нарушается прочность коллагеновых фибриллярных структур в сосудах, капиллярах и возникает цинга.

2. Второй вид реакций — образование альдегидных групп Лиз и Глиз в незрелых молекулах тропоколлагена (фермент — лизиламинооксидаза). Эти группы необходимы для формирования ковалентных связей между молекулами зрелого тропоколлагена в ММ.



Синтез и созревание тропоколлагена



Катаболизм коллагена происходит медленно из-за его устойчивости к тканевым протеазам. Только Zn-содержащая коллагеназа способна сделать одинаковые разрывы сразу в трех цепях между Гли и Лей, образуя фрагменты длиной 25 и 75%. Возбудители бактериальной газовой гангрены благодаря своим коллагеназам производят множественные разрывы в коллагене соединительной ткани человека и проникают глубоко в ткани при дополнительном участии гиалуронидазы.

Препараты коллагеназ используют в косметических целях для обработки рубцов кожи после ранений, ожогов, обморожений.

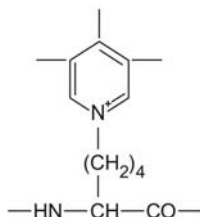
Эластин

Эластин-белок из одной цепи (800 АК) приобретает фибриллярную структуру при физической нагрузке на связки, сосуды, ткань легких.



Содержит много гидрофобных АК, но отсутствуют Глиз, Цис, Мет, Три. После синтеза предшественника-тропоэластина его Про гидроксилируется, Лиз окисляется с образованием альдегидной группы (как в коллагене) в составе аллизина, благодаря которому формируются лизин-норлейцин и десмозин с пиридиновым гетероциклом. Эти структуры создают связи-сшивки между цепями эластина в ММ.

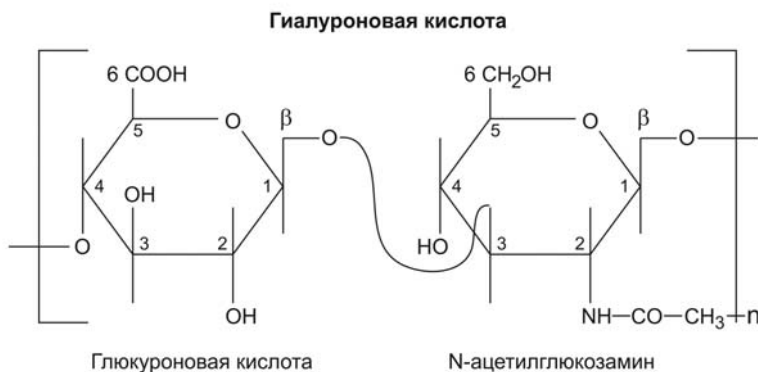
Десмозин — продукт конденсации лизина и трех аллизинов отдельных цепей эластина.



Изменение конформации эластина при физической нагрузке (цепи эластина остаются связаны десмозиновыми мостиками):



Гликозаминогликаны (ГАГ) или мукополисахариды — полимеры из повторов идентичных дисахаридов. Представленный дисахарид является структурным элементом гиалуроновой кислоты:



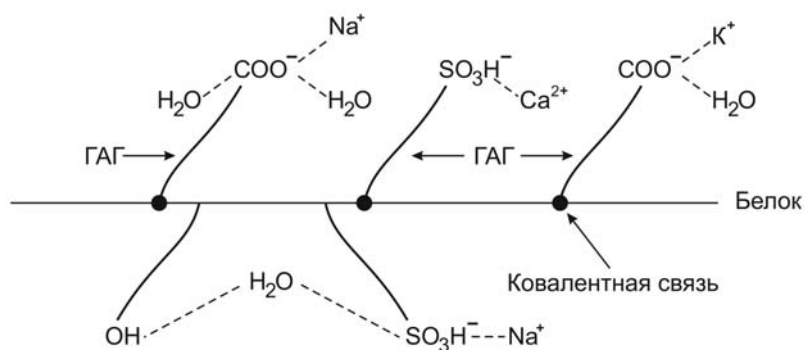
Гиалуроновая кислота в составе ММ — основа для формирования более сложных структур ММ.

Другой ГАГ — антикоагулянт гепарин синтезируется в тучных клетках и уменьшает свертывание крови благодаря способности его комплексов с антитромбином III ингибировать тромбин. Дисахаридный элемент гепарина состоит из сульфатированного (или ацетилированного) глюкозамина и идурановой кислоты.

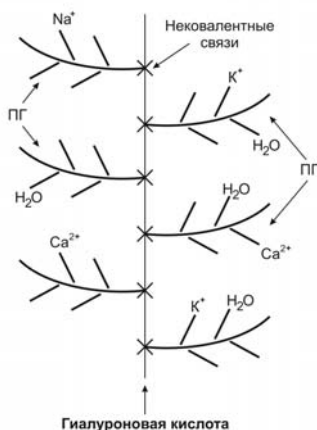
ГАГ-гетерополисахариды используются как лекарства для лечения артрозов (хондроитинсульфат) и для ускорения заживления ран (гиалуроновая кислота).

Протеогликаны (ПГ) — громадные полимеры ММ, состоящие из ГАГ (95%) и белка (5%), связанных О-гликозидной и N-гликозидной связями. Содержание ПГ особенно значительно в анатомических структурах, подвергаемых физическим нагрузкам (хрящи, связки, сухожилия).

Структура протеогликана (ПГ)



Еще более сложное формирование ММ — агрегаты гиалуроновой кислоты (стержень структуры) и протеогликанов (веточки на стержне).



Рассмотренные агрегаты (с полярными углеводами и анионами) вместе с сетевыми структурами коллагена создают в ММ депо, в котором удерживаются катионы и диполи воды. Поэтому система коллагена-ГАГ-ПГ-агрегатов выполняет амортизационные, рессорные функции в суставах, коже и функцию малоподвижного резервуара, в котором затруднена диффузия ксенобиотиков, ядов и красителей.

Распад ГАГ происходит в лизосомах с участием специальных ферментов — гликозидаз и сульфатаз. При мутациях генов этих ферментов накапливаются мукополисахариды и развивается специфическая патология соединительной ткани — мукополивисцероз.

Нефибриллярные неколлагеновые гликопротеины

Главный из них — фибронектин, синтезируемый вместе с коллагеном в фибробластах. Фибронектин — большой (230 кДа), доменный, олигомерный (две цепи), сложный гликопротеин (1–30% углеводов). В ММ фибронектин выполняет функцию интегрального белка, который благодаря своим 7–8 центрам связывания лигандов — компонентов ММ объединяет все структуры, в том числе «прилипает» к гликолипидам и гликопротеинам цитоплазматических мембран клеток.

При мутациях генов качество или количество фибронектина снижается, т.е. уменьшаются его адгезивные свойства, и увеличивается подвижность и метастатический раковый потенциал опухолевых клеток.

В эту группу входят также другие адгезивные белки (ламинин, нидоген).



Липиды: структура, функции, переваривание и ассимиляция

Классификация липидов

Класс липидов	Функции
Триацилглицеролы (ТАГ)	1. Источник энергии 2. Механическая защита тканей 3. Уменьшение потери тепла
Фосфолипиды, гликолипиды	Структурные компоненты мембран
Воска — эфиры жирных кислот и спиртов	Компонент кожного жира человека
Стероиды: холестерол (ХС) желчные кислоты гормоны	Компонент мембран и липопротеинов (ЛП) Шесть функций Специальные функции
Жирорастворимые витамины А, D, Е, К	Специальные функции
Эйкозаноиды	Специальные функции

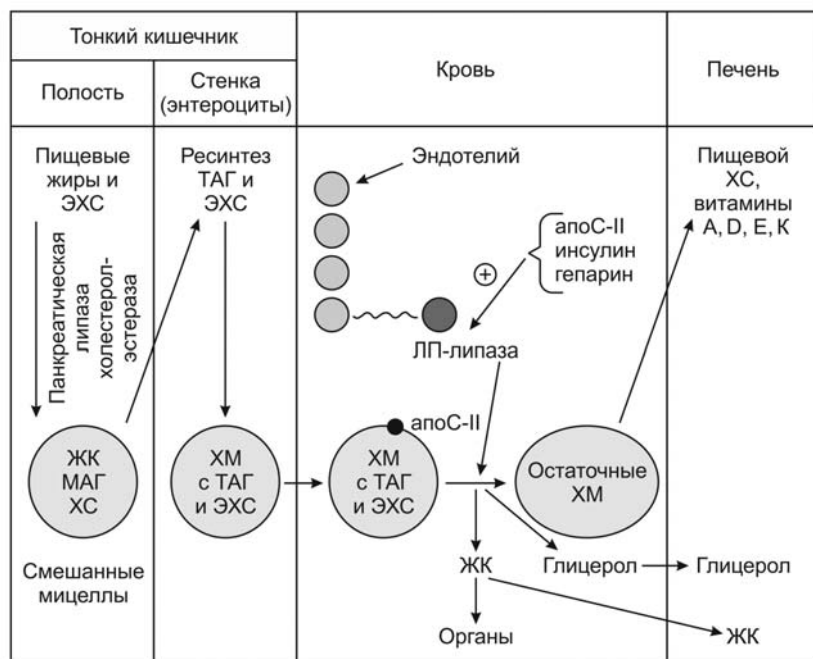
Молекула жира, или триацилглицерол



Формы ТАГ

Вид ТАГ	Частное название	Преобладающие жирные кислоты (ЖК)	Физическое состояние при $t +25^{\circ}\text{C}$
ТАГ человека и животных	Жиры	Насыщенные	Твердое
ТАГ растений	Масла	Ненасыщенные	Жидкое

Общая схема ассимиляции пищевых липидов (краткое содержание данной лекции)



Примечание. ТАГ — триацилглицеролы, ХС — холестерол, ЭХС — эфиры ХС, ЖК — жирные кислоты, МАГ- $\beta(2)$ — моноацилглицеролы, ХМ — хиломикроны, ЛОНП — липопротеины очень низкой плотности.

Два источника жиров человека:

- 1) пищевые жиры, суточная норма — 100 г;
- 2) синтезируемые в организме (жировая ткань, печень и др.).

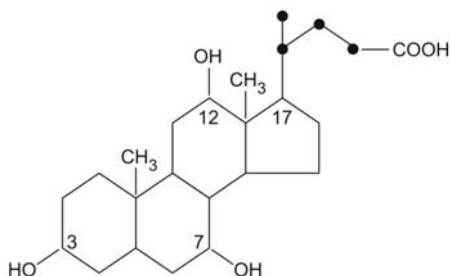


Переваривание пищевых жиров

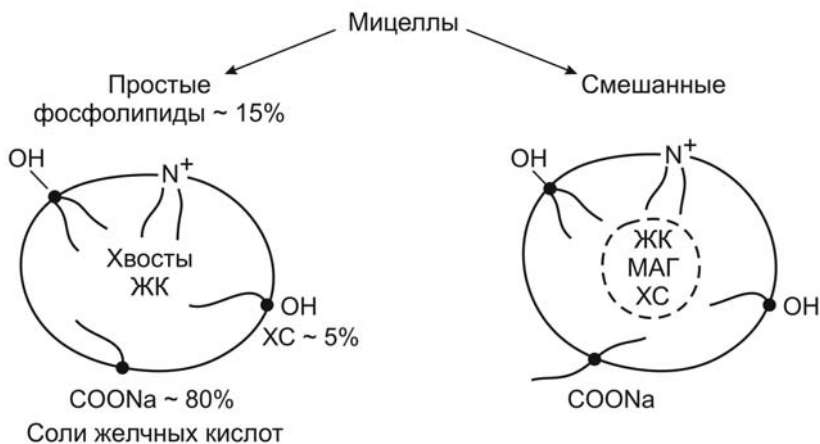
Роль желчи:

- эмульгирование жиров;
- активация панкреатической липазы;
- формирование мицелл, которые обеспечивают всасывание продуктов переваривания в стенку кишечника.

Холевая кислота



Мицеллы желчи



Липазы кишечника, крови и жировой ткани

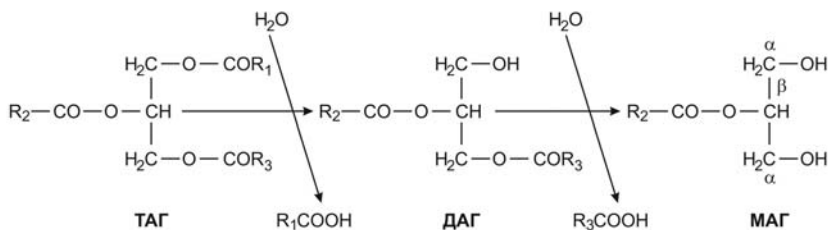
Характеристика	Панкреатическая липаза	Липопротеинлипаза (ЛП-липаза)	Гормончувствительная ТАГ-липаза
Место катализа	Полость тонкого кишечника	Кровь (эндотелий)	Адиipoциты
Активатор, индуктор	Желчь, колипаза	Гепарин, апоС-II, инсулин	Адреналин, глюкагон
Субстрат для фермента	Пищевые жиры	ТАГ в составе ХМ и ЛОНП	ТАГ жировой ткани
Главные продукты реакции	Жирные кислоты (ЖК), $\beta(2)$ -МАГ	Жирные кислоты, глицерол	Жирные кислоты, глицерол
Судьба продуктов реакции	Всасывание в слизистую тонкого кишечника	Проникновение в клетки органов	Выход в кровь

Панкреатическая липаза синтезируется неактивной, но в полости кишечника ее активируют:

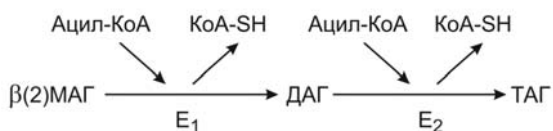
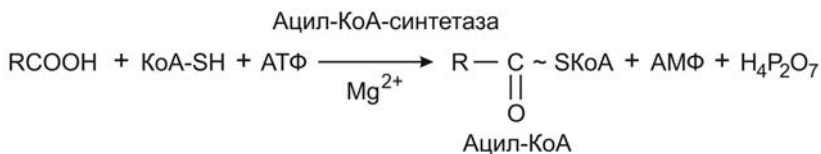
- желчь печени,
- колипаза поджелудочной железы,
- бикарбонаты поджелудочной железы создают оптимум $\text{pH}=7,5-8,0$.

Продукты переваривания жира (ЖК, МАГ) в составе смешанных мицелл поступают в энтероциты, в которых происходят ресинтез жира и формирование липопротеинов — хиломикронов (ХМ), транспортирующих далее по организму пищевые жиры.

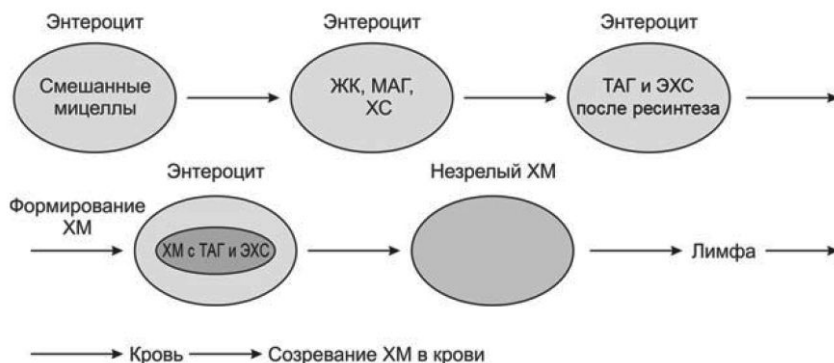
Распад ТАГ, катализируемый панкреатической липазой



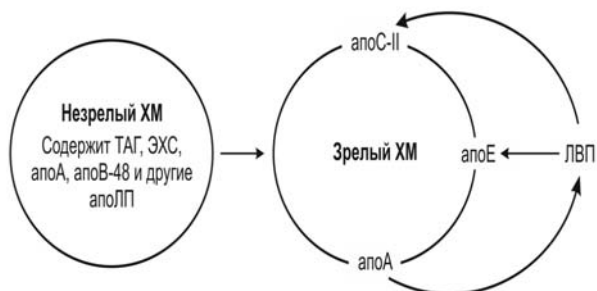
Ресинтез жира



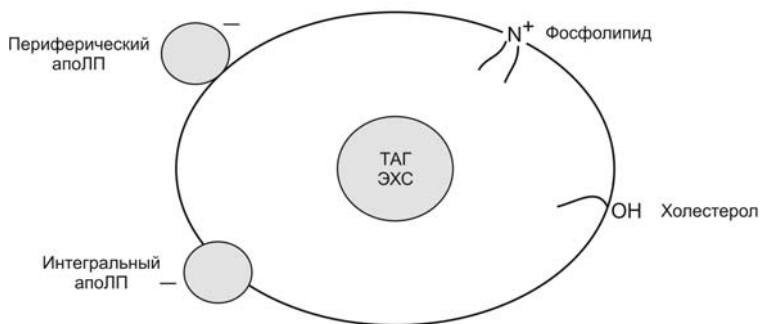
Ресинтез жира в энтероцитах и формирование хиломикронов



Созревание ЛП в крови



Типовое строение всех липопротеинов (ЛП)



Липопротеины (ЛП)

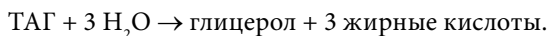
Название		Сокращение			Содержание, % натошак	Электрофорез
биохимическое	клиническое	русс.	англ.	франц.		
Хиломикроны	—	ХМ	—	Chm	0	⊖ Старт
Липопротеины очень низкой плотности	Пре-β-липопротеины	ЛОНП	VLDL	LTFD	15	
Липопротеины низкой плотности	β-липопротеины	ЛНП	LDL	LFD	60	
Липопротеины высокой плотности	α-липопротеины	ЛВП	HDL	LHD	25	
						⊕



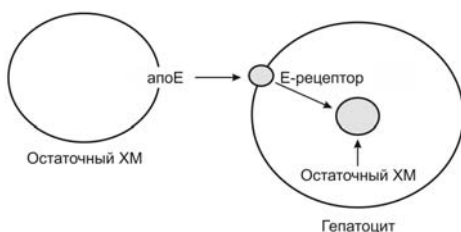
На зрелые ХМ в крови действует ЛП-липаза, находящаяся на поверхности эндотелия капилляров:



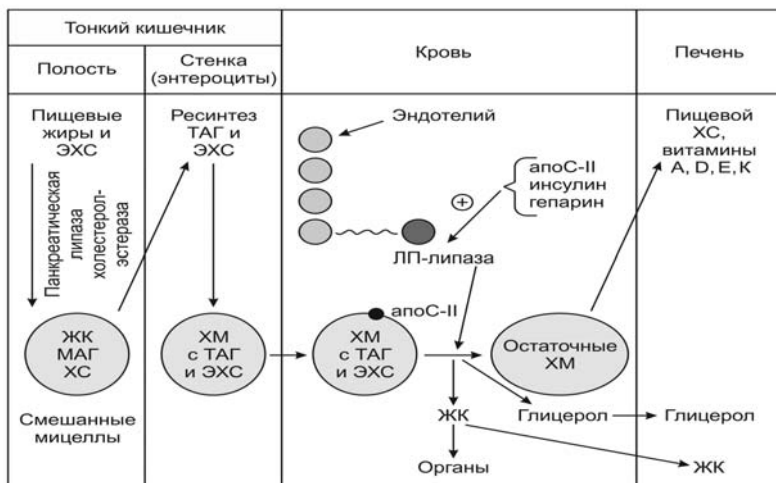
Уравнение реакции, катализируемой ЛП-липазой. Реакция происходит внутри ХМ:



Остаточные хиломикроны далее поступают в гепатоциты с помощью рецепторного эндоцитоза, доставляя в печень жирорастворимые витамины и пищевой холестерол.



Общая схема ассимиляции пищевых липидов



Сравнение свойств ХМ и ЛОНП

Показатель	Хиломикроны	ЛОНП
Содержание ТАГ, %	90 (пищевые жиры)	50 (жиры, синтезированные в печени)
Содержание свободного холестерина и его эфиров, %	6	20
Содержание белков, %	2 (апоВ-48, апоС-II, апоА, апоЕ)	10 (апоВ-100, апоС-II, апоЕ)
Содержание фосфолипидов, %	7	18
Размер (диаметр), нм	до 500	до 75
Плотность, г/см ³	≤ 0,95	1,0
Время жизни (до распада), ч	Небольшое, 0,5–2,0	Небольшое, 0,5–2,0
Электрофоретическая подвижность	Практически отсутствует	Движение к + электроду

Нарушения переваривания и ассимиляции пищевых жиров

Ненаследственные заболевания

Желчнокаменная болезнь — холестероловые и реже билирубиновые кальцифицированные камни препятствуют поступлению желчи в кишечник и выполнению ее своих функций (см. выше). Нарушены переваривание и всасывание жира. Симптомы: стеаторея и печеночные боли.

Острый панкреатит приводит к уменьшению образования панкреатической липазы и также к нарушению переваривания и всасывания жиров. Симптомы: стеаторея и абдоминальные характерные боли.

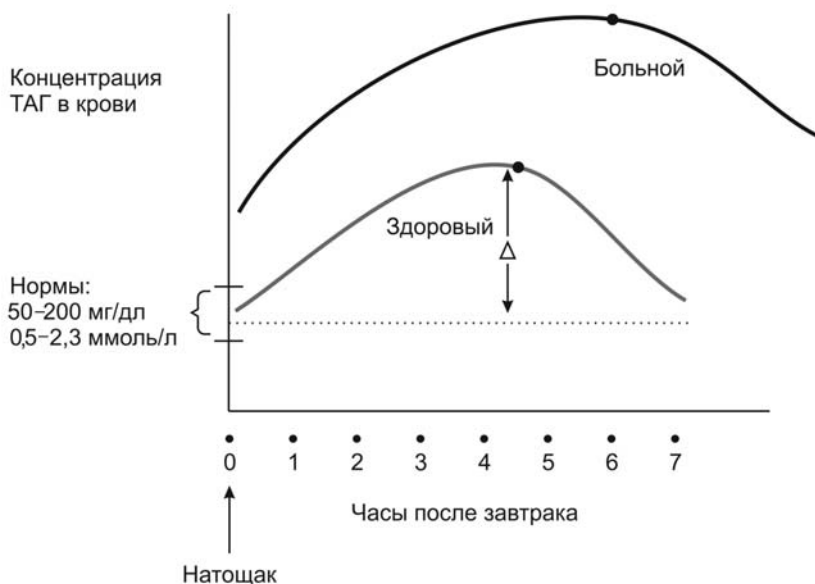
Наследственное заболевание — гиперхиломикронемия или гиперлипотеинемия I типа

Причина — мутация гена и дефицит активности ЛП-липазы и реже — наследственный дефицит активатора ЛП-липазы — белка апоС-II. В крови больного много больших (по размеру) ХМ с 90-процентным содержанием жира. Сыворотка мутная из-за светорассеяния и через несколько часов ХМ всплывают (плотность меньше 1) и формируют на поверхности жидкости белую пленку. Симптомы связаны с плохим усвоением пищевого жира и отложением его в органах (в почках, селезенке, поджелудочной железе, мозгу, глазном дне, коже — ксантомы) с нарушением их функций.



Ниже представлена динамика изменения концентрации ТАГ в крови здорового и больного человека, а также нормы содержания ТАГ в крови.

Динамика концентрации жира в крови после еды



Примечание.

1. Δ — это пищевые жиры в составе ХМ.
2. Натощак (отметка «0» часов) жиры крови находятся в составе ЛОНП (ТАГ составляет 50%), ЛНП (7% ТАГ), ЛВП (5% ТАГ).



Биосинтез жирных кислот и жиров

Краткие формулы жирных кислот

Краткая формула жирной кислоты	Число двойных связей
Насыщенная ЖК $C_n H_{(2n+1)} COOH$	0
Ненасыщенные ЖК:	
$C_n H_{(2n-1)} COOH$	1
$C_n H_{(2n-3)} COOH$	2
$C_n H_{(2n-5)} COOH$	3
$C_n H_{(2n-7)} COOH$	4

Примечание. $N = n + 1$ — общее число атомов углерода в ЖК.

Жирные кислоты

Жирная кислота	Код	Краткая формула
<i>Насыщенные</i>		
пальмитиновая	C16:0	$C_{15} H_{31} COOH$
стеариновая	C18:0	$C_{17} H_{35} COOH$
миристиновая	C14:0	$C_{13} H_{27} COOH$
<i>Ненасыщенные</i>		
пальмитоолеиновая	C16:1	$C_{15} H_{29} COOH$
олеиновая	C18:1	$C_{17} H_{33} COOH$
линолевая	C18:2	$C_{17} H_{31} COOH$
линоленовая	C18:3	$C_{17} H_{29} COOH$
арахидоновая	C20:4	$C_{19} H_{31} COOH$
эйкозапентоеновая или темнодоновая	C20:5	$C_{19} H_{29} COOH$

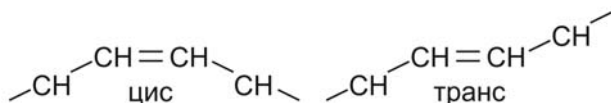
Свойства жирных кислот (ЖК)

1. Число атомов углерода N четное и $N = 12-24$ C.
2. Форма — линейные молекулы. Ненасыщенные ЖК имеют цис-конфигурацию в структурах, при метаболизме — иногда в транс-конфигурации.

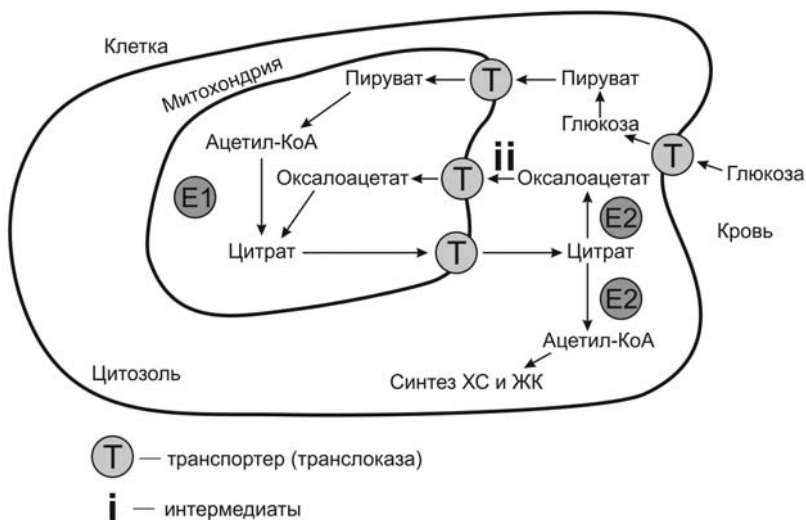


3. В ТАГ — смесь разных ЖК, ненасыщенные ЖК занимают преимущественно позицию $\beta(2)$.
4. Находятся в составе ТАГ, ЭХС, фосфолипидов, гликолипидов, смешанных мицелл.
5. В крови — 10–30 мг/дл — транспортируются в комплексах с альбумином, у беременных — дополнительно с α -фетопротеином.

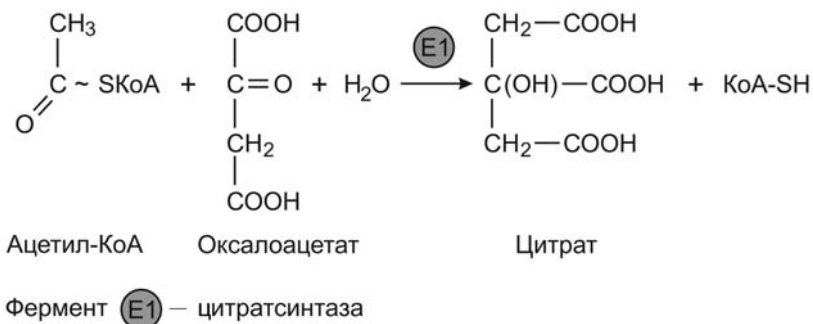
Конфигурация ненасыщенных жирных кислот



Биосинтез ЖК. Подготовительные этапы синтеза ЖК из глюкозы



Синтез цитрата — «глюкозного» субстрата для построения молекул ЖК

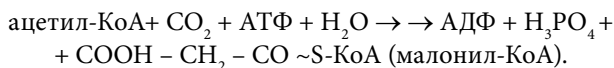


Подготовительная, первая и вторая фазы синтеза жирных кислот

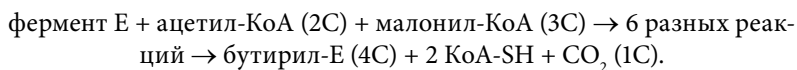
Распад цитрата (фермент E₂ — цитратлиаза):



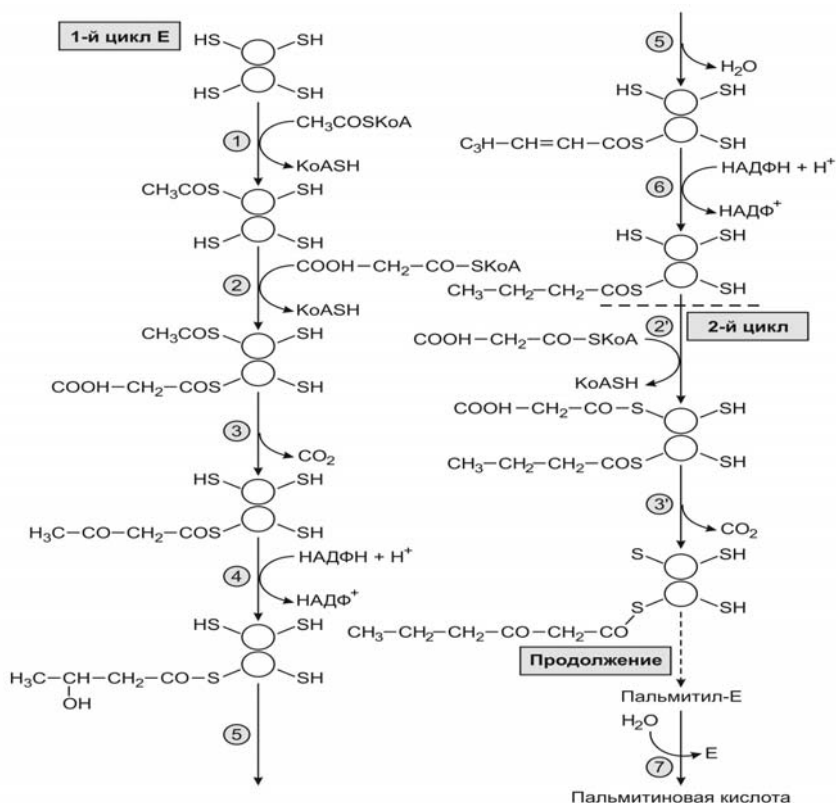
Первая фаза синтеза жирных кислот (фермент — ацетил-КоА-карбоксилаза с коферментом биотином):



Вторая фаза синтеза жирных кислот (фермент — синтаза ЖК) — 1-й цикл:



Вторая фаза синтеза пальмитиновой кислоты

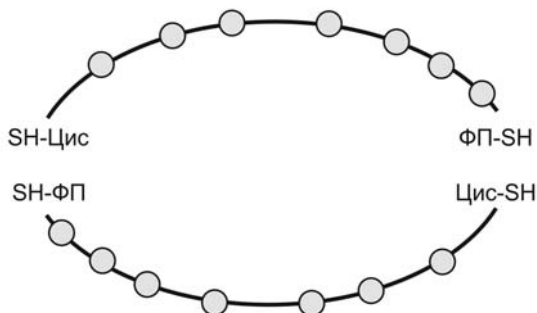


Семь активных центров в синтазе ЖК — указаны номера реакций и соответствующих активных центров (приложение к предыдущей схеме)

- 1 — ацетилтрансфераза,
- 2 — малонилтрансфераза,
- 3 — β -кетоацилсинтаза,
- 4 — β -кетоацилредуктаза,
- 5 — гидратаза,
- 6 — еноилредуктаза,
- 7 — тиюэстераза.



Строение синтазы жирных кислот— сложный, олигомерный, доменный белок. Содержит 7 активных центров для 7 промежуточных субстратов (кофермент — 4'-фосфопантетеин на основе пантотеновой кислоты)



Для синтеза одной молекулы базовой пальмитиновой кислоты необходимы:

- 1) 7 молекул АТФ (по одной на каждый из 7 циклов);
- 2) 14 молекул НАДФН (по две на каждый цикл в реакциях №4 и 6);
- 3) 8 молекул ацетил-КоА.

