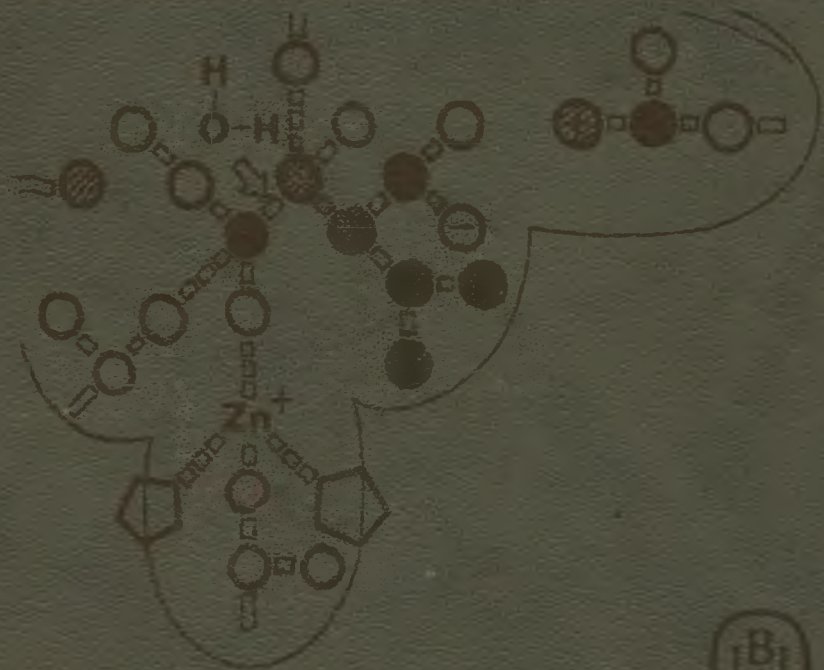
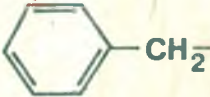
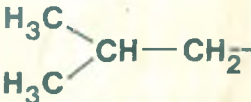
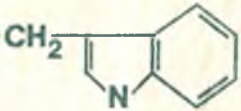
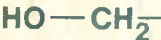
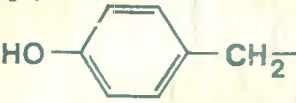



БИО

ХИМИЯ



Кодон Аминокислота Пептидный остов Аминокислота Кодон

UUU UUC	Фенилаланин Phe, F		Триптофан Trp, W	UGG
UUA UUG CUU CUC CUA CUG	Лейцин Leu, L			
UCU UCC UCA UCG AGU AGC	Серин Ser, S		Пролин Pro, P	CCU CCC CCA CCG
UAU UAC	Тирозин Tyr, Y		Гистидин His, H	CAU CAC
UGU UGC	Цистеин Cys, C		Глутамин Gln, Q	CAA CAG
			Аргинин Arg, R	CGU CGC CGA CGG AGA AGG

**Биологический
код**

Кодон	Аминокислота	Пептидный остов	Аминокислота	Кодон
AUU AUC AUA	Изолейцин Ile, I	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \diagdown \\ \text{CH} \\ \diagup \\ \text{H}_3\text{C}-\text{H}_2\text{C} \end{array}$	Валин Val, V	GUU GUC GUA GUG
AUG	Метионин Met, M	$\text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	Аланин Ala, A	GCU GCC GCA GCG
ACU ACC ACA ACG	Треонин Thr, T	$\begin{array}{c} \text{HO} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH} \end{array}$	Аспарагиновая кислота Asp, D	GAU GAC
AAU AAC	Аспарагин Asn, N	$\begin{array}{c} \text{O} \\ // \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2 \end{array}$	Глутаминовая кислота Glu, E	GAA GAG
AAA AAG	Лизин Lys, K	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	Глицин Gly, G	GGU GGC GGA GGG
		$-\text{H}$		

А.Я. Николаев

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Допущено
Министерством высшего и среднего
специального образования СССР
в качестве учебника
для студентов медицинских
специальностей высших
учебных заведений



МОСКВА «ВЫСШАЯ ШКОЛА» 1989

ББК 28.902
Н63
УДК 577.1

Рецензенты:
кафедра биохимии
2-го Московского государственного медицинского института
им. Н. И. Пирогова
(зав. кафедрой проф. А. И. Арчаков)
и проф. Д. М. Зубаиров
(Казанский государственный медицинский институт им. С. В. Курашова)

Николаев А. Я.

Н63 Биологическая химия: Учеб. для мед. спец. вузов. — М.:
Высш. шк., 1989. — 495 с.: ил.
ISBN 5—06—001400—2

В учебнике излагаются молекулярные основы физиологических функций организма человека, молекулярные механизмы патогенеза болезней, биохимические основы предупреждения и лечения болезней, биохимические методы их диагностики и контроля эффективности лечения. Автор ставит целью научить будущего врача применять в профессиональной деятельности сведения, полученные при изучении курса биохимии, рассматривая важнейшие пути их практического приложения для решения медицинских проблем.

Н 2007020000(4309000000) — 059 90—88
001(01)—89

ББК 28.902
57.04

ISBN 5—06—001400—2

© Издательство «Высшая школа» 1989

ПРЕДИСЛОВИЕ

Цель курса биохимии — научить студентов применять при изучении последующих дисциплин и в профессиональной врачебной деятельности сведения о химическом составе и молекулярных процессах организма как о характеристиках нормы и признаках патологии. Исходя из этого, в предлагаемом учебнике особое внимание уделяется сведениям о непосредственной связи молекулярных процессов с физиологическими (биологическими) функциями клетки и организма. Например, с этой точки зрения один из центральных вопросов общей биохимии — о механизмах ферментативного катализа — представляется нам менее важным, чем вопрос о субстратной специфичности и многообразии ферментов в организме.

Сведения о молекулярных механизмах патогенеза болезней, имеющиеся в каждой главе, выполняют не только информативную, но и мотивационную роль, поскольку подчеркивают значение биохимии для изучения клинических дисциплин и для будущей профессиональной деятельности. Вместе с тем биохимия должна сохранять характер фундаментальной дисциплины, составляя вместе с другими медико-биологическими дисциплинами теоретическую основу медицины.

При составлении книги мы стремились подбирать такие факты, конкретные явления, частные приложения биохимии, на основе которых проще перейти к обобщениям, чтобы, исходя из них, можно было понимать и конструировать другие конкретные явления того же класса, составляющие содержание биохимии. Такой подход позволяет решить и проблему, связанную со старением информации: знание основных концепций, закономерностей и методов биохимии помогает студенту (врачу) находить и понимать новую информацию по биохимии и применять ее для решения медицинских проблем.

При написании учебника мы исходили из того, что студенты, начинающие изучать биохимию, имеют запас знаний о молекулах и молекулярных процессах, полученный в средней школе и в курсах химических дисциплин, предшествующих или параллельных курсу биохимии. Поэтому мы в ряде случаев нарушали логику изложения химизма биохимических процессов, чтобы сохранить логику изложения их биологического смысла и значения. Этим объясняются значительные отступления от традиционной структуры учебников по биохимии.

Учебник содержит главным образом сведения о биохимии человека. Однако в него включены и такие вопросы, как молекулярные механизмы биологической эволюции, биохимия фотосинтеза у растений, поскольку они имеют существенное методологическое значение.

Для читателя важно помнить, что в каждом очередном разделе содержится больше информации, чем можно извлечь при первом чтении, основываясь на знании только предшествующих разделов. Это обычная ситуация при описании сложных кооперативных систем, в которых все части образуют единое функциональное целое. Именно к таким системам относятся объекты биологии, в том числе биохимии.

Учебник отражает результат многолетней эволюции преподавания биохимии в I-м Московском медицинском институте им. И. М. Сеченова.

Автор приносит сердечную благодарность коллективу преподавателей кафедры за поощрение, поддержку и помощь при составлении учебника. Он глубоко признателен акад. АМН СССР И. П. Ашмарину, прочитавшему учебник в рукописи, а также акад. С. Е. Северину, любезно согласившемуся организовать обсуждение рукописи сотрудниками кафедры биохимии животных Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, и с благодарностью воспользовался их советами и критическими замечаниями при подготовке этой книги к изданию. Автор благодарит также официальных рецензентов учебника: проф. Д. М. Зубаирова и А. И. Арчакова. Их обстоятельные рецензии помогли устранить ряд неточностей, имевшихся в рукописи, и в значительной степени способствовали ее улучшению.

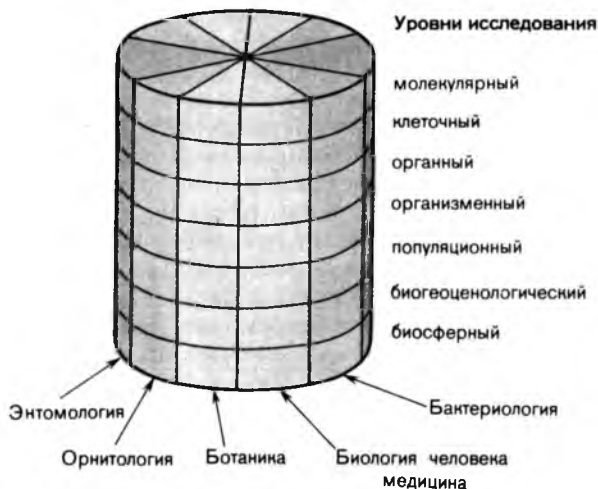
А. Я. Николаев

ВВЕДЕНИЕ

МЕСТО БИОХИМИИ СРЕДИ ДРУГИХ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Биологическая химия изучает молекулярные процессы, лежащие в основе развития и функционирования организмов. Биохимия использует методы «молекулярных» наук — химии, физической химии, молекулярной физики, и в этом отношении биохимия сама является молекулярной наукой. Однако главные конечные задачи биохимии лежат в области биологии: она изучает закономерности биологической, а не химической формы движения материи. С другой стороны, «молекулярные изобретения» природы, открываемые биохимиками, находят применение в небιологических отраслях знания и в промышленности (молекулярная бионика, биотехнология). В таких случаях биохимия выступает в роли метода, а предметом исследований и разработок являются проблемы, выходящие за пределы биологии.

Место биохимии как молекулярного уровня биологических исследований иллюстрирует рис. 1. Уровни исследования являются отражением уровней структурной организации биологических систем, образующих иерархический ряд от наиболее простых систем (молекулы организмов, молекулярный уровень) до предельно сложной земной биологической системы (биосферный уровень). Действительные связи между отраслями биологии гораздо сложнее, чем можно представить с помощью таких простых схем, как рис. 1. В частности, каждый более простой уровень организации живых систем (и, соответственно, уровень их исследования) является частью более сложных уровней. Самый первый уровень — молекулярный — уникален в том отношении, что он является составной частью систем всех других уровней биологии. Соответственно этому выделяют такие разделы биохимии,



«Слоеный пирог» биологии

как, например, молекулярная генетика, биохимическая экология. Высший уровень — биосферный — включает в себя все другие уровни.

ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ БИОХИМИИ

Первоначальные этапы истории биохимии совпадают с историей органической химии. До середины XIX в. органической химией называли науку, которая изучала вещества, входящие в состав животных и растительных организмов, т. е. вещества живого («органического») мира. Позднее, в связи с развитием синтетической химии соединений углерода, смысл термина «органическая химия» изменился — так теперь называют химию соединений углерода, а науку, изучающую химический состав живых организмов и химические процессы, протекающие в них, стали называть физиологической, а затем биологической химией. Биологическая химия изучает не только органические, но и неорганические (минеральные) соединения, содержащиеся в организмах. Разумеется, и после этой дифференциации органической и биологической химии их развитие происходит в тесном взаимодействии, объединяемое множеством общих методов и общих задач.

Историю биохимии (и органической химии) принято отсчитывать с конца XVIII в., когда впервые были выделены из организмов в чистом виде некоторые соединения — мочевина, лимонная кислота, яблочная кислота и др. В то время еще не было представлений о строении этих веществ. Длительный пе-

риод развития биохимии — вплоть до середины XX в. — заполнен открытием все новых веществ в живой природе, исследованием их структуры и химических превращений в организмах. Важнейшими достижениями этого периода явились установление общего плана строения главных биополимеров — белков и нуклеиновых кислот и основных путей химических превращений веществ в организмах (метаболизм). В этот же период произошла дальнейшая дифференциация биохимии: в ней стали выделять *статическую биохимию*, изучающую химический состав организмов; *динамическую биохимию*, изучающую метаболизм; *функциональную биохимию*, изучающую связь химических процессов с физиологическими (биологическими) функциями.

Середина нашего столетия явилась переломным этапом в истории биохимии. Развитие молекулярного уровня исследований за последние 30—40 лет привело к перестройке структуры не только биохимии, но и всей биологии — ее методов, эмпирической основы, теоретических элементов, форм практического использования, классификации разделов биологии.

Отличительной чертой биохимии этого периода является переход к широкому изучению структуры и свойств индивидуальных представителей белков и нуклеиновых кислот, к выяснению функции каждого индивидуального белка и нуклеиновой кислоты в живой клетке. Предпосылкой для этого послужило стремительное развитие методов разделения веществ и изучения их структуры, а также специфических для биохимии методов выделения и исследования надмолекулярных структур — клеточных органелл. Если в предшествующий период функциональная биохимия только зарождалась, то теперь она становится ведущим направлением в биохимии. По-прежнему сохраняются и усиливаются связи с органической химией, но одновременно резко возрастает значение связей биохимии с другими биологическими науками — цитологией, физиологией, генетикой. Наиболее ярким выражением этого явилось раскрытие молекулярных механизмов таких фундаментальных свойств жизни, как наследственность и изменчивость.

В 50—60-х годах нашего века, когда была установлена структура ДНК, позволившая объяснить механизм репликации генов, возникло новое название для обозначения этого направления исследований — *молекулярная биология*. Первоначально молекулярной биологией называли область биохимии, изучающую молекулярные основы общебиологических явлений — наследственности, изменчивости, биологической эволюции. Однако очень скоро значение термина изменилось и его стали применять в более широком смысле, вплоть до того, что некоторые биохимики считают термины «молекулярная биология» и «биохимия» синонимами.

До середины XX в. в биохимии преобладало исследование химических превращений веществ в организме, сопровождающихся изменением ковалентной структуры соединений (метабо-

лизм). Однако со временем выяснилось, что не меньшее значение в обмене веществ и функционировании организма имеют физико-химические процессы, не связанные с изменением ковалентной структуры соединений. Область биохимии, изучающую физико-химические и молекулярно-физические основы жизнедеятельности, называют «*физико-химической биологией*».

Всякое изменение молекул в организме можно изучать в двух направлениях. Одно направление — выяснение роли этого процесса для функционирования живой клетки, органа, организма. В этом случае молекулярные процессы служат для объяснения биологических явлений. Другое направление — выяснение химических и физических основ этого процесса, т. е. объяснение поведения молекул в организме исходя из законов химической и физической форм движения материи. Исследование этого направления составляет содержание биоорганической химии. Биоорганическая химия занимает положение, пограничное с органической химией, в отличие от которой изучает прежде всего те свойства соединения, которые непосредственно связаны с его функцией в организме. Кроме того, биоорганическая химия, исходя из функций отдельных соединений в организме и механизма их действия, разрабатывает принципы создания синтетических биологически активных соединений, т. е. веществ, определенным образом изменяющих функции организма (лекарства, избирательно действующие инсектициды и др.).

Здесь названы основные направления биохимии, имеющие общебиологическое значение. Кроме того, в зависимости от конкретных объектов и задач исследования выделяют и другие разделы биохимии, например биохимия вирусов, биохимия растений, биохимия животных.

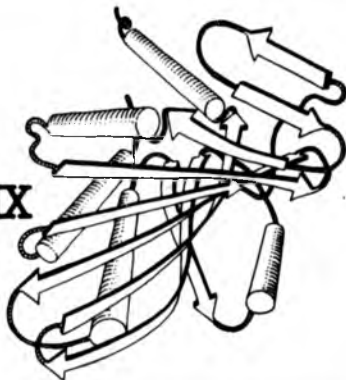
До середины XX в. теоретическую основу медицины составляли главным образом морфологические и физиологические дисциплины. Теперь к ним добавилась и биохимия, точнее медицинская биохимия (биохимия человека). Она включает в себя все общебиохимические направления, но в той их части, которая имеет отношение к здоровью и болезням человека. Следовательно, медицинская биохимия изучает молекулярные основы развития и функционирования здорового человеческого организма, молекулярные механизмы болезней, биохимические методы диагностики и лечения (клиническая биохимия), биохимическую экологию человека.

Таким образом, биохимия в целом изучает химические и физико-химические процессы, результатом которых являются развитие и функционирование живых систем всех уровней организации. Как видим, современная биохимия представляет собой разветвленную область знаний, разделы которой тесно связаны друг с другом и не могут быть четко разграничены.

Содержание этого учебника в значительной части близко к тому, что называют функциональной биохимией и медицинской биохимией.

Часть 1

Строение информационных молекул и матричные биосинтезы



Глава I

СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

Каждый из десятков тысяч белков, имеющихся в организме, обладает уникальной структурой и содержит активный центр, способный узнавать среди множества молекул клетки определенную молекулу и избирательно взаимодействовать с ней. Благодаря этому свойству белков обеспечивается структурная организация веществ в живой клетке, направленность и последовательность химических превращений и физико-химических процессов.