Регуляторные ферменты синтеза ЖК, активируемые инсулином

1. Ацетил-КоА-карбоксилаза –ОН (инсулин дефосфорилирует и индуцирует, т.е. регулирует на уровне транскрипции).
2. Синтаза ЖК (индукция).
3. Часть ферментов гликолиза и пентозофосфатного пути, обеспечивающих образование АТФ и НАДФН.

Адреналин (физическая работа, стресс) и глюкагон (голодание) фосфорилируют и инактивируют ацетил-КоА-карбоксилазу.



Полиненасыщенные эссенциальные жирные кислоты

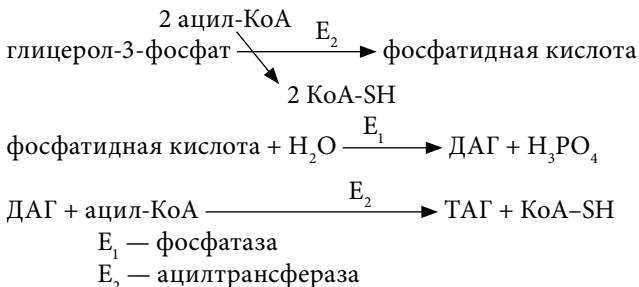
ω_6 жирные кислоты $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{-----CH=CH}-\text{CH}_2\text{---COOH}$ $\omega_1 \quad \omega_2 \quad \quad \quad \omega_6 \quad \omega_7$	ω_3 жирные кислоты $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{---COOH}$ $\omega_1 \quad \omega_2 \quad \omega_3 \quad \omega_4$
линолевая $\text{C}_{18:2} \text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOH}$ — в растительных маслах ↓ γ -линоленовая $\text{C}_{18:3} \text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOH}$ в растительных маслах ↓ $\text{C}_{20:3}$ ↓ синтез в организме человека, животных и в растениях — арахидоновая кислота $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{COOH}$ — в арахисе, мясе и печени ↓ ЭЙКОЗАНОИДЫ	α -линоленовая $\text{C}_{18:3} \text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOH}$ в растительных маслах ↓ $\text{C}_{18:4} \quad \text{C}_{20:4}$ ↓ эйкозапентаеновая кислота $\text{C}_{20:5} \text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{COOH}$ (из морского планктона поступает в рыбы и в животные северных и дальневосточных морей) ↓ ЭЙКОЗАНОИДЫ

Синтез жира.

Источники предшественников для синтеза жира

Предшественник	Предшественник образуется в печени из	Предшественник образуется в жировой ткани из
глицерол-3-фосфат	1) глюкозы; 2) глицерола	глюкозы
ацил-КоА	глюкозы	1) глюкозы; 2) пищевых жирных кислот, доставляемых ХМ из ЖКТ; 3) синтетических жирных кислот, доставляемых ЛОНП из печени

Четыре заключительные реакции синтеза жира (ТАГ)

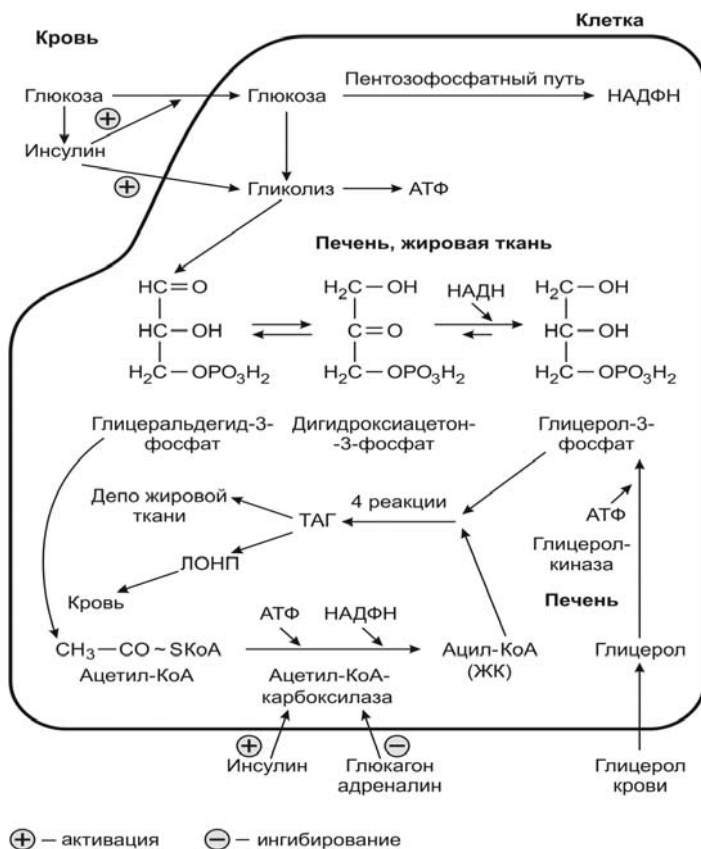


Регуляция синтеза жира

1. Прием высококалорийной пищи. Инсулин стимулирует поступление глюкозы в клетки-мишени (см. лекцию 13), увеличивает активность ферментов энергетического обмена и синтеза ЖК, останавливает распад жира, ингибируя ТАГ-липазу (дефосфорилирует, следующая лекция).

2. При физической активности (адреналин) и голодании (глюкагон) эти гормоны обеспечивают фосфорилирование ацетил-КоА-карбоксилазы, ТАГ-липазы и других ферментов. Синтез ЖК и жира прекращается, его распад начинается. Инсулин не функционирует.

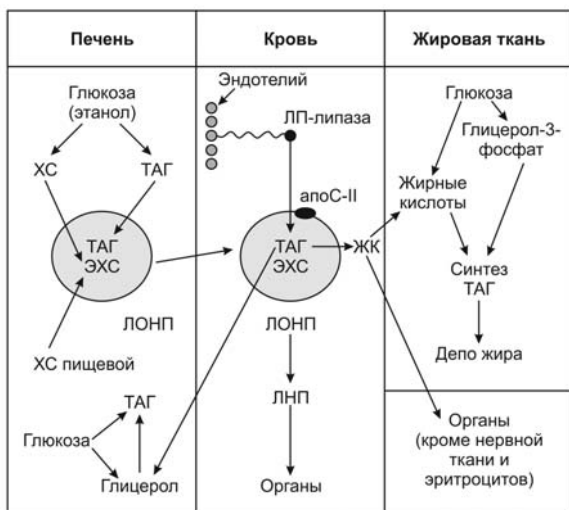
Общая схема синтеза жира и его регуляция



Судьба синтезированного жира

Образовавшийся в жировой ткани жир остается в адипоцитах в качестве резервного жира (депо). В печени жир включается в состав ЛОНП, которые как транспортер удаляют жир из здоровой печени в кровь. ЛОНП крови являются транспортной формой синтетического жира а также пищевого и синтезированного в печени холестерина (лекция № 20).

Транспорт (в составе ЛОНП) синтезируемого в печени жира и ХС в другие органы и ткани



Жировое депо

1. Консервативное депо — жир жировой ткани составляет 15% от массы тела здорового человека и медленно (100 дней) обновляется. При изменении массы этого жира возникает ожирение или истощение человека.

2. Мобильное депо — жир в ХМ и ЛОНП крови. В перерывах между приемами пищи этот жир распадается под действием ЛП-липазы на поверхности эндотелия и продукты обеспечивают энергетическую потребность органов.

3. Патологическое депо хронических алкоголиков и других больных — любые запасы жира в печени и избыток жира в адипоцитах образуются в результате комплекса причин.

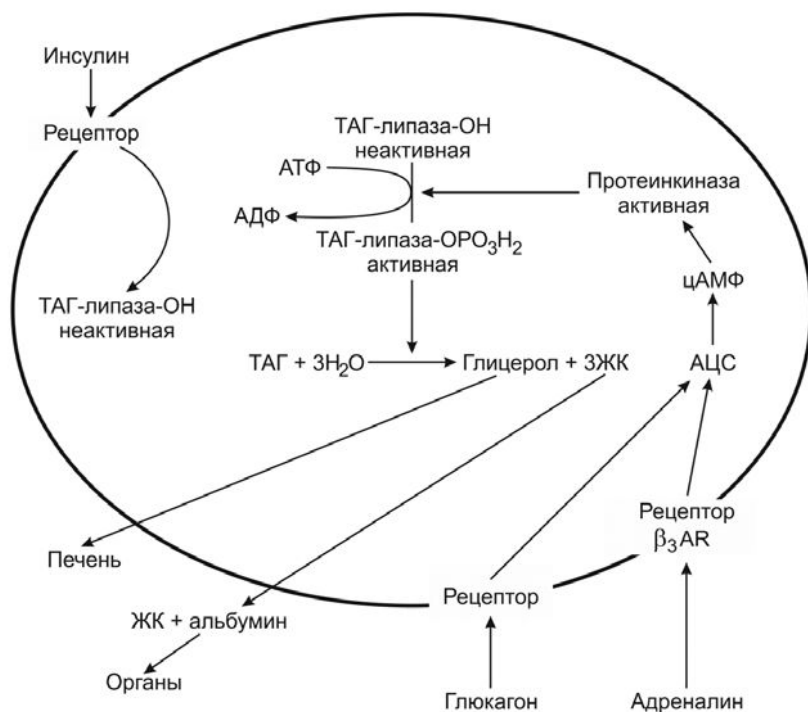


Мобилизация жира. Катаболизм жирных кислот. Кетоновые тела. Эйкозаноиды

Жиры (ТАГ) адипоцитов как депо становятся источником энергии (АТФ) при голодании, физической работе и ряде заболеваний. Распад ТАГ жировой ткани катализирует ТАГ-липаза, которую активируют при этих состояниях человека адреналин и глюкагон, фосфорилируя предварительно фермент (схема). Детали: существует три формы фермента и три последовательные реакции ступенчатого распада ТАГ, при этом гормоны фосфорилируют 1-й фермент — собственно гормончувствительную липазу. Синтез ТАГ при указанных состояниях остановлен, т.к. инсулин не функционирует. Напротив, после приема пищи инсулин дефосфорилирует и инактивирует ТАГ-липазу опосредованно (активация ФДЭ — распад цАМФ — инактивация ПКА) и гидролиз ТАГ не происходит.



Мобилизация жира в адипоцитах



После липолиза глицерол из адипоцитов транспортируется по крови в печень, а ЖК в комплексе с альбумином — в разные органы (кроме мозга и эритроцитов).

При опухолях мозгового вещества надпочечников (феохромоцитомы и феохромобластомы) и избытке адреналина в крови повышается концентрация глюкозы и ЖК или возникает гипертоническая болезнь (норадреналин).

Аэробный окислительный катаболизм ЖК

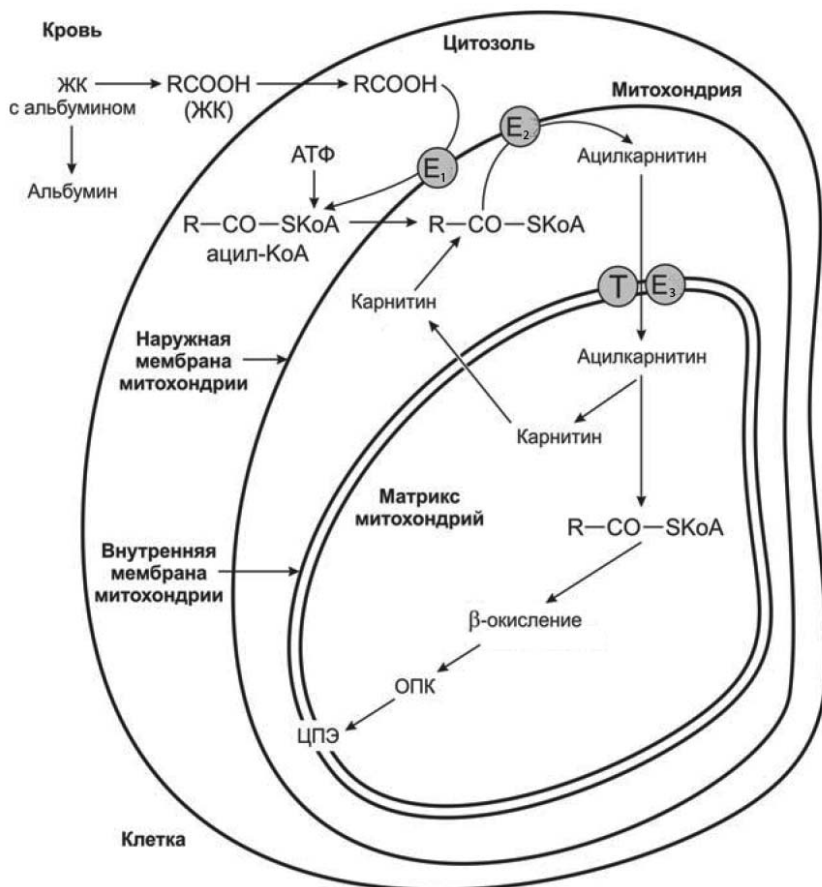
Реализуется для пополнения запасов АТФ и состоит из трех последовательных этапов.

1. β -окисление ЖК (специфический этап) происходит путем последовательного отщепления от ЖК двух атомов углерода в виде ацетил-КоА и заканчивается образованием НАДН и QH_2 .



2. Цитратный цикл (2-й этап ОПК) начинается с ацетил-КоА, заканчивается образованием CO_2 , НАДН, QH_2 и одной молекулы АТФ (метод субстратного фосфорилирования АДФ).

3. Цепь переноса электронов (ЦПЭ): при окислении водорода НАДН и QH_2 образуются метаболическая вода и основное количество АТФ (метод окислительного фосфорилирования АДФ).

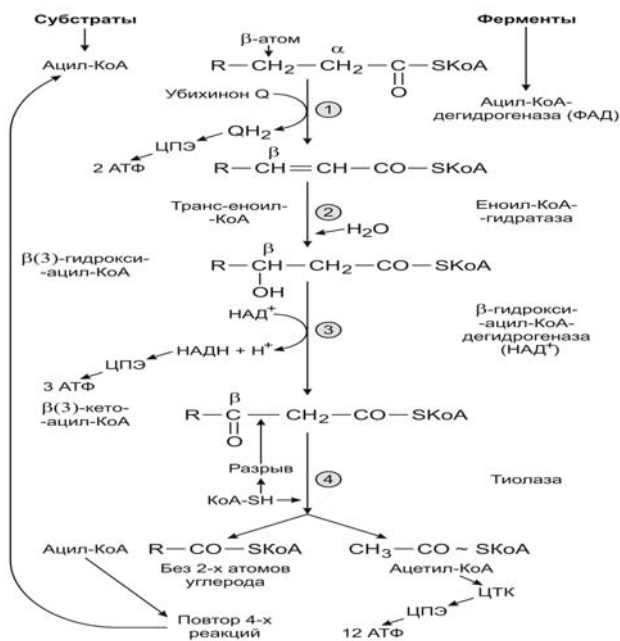


Начало специфического этапа окислительного катаболизма ЖК

Примечание. Т — транслоказа; E_1 — ацил-КоА-синтетаза; E_2 — карнитинацил-трансфераза I (изофермент I); E_3 — карнитинацилтрансфераза II (изофермент II)



Этапы окислительного катаболизма ЖК в митохондриях: β -окисление, ОПК, ЦПЭ



Расчет выхода АТФ при полном окислительном распаде ЖК

Число циклов распада ЖК:

$$m = N/2 - 1, \text{ где } N - \text{общее число атомов углерода } C \text{ в ЖК.}$$

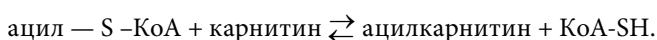
Число образовавшихся молекул АТФ при окислении 1 молекулы ЖК:

$$\text{число АТФ} = [(N/2 - 1) \times 5 + (N/2 \times 12)] - 1.$$

Для пальмитиновой кислоты C₁₆:0 (C₁₅H₃₁COOH) величина $m = 7$ и число АТФ = 130. Для пальмитоил-КоА — 131 АТФ.

Регуляторный фермент β -окисления ЖК

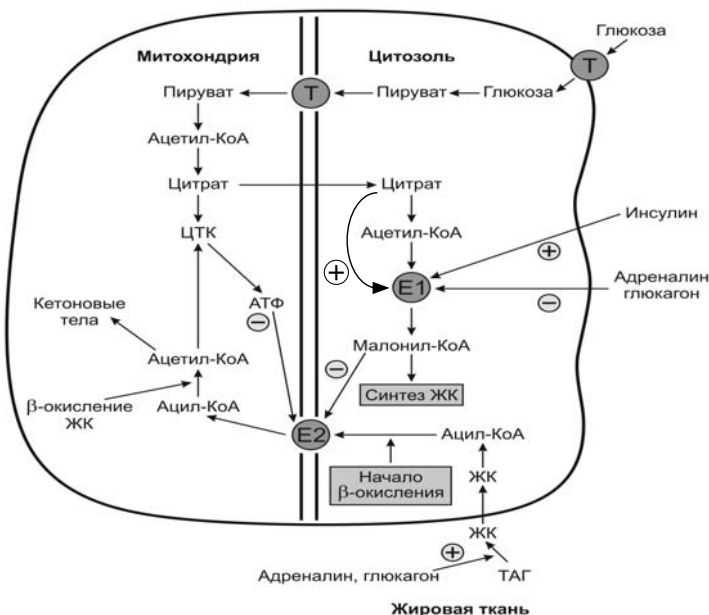
Карнитинацилтрансфераза I:



Регуляторы

1. Аллостерические активаторы — АДФ, АМФ, избыток ЖК.
2. Активаторы с непрямым механизмом действия — глюкагон и адреналин (через малонил-КоА).
3. Аллостерические ингибиторы — малонил-КоА, АТФ.
4. Ингибитор с непрямым механизмом действия — инсулин (через малонил-КоА).

Синтез и распад ЖК в гепатоцитах и их регуляция



Решение ситуационных (экзаменационных) задач с помощью последнего рисунка

1. Прием высококалорийной пищи → глюкоза в крови и клетках → секреция инсулина → синтез малонил-КоА и АТФ → оба вещества ингибируют карнитинацилтрансферазу I (E_2) и β -окисление → распад ТАГ и ЖК прекращается.

2. Голод и физическая работа → мало глюкозы в крови и клетках → мало цитрата → мало малонил-КоА и АТФ → активация E_2 и усиление β -окисления → распад ЖК → синтез АТФ. Глюкагон и адреналин синхронно активируют распад ТАГ и ингибируют регуляторный фермент синтеза ЖК (E_1).



Нарушения β -окисления ЖК

1. Нарушение метаболизма карнитина тормозит окисление ЖК и приводит к мышечной слабости. Причины: мутационный дефект карнитинацилтрансферазы I (E_2) и ферментов синтеза карнитина, ингибирование E_2 сульфанилмочевинной (лечение СД типа 2), удаление карнитина из организма кетоновыми телами (СД, голодание).

2. Мутации гена изофермента ацил-КоА-дегидрогеназы (для ЖК молока со средней длиной цепи) уменьшают энергетическую эффективность молока для детей, что усиливает у них катаболизм глюкозы и приводит к гипогликемии с соответствующей симптоматикой, но без кетонемии.

3. При некоторых нарушениях β -окисления распад ЖК происходит другими путями без синтеза АТФ (α -, ω -окисление).

Мельдоний как допинг

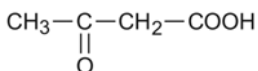
По известным пока предварительным данным, известный и нашумевший в спортивном и политическом мире мельдоний позволяет спортсмену при длительных и изнурительных физических нагрузках уменьшать потребление кислорода, не снижая количества синтезируемой АТФ. А именно, мельдоний ингибирует синтез карнитина (как конкурентный ингибитор фермента его синтеза), уменьшает распад ЖК, требующий значительных количеств кислорода, и активирует гексокиназу, интенсифицируя гликолиз, более экономный по расходу кислорода.

Кетоновые тела

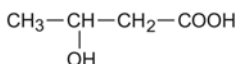
При длительном голодании и изнурительной физической работе, а также при нелеченом СД усиленный распад ТАГ и ЖК создает избыток ацетил-КоА, который в митохондриях печени превращается в кетоновые тела (КТ). Их преимущества: небольшие молекулы легко проникают в органы и, главное, в мозг (в отличие от ЖК), а при окислении через ЦТК и ЦПЭ дают 23 АТФ (ацетоацетат) и 26 АТФ (β -гидроксибутират). КТ не окисляются в эритроцитах и гепатоцитах.

Кетоновые тела

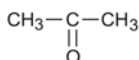
1. Ацетоацетат



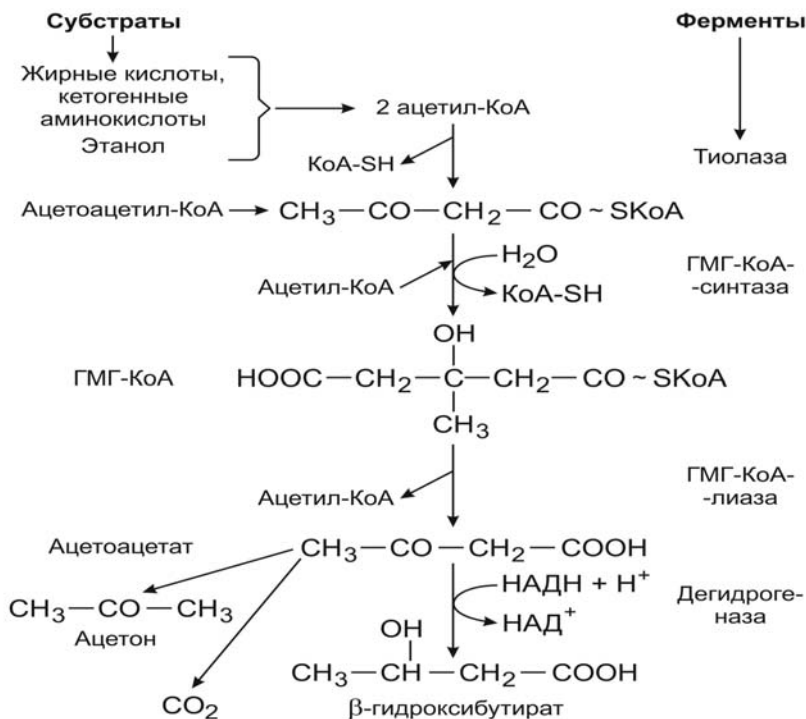
2. Бета(3)-гидроксибутират



3. Ацетон



Синтез кетоновых тел



Регуляторный фермент синтеза кетоновых тел — ГМГ-КоА-синтаза

Ингибитор: КоА-SH.

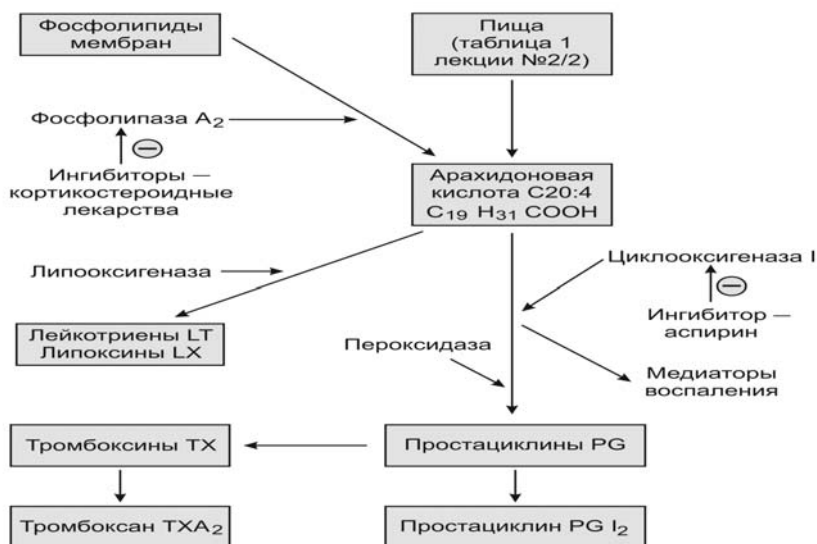
Активаторы: ЖК, глюкагон (через уменьшение количества КоА-SH).

Итог — о влиянии глюкагона на обмен ТАГ, ЖК, КТ.

1. Прямо активирует ТАГ-липазу и липолиз.
2. Прямо ингибирует ацетил-КоА-карбоксилазу и синтез ЖК.
3. Косвенно активирует карнитинацилтрансферазу I.
4. Косвенно активирует ГМГ-КоА-синтазу.



Эйкозаноиды — производные арахидоновой кислоты (омега-6 ЖК)



Эйкозаноиды — местные гормоны, действующие аутокринно и паракринно (простациклины, тромбоксаны, лейкотриены и липоксины).

Первая группа — производные арахидоновой кислоты (ω -6 ЖК): тромбоксаны типа TXA_2 вызывают сужение сосудов и увеличивают свертывание крови, т.е. при травмировании и образовании ран они полезны. Однако у пожилых людей эти эффекты атерогенны. Поэтому аспирин — ингибитор их синтеза (циклооксигеназы I) был рекомендован в малых дозах пожилым для профилактики инфаркта и инсульта. В обычных дозах аспирин тормозит образование эйкозаноидов — медиаторов воспаления. Простациклины из ω -6 ЖК дают обратный эффект, но они малоактивны.

Вторая группа эйкозаноидов образуется из ω -3 ЖК — из эйкозапентеновой кислоты. Из нее в эндотелии синтезируются простациклины типа PGI_2 с мощным антиатерогенным действием — расширяют сосуды, тормозят агрегацию тромбоцитов и этим уменьшают свертывание крови. Поэтому препараты на основе ω -3 ЖК (омеганол, эйконол и др.) рекомендованы пожилым людям для профилактики атеросклероза (инфаркта, инсульта).



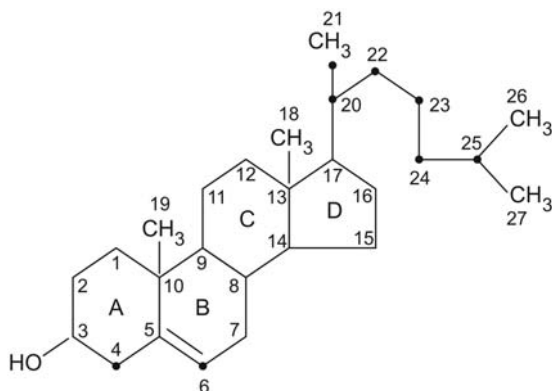
«Аспириновая» бронхиальная астма

У некоторых пациентов при лечении аспирином или его профилактическом приеме возникает астма. Механизм патологии следующий. Аспирин, угнетая циклооксигеназу I, увеличивает количество арахидоновой кислоты и соответственно лейкотриенов. Последние вызывают аллергическое состояние (псевдоаллергию) и спазм мускулатуры бронхов. Лечение — кортикостероидные препараты (угнетают фосфолипазу A_2 и уменьшают количество свободной арахидоновой кислоты) и антилейкотриены.



Холестерол и его функции

Холестерол



Холестерол (ХС) — важный компонент мембран и липопротеинов крови

О медицинском и биологическом значении ХС свидетельствуют четыре Нобелевские премии по ХС (1927, 1928, 1964, 1985).

В организме здорового человека — около 150 г ХС: 90% в органах и 10% в крови.

Свободный амфифильный ХС-ОН находится в мембранах клеток, в мицеллах желчи и ЛПП на их периферии, в стероидогенных органах и железах как субстрат для синтеза стероидов.

Гидрофобные эфиры ХС $-O-CO-C_{17}H_{33}$ (ЭХС) находятся внутри ЛП и смешанных мицелл желчи, а также в цитозоле клеток стероидогенных органов как депо ХС.



Баланс холестерина (г/сут)

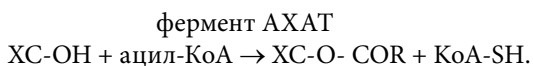
Баланс холестерина у здорового человека (г/сут)

Ассимиляция пищевого ХС

1. Пища содержит ЭХС. В тонком кишечнике распад ЭХС:



2. ХС-ОН включается в мицеллы желчи и в энтероциты.
3. В энтероцитах происходит ресинтез эфиров ХС (ЭХС):



4. ХС-О- COR (ЭХС) \rightarrow хиломикроны (ХМ) \rightarrow остаточные ХМ \rightarrow печень.
Ингибиторы АХАТ уменьшают ассимиляцию пищевого ХС.



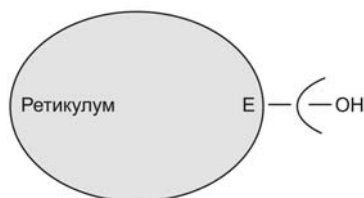
Синтез ХС, этап 3 в эндоплазматическом ретикулуме



Для синтеза одной молекулы ХС из глюкозы надо затратить:

- 18 молекул ацетил-КоА;
- 18 молекул АТФ;
- 18 молекул НАДФН.

Регуляторный фермент синтеза ХС — ГМГ-КоА-редуктаза (Е) находится в мембране эндоплазматического ретикулума, но катализирует реакцию в цитозоле. Фермент активен только в дефосфорилированном виде как Е-ОН.



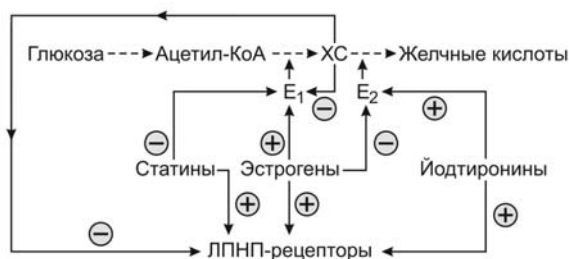
Эндогенные регуляторы ГМГ-КоА-редуктазы

Регуляторы	Молекулярный механизм их действия на фермент
<i>Ингибиторы</i>	
1. Большие количества ХС и окисленные дериваты ХС в органах (кроме кишечника) 2. Желчные кислоты 3. Кортизол (при голодании) 4. Глюкагон (при голодании)	Угнетение транскрипции (репрессия), протеолиз редуктазы Репрессия { Фосфорилирование — непрямой механизм действия
<i>Активаторы</i>	
1. Инсулин (после еды) 2. Эстрогены 3. Недостаток ХС в организме, в том числе у вегетарианцев	Дефосфорилирование (непрямой механизм действия) Активация транскрипции (индукция) Индукция

Регуляция синтеза ХС

Все эндогенные ингибиторы и йодтиронины (эндогенные и лекарственные формы), а также многочисленные статины 3–4-х поколений снижают количество ХС в органах и в крови. Статины (конкурентные ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы) — сегодня самые эффективные гиполипидемические фармпрепараты, уменьшающие ХС крови на 20–40%.

Регуляция синтеза ХС: E_1 — ГМГ-КоА-редуктаза, E_2 — 7α -гидроксилаза, «-» — ингибирующий, «+» — активирующий эффект



На основании представленной схемы легко понять и объяснить особенности следующих заболеваний человека:

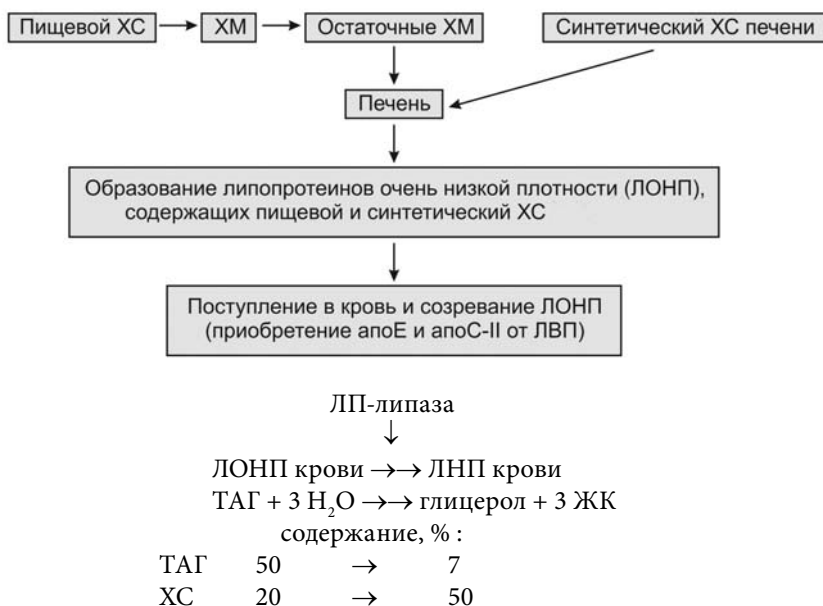
- более высокая частота желчнокаменной болезни у женщин до менопаузы по сравнению с мужчинами: эстрогены активируют E_1 , ингибируют E_2 и увеличивают содержание ХС и ХС-камней в желчи;



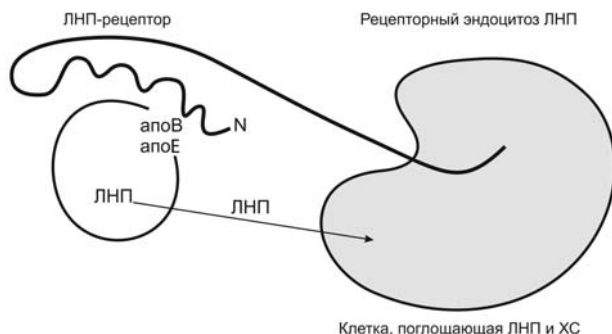
эстрогены также увеличивают плотность ЛНП-рецепторов на клетке и уменьшают этим концентрацию ХС и ЛНП в крови; поэтому у женщин частота атеросклероза меньше, чем у мужчин; после менопаузы эти различия с мужчинами стираются;

- мужчины — хронические алкоголики — расплачиваются уменьшением количества тестостерона и относительным увеличением эстрогенов и как следствие своей феминизацией;
- при гипотиреозе и недостатке йодтиронинов меньше ЛНП-рецепторов и меньше активность E_2 , поэтому в крови больше ХС и ЛНП (атеросклероз!), а в желчи больше ХС и ХС-камней (желчнокаменная болезнь!).

Прямой транспорт ХС в органы



Образовавшиеся липопротеины низкой плотности (ЛНП) взаимодействуют со своими рецепторами на клетках и проникают внутрь методом рецепторного эндоцитоза



Количество рецепторов для ЛНП на поверхности клеток регулируется факторами:

- 1) избыток внутриклеточного ХС угнетает (репрессия) синтез рецепторов;
- 2) эстрогены и йодтиронины увеличивают (индукция) этот синтез;
- 3) лекарства — статины увеличивают синтез непрямым путем: они ингибируют синтез ХС и уменьшают его количество, репрессивное действие ХС на синтез рецепторов прекращается.

При многочисленных и частых мутациях гена рецептора ЛНП возникает наследственная семейная гиперхолестеремия типа IIa.

Обратный транспорт ХС

Обратный транспорт избыточного, лишнего, «плохого» ХС происходит при некорректном питании, нарушении обмена ХС и у пожилых людей.

Он осуществляется с помощью липопротеинов высокой плотности (ЛВП), обладающих на своей поверхности специальным ферментом — лецитинхолестеролацилтрансферазой (ЛХАТ) с активатором апоА. Реакция, катализируемая ЛХАТ:

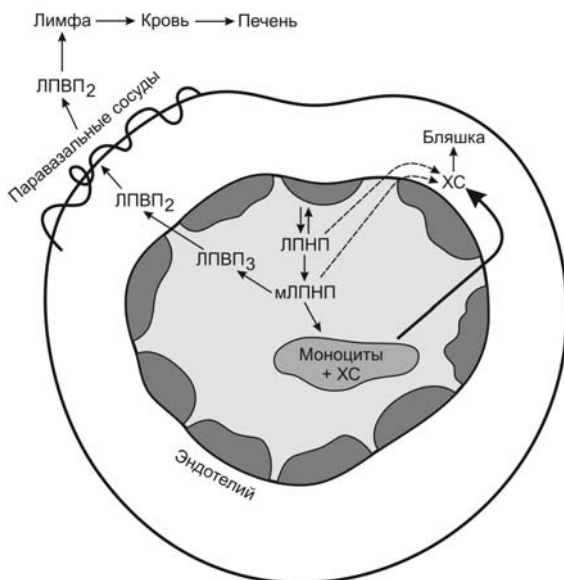


ЛВП забирает «плохой» ХС из клеток и ЛНП крови с помощью этого механизма и переносит его в печень, где он превращается в избыточные желчные кислоты, удаляемые далее с калом.

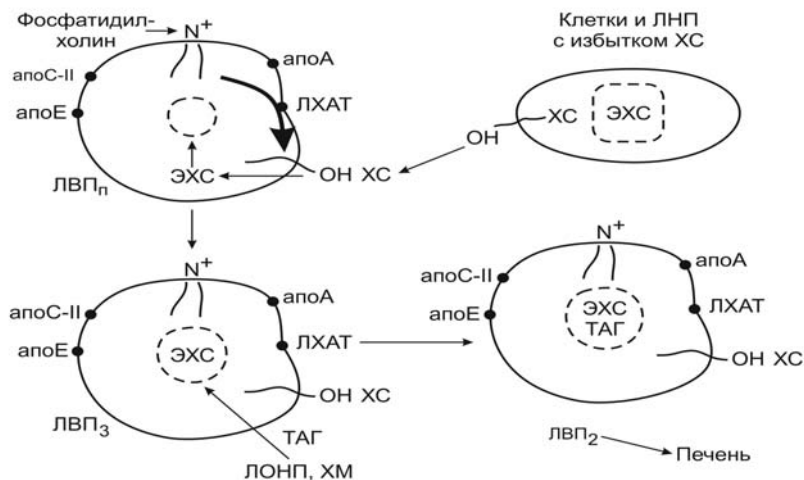
ЛВП → печень → желчные кислоты → кал.



Удаление «плохого» ХС из клеток артерий и ЛНП крови с помощью ЛВП



На схеме более подробно представлен обратный транспорт избыточного ХС:



Сравнение состава и свойств ЛНП и ЛВП

Показатель	ЛНП	ЛВП
Место формирования	Кровь; ЛОНП → ЛНП	Печень, кровь и органы
Жиры, %	7	5
Холестерол, %	50	10–28
Белки, %	25	55
Аполипопротеины	апоВ-100, апоЕ	апоА, апоЕ, апоС-II
Фосфолипиды, %	21	25–42
Плотность, г/см ³	1,00–1,06	1,06–1,21
Устойчивость, сут	До 2,5	До 2,5

Различия в строении и функциях основных ЛП

Липопротеины

Вид ЛП	Особенности состава	Функции	Место формирования
ХМ	ТАГ — 90%; ХС — 6%; белки — 2%	Транспорт пищевых ТАГ и ХС из кишечника в органы	Энтероциты стенки кишечника, созревание в крови
ЛОНП	ТАГ — 50%; ХС — 22%; белки — 10%	Транспорт ТАГ и ХС из печени в кровь	Печень
ЛНП	ТАГ — 7%; ХС — 50%; белки — 25%	Транспорт ХС из крови в ткани и органы	Кровь
ЛВП	ТАГ — 5%; ХС — 10–28%; белки — 55%	Транспорт ХС из крови и из органов в печень. Донор аполипопротеинов	Печень, кровь, органы

Желчные кислоты образуются из ХС в печени и являются главным компонентом (80%) желчи.

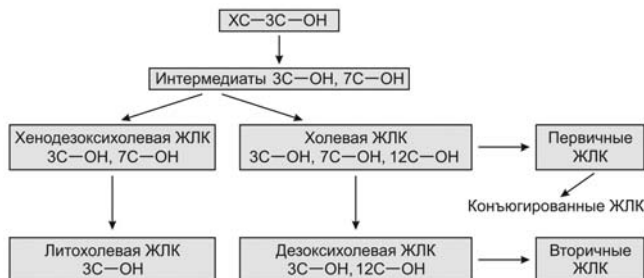
Строение желчи и мицелл желчи было рассмотрено ранее как и три функции желчи в переваривании жировой пищи. Печень (гепатоциты) синтезирует 300–500 мг желчных кислот в сутки из ХС в результате реакций:

- 1) гидроксилирование ХС-3С-ОН по атомам углерода №7 и 12 с помощью 7 α - и 12 α -гидроксилаз и НАДФН;
- 2) восстановление двойной связи 5С = 6С;



- 3) окисление и укорочение 8-членного алифатического радикала ХС до 5-членного с образованием карбоксильной группы -24 COOH ;
- 4) конъюгация с глицином и таурином.

Синтез и разнообразие желчных кислот



Регуляторный фермент - 7α -гидроксилаза. Активен только как Е- OPO_3H_2

Его активаторы: ХС и йодитирины (индукция). Ингибиторы: сами желчные кислоты и эстрогены (репрессия).

Функции желчных кислот

- 1, 2, 3 (см. выше). Обеспечение переваривания и всасывания жиров пищи.
4. Поддерживают ХС желчи в псевдорастворенном состоянии.
5. Участвуют в выведении «плохого» ХС из организма, а лекарства — секвестранты желчи усиливают эту функцию.
6. Являются ингибиторами регуляторных ферментов — 7α -гидроксилазы и ГМГ-КоА-редуктазы.
7. Хенодезоксихолевая кислота — как лекарство для растворения ХС-камней в желчи при холелитиазе.

Энтерогепатическая циркуляция желчных кислот

Желчь вместе со смесью разных желчных кислот после секреции в двенадцатиперстную кишку выполняет свои основные функции и 95% этих кислот всасывается в подвздошной кишке и поступает в печень для повторного использования. Создается цикл: печень → тонкий кишечник → воротная вена → печень. По расчетам профессора А.Я. Николаева, каждая молекула желчной кислоты может циркулировать 5–10 раз и далее выделяется с экскрементами вместе с ХС и с его восстановленной бактериями формой — копростеролом, который не способен всасываться в стенку кишечника.



Гиперлиппротеинемии — синдром заболеваний, обусловленных увеличением количества жиров или ХС

Гиперхиломикронемия (постоянное повышенное содержание в организме ХМ и ТАГ) рассмотрена ранее.

Разные формы гиперхолестеролемии (точнее, дислиппротеинемии) наследственного или ненаследственного характера (см. ниже две таблицы) проявляются как заболевание — атеросклероз с его всем известными осложнениями в виде инсульта, инфаркта миокарда, перемежающейся хромоты, болезней почек.

Наследственные дислиппротеинемии

Генетические варианты первичных гиперлиппротеинемий (ГЛП) — дислиппротеинемий

Тривиальное название	Тип по Фред-риксону	Причина патологии — атеросклероза	Связь с атеросклерозом
Классическая семейная гиперхолестеролемия (ГХС): – гомозиготная – гетерозиготная	IIa	Мутационный дефект ЛНП-рецептора	++++ ++
Семейная ГХС	IIa	Мутационный дефект белка апоВ-100 ЛНП	+++
Семейная дисбеталипопротеинемия (ремнантная ГХС)	III	Мутационные изменения апоЕ, усиленное образование ЛОНП, замедленный катаболизм ремнантных ЛОНП и ХМ	++
Семейная гипер-ЛП(а)емия	—	Повышенный синтез и уровень ЛП(а), угнетение фибринолиза	+++
Семейная комбинированная гиперлиппротеинемия	IV	Повышенный синтез апоВ-100 и ЛОНП	++
Семейная гиперхиломикронемия	I	Мутационный дефект ЛП-липазы или белка апоС-II ХМ	—

Ненаследственные дислиппротеинемии

Вторичные ненаследственные заболевания — дислиппротеинемии, связанные с атеросклерозом

Заболевание или синдром	Причина патологии — атеросклероза	Связь с атеросклерозом
Сахарный диабет: – 2-го типа – 1-го типа	Гликозилирование белка апоВ-100 ЛНП или белка ЛНП-рецептора*	+++ +
Гипотиреоз	Торможение превращения холестерина в желчные кислоты в печени и замедление рецепторного эндоцитоза ЛНП из крови в гепатоциты	+
Синдром X или множественный метаболический синдром	Дислиппротеинемия, ИНСД, ожирение, гипертония	++

* Эти причины относятся к СД 1 и 2-го типа.



Биохимические аспекты диагностики атеросклероза связаны с анализом так называемого «липидного комплекса», представленного в следующей таблице, и с расчетом по данным лабораторного анализа коэффициента атерогенности.

**Диапазон содержания в крови здоровых людей
липопротеинов, холестерина липопротеинов
и аполипопротеинов**

Холестерол и липопротеины	Концентрация в крови	
	мг/дл	ммоль/л
<i>Холестерол</i>		
Общий ХС	150–250	3,9–6,5
ХС ЛНП	135–155	3,5–4,0
ХС ЛВП:		
– мужчины	35–70	0,9–1,8
– женщины	40–80	1,0–2,1
<i>Липопротеины крови, г/л</i>		
ЛНП	3,0–4,5	
ЛВП:		
– мужчины	1,2–4,2	
– женщины	2,5–6,5	
ЛП(а)	0,2–0,3	
апоВ	0,6–1,8	
апоА-I	1,1–2,2	

Коэффициент атерогенности

Мой руководитель (по научной работе на кафедре биохимии Ленинградской Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова) академик АМН СССР и РАМН Климов А.Н. научно обосновал и ввел в клиническую практику СССР и РФ индекс атерогенности, позволяющий по лабораторным данным вероятностно оценивать риск развития атеросклероза у данного пациента.

$$Ka = (XC_{\text{ЛНП}} + XC_{\text{ЛОНП}}) / XC_{\text{ЛВП}} = (XC_{\text{общий}} - XC_{\text{ЛВП}}) / XC_{\text{ЛВП}} \leq 3.$$

Оба уравнения тождественны. На основании правого уравнения врач-лаборант делает два анализа и рассчитывает Ка. Левое уравнение позволяет оценить соотношение «плохого» ХС (числитель) и «хорошего» ХС (знаменатель).

Коэффициент атерогенности может быть высоким за счет увеличения «плохого» или атерогенного ХС (в ЛНП и ЛОНП) или за счет уменьшения «хорошего» антиатерогенного ХС (в ЛВП).

Высокие значения коэффициента атерогенности свидетельствуют о повышенном риске формирования атеросклеротических бляшек в артериях эластического типа.



Факторы, повышающие риск заболеваний, связанных с атеросклерозом

Модифицируемые факторы		Немодифицируемые факторы
образ жизни	биохимические и физиологические факторы	личностные параметры
<i>Россия, 1996 г.</i>		
Высококалорийное питание с повышенным содержанием животного жира и ХС Курение Избыточное потребление алкоголя Сниженная физическая активность	Гиперхолестеролемия за счет ЛНП Артериальная гипертония Низкий уровень в крови ЛВП Гипертриглицеридемия Ожирение Сахарный диабет Тромбогенные факторы	Возраст — с возрастом возрастает риск Пол — у мужчин риск больше Наличие у близких родственников клинических проявлений атеросклероза (для мужчин — до 55 лет, для женщин — до 65 лет) Наличие в семье лиц с гиперлипидемией
<i>США, 1993 г.</i>		
Возраст — для мужчин старше 45 лет Возраст — для женщин старше 55 лет или ранняя менопауза без терапии эстрогенами Наличие в семейной истории ишемической болезни сердца Курение Артериальная гипертония Сахарный диабет		

Цикл научных работ с участием Е.Г. Зезерова по биохимии атеросклероза

1. Зезеров Е.Г. Биохимические аспекты атеросклероза // Вопр. биол., мед., фарм. химии. — 1999, № 1. — С. 49–55.
2. Губарева А.Е., Зезеров Е.Г. Биохимические механизмы патологии обмена липидов // Биохимические основы патологических процессов (под ред. член-корр. РАН Е.С. Северина). — М.: Изд-во Медицина, 2000. — С. 122–154.
3. Зезеров Е.Г. Аудиолекции по биохимии атеросклероза. Диск CD-ROM в комплекте с курсом лекций «Биохимия общая, медицинская и фармакологическая». — М.: Изд-во МИА, 2014.



Переваривание белков. Катаболизм аминокислот

Классификации аминокислот (АК)

В лекции №1 мы рассмотрели две классификации АК. **Третья классификация** основана на их дифференциации по источнику этих АК.

1. Незаменимые АК не синтезируются в организме, они поступают только с пищей (8 АК).
2. Заменимые АК — синтез возможен (8 АК).
3. Частично заменимые АК синтезируются в недостаточном количестве, особенно у детей — Арг, Гис.
4. Условно заменимые АК образуются из незаменимых (Цис, Тир).

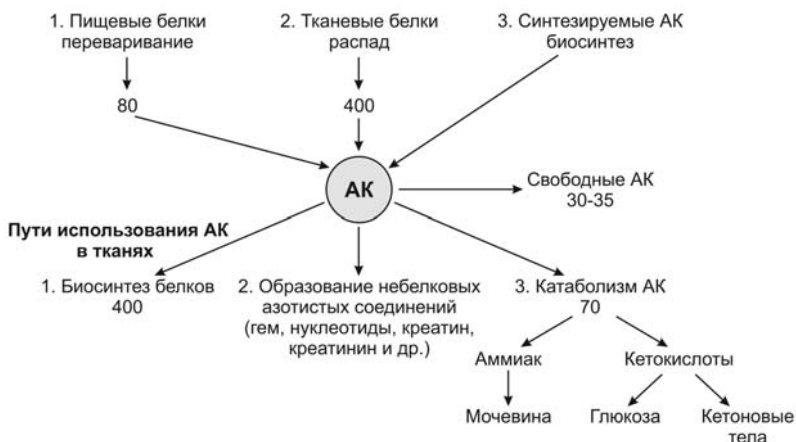
Основной источник всех АК и единственный источник незаменимых АК — пищевые белки. Полноценные белки животных и растительный белок из сои содержат все незаменимые АК. Растительные белки, как правило, неполноценны. Поэтому индейцы использовали смесь — суккоташ: бобы (мало Три, много Лиз) с кукурузой (много Три, мало Лиз).

В организме происходит постоянное обновление белков (распад и синтез) при гибели клеток, в процессе частичного протеолиза проферментов и белков. К катаболизируемым белкам присоединяется «киллерная» метка — убиквитин (белок из 76 АК) и они разрушаются тканевыми катепсинами.



Баланс аминокислот в организме человека (цифры — г/сут)

Источники АК



Понятие «**азотистый баланс**» появилось в биохимии в связи с тем, что белки содержат 95% азота организма.

Уравнение баланса:

δ = азот поступающей пищи минус азот, удаляемый из организма с мочой, калом, потом, воздухом.

Три варианта азотистого баланса:

$\delta = 0$ — азотистое равновесие здорового человека;

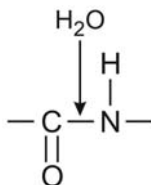
$\delta > 0$ — положительный баланс при росте, развитии, выздоровлении после болезней;

$\delta < 0$ — отрицательный баланс при болезнях, голодании, неполноценной пище с отсутствием даже одной незаменимой АК.

Переваривание белков в ЖКТ

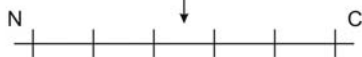
Это процесс распада белков при участии протеаз (пептидаз), гидролизующих пептидные связи в белках.

Разрыв пептидной связи:



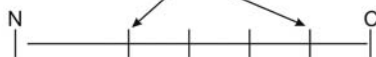
Эндо- и экзопептидазы (класс гидролаз)

Эндопептидазы катализируют разрыв внутренних пептидных связей с образованием пептидных фрагментов



Эндопептидазы: пепсин, трипсин, химотрипсин, эластаза, энтеропептидаза и реннин (у детей)

Экзопептидазы разрывают терминальные связи с освобождением свободных аминокислот



Экзопептидазы: аминопептидазы (левая часть схемы), карбоксипептидазы (правая часть схемы), дипептидазы и трипептидазы

Протеазы:

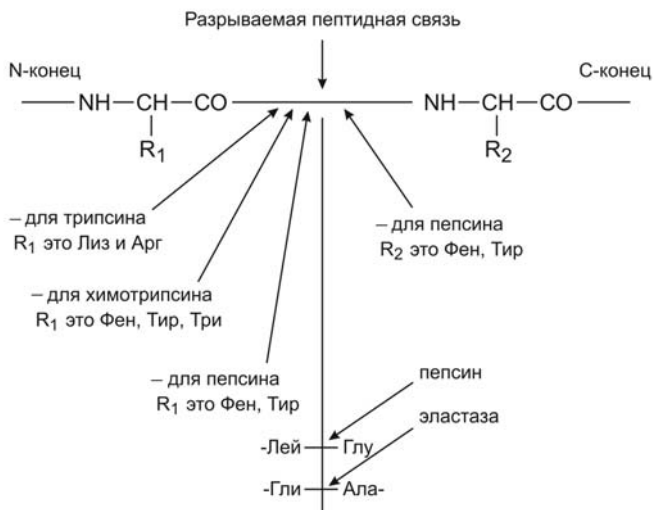
- 1) синтезируются как активные ферменты в энтероцитах тонкого кишечника (аминопептидазы, энтеропептидаза, дипептидазы);
- 2) синтезируются в виде неактивных проферментов, а далее в полости желудка и кишечника активируются методом частичного протеолиза.

Место синтеза и активация неактивных проферментов

Синтезирующий орган	Место действия фермента	Активация проферментов (зимогенов)		
		профермент	активатор	название активного фермента
Главные клетки стенки желудка	Полость желудка	Пепсиноген	Соляная кислота, далее пепсин	Пепсин (удалены 42 АК)
Поджелудочная железа	Полость тонкого кишечника	Трипсиноген	Энтеропептидаза	Трипсин (удалены 6 АК)
		Химотрипсиноген	Трипсин	Химотрипсин
		Прокарбоксипептидазы А и Б	Трипсин	Карбоксипептидазы А и Б
		Проэластаза	Трипсин	Эластаза



Специфичность протеаз ЖКТ относительная. Каждая протеаза может разрушать любую пептидную связь, но с наибольшей скоростью — связи указанных ниже АК.



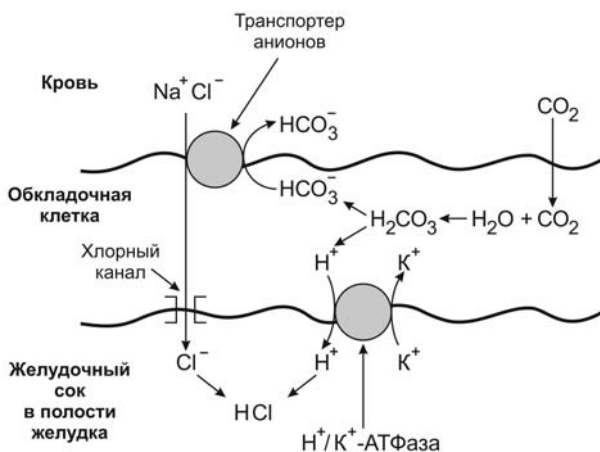
Особенности переваривания белков в желудке

1. Неактивный прореннин грудных детей активируется соляной кислотой HCl (частичный протеолиз) и активный реннин (химозин) катализирует ограниченный распад растворимого казеиногена молока с образованием нерастворимых фрагментов, которые связывают кальций молока и далее медленно разрушаются малоактивным пепсином новорожденных.

2. Главные клетки слизистой желудка синтезируют неактивный пепсиноген при стимуляции транскрипции местными гормонами — гастринами (через ИФ-систему). Пепсиноген медленно активируется в полости желудка соляной кислотой HCl, а затем быстро пепсином (аутокатализ). Аналогично в два этапа активируется трипсиноген в полости 12-перстной кишки.

3. Синтез и секреция HCl в обкладочных клетках желудка. Для подавления секреции HCl при гиперацидном гастрите и язве назначают омепразол — необратимый ингибитор H⁺/K⁺-АТФазы.





При панкреатитах и панкреонекрозах трипсиноген активируется не в полости 12-перстной кишки, а в месте своего синтеза — в поджелудочной железе в результате заброса энтеропептидазы из кишечника в железу. Патологическое переваривание тканей панкреас лечат с помощью апротининов — обратимых конкурентных ингибиторов протеаз (контрикал и гордокс).

Всасывание АК

Продукты переваривания белков — свободные АК всасываются в тощую кишку способами: 1) облегченной диффузии; 2) вторично активного транспорта (симпорт с NaCl) — для небольших незаряженных АК, Мет, Про; 3) первично активного транспорта с участием γ -глутамилтранспептидазы.

У новорожденных слабая активность протеаз ЖКТ не обеспечивает полный гидролиз белков до свободных АК и могут всасываться олигопептиды. При раннем переводе детей на питание с чужеродными белками (даже молоком неродной кормилицы) указанные олигопептиды индуцируют аутоиммунный статус ребенка, что повышает в дальнейшем риск развития сахарного диабета 1-го типа.

Катаболизм АК происходит после их поступления из крови в клетки и состоит из двух процессов:

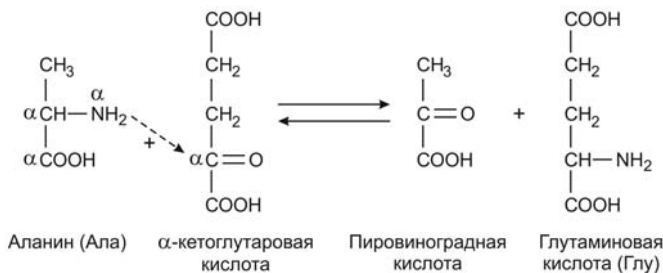
- 1) потеря аминогруппы в результате трансаминирования и дезаминирования и
- 2) превращение образовавшихся кетокислот в глюкозу (для гликогенных АК) или в кетонные тела (для кетогенных АК).



Трансаминирование —

перенос α -аминогруппы АК на универсальный акцептор — α -кетоглутаровую кислоту с образованием «царицы» аминокислотного обмена — глутаминовой кислоты Глу.

Эту обратимую реакцию катализирует, например, аланин-аминотрансфераза (АЛТ), полное название: аланин- α -кетоглутаратаминотрансфераза (по прямой реакции).



Аминотрансферазы — сложные белки с коферментом пиридоксаль-фосфатом (B_6), который связан с апоферментом ковалентной альдиминной связью. Обладают абсолютной субстратной специфичностью к АК, кроме Лиз, Тре, Про, которые распадаются другими путями.

Два органоспецифических фермента АЛТ и АСТ:

- 1) цитозольная АЛТ специфична и наиболее активна в печени; при болезнях печени (гепатиты) активность АЛТ повышается уже на ранней безжелтушной стадии с максимумом на 6–10 день;
- 2) при инфаркте миокарда митохондриальный изофермент аспартат-аминотрансферазы (АСТ) и цитозольный изофермент выходят из миокарда в кровь уже на 4–6 часу острой стадии; увеличение в крови концентрации АСТ продолжается 3–5 суток.

Дезаминирование АК —

процесс потери аминокислотой своей α -аминогруппы в матриксе митохондрий с превращением аминогруппы в свободный аммиак NH_3 .

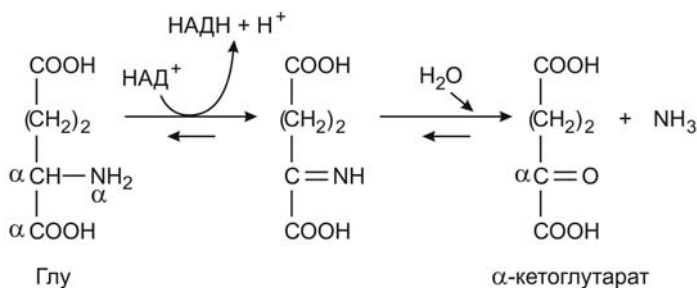
Два типа дезаминирования

I. Прямое дезаминирование — это реакции освобождения аммиака с одним ферментом и без участия других молекул-посредников:

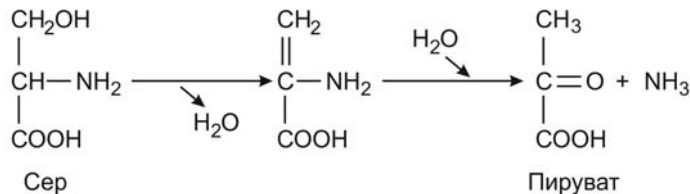


По характеру химической реакции прямое дезаминирование бывает окислительным и неокислительным.

Прямое окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты. Фермент 1-й реакции — митохондриальная глутаматдегидрогеназа (Ко-НАД⁺); аллостерические ингибиторы — НАДН, АТФ; активатор — АДФ; индуктор — кортизол.



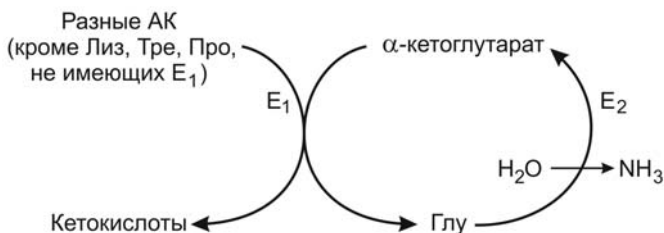
Прямое неокислительное дезаминирование серина. Фермент для Сер и Тре — серинтреониндегидратаза катализирует 1-ю реакцию, 2-я реакция протекает неферментативно.



II. Непрямое дезаминирование аминокислот. Два этапа с ферментами E₁ (аминотрансферазы) и E₂ (глутаматдегидрогеназа), посредники — α-кетоглутарат и глутаминовая кислота:



Общая схема непрямого дезаминирования аминокислот (E_1 — аминотрансферазы, E_2 — глутаматдегидрогеназа)



В заключение перечислю основные классические типы дезаминирования АК:

прямое — для Глу, Сер, Тре, Гис;

прямое и непрямо — для Сер, Гис, Глу;

непрямое — для многих АК, кроме Лиз, Тре, Про, катаболизм которых происходит другими способами.

В мышечной ткани глутаматдегидрогеназа E_2 имеет низкую активность, поэтому в мышцах непрямо дезаминирование более сложное: АК \rightarrow Глу \rightarrow Асп \rightarrow АМФ \rightarrow NH_3 с участием на последнем этапе АМФ-деаминазы.

Схема общего катаболизма АК



Обмен аммиака. Биосинтез мочевины и заменимых аминокислот

Источники аммиака в организме человека — катаболизм (дезаминирование):

- аминокислот;
- нуклеиновых кислот и нуклеотидов;
- биогенных аминов (гормонов, медиаторов);
- АК белков в толстом кишечнике при участии микрофлоры.

Механизмы токсичности аммиака

Аммиак находится в органах и жидкостях в виде молекулы NH_3 или иона аммония NH_4^+ .

Концентрация в крови здорового человека 0,4–0,7 мг/л или 25–40 мкмоль/л. Превышение этого порога вызывает проявление токсических свойств аммиака.

Механизмы токсичности:

- 1) создание алкалоза, приводящего к изменению метаболизма, в частности к увеличению сродства Hb к кислороду и к гипоксии, к нарушению работы многих ферментов:



- 2) ион аммония нарушает передачу нервных импульсов;
- 3) аммиак ускоряет реакции восстановительного аминирования кетокислот (КК)

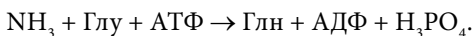


с вредными последствиями:

- уменьшается количество КК и нарушается цитратный цикл и синтез АТФ;
- нарушаются основные пути катаболизма АК и биогенных аминов (гормонов, медиаторов);



- 4) аммиак ускоряет следующую реакцию и увеличивает в тканях количество глутамина (Глн):



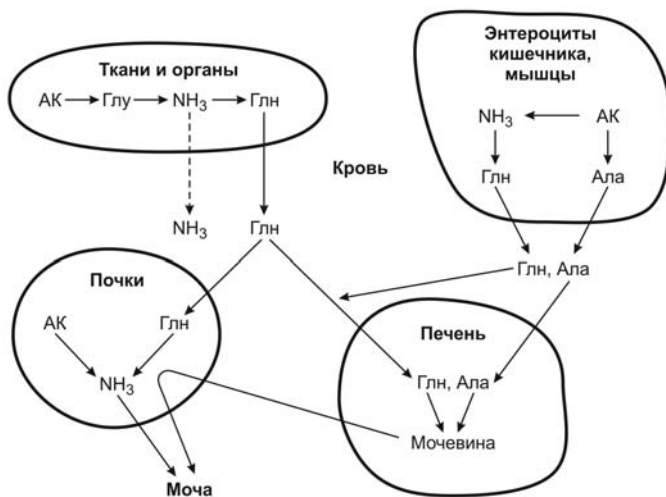
Глн необходим для синтеза белков и транспортировки аммиака в печень и почки, но при избытке в клетках (нейронах) он вызывает диффузию воды (на себя) и отек нейронов. В результате реакции уменьшается также количество Глу и соответственно синтез из Глу тормозного медиатора γ -аминомасляной кислоты.

Механизмы обезвреживания токсического аммиака:

- 1) связывание аммиака и синтез Глн, расходуемого для образования белков, — во всех органах;
- 2) в печени — в реакциях синтеза мочевины.

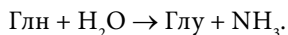
Следующая схема демонстрирует перенос аммиака по крови в составе транспортеров — Глн и Ала в печень и почки в целях синтеза в печени мочевины и выведения через почки с мочой мочевины и аммиака (в виде солей аммония). Такой механизм позволяет нейтрализовать токсическое действие аммиака на клетки и органы.