Представление о белках как о классе соединений формировалось в XVIII—XIX вв. В этот период из разнообразных объектов живого мира (семена и соки растений, мышцы, хрусталик глаза, кровь, молоко и т. п.) были выделены вещества, обладающие сходными свойствами: они образовывали вязкие, клейкие растворы, свертывались при нагревании, при их высушивании получалась роговидная масса, при «анализе огнем» ощущался запах паленой шерсти или рога и выделялся аммиак. Поскольку все эти свойства ранее были известны для яичного белка, то новый класс веществ получил название белков.

В начале XIX в. появились более совершенные методы элементарного анализа веществ и начались исследования элементарного состава белков. В них обнаружили углерод, водород, азот, кислород, серу и фосфор. Голландский химик и врач Г. Я. Мульдер (1802—1880) предложил первую теорию строения белков. Исходя из исследований

элементного состава, Мульдер пришел к выводу, что все белки содержат одну или несколько групп («радикалов») $C_{40}H_{62}N_{10}O_2$, соединенных с серой или фосфором или с тем и другим вместе. Он предложил для обозначения этой группы термин «протеин» (от греч. πρωτεϊον — первый), так как считал, что это вещество «без сомнения, важнейшее из всех известных тел органического царства, и без него, как кажется, не может быть жизни на нашей планете»*. Представление о существовании такой группы скоро было опровергнуто, а значение термина «протеины» изменилось, и сейчас он применяется как синоним термина «белки».

Важную роль в изучении структуры белков сыграло развитие методов их разложения кислотами и пищеварительными соками. В 1820 г. А. Браконно (Франция) подвергал многочасовому действию серной кислоты кожу и другие ткани животных, затем нейтрализовал смесь, получал фильтрат, при выпаривании которого выпадали кристаллы вещества, названного им гликоколом («клеевым сахаром»). Это была первая аминокислота, выделенная из белков. Ее структурная формула установлена в 1846 г.

К концу XIX в. из белков было выделено свыше десяти аминокислот. Исходя из результатов изучения продуктов гидролиза белков, немецкий химик Э. Фишер (1852—1919) предположил, что белки построены из аминокислот. Это положение послужило основанием для его многолетних исследований химии аминокислот и белков, завершившихся созданием в начале XX в. *пептидной теории строения белков*. В результате работ Э. Фишера стало ясно, что белки представляют собой линейные полимеры α -аминокислот, соединенных друг с другом амидной (пептидной) связью, а все многообразие представителей этого класса соединений могло быть объяснено различиями аминокислотного состава и порядка чередования разных аминокислот в цепи полимера. Однако эта точка зрения не сразу получила всеобщее признание: еще в течение трех десятилетий появлялись иные теории строения белков, в частности такие, которые основывались на представлении, что аминокислоты не являются структурными элементами белков, а образуются как вторичные продукты при разложении белков в присутствии кислот или щелочей.

Первые исследования белков проводились со сложными белковыми смесями, такими, как яичный белок, сыворотка крови, экстракты из растительных и животных тканей, а подчас и цельные ткани. Лишь в конце XIX в. получили распространение методы разделения белков с помощью осаждения нейтральными солями. В 30-е годы XX в. были получены первые белки в кристаллическом состоянии. Получение вещества в кристаллическом виде служит одним из надежных доказательств чистоты (гомогенности) препарата. В частности, в 1926 г. Д. Самнер выделил из семян канавалии белок (фермент) уреазу в кристаллическом состоянии; Д. Нортроп и М. Кунитц в 1930—1931 гг. получили

* Цит. по кн.: Шамин А. Н. История химии белка. М.: Наука, 1977. С. 80.

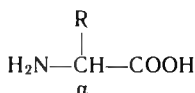
кристаллы пепсина и трипсина. После этих пионерских работ выделение индивидуальных белков стало частым событием в истории биохимии, особенно после 50-х годов, когда начали применять современные методы фракционирования — хроматографию на целлюлозных и других гидрофильных ионообменниках, гель-фильтрацию («молекулярное просеивание»), новые методы электрофореза и др. Количество индивидуальных белков, известных к настоящему времени, составляет по очень приблизительной оценке несколько тысяч.

На современном этапе изучения белков основными направлениями являются следующие:

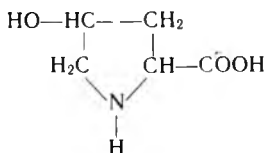
- 1) изучение пространственной структуры индивидуальных белков;
- 2) изучение биологических функций разных белков;
- 3) изучение механизмов функционирования индивидуальных белков (на уровне отдельных атомов и атомных групп молекулы белка).

ПЕПТИДНЫЙ ОСТОВ БЕЛКОВ

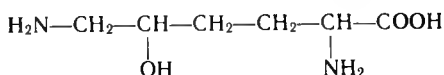
Мономерами белков служат α -аминокислоты, общим признаком которых является наличие карбоксильной группы и аминогруппы у второго углеродного атома (α -углеродный атом):



Обычно в белках обнаруживают 20 различных аминокислот (табл. 1), считая и пролин, который, если говорить точно, является иминокислотой. В некоторых белках есть и другие, редко встречающиеся аминокислоты. Например, в коллагене содержатся гидроксипролин и гидроксизин:



4-гидроксипролин (Hyp)




5-гидроксизин (Hyl)

Редкие аминокислоты образуются из обычных уже после их включения в состав белковой молекулы.

Встречающиеся в живой природе α -аминокислоты, как правило, имеют *L*-конфигурацию. Однако в клетках многих микроорганизмов есть и *D*-аминокислоты, в частности в веществе клеточной стенки и в составе некоторых антибиотиков.

α -Карбоксильная группа одной аминокислоты и α -амино-

Т а б л и ц а 1. Основные аминокислоты белков


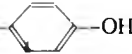
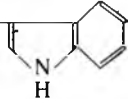
Аминокислоты	Символы*		Строение боковой цепи
	русск.	лат.	
<i>Алифатические</i>			
Глицин	Гли	Gly, G	—H
Аланин	Ала	Ala, A	—CH ₃
Валин	Вал	Val, V	—CH $\begin{matrix} \diagup \text{CH}_3 \\ \diagdown \text{CH}_3 \end{matrix}$
Лейцин	Лей	Leu, L	—CH ₂ —CH $\begin{matrix} \diagup \text{CH}_3 \\ \diagdown \text{CH}_3 \end{matrix}$
Изолейцин	Иле	Ile, I	—CH $\begin{matrix} \diagup \text{CH}_3 \\ \diagdown \text{CH}_2\text{—CH}_3 \end{matrix}$
<i>Гидроксиаминокислоты</i>			
Серин	Сер	Ser, S	—CH ₂ OH
Треонин	Тре	Thr, T	—CH—CH ₃ OH
<i>Дикарбоксильные</i>			
Аспарагиновая кислота	Асп	Asp, D	—CH ₂ —COOH
Глутаминовая кислота	Глу	Glu, E	—CH ₂ —CH ₂ —COOH
<i>Амиды дикарбоксильных аминокислот</i>			
Аспарагин	Асп	Asn, N	—CH ₂ —CONH ₂
Глутамин	Глн	Gln, Q	—CH ₂ —CH ₂ —CONH ₂
<i>Аминокислоты с катионообразующими группами в боковых цепях</i>			
Гистидин	Гис	His, H	—CH ₂ — 
Лизин	Лиз	Lys, K	—CH ₂ —CH ₂ —CH ₂ —CH ₂ —NH ₂
Аргинин	Арг	Arg, R	—CH ₂ —CH ₂ —CH ₂ —NH—C(=NH)—NH ₂

Аминокислоты	Символы*		Строение боковой цепи
	русск.	лат.	

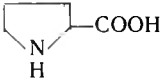
Серосодержащие аминокислоты

Цистеин	Цис	Cys, C	$-\text{CH}_2-\text{SH}$
Метионин	Мет	Met, M	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$

Ароматические аминокислоты

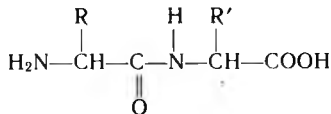
Фенилаланин	Фен	Phe, F	$-\text{CH}_2-$ 
Тирозин	Тир	Tyr, Y	$-\text{CH}_2-$ 
Триптофан	Три	Trp, W	$-\text{CH}_2-$ 

Иминокислота

Пролин	Про	Pro, P	 (формула приведена полностью)
--------	-----	--------	--

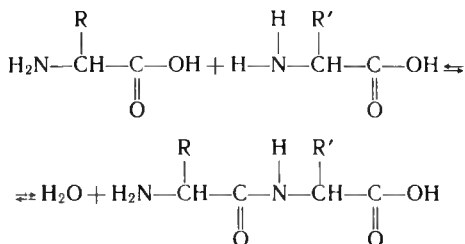
* Трех- и однобуквенные символы применяются для обозначения аминокислотной последовательности в пептидах и белках.

группа другой аминокислоты могут образовать амидную связь, соединяя остатки аминокислот друг с другом:

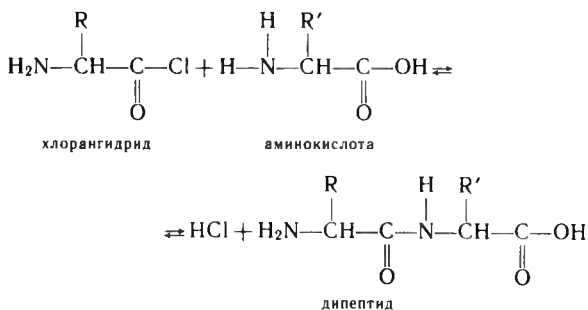


Эта амидная связь называется *пептидной связью*, а соединения, в которых аминокислоты соединены пептидными связями, называют *пептидами* (дипептиды, трипептиды и т. д.; олигопептиды; полипептиды).

Образование пептидной связи можно представить как отщепление воды от взаимодействующих карбоксильной группы и аминогруппы:



В водной среде равновесие этой реакции сдвинуто в сторону образования свободных аминокислот, т. е. происходит гидролиз пептидов. Синтез пептидов как в химических лабораториях, так и в живой клетке осуществляется непрямом путем. Например, можно аминокислоты сначала превратить в хлорангидриды, а из них уже получить пептиды:

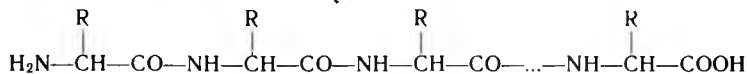


Именно таким путем Э. Фишер синтезировал пептиды, содержащие до двадцати аминокислот, последовательно соединенных друг с другом. Эти вещества по свойствам были сходны с белками и с продуктами частичного гидролиза белков, что послужило одним из важнейших доказательств пептидной теории строения белков.

В настоящее время разработаны методы синтеза, в принципе позволяющие получать пептиды любой длины и любой заданной структуры. Синтез белков в живой клетке описан в гл. IV.

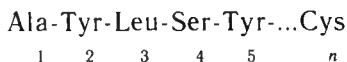
В молекулах белков многократно повторяется группа

$-\text{NH}-\text{CH}-\text{CO}-$, образуя остов пептидной цепи:



Этот пептидный остов — структура, свойственная всем белкам. В каждом пептиде один из двух концевых аминокислотных остатков имеет свободную α -аминогруппу (N-концевая аминокислота), а другой — свободную α -карбоксильную группу (C-концевая аминокислота). Структуру пептидов принято изображать, начиная с N-концевой аминокислоты; с нее же начинается нумерация

аминокислотных остатков. При этом аминокислотные остатки обозначаются символами. Например:



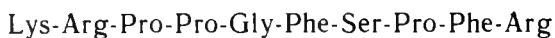
Эта запись изображает пептид, в котором свободная α-аминогруппа принадлежит остатку аланина (N-конец), а свободная α-карбоксильная группа — остатку цистеина (C-конец). При чтении такой записи окончания названий всех аминокислот, за исключением последней, изменяются на *-ил*. Например, название трипептида Ala-Tyr-Leu читается так: аланил-тирозил-лейцин.

Специфические особенности разных пептидов и белков определяются длиной пептидной цепи (соответственно и молекулярной массой), различиями аминокислотного состава и порядком чередования аминокислотных остатков (т. е. радикалов R пептидного остова).

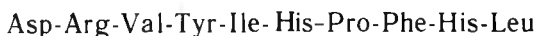
Длина пептидной цепи в пептидах и белках, встречающихся в организме, колеблется в широких пределах — от двух до сотен, а иногда и до тысяч аминокислотных остатков. Собственно белками называют полипептиды из двух-трех десятков аминокислот или более.

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ

Даже при одинаковой длине пептиды являются разными веществами, если они различаются по аминокислотному составу. Например, сравним два декапептида — каллидин и ангиотензин I:



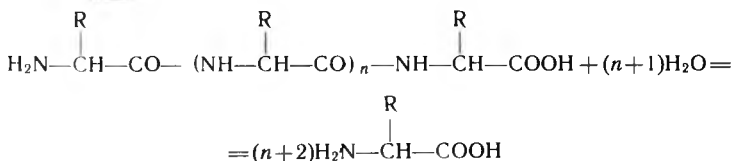
каллидин



ангиотензин I

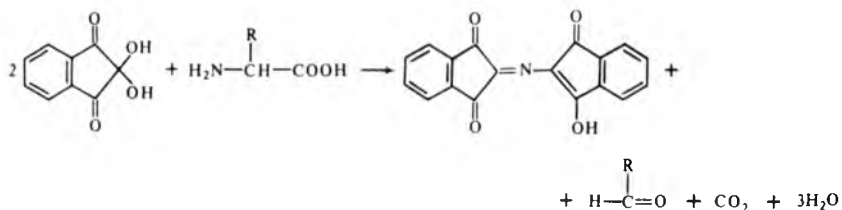
В первом из них есть остатки лизина, глицина и серина, которых нет во втором. В то же время во втором есть остатки изолейцина, аспарагиновой кислоты и тирозина, которых нет в первом. Эти два вещества существенно различаются по химическим свойствам и разительно — по биологическим свойствам: каллидин — это гормон местного действия, регулирующий тонус кровеносных сосудов и проницаемость капилляров (см. гл. XVII), а ангиотензин I физиологически нейтрален, но служит предшественником другого пептида — ангиотензина II, регулирующего кровяное давление (см. гл. XIV).

Для определения аминокислотного состава белки (пептиды) подвергают гидролизу:



В нейтральной среде эта реакция протекает очень медленно, но ускоряется в присутствии кислот и щелочей. Обычно гидролиз белков проводят в запаянной ампуле в 6 моль/л соляной кислоте при 105°C; в таких условиях полный распад происходит примерно за сутки. Затем аминокислоты гидролизата разделяют методом хроматографии на ионообменных смолах, выделяя отдельно каждую аминокислоту.

Для обнаружения аминокислот во фракциях, получаемых при хроматографии, используют реакцию с нингидрином:



В этой реакции бесцветный нингидрин превращается в продукт красно-фиолетового цвета. Измерив интенсивность окрашивания, можно рассчитать концентрацию каждой аминокислоты в гидролизате и число остатков каждой из аминокислот в исследуемом белке. В наше время такой анализ проводят с помощью автоматических приборов — аминокислотных анализаторов (рис. 2). В прибор загружают гидролизат белка, и все остальные операции производятся автоматически. Результат анализа прибор выдает в виде графика концентраций отдельных аминокислот (рис. 2, б).