Метаболизм аммиака и АК в разных органах



Судьба аминокислотного азота в почках

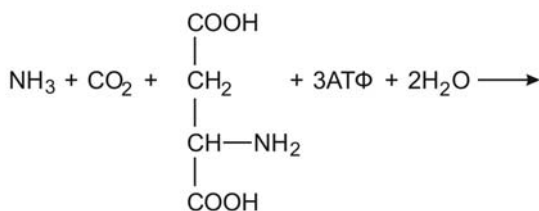
В почки поступают Глн, переносчик аммиака, а также различные метаболические кислоты (молочная, фосфорная, кетоновые тела), которые активируют фермент почек глутаминазу, катализирующую освобождение аммиака:



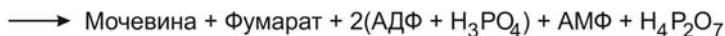
Около 30% аммиака образуется при дезаминировании своих АК в почках. Аммиак нейтрализует кислоты, соли аммония выводятся с мочой, не нарушая кислотно-щелочное равновесие организма. В этом роль NH_3 в почках. При голодании, сахарном диабете увеличивается в почках количество и кислот, и аммиака, и соответственно выводимых солей. В случае патологии (пиелонефрит, тубулопатии) уменьшается образование NH_3 , его заменяет Na и нежелательную потерю Na большой компенсирует увеличением столовой соли в рационе, что нецелесообразно.

Биосинтез мочевины обеспечивает выведение из организма 90% азота распадающихся белков и пополняет фонд частично заменимого Арг.

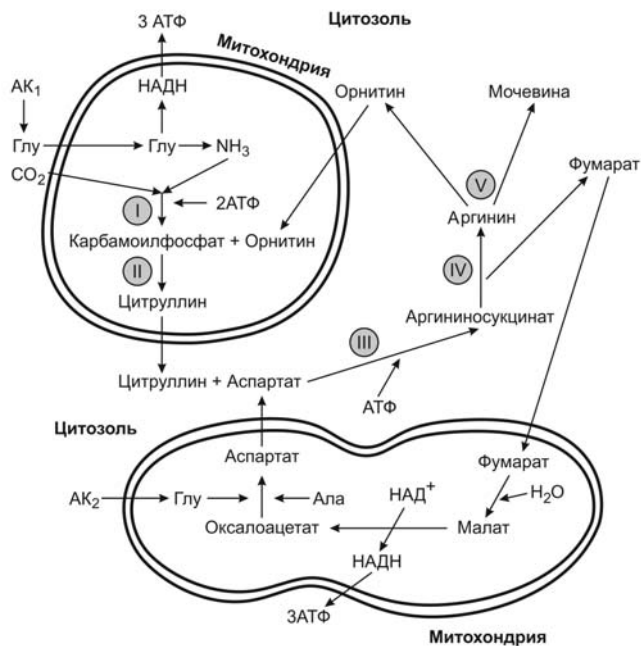
Суммарное уравнение цикла:



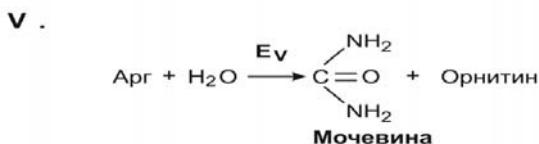
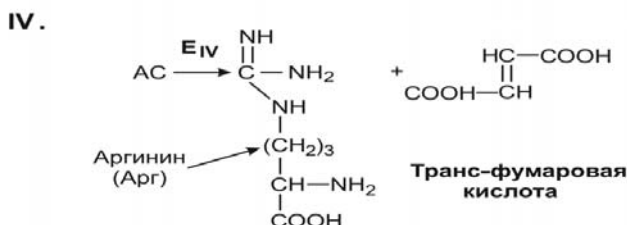
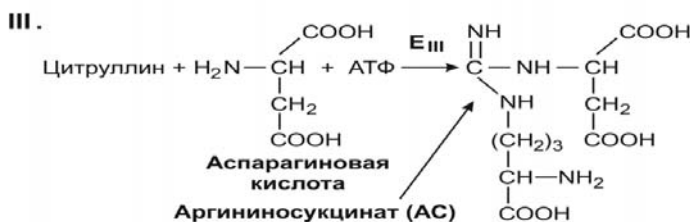
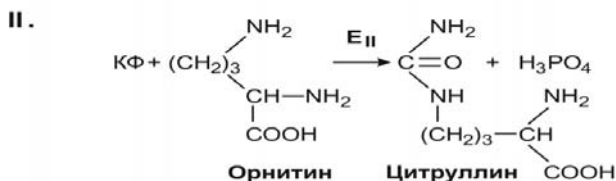
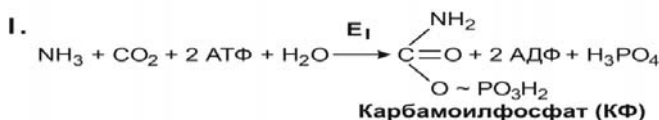
Аспарат



Орнитиновый цикл синтеза мочевины



Реакции синтеза мочевины



Ферменты орнитинового цикла:

а) митохондриальные:

 E_I — карбамоилфосфатсинтетаза I; E_{II} — орнитинкарбамоилтрансфераза;

б) цитозольные:

 E_{III} — аргининосукцинатсинтетаза; E_{IV} — аргининосукцинатлиаза; E_V — конечный фермент аргиназа.

Представленные схема и пять реакций цикла со своими ферментами показывают происхождение двух атомов азота мочевины: один — за счет аммиака, освободившегося при дезаминировании Глу, второй — за счет аминогруппы Асп (реакция III).

Энергетический баланс цикла: расходуются 3 АТФ (реакции I и III), образуются методом окислительного фосфорилирования 6 АТФ.

Регуляция: NH_3 как субстрат активирует цикл, аллостерический активатор фермента E_1 — N-ацетилглутамат, индуктор ферментов E_I , E_{II} , E_V — кортизол.

Гипераммониемии — это синдром заболеваний печени, связанных с нарушением орнитинового цикла, с уменьшением синтеза мочевины и с увеличением в организме аммиака, который поражает нервную и другие системы. Первичные гипераммониемии возникают при мутациях генов ферментов цикла, вторичные — связаны с гепатитами разного генеза (вирусы, алкоголь, ксенобиотики).

Профилактика и лечение гипераммониемий

1. Ограничение пищевого белка.
2. Лекарства — кетоаналоги незаменимых аминокислот; метаболиты орнитинового цикла, в частности — гепамерц (комплекс орнитина и аспартата); фенилацетат и бензоат, связывающие и удаляющие с мочой эндогенные Глн и Гли, для регенерации которых используется организмом избыточный аммиак.

Для понимания, диагностики и лечения патологии **азотистого обмена** человека надо знать качественный и количественный состав азотистых веществ крови и мочи. В комплексе небелковых азотистых веществ крови («остаточный азот») мочевины составляет в норме не более 50% и увеличение этого показателя до 80–90% свидетельствует об уремии с плохим прогнозом. В моче здорового человека азот мочевины составляет 90% от всех азотистых веществ мочи («общий азот»).



Содержание мочевины и небелкового азота в крови и моче в норме и при патологии

Сыворотка крови	Моча
<i>Нормы мочевины</i>	
15–50 мг/дл 2,5–8,3 ммоль/л	20–35 г/сут 330–580 ммоль/сут
<i>Норма остаточного азота</i>	<i>Норма общего азота</i>
20–40 мг/дл; 14–29 ммоль/л	9–16 г/сут; 710–1070 ммоль/сут
<i>Выше нормы</i>	
Азотемия	Азотурия
1. Обогащенная белками пища 2. Сверхинтенсивная физическая работа 3. Болезни: воспаления, инфекции, ожоги, краш(сдавления)-синдром, сахарный диабет	
<i>Ниже нормы</i>	
1. Длительное голодание 2. Тяжелые болезни печени	
При хронической почечной недостаточности с нарушением выделительной функции почек	
В крови — увеличение	В моче — уменьшение

Катаболизм аминокислот и метаболизм их безазотистого остатка



Метаболизм безазотистого остатка аминокислот

После удаления из АК аминогруппы образовавшиеся кетокислоты могут превращаться в глюкозу, кетоновые тела и использоваться для синтеза АТФ. Соответствующая **4-я классификация АК** связана с характером образующихся из них продуктов при последующих реакциях:

- 1) гликогенные АК превращаются в глюкозу (14 АК);
- 2) кетогенные АК (Лиз, Лей) преобразуются в ацетоацетил-КоА (модифицированное кетоновое тело) и в ацетил-КоА;
- 3) смешанные или гликокетогенные АК (Фен, Тир, Три, Иле) превращаются в глюкозу и в ацетил-КоА, но за счет разных своих атомов.

Синтез заменимых АК

Единственный источник углеродных атомов для этих синтезов — **глюкоза**.

Например:

глюкоза → пируват → Глу → Глн;

глюкоза → пируват + Глу → Ала;

глюкоза → пируват → оксалоацетат → Асп.



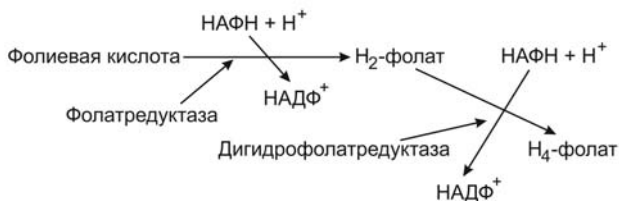
Обмен алифатических, ароматических и гетероциклических аминокислот

Обмен некоторых алифатических АК связан с переносом одноуглеродных фрагментов при участии трансфераз с коферментами — производными фолиевой кислоты.

Из витамина — фолиевой кислоты образуется базовый кофермент H_4 -фолат ($\text{H}_4\text{ф}$) в реакциях, катализируемых НАДФН-редуктазами (схема). Далее на основе $\text{H}_4\text{ф}$ формируются частные рабочие коферменты для разных трансфераз и синтаз, участвующих в реакциях метаболизма глицина (Гли), серина (Сер), метионина (Мет), гистидина (Гис), пуриновых нуклеотидов и дТМФ, с последующим синтезом белков и нуклеиновых кислот.

Конкурентные ингибиторы дигидрофолатредуктазы как противоопухолевые препараты (метотрексат, аминоптерин) тормозят все эти процессы и размножение клеток человека. Соответствующее антибактериальное лекарство — триметоприм.

Образование базовых коферментов фолиевой кислоты



Рабочие коферменты фолиевой кислоты, содержащие одноуглеродные фрагменты

Формулы	$\text{CH}_3 - \text{H}_4\text{Ф}$	$-\text{CH}_2 - \text{H}_4\text{Ф}$	$=\text{CH} - \text{H}_4\text{Ф}$	$\text{O}=\overset{\text{H}}{\text{C}} - \text{H}_4\text{Ф}$
Название	метил- H_4 - фолат ↓	метилен- H_4 - фолат ↓	метенил- H_4 - фолат ↓	формил- H_4 - фолат ↓
Роль в обмене	Мет	Сер, Гли, ДТМФ	Пуриновые	нуклеотиды

Метаболизм серина (Сер)

Синтез:

- 1) глюкоза \rightarrow 3-фосфоглицерат \rightarrow 3-фосфогидроксипироват \rightarrow 3-фосфосерин \rightarrow серин;
- 2) гли + H_2O + 5,10-метилен- H_4 -фолат \rightarrow серин + H_4 -фолат.

Распад:

- 1) в указанной выше обратимой реакции 2, идущей справа налево;
- 2) в реакциях прямого и непрямого дезаминирования без образования одноуглеродных фрагментов.

Метаболизм глицина

Синтез:

- 1) из серина в указанной выше реакции, идущей справа налево;
- 2) из аммиака и углекислоты в обратимой реакции



Распад: в указанной выше обратимой реакции, идущей справа налево, т.е. в реакции прямого дезаминирования Гли с коферментами $\text{НАД}^+(\text{PP})$, пиридоксальфосфатом (B_6) и липоевой кислотой.

Метаболизм серосодержащих метионина и серина

Мет —незаменимая АК, не синтезируемая в организме. Однако возможна ее регенерация из гомоцистеина. Цис может синтезироваться из Сер и незаменимого Мет-донора серы, т.е. Цис — условно заменимая АК.

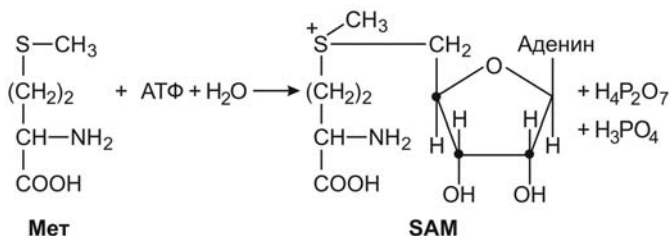
Функции Мет: входит в состав белка, инициирует синтез белка, донор серы для Цис, донор метильной группы для синтеза и инактивации ряда соединений, как гликогенная АК — субстрат для синтеза глюкозы.



Функции Цис: компонент белка, образует в нем дисульфидные и водородные связи, участвует своей сульфгидрильной (тиольной) группой в формировании активного центра ферментов, гликогенная АК.

Для изучения биосинтеза белка широко использовался в биохимии метод включения меченных изотопами аминокислот в белки на основе допущения, что эти аминокислоты в эксперименте всегда образуют пептидную связь с белком. Однако нами было доказано, что часть аминокислот включается за счет адсорбционных (гидрофобных) и дисульфидных связей, что искажает научные результаты. Были определены условия и разработан корректный метод изучения включения в белки метионина- S^{35} только пептидной связью (Зезеров Е.Г. // Биохимия. — 1960. — Т. 25, №4. — С. 727–734).

Метионин как донор метильной группы требует предварительной энергетической активации с образованием S-аденозилметионина (SAM). Реакцию катализирует метионинаденозилтрансфераза.



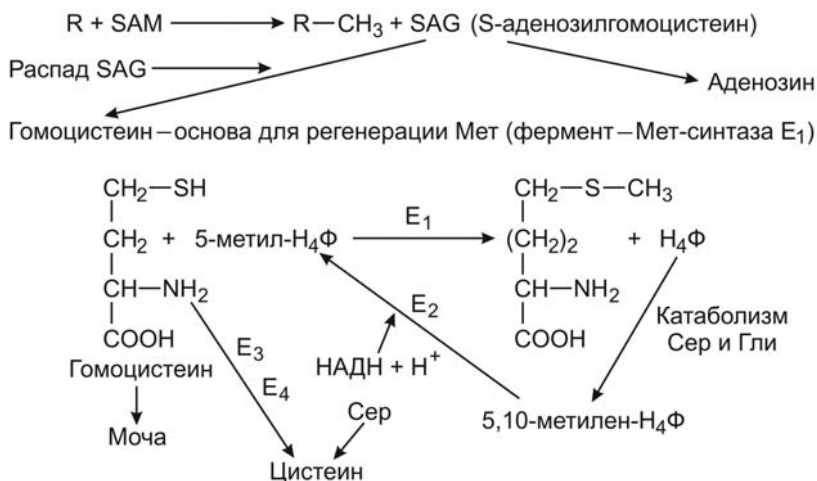
SAM метилирует многие субстраты, лекарства, биосоединения с их активацией или инактивацией.

1. SAM участвует в синтезе фосфолипидов (фосфатидилхолина) — важных компонентов ЛОП, которые уносят из печени жиры. Поэтому SAM в виде лекарства гептрал назначают для уменьшения патологического ожирения печени.

2. Расход SAM приводит к дефициту незаменимого Мет, этот дефицит компенсируется пищевыми белками и регенерацией Мет из гомоцистеина с участием метионинсинтазы E_1 с коферментами 5-метил- H_4 -фолатом и метилкобаламином (на основе витамина B_{12} с кобальтом).



Трансметилирование за счет метионина, регенерация метионина и синтез цистеина:



3. Эти реакции требуют постоянного поступления одноуглеродных фрагментов за счет распада Сер и Гли при участии редуктазы E_2 (НАДН), а также коферментов на основе витаминов B_6 , B_{12} , РР и фолиевой кислоты. При недостатке этих витаминов или активности ряда ферментов возникает патология.

4. Гомоцистеин как донор серы превращает Сер в Цис в двух реакциях с ферментами E_3 и E_4 (кофермент пиридоксальфосфат).

5. Часть гомоцистеина удаляется с мочой, что также дополнительно требует поступления в организм пищевого Мет.

Патология обмена Мет и Цис

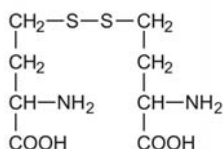
1. При недостатке вышеперечисленных витаминов, коферментов, и особенно пиридоксальфосфата (B_6), уменьшается синтез Цис, накапливается гомоцистеин (гомоцистеинемия) и его димер гомоцистин (гомоцистинурия). Такое нарушение обмена серосодержащих АК приводит к умственной отсталости, катаракте, повреждению эндотелия,



тромбообразованию и к атеросклерозу. Гомоцистеин при концентрации более 5–15 мкмоль/л — один из факторов риска атеросклероза.

2. Макроцитарные анемии (мало больших по размеру эритроцитов) возникают при недостатке витамина В₁₂ или фолиевой кислоты.

Гомоцистин — димер гомоцистеина



Реакции трансметилирования при участии SAM

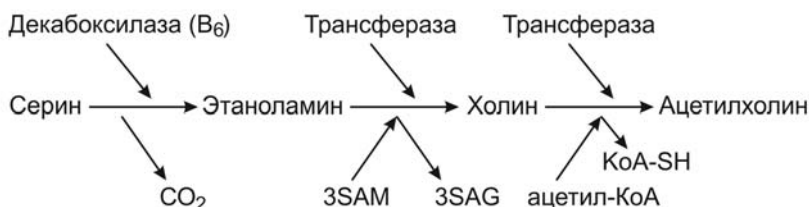
1. Синтез адреналина из медиатора симпатической трансмиссии норадреналина.

2. Синтез фосфатидилхолина и медиатора парасимпатической трансмиссии ацетилхолина.

3. Система креатин–креатинин и ее медико-биологическая роль (схема):

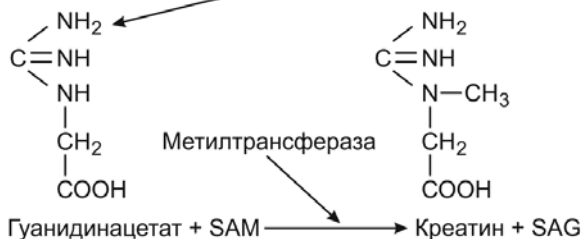
- креатинфосфат — запасная форма химической энергии в мышцах наряду с АТФ;
- уровень креатинкиназы крови — маркер инфаркта миокарда;
- креатинин в почках только фильтруется, но не реабсорбируется и поэтому используется для расчета коэффициента «очищения» крови (клиренса);
- креатинин удаляет с мочой часть азота белков.

Синтез ацетилхолина



Синтез креатина и креатинина

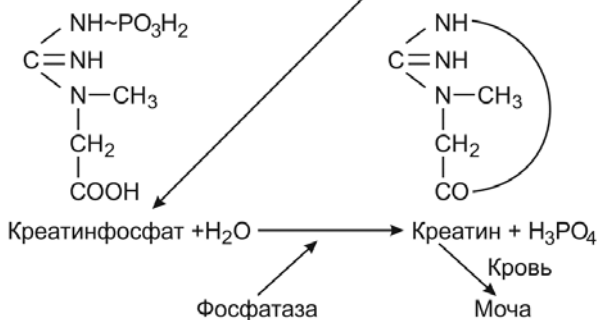
- Катаболизм тканевых белков
- В почках: Арг + Гли \rightarrow орнитин + гуанидинацетат
- В печени:



- В мышцах: Креатин + АТФ \rightleftharpoons Креатинфосфат + АДФ

Креатинкиназа

- В мышцах:



Содержание креатина и креатинина в сыворотке крови и моче человека в норме и при патологии

Норма					
Показатель		кровь		моча	
		мг/дл	мкмоль/л	г/сут	ммоль/сут
Креатин	жен.	—	27–71	—	0–0,6
	муж.	—	13–53	—	0–0,3
Креатинин	жен.	0,5–1,1	44–97	0,8–1,6	7,1–15,9
	муж.	0,7–1,4	62–124	1,0–2,0	8,8–17,7
Патология					
		креатин		креатинин	
		кровь	моча	кровь	моча
Обильная мясная пища, интенсивный распад белков (ожоги, некрозы мышц, инфекции, сахарный диабет, лучевая болезнь, краш-синдром или сдавление тканей)		↑	↑	↑↑↑	↑↑↑
Болезни мышц (миастении, дистрофии) с повреждением креатинкиназы		↑	↑↑	↓	↓
Болезни почек с нарушением клубочковой фильтрации		—	—	↑↑	↓

Примечание. Стрелки обозначают увеличение или уменьшение концентрации указанных соединений соответственно.

Лекарства, связанные с обменом фолиевой кислоты (схема)

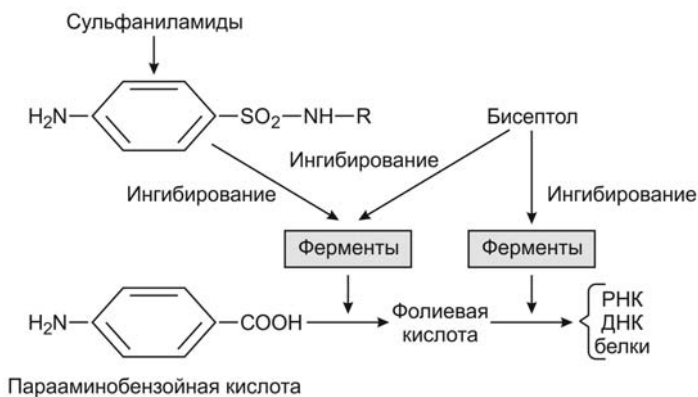
1. Некоторые противоопухолевые и антибактериальные лекарства рассмотрены выше.

2. Сульфаниламиды как аналоги парааминобензойной кислоты являются конкурентными ингибиторами ферментов синтеза фолиевой кислоты у бактерий и поэтому останавливают у них синтез нуклеотидов, АК, РНК, ДНК, белков и соответственно размножение самих бактерий.

3. Комбинированный препарат бисептол, угнетающий образование и фолата, и H_4 -фолата в разных точках метаболизма, более эффективен.

Механизмы противобактериальной активности сульфаниламидов и бисептола (сульфаниламид + триметоприм):



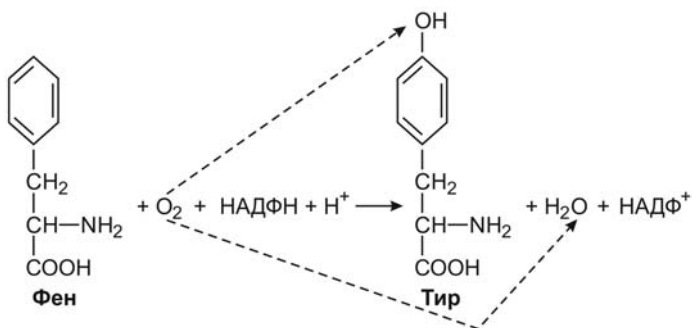


Фенилаланин (Фен) и тирозин (Тир)

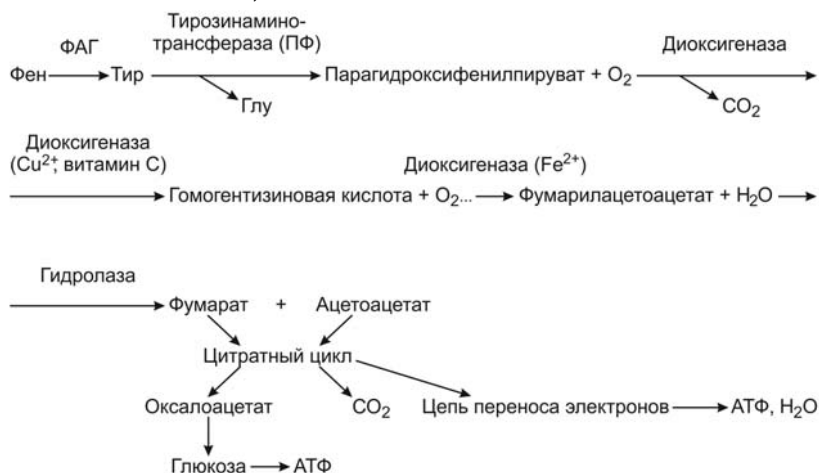
Из незаменимой аминокислоты Фен синтезируется условно заменимый Тир в реакции, катализируемой фенилаланингидроксилазой (ФАГ) — сложным белком с кофакторами НАДФН, Fe^{2+} , тетрагидробиоптерин (Н₄Бп).

Катаболизм Фен и Тир заканчивается образованием глюкозы и кетонных тел, т.е. эти АК являются гликокетогенными.

Фенилаланин — предшественник тирозина, фермент — фенилаланингидроксилаза (ФАГ)



Катаболизм и дальнейшие превращения фенилаланина и тирозина (гликокетогенные АК)

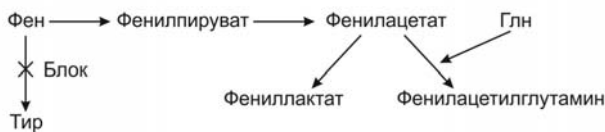


Патология обмена Фен и Тир

I. Фенилкетонурия (ФКУ) детей

ФАГ кодируют ген апофермента и гены ферментов синтеза $H_4Бп$. При рецессивных мутациях этих генов развиваются соответственно классическая ФКУ с накоплением Фен и дефицитом Тир и более редкая, но более тяжелая коферментная ФКУ **с нарушением обмена** Фен, Тир, Три. В обоих случаях Фен не может катаболизироваться через Тир и избыток Фен превращается в «фениловые» кислоты (фенилпируват и др.), которые нарушают миелинизацию аксонов нейронов и вызывают энцефалопатию. Кроме того, избыток Фен мешает поступлению в мозг Тир и Три и образованию из них медиаторов и гормонов, особенно тормозного медиатора — дофамина.

Образование токсических продуктов при фенилкетонурии, нарушающих миелинизацию оболочки аксонов нейронов



Ранние симптомы ФКУ у новорожденных: гиперрефлексия, судорожный синдром, «мышинный» запах «фениловых» кислот. При невыполненной ранней диагностике ФКУ (по приказу министра здравоохранения РФ) и отсут-

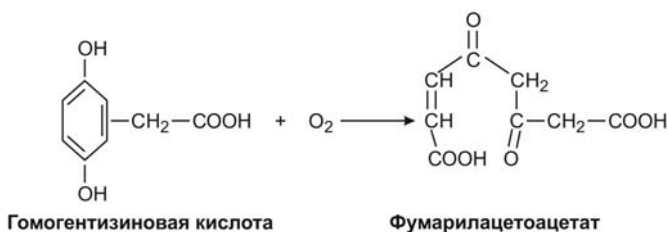


ствии лечения через несколько лет развивается энцефалопатия. Признаки ФКУ новорожденных: повышенная концентрация в крови Фен (норма 1–2 мг/дл) и появление фенилпировата в моче.

II. Первый путь метаболизма Тир — катаболизм (схема выше), при нарушении которого возникает заболевание — охроноз (синдром алкаптонурии). Причина — мутационный дефект диоксигеназы гомогентизиновой кислоты с накоплением в тканях этой кислоты, которая окисляется в органах, вызывает их повреждения (артриты) и превращается в черные алкаптоны. Окрашивается также моча после распада в ней мочевины (бактериальные ферменты) и после окисления в щелочной среде бесцветной гомогентизиновой кислоты.

При синдроме алкаптонурии (болезнь охроноз) имеется мутационный дефицит активности фермента представленной ниже реакции — диоксигеназы гомогентизиновой кислоты.

Выделим эту реакцию, связанную с патологией:



III. Второй путь метаболизма тирозина — синтез катехоламинов:
ТИР — ДОФА — ...

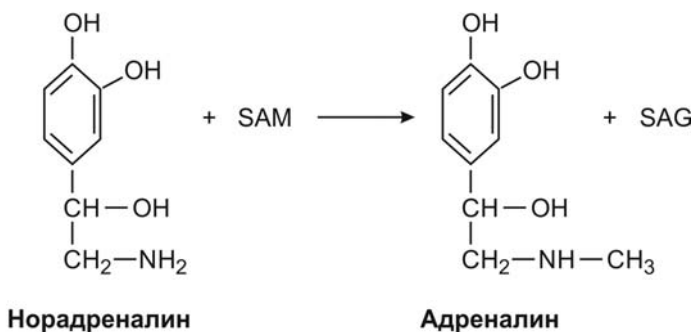


является тормозным медиатором
средних отделов головного мозга
(нейронов черной субстанции)

возбуждающий
медиатор симпатических
синапсов в нервной системе



Реакция в надпочечниках с участием метилтрансферазы:



Патология, связанная с катехоламинами

1. Феохромоцитома и феохромобластома с увеличенной продукцией норадреналина и адреналина опухолями мозгового вещества надпочечников (см. лекцию №19).

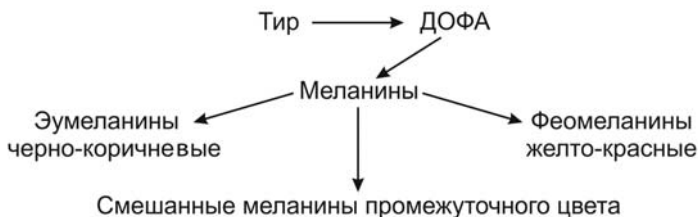
2. При депрессивных состояниях психогенного характера и у хронического алкоголика — недостаток норадреналина.

3. Шизофрения — характерен избыток дофамина в височной доле мозга.

4. Недостаток дофамина (тормозного медиатора) в черной субстанции мозга вызывает появление болезни Паркинсона. Принцип лечения болезни — увеличить количество дофамина с помощью:

- лекарств — предшественников (субстратов) синтеза дофамина;
- витамина B₆, из которого образуется кофермент для ДОФА-декарбоксилазы, катализирующей образование дофамина (см. схему);
- ингибиторов моноаминооксидазы (МАО), катализирующей окислительный распад дофамина.

IV. Третий путь метаболизма Тир — синтез меланинов



Меланины защищают кожу и глазное дно от солнечных лучей. При недостатке меланоцитов или активности тирозиназы (или тирозингидроксилазы) возникают заболевания — альбинизм и витилиго.

Последующие пути метаболизма Тир — синтез гормонов щитовидной железы — йодтиронинов, образование глюкозы и кетонových тел и, наконец, участие в синтезе белков в качестве кодируемых аминокислот.

Биогенные амины R-NH₂

Образуются из АК в результате декарбоксилирования (ферменты декарбоксилазы с кофактором ПФ, производным витамина B₆).

Общие свойства биогенных аминов:

- 1) обладают свободной аминогруппой;
- 2) обладают краткосрочной биологической активностью (нейромедиаторы, гормоны).

Перечень биогенных аминов

1. Дофамин.
2. Норадреналин.
3. Адреналин с метилированной аминогруппой.
4. Ацетилхолин с метилированной аминогруппой.
5. Гамма-аминомасляная кислота — тормозный медиатор, лекарство — пираретам.
6. Серотонин — нейромедиатор, или гормон «счастья», у здоровых людей; в большой концентрации вызывает белую горячку у алкоголиков.
7. Полиамины на основе Арг и Лиз.
8. Карнозин и анзерин — имидазольные (гистидиновые) дипептиды.
9. Гистамин образуется в тучных клетках и базофилах при декарбоксилировании гистидина (Гис) и обладает множественными физиологическими и патологическими функциями:
 - стимулирует секрецию желудочного сока и слюны;
 - нейромедиатор, влияет на тонус гладкой мускулатуры;
 - вызывает спазмы дыхательной мускулатуры;
 - индуцирует воспалительную реакцию;
 - повышает проницаемость капилляров и вызывает появление отеков;
 - индуцирует аллергическую системную реакцию немедленного типа — анафилаксию (гипоксия, асфиксия, конвульсии, коллапс).

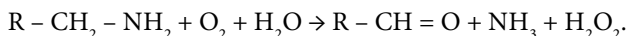


Эффекты гистамина являются краткосрочными, как и эффекты других биогенных аминов.

Достигается это двумя путями их инактивации.

1. Метилирование биогенных аминов, катализируемое метилтрансферазами с донором метильной группы SAM.