Частота, с какой разные аминокислоты встречаются в белках, неодинакова. Например, глицин обнаруживается в 10 раз чаще, чем триптофан: из каждой тысячи аминокислотных остатков

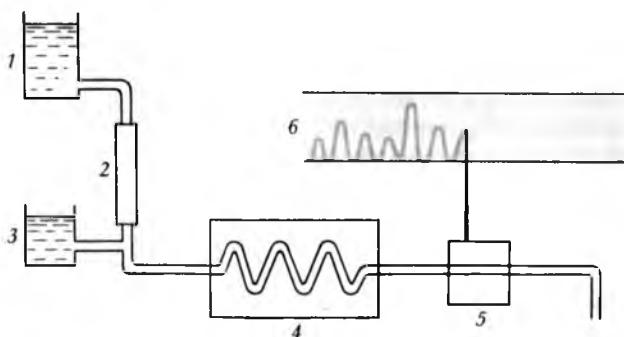


Схема аминокислотного анализатора:

1 — элюирующий раствор (буфер с переменным рН); 2 — хроматографическая колонка (в верхнюю часть колонки вносят гидролизат белка, затем начинают элюирование); 3 — раствор нингидрина; 4 — водяная баня (подогревание необходимо для ускорения реакции нингидрина с аминокислотами); 5 — спектрофотометр и записывающее устройство; 6 — хроматограмма; каждый пик соответствует одной аминокислоте, а площадь пика пропорциональна концентрации этой аминокислоты в гидролизате

Т а б л и ц а 2. Аминокислотный состав некоторых белков (число аминокислотных остатков на молекулу белка)

Аминокислота	Кортико- тропин	Цито- хром с	Миогло- бин	Лютеини- зирующий гормон	Тромбин	Фосфори- лаза гли- когена
Глицин	3	13	15	10	24	48
Аланин	3	6	12	11	12	63
Валин	3	3	7	18	19	62
Лейцин	1	6	17	12	20	79
Серин	3	2	7	14	15	29
Глутаминовая кис- лота	4	8	14	8	12	64
Глутамин	1	3	7	8	8	31
Лизин	4	18	20	9	19	48
Аргинин	3	2	2	13	18	63
Пролин	4	4	5	23	13	36
Аспарагиновая кис- лота	2	3	3	8	14	51
Аспарагин	0	4	8	5	14	45
Изолейцин	0	8	8	6	15	49
Треонин	0	7	4	15	11	35
Фенилаланин	3	3	7	5	9	38
Тирозин	2	5	2	6	11	36
Цистеин	0	2	0	22	6	9
Метионин	1	3	3	4	7	21
Гистидин	1	3	9	6	5	22
Триптофан	1	1	2	1	7	12
Всего	39	104	152	205	259	841

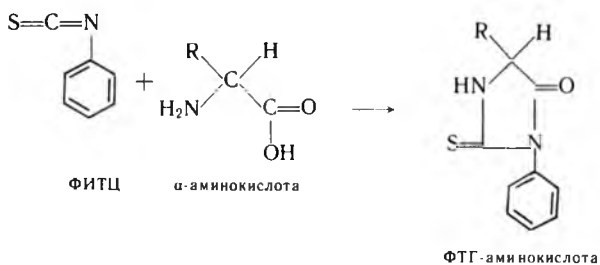
в белках на долю глицина приходится около 70, на долю триптофана — около 7. Остальные аминокислоты по частоте нахождения в белках занимают промежуточное положение, образуя такой ряд: (аланин \approx валин \approx лейцин \approx серин) > (глутаминовая кислота \approx глутамин \approx лизин \approx аргинин \approx пролин) > (аспарагиновая кислота \approx аспарагин \approx изолейцин \approx треонин \approx фенилаланин) > > (тирозин \approx цистеин \approx метионин \approx гистидин). В табл. 2 приведен аминокислотный состав некоторых белков.

Большинство белков по аминокислотному составу различаются не очень резко. Но есть некоторые специализированные белки с особенным аминокислотным составом. Например, основной белок соединительной ткани коллаген на $\frac{1}{3}$ построен из остатков глицина, около $\frac{1}{5}$ приходится на остатки пролина и оксипролина. В хромосомах содержатся белки гистоны, примерно на $\frac{1}{3}$ построенные из остатков лизина и аргинина.

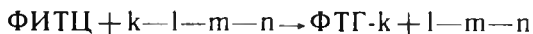
Тирозин и триптофан (в незначительной степени также и фенилаланин) поглощают ультрафиолетовое излучение с максимумом поглощения при 280 нм. На этом основан спектрофотометрический метод измерения концентрации белков в растворах.

Первичной структурой называют порядок чередования (последовательность) аминокислотных остатков в белке. Даже идентичные по длине и аминокислотному составу пептиды могут быть разными веществами. Например, из двух аминокислот — аланина и тирозина — можно построить два дипептида: Ala-Tyr и Tyr-Ala. Из трех разных аминокислот можно получить шесть различных по первичной структуре трипептидов. Число изомеров полипептида, построенного из n разных аминокислот, равно числу перестановок из n элементов, т. е. $n!$ При $n = 20$ число возможных изомеров равно $2 \cdot 10^{18}$. Если учесть, что в составе пептидной цепи каждая из аминокислот может встречаться больше одного раза, то число изомеров становится невообразимым. Возможность составления разных белков из аминокислот так же неисчерпаема, как возможность составления разных фраз из букв алфавита. Однако в живой природе реализуются не все эти возможности. В организме человека по приближенным оценкам имеется около 100 тыс. разных белков.

Первичную структуру белка можно выяснить с помощью фенилтиогидаптоинового метода. Он основан на реакции фенилизоцианата (ФИТЦ) с α -аминокислотами, в которой образуются фенилтиогидаптоины аминокислот (ФТГ-аминокислоты):



Фенилизоцианат реагирует не только со свободными аминокислотами, но и с N-концевой аминокислотой пептидов, отщепляя ее от пептида. Если, например, анализируют тетрапептид k-l-m-n , то реакция проходит следующим образом:



После реакции выделяют ФТГ-k и идентифицируют его; допустим, он оказался фенилтиогидаптоином глицина. Теперь мы можем записать последовательность исследуемого тетрапептида так: Gly-l-m-n. Затем таким же образом исследуют оставшийся после первой реакции трипептид l-m-n и узнают второй аминокислотный остаток (l) и т. д. Созданы автоматические приборы — *секвенаторы*, позволяющие с использованием этой реакции изучать первичную структуру пептидов длиной до нескольких десятков аминокислотных остатков. Более крупные белки сначала фрагментируют, изучают структуру отдельных фрагмен-

тов, а затем выясняют последовательность фрагментов в исходной белковой молекуле.

Один из методов фрагментирования основан на применении бромциана (CNBr). Это вещество избирательно расщепляет пептидную связь, образованную карбоксильной группой метионина и аминогруппой любой другой аминокислоты. При обработке бромцианом в молекуле белка разрушаются все такие связи и образуется соответствующее число фрагментов. Для фрагментирования применяют также некоторые ферменты, избирательно гидролизующие определенные пептидные связи.

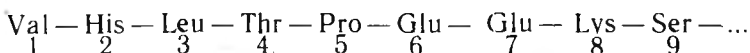


3

Первичная структура аспаратаминотрансферазы

Не следует думать, что эти исследования столь же просты, как их принцип: изучение первичной структуры белка среднего размера занимает несколько месяцев работы. На рис. 3 представлена первичная структура белка (фермента) аспаратамино-трансферазы, выясненная в лабораториях Ю. А. Овчинникова и А. Е. Браунштейна. Число белков, первичная структура которых изучена, в настоящее время близко к полутора тысячам.

Даже небольшие изменения первичной структуры могут значительно изменять свойства белка. В эритроцитах здоровых людей содержится гемоглобин А (HbA), в котором есть фрагмент с такой последовательностью аминокислот:

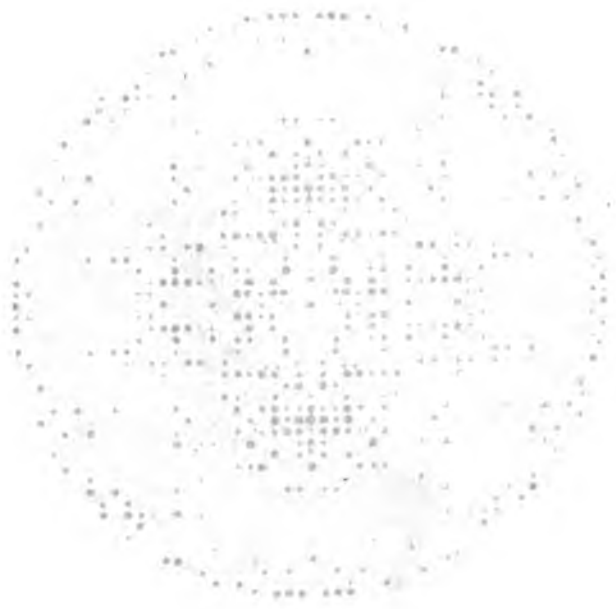


Небольшая часть людей имеет врожденную аномалию структуры гемоглобина: их эритроциты содержат HbS, который в шестом положении вместо глутаминовой кислоты содержит валин. Такой гемоглобин существенно отличается по физико-химическим и биологическим свойствам от нормального; дети, родившиеся с этой аномалией, в раннем возрасте погибают от серповидноклеточной анемии (подробнее об этой болезни см. в гл. V).

С другой стороны, возможны варианты первичной структуры белка, никак не сказывающиеся на его функциональных свойствах. Например, HbC представляет собой вариант HbA, содержащий в шестом положении лизин вместо глутаминовой кислоты; HbC почти не отличается по свойствам от HbA, и люди, имеющие в эритроцитах HbC, практически здоровы.

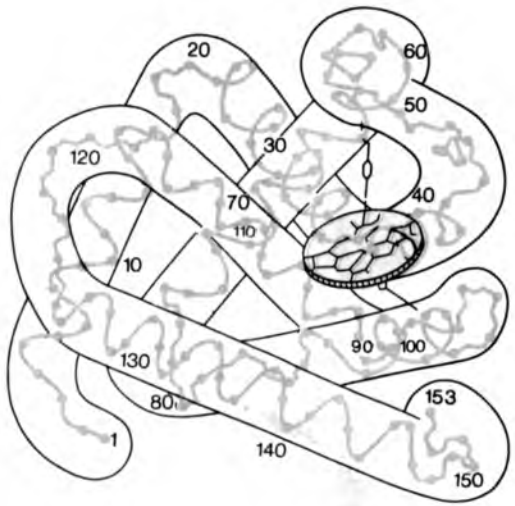
КОНФОРМАЦИЯ ПЕПТИДНЫХ ЦЕПЕЙ В БЕЛКАХ

Пептидная цепь обладает значительной гибкостью. В результате внутрицепочечных взаимодействий она приобретает определенную пространственную структуру (конформацию). Основным методом изучения трехмерной структуры белков служит рентгеноструктурный анализ. Он основан на дифракции и интерференции рентгеновских лучей, проходящих через кристалл изучаемого вещества. Молекулы, а следовательно, и атомы, входящие в эти молекулы, в кристалле занимают фиксированное положение. Рентгеновы лучи при прохождении через кристалл поглощаются электронами, которые сами становятся вторичными излучателями. Вторичные лучи испускаются равномерно по всем направлениям, но в некоторых направлениях происходит их усиление в результате интерференции. На фотопленке, помещенной за кристаллом, после проявления обнаруживается засвеченное пятно в центре от пучка нерассеянных лучей, вокруг которого в определенном порядке располагается много других засвеченных пятен разной интенсивности (рис. 4). Расположение и интенсивность этих пятен зависят от распределения скоплений электро-



Рентгенограмма аспаратаминотрансферазы

нов в кристалле. Поскольку скопления электронов имеются в атомах, то можно сказать, что расположение пятен определяется расположением атомов в анализируемом кристалле. С помощью серии таких рентгенограмм можно рассчитать положение каждого атома в кристалле, а следовательно, и пространственное расположение аминокислотных остатков в молекуле белка (рис. 5).

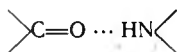


Пространственная структура миоглобина (диск — гем). Указаны номера каждого десятого аминокислотного остатка

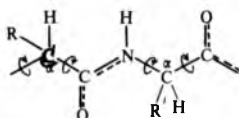
В белках различают два уровня конформации пептидных цепей — вторичную и третичную структуры.

Вторичная структура белков

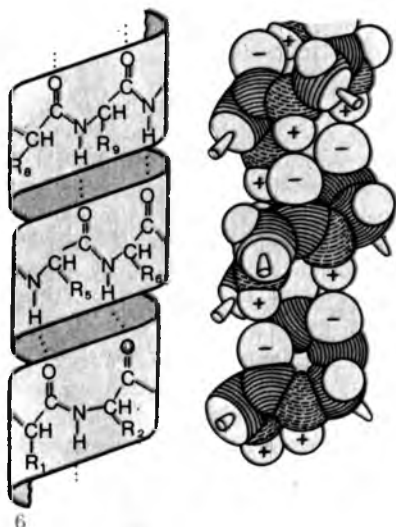
Вторичная структура белков обусловлена свойствами пептидного остова. Карбонильная группа и NH-группа способны образовывать водородную связь между собой:



Минимуму свободной энергии соответствует такое состояние пептида, когда все эти группы связаны водородной связью. Иначе говоря, пептид стремится принять конформацию с максимумом водородных связей. С другой стороны, возможности пространственной укладки пептидной цепи ограничиваются тем, что пептидная связь имеет частично двойной характер, и поэтому вращение вокруг нее невозможно. Атомы кислорода и водорода пептидной группы занимают *транс*-положение. Напротив, вокруг обеих связей группы —CH— пептидного остова возможно свободное вращение:



Вследствие этих ограничений при образовании водородных связей пептидная цепь принимает не произвольную, а строго определенную конформацию.



α-Спираль. Слева — схема, справа — молекулярная модель. На модели знаками «+» и «-» помечены атомы водорода и кислорода соответственно, соединенные водородной связью

Известны три основных типа вторичной структуры пептидных цепей: α-спираль, β-структура (складчатый слой, складчатый листок) и беспорядочный клубок. В α-спирали NH-группа данного остатка аминокислоты взаимодействует с CO-группой четвертого от него остатка. В результате пептидный остов образует спираль, на каждый виток которой приходится 3,6 аминокислотного остатка. Водородные связи ориентированы вдоль оси спирали, соединяя ее витки (рис. 6). В складчатом слое (β-структуре) пептидные цепи располагаются параллельно друг другу в один слой, образуя фигуру, подобную листу, сложенному гармошкой (рис. 7). Слой может быть образован двумя

или большим количеством пептидных цепей; смежные цепи в слое ориентированы N-концами в противоположные стороны (антипараллельно) или в одну сторону (параллельно).

Аминокислоты различаются по способности участвовать в образовании α -спиралей или β -структур: редко встречаются в составе α -спиралей пролин, аспарагин, тирозин, глицин; в составе β -структур — глутаминовая кислота, пролин, аспарагин, гистидин, лизин, серин.

Содержание α -спиралей и β -структур в разных белках неодинаково (табл. 3). Как можно видеть из таблицы, не вся пептидная цепь уложена в спирали или β -структуры. Некоторые участки не имеют какой-либо правильной, периодической пространственной организации, их обозначают как беспорядочный клубок.

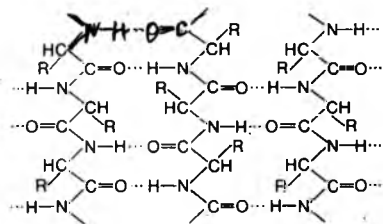
Таблица 3. Встречаемость α -спиралей и β -структур в белках (число аминокислот, входящих в α -спирали и β -структуры, в % от общего числа аминокислот в белке)

Белок	α -Спирали	β -Структуры	Белок	α -Спирали	β -Структуры
Химотрипсин, трипсин	14	45	Лизоцим	40	12
Карбоангидраза	20	37	Лактатдегидрогеназа	45	20
Тубулин	22	30	Инсулин	52	6
Рибонуклеаза	26	35	Миоглобин	80	0
Карбоксипептидаза	38	17	Тропомиеозин	100	0

Однако такие участки в каждом белке имеют свою фиксированную конформацию, которая определяется аминокислотным составом этого участка, а также вторичной и третичной структурой смежных областей, окружающих «беспорядочный клубок». Тем не менее в областях беспорядочного клубка пептидная цепь может сравнительно легко изгибаться, изменять конформацию, в то время как спирали и складчатый слой представляют собой достаточно жесткие структуры.

Третичная структура глобулярных белков

По форме молекулы и особенностям пространственной структуры белки делятся на две группы — *глобулярные* и *фибрилярные*. Форма глобулярных белков близка к сферической или эллипсоидной, с отношением короткой и длинной осей до 1:50. Молекулы фибриллярных белков имеют удлиненную форму и мо-

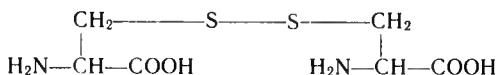


7
Складчатый слой (β -структура)

гут образовывать многомолекулярные нитевидные агрегаты — *фибриллы*. Фибриллярные белки выполняют главным образом опорные функции, обеспечивая прочность тканей; глобулярные белки несравненно более разнообразны по функциям. Существенны различия белков этих групп и по физико-химическим свойствам. Особенности строения и свойств фибриллярных белков подробнее описаны в одном из последующих разделов этой главы.

Третичная структура глобулярных белков образуется путем дополнительного складывания пептидной цепи, содержащей α -спирали, β -структуры и участки без периодической структуры. Это происходит прежде всего в результате взаимодействий между боковыми группами аминокислот. Основную роль в образовании третичной структуры играют слабые связи (водородные, ионные, гидрофобные) и дисульфидные связи.

Дисульфидная связь возникает за счет сульфгидрильных (тиоловых) групп цистеина. Соединение, получающееся в результате замыкания дисульфидной связи между двумя молекулами свободного цистеина, называют *цистином*:

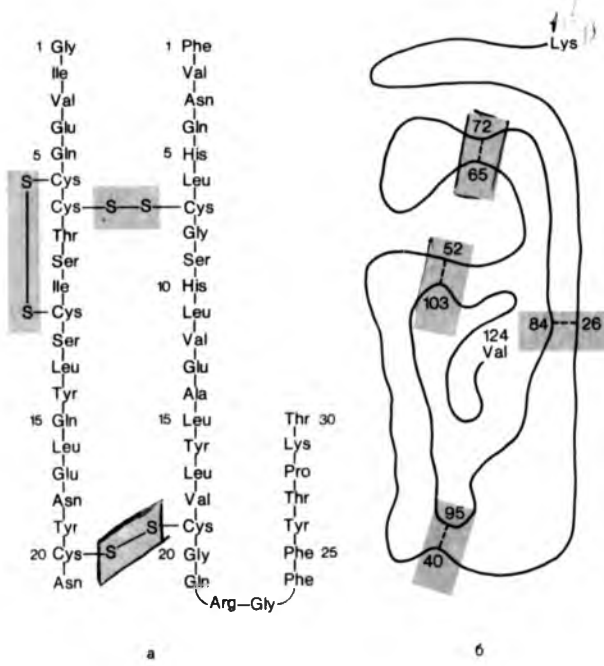


Цистеиновые остатки пептидных цепей, связанные дисульфидной связью, называют полуцистиновыми остатками.