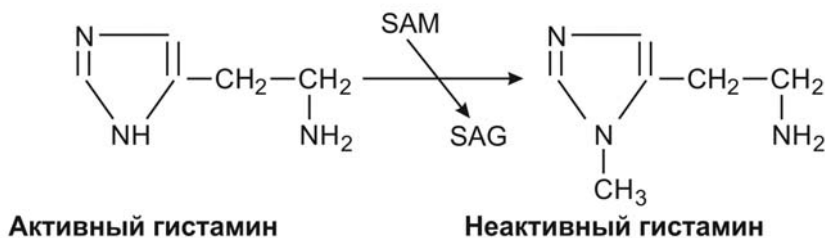
2. Второй путь — окислительное дезаминирование с участием моноаминоксидазы (MAO, кофакторы ФАД и 4Cu^{2+}):



Образовавшийся альдегид превращается далее в кислоту (фермент — альдегидоксидаза с ФАД), которая в виде солей аммония удаляется с мочой.

Напротив, некоторые лекарства могут продлить жизнеспособность биогенных аминов: ингибиторы MAO (антидепрессанты) замедляют их распад, что необходимо для лечения болезни Паркинсона, депрессий психиатрического и алкогольного происхождения.

Инактивация биогенных аминов метилированием с помощью SAM

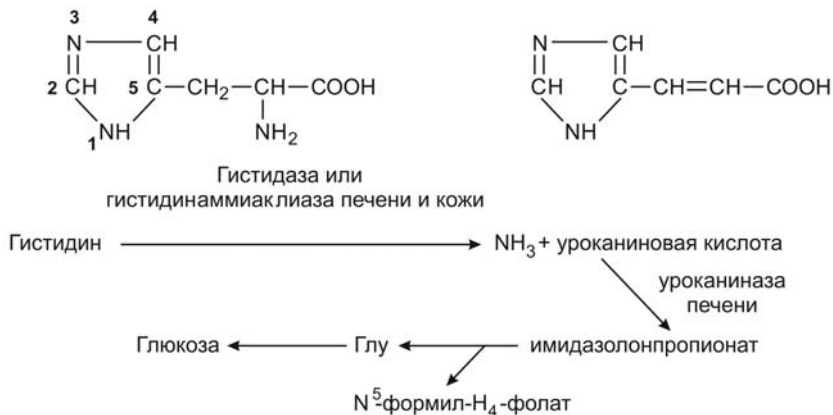


Сотрудники кафедры биохимии Первого МГМУ (ММА) им. И.М. Сеченова (Мардашев С.Р., Буробин В.А., Лихачева Н.В., Осипов Е.В., Корлякова О.В.) подробно изучали обмен аминокислоты гистидина и ее производного гистамина. Гистидин, частично заменимая гликогенная аминокислота, может дезаминироваться двумя путями:

- 1) путем непрямого дезаминирования, как и другие АК;
- 2) путем прямого дезаминирования с образованием аммиака, глюкозы и одноуглеродного фрагмента.



Метаболизм гистидина. Фермент 1-й реакции — гистидаза является органоспецифическим ферментом печени и рекомендован для энзимодиагностики.



Нуклеотиды.

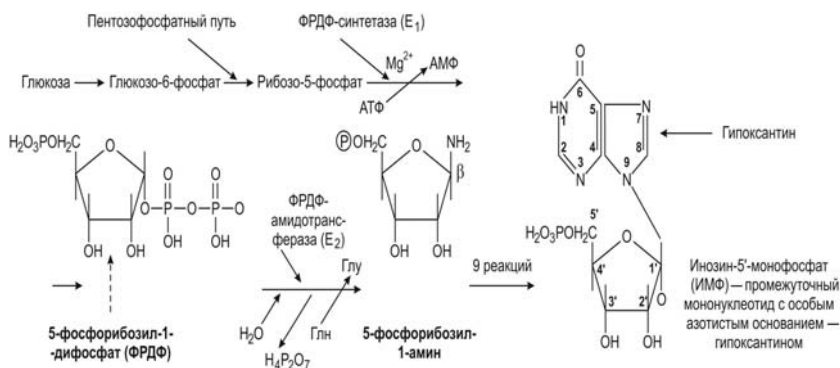
Метаболизм пуриновых нуклеотидов

(первая Нобелевская премия в области биохимии — 1902 г.)

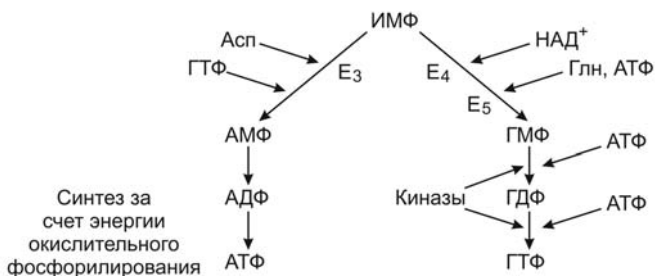
Пища содержит нуклеопротеины. В желудке происходит их денатурация при участии соляной кислоты, в тонком кишечнике панкреатические ДНКазы и РНКазы расщепляют нуклеиновые кислоты до олиго- и динуклеотидов, фосфодиэстеразы энтероцитов и панкреас — до моонуклеотидов, а кишечные нуклеотидазы (фосфатазы) — до нуклеозидов. Последние всасываются в стенку кишечника, вступают в разные реакции, превращаясь в том числе в мочевую кислоту, которая является конечным продуктом катаболизма пуриновых нуклеотидов и удаляется с мочой.

Синтез нуклеотидов из глюкозы происходит во многих клетках, но особенно интенсивно в печени.

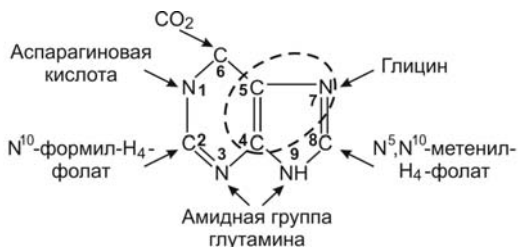
Реакции синтеза базового пуринового нуклеотида — инозин-5'-монофосфата (ИМФ)



Превращение ИМФ в АТФ и ГТФ



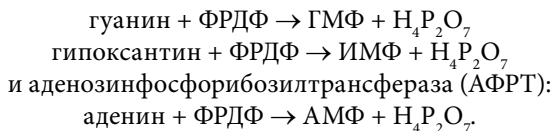
Источники и предшественники атомов пуринового гетероцикла

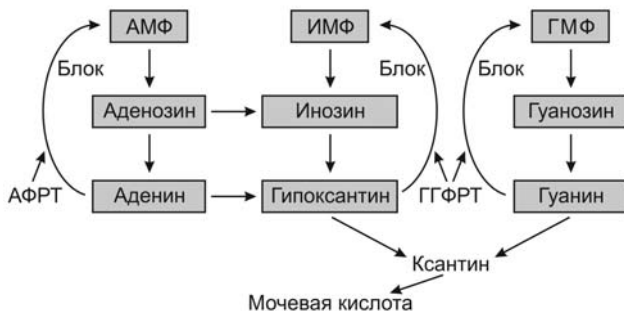
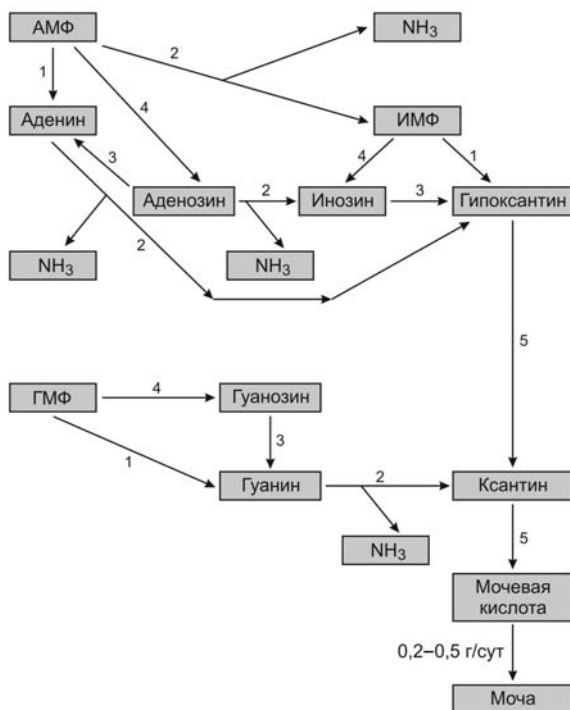


Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов происходит аллостерическим способом

Одновременный избыток АМФ и ГМФ ингибирует регуляторные ферменты E₁, E₂ и др. (см. схемы). Активаторы: рибозо-5-фосфат для E₁, фосфорибозилдифосфат (ФРДФ) и пиримидиновые нуклеотиды ЦТФ и УТФ — для E₂. Такая координация запасаания обоих типов нуклеотидов обеспечивает нормальный синтез ДНК и РНК. Бензбромарон (лекарство для лечения подагры) — ингибитор E₁.

Кроме представленного основного пути синтеза пуринов *de novo* имеются дополнительные способы. Один из них (в нейронах и других клетках) — «путь спасения» от избытка свободных азотистых оснований способом их реутилизации (см. ниже схему). Реакции этого пути катализируют ферменты гуанин-гипоксантинфосфорибозилтрансфераза (ГГФРТФ):



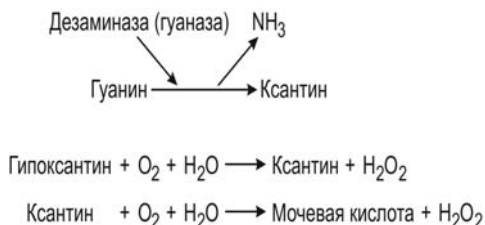
Запасной путь синтеза пуриновых нуклеотидов («путь спасения»)**Катаболизм пуриновых нуклеотидов**

Ферменты катаболизма пуринов (дополнение к схеме):

1 — β -гликозидаза; 2 — дезаминаза (гуаназа); 3 — пуринноуклеозидфосфорилаза; 4 — нуклеотидаза (фосфатаза); 5 — ксантиноксидаза.



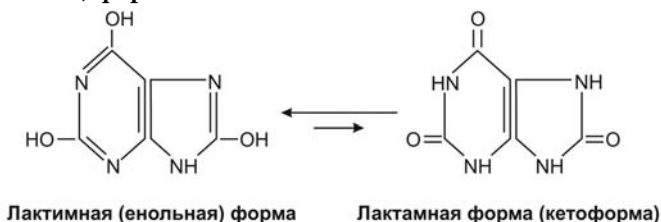
Заключительные этапы катаболизма пуринов — образование мочевой кислоты. Последние две реакции катализирует ксантиноксидаза — олигомер из двух цепей с кофакторами ФАД, Mo^{2+} , Fe^{3+} .



Мочевая кислота — конечный продукт распада пищевых и эндогенных пуриновых нуклеотидов.

Слабая двухосновная кислота, плохо растворимая в жидкостях человека при ацидозе и пониженной температуре (в стопах). При концентрации более 6–7 мг/дл образует камни в мелких суставах, почках и других тканях с воспалением, активацией фагоцитоза уратных кристаллов и с образованием болезненных тофусов. Мочевая кислота удаляется с мочой, в которой она лучше растворима до 15 мг/дл.

Два таутомерных изомера мочевой кислоты с преобладанием лактимной (енольной) формы.



Диапазон содержания мочевой кислоты в сыворотке крови здоровых людей. Для мужчин характерна более высокая концентрация из-за большей клеточно-мышечной массы тела.

	мг/дл	ммоль/л
Мужчины	3,6–7,1	0,21–0,42
Женщины до менопаузы	2,6–6,0	0,15–0,35



Патология

Синдром гиперурикемии, увеличения содержания мочевой кислоты в организме. Причины следующие.

1. Болезни почек (воспаления, сахарный диабет, повреждения лекарствами) с нарушением выведения мочевой кислоты.
2. Повышение содержания пуринов в организме:
 - некорректное питание;
 - распад тканей (нуклеиновых кислот) при патологии;
 - мутации генов ферментов синтеза нуклеотидов с повышением активности или с потерей ими способности к ретроингибированию пуринами.
3. Мутации ферментов «пути спасения» и блок ГГФРТ–АФРТ (см. схему выше) — пурины избыточно превращаются в мочевую кислоту.

Гиперурикемия вызывает следующие заболевания.

1. Мочекислый нефролитиаз (уратные камни в мочевых путях).
2. Классическая подагра — «болезнь благородная» по Н.А. Некрасову, или «капкан для ног»; мужчины болеют в 20 раз чаще женщин;
 - вторичная подагра, или болезнь Гирке, — вследствие мутации гена фосфатазы глюкозо-6-фосфата с увеличением образования пентоз, пуринов и мочевой кислоты.
3. Болезнь Леша–Нихана у мальчиков при полной блокаде ГГФРТ (ген в X-хромосоме) и «пути спасения», который является практически единственным способом синтеза пуринов в нервной системе. Симптомы: умственная отсталость, агрессивность, параличи, поражение суставов.

Принцип лечения подагры — устранить гиперурикемию:

- диета, щелочные воды;
- противовоспалительные средства и колхицин, тормозящий фагоцитоз;
- аллопуринол, во-первых, как аналог гипоксантина, конкурентно ингибирует ксантиноксидазу и, во-вторых, как азотистое основание превращается в аномальный пуриновый нуклеотид, угнетающий ФРДФ-синтетазу E_1 и синтез пуринов;
- алломарон — комбинация аллопуринола и бензбромарона (ингибитора E_1).

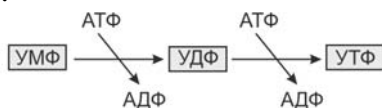
В заключение — миф или правда генетиков, которые считают, что мочевая кислота стимулирует работу мозга человека, и подтверждают этот научно не доказанный биохимиками тезис ссылками на биографии болевших подагрой личностей — Колумб, Годунов, Микеланджело, Лютер, Рубенс, Рембрандт, Тургенев, Бетховен, Мопассан, Стендаль, Ренуар.



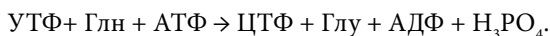
Пиримидиновые нуклеотиды. Дезоксирибонуклеотиды

Биосинтез пиримидинов, как и пуринов, происходит из глюкозы и ее метаболитов. На схеме (стр. 221) представлены шесть основных реакций, из них реакция № 4 идет в митохондриях, остальные — в цитозоле. Первые три реакции катализирует полифункциональный регуляторный КАД-фермент, имеющий три активных центра $E_{1,2,3}$. Реакции № 5, 6 ускоряет другой полифункциональный белок — УМФ-синтаза. В итоге образуется УМФ.

Образование других урациловых нуклеотидов при участии АТФ и ферментов киназ:



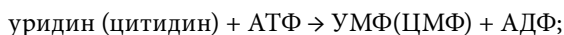
Второй пиримидин формируется из УТФ в реакции, катализируемой ЦТФ-синтетазой:



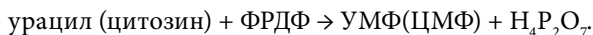
Регуляция синтеза: избыток УМФ, ЦТФ аллостерически ингибирует КАД-фермент, а избыток пуринового нуклеотида АТФ и ФРДФ его активирует (для более глубокого понимания рекомендую вспомнить регуляцию синтеза пуринов). Такая координация необходима для нормальной транскрипции и репликации.

Запасные пути синтеза пиримидиновых нуклеотидов:

- 1) синтез из пиримидиновых нуклеозидов, катализируемый уридинцитидинкиназой:

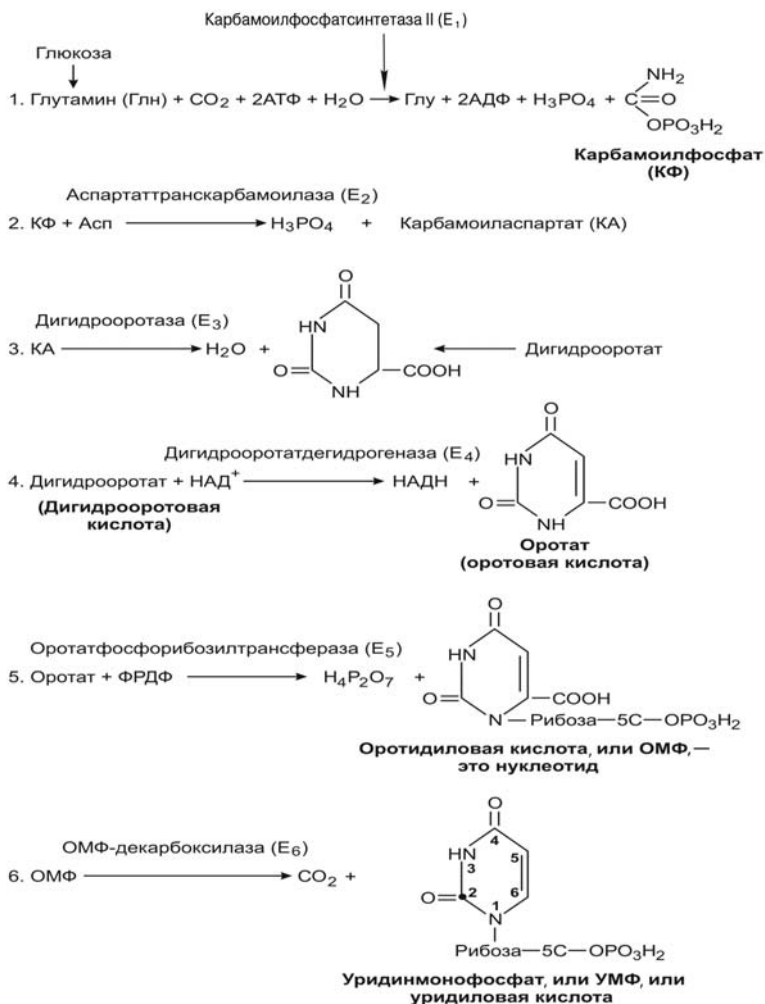


- 2) синтез из свободных пириимидиновых оснований, как и в случае пуринов:



Фермент для этой реакции — трансфераза.

Биосинтез базового пириимидинового нуклеотида — УМФ

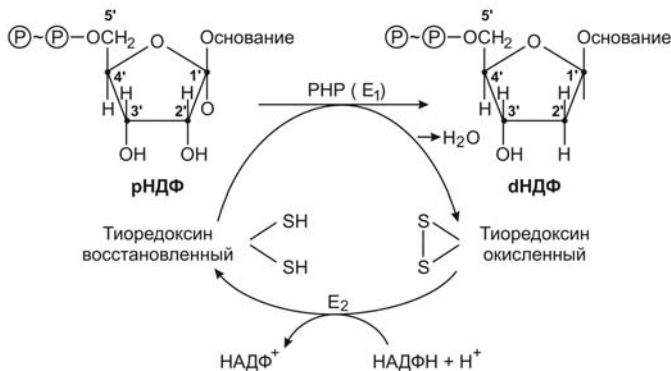


Патология

При различных мутациях гена УМФ-синтазы уменьшается образование пиримидиновых нуклеотидов и соответственно синтез нуклеиновых кислот и белков, а также замедляется размножение клеток. Это синдром оратацидурии: блок реакций E_5 и E_6 приводит к накоплению оротовой кислоты, которая в моче формирует оранжевые кристаллы и камни с болевым симптомом. Но главное — развивается анемия и инфантилизм. Лечение — пожизненное назначение препаратов уридина и цитидина.

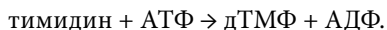
Дезоксирибонуклеотиды образуются из соответствующих рНДФ в результате восстановления 2'ОН группы в рибозе, катализируемого рибонуклеотидредуктазой (РНР- E_1) с кофактором — негемовым железом. Формируются четыре дНДФ, а из них при участии киназ — дНТФ (дАТФ, дГТФ, дЦТФ). Для образования четвертого нуклеотида, необходимого для репликации — дТТФ, предварительно дЦДФ и дУДФ трансформируются в дУМФ, который превращается в дТМФ (фермент тимидилатсинтаза E_3) и в дТТФ (фермент киназа).

Превращение рибонуклеотидов в дезоксирибонуклеотиды



Регуляторный фермент — РНР (E_1): в 1 очередь синтезируются пиримидиновые дНДФ, далее пуриновые дНДФ, а после образования дНТФ избыток последних, особенно дАТФ, аллостерически ингибирует РНР.

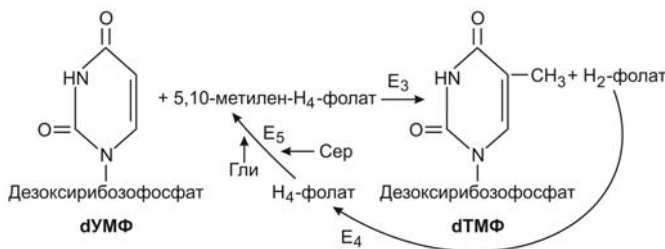
Запасной путь синтеза тимидиловых нуклеотидов из нуклеозидов с ферментом тимидинкиназой:



Аналогично дополнительно пополняется запас дЦМФ, дАМФ, дГМФ.



Синтез тимидинмонофосфата — уникального нуклеотида для ДНК

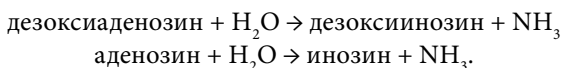


Противоопухолевые лекарства

1. Производные дезоксиаденозина — ингибиторы РНР.
2. Метотрексат (аметоптерин) и аминоптерин — конкурентные ингибиторы дигидрофолатредуктазы (E_4).
3. 5-фторурацил (аналог тимина) — ингибитор тимидилатсинтазы (E_3).
4. В лекциях по матричным биосинтезам мы ранее рассматривали прямые ингибиторы репликации и транскрипции.

Наследственные иммунодефициты

I. **Комбинированный иммунодефицит** при мутациях гена аденозиндезаминазы (АДА), катализирующей реакции:



При снижении активности АДА создается повышенная концентрация в клетке аденозина и пуриновых нуклеотидов, особенно дАТФ, которые аллостерически угнетают РНР, синтез дезоксинуклеотидов и ДНК.

Репликация угнетена больше всего в иммунокомпетентных В- и Т-лимфоцитах, т.е. нарушены и гуморальный, и клеточный иммунитеты.

II. **Иммунодефицит**, обусловленный мутациями гена пурииннуклеозидфосфорилазы, катализирующей реакции фосфоролита гуанозина, дезоксигуанозина и инозина. Нарушается созревание Т-лимфоцитов и клеточный иммунитет. Этот дефицит менее опасен, чем дефицит АДА.



Гормоны гипоталамуса, гипофиза, поджелудочной железы, надпочечников, щитовидной железы

В лекции «Мембраны клеток» уже была представлена общая информация о гормонах:

- роль гормонов в регуляции метаболизма через регуляторные ферменты;
- пять систем передачи сигналов гормонов в клетку-мишень;
- сводная таблица по отдельным гормонам (структура, физико-химические особенности, место синтеза и соответствие статусу человека).

Повторим и расширим классификацию гормонов.

1. Химическая классификация: гормоны — белки, пептиды, модифицированные аминокислоты, стероиды.

2. Физико-химическая классификация: гидрофильные гормоны в клетку не проникают, а гидрофобные — проникают.

3. Классификация по соответствию: статус человека–гормон.

4. Классификация по функциям.

5. Классификация по сигналу, стимулирующему секрецию гормона из эндокринной железы в кровь:

- классическая: сигнал → ЦНС → гипоталамус → гипофиз → эндокринная железа;
- ЦНС → спинной мозг → мозговое вещество надпочечников (для адреналина и медиатора норадреналина);
- химические сигналы: глюкоза, кальций, натрий, калий;
- физико-химические сигналы: повышенное осмотическое давление, пониженное артериальное давление.

6. Классификация по механизму передачи сигнала гормонов внутрь клетки через некаталитические и каталитические цитоплазматические рецепторы, через некаталитические внутриклеточные рецепторы.



Гормоны гипоталамуса и гипофиза являются пептидами или белками с регуляторными функциями: рилизинг-гормоны гипоталамуса (либерины и статины) передают активирующий или ингибирующий сигнал в гипофиз, который синтезирует тропины, стимулирующие выработку «рабочих» гормонов в эндокринных железах или прямо действующие на органы и ткани (окситоцин, антидиуретический гормон, гормон роста).

Гормон роста (соматотропин, 191 АК) передней доли гипофиза воздействует на многие органы и ткани, ускоряя метаболизм и постнатальный рост. Дефицит ГР приводит к гипофизарной карликовости (нанизму). Напротив, опухолевый избыток ГР служит причиной гигантизма детей или акромегалии взрослых людей (непропорциональные части тела).

Адреналин и глюкагон

Обобщенная характеристика многократно рассмотренных нами адреналина и глюкагона представлена ниже.

Сравнение свойств адреналина и глюкагона

Показатель	Адреналин	Глюкагон
Химическая структура	Модифицированный тирозин	Полипептид из 29 аминокислот
Место синтеза	Надпочечники (мозговое вещество)	α -клетки поджелудочной железы
Сигнал для секреции	Физическая работа, стресс	Пониженное содержание глюкозы в крови
Передача сигнала гормоном внутрь клеток-мишеней	Через аденилатциклазную систему	
	Реже — через инозитол-фосфатную систему в печени	—
Функции (эффекты) в:	Гормоны ускоряют	
– печени	1. Гликогенолиз 2. β -окисление жирных кислот (непрямой эффект)	1. Гликогенолиз 2. Синтез глюкозы 3. β -окисление жирных кислот и синтез кетоновых тел (непрямой эффект)
– жировой ткани – мышцах	Липолиз Гликогенолиз	Липолиз Без эффектов в связи с отсутствием рецепторов
Влияние на содержание кислорода в организме	Увеличивает через тахикардию и повышение артериального давления	Не изменяет



Выделим функции, одинаковые для адреналина и глюкагона: гликогенолиз, липолиз, β -окисление жирных кислот.

Различия между этими гормонами: глюкагон имеет свои рецепторы только в печени и жировой ткани, а изоформы адренорецепторов характерны для многих органов; различие по стимулирующим сигналам для секреции в кровь; глюкагон сберегает глюкозу, ускоряя гликогенолиз и глюконеогенез, а адреналин увеличивает содержание кислорода в тканях и обеспечивает полное аэробное окисление глюкозы.

Кортикостероиды синтезируются в надпочечниках из холестерина (ХС), депо которого (ЭХС) создается в коре за счет собственного синтеза и импорта в составе ЛНП.

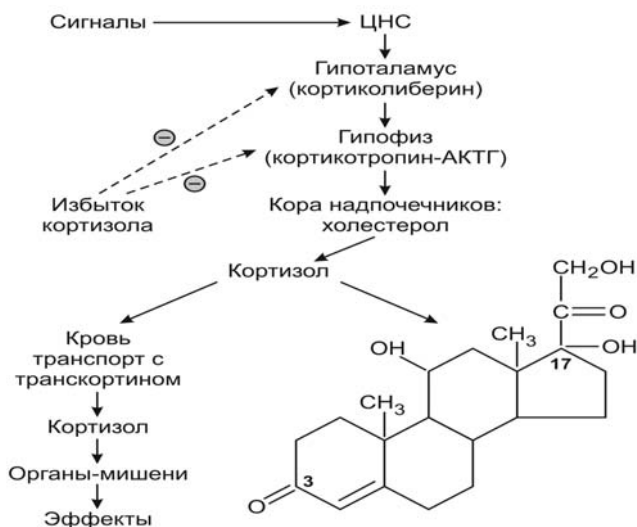
Гормоны надпочечников

Часть железы	Зоны	Синтезируемые гормоны
Кора	Клубочковая, или гломерулярная	Минералокортикоиды (альдостерон)
	Пучковая, или фасцикулярная	Глюкокортикоиды (кортизол)
	Сетчатая, или ретикулярная	Предшественники половых гормонов
Мозговое вещество	—	Адреналин, норадреналин

Сигналы для синтеза кортизола (гипогликемия, стресс, травмы) передаются через ЦНС, гипоталамус (кортиколиберин), гипофиз (кортикотропин или АКТГ передней доли) и доходят до пучковой зоны коры, в которой АКТГ через АЦС активирует ферменты синтеза кортизола. Избыток последнего ингибирует образование кортиколиберина, кортикотропина и нормализует количество кортизола, который далее транспортируется по крови с транскортином (α_1 -глобулином), проникает способом облегченной диффузии в клетки-мишени и в комплексе с внутриклеточными рецепторами включает (в печени) или выключает транскрипцию генов многих белков-ферментов. Рецепторы для кортизола имеются практически во всех клетках, кроме, вероятно, адипоцитов.



Синтез кортизола и его регуляция



Эффекты кортизола как гормона

1. В большинстве органов первично тормозит транскрипцию и вторично трансляцию. Угнетение синтеза белка приводит к ускорению его распада и освобождению АК.

2. АК поступают в печень, где кортизол на уровне транскрипции активирует синтез ферментов распада АК и ферментов глюконеогенеза. В итоге в печени кортизол вместе с глюкагоном увеличивает синтез глюкозы, поступающей в кровь.

3. Эндогенный кортизол и лекарства на его основе угнетают фосфолипазу A_2 и синтез эйкозаноидов (медиаторов) воспаления.

4. При патологически большом уровне кортизола (гиперкортицизм) он тормозит образование многих необходимых организму белков: коллагена, особенно в костях (переломы), антител в плазматических клетках (иммунодефицит), а также как «родственник» альдостерона вызывает гипертонию.

Патология, связанная с кортизолом

1. Стероидный диабет, гиперкортицизм, болезнь (опухоль гипофиза) и синдром (опухоль надпочечников) Иценко–Кушинга:

- много кортизола в организме и продуктов его распада — 17-кетостероидов в моче;
- гипергликемия и глюкозурия;



- в) много мочевины (азотемия и азотурия);
- г) дефицит антител (иммунодефицит);
- д) остеопороз и переломы костей;
- е) артериальная гипертония;
- ж) характерное ожирение лица и верхней части тела.

II. Гипокортицизм, «бронзовая» болезнь, болезнь Аддисона, вызвана недостатком кортизола вследствие:

- туберкулеза коры надпочечников;
- гипофункции передней доли гипофиза и недостатка АКТГ по разным причинам; атрофии коры надпочечников после длительного и неправильного лечения стероидами.

Симптомы противоположны гиперкортицизму. Объяснение темного цвета кожи: недостаток кортизола повышает уровень АКТГ, который стимулирует выработку меланоцитстимулирующего гормона в промежуточной доле гипофиза и соответственно меланина в меланоцитах.

III. Аденогенитальный синдром.

Проявляется у детей в виде раннего полового созревания, особенно в форме возникновения мужских половых признаков у девочек. Причина — мутационный дефицит 21 (реже 11)-гидроксилазы в цепи синтеза стероидов создает недостаток кортизола и избыток АКТГ, который увеличивает количество андрогенов (тестостерона) у детей. В директивном порядке отсутствие этой патологии должны контролировать в РФ у новорожденных.

Патология взрослых мужчин, также связанная с половыми стероидными гормонами — тестостероном (Т) и дигидротестостероном (ДТ)

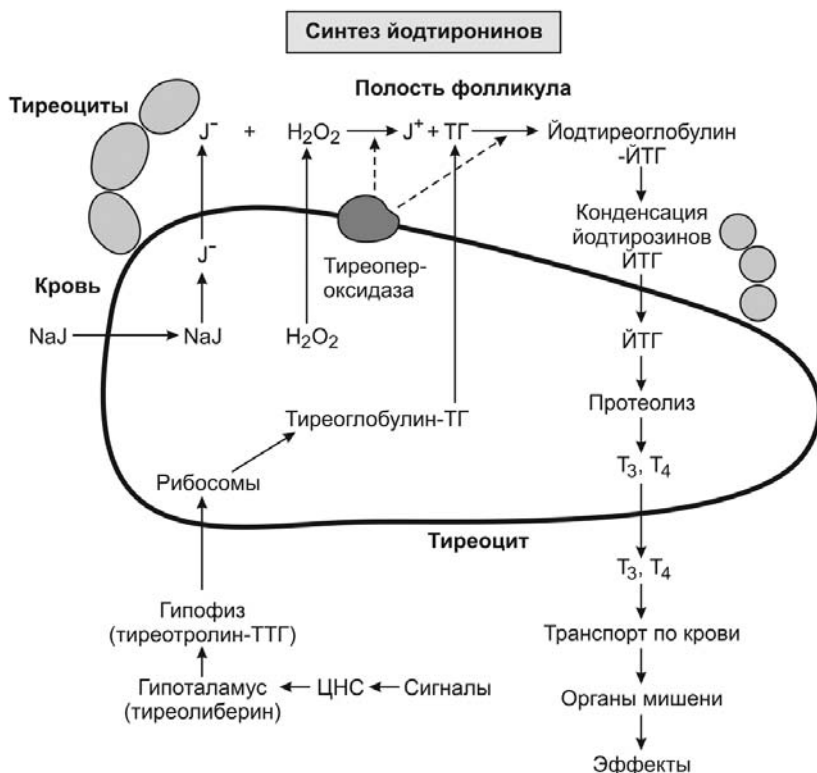
В стромальных клетках предстательной железы фермент 5 α -редуктаза типа 2 катализирует превращение Т в ДТ, который первично активирует синтез разных факторов транскрипции и вторично — факторов роста эпителиальных клеток железы, в том числе простатспецифического антигена (ПСА) и инсулинподобного фактора. При патологическом увеличении активности 5 α -редуктазы мутационного или этнического характера образуется избыток ДТ, который усиливает митозы эпителия и тормозит его апоптоз. При нарушении координации этих процессов возникает гиперплазия («аденома») или рак простаты (Зезеров Е.Г. // «Вопросы онкологии» 2001. — Т. 47, №2. — С. 174–181; Сб. науч. трудов «Биомедицина XXI века». — М.: Изд-во РАЕН 2008. — С. 149–156).



Гормоны щитовидной железы

Гормоны щитовидной железы — гидрофобные трийодтиронин (T_3) и тетрайодтиронин (T_4) или тироксин образуются в тиреоцитах и в полости фолликула. Сигналы (уменьшение уровня T_3 и T_4 , стресс, пониженная температура тела) по классической цепи ЦНС → тиреолиберин → тиреотропин (ТТГ) → щитовидная железа включают внутри тиреоцитов синтез тиреоглобулина (ТГ). ТГ в полости фолликула окисляется и йодируется (фермент тиреопероксидаза) с образованием йодтиреоглобулина (ЙТГ), внутри молекул которого образуются и далее освобождаются в полость тиреоцитов йодтиронины. Последние поступают в кровь и в комплексе с транспортёрами (α_1 -глобулином и альбумином) достигают клетки-мишени.

Синтез йодтиронинов



Как и в случае кортизола, избыток этих гормонов угнетает образование регулирующих гормонов гипоталамуса и гипофиза и уменьшает уровень йодтиронинов.

Антитиреоидные лекарства (тиомочевина и тироурацил) ингибируют тиреопероксидазу и нормализуют состояние больных гипертиреозом.

Йодтиронины проникают в клетки и передают свой сигнал вместе с внутриклеточными рецепторами, которые имеются во многих органах. Они ускоряют синтезы очень многих веществ, стимулируют рост и дифференциацию разных клеток и тканей, особенно мозга и иммунной системы у детей. Для этого нужна энергия, наличие которой обеспечивает усиленным энергетическим обменом с образованием АТФ.

Два вида йодтиронинов различаются по содержанию в крови и по активности.

Некоторые особенности разных йодтиронинов

Гормон	Содержание общего количества гормона в организме	Физиологическая активность
T ₃	Меньше, в крови около 0,1 мкг/дл	Больше
T ₄	Больше, в крови около 4–10 мкг/дл	Меньше примерно в пять раз

Патология, связанная с йодтиронинами

I. Гипертиреоз, тиреотоксикоз, болезнь Грейвса. При диффузной токсической гиперплазии щитовидной железы, вызванной разными наследственными и ненаследственными факторами (опухоли, повышенное содержание йода в пище и воде, аутоиммунный статус), количество йодтиронинов в организме больных увеличено. Их избыток, особенно T₃, ускоряет катаболизм, приводит к отрицательному азотистому балансу, уменьшению веса тела, экзофтальму, к увеличению аппетита. Повышена температура тела больных, т.к. йодтиронины являются разобщителями окисления веществ и фосфорилирования АДФ с рассеиванием энергии окисления в виде теплоты. Иногда больные проявляют агрессивность и гнев, что без достаточных оснований связывают с эффектом самих гормонов.

II. Гипотиреоз, гипофункция щитовидной железы. Причины:

- 1) мутационные дефекты белков-ферментов синтеза йодтиронинов;
- 2) повреждения гипоталамуса, гипофиза, щитовидной железы;
- 3) недостаток йода в пище и воде.

При отсутствии лечения у детей развивается **кретинизм** — физические, психические и иммунологические дефекты. Поэтому у новорож-



денных педиатры также должны проверять содержание йодтиронинов (по приказу министра здравоохранения РФ).

Две формы гипотиреоза взрослых:

- **микседема.** Нарушен метаболизм межклеточного матрикса (ММ), особенно мукополисахаридов. Накапливаются в ММ гиалуроновая и хондроитинсерная кислоты, а далее вторично — вода и соли. Отеки («слизистый отек»), увеличение веса тела и снижение температуры. Повышается содержание холестерина и развивается атеросклероз;
- **эндемический зоб.** Недостаток пищевого йода и соответственно йодтиронинов увеличивает уровень тиреотропина гипофиза, который усиливает рост соединительной ткани железы в форме узелков.

Гигиенисты регионов обязаны контролировать содержание йода в местной воде и пище. По рекомендации ВОЗ суточные нормы йода составляют для взрослых 50–300 мкг и для детей 50–120 мкг. Главные легко-выявляемые симптомы йодной недостаточности у людей — ухудшение памяти и отечность лица.

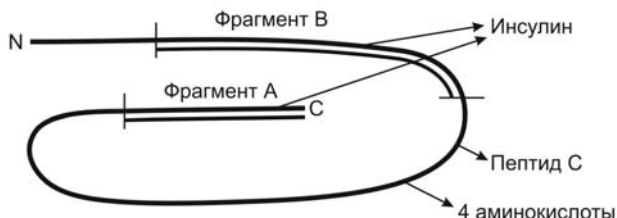


Инсулин. Регуляция метаболизма в случае сахарного диабета и голодания

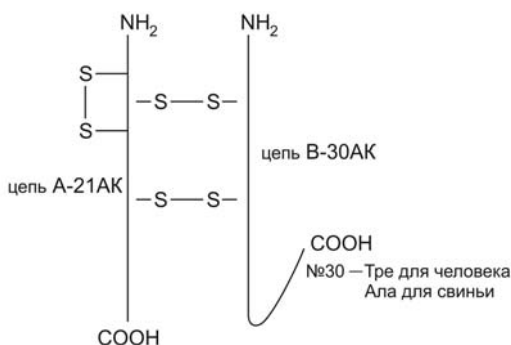
Образование инсулина. При достаточной концентрации в крови глюкоза проникает в β -клетки поджелудочной железы (ПЖ) через мембранный канал ГЛЮТ-2 и индуцирует ген хромосомы 11 с синтезом мРНК и предшественника инсулина (110 АК). Далее при двойном частичном протеолизе удаляются 24 АК с N-конца и 35 АК из внутренней части молекулы. Формируются: цепи А (21 АК) и В (51 АК), которые объединяются в молекулу инсулина (51 АК), а также освобождается пептид С (31 АК).

ПЖ (в ответ на стимулирующий сигнал глюкозы) секретирует в кровь инсулин и пептид С в соотношении 1:1, но после циркуляции крови через печень и разрушения части инсулина (инсулиназа гепатоцитов) соотношение изменяется до 1:3. Концентрация в крови более устойчивого пептида С является диагностическим показателем качества этапов синтеза инсулина в ПЖ.

Предшественник инсулина (110 АК)



Молекула инсулина

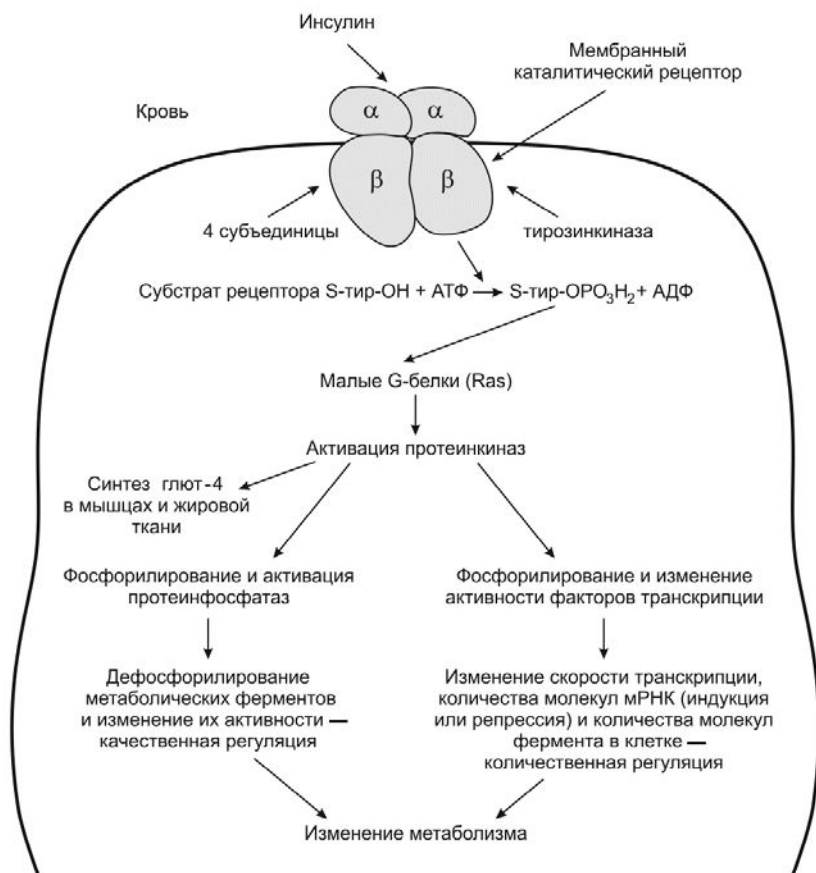


Гидрофильный гормон инсулин не проникает в клетки органов и тканей. Детали трансмиссии его сигнала в клетки-мишени инсулинзависимых органов и тканей (мышцы, жировая ткань, печень) были рассмотрены в лекции «Мембраны клеток» и повторная соответствующая схема представлена ниже (стр. 234).

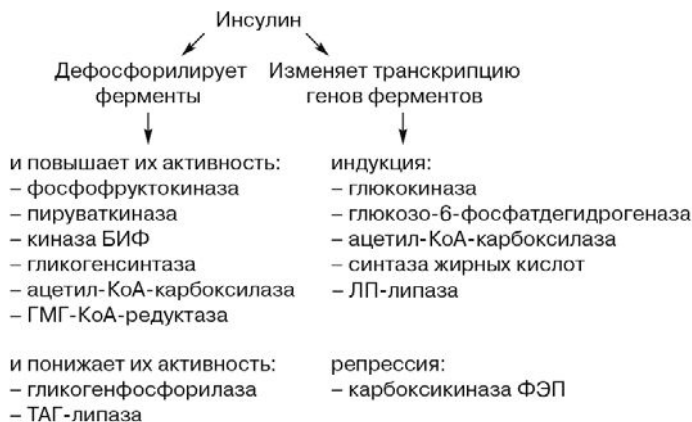
Эффекты инсулина. Во-первых, он направляет потоки глюкозы из крови в клетки-мишени с помощью специальных механизмов (лекция №13) и в зависимости от концентрации глюкозы в крови: в мышцы и в жировую ткань — при обычном ее уровне в нормальном диапазоне, а в печень — при высоких концентрациях в крови пищевой глюкозы (примерно более 10 ммоль/л или 180 мг/дл). Во-вторых, далее внутри клеток-мишеней под влиянием сигналов инсулина изменяется активность многочисленных ферментов метаболизма углеводов, жиров и белков, что было рассмотрено в предыдущих лекциях и представляется повторно в виде общей схемы (стр. 235).



Два способа передачи инсулином сигналов внутрь клеток-мишеней



Регуляция активности ферментов инсулином



Многообразное действие инсулина на разные ферменты организма человека целесообразно обобщить в виде отдельной таблицы, которая демонстрирует, что инсулин ускоряет синтезы всех соединений, кроме глюкозы (синтез которой он угнетает), а его эффект на катаболизм этих всех веществ является противоположным. При этом надо сравнить изменение активности многочисленных ферментов под влиянием инсулина с действием на них главного контринсулярного гормона — глюкагона (голод, сахарный диабет). Глюкагон действительно антагонист инсулина по его эффекту на ферменты и биохимические процессы. При сахарном диабете, при котором инсулин не функционирует или функционирует слабо, практически все изменения метаболизма обусловлены глюкагоном, т.е. они противоположны тому, что приведено в представленной далее таблице.



**Влияние инсулина на метаболизм
здорового человека**

Соединения	Синтез	Распад
Глюкоза	↓	↑
Гликоген	↑	↓
Жиры	↑	↓
Холестерол	↑	—
Аминокислоты и белки	↑	↓

↑ — ускорение

↓ — торможение

Второй контринсулярный гормон — кортизол действует отчасти синхронно с глюкагоном и оба эти гормона обуславливают все изменения метаболизма при сахарном диабете.

В клетки большинства других инсулиннезависимых органов и тканей глюкоза проникает из крови способом облегченной диффузии без участия инсулина (лекции 9, 13). При сахарном диабете такое беспрепятственное проникновение избыточной глюкозы в эти органы и ее токсическое и вредное действие определяют особенности патологии рассматриваемого заболевания.

Сахарный диабет (СД) поражает более 5% населения мира.

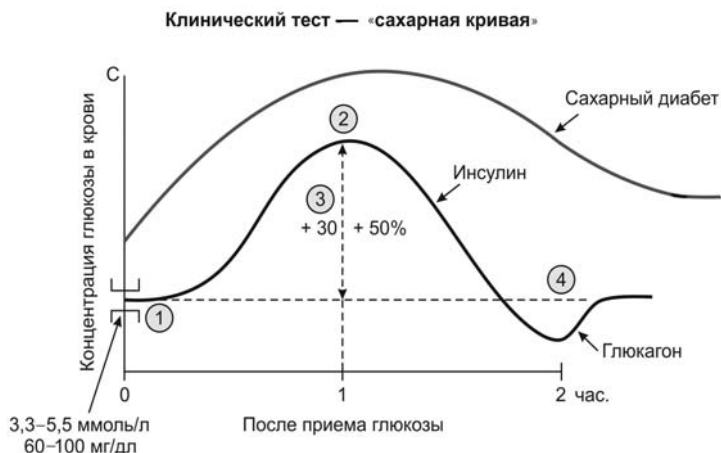
«Скрытый», или латентный, СД — без явных клинических симптомов, но с некоторыми ранними (за 7–8 лет) предвестниками болезни (аутоантитела к β-клеткам ПЖ) или с поздними особенностями диагностической «сахарной» кривой (лекция 15).

Причины болезни

1. В случае СД типа 1 (инсулинзависимый СД) существует практически одна причина — аутоиммунный статус человека наследственной или ненаследственной природы, вызванный разными факторами. Это состояние иммунитета приводит к гибели β-клеток ПЖ. При полном их отсутствии наступает абсолютный дефицит инсулина. Больные, как правило, молодые и худые люди.

2. Инсулиннезависимый СД 2-го типа характерен для пожилых людей, β-клетки сохраняются, но инсулин не функционирует или функционирует слабо в отношении метаболических ферментов.





Многообразие причин СД типа 2 можно свести в две группы.

1. Патология β -клеток ПЖ без их гибели (амилоидоз, нарушение процессов синтеза и секреции инсулина, мутации генов инсулина и глюкокиназы β -клеток).

2. Вторая группа причин не связана с патологией ПЖ: циркулируют антитела к инсулину или к его рецептору, быстрое разрушение инсулина инсулиназой, но чаще всего инсулинорезистентность тканей (мутация генов рецептора инсулина или белка-переносчика гормона в мышцы и адипоциты — ГЛЮТ-4) и др.

Гормональный статус больного СД:

СД 1 — количество инсулина и пептида С снижено или инсулин в крови не выявляется, увеличена относительная активность глюкагона и кортизола как контринсулярных гормонов;

СД 2 — в начале болезни концентрация инсулина в норме или компенсаторно повышена, при длительном течении болезни и истощении β -клеток глюкозой понижена.

Итог: при любом типе СД инсулин не «работает» или «работает» слабо, функционируют и определяют всю симптоматику болезни глюкагон и кортизол.

Биохимические маркеры СД

1. Гипергликемия (причины — глюкоза не поступает в клетки-мишени; инсулин не ингибирует, а глюкагон и кортизол активируют синтез глюкозы в печени) и глюкозурия.



2. Повышены в крови концентрации жирных кислот, кетоновых тел (кетонемия более выражена при СД 1), мочевины (азотемия). Ацидоз. Кетоновые тела в моче (кетонурия).

3. В крови увеличен уровень гликозилированного гемоглобина с высоким сродством к кислороду, что создает гипоксию.

4. Гипоксия нарушает энергетический обмен и синтез АТФ на фоне избытка глюкозы, жирных кислот, кетоновых тел. Отсюда — «СД — голод среди изобилия».

На этой базе возникают клинические симптомы СД: полиурия (глюкоза, мочевина и кетоновые тела в моче увеличивают потерю воды), полидипсия (жажда и сухость рта — ранний симптом), полифагия. При СД 1 снижен вес тела («худые») вследствие распада жира под влиянием глюкагона. При СД 2 — вес или не изменен либо имеется ожирение.

При отсутствии или неправильном лечении возникают **острые ранние осложнения — комы**.

I. Гипогликемическая кома при передозировке инсулина приводит к гипогликемии и гибели больного при 20 мг/дл глюкозы в крови.

II. Диабетические комы:

- кетоацидотическая;
- гиперосмолярная из-за потери воды с мочой;
- лактатацидотическая вследствие гипоксии и преобладания анаэробного гликолиза.

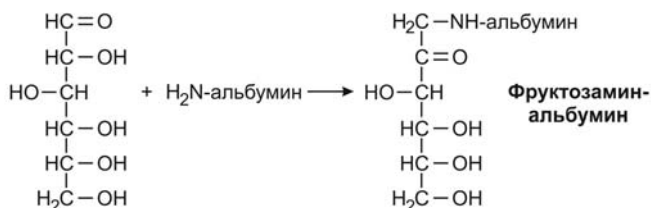
Поздние хронические осложнения длительно текущего СД возникают из-за токсического эффекта глюкозы в инсулиннезависимых органах. Два молекулярных механизма их возникновения.

1. Глюкоза благодаря своей альдегидной группе образует ковалентные связи (например, типа оснований Шиффа) со многими белками-ферментами и нарушает их функции. Гликозилирование коллагена типа IV базальных мембран капилляров и клубочков почек уменьшает проницаемость и фильтрующую способность мембран.

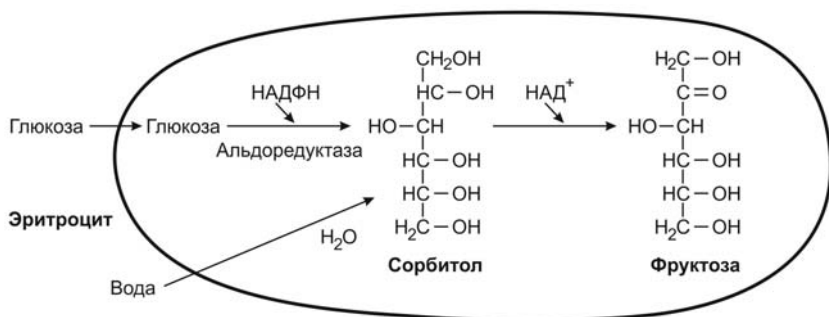
2. Внутри инсулиннезависимых клеток большие количества глюкозы превращаются в более гидрофильный сорбитол, который вызывает интенсивную диффузию воды в клетку и ее повреждения («сорбитоловый» механизм).



Первый механизм токсического действия глюкозы — гликозилирование белков (гемоглобин, белки мембран и межклеточного матрикса, альбумин, белок апоВ-100 ЛНП, рецепторы ЛНП, ферменты).



Второй механизм токсического действия глюкозы — сорбитоловый путь.



Перечень поздних хронических осложнений СД

1. Макроангиопатии — образование атеросклеротических бляшек.
2. Микроангиопатии мелких сосудов и капилляров с нарушением их проницаемости. Эти два осложнения (п. 1 и 2) приводят к образованию характерной для СД «диабетической стопы» (язвы, гангрены, некрозы).
3. Нефропатии с хронической почечной недостаточностью, характеризующейся увеличением в крови содержания мочевины, мочевой кислоты, креатинина.
4. Нейропатии — гликозилирование белков аксонов нейронов и клеток Шванна, нарушение передачи нервных импульсов.
5. Повреждения глаза — гликозилирование белков роговицы, хрусталика, набухание клеток хрусталика по сорбитоловому механизму (катаракта).
6. Размножение патогенной микрофлоры при избытке глюкозы в тканях.



Принципы лечения СД:

- строгая диета, ограничивающая поступление быстроусвояемых пищевых углеводов в организм человека; ингибиторы α -гликозидаз ЖКТ (акарбоза), замедляющие распад углеводов пищи;
- СД тип 1 — препараты инсулина короткого и пролонгированного действия на основе современного генно-инженерного инсулина человека;
- СД типа 2 — сахаропонижающие препараты — производные сульфонилмочевины; бигуаниды (метформин — ингибитор фермента глюконеогенеза); препараты хрома, участвующего в транспорте глюкозы в клетки (механизм изучается), акарбоза (или глюкобай);
- пересадка донорских панкреатических островков и самих β -клеток.

Метаболизм при полном голодании

Первая фаза — голодание в течение одних суток.

1. Гормональный статус: мало инсулина, много глюкагона.

2. Распад гликогена (при участии глюкагона) и освобождение глюкозы.

Вторая фаза — голодание в течение одной недели.

1. Гормональный статус: мало инсулина, много глюкагона и кортизола.

2. Главный источник глюкозы для обеспечения энергией мозга и эритроцитов — глюконеогенез из лактата, аминокислот и глицерола (глюкагон и кортизол).

3. Липолиз (глюкагон), освобождение жирных кислот как источника энергии для мышц и печени и как донора ацетил-КоА для синтеза кетонных тел (глюкагон), способных окисляться в мозговой ткани с выходом АТФ.

4. Распад белков (кортизол), освобождение аминокислот для синтеза глюкозы (кортизол, глюкагон).

Третья фаза полного голодания в течение нескольких недель.

1. Продолжается доминирование глюкагона и кортизола.

2. Главные энергетические источники: для мозга — кетонные тела, для мышц — жирные кислоты, для эритроцитов — глюкоза.

3. Смерть голодающего наступает после распада 30–50% белков и при снижении концентрации глюкозы в крови до 20 мг/дл.



Роль гормонов в регуляции метаболизма воды и солей

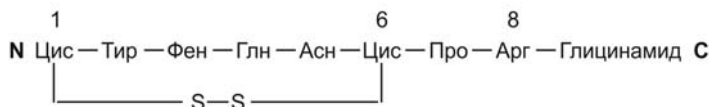
Метаболизм воды и солей в организме регулируется почками (функционально-морфологические аспекты процессов рассматривает физиология) и гормонами. В совокупности эта регуляция обеспечивает постоянство гомеостаза: объема воды, состава солей, осмотического давления и величины индекса pH.

Антидиуретический гормон (АДГ)

Регулирует объем внеклеточной воды и осмотическое давление жидкостей человека. Напоминаю, что вода в организме людей состоит из внутриклеточной воды (70%) и внеклеточной воды (30%), которая находится в крови (5%) и межклеточном матриксе (25%).

Антидиуретический гормон — олигопептид. Предшественник синтезируется в гипоталамусе, после частичного протеолиза перемещается вместе с нейрофизином в заднюю долю гипофиза и остается в гранулах. Два сигнала для секреции:

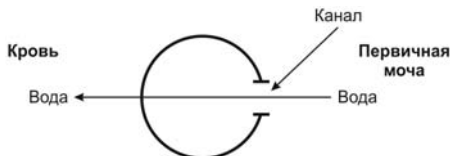
- 1) повышенное осмотическое давление (при потере воды или накоплении солей) → рецепторы гипоталамуса → гипофиз → секреция АДГ;
- 2) ангиотензин II → гипоталамус (прямо или косвенно через альдостерон и Na) → АДГ (схема 1, стр. 244).



Главный эффект АДГ — реабсорбция воды из первичной мочи в кровь и межклеточную жидкость. Механизм: АДГ → некаталитические мембранные рецепторы V_2 в апиксе эпителия канальцев и трубочек нефрона → АЦС → фосфорилирование факторов транскрипции → синтез аквапоринов-каналов для воды в мембране эпителия. При больших



нефизиологических концентрациях АДГ: АДГ → рецепторы V_1 гладких мышц артерий → ИФС → выход Ca из ЭР в цитозоль → мышечное сокращение и повышение артериального давления (отсюда старое некорректное название «вазопрессин»).



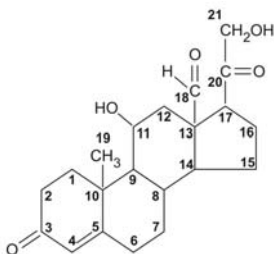
Патология

При травмах головы или мутациях генов белков-ферментов и рецепторов уменьшается синтез АДГ и развивается несахарный диабет: полиурия (увеличение объема мочи с уменьшением ее плотности), обезвоживание и жажда — полидипсия. Лечение — препараты типа АДГ.

Шутка некоторых врачей: при энурезе (недержании мочи) препараты типа АДГ полезны потому, что они помогают по существу и, кроме того, помогают психологически забыть о ночном энурезе, так как, по некоторым данным, АДГ ухудшает память человека.

Альдостерон

Имеет альдегидную группу №18 при атоме углерода № 13



Альдостерон — стероидный гормон синтезируется из холестерина в клубочковой зоне коры надпочечников. Основные сигналы для синтеза и секреции — пониженная концентрация натрия и повышенное содержание K в крови и жидкостях (см. таблицу).

Эффекты альдостерона противоположны сигналам для его секреции: увеличение Na , уменьшение K , Mg , протонов в крови, т.е. в итоге создание слабощелочной реакции в жидкостях организма и вторично — уменьшение объема суточной мочи из-за задержки воды.



Сигналы для секреции альдостерона и его эффекты

Сигнал	Эффекты	
Na ⁺ ↓	Na ⁺ ↑	
K ⁺ ↑	K ⁺ ↓	Ускоренное выведение с мочой
Ангиотензин II	Mg ²⁺ ↓	
	H ⁺ ↓	
	Итог — возможен алкалоз	
K ⁺ ↓ в результате действия альдостерона и фуросемида	Противоположные эффекты в результате угнетения секреции альдостерона	

Примечание. Символы \uparrow и \downarrow обозначают высокое или низкое содержание ионов соответственно.

Механизмы действия альдостерона

Как стероид альдостерон проникает в клетки эпителия почечных канальцев и вместе со своими внутриклеточными рецепторами включает транскрипцию и увеличивает синтез белков-транспортёров Na и K через мембраны, а также Na^+ , K^+ -АТФазы и ферментов энергетического обмена для синтеза АТФ. Все это обеспечивает реабсорбцию Na и ускоренное выведение с мочой K, Mg и протонов.

Патология — первичный гиперальдостеронизм или болезнь Конна при опухолях коры надпочечников: повышено артериальное давление (АД) из-за увеличения в крови Na и воды, уменьшен объем мочи. Биохимические синдромы: гипернатриемия, гипокалиемия, гипопротонемия, алкалоз. Однако содержание глюкозы в крови и 17-кетостероидов в моче не повышено в отличие от родственной онкологической патологии коры надпочечников — стероидного диабета или гиперкортицизма.

Радикальное лечение — оперативное, паллиативное и предоперационное медикаментозное лечение — блокаторы рецепторов альдостерона (альдактон).

Гормон ангиотензин II

Вместе с альдостероном задерживает и сохраняет внеклеточную воду и натрий в организме, повышает АД и скорость кровотока (схема 1). Ренин-ангиотензиновая (РА) система регуляции включается при понижении АД в почечной артериоле (кровопотери, гипонатриемия, сужение почечной артерии) (таблица), далее протеолитические ферменты ренин и АПФ способом частичного протеолиза формируют ангиотензин II (АТ II), состоящий из 8 аминокислот (схема 2).



Сигналы для включения и выключения системы ренин-ангиотензин

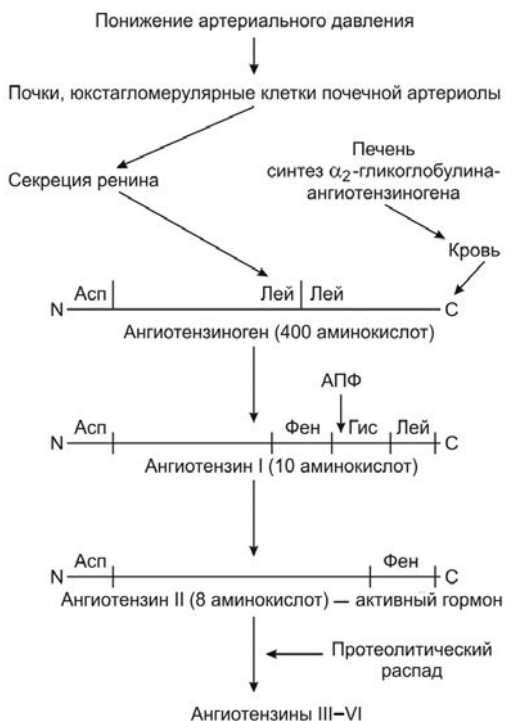
Сигналы для включения системы	Сигналы для выключения системы
1. Пониженное АД в почечной артериоле, кровопотеря, обезвоживание	1. Нормальное и повышенное АД
2. Пониженное содержание натрия в крови и жидкостях (гипонатриемия)	2. Нормальное и повышенное содержание натрия
3. Сигнал симпатической нервной системы	3. Избыток ангиотензина II

АТ II как гидрофильный гормон не проникает в клетки-мишени (гипоталамус, кора надпочечников, гладкие мышцы артерий) и через ИФС и свой основной вторичный мессенджер — ион Са проявляет четыре эффекта, указанные в схеме 1.

Схема 1



Схема 2

Ренин-ангиотензиновая система (РАС)**Действие ангиотензина II:**

- 1) два прямых эффекта — на гладкие мышцы артерий с их сокращением и на центр жажды в гипоталамусе;
- 2) два не прямых эффекта — повышение содержания натрия (через надпочечники и альдостерон) и секреция АДГ (через повышение осмотического давления).

При острых кровопотерях — это механизм сохранения и пополнения жидкой части крови и ускорения кровотока. При обезвоживании (диарея, рвота, путешествие по пустыне) такие механизмы частично нормализуют водно-солевой обмен.

После прекращения действия стимулирующих сигналов (таблица) ренин и АТ II разрушаются протеазами.

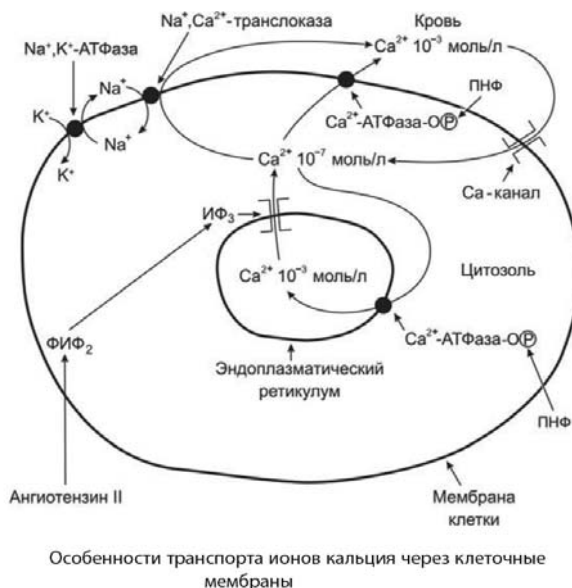
АПФ — ангиотензинпревращающий фермент или карбоксидипептидилпептидаза — уникальный в биохимии фермент, удаляющий дипептид с С-конца 10-членного ангиотензина I (схема 2). АПФ содержит в одной



цепи (1300 АК) два активных центра с двумя атомами Zn. Имеются научные данные, требующие все-таки подтверждения, что мутации генов РА-системы с повышением активности АПФ вызывают возникновение широко распространенной эссенциальной гипертонической болезни. Были целенаправленно созданы и широко используются во всем мире несколько поколений ингибиторов АПФ и его рецепторов как для лечения гипертонии, так и последствий инфаркта миокарда и инсульта.