Образование дисульфидных связей приводит к тому, что удаленные друг от друга области пептида сближаются и фиксируются. Например, в молекуле рибонуклеазы имеется четыре дисульфидных связи, соединяющих попарно восемь полуцистиновых остатков так, что образуются фиксированные петли (рис. 8). Дисульфидные связи могут быть и между разными полипептидными цепями, как, например, в инсулине (см. рис. 8, а).

Дисульфидные связи легко разрушаются при действии восстановителей с образованием SH-групп. Дисульфидные связи имеются в очень многих, но не во всех белках. Так, их нет в миоглобине и гемоглобине.

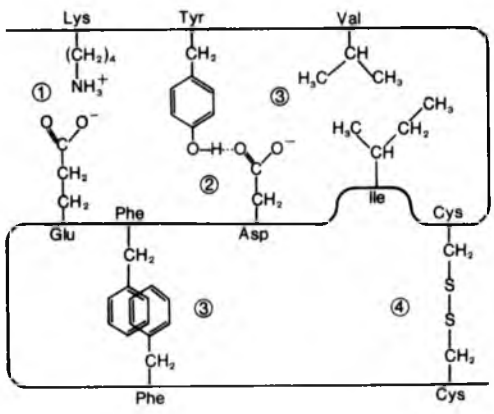
Помимо ковалентной дисульфидной связи, в образовании третичной структуры участвуют нековалентные взаимодействия между радикалами аминокислот. Аминокислоты, входящие в белки, различаются по физико-химическим свойствам радикалов. Между аминокислотами с неполярными (гидрофобными) радикалами возможны гидрофобные взаимодействия; между полярными радикалами возникают водородные связи, а между заряженными полярными радикалами — ионные (рис. 9). Все эти связи относятся к числу слабых: их энергия в водной среде не слишком сильно превышает энергию теплового движения молекул при комнатной температуре, и поэтому их образование и разрушение — легко обратимые процессы. Разнообразие свойств аминокислот вместе с различиями первичной структуры пептидных



Расположение дисульфидных связей в молекулах инсулина (а) и рибонуклеазы (б)

цепей создают возможность неисчерпаемого количества разных конформаций на уровне третичной структуры.

В результате возникновения множества слабых связей между аминокислотными остатками все части пептидной цепи оказываются фиксированными относительно друг друга, образуя компактную структуру — *глобулу*. При этом значительная часть неполярных (гидрофобных) аминокислот оказывается погруженной во внутренние области глобулы, в то время как полярные (гидрофильные) аминокислоты располагаются преимущественно на поверхности глобулы,



Связи, стабилизирующие третичную структуру белков:
 1 — ионные; 2 — водородные; 3 — гидрофобные; 4 — дисульфидные

контактируя с водной фазой (табл. 4). Такое распределение аминокислот объясняется в основном свойствами воды. Молекулы воды полярны и образуют водородные связи как между собой, так и с другими полярными молекулами (гидратация молекул). Неполярные молекулы не гидратируются. С другой стороны, внедрение неполярной молекулы в среду молекул воды требует разрыва водородных связей между молекулами воды. Поэтому возникают силы, стремящиеся уменьшить поверхность раздела между водной и неполярной фазами, что и приводит к объединению неполярных молекул между собой, а в случае белков — к «выжиманию» гидрофобных радикалов из водной среды внутрь глобулы.

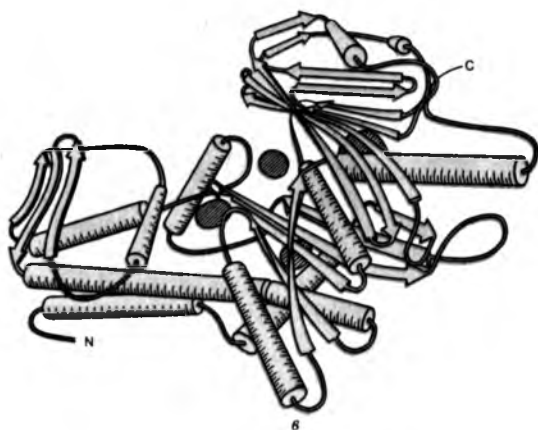
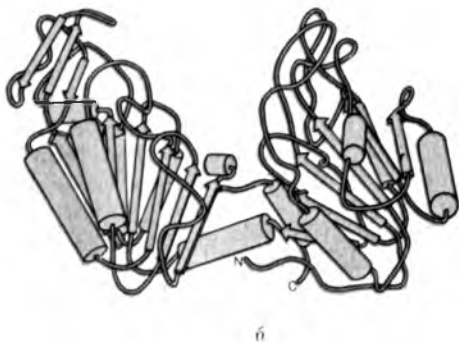
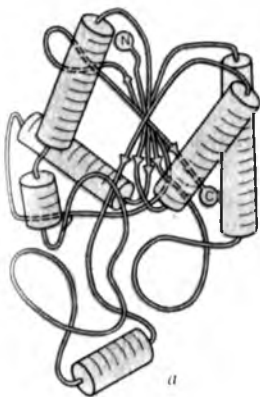
Доля погруженных цистеиновых остатков тоже велика, хотя они и гидрофильны: это обусловлено тем, что многие из них участвуют в образовании дисульфидных связей.

Таблица 4. Локализация разных аминокислот в белковой глобуле (порядок расположения аминокислот примерно соответствует убыванию гидрофобности или нарастанию гидрофильности их радикалов)

Аминокислоты		Доля погруженных аминокислот, %
С неполярными радикалами	Изолейцин	60
	Фенилаланин	50
	Валин	54
	Лейцин	45
	Триптофан	27
	Метионин	40
	Аланин	38
	Глицин	36
Пролин	18	
С полярными незаряженными радикалами	Цистеин	48
	Тирозин	15
	Треонин	23
	Серин	22
	Глутамин	12
	Аспарагин	7
С полярными заряженными радикалами	Гистидин	17
	Глутаминовая кислота	18
	Аспарагиновая кислота	15
	Лизин	3
	Аргинин	1

Характер пространственной укладки определяется аминокислотным составом и чередованием аминокислот в пептидной цепи. Следовательно, конформация пептидной цепи (пространственная структура) является такой же специфической характеристикой данного белка, как и первичная структура. К настоящему времени изучена пространственная структура десятков разных белков. Некоторые примеры приведены на рис. 10.

Белковая глобула не является абсолютно жесткой структу-



Пространственная структура некоторых белков:

a — фосфоглицератмутаза; *б* — фосфоглицераткиназа; *в* — гексокиназа. Цилиндры — α -спирали, стрелки — складчатые слои

рой: в известных пределах возможны обратимые перемещения частей пептидной цепи относительно друг друга, с разрывом небольшого числа слабых связей и образованием новых. Молекула в растворе как бы пульсирует в разных своих частях. Эти изменения можно рассматривать как тепловое (броуновское) движение отдельных участков пептидной цепи. Они не нарушают основного плана конформации молекулы, подобно тому как тепловые колебания атомов в кристалле не изменяют структуру кристалла, если температура не настолько велика, что наступает плавление.

Небольшие изменения конформации белковых молекул происходят и при взаимодействии их с другими молекулами. Например, конформация гемоглобина с присоединенным к нему кислородом немного отличается от конформации гемоглобина в отсутствие кислорода. Поскольку в глобуле аминокислоты связаны друг с другом как пептидными связями, так и множеством других связей, белковая молекула обладает кооперативными свойствами, т. е. отвечает на воздействие как единое целое: изменение в одной части молекулы приводит к изменениям во



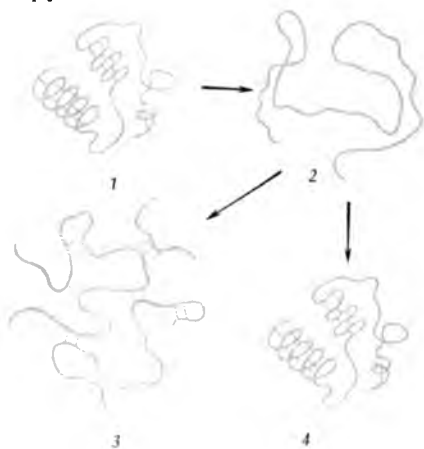
Кооперативное изменение формы мяча

Конформация пептидной цепи нарушается и молекула целиком или в значительной части принимает форму случайного беспорядочного клубка (случайного в том смысле, что каждая молекула данного белка по конформации может отличаться от всех других молекул).

Такое изменение белка называют *денатурацией*. Денатурацию можно вызвать нагреванием до 60—80°C или действием других агентов, разрушающих нековалентные связи в белках. Денатурация происходит на поверхности раздела фаз, в кислых или, наоборот, щелочных средах, при действии ряда органических соединений—спиртов, фенолов и др.; часто для денатурации применяют мочевины или гуанидинхлорид. Все эти вещества образуют водородные связи с аминокруппами или карбонильными группами пептидного остова и с некоторыми группами радикалов

аминокислот, подменяя собственные внутримолекулярные водородные связи в белке, вследствие чего вторичная и третичная структуры изменяются.

Денатурация обычно сопровождается снижением растворимости белка; при этом часто образуется осадок «свернувшегося белка», а если концентрация белков в растворе достаточно велика, то «свертывается» вся масса раствора, как это происходит при варке куриного яйца. При денатурации утрачивается биологическая активность белков. На этом основано применение водного раствора фенола (карболовая кислота) в качестве антисептика.



12

Денатурация и ренативация белков: 1 — нативный белок; 2 — при нагревании внутримолекулярные слабые связи разрываются; 3 — при быстром охлаждении образуются в произвольном порядке как внутримолекулярные, так и межмолекулярные связи; 4 — при медленном охлаждении возможна ренативация белка

Лабильность пространственной структуры белков и большая вероятность их денатурации при разнообразных воздействиях создают значительные затруднения при выделении и изучении белков, а также при использовании в медицине и промышленности.

✓ В определенных условиях при медленном охлаждении раствора денатурированного нагреванием белка происходит *ренатурация*—восстановление исходной (нативной) конформации (рис. 12, 4). Это подтверждает, что характер укладки пептидной цепи определяется первичной структурой белка. Процесс образования нативной конформации белка самопроизвольный, т. е. эта конформация отвечает минимуму свободной энергии молекулы. Можно сказать, что пространственная структура белка закодирована в аминокислотной последовательности пептидных цепей. Это означает, что все идентичные по чередованию аминокислот полипептиды (например, пептидные цепи миоглобина) будут принимать идентичную же конформацию. Однако обратное утверждение было бы неверно. Белки, имеющие одинаковую или почти одинаковую конформацию, могут существенно различаться по первичной структуре. Например, миоглобин, α -протомеры и β -протомеры гемоглобина имеют почти одинаковую конформацию (см. рис. 5), но их первичная структура существенно различается: примерно в 70% позиций аминокислоты не совпадают. Однако в таких случаях несовпадающие аминокислоты, как правило, сходны по физико-химическим свойствам боковых цепей.

ПРОСТЫЕ И СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ

Многие белки помимо пептидных цепей содержат еще компонент неаминокислотной природы — простетическую группу. Такие белки в отличие от простых, построенных только из аминокислот, называют сложными белками*.

Простетическая группа может быть представлена веществами разной природы (табл. 5). Три последние группы белков, указанные в табл. 5 (протеогликаны, липопротеины, нуклеопротеины),— это уже скорее не белки, а надмолекулярные структуры, внутриклеточные органеллы, имеющие сложный состав и организацию (см. гл. III, X, XVIII).

Связи между пептидными цепями и простетической группой бывают как ковалентные, так и нековалентные. Например, фосфопротеины содержат фосфатные остатки, соединенные сложноэфирной связью с гидроксильными группами остатков серина или треонина. Простетическая группа миоглобина и гемоглобина (гем) соединена с белковой частью только нековалентными связями.

Сложный белок (холопротеин) может диссоциировать на белковую часть (апопротеин) и простетическую группу:

* В литературе, особенно старой, сложные белки иногда называют протеидами (нуклеопротеиды, гликопротеиды и т. д.)

Т а б л и ц а 5. Некоторые сложные белки

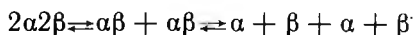
Класс	Протестическая группа	Класс	Протестическая группа
Металлопротеины	Ионы металлов	Липопротеины	Триацилглицерин и сложные липиды
Фосфопротеины	H_3PO_4	Нуклеопротеины:	РНК
Гемопроотеины	Гем		
Флавопротеины	Флавиннуклеотиды	рибонуклеопротеины (рибосомы, информосомы)	ДНК
Гликопротеины	Моносахариды, олигосахариды	дезоксирибонуклеопротеины (хроматин)	
Протеогликаны (мукопротеины)	Гликозамингликаны (мукополисахариды)		

Холопротеин \rightleftharpoons Апопротеин + Протестическая группа

Часто равновесие этой реакции сильно смещено влево, особенно при наличии ковалентных связей между пептидом и протестической группой. В других случаях в равновесном состоянии могут преобладать продукты диссоциации холопротеина.

ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКОВ

Многие белки построены из двух или более пептидных цепей, соединенных нековалентными связями. Такие белки могут распадаться на составляющие их пептидные цепи при сравнительно небольших изменениях среды, например при подкислении, подщелачивании, добавлении гидрофобных веществ, охлаждении, а также при действии денатурирующих агентов. Примером может служить основной белок эритроцитов — гемоглобин (Hb). Он построен из четырех пептидных цепей — две цепи α и две цепи β . Строение тетрамерного Hb представляют формулой $2\alpha 2\beta$. При указанных выше воздействиях тетрамерный гемоглобин диссоциирует сначала на димеры, а затем и на мономеры (протомеры):



Могут образовываться также димеры $\alpha\alpha$ и $\beta\beta$. Димеры и протомеры называют субъединицами белка; протомеры — это наименьшие субъединицы. Если из раствора удалить агент, вызвавший диссоциацию, субъединицы вновь объединяются в тетрамерную молекулу, т. е. происходит самосборка молекул гемоглобина.

Белки, молекулы которых, подобно гемоглобину, построены из нескольких полипептидных цепей (по существу, из нескольких белков меньшего размера), называют олигомерными белками. Количество протомеров, способ их соединения и пространственной укладки относительно друг друга называют *четвертичной структурой белка*.

Белки с молекулярной массой больше 50 000 почти всегда являются олигомерными. Число протомеров в олигомерных бел-

Таблица 6. Число протомеров в некоторых олигомерных белках

Белок	Число протомеров*	Белок	Число протомеров*
Гексокиназа	2	Серин—треонин— дегидратаза	1+1
Белок S-100	3	Фактор свертыва- ния крови XIIIa	2+2
Пируваткиназа	4	Гемоглобин	2+2
Глутаматдегид- рогеназа	6	Миозин	2+4
Изоцитратдегид- рогеназа	8	Тропонин	1+1+1
Ферритин	24	РНК-Полиме- раза I	1+1+1+1—2+2

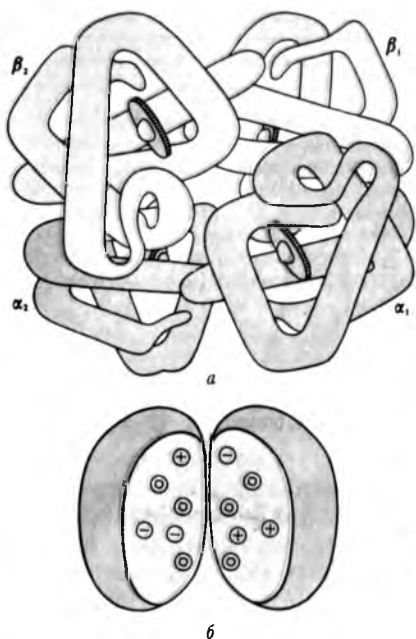
* В тех случаях, когда протомеры не идентичны, общее число протомеров представлено как сумма протомеров каждого типа.

как чаще всего лежит в пределах десяти, но может быть и гораздо большим; наиболее часто встречаются димеры и тетрамеры. Протомеры могут быть как идентичными, так и разными (табл.6). Равновесие диссоциации некоторых олигомерных белков в условиях клетки таково, что в клетке существуют олигомер и его субъединицы в сравнимых количествах. Четвертичная структура является такой же специфичной, уникальной характеристикой данного белка, как и другие уровни структуры.

Комплементарность протомеров

Протомеры соединяются в результате образования гидрофобных, ионных, водородных связей. При этом протомеры взаимодействуют друг с другом не любой частью своей поверхности, а определенным участком (контактная поверхность). Между каждой парой взаимодействующих контактных участков образуются десятки связей.