При особой форме болезни — почечной гипертонии, вызванной стенозом почечной артерии и уменьшением АД в почечной артериоле, эти препараты могут только дополнять хирургическое расширение просвета артерий с помощью стентов.

Гормон ПНФ — предсердный натриуретический фактор кардиомиоцитов (28-членный олигопептид) является полным антагонистом АТ II по всем характеристикам. Конкурентные отношения АТ II и ПНФ в отношении уровня кальция в клетке показаны на схеме. Например, в цитозоле гладких мышц артерий АТ II повышает, а ПНФ уменьшает содержание иона кальция.



Гормональная регуляция метаболизма кальция и фосфатов

Обмен внутриклеточного кальция был рассмотрен ранее в предыдущих лекциях и в данной лекции (Ca^{2+} -АТФаза, Na^+ , Ca^{2+} -транслоказа, АТ II, ПНФ, инозитолфосфатная система). Этот кальций служит посредником в передаче



сигналов некоторых гормонов, хотя концентрация внутриклеточного кальция в цитозоле в 10 000 раз меньше, чем в крови. В этом разделе мы рассматриваем регуляцию уровня внеклеточных кальция и фосфатов с помощью гормонов. В межклеточном матриксе (и в костях) — более 95%, а в крови и жидкостях — 1% кальция организма. Содержание его в крови 8,5–10,5 мг/дл (2,1–2,6 ммоль/л), из них 50% — в форме катиона (биологически активная форма кальция), 45% связано с альбумином и 5% — в виде солей.

Паратгормон (ПГ)

Паратгормон (ПГ) — белок (84 АК), синтезируется в паращитовидных железах в виде предшественника (115 АК) под влиянием сигнала — снижения уровня Са в крови.

Эффекты ПГ

1. В костях ПГ передает через АЦС свой сигнал в остеобласты, цитокины которых активируют остеокласты. Последние выделяют коллагеназу, кислую фосфатазу, гликозидазы, разрушающие межклеточный матрикс и освобождающие Са и фосфаты.

2. В почках ПГ усиливает реабсорбцию Са из первичной мочи в кровь и замедляет реабсорбцию фосфатов, которые удаляются с мочой.

3. В почках активирует регуляторный фермент синтеза кальцитриола — 1α -гидроксилазу.

Итог: ПГ увеличивает содержание кальция в крови.

Кальцитонин

Кальцитонин как олигопептид (32 АК) образуется из предшественника в К-клетках щитовидной и в С-клетках паращитовидных желез. Сигнал для секреции — чрезмерное увеличение Са в крови. После нормализации уровня Са в крови кальцитонин и ПГ разрушаются.

Эффекты кальцитонина

1. Как антагонист ПГ через АЦС подавляет способность остеокластов освобождать кальций из костей, т.е. способствует его сохранению в костях.

2. Уменьшает реабсорбцию кальция в почках.

Итог: уменьшение содержания кальция в крови и некоторое увеличение выделения его с мочой.

Эстрогены у женщин увеличивают синтез и секрецию кальцитонина и поэтому они поддерживают фонд кальция в костях. После менопаузы и уменьшения содержания эстрогенов кости женщин теряют кальций и возникают переломы костей.

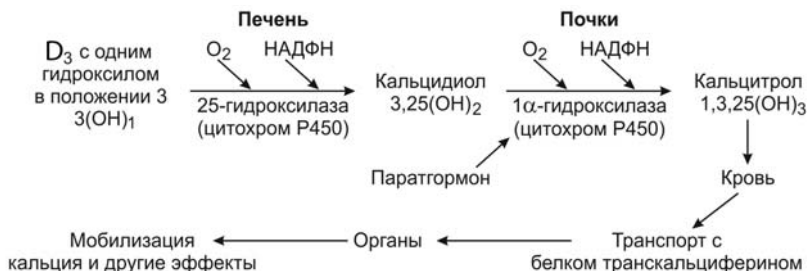


Кальцитриол (КТ)

Образуется в организме из жирорастворимого соединения D_3 , которое биохимически неправильно называют и сегодня «витамином»: D_3 синтезируется из холестерина в коже при участии ультрафиолетовых лучей солнца (а также поступает с пищей) и не служит источником для образования кофермента.

В митохондриях печени и почек D_3 превращается в стероидный гормон КТ (схема) с участием монооксигеназ — цитохромов P450, из которых 1α -гидроксилаза почек является регуляторным ферментом. Ее активаторы — паратгормон и низкая концентрация Ca, ингибиторы — сам КТ и избыток Ca.

Синтез кальцитриола (КТ) в митохондриях печени и почек



Эффекты кальцитриола как стероидного гормона

1. В энтероцитах тонкого кишечника индуцирует (на уровне транскрипции) синтез белка — переносчика Ca через клеточные мембраны энтероцитов. Это главный результат действия КТ для детей, при отсутствии которого развивается классический наследственный рахит.

2. В костях ускоряет мобилизацию Ca и фосфатов.

3. В почках усиливает реабсорбцию Ca и фосфатов.

Итог: увеличение в крови кальция и фосфатов.

Функционирование трех гормонов, регулирующих уровень кальция крови



Патология обмена кальция

I. Повышенное содержание кальция в крови (**гиперкальциемия**) и органах приводит к торможению нервно-мышечной активности (физическая слабость, сонливость и др.), к образованию Са-камней в органах на фоне возможных переломов костей. При отравлении большими дозами D_3 возможна кома и даже смерть.

Причины гиперкальциемий:

- 1) опухоли паращитовидных желез, развивается гиперпаратиреоз;
- 2) миеломная болезнь (распад костей);
- 3) передозировка D_3 при лечении туберкулеза, красной волчанки, переломов костей, болезней кожи.

II. Гипокальциемия

При недостатке в пище D_3 и кальция, дефиците желчи из-за болезней печени и при ошибочном удалении хирургом паращитовидных желез снижается уровень Са и повышается возбудимость нервно-мышечной системы (судороги, спазмы и даже ларингоспазм при удаленных железах).

Причины классического ненаследственного рахита детей:

- недостаток D_3 и кальция в пище;
- недостаточный синтез D_3 в коже (недостаток солнца);
- дефицит желчи, необходимой для всасывания D_3 .

Схема развития рахита: мало D_3 в организме → мало КТ → слабое поступление пищевого Са в стенку кишечника и в кровь → секреция ПГ → удаление (предотвращение поступления) Са из костей → остеомалация и деформация костей ног и черепа.

Лечение: D_3 в форме лекарств и соответствующие продукты при условии здоровой печени.

Наследственная форма рахита вызвана доминантными мутациями в Х-хромосоме, в генах гидроксилаз, катализирующих синтез КТ. Возникающий дефицит этого гормона приводит к рахиту, который уже сегодня можно лечить препаратами модифицированного КТ.

Известны рахитоподобные заболевания взрослых людей с множественными причинами и симптомами. Например, при хронической почечной недостаточности нарушается синтез 1α -гидроксилазы и создается дефицит КТ.



Детоксикация ксенобиотиков. Катаболизм гема. Биотрансформация лекарств. Химический канцерогенез

Ксенобиотики

Человек способен обезвреживать экзогенные и эндогенные токсические вещества с помощью двух главных систем детоксикации.

1. Иммунная система узнает чужеродные гаптены и антигены, вырабатывает к ним антитела и после образования комплексов гаптен (антиген)–антитело разрушает их в макрофагах.

2. Биохимическая система детоксикации с участием цитохрома Р450 печени, почек, кишечника обезвреживает чужеродные соединения (яды, пестициды, наркотики, никотин, лекарства) и эндогенные токсические вещества (билирубин, окисленный холестерол). Эта система состоит из трех фаз.

Три фазы системы биохимической детоксикации

1. Окисление гидрофобных ксенобиотиков повышает их гидрофильность, растворимость и снижает токсичность.

2. Конъюгация с гидрофильными соединениями еще больше увеличивает растворимость ксенобиотиков в крови, моче, желчи.

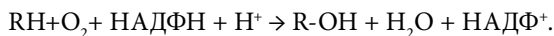
3. Выведение из организма модифицированных ксенобиотиков по схемам: кровь → почки → моча и печень → желчь → экскременты.

Первая фаза — система цитохрома Р450 в эндоплазматическом ретикулуле.

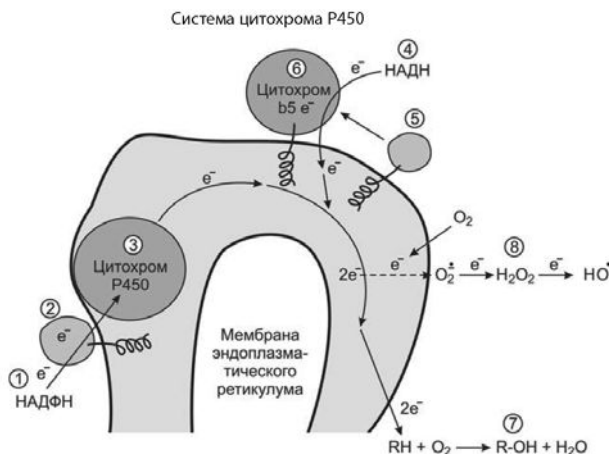
Система состоит из ряда реакций переноса двух электронов от НАДФН и НАДН на один атом кислорода с образованием воды и с одновременным окислением ксенобиотиков вторым атомом кислорода. В об-



щем виде главная суммарная реакция, катализируемая гидроксилазой — цитохромом P450:



Элементы системы цитохрома P450: 1 — НАДФН, 2 — НАДФН-цитохром P450-редуктаза, 3 — цитохром P450, 4 — НАДН, 5 — НАДН-цитохром b5-редуктаза, 6 — цитохром b5, 7 — окисленный ксенобиотик, 8 — токсические формы кислорода.



Особенности цитохрома P450

P450 — сложный белок-фермент, гемопроtein. Переносит электроны (по одному) с помощью своего атома железа гема. В организме человека имеется огромное количество изоферментов P450 с относительной специфичностью к разным субстратам-ксенобиотикам. Однако сами эти субстраты являются одновременно индукторами транскрипции для собственного изофермента P450.

ВНИМАНИЕ БУДУЩИМ ВРАЧАМ!

Поэтому при длительном воздействии на человека одного ксенобиотика (наркотик, табак, алкоголь, лекарство) количество соответствующего изофермента непрерывно увеличивается и требуемый эффект ксенобиотика снижается. Пациент вынужден увеличивать дозу чужеродного вещества для достижения желаемого результата. Более того, из-за относительной субстратной специфичности изоферментов P450, например

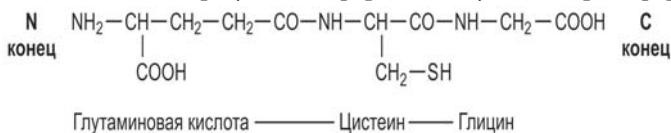


фермента II E₁ для этанола, у хронического алкоголика будут преждевременно разрушаться некоторые лекарства и их дозу также необходимо увеличивать.

Другие изоформы P450 катализируют в митохондриях синтез необходимых организму соединений: холестерина, желчных кислот, стероидных гормонов.

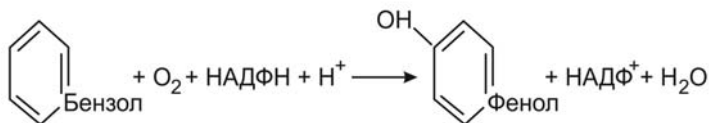
Вторая фаза конъюгации окисленных ксенобиотиков с гидрофильными соединениями (глутатионом, глюкуроновой кислотой, сульфатом, глицином) при участии трансфераз еще больше повышает их растворимость и ускоряет выведение из организма.

Глутатион — оригинальный трипептид вступает в реакции конъюгации с ксенобиотиками при участии фермента глутатионтрансферазы.



Пример обезвреживания нерастворимого в воде и крови токсического бензола:

а) 1-я фаза



б) 2-я фаза



Другие биохимические системы детоксикации

1. Белок металлотионеин из примерно 70 аминокислот, 30% которых являются цистеином. Этот белок связывает вредные для человека металлы через свою сульфгидрильных группу $-SH$. Синтез металлотионеина включается самими металлами-лигандами на уровне транскрипции, также увеличивается путем амплификации — увеличением числа генов этого белка.

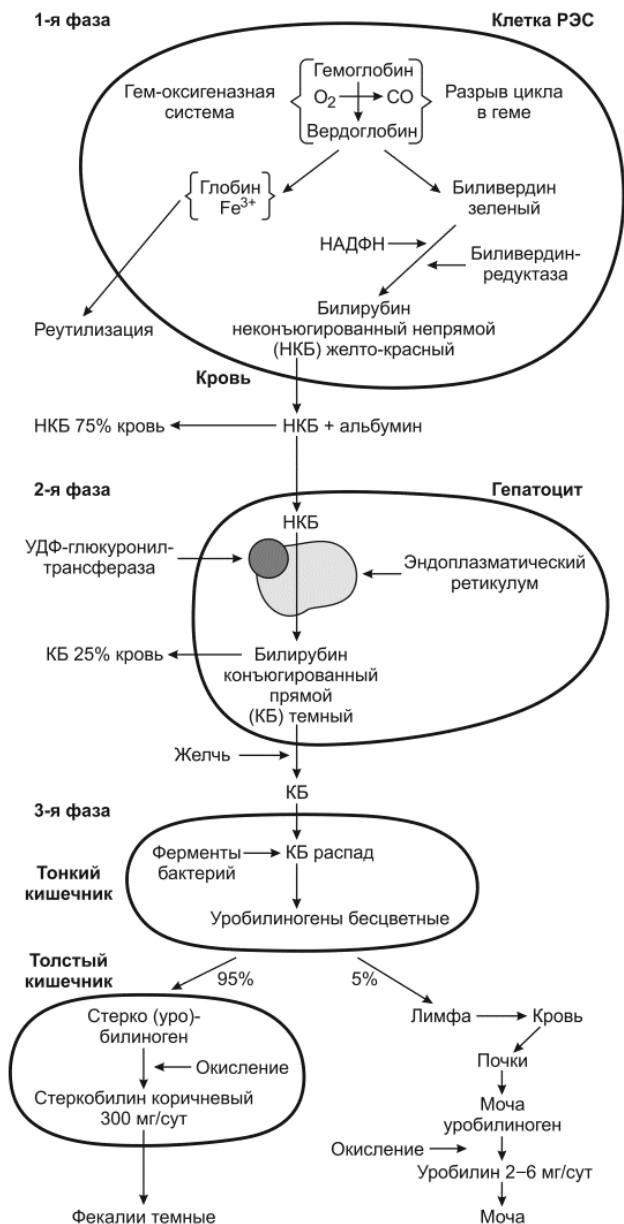
2. Белок множественной лекарственной устойчивости или Р-гликопротеин в цитоплазматической мембране клеток как транспортная АТФаза удаляет из клетки противоопухолевые лекарства и снижает их эффективность.

Катаболизм гемоглобина Hb и гема при распаде эритроцитов (схема) происходит также через три рассмотренные фазы. При этом как промежуточное соединение образуется неконъюгированный непрямой билирубин (НКБ) — токсическое гидрофобное вещество, которое при концентрациях более 3 мг/дл окрашивает кожу и слизистые в желтый цвет (желтуха), а при 25 мг/дл проникает в нейроны и как разобщитель уменьшает синтез АТФ. У здорового человека НКБ быстро вступает в фазу конъюгации с глюкуроновой кислотой и образует хорошо растворимый конъюгированный прямой билирубин (КБ), который превращается в стеркобилин и уробилин и выводится с калом и мочой.

Полная схема катаболизма гемоглобина и гема представлена на следующей странице.



Катаболизм гемоглобина и гема



При разных видах патологии развиваются **желтухи**.

Представляемая ниже таблица может быть полезной в диагностическом плане не только студентам, но и терапевтам, инфекционистам и педиатрам. В таблице показана динамика содержания в крови, моче и кале НКБ, КБ, уробилина и стеркобилина при разных видах ненаследственных желтух. Более редкие наследственные желтухи возникают при мутациях генов ферментов и белков, участвующих в катаболизме гема.

Виды ненаследственных желтух

Желтуха	Причины возникновения	Биохимические показатели продуктов обмена билирубина		
		кровь	моча	кал
Гемолитическая	Разрушение эритроцитов (гемолиз)	Увеличение НКБ и в меньшей степени — КБ	Увеличение уробилина	Увеличение стеркобилина и темный кал
Паренхиматозная (гепатит)	Повреждение клеток печени вирусами, токсическими гепатотропными агентами	Увеличение КБ и поз-же — НКБ	Появление КБ в моче и ее потемнение, уменьшение уробилина	Уменьшение стеркобилина, обесцвеченный кал, стеаторея
Обтурационная (механическая)	Камни желчных путей, нарушение поступления желчи в кишечник	Увеличение КБ и в меньшей мере — НКБ	Появление КБ в моче и ее потемнение, уменьшение или отсутствие уробилина	Уменьшение или отсутствие стеркобилина, обесцвеченный кал, стеаторея

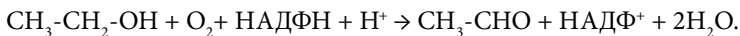
Примечание. В клинической литературе, как правило, используется следующая терминология: прямой билирубин — это КБ, непрямой билирубин — это НКБ.

Следует отдельно рассмотреть **гемолитическую желтуху** новорожденных. После рождения эритроциты ребенка с фетальным HbF разрушаются и заменяются на эритроциты с HbA. Обычно при распаде происходит координированный процесс без накопления НКБ и без желтухи или с краткой желтухой, не требующий лечения. Однако у некоторых новорожденных возникает стойкая желтуха из-за репрессии или мутации гена УДФ-глюкуронилтрансферазы, что может привести к энцефалопатии, вызванной НКБ. Срочное лечение под контролем анализа билирубина: фенobarбитал (индуктор репрессированного гена указанного фермента) и современная фототерапия, которая приводит к окислению — изомеризации НКБ и его удалению из организма.

Метаболизм этанола

В лекции по углеводам (лекция 15) был рассмотрен главный путь окисления этанола с помощью НАД-зависимых дегидрогеназ. При больших дозах включается дополнительная реакция окисления этанола в печени с участием изофермента II E₁ цитохрома P450:





Продукты метаболизма этанола (ацетальдегид, НАДН, кетоновые тела, активные формы кислорода) повреждают печень (накопление жира, холестерина, перекисное окисление липидов, цирроз), другие органы, нервную систему (нарушен обмен медиаторов).

Биотрансформация лекарств

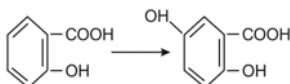
Биотрансформация лекарств увеличивает их растворимость и эффективность, инактивирует и ускоряет выведение с мочой и калом.

1. Некоторые статины после биотрансформации ингибируют ГМГ-КоА-редуктазу и уменьшают количество холестерина в организме.

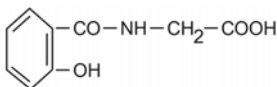
2. Фенацетин в организме превращается в более эффективный и менее токсичный противовоспалительный парацетамол, который теперь выпускается как самостоятельный препарат вместо фенацетина.

3. Многократно рассмотренный ранее аспирин после ацетилирования и инактивации циклооксигеназы I образует побочный метаболит — салициловую кислоту.

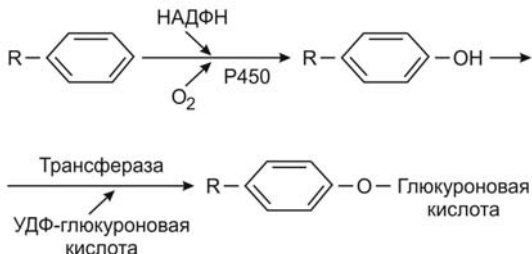
Салициловая кислота подвергается гидроксилированию, катализируемому цитохромом P450 (1-я фаза):



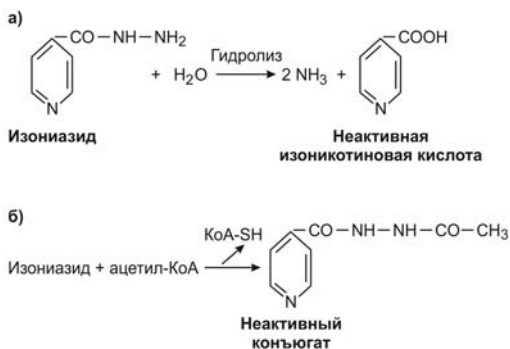
и после 2-й фазы конъюгации с глицином увеличивает дополнительно свою гидрофильность и легко удаляется с мочой:



4. Фенобарбитал (снотворное средство) обезвреживается по двухфазной схеме:



5. Два способа обезвреживания противотуберкулезного лекарства изониазида необходимы для противодействия его побочному эффекту — созданию дефицита витамина В₆ и фосфопиридоксала.

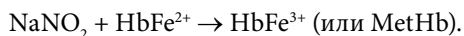


Химический канцерогенез

Многие ксенобиотики являются канцерогенами (в том числе после биотрансформации в организме человека): сырье и продукты химических и других производств; лекарства при их длительном и неправильном использовании; компоненты некачественной пищи, окисленный пищевой холестерол, нитраты, красители, неочищенная вода.

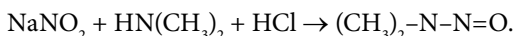
Пищевые продукты и вода могут содержать недопустимые количества нитратов, которые при кулинарной обработке или прямо в организме превращаются в нитриты и их метаболиты-канцерогены.

Нитриты, во-первых, окисляют железо Fe²⁺ гема в составе ферментов ЦПЭ и P450, а также в составе Hb:



Метгемоглобин (MetHb) не обладает способностью снабжать органы и ткани кислородом и поэтому нитриты вызывают гипоксию. Одновременно при окислении нитритами оксигемоглобина дополнительно образуется супероксидный анион-радикал O₂^{•-} (прооксидант), активирующий процессы перекисного окисления, которые могут инициировать опухолевые перерождения тканей.

Во-вторых, в кислой среде желудка пищевые нитриты и вторичные алифатические амины образуют нитрозамины:



Нитрозамины в желудке и в других органах вызывают рак путем метилирования ДНК и образования в ней O_6 -метилгуанина и N_7 -метилгуанина.

В-третьих, нитриты окисляют цитозин в ДНК и РНК, превращая его в урацил, изменяя первичную структуру ДНК, РНК и индуцируя мутации в эукариотических ДНК и геномных вирусных РНК. Соответствующее уравнение реакции представлено в лекции №8.

При иницировании рака в различных органах важное значение имеет соотношение прооксидантов и антиоксидантов. Например, установлено, что в динамике канцерогенеза уже на стадии предрака предстательной железы (простатическая интраэпителиальная неоплазия высокой степени) увеличен в организме уровень прооксидантов (алюминия и продуктов перекисного окисления липидов) и понижено содержание их антагонистов-антиоксидантов (витаминов Е и С, каротиноидов, ликопина, германия, селена). Эти данные получены в 1 МГМУ им. И.М. Сеченова — в НИИ уронефрологии и на кафедре биохимии (Глыбочко П.В., Зезеров Е.Г., Аляев Ю.Г., Бутнару Д.В., Осипов Е.В. и др. — Сеченовский вестник. — 2015. — №1 (19). — Р. 4–19 на английском языке; 2011. — №1 (3). — С. 35–41; 2011. — №3 (5). — С. 4–13).

При производстве анилиновых красителей используются ароматические амины. Один из них — 2-нафтиламин при попадании в организм человека проходит 1-ю фазу биотрансформации с цитохромом P450 и превращается в печени в канцероген — 2-амино-1-нафтол. Однако после 2-й фазы конъюгации с сульфатом он обезвреживается, но при удалении с мочой и отщеплении сульфата вновь активизируется и может вызвать рак мочевого пузыря. Полициклические ароматические углеводороды (бензантрацен и др.), образующиеся при неполном сгорании нефти, угля, масел и табака, при участии цитохрома P450 превращаются в реакционно-способные эпоксиды-канцерогены. Они формируют ковалентные связи с пуринами ДНК и вызывают рак кожи и легких. Афлатоксин B₁ плесневых грибов *Aspergillus flavus* контаминирует пищевые продукты, в организме превращается в эпоксиды и иницирует рак печени.



Биохимия крови

Плазма крови

Выполняет функции: трофическую (питательную), буферную, осмотическую, транспортную, удаление конечных метаболитов, защитную, гемодинамическую (создает необходимую вязкость жидкости).

Плазма крови содержит многочисленные компоненты: белки, ферменты, продукты переваривания и всасывания пищи, промежуточные метаболиты и удаляемые из организма вещества.

Рассматриваем ферменты и белки.

Ферменты плазмы, две группы:

- внутриклеточные ферменты выходят в кровь при разрушении клеток, оставаясь активными или теряя активность;
- функционируют и катализируют реакции в крови — ЛП-липаза, ферменты системы свертывания крови (тромбин и др.) и противосвертывающие ферменты (плазмин).

Белки плазмы крови

I. Альбумин — белок из одной цепи (585 АК), глобулярный, доменный (с несколькими центрами связывания для разных лигандов), имеет много дикарбоксильных АК, создающих на поверхности белка 18 отрицательных зарядов.

Функции:

- 1) транспорт по крови как экзогенных веществ (гидрофобные лекарства, металлы), так и эндогенных гидрофобных молекул (гормоны, жирные кислоты, непрямой билирубин);
- 2) создание онкотического и опосредованно — осмотического давления крови.



Осмотическое давление крови создают соли и вода, связанные с отрицательно заряженной поверхностью альбумина.



При патологии с повышением проницаемости капилляров (болезни сердечно-сосудистой системы, аллергия) альбумин проникает в межклеточную жидкость вместе с водой и солями, образуя отеки.

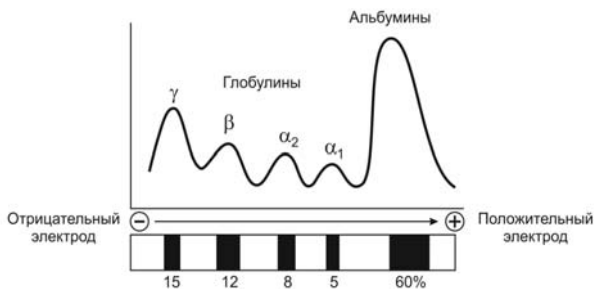
Диагностическое значение величины концентрации альбумина в крови (норма — 3,5–5,0 г/дл):

- 1) повышение — при дегидратации;
- 2) уменьшение — болезни печени (альбумин синтезируется в печени), кишечника и почек, голодание, геморрагии.

II. Глобулины:

- 1) α_1 -глобулины — переносят по крови гормоны (кортизол и др.), витамины (A, B₁₂);
- 2) α_2 -глобулины переносят витамины E и K;
- 3) β -глобулины транспортируют тестостерон, эстрогены, железо;
- 4) γ -глобулины; в эту фракцию белков входят иммуноглобулины (Ig)-антитела. Они являются наибольшими белками плазмы с наименьшим отрицательным зарядом поверхности и потому с наименьшей электрофоретической подвижностью и с изоэлектрической точкой близкой к pH = 7,0 (около 6,5).

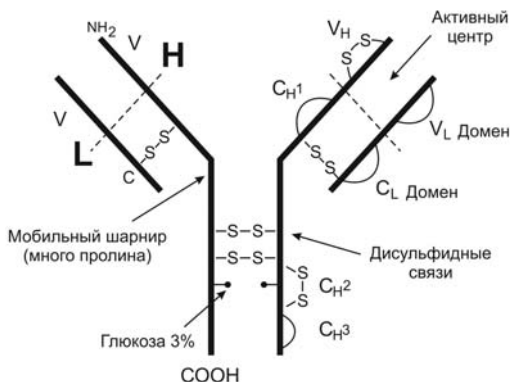
Электрофореграмма белков сыворотки крови и их количественное соотношение



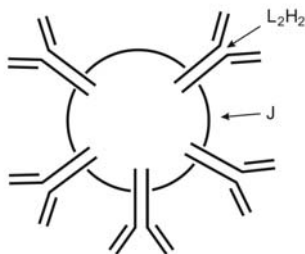
Структура легкой L- и тяжелой H-цепей Ig. N-концы обеих цепей (вместе) образуют активный центр молекулы антитела, с которым взаимодействует антиген по принципу комплементарности.



Строение иммуноглобулинов класса IgG. Биохимический тетрамер L₂H₂ или иммунологический мономер с двумя активными центрами.



Строение секреторного (плазменного) иммуноглобулина класса IgM (L₂H₂)₅J



Эритроциты

Эритроциты не имеют ядра и органелл. Два компонента эритроцитов:

- 1) цитоплазма с ферментами, метаболитами, гемоглобином и
- 2) цитоплазматическая мембрана, содержащая:
 - а) гликопротеины — гликофорины А (рецептор для вируса гриппа и малярийного плазмодия), В, С;



- б) гликолипиды — антигены А,В,О детерминируют группы крови системы АВО (лекция №9);
- в) транспортные АТФазы для перемещения Na,K,Ca;
- г) ГЛЮТ-1 — белок — переносчик глюкозы из крови в эритроцит;
- д) белок-анионообменник перемещает в тканевых эритроцитах хлор в клетку, а бикарбонаты в плазму.

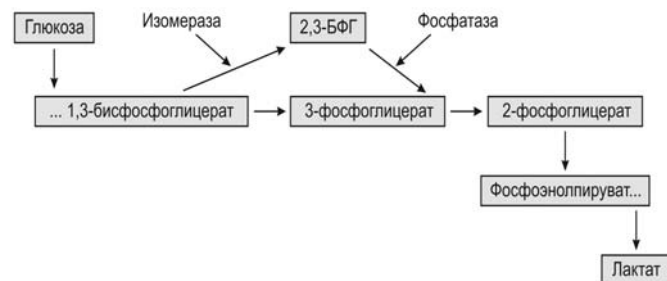
Метаболизм эритроцита

Включает только два процесса, необходимые для защиты эритроцита от разрушения мембраны и от окисления гемоглобина Hb.

1. Анаэробный гликолиз. Его роль:

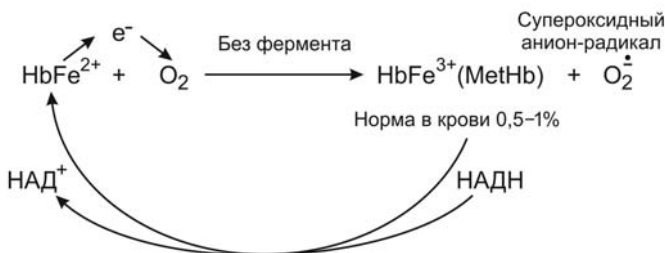
- поставляет 2 молекулы АТФ для работы мембранной Na, K-АТФазы, обеспечивающей поступление в эритроцит K и удаление Na для предотвращения гемолиза;
- синтез из глюкозы 2,3-бисфосфоглицерата, взаимодействующего с окси-Hb и освобождающего кислород в тканях.

Цикл 2,3-бисфосфоглицерата в эритроците.



- образование НАДН, который в эритроците защищает железо Hb от окисления и уменьшает количество формирующегося спонтанно или под действием разных окислителей MetHb, не способного обеспечивать ткани кислородом.

Окисление и регенерация Hb с помощью НАДН.



2. **Второй процесс** в эритроците — пентозофосфатный путь (ПФП).

Эритроцит затрачивает 10% глюкозы на ПФП (90% — на гликолиз) практически с одной целью — получить единственным путем НАДФН (в других клетках имеется 2-й источник НАДФН — ОПК).

В эритроците НАДФН:

- 1) восстанавливает дисульфидные связи в глобинах HbS-SHb (в тельцах Хайнца) и регенерирует Hb-SH ;
- 2) регенерирует восстановленный глутатион G-SH как кофермент глутатионпероксидазы, катализирующей в эритроците распад перекиси водорода и гидроперекисей жирных кислот. Оба эффекта НАДФН предотвращают разрушение мембраны эритроцитов и гемолиз.

Синтез гема (схема) и гемоглобина (Hb)

В клетках эритроидного ряда происходит порознь синтез гема (в цитозоле и митохондриях) и глобина (в рибосомах цитозоля) с последующей сборкой молекул Hb.