Процесс самосборки отличается высокой специфичностью. Если в растворе наряду с протомерами гемоглобина есть и другие белки, они не образуют соединений с протомерами гемоглобина. Протомеры данного белка «находят» и «узнают» друг друга, соединяясь только друг с другом. Взаимное узнавание протомеров обусловлено особой структурой контактных поверхностей. Контактные поверхности содержат много гидрофобных аминокислотных остатков, которые при объединении протомеров образуют гидрофобное ядро олигомерного белка. При этом расположение групп, образующих связи, на одном протомере соответствует их расположению на другом протомере (рис. 13). Если на одной поверхности имеется выступ, то на другой в соответствующем месте — углубление, в которое при контакте входит выступ; соответственно при контакте оказываются совпадающими разноименно заряженные ионные группы или группы, способные образовать водородные связи, или гидрофобные участки повер-



Четвертичная структура гемоглобина:
 а — модель молекулы гемоглобина, каждый протомер содержит гем (изображен в форме диска);
 б — схема комплементарности контактных поверхностей протомеров

зом, здесь намечается путь к пониманию того, как на основе химических и физико-химических свойств возникают структуры и свойства, характерные для биологической формы движения материи.

Рассмотрим в качестве примера самосборки клеточных органелл простую структуру — микротрубочки. Эти органеллы представляют собой длинные полые цилиндры с наружным диаметром 24 нм и внутренним — 15 нм; толщина их стенок 5 нм. Длина микротрубочек в большинстве клеток составляет несколько микрометров, однако в аксонах нервных клеток она достигает нескольких сантиметров. Микротрубочки имеются во всех клетках, причем постоянно обновляются: то распадаются, то вновь образуются. Они участвуют в образовании цитоскелета и поддержании формы клетки, во внутриклеточном транспорте веществ, в движении хромосом при делении клетки (митотическое веретено состоит в основном из микротрубочек), в перемещении частей клеточных мембран.

Микротрубочки построены из белка тубулина; это димерный белок, состоящий из двух разных протомеров, с молекулярной массой 111 500. Тубулин сравнительно легко удается выделить из некоторых тканей в чистом виде. Если в раствор тубулина

хностей. Такого рода поверхности называют комплементарными; они подходят друг к другу, как ключ к замку. Каждый протомер взаимодействует с другим в десятках точек; это означает, что ошибочное соединение (неправильная ориентация в олигомере или соединение с другими белками) практически невозможно.

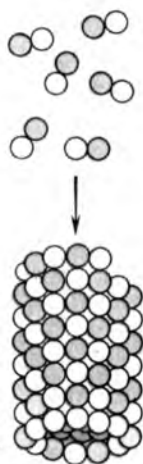
Комплементарные взаимодействия молекул (не только белковых) лежат в основе всех биохимических процессов в организме.

Самосборка надмолекулярных структур

Олигомерные белки в строгом смысле нельзя назвать молекулами: скорее это надмолекулярные структуры, занимающие промежуточное положение между молекулами и клеточными органеллами, такими, как рибосомы, хромосомы, мембраны и др. Таким обра-

добавить соль магния (ионы Mg^{2+}), то начинается образование микротрубочек (рис. 14). Трубочка удлиняется в результате присоединения димеров к горцам; каждое кольцо трубочки содержит 13 протомеров, а порядок присоединения определяется наличием соответствующих контактных участков. Рост или, наоборот, распад микротрубочек с помощью специальных приемов удастся наблюдать и в живой клетке.

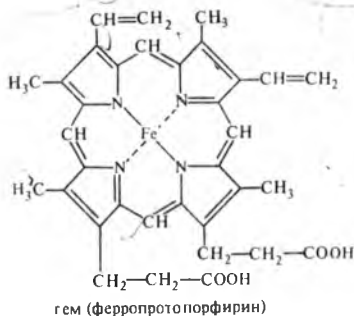
Микротрубочку можно рассматривать и как блок с четвертичной структурой, и как клеточную органеллу. В последующих главах описана самосборка более сложных структур — рибосом (гл. III), мембран (гл. VII).



14
Самосборка микротрубочек из димеров тубулина

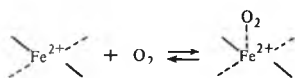
Кооперативные изменения конформации протомеров

Олигомерные белки обладают особыми свойствами, которых нет у белков, не имеющих четвертичной структуры. Это можно увидеть, сравнивая белок мышц *миоглобин* и белок эритроцитов *гемоглобин*. Вторичная и третичная структуры миоглобина и протомеров гемоглобина очень сходны (ср. рис. 5 и 13). Оба эти белка являются γ гемопротеинами и выполняют в организме сходные функции, в основе которых лежит способность обратимо связывать кислород. Простетическая группа этих белков — *гем* — представляет собой плоскую молекулу, содержащую четыре пиррольных цикла и соединенный с ними атом железа:



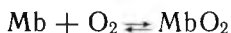
Гем соединяется с белковой частью (глобином) гидрофобными связями между пиррольными циклами и гидрофобными радикалами аминокислот. Кроме того, имеется координационная связь между атомом железа и имидазольным кольцом одного из остатков гистидина в глобине. За счет еще одной координационной связи к атому железа может присоединяться молекула

кислорода с образованием оксимоглобина или оксигемоглобина; валентность железа при этом не изменяется:

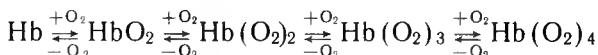


Пиррольные кольца гема расположены в одной плоскости, в то время как атом железа несколько выступает из этой плоскости (рис. 15). Присоединение кислорода «выпрямляет» молекулу гема: железо перемещается в плоскость пиррольных колец. Поскольку железо связано с остатком гистидина пептидной цепи, то происходит и перемещение участка пептидной цепи, т. е. несколько изменяется конформация белка. Таким образом, присоединение кислорода сопровождается изменением пространственной структуры. В этом отношении миоглобин и гемоглобин одинаковы, но следствия изменения их конформации различны.

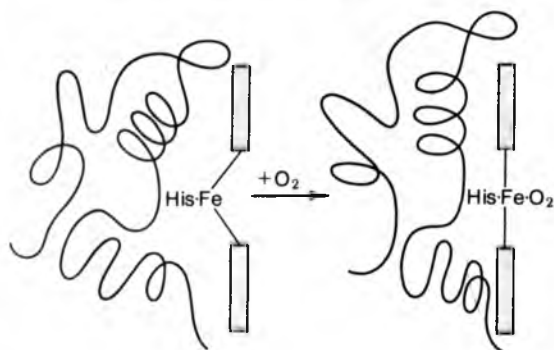
Превращение миоглобина (Mb) в оксимоглобин отражает следующая схема:



В гемоглобине имеется четыре протомера, каждый из которых содержит гем и может присоединять кислород:



Первая молекула O_2 изменяет конформацию протомера, к которому она присоединилась. Поскольку этот протимер соединен многими связями с другими протимерами, изменяется конформация и других протимеров. Это явление называют кооператив-



15

Изменение конформации миоглобина и протимеров гемоглобина при соединении с кислородом

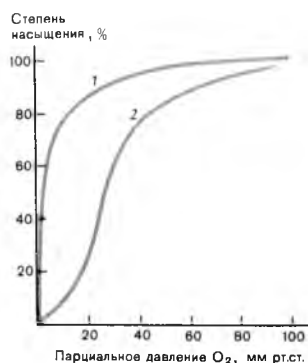
ностью изменения конформации протомеров. Изменения конформации таковы, что сродство гемоглобина ко второй молекуле O_2 увеличивается. В свою очередь присоединение второй, а затем и третьей молекул O_2 тоже изменяет конформацию и облегчает присоединение следующих молекул O_2 . Сродство гемоглобина к четвертой молекуле O_2 примерно в 300 раз больше, чем к первой. Конформационные изменения при образовании оксигемоглобина подтверждены рентгеноструктурным анализом.

График зависимости насыщения миоглобина кислородом от парциального давления кислорода имеет вид гиперболы; для гемоглобина же эта зависимость отражается S-образной кривой (рис. 16). При низком давлении кислорода с ним связаны не все протомеры каждой молекулы гемоглобина; увеличение крутизны кривой при возрастании давления кислорода отражает увеличенное сродство к кислороду частично оксигенированных молекул гемоглобина.

Гемоглобин присоединяет кислород из альвеолярного воздуха в легких. Здесь насыщенность гемоглобина близка к 100%. В венозной крови насыщенность гемоглобина кислородом равна 75% (давление кислорода 5,3 кПа, или 40 мм рт. ст.); таким образом, 25% кислорода перешло в ткани. Венозная кровь вновь поступает в легкие, гемоглобин насыщается кислородом до 100%, и цикл повторяется. Из рис. 16 видно, что миоглобин не мог бы выполнять эту функцию, поскольку при давлении кислорода 5,3 кПа (40 мм рт. ст.) он всё еще остается практически полностью насыщенным. Функция миоглобина заключается в другом: обладая более высоким сродством к кислороду, он присоединяет кислород, доставляемый гемоглобином, и служит промежуточным звеном транспорта внутри клетки к митохондриям — главному месту потребления кислорода. Кроме того, в форме оксимиоглобина в мышцах может запасаться некоторое количество кислорода; это свойство имеет значение в основном для ныряющих животных (утки, тюлени, киты и др). Таким образом, оба белка — и миоглобин, и гемоглобин — приспособлены к выполнению их функций.

Кооперативные изменения конформации олигомерных белков составляют основу механизма регуляции функциональной активности не только гемоглобина, но и большого числа других белков, в том числе аллостерических ферментов (см. гл. II).

Доменные белки. С олигомерными белками сходны белки доменного строения. Доменные белки, как и олигомерные, содержат в значительной мере обособленные глобулы — *домёны*,



16
График насыщения миоглобина (1) и гемоглобина (2) кислородом

подобные протомерам. Однако в доменных белках эти глобулы образованы одной и той же пептидной цепью. Устройство доменных белков легко понять из такого сравнения: если концы нити смотать в клубок, а затем, не обрывая нити, начать новый клубок, то получатся два клубка («домена»), соединенные несмотанной нитью (см. рис. 10, б). Пептидных перемычек между доменами может быть и две. Домены в белках, помимо пептидной перемычки, соединены еще и слабыми связями, как протомеры в олигомерных белках. Для разделения доменов нужно гидролизовать какую-либо пептидную связь в перемычке, а также разрушить слабые связи. По функциональным свойствам доменные белки подобны олигомерным белкам.

Таким образом, в белках различают четыре уровня структурной организации: Первичная структура — порядок чередования аминокислотных остатков в пептидных цепях; Вторичная и третичная структуры — конформация пептидных цепей; Четвертичная структура — число протомеров в олигомерных белках, их пространственное расположение и способ соединения.

Первичная структура имеет особый биологический смысл, поскольку она определяет все другие уровни организации. Если задана первичная структура, то другие уровни структурной организации будут образовываться самопроизвольно. Можно сказать, что, например, первичная структура гемоглобина содержит информацию о его вторичной, третичной и четвертичной структурах, а следовательно, и о биологических функциях гемоглобина. Структура белков — наследуемое свойство. Как мы увидим позднее, в наследственном аппарате содержится информация именно о первичной структуре.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ МАССА, РАЗМЕРЫ И ФОРМА БЕЛКОВЫХ МОЛЕКУЛ

Один из распространенных методов определения молекулярной массы белков и других высокомолекулярных веществ основан на измерении скорости седиментации веществ при ультрацентрифугировании. Во вращающемся роторе ультрацентрифуги центробежное ускорение достигает 100 000—500 000 g (g — ускорение свободного падения). На поверхность буферного раствора, налитого в кювету ультрацентрифуги, наносят тонкий слой раствора белка и кювету помещают в ротор. При вращении ротора молекулы белка, более плотные, чем растворитель, начинают перемещаться в направлении от оси вращения. Положение белковой зоны в кювете в ходе центрифугирования регистрируется специальной оптической системой по показателю преломления, который больше в зоне белка, чем в буферном растворе.

На основании результатов центрифугирования вычисляют коэффициент седиментации s :

$$s = \frac{dx}{dt} \frac{1}{\omega^2 x},$$

где x — расстояние от оси вращения до зоны белка; t — время (dx/dt — скорость седиментации); ω — угловая скорость (рад/с). Коэффициент седиментации имеет размерность времени. За единицу коэффициента седиментации условно принята величина 10^{-13} с, называемая *сведбергом* и обозначаемая S^* .

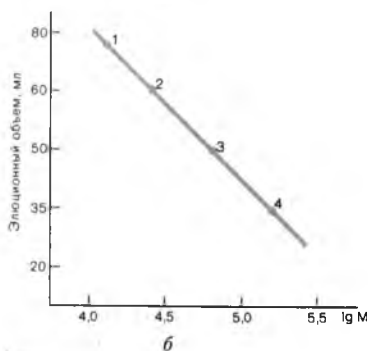
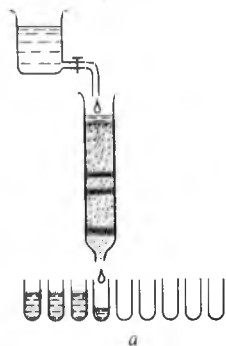
Коэффициент седиментации большинства белков лежит в пределах 1—20 S .

Молекулярная масса белка пропорциональна его коэффициенту седиментации, коэффициенту диффузии и плотности. Измерив в независимых опытах коэффициент диффузии и плотность, можно вычислить молекулярную массу. Поскольку наибольшее трудности вызывает измерение коэффициента диффузии, нередко ограничиваются указанием только коэффициента седиментации белка, а также и других высокомолекулярных веществ и частиц (20S-белок, 60S-частица, 18S-РНК и т. д.). Эти величины позволяют оценить относительные размеры молекул и частиц, однако надо учитывать, что зависимость коэффициента седиментации от молекулярной массы нелинейная.

Более просто молекулярную массу белка можно определить *методом гель-фильтрации*, или молекулярного просеивания. Этот метод основан на применении специальных полимерных веществ, набухшие зерна (гранулы) которых имеют поры определенного размера. Чаще всего используют сефадекс, гранулы которого построены из трехмерной сети полисахаридных цепей декстрана. Небольшие молекулы растворенных веществ легко диффундируют внутрь зерен сефадекса, в то время как диффузия крупных молекул затруднена. Это явление лежит в основе разделения веществ (молекулярного просеивания) методом гель-фильтрации.

Гелеобразную массу набухшего сефадекса помещают в стеклянную трубку (колонку), на поверхность геля наносят слой белкового раствора и затем через колонку пропускают буферный раствор (рис. 17). Белковый раствор вместе с буфером перемещается вдоль колонки между гранулами сефадекса. В результате диффузии молекулы белков могут проникать внутрь гранул и какое-то время удерживаться там. Поэтому белки проходят через колонку медленнее, чем буферный раствор, причем тем медленнее, чем меньше их молекулярная масса, так как молекулы белков с меньшей молекулярной массой легче диффундируют внутрь гранул. В результате в колонке образуются отдельные зоны бел-

* По имени шведского ученого Т. Сведберга, построившего в 1925 г. первые ультрацентрифуги. Это были гигантские сооружения, занимавшие помещение, равное двухэтажному дому. Ротор приводился в движение масляными турбинами. Современные ультрацентрифуги имеют размеры небольшого письменного стола.



17 Фракционирование белков по молекулярным массам на колонке с сефадексом:

а — прибор для хроматографии; б — график для расчета молекулярной массы по результатам хроматографии на сефадексе; 1 — РНКаза; 2 — α-химотрипсин; 3 — сывороточный альбумин (мономер); 4 — γ-глобулин

строят калибровочный график, как показано на рис. 17. Затем через эту же колонку пропускают белок, молекулярную массу которого нужно узнать; определяют его элюционный объем и по графику находят значение $\lg M$, соответствующее этому объему.

В табл. 7 приведены значения молекулярной массы некоторых белков; в табл. 8 представлены величины, характеризующие размеры и форму некоторых белков, и, для сравнения, размеры некоторых клеточных органелл и клеток.

ИОНИЗАЦИЯ, ГИДРАТАЦИЯ И РАСТВОРИМОСТЬ БЕЛКОВ

Радикалы лизина, аргинина, гистидина и дикарбоксильных аминокислот содержат группы, способные к ионизации. Кроме того, на концах пептидных цепей имеются свободные α-аминогруппы и α-карбоксильные группы, которые тоже ионизируются. Ионогенных групп в молекуле белка может быть 15—20 на каж-

ков, причем молекулярная масса белка тем больше, чем ниже расположена зона. Если гель-фильтрации подвергают смесь окрашенных белков (гемоглобин, цитохромы и др.), то разделение смеси можно наблюдать непосредственно.

Продолжая пропускать буферный раствор через колонку и собирая вытекающую из колонки жидкость небольшими порциями в ряд пробирок, получают фракции белков, различающихся молекулярной массой: белки вымываются (элюируются) из колонки в порядке убывания молекулярной массы. На этом основано определение молекулярной массы белков методом гель-фильтрации.