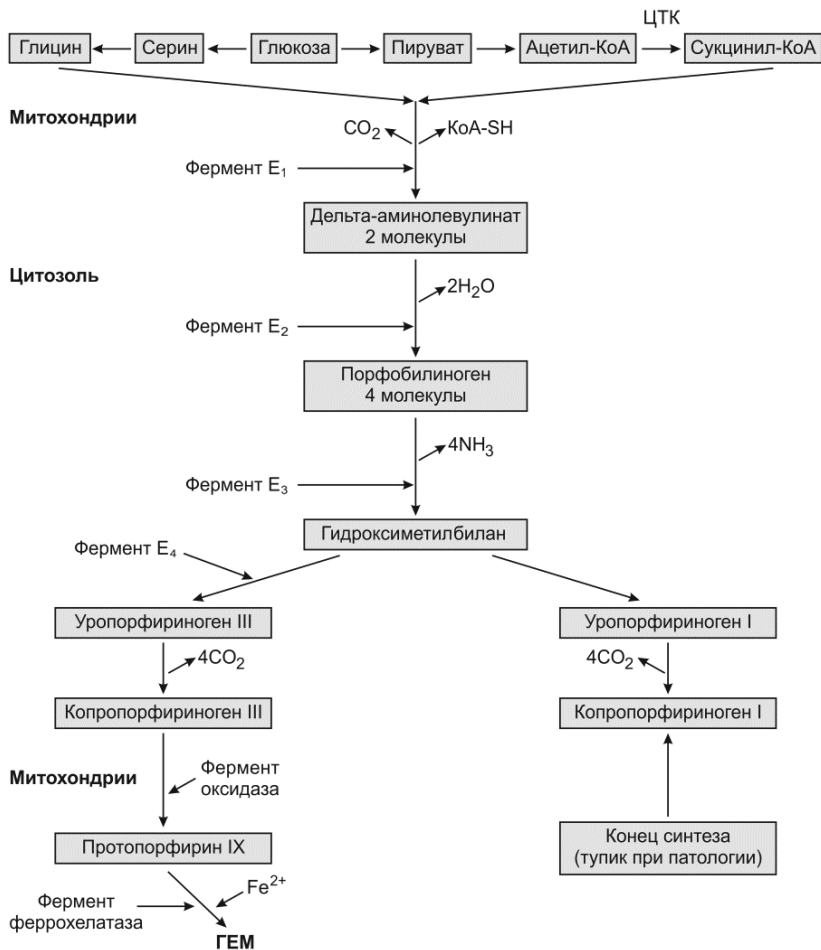
Регуляторные ферменты:

- 1) 5-аминолевуленатсинтаза E_1 с пиридоксальфосфатом (ингибитор — гем, активаторы — железо, стероидные гормоны, цитохром P450-зависимые лекарства);
- 2) 5-аминолевулинатдегидратаза E_2 (ингибитор — гем).

Избыток гема аллостерически ингибирует собственный синтез (через эти ферменты) и одновременно активирует синтез глобинов на уровне трансляции. Избыток железа ускоряет синтез E_1 (на уровне трансляции) и соответственно гема.



Синтез гема



Патология. Острая перемежающаяся порфирия — следствие доминантной мутации гена фермента E_3 с недостаточным количеством гема, Hb и эритроцитов и с избытком метаболитов в печени, жидкостях, кале. Полиорганные расстройства. Назначаемые по другим показаниям лекарства — индукторы E_1 провоцируют приступы данной болезни.

Более редкая врожденная эритроцитарная порфирия, вызванная рецессивными мутациями гена фермента E_4 , также уменьшает количество гема и Hb (анемия) и создает избыток как предшествующих метаболитов, так и тупиковых — бесцветных порфириногенов. В коже, слизистых, жидкостях они окисляются в темные порфирины. При освещении происходит их флуоресценция с излучением красного света от кожи, слизистых и с образованием активных токсических форм кислорода, вызывающих перекисное окисление липидов мембран, образование дефектов и рака кожи и слизистых.

Обмен железа

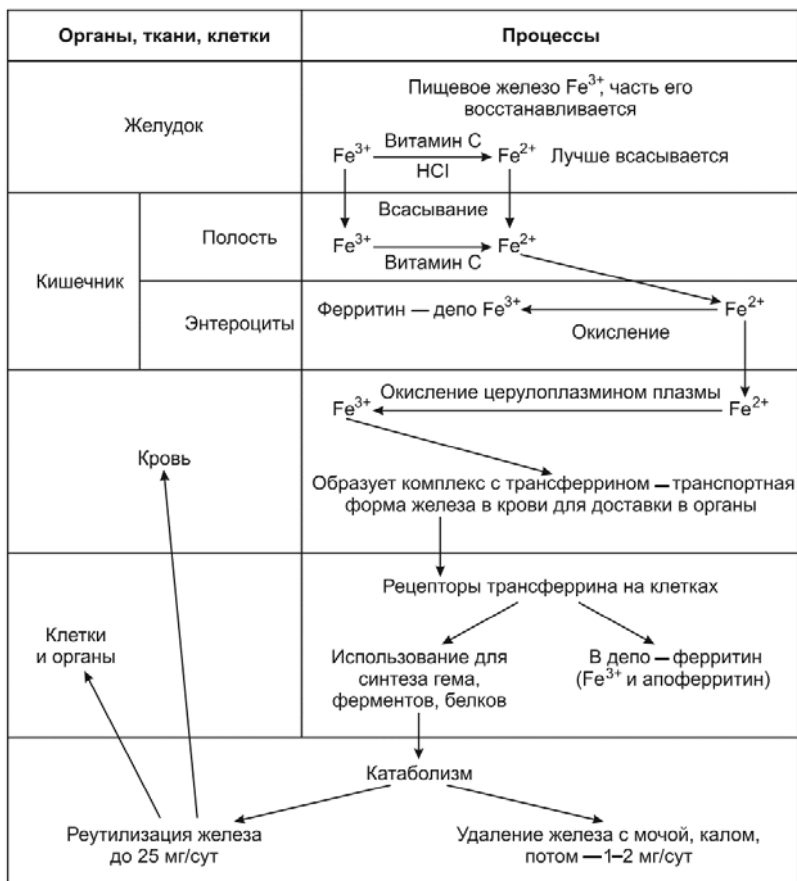
Обмен железа (схема). Железо входит в состав Hb (68%), Mb мышц (4%), цитохромов, Fe-содержащих белков и ферментов.

Из поступающего в организм человека железа всасывается в ЖКТ только 10%, а выделяется с мочой, калом и потом 1–2 мг/сут. Пища содержит в основном железо со степенью окисления $3+$ (Fe^{3+}). В организме железо меняет степень окисления: для быстрого пересечения мембран необходим менее заряженный ион (Fe^{2+}), а для хранения в депо (ферритин, трансферрин) — ион с максимальной степенью окисления и более безопасный Fe^{3+} . Fe^{2+} является инициатором перекисного окисления липидов и поэтому циркулирует недолго.

На схеме представлены все этапы поступления, циркуляции, использования, реутилизации и выведения железа из организма.



Метаболизм железа



Регуляция обмена железа

Избыток пищевого Fe увеличивает на уровне трансляции синтез в энтероцитах ферритина — депо для Fe и наоборот, а его избыток внутри клеток уменьшает трансляцию белков — рецепторов для трансферрина и уменьшает транспорт Fe в клетки.

Патология

1. Насыщение тканей железом вызывает гемохроматоз и поражение многих органов из-за отложения в них нерастворимого гемосидерина с Fe^{3+} .



2. Недостаток железа (неполноценная пища, болезни ЖКТ, частые кровопотери, донорство, мутации) вызывает развитие железодефицитных анемий и другую патологию.

Все изученные нами за два семестра виды анемий:

- 1) железодефицитные;
- 2) серповидно-клеточная;
- 3) макроцитарные или мегалобластические;
- 4) гипохромные;
- 5) гемолитические;
- 6) при порфириях;
- 7) при талассемиях.



Свертывание крови

Система гемостаза включает следующее.

1. Набор белковых (ферментативных) факторов. Они синтезируются в печени, за исключением фактора VIII, образующегося в эндотелии, и тканевого фактора III.

2. Каскад реакций с прямыми и обратными положительными регуляторными сигналами.

Биохимические элементы гемостаза

I. Тканевой фактор III (мембранный липопротеин) при повреждении сосудов (раны) становится инициатором внешнего пути свертывания крови.

II. Белки V и VIII активируются частичным протеолизом, катализируемым фактором IIa (для обоих) и фактором Ха (для фактора V).

III. Ферменты — сериновые протеазы. Это факторы II, VII, IX, X, XI, XII. Активируются частичным протеолизом:



IV. Глутамилкарбоксилаза с коферментом K_2H_2 (на основе витамина К) катализирует образование дополнительного карбоксила в глутаминовой кислоте (Глу) факторов II, VII, IX, X и в протеине С, что увеличивает связывание кальция этими факторами.

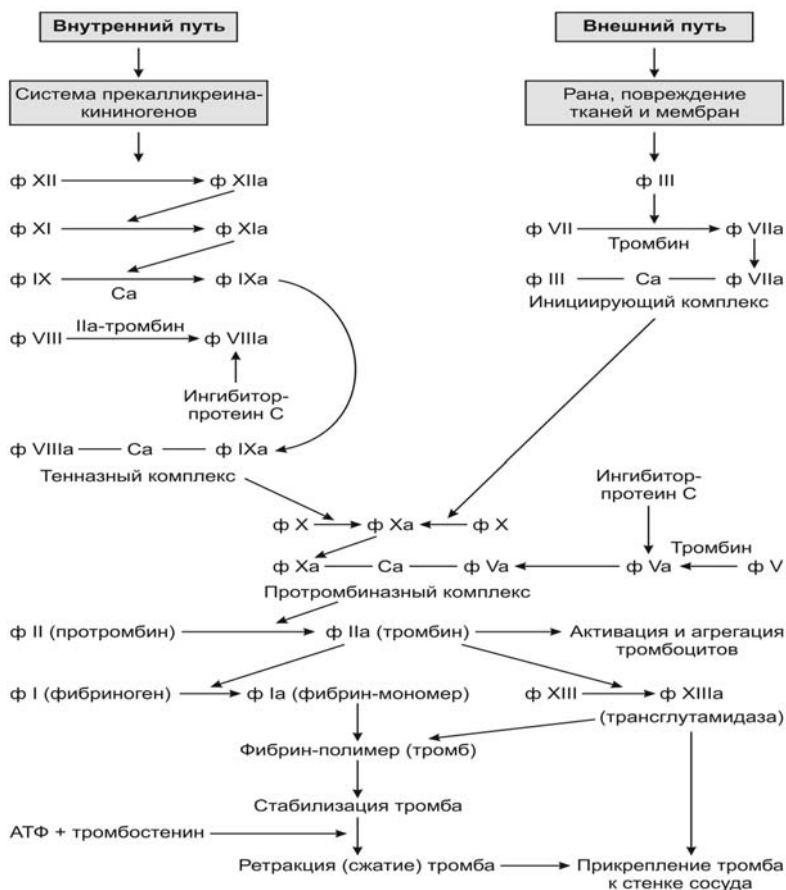


V. Последний компонент системы гемостаза ион Ca^{2+} формирует три основных комплекса — триаду (фермент — ион Ca — белок) — и в этих комплексах происходит активация факторов свертывания крови.

Эти комплексы:

- 1) иницирующий комплекс для внешнего пути свертывания крови
фактор VIIa — ион Ca — тканевой фактор III;
- 2) тенназный комплекс для внутреннего пути
фактор IXa — ион Ca — фактор VIIIa;
- 3) протромбиназный комплекс для обоих путей
фактор Xa — ион Ca — фактор Va.

Пути свертывания крови

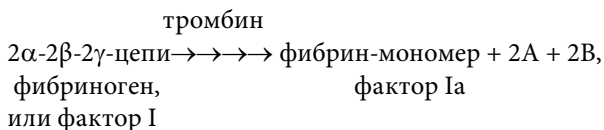


Два пути свертывания крови

Внешний путь включается при повреждении тканей и сосудов с освобождением тканевого фактора III.

Внутренний путь провоцируется эндогенными факторами без внешнего повреждения интимы сосудов, например злокачественными атеросклеротическими бляшками или обнаженным в интима артерий коллагеном, с которым связывается фактор XII.

Начало двух путей разное, но после активации фактора X дальнейшие этапы одинаковые. Активированный тромбин IIa катализирует частичный протеолиз фибриногена (состоит из трех пар разных цепей) с освобождением двух пептидов A и B:

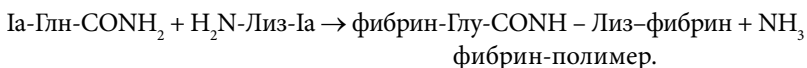


Фибрин-мономер (фактор Ia) полимеризуется, образуя нерастворимый фибрин-полимер (рыхлый тромб).

Стабилизация тромба:

- активированная тромбином (IIa) трансклутамидаза (XIIIa) катализирует образование междирадикальных ковалентных изопептидных связей Глн–Лиз между фибрин-мономерами (Ia) и между фактором Ia и фибронектином стенки сосуда;
- сжатие (ретракция) тромба микрофиламентами тромбоцитов с их АТФазой (тромбостенином) за счет энергии АТФ. Теперь стабилизированный тромб останавливает кровотечение из раны (внешний путь) или закупоривает сосуд (внутренний путь).

Реакция, катализируемая трансклутамидазой (фактор XIIIa) между двумя молекулами фибрин-мономеров (Ia):



В каскаде представленных в схеме реакций с активацией ферментов и белков происходит последовательное ускорение этих реакций благодаря прямым или обратным положительным связям.

А. Прямые положительные связи: тромбин (IIa) → трансклутамидаза (XIIIa) и тромбоциты (активация и агрегация).



Б. Обратные положительные связи: тромбин (IIa) → активация ферментов-белков Va, VIIa, VIIIa.

Такие механизмы регуляции приводят к лавинообразному ускорению процесса свертывания крови.

Наследственные и ненаследственные нарушения системы гемостаза

1. Гемофилии А и В — заболевания мужчин, сцепленные с полом (с X-хромосомой). Вызваны рецессивными мутациями генов фактора VIII и IX соответственно с нарушением внутреннего пути свертывания (геморрагии).

2. Мутации гена трансглутамидазы вызывают нарушение обоих путей свертывания (остается рыхлый тромб, не прикрепляется к стенке сосуда, геморрагии).

3. Наоборот, при синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдром) происходят частые тромбозы в разных участках тела из-за ускоренного образования тромбина и тромбов.

4. Аналогично ускоренное свертывание и тромбозы возникают при разных мутациях генов системы белка С (белки С, S, V) с нарушениями внешнего и внутреннего путей.

Лекарства, изменяющие скорость коагуляции:

- а) структурные аналоги витамина К (дикумарин, варфарин) — противосвертывающие средства. Они как конкурентные ингибиторы карбоксилазы Глу уменьшают связывание Са с факторами и скорость образования трех комплексов гемостаза;
- б) напротив, сам витамин К увеличивает карбоксилирование Глу и усиливает гемостаз (при здоровой печени и нормальной секреции желчи).

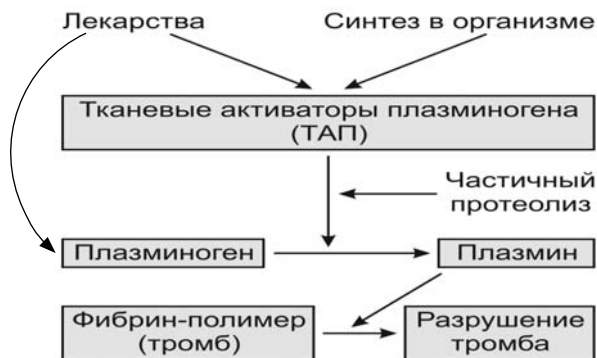
В организме даже здорового человека постоянно происходят образование микротромбов и их распад благодаря **антикоагулянтной системе**. Ее состав:

- 1) белки плазмы крови антитромбин III, α_2 -макроглобулин, α_1 -анти-трипсин ингибируют тромбин и другие факторы по механизму белок — белковое ингибирование;
- 2) система протеина С (белки С, S) тормозит внешний и внутренний пути свертывания;
- 3) эндогенный гепарин (гликозаминогликан) тучных клеток и его лекарственные формы изменяют конформацию антитромбина III и усиливают его способность ингибировать тромбин;
- 4) комплекс ферментов фибринолиза и тромболизиса: сериновые протеазы — активаторы пламиногена (образуются в эндотелии и эпи-



тели канальцев почек) формируют плазмин (методом частичного протеолиза), который катализирует распад фибрина и тромба. Существуют лекарства-активаторы плазминогена, которые назначают срочно при инфаркте миокарда.

Система фибринолиза и тромболиза



В качестве итога — перечень лекарств-антикоагулянтов:

- 1) дикумарин и варфарин — обратимые конкурентные ингибиторы карбоксилазы Глу, необходимой для образования трех комплексов системы свертывания крови;
- 2) необратимые активаторы плазминогена формируют плазмин, катализирующий протеолиз тромбов;
- 3) гепарины — не прямые ингибиторы тромбина (IIa) и других факторов — сериновых протеаз (IXa, Xa, XIIa) — через увеличение прямого ингибирующего эффекта на них антитромбина III, конформацию которого изменяют гепарины;
- 4) дабигатран — прямой обратимый конкурентный ингибитор тромбина;
- 5) гирудин из пиявок и генно-инженерные лекарства на его основе — прямые селективные ингибиторы тромбина;
- 6) апиксабан — прямой обратимый ингибитор фактора Xa;
- 7) клопидогрел — ингибитор агрегации тромбоцитов, блокирующий их рецептор для АДФ;
- 8) аспирин необратимо ингибирует циклооксигеназу I и уменьшает синтез тромбоксанов (на основе арахидоновой кислоты), которые усиливают агрегацию тромбоцитов и свертывание крови с сужением сосудов (антиатерогенный эффект аспирина!).



Литература

1. **Аляев Ю.Г., Асламазов Э.Г., Северин Е.С., Зезеров Е.Г., Забежинская О.М.** Обратная транскриптазная полимеразная цепная реакция в диагностике микрометастазов при раке предстательной железы // Андрология и генитальная хирургия. — 2003. — № 3–4. — С. 10–18.
2. **Аляев Ю.Г., Асламазов Э.Г., Северин С.Е., Зезеров Е.Г., Забежинская О.М.** Клиническое значение выявления клеток рака предстательной железы в крови с помощью обратной транскриптазной полимеразной цепной реакции // Андрология и генитальная хирургия. — 2009. — №2. — С. 41–47.
3. **Ашмарин И.П., Зезеров Е.Г., Ключарёв Л.А.** Определение примесей белка и аминокислот в препаратах ДНК, РНК и рибонуклеотидов с помощью различных методов // Вестник Ленинградского гос. ун-та, сер. биол. — 1967. — №9, вып. 2. — С. 93–105.
4. Биологическая химия с упражнениями и задачами / Учебник под ред. С.Е. Северина. — М.: Изд-во ГЭОТАР-Медиа, 2011. — 623 с.
5. Биохимия. — Учебник под ред. Е.С. Северина. — М.: Изд-во ГЭОТАР-Медиа, 2003. — 783 с.
6. **Бутнару Д., Безруков Е., Спиричев В., Зезеров Е., Барашков Г., Бекетова Н., Переверзева О.** Роль антиоксидантов и продуктов перекисного окисления липидов при заболеваниях предстательной железы // Врач. — 2006. — №6. — С. 24–26.
7. **Глыбочко П.В., Бутнару Д.В., Зезеров Е.Г., Аляев Ю.Г., Северин С.Е., Барашков Г.К., Варшавский В.А., Винаров А.З., Безруков Е.А., Осипов Е.В., Зайцева Л.И.** Микроэлементы при опухолях предстательной железы // Сеченовский вестник. — 2011. — №1(3)–2(4). — С. 35–41.
8. **Глыбочко П.В., Зезеров Е.Г., Аляев Ю.Г., Спиричев В.Б., Бутнару Д.В., Северин С.Е., Винаров А.З., Бекетова Н.А., Переверзева О.Г., Варшавский В.А., Осипов Е.В., Безруков Е.А.** Витамины и каротиноиды в динамике процесса онкогенеза предстательной железы // Сеченовский вестник. — 2011. — №3(5)–4(6). — С. 4–13.
9. **Забежинская О.М., Асламазов Э.Г., Глухов А.И., Аляев Ю.Г., Зезеров Е.Г., Белишкина Н.Н., Северин Е.С.** Выявление микрометастазов рака предстательной железы с помощью совмещенных реакций обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции // Вопросы биол., мед., фарм. химии. — 2002. — №3. — С. 28–32.



10. Зезеров Е.Г., Северин Е.С. Молекулярные механизмы онкогенеза предстательной железы // Вестник РАМН. — 1998. — №5. — С. 29–35.
11. Зезеров Е.Г. Алкоголизм // Биохимические основы патологических процессов: Учебное пособие. — М.: Изд-во Медицина, 2000. — С. 211–230.
12. Зезеров Е.Г. Алкоголизм // Патологическая физиология и биохимия: Учебное пособие. — М.: Изд-во Экзамен, 2005. — С. 303–325.
13. Зезеров Е.Г. Биохимики — ученые и педагоги IX, XX, XXI веков медицинского факультета Императорского Московского университета — медицинского факультета 1-го МГУ — 1-го Московского медицинского института — Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова (к 250-летию вуза) / Сборник кафедры биохимии ММА. — М., 2008. — 37 с.
14. Зезеров Е.Г. Биохимические аспекты атеросклероза (лекция) // Вопросы биол., мед., фарм. химии. — 1999. — №1. — С. 49–55.
15. Зезеров Е.Г. Биохимические механизмы острого и хронического действия этанола на организм человека (лекция) // Вопросы биол., мед., фарм. химии. — 1998. — №2. — С. 47–54.
16. Зезеров Е.Г. Гормональные и молекулярно-биологические факторы патогенеза предстательной железы // Вопросы онкологии. — 2001. — Т. 47, № 2. — С. 174–181.
17. Зезеров Е.Г. Изучение биосинтеза белка по включению меченого метионина // Биохимия. — 1960. — Т. 25, №4. — С. 727–734.
18. Зезеров Е.Г. Изучение изоферментов и четвертичной структуры ферментов // Биохимия. — 1973. — Т. 38, №3. — С. 650–652.
19. Зезеров Е.Г. Курс аудиолекций по биохимии для студентов. — М.: ООО «ИД «Равновесие», 2011 (35 лекций, продолжительность 36 ч). Отдельное издание — CD/DVD-ROM и на портале ООО «ИД «Равновесие» — <http://salebook.ru/index.php?cd=2819>.
20. Зезеров Е.Г. Курс лекций для студентов «Биохимия (общая, медицинская, фармакологическая)», 34 лекции. — М.: Изд-во Медицинское информационное агенство, 2014. — 456 с. + аудиокурс CD-ROM.
21. Зезеров Е.Г. Нобелевские лауреаты в области биохимии // Вопросы биол., мед., фарм. химии. — 1999. — №4. — С. 50–52.
22. Зезеров Е.Г. Первичная структура и функции концевых участков рибонуклеиновых кислот // Биохимия. — 1977. — Т. 42, №5. — С. 771–783.
23. Зезеров Е.Г. Полиадениловые последовательности в рибонуклеиновых кислотах // Биохимия. — 1974. — Т. 39, №3. — С. 674–676.
24. Зезеров Е.Г. Простатический специфический мембранный антиген как новый высокоспецифический маркер рака предстательной железы // Клиническая лабораторная диагностика. — 1999. — №9. — С. 19–19.



25. Зезеров Е.Г. Рак предстательной железы (молекулярно-биологические аспекты и диагностика) — итоги 13-летней работы // Биомедицина XXI века: достижения и перспективные направления развития: Сборник научных трудов Российской академии естественных наук. М.: Изд-во РАЕН, 2008. — С. 149–156.
26. Зезеров Е.Г. Элементы физиологии и биохимии иммунитета // Патологическая физиология и биохимия: Учебное пособие. — М.: Изд-во Экзамен, 2005. — С. 326–365.
27. Зезеров Е.Г., Авдеева Л.В. Патология азотистого обмена // Патологическая физиология и биохимия: Учебное пособие. — М.: Изд-во Экзамен, 2005. — С. 75–95.
28. Зезеров Е.Г., Губарева А.Е. Биохимические механизмы патологии обмена липидов. — Там же. — С. 122–154.
29. Зезеров Е.Г., Ерёмченко Ю.Д., Логинов В.С., Березнева А.С. Жирнокислотный состав риккетсий *Prowacheka* // Журнал микробиологии. — 1990, №2. — С. 111–112.
30. Зезеров Е.Г., Коваленко Н.А., Забежинская О.М., Лесничук С.А., Курьинин Р.В., Асламазов Э.Г., Винаров А.З., Безруков Е.А., Поляковский К.А., Бутнару Д.В., Спиричев В.Б., Бекетова Н.А., Переверзева О.Г., Попова О.Н., Барашков Г.К., Зайцева Л.И., Глухов А.И., Белушкина Н.Н., Аляев Ю.Г. Изучение клинической ценности определения активности теломеразы, ДНК-плоидности, содержания в крови витаминов, микроэлементов и мРНК ПСА-продуцирующих клеток для диагностики простатической интраэпителиальной неоплазии, рака предстательной железы и его микрометастазов // Вопросы биол., мед., фарм. химии. — 2005. — №3. — С. 44–54.
31. Зезеров Е.Г., Логинов В.С., Березнева А.С. Полипептидный и фосфолипидный состав оболочки *Rickettsia prowazekii* и ее иммунные свойства // Журнал микробиологии. — 1985. — №6. — С. 6–13.
32. Зезеров Е.Г., Пшеничников В.А., Семёнов Б.Ф. Стандартизация методов вирусологических исследований. — М.: Изд-во Медицина, 1974. — 168 с.
33. Зезеров Е.Г., Северин Е.С. «Простатические» калликреины, половые гормоны, инсулинподобные факторы роста — комплекс регуляторных элементов у мужчин и женщин при физиологических процессах и канцерогенезе // Вестник РАМН. — 1999. — № 3. — С. 49–56.
34. Зезеров Е.Г., Северин Е.С. Молекулярные механизмы рака предстательной железы — перспективы лабораторной диагностики и лечения // Юбилейный (к 10-летию) сборник научных трудов РАЕН. — М.: Изд-во РАЕН, 2000. — С. 92–103.



35. Зезеров Е.Г., Северин Е.С. Опухоли предстательной железы — новые тенденции в диагностике и лечении // Клиническая лабораторная диагностика. — 1997. — № 5. — С. 32–32.
36. Зезеров Е.Г., Хрипунова И.И. Электрометрический метод изучения тканевого дыхания // Биохимия. — 1961. — Т. 26, №1. — С. 86–92; Румыно-советские записки, сер. биол. — 1962. — Т. 26, сер. 3а, №1 (54). — С. 133–140 (на румынском языке).
37. Климов А.Н., Зезеров Е.Г. Действие пенициллина и стрептомицина на спиртовое брожение и на гликолиз в животных тканях // Труды ВМОЛА им. С.М. Кирова. — Л., 1958. — Т. 83. — С. 94–111.
38. Климов А.Н., Зезеров Е.Г. О нарушении дыхания и окислительного фосфорилирования в животных тканях при действии антибиотиков и некоторых других агентов // Труды Ин-та экспериментальной медицины АМН СССР. Симпозиум «Фосфорилирование и функция». — Л., 1960. — С. 129–136.
39. Коваленко Н.А., Головченко К.В., Лесничук С.А., Аляев Ю.Г., Северин С.Е., Винаров А.З., Зезеров Е.Г., Глухов А.И., Северин Е.С. Определение активности теломеразы в новообразованиях почки и простаты // Вопросы биол., мед., фарм. химии. — 2003. — № 1. — С. 21–25.
40. Коган А.Х., Гепте Н.А., Зезеров Е.Г., Болевич С., Тугаринова Г.В. Способ определения супероксидной активности выдыхаемого воздуха у больных и здоровых людей. Патент Роспатента № 2128338 27.03.1999. — 5 с.
41. Коган А.Х., Гепте Н.А., Зезеров Е.Г., Болевич С., Тугаринова Г.В. Способ определения просупероксидной активности выдыхаемого воздуха у больных и здоровых людей. Патент Роспатента № 2104535 10.02.1998. — 5 с.
42. Костюков В.И., Яров А.И., Зезеров Е.Г. Структурные протективные антигены вирусов, используемые для разработки химических вакцин нового типа // Вопросы вирусологии. — 1982. — №1. — С. 5–11.
43. Логинов В.С., Зезеров Е.Г., Ереськин А.В. Изучение полипептидного состава и протективных антигенов риккетсий Провачека // Журнал микробиологии. — 1982. — №12. — С. 78–84.
44. Поляковский К.А., Глухов А.И., Зезеров Е.Г., Варшавский В.А., Винаров А.З., Амосов А.В., Рапопорт Л.М., Аляев Ю.Г., Северин Е.С., Зимник О.В. Простатоспецифический антиген и теломераза при онкологических заболеваниях предстательной железы // Клиническая лабораторная диагностика. — 2008, № 12. — с. 37–38.
45. Поляковский К.А., Зезеров Е.Г., Глухов А.И., Северин Е.С., Аляев Ю.Г., Винаров А.З., Рапопорт Л.М., Варшавский В.А., Зимник О.В. Теломераза как опухолевый маркер при простатической интра-



- эпителиальной неоплазии // Молекулярная медицина. — 2009. — №6. — С. 42–45.
46. *Aliaev Iu.G., Severin S.E., Kovalenko N.A., Zezerov E.G., Vinarov A.Z., Golovchenko C.V., Gluhov A.I.* Benign prostate hyperplasia, prostatic intraepithelial neoplasia, prostate cancer and telomerase activity // Progress and controversies in oncological urology VII(PACIOU VII) and the seventh congress of the dutch urological association (DUA VII). Rotterdam, Netherlands, 10–12 October 2002. — P. 145–145. (На английском языке).
47. *Alyaeв Y., Severin E., Spirichev V., Zezerov E., Vinarov A., Amosov A., Barashkov G., Beketova N., Pereverzeva O., Bezrukov E., Butnaru D., Shestiperov P.* Differences in serum concentrations of vitamins E, C, A, lycopene, carotenoids, macro- and micro-elements, products of lipid peroxidation in various prostate lesions // Eur. Urol. Suppl. — 2006. — V. 5, №2. — Abst. 580 (на английском языке).
48. *Glybochko P.V., Zezerov E.G., Butnaru D.V., Spirichev V.B., Beke-tova N.A., Barashkov G.K., Varshavsky V.A., Alyaeв Yu.G., Severin S.E., Osipov E.V., Pereverseva O.G., Bezrukov E.A., Vinarov A.Z.* Vitamins, carotenoids and microelements in prostate carcinogenesis // Сеченовский вестник. — 2015, № 1 (19). — P. 4–19. (На английском языке).
49. *Glybochko P.V., Zezerov E.G., Glukhov A.I., Alyaeв Yu.G., Severin S.E., Polyakovskiy K.A., Varshavsky V.A., Severin E.S., Vinarov A.Z.* Telomerase as a tumor marker in diagnosis of prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer // The Prostate. — 2014. — V. 74, №10. — P. 1043–1051. (На английском языке).
50. *Zézérov E.G.* Biochimie. Cours des conférences (32 conférences) // Edition de l'Académie de Médecine de Moscou I.M. Séтчéнов. — 2009. — 283 p. (18 liste de publ.). (На французском языке); электронный вариант —<http://www.mma.ru/articles/73099/>.
51. *Zezerov E.G.* Hormonal and molecular-biologic factors involved into pathogenesis of prostate cancer // International conference. Hormonal cancerogenesis: mechanisms and prevention. May 15–16, 2000: Book of abstracts. — St. Petersburg, 2000. — P. 24–25. (На английском языке).
52. *Zézérov E.G.* Abrégé de microbiologie générale, d'immunologie et de microbiologie particulière (Cours des conférences). — M.: Edition de l'Académie de Médecine de Moscou I.M. Séтчéнов, 2002. — 189 p. (Курс лекций для студентов по общей и частной микробиологии и по иммунологии на французском языке).





Для заметок



Учебное издание

Зезеров Евгений Гаврилович

Биохимия: наглядный курс

Учебное пособие

Главный редактор *А.С. Петров*

Оригинал-макет подготовлен ООО «Медицинское информационное агентство»

Санитарно-эпидемиологическое заключение

№ 77.99.60.953.Д.000945.01.10 от 21.01.2010 г.

Подписано в печать 12.07.2018. Формат 84 × 108/32

Бумага офсетная. Гарнитура «NewtonС». Печать офсетная.

Объем 17,5 печ. л. Тираж 1000 экз. Заказ №

ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство»

119048, Москва, ул. Усачева, д. 62, стр. 1, оф. 6

Тел./факс: (499) 245-45-55

E-mail: miapubl@mail.ru

<http://www.medagency.ru>

Интернет-магазин: www.medkniga.ru