Между элюционным объемом и логарифмом молекулярной массы существует линейная зависимость (см. рис. 17). Элюционный объем зависит от размеров колонки, марки сефадекса, плотности его упаковки в колонке и других факторов. Поэтому колонку с сефадексом сначала калибруют. Для этого через нее пропускают растворы белков с известной молекулярной массой и

Т а б л и ц а 7. Молекулярные массы некоторых белков человека

Белок	М	Белок	М
Соматотропин	21 500	Церулоплазмин	150 000
Интерферон	26 000	Пируваткиназа	240 000
Карбоангидраза эритроци- тов	29 000	Фактор XIIIa	320 000
Пепсин	35 500	Фибриноген	340 000
Фактор Касла	44 200	Апоферритин	450 000
Альбумин сыворотки крови	66 500	Пируваткарбоксилаза	600 000
Трансферрин	88 000	α_2 -Макроглобулин	720 000
Диоксигеназа <i>п</i> -оксифенил- пирувата	100 000	Иммуноглобулин IgM	950 000

Т а б л и ц а 8. Размеры некоторых молекул, клеточных органелл и клеток

Частица	Размер, нм	Отношение короткой оси к длинной
Аланин	0,5 (длина)	—
Миоглобин	$4,4 \times 4,4 \times 2,5$	1:1,7
Фосфоглюконизомеразы	$7 \times 7 \times 10$	1:1,4
Гемоглобин	6,8 (поперечник)	—
Карбоксипептидаза А	$5 \times 4,2 \times 3,8$	1:1,6
Трансферрин	$4 \times 5 \times 10$	1:2,5
Пируваткиназа	$7,5 \times 9,5 \times 12,5$	1:1,7
Глутаматдегидрогеназа	13 (поперечник)	—
Фибриноген	$3,8 \times 3,8 \times 70$	1:18
Миозин	$2 \times 2 \times 150$	1:75
Тропоколлаген	$1,5 \times 1,5 \times 300$	1:200
Рибосома (80S)	23 (поперечник)	—
Плазматическая мембрана	8 (толщина)	—
Митохондрия из клеток печени	1500 (длина)	—
Эритроцит*	$8000 \times 8000 \times 1500$	—
Гепатоцит	20 000 (поперечник)	—

* В эритроците 95% сухой массы (около 30% сырой массы) приходится на гемоглобин; каждый эритроцит содержит около 280 млн. молекул гемоглобина.

дые 100 аминокислотных остатков. Таким образом, белки представляют собой полиэлектролиты. Поскольку белки содержат как положительно, так и отрицательно заряженные группы, они являются амфолитами.

При подкислении раствора белка степень ионизации анионных групп снижается, а катионных — повышается; при подщелачивании происходят противоположные изменения. При определенном значении рН число положительно и отрицательно заряженных групп становится одинаковым; такое состояние называется *изоэлектрическим* (суммарный заряд молекулы равен нулю). Значение рН, при котором белок находится в изоэлектрическом состоянии, называют *изоэлектрической точкой* и обозначают *pI*. Изоэлектрическая точка большинства белков лежит в слабокислой

зоне. Это связано с тем, что обычно в белках анионогенных аминокислот больше, чем катионогенных. Однако есть и щелочные белки, например гистоны, входящие в состав хроматина и содержащие много лизина и аргинина.

Если белок не находится в изоэлектрическом состоянии, то в электрическом поле молекулы белка будут перемещаться к катоду или аноду, в зависимости от знака суммарного заряда, и со скоростью, пропорциональной величине суммарного заряда (электрофорез). Этим методом можно разделять белки с различным значением pI .

Полярные группы белков, как ионогенные, так и неионогенные (см. табл. 3), способны взаимодействовать с водой, гидратируются. Количество воды, связанной с белком, достигает 30—50 г на 100 г белка. Гидрофильных полярных групп (а соответственно и связанной с ними воды) значительно больше на поверхности белковой глобулы, чем в глубине, поэтому иногда говорят о «гидратной оболочке» белковой молекулы. Большинство белков имеет гидрофильную поверхность, однако есть и гидрофобные белки, поверхность которых образована преимущественно гидрофобными радикалами аминокислот. Такие белки нерастворимы в воде, но растворяются в липидах: гидрофобные радикалы аминокислот взаимодействуют с молекулами липидов (сольватируются). Гидрофобные белки встречаются преимущественно в клеточных мембранах.

Растворимость белка в воде зависит от количества гидрофильных групп, от размеров и формы молекул, от величины суммарного заряда. В изоэлектрическом состоянии растворимость белков обычно снижена, поскольку отсутствует электростатическое отталкивание между молекулами, и они склонны образовывать крупные многомолекулярные агрегаты, неспособные удерживаться в растворе.

Растворимость белков зависит также от наличия других растворенных веществ. Например, некоторые белки не растворяются в дистиллированной воде, но растворяются в присутствии небольших концентраций нейтральных солей. При высоких концентрациях нейтральных солей белки выпадают в осадок, причем для осаждения (высаливания) разных белков требуются разные концентрации соли. Следовательно, этим способом можно фракционировать белки. Чаще всего для разделения белков методом высаливания используют сульфат аммония. После удаления соли (например, путем диализа) осажденный белок вновь растворяется: при этом сохраняются его нативные свойства.

Растворимость белков снижается и при денатурации. Денатурацией нередко пользуются для удаления белков из растворов.

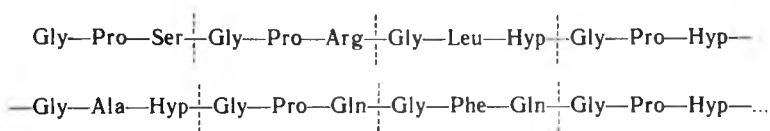
В клетке одни белки находятся в растворенном состоянии в цитозоле, другие входят в состав клеточных структур — мембран, рибосом, микротрубочек, фибрилл и др. Содержание белков в цитозоле равно примерно 20%, в плазме крови — 7—9%.

ФИБРИЛЛЯРНЫЕ БЕЛКИ

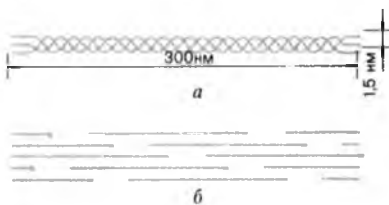
Характерная структурная особенность фибриллярных белков — вытянутая, нитевидная форма молекул. Эти молекулы образуют многомолекулярные нитевидные комплексы — фибриллы.

Фибриллярный белок *коллаген* — самый распространенный белок в мире животных; в организме человека на его долю приходится примерно $\frac{1}{3}$ от общего количества белков. Молекула коллагена (тропоколлагена) построена из трех пептидных цепей, каждая пептидная цепь содержит около 1000 аминокислотных остатков. Необычен аминокислотный состав коллагена: каждая третья аминокислота — это глицин, 20% составляют остатки пролина и гидроксипролина, 10% — аланина, остальные 40% представлены всеми другими аминокислотами. Коллаген — единственный белок, в котором содержится гидроксипролин. Эта аминокислота получается путем гидроксилирования части остатков пролина уже после образования пептидных цепей. Гидроксилируется также некоторая часть остатков лизина с превращением в гидроксизин (формулы см. на с.11).

Пептидные цепи коллагена представляют собой последовательность триплетов Gly—X—Y, где X и Y может быть любой аминокислотой; часто положение X занимает пролин, а положение Y — гидроксипролин. Ниже представлен фрагмент пептидной цепи коллагена (Нур — гидроксипролин):



Каждая из пептидных цепей коллагена имеет конформацию спирали, отличающейся от α -спирали; в молекуле коллагена все три спирали, в свою очередь, перевиты друг с другом, образуя плотный жгут (рис. 18). Между спиралями за счет пептидных групп образуются водородные связи ($\text{—C=O} \cdots \text{H—N—}$). Такие же водородные связи имеются и внутри каждой цепи. Все три цепи молекулы коллагена ориентированы параллельно, т. е. на одном конце коллагена имеются N-концы цепей, на другом — С-концы. Коллаген — сложный белок, гликопротеин: содержит моносахаридные (галактозилные) и дисахаридные (галактозил-глюкозилные) остатки, соединенные с гидроксильными группами некоторых остатков оксизина. Молекулы коллагена, соединяясь



18
Строение молекулы коллагена (а) и схема укладки молекул в коллагеновых фибриллах (б), объясняющая видимую в микроскоп поперечную исчерченность коллагеновых волокон

«бок о бок», образуют микрофибриллы (см. рис. 18); из микрофибрилл формируются более толстые фибриллы, а из них — волокна и пучки волокон. Связи между молекулами коллагена в фибриллах ковалентные; они возникают за счет взаимодействия окислизиновых остатков. Коллагеновые волокна вместе с другими полимерными веществами межклеточного матрикса составляют основу соединительной ткани, обеспечивающую ее опорную функцию (см. гл. XVIII).

Наряду с коллагеном в соединительной ткани содержится *эластин*, несколько отличающийся от коллагена по структуре и свойствам: в частности, он более эластичен. Особенно много эластина в тканях, испытывающих периодическое растяжение и сокращение, таких, как кровеносные сосуды, легкие, некоторые связки (например, затылочная).

Эпидермис кожи, волосы, ногти содержат фибриллярные белки — *кератины*. Пептидные цепи этих белков имеют конформацию α -спирали. В волосе три такие цепи, скрученные в суперспираль, образуют первичный агрегат (протофибриллу). Спиральный жгут из нескольких протофибрилл представляет собой микрофибриллу, жгут из микрофибрилл — макрофибриллу. В целом получается структура многожильного каната. В одном волосе содержатся сотни макрофибрилл, ориентированных по длине волоса. Молекулы кератина в макрофибрилле соединены друг с другом дисульфидными связями, что придает прочность и жесткость всей структуре.

Фибриллярные белки нерастворимы в воде. Они не перевариваются в пищеварительном тракте большинства животных и человека, и поэтому не могут служить пищей (однако некоторые виды членистоногих приспособились к питанию фибриллярными белками кожи, перьев птиц, шерсти, например моль).

ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

Нет сомнений, что белки выполняют в живой клетке наиболее разнообразные и наиболее интересные функции. Как уже было отмечено, в организме человека количество разных белков исчисляется десятками тысяч. Каждый белок имеет уникальную, свойственную лишь ему структуру, и в такой же мере уникальную функцию, отличающуюся от функций всех других белков. Некоторые белки можно объединить в группы по признаку сходства их функций:

1. Транспортные белки: гемоглобин, сывороточный альбумин, трансферрин и др.; белки трансмембранного транспорта.

2. Ферменты.

3. Белки-регуляторы: белковые гормоны, белковые ингибиторы и активаторы ферментов и других белков.

4. Структурные белки: белки нуклеосом, соединительной ткани, фибрин тромбов.

5. Защитные белки (иммуноглобулины).

6. Сократительные белки.

7. Белки, предназначенные для питания развивающегося зародыша (форма запасаания аминокислот): казеин молока, овальбумин яиц, запасные белки семян растений.

Взаимодействие с лигандами

В основе функционирования любого белка лежит его способность к избирательному взаимодействию с каким-либо другим веществом — лигандом. Лигандом может быть как низкомолекулярное вещество, так и макромолекула, в том числе другой белок. Лиганд присоединяется к определенному участку на поверхности белковой молекулы — центру связывания (активный центр). Специфичность взаимодействия (узнавание) чаще всего обеспечивается комплементарностью структуры центра связывания структуре лиганда, подобно тому как это происходит при самосборке гемоглобина из протомеров. Иногда избирательность зависит в основном от реакционной способности атома, к которому непосредственно присоединяется лиганд. Примером может служить присоединение кислорода к атому железа в миоглобине или гемоглобине. Однако и в таких случаях избирательность в значительной мере зависит от белковой части молекулы. Такой же атом железа (в составе гема) в других белках — цитохромах — функционирует совершенно иначе: он служит переносчиком электронов, получая их от одних веществ и передавая другим (при этом железо попеременно становится двух- или трехвалентным).

✓ Связи между белком и лигандом могут быть как ковалентными, так и нековалентными.

Центр связывания иногда занимает небольшой участок поверхности белковой молекулы (в гемоглобине центр связывания кислорода — это только область атома железа), иногда значительную часть поверхности (например, контактные поверхности протомеров гемоглобина).

На молекуле белка может быть один, два или больше активных центров, имеющих одинаковую или разную специфичность. Например, каждый протимер гемоглобина имеет три центра для связывания с тремя другими протимерами и один центр для связывания гема. Тетрамерная молекула гемоглобина имеет четыре активных центра (атомы железа) для связывания кислорода.

✓ Активный центр формируется из аминокислотных остатков, зачастую отстоящих далеко друг от друга в пептидной цепи. Собранными в одном месте они оказываются в результате образования вторичной и третичной структуры. Поэтому при денатурации белков активные центры разрушаются и биологическая активность утрачивается.

✓ Взаимодействие между белком P и лигандом L описывается уравнениями



Здесь $K_{\text{дисс}}$ представляет собой константу диссоциации комплекса PL: чем меньше $K_{\text{дисс}}$, тем больше сродство L к P. Иногда при описании этого процесса пользуются константой связывания (ассоциации) $K_{\text{св}}$, которая представляет собой величину, обратную $K_{\text{дисс}}$:

$$K_{\text{св}} = 1/K_{\text{дисс}} = [\text{PL}]/([\text{P}] [\text{L}]).$$

Соответственно между $K_{\text{св}}$ и сродством L к P пропорциональность прямая: чем больше $K_{\text{св}}$, тем больше сродство.

Образование комплекса можно наблюдать по убыли концентрации свободного лиганда L или по нарастанию концентрации комплекса PL, если его образование сопровождается появлением какого-либо нового свойства, например изменением цвета или поглощения в ультрафиолетовой части спектра. Такой способ используют и для количественного определения индивидуальных белков (см. ниже).

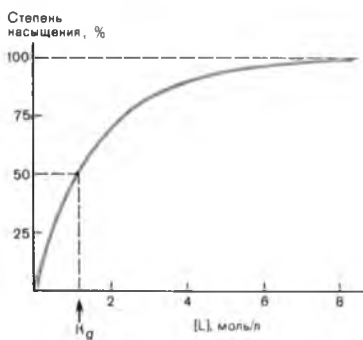
При постоянной концентрации P и возрастающей концентрации L концентрация PL увеличивается по гиперболической кривой, стремясь к максимуму, когда весь белок связан с лигандом (кривая насыщения). Для олигомерных белков кривая насыщения может иметь S-образную форму. Степень насыщения можно выразить в процентах концентрации комплекса [PL] от начальной (до добавления лиганда) концентрации белка [P]₀: степень насыщения = $([\text{PL}]/[\text{P}]_0) \cdot 100$ (рис. 19; см. также рис. 16).

Из уравнения равновесия реакции следует, что если $[\text{P}] = [\text{PL}]$, то $K_{\text{дисс}} = [\text{L}]$. Равенство [P] и [PL] означает полунасыщение белка, т. е. состояние, когда 50% молекул белка связаны с лигандом, а 50% остаются свободными: $[\text{P}] = [\text{PL}] = 1/2 [\text{P}]_0$. Следовательно, $K_{\text{дисс}}$ численно равна такой концентрации лиганда, при которой достигается полунасыщение белка.

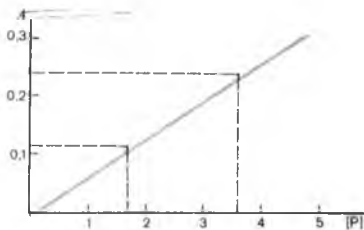
На рис. 19 показано, как по кривой насыщения можно определить $K_{\text{дисс}}$ и тем самым оценить сродство лиганда к белку. Полунасыщение миоглобина и гемоглобина достигается при давлении кислорода соответственно 2 и 26 мм рт. ст. (0,26 и 3,46 кПа) (см рис. 16).

Константы диссоциации разных белков с их лигандами весьма различны — от таких, что в условиях живой клетки преобладает свободный белок, до таких, что свободный белок совсем не обнаруживается.

Зависимость концентрации комплекса PL от концентрации белка P



при большом избытке лиганда имеет линейный вид, поскольку в этих условиях все молекулы белка находятся в составе комплекса PL, т. е. $[PL] = [P]_0$. На этом основано количественное определение индивидуальных белков. Обычно в эксперименте невозможно измерить непосредственно концентрацию комплекса PL, поэтому измеряют изменение какого-либо свойства, например поглощения света, вызванное образованием комплекса (ΔA). Поглощение пропорционально изменению концентрации комплекса, поэтому график зависимости поглощения света от концентрации белка P в условиях насыщающей концентрации лиганда будет линейным (см. рис. 20). На основании графика можно сравнивать концентрации белка P в разных образцах: если, например, в одном из них поглощение равно 0,1, а в другом 0,3, то и концентрация белка в первом образце в три раза меньше, чем во втором. Такой метод позволяет измерить концентрацию определенного белка в сложной смеси, содержащей много других белков, которые не связывают данный лиганд.



Изменение поглощения света, отражающее концентрацию комплекса PL, в зависимости от концентрации белка P (концентрация лиганда L насыщающая)

Изофункциональные белки

Белок, выполняющий определенную функцию в живой клетке, может быть представлен несколькими формами — изофункциональными белками, или *изобелками*. Например в эритроцитах человека обнаружено несколько форм гемоглобина: у взрослого человека преобладающими формами являются HbA, на долю которого приходится 96% всего гемоглобина, HbF и HbA₂ (примерно по 2% каждого). Все гемоглобины представляют собой тетрамеры, построенные из разного набора протомеров α , β , γ и δ : формула HbA — $2\alpha 2\beta$, HbF — $2\alpha 2\gamma$, HbA₂ — $2\alpha 2\delta$. Общим для всех гемоглобинов является наличие α -протомеров. Разные протомеры сходны между собой по первичной структуре, и очень большое сходство между протомерами наблюдается по вторичной и третичной структурам (см. рис. 13). Все формы гемоглобинов выполняют одинаковую функцию — присоединяют кислород и передают его в клетки тканей. Однако в какой-то мере по функциональным свойствам формы гемоглобинов различаются. Например, HbF имеет большее сродство к кислороду, чем HbA, и может отнимать кислород от HbA:



HbF характерен для эмбриональной стадии развития человека (фетальный гемоглобин); лишь в последние недели беременности и первые недели после рождения он постепенно заменяется на HbA. Кровь плода и матери не смешивается; снабжение плода кислородом обеспечивается за счет диффузии кислорода из кровеносных сосудов матери в кровеносные сосуды плода в плаценте. Более высокое сродство фетального гемоглобина к кислороду делает возможной диффузию при меньшем градиенте концентраций кислорода между сосудами матери и плода.

Меньшую степень родства с гемоглобинами обнаруживает миоглобин: по строению и свойству связывать кислород он очень сходен с протимерами гемоглобина, однако в отличие от гемоглобинов, циркулирующих в крови и переносящих кислород от легких (или плаценты) к тканям, миоглобин фиксирован в мышечной ткани и служит промежуточным переносчиком кислорода от гемоглобина к митохондриям, а также для создания резерва кислорода в мышцах.

Изофункциональные белки — это семейства белков, выполняющих в общем одинаковую функцию, однако небольшие особенности некоторых членов семейства могут иметь важное физиологическое значение. Изобелками называют множественные молекулярные формы белка, обнаруживаемые в организмах одного вида; белки организмов разных биологических видов, выполняющие в них одинаковые функции (гомологичные белки), не относятся к изобелкам. Например, гемоглобин человека и гемоглобин кролика — это не изобелки, несмотря на их одинаковую функцию и общее эволюционное происхождение. Более точное определение изофункциональных белков дано в гл. V. Известно большое число семейств изобелков; особенно хорошо изучены изофункциональные ферменты (см. гл. II). Есть основание считать, что значительная часть белков организма (если не все) представлена двумя или бóльшим количеством изофункциональных форм.

Ингибиторы функций белков

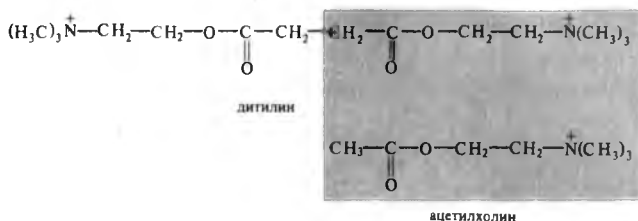
Хотя взаимодействие белка с лигандом отличается высокой специфичностью, всегда можно подобрать вещество — природное или синтетическое, которое является структурным аналогом лиганда и тоже комплементарно центру связывания. Если такой аналог ввести в организм, то он будет соединяться с соответствующим белком вместо естественного лиганда, в результате чего функция белка окажется заблокированной. Вещества, взаимодействующие с активным центром белка и блокирующие его функцию, называют *ингибиторами* (чаще всего этот термин применяют по отношению к веществам, блокирующим функцию ферментов). Например, молекула угарного газа CO достаточно сходна с молекулой кислорода O₂, чтобы присоединяться к гемоглобину. Сродство CO к гемоглобину примерно в 200 раз больше, чем сродство кислорода, и поэтому даже при низкой концентрации

угарного газа в воздухе (0,1—0,3%) значительная часть гемоглобина оказывается блокированной угарным газом и не участвует в транспорте кислорода. В результате может наступить тяжелое отравление, нередко со смертельным исходом. Следовательно, структурные аналоги естественных лигандов могут быть ядами.

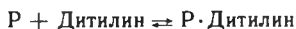
В нервно-мышечных синапсах медиатором передачи возбуждения с нерва на мышцу служит ацетилхолин. В процессе передачи возбуждения ацетилхолин соединяется с белком-рецептором (Р):



Дитилин является структурным аналогом ацетилхолина:



Дитилин тоже может соединяться с рецептором ацетилхолина:



При введении в организм дитилин блокирует рецепторы ацетилхолина; вследствие этого нарушается передача импульса и возникает расслабление мышц (паралич). Дитилин применяют для расслабления мышц (миорелаксант) при кратковременных операциях и эндоскопических обследованиях. Дитилин — представитель группы курареподобных лекарств: их механизм действия сходен с механизмом действия кураре — яда некоторых южноамериканских растений, применявшегося индейцами для отравления стрел. Таким образом, аналоги естественных лигандов могут быть лекарственными веществами.

В настоящее время время большого числа лекарств известны белки, с которыми они соединяются в организме (многие примеры приведены в последующих главах). В этом нашла развитие концепция о механизме действия лекарств, предложенная П. Эрлихом еще в начале XX века. Суть концепции состоит в том, что лекарство имеет точный адрес в организме, мишень, «хеморецептор» (термин П. Эрлиха), роль которого выполняет определенное вещество. Эта концепция объясняет, в частности, специфичность действия лекарств, проявляющуюся в том, что разные болезни излечиваются разными лекарствами. Отсюда нетрудно сделать вывод о невозможности панацеи. Сейчас представления о лекарствах как веществах, способных взаимодействовать с центрами связывания белков, служат фундаментальной основой химиотерапии и поисков новых лекарственных веществ. Разумеется, есть

много и таких лекарств, которые первично взаимодействуют не с белками, а с другими веществами организма.

Способность «узнавать» определенное соединение или группу соединений и избирательно взаимодействовать с ними, «не обращая внимания» на все другие соединения, — главная структурно-функциональная особенность любого индивидуального белка. Для каждого вещества, имеющегося в организме, есть и соответствующий белок, узнающий это вещество. Это свойство белков лежит в основе образования надмолекулярных структур клетки, избирательного и направленного переноса веществ в клетке и между органами сложного организма; оно обеспечивает упорядоченные, направленные химические превращения веществ в организме. В природе нет другого класса соединений, который мог бы сравниться с белками по разнообразию выполняемых ими функций.

ВЫДЕЛЕНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ БЕЛКОВ

Процедура выделения какого-либо белка начинается с переведения белков ткани в раствор. Для этого ткань измельчают и разрушают клетки с помощью специальных приборов — гомогенизаторов или просто растираем с песком. Нерастворимые части ткани из гомогената осаждают центрифугированием. В надосадочной жидкости (экстракте) содержатся растворимые белки. Если выделяемый белок прочно связан с какими-либо клеточными структурами, его можно перевести в раствор, обрабатывая гомогенат детергентами. В экстракте наряду с веществами небелковой природы присутствует много разных белков, причем искомым белком часто содержится в очень небольших количествах, составляющих десятые доли процента от всех белков.

Главная трудность выделения индивидуального белка состоит именно в его отделении от остальных белков. Все белки как соединения одного класса обладают сходными свойствами, и их фракционирование основано на небольших различиях в свойствах разных белков. В процессе выделения по возможности избегают денатурирующих воздействий: работу проводят при температуре, близкой к 0°C, не применяют сильноокислых или сильнощелочных растворов.

Избирательная денатурация. Многие белки денатурируются и выпадают в осадок при нагревании раствора до 50—70°C или при подкислении примерно до pH 5. Если выделяемый белок выносит эти условия, то часть посторонних белков можно удалить из раствора таким способом.

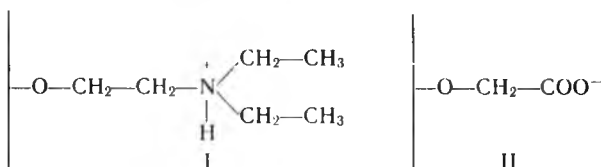
Различия в растворимости. Чаще всего используют зависимость растворимости белков от концентрации сульфата аммония. Если в раствор белков добавить небольшое количество $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (например, 10 г на 100 мл раствора), то наименее

растворимые белки выпадут в осадок. Осадок отделяют центрифугированием, а к надосадочной жидкости добавляют еще 10 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и получают второй осадок. Продолжая эту процедуру, получают ряд фракций: в одной из них содержание искомого белка больше, чем в других.

Сходным образом можно фракционировать белки добавлением возрастающих количеств ацетона или спирта.

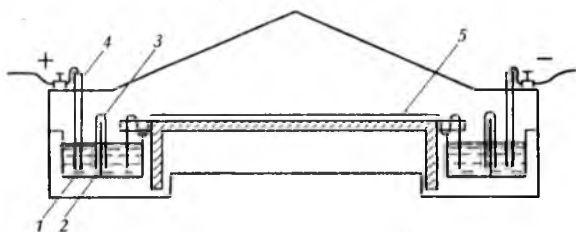
Различия в количестве и природе ионогенных групп. Эти свойства позволяют фракционировать белки методами ионообменной хроматографии и электрофореза.

Для хроматографии белков применяют ионообменники на основе целлюлозы или других гидрофильных полимеров, например диэтиламиноэтилцеллюлозу (ДЭАЭ-целлюлоза), содержащую катионные группы (I), или карбоксиметилцеллюлозу (КМ-целлюлоза), содержащую анионные группы (II):



Прочность связывания белков с ДЭАЭ-целлюлозой тем выше, чем больше в молекуле белка карбоксильных групп. Белки, адсорбированные на ДЭАЭ-целлюлозе, можно смыть (элюировать) растворами с возрастающей концентрацией NaCl : вначале элюируются слабо связывающиеся белки, а по мере увеличения концентрации NaCl и другие белки, в порядке возрастания их сродства к ДЭАЭ-целлюлозе. Аналогично применяют и КМ-целлюлозу, но сродство белков к ней прямо пропорционально числу аминогрупп в белке.

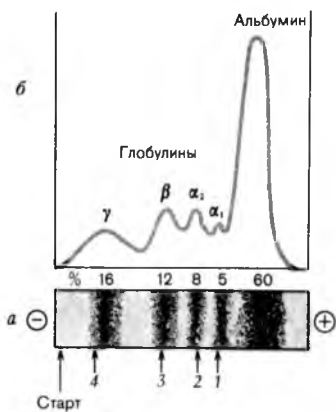
Электрофорез для разделения белков применяют во множестве вариантов. На рис. 21 представлена принципиальная схема простейшего варианта — электрофорез на бумаге. На полоску



21

Электрофорез белков на бумаге

В приборе для электрофореза имеются две вынимающиеся кюветы 1, разделенные перегородкой 2 на два отделения, которые соединяются между собой полоской фильтровальной бумаги 3 (электропроводящий мостик). В наружные отделения кювет опущены электроды 4, а во внутренние — концы бумажных полос 5; на этих полосах происходит разделение белков



22

Проявленная электрофореграмма белков плазмы крови (а) и кривая изменения оптической плотности электрофореграммы (б), по которой можно рассчитать концентрацию белков во фракции

Указаны основные фракции белков, их содержание в плазме (в % от суммарной концентрации белков в плазме) и положение некоторых индивидуальных белков (стрелки): 1 — α_1 -антитрипсин; 2 — гаптоглобин и церулоплазмин; 3 — трансферрин; 4 — фибриноген

фильтровальной бумаги, пропитанную буферным раствором, наносят раствор белков и включают ее в электрическую цепь с постоянным током. Полоску бумаги, чтобы предотвратить высыхание, помещают в герметически закрытой камере. Белки на электрофореграмме обнаруживают, обрабатывая полоску красителем, связывающимся с белками, обычно бромфеноловым синим или амидовым черным (рис. 22, а). Такой метод мало пригоден для выделения белков в количествах, достаточных для их дальнейшего изучения. Для получения больших количеств очищенного белка вместо полоски бумаги используют толстый блок какого-либо инертного материала — крахмала, целлюлозного порошка, или полимеры, образующие гели, — агар, полиакриламид.

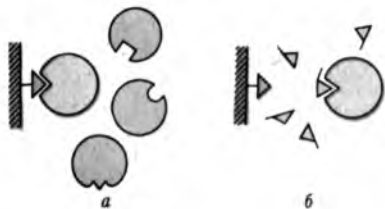
Различия по молекулярной массе позволяют разделять белки методами гель-фильтрации и ультрацентрифугирования, которые рассмотрены выше.

Различия по специфичности к лигандам используются в методе, который называется *афинной хроматографией* или хроматографией по сродству. В этом варианте хроматографии в качестве сорбента применяют инертный полимер с присоединенным к

нему специфическим лигандом того белка, который хотят выделить. Суть метода и пример применения представлены на рис. 23 и 24.

Выделение индивидуального белка требует последовательного применения многих приемов (см. схему 1 и табл. 9).

Ход выделения контролируют по увеличению содержания выделяемого белка в препарате после каждой стадии. Концентрацию выделяемого белка в препаратах сравнивают по способности этих препаратов связывать специфический лиганд (функциональная

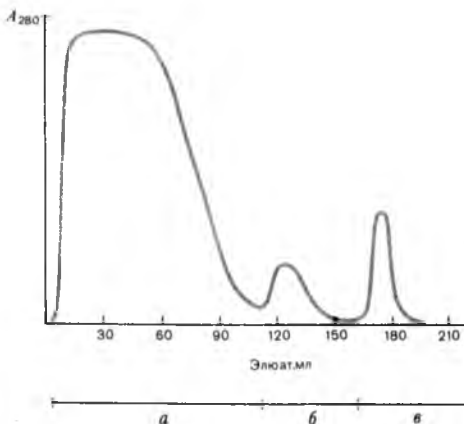


23

Афинная хроматография

Через колонку сорбента пропускают раствор белков; с сорбентом связывается только тот белок, активный центр которого комплементарен лиганду (а); другие белки удаляют промыванием колонки. Затем через колонку пропускают раствор с высокой концентрацией свободного лиганда; в этих условиях образуется свободный комплекс белка с лигандом (б), который элюируется с колонки

активность), как это описано выше. Активность выражают в условных единицах, например в единицах поглощения света (оптической плотности), и рассчитывают на 1 мл препарата*. Кроме того, определяют общую концентрацию белков в растворе (по биуретовой реакции, методом Лоури или по поглощению УФ-излучения с длиной волны 280 нм). Разделив величину активности препарата на концентрацию всех белков, получают его удельную активность. Очевидно, что по мере удаления посторонних белков удельная активность будет возрастать; по степени возрастания удельной активности можно судить об эффективности каждой стадии очистки. Если, начиная с какой-то стадии очистки, удельная активность больше не увеличивается, то можно считать, что удалены все посторонние белки, т. е. получен индивидуальный (или гомогенный) белок. Величина, показывающая, во сколько раз возросла удельная активность в процессе очистки, называется степенью очистки (см. табл. 9).



24

Хроматография плазминогена на афинном сорбенте

Сорбент содержит остатки лизина, присоединенные к нерастворимой основе ϵ -аминогруппой; эти остатки являются специфическими лигандами для плазминогена. После нанесения сыворотки колонку промывают буферным раствором, рН 7,5 (а), затем 0,5 М раствором NaCl для удаления белков, задержавшихся в результате неспецифической сорбции (б), и, наконец, раствором ϵ -аминокапроновой кислоты, которая тоже является лигандом для плазминогена, причем отличается более высоким сродством, чем лизин; этот раствор элюирует плазминоген с колонки (в)

Таблица 9. Очистка белка

Стадия очистки	Объем раствора, мл	Общая концентрация белков, мг/мл	Активность, ед./мл	Удельная активность, ед. на 1 мг белков	Выход, %	Степень очистки
Экстракт	440	3	15	5	100	1
Нагревание при 55°C в течение 5 мин	420	1,25	15	24	95	4,8
Осаждение сульфатом аммония (40—70% насыщения)	3,6	1	80	80	45	16
Хроматография на сефадексе G-100	1,5	0,45	120	260	28	52
Афинная хроматография	1,5	0,9	110	1200	25	240
Кристаллизация	1	0,05	130	2600	20	520
Перекристаллизация	1	0,05	130	2600	20	520

* Активность ферментов измеряют по скорости катализируемой ими реакции (см. гл. II).

Схема 1. Очистка белка



В процессе очистки неизбежны потери выделяемого белка: они связаны с денатурацией, а также с частичным попаданием выделяемого белка во фракции, которые отбрасываются.

При очистке каждого белка приемы и их последовательность подбираются эмпирически, методом проб и ошибок. Поэтому разработка процедуры выделения нового белка остается сложной и трудоемкой задачей.

ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКОВОГО СОСТАВА ОРГАНИЗМА

Белковый состав организма взрослого здорового человека более или менее постоянен, однако возможны изменения содержания отдельных белков в зависимости от физиологической активности, состава пищи и режима питания, циклические изменения (биоритмы). В процессе развития организма, особенно на самых ранних стадиях (от зиготы до формирования дифференцированных органов со специализированными функциями), белковый состав изменяется значительно. В основе различий структуры и функции специализированных клеток лежат различия их химического состава, прежде всего белкового. Например, эритроциты

содержат гемоглобин, обеспечивающий транспорт кислорода кровью, мышечные клетки содержат сократительные белки актин и миозин, в клетках сетчатки глаза есть белок родопсин, способный улавливать фотоны, и т. д. Многие белки содержатся во всех или почти во всех клетках, но могут быть в разных количествах. При болезнях белковый состав тканей изменяется. Эти проявления болезней называют протеинопатиями. Различают протеинопатии двух типов — наследственные и приобретенные.

✓Наследственные протеинопатии — результат первичного повреждения в генетическом аппарате организма. При этом какой-либо белок не образуется вообще или синтезируется измененный по структуре, «неправильный» белок. Примером может служить серповидноклеточная анемия (одна из гемоглибинопатий), при которой вместо HbA образуется HbS, хуже выполняющий функцию транспорта кислорода. Во многих случаях нарушение синтеза даже одного белка является фатальным для организма или приводит к тяжелой болезни. Например, индивиды, гомозиготные по HbS, погибают от малокровия в раннем детском возрасте.

✓Приобретенные протеинопатии, по-видимому, сопровождают любую из болезней, однако в клинической практике имеют значение лишь достаточно выраженные случаи. При приобретенных протеинопатиях первичная структура белков не изменяется, изменяется количество белка или его распределение в тканях, или нарушается функция белка в связи с изменением условий в клетке. Например, при некоторых формах гастрита в клетках слизистой желудка прекращается образование белка, обеспечивающего всасывание витамина B₁₂. В результате развивается тяжелая форма анемии (злокачественная анемия, гл. VI).

Определение содержания в тканях и жидкостях организма того или иного белка нередко служит удобным, а часто, особенно в случае наследственных протеинопатий, и наиболее точным методом диагностики заболевания. Например, наличие HbS в эритроцитах указывает на серповидноклеточную анемию, а не какую-либо из других форм анемии.

Глава II

ФЕРМЕНТЫ

Истоки *энзимологии* (учения о ферментах, или энзимах) восходят к технологическим процессам, применявшимся человеком еще на заре цивилизации, таким, как спиртовое брожение, вызываемое дрожжами, использование проросших зерен ячменя (солода) для осахаривания крахмалистого сырья, применение заквасок при изготовлении хлеба. Слово *фермент* происходит от латинского *fermentum* — закваска; другое название ферментов — *энзимы* — происходит от греческого *en zyme* — в дрожжах.

В 1814 г. член Петербургской Академии наук К. С. Кирхгоф

обнаружил, что вытяжка из солода вызывает превращение крахмала в более простые сахара. Иначе говоря, впервые был получен препарат фермента в виде раствора, а не в составе живых клеток. В 1897 г. немецкий ученый Э. Бухнер прессованием растертых дрожжей получил сок, который также не содержал клеток, но был способен вызывать спиртовое брожение. Такого рода опыты утвердили представление о том, что в живых клетках содержатся вещества, катализирующие определенные реакции, и что эти вещества можно выделять из клеток и изучать методами химии. В 30-х годах XX в. некоторые ферменты были получены в высокоочищенном кристаллическом состоянии. По химической природе кристаллы оказались белковыми, и это послужило первым надежным доказательством того, что ферменты представляют собой белки.

История изучения ферментов тесно переплетается с историей изучения катализа вообще. Напомним, что катализом называют ускорение химической реакции, вызванное добавлением малых, нестехиометрических количеств определенного вещества — катализатора. Например, платина ускоряет разложение пероксида водорода на кислород и воду, кислоты ускоряют разложение белков на аминокислоты, крахмала на глюкозу, мочевины на CO_2 и NH_3 и т. д. После завершения реакции катализатор обнаруживается в смеси в том же количестве, в каком был добавлен. Шведский химик Я. Берцелиус в 1835 г. опубликовал работу, в которой сопоставлял такие процессы, как брожение, действие солода на крахмал, переваривающее действие желудочного сока, с одной стороны, и разложение крахмала под действием кислот, разложение пероксида водорода платиной и т. п., с другой стороны. Он правильно отметил то общее, что объединяет эти процессы: катализатор участвует в реакции не в стехиометрических количествах; казалось, что катализатор вообще не участвует в реакции, а влияет на нее только своим присутствием. Именно Берцелиус ввел в употребление термин «катализ» в его теперешнем значении (прежде этот термин применялся как синоним термина «разложение»).

Разумеется, катализатор ускоряет реакцию не просто своим присутствием, а взаимодействуя с веществом, подвергающимся превращению. Разберем такой пример. Оксид серы (II) (сернистый ангидрид) при взаимодействии с кислородом окисляется в оксид серы (III) (серный ангидрид):



Если к этой реагирующей смеси добавить диоксид азота, то образование SO_3 ускоряется. Это происходит потому, что в присутствии диоксида азота начинается еще одна реакция, ведущая тоже к образованию SO_3 :

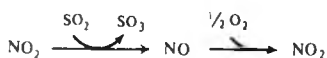


Образующийся оксид азота в свою очередь может окисляться кислородом, снова превращаясь в диоксид:



Это обстоятельство и позволяет выделить диоксид азота как катализатор среди прочих реагентов. Поскольку диоксид азота не расходуется (точнее, сначала расходуется, но тут же и регенерируется), его можно добавлять в небольших, «каталитических» количествах, в то время как другие реагенты (SO_2 и O_2) требуются в эквимольных, стехиометрических количествах.

Таким образом в смеси одновременно протекают реакция (1) и система реакций (2) и (3). Реакции (2) и (3) образуют единый процесс, поскольку это последовательные реакции:



Начало и конец этой схемы одинаковы, поэтому ее можно представить так:



Из схемы видно, что катализатор совершает циклические превращения, принимая попеременно формы NO_2 и NO , и в ходе этих превращений осуществляет перенос атома кислорода на молекулу SO_2 . Следовательно, одна молекула катализатора может превратить в SO_3 сколько угодно большое количество молекул SO_2 .

В реакции (1) и в системе реакций (4) исходные вещества и конечные продукты одинаковы, различны лишь пути. Иначе говоря, катализатор открывает новый, дополнительный путь превращения исходных веществ в продукты реакции и тем самым увеличивает скорость образования продукта. Если скорость каталитического процесса такая же, как скорость некаталитической реакции, то после добавления катализатора общая скорость образования продукта возрастает вдвое. Следовательно, можно сказать, что суть каталитических реакций не столько в том, что скорость их велика (она может быть и небольшой), сколько в том, что они заключают в себе циклический процесс, в котором один из реагентов (катализатор) претерпевает попеременные превращения из одной формы в другую, затем снова в первую и т. д., перерабатывая в каждом цикле по одной молекуле исходного вещества в продукт.

В организмах в процессе биологической эволюции, а также в технике при разработке химических технологических процессов отбирались в качестве катализаторов такие вещества, реакции с которыми протекают очень быстро — в тысячи, миллионы, даже миллиарды раз быстрее, чем соответствующие некаталитические реакции. Такое различие скоростей позволяет вообще пренебречь

некатализируемым процессом и считать, что все вещество подвергается превращению при участии катализатора. Рассмотренный выше каталитический процесс (4) составляет основу нитрозного метода получения серной кислоты; скорость этого процесса настолько выше скорости некаталитической реакции (1), что практически все молекулы SO_2 превращаются в молекулы SO_3 при участии NO_2 , т. е. вкладом реакции (1) в образование продукта можно пренебречь. В организме человека ежедневно распадается около 0,5 кг глюкозы до CO_2 и H_2O ; в отсутствие катализаторов для этого при тех же физических условиях потребовалось бы около 10 000 лет. Таким образом, и в этом случае можно считать, что практически вся глюкоза в организме распадается в катализируемых реакциях.

Рассмотренный выше пример катализа (синтез SO_3) представляет собой *ковалентный катализ*: катализатор образует ковалентное соединение с исходным веществом. Существует и *нековалентный катализ*: в этом случае катализатор соединяется с реагентами за счет слабых взаимодействий, например адсорбционных. Однако во всех случаях общим для катализа является то, что катализатор открывает новый путь превращения вещества через новые промежуточные состояния в те же продукты, которые могут образоваться и без катализатора. В реакциях, катализируемых ферментами, в промежуточных продуктах возникают как ковалентные, так и нековалентные связи.

Скорость реакции чаще всего определяется ее энергией активации, т. е. той энергией, которую нужно сообщить молекулам, чтобы началось химическое превращение: чем больше энергия активации, тем меньше скорость реакции. Энергия активации зависит от природы реагирующих молекул, от их внутреннего строения. Например, энергия активации реакции SO_2 с кислородом больше, чем энергия активации реакции SO_2 с NO_2 . Источником энергии активации обычно служит тепловое движение молекул (поэтому при повышении температуры скорость реакций увеличивается).

Энергия активации быстро протекающих катализируемых реакций ниже, чем энергия активации соответствующих некатализируемых реакций. На этом основании часто говорят, что катализатор снижает энергию активации реакции. Однако надо помнить, что катализируемая реакция — это другая реакция, и было бы точнее говорить, что в присутствии катализатора реакцию с высокой энергией активации заменяет реакция с низкой энергией активации.

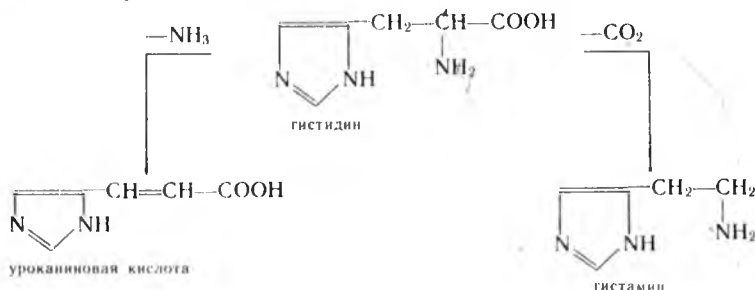
Ферменты — это белки, и, подобно всем белкам, они могут избирательно присоединять определенные вещества — лиганды. Однако в отличие от прочих белков фермент катализирует химическое превращение лиганда. Лиганд, подвергающийся химическому превращению, называют *субстратом* фермента; продукты реакции освобождаются в раствор. Учение о ферментах (энзимология) традиционно занимает ведущее место в биохимии, а

ферменты являются наиболее изученным классом белков. Это объясняется той важной ролью, которую играют ферменты: любые химические превращения веществ в организме происходят при их участии. Однако есть и другая причина особого внимания к ферментам, не связанная с их биологической ролью. Дело в том, что ферменты в отличие от большинства других белков сравнительно легко обнаруживать и измерять их количество по катализируемой ими реакции. Многие свойства, характерные для всех белков, вначале были изучены на ферментах. Такие понятия, как активный центр, ингибиторы, изоферменты (изо-белки), аллостерическая регуляция, возникли и сложились в энзимологии, и лишь позднее распространились на другие белки.

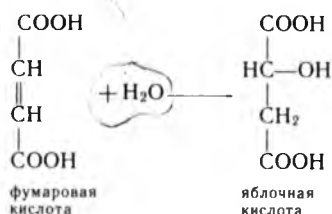
СПЕЦИФИЧНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

Наиболее характерная черта, отличающая ферменты от других катализаторов, — высокая специфичность их действия. Активный центр ферментов, как и других белков, образован боковыми группами аминокислотных остатков пептидной цепи. Строение активных центров ферментов, катализирующих разные реакции, различно. Структура активного центра фермента комплементарна структуре его субстрата, вследствие чего данный фермент из множества веществ, имеющих в живой клетке, присоединяет только свой субстрат. Эту особенность называют *субстратной специфичностью фермента*. Например, структура активного центра фермента гистадазы комплементарна структуре аминокислоты гистидина, поэтому возможно образование фермент-субстратного комплекса гистадаза — гистидин; другие вещества, в том числе аминокислоты, не связываются гистадазой.

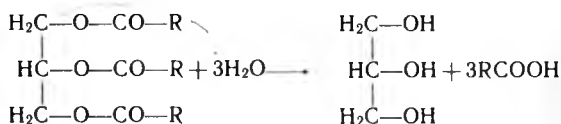
Кроме того, часть функциональных групп активного центра ферментов имеет такое строение и реакционную способность, что обеспечивается химическое превращение субстрата в новые вещества — продукты ферментативной реакции. Каждый фермент катализирует не любое из всех возможных химических превращений субстрата, а какое-либо одно. Назовем это свойство *специфичностью пути превращения*. Например, гистадаза и гистидиндекарбоксилаза имеют одинаковую субстратную специфичность, но катализируют разные превращения гистидина. При действии гистадазы отщепляется аминогруппа (в форме NH_3), а гистидиндекарбоксилазы — карбоксильная группа (в форме CO_2):



Различают *абсолютную* и *групповую специфичность* ферментов. Фермент с абсолютной специфичностью катализирует превращение какого-либо одного субстрата. Например, фумараза катализирует только реакцию фумаровой кислоты с водой:



Ферменты с *групповой специфичностью* катализируют однотипные превращения сходных по строению веществ. Например, липаза ускоряет гидролиз жиров (триацилглицеринов) на глицерин и жирные кислоты:



Жиры — это группа соединений, отдельные представители которых различаются природой жирнокислотных остатков (радикалов R). Липаза расщепляет жиры, включающие разные жирнокислотные остатки. Другой пример групповой специфичности — действие ферментов, гидролизующих пептиды и белки: как правило, эти ферменты расщепляют пептидные связи, образованные разными аминокислотами.

Пространственная структура стереоизомеров вещества различна, поэтому активный центр фермента, комплементарный одному стереоизомеру, не обязательно будет комплементарен и другим стереоизомерам. В связи с этим многие ферменты катализируют превращение лишь одного из стереоизомеров — *стереоспецифичность*. Например, малеиновая кислота, являющаяся *цис*-изомером фумаровой кислоты, не может быть субстратом фумаразы:

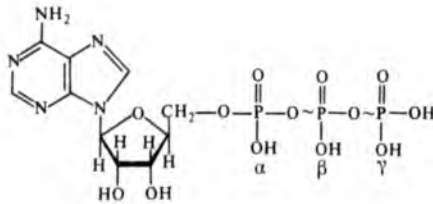


Большинство ферментов, участвующих в превращениях аминокислот, действуют лишь на L-изомеры аминокислот, а ферменты, катализирующие превращения углеводов, — на D-изомеры углеводов.

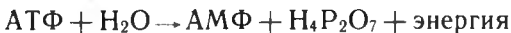
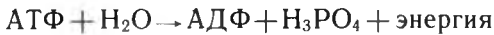
ЭНЕРГЕТИЧЕСКИ СОПРЯЖЕННЫЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ РЕАКЦИИ

Ферменты, как и другие катализаторы, не изменяют состояния равновесия, а лишь ускоряют его достижение. Например, если внести фермент в раствор фумаровой кислоты, то можно зарегистрировать реакцию фумарат → малат*; если же внести тот же фермент в раствор яблочной кислоты (малат), то можно наблюдать реакцию малат → фумарат. И в том, и в другом случае достигается равновесное состояние, при котором отношение (фумарат)/(малат) ≈ 1:4. Напомним, что химические реакции самопроизвольно протекают в направлении, которое связано с уменьшением энергии Гиббса в системе (экзергонические реакции). Энергия Гиббса минимальна в равновесном состоянии. Реакции, связанные с увеличением энергии Гиббса (эндергонические реакции), термодинамически невыгодны, они не могут протекать самопроизвольно. Но все же они возможны, если имеется внешний источник энергии; при этом общая энергия Гиббса системы эндергонической реакции и системы, поставляющей энергию, уменьшается.

В живой клетке источником энергии для эндергонических реакций чаще всего служит экзергоническая реакция гидролиза аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ). АТФ представляет собой производное аденина, рибозы и фосфорной кислоты:



При гидролитическом отщеплении γ-фосфатного остатка или пиррофосфатного остатка (гидролизуется связь между α- и β-фосфатными остатками) освобождается значительное количество энергии — около 50 кДж/моль:

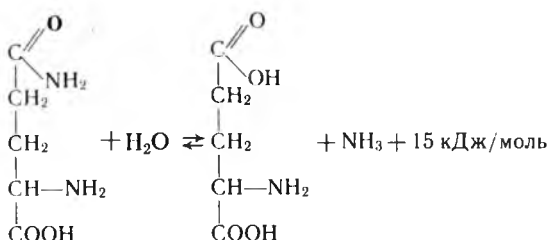


(здесь АДФ — аденозиндифосфорная кислота, АМФ — аденозинмонофосфорная кислота). Гидролизуемые в этих реакциях связи называют высокоэнергетическим (макроэргическими) и обозначают знаком ~ (тильда). Отметим, что энергия освобождается при любых реакциях гидролиза, но в меньших количествах.

* Кислоты в тканях находятся главным образом в ионизированной форме, поэтому в биохимии для их обозначения часто пользуются названиями ионов (к тому же более короткими): глутамат (глутаминовая кислота), аспарат (аспаргиновая кислота), фумарат (фумаровая кислота), 2-оксоглутарат (2-оксоглутаровая кислота) и т. д.

вах, чем при гидролизе макроэргических связей (подробнее об этих связях см. гл. VIII).

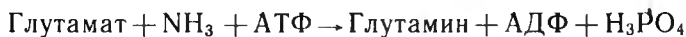
Рассмотрим следующий пример. Глутамин в водном растворе самопроизвольно гидролизуется с образованием глутамата и аммиака:



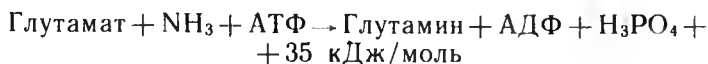
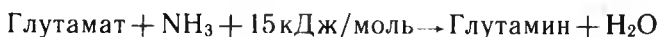
Равновесие этой реакции сильно смещено вправо (реакция практически необратима). Скорость гидролиза в отсутствие катализатора невелика, в живой клетке реакция катализируется ферментом глутаминазой.

Обратное направление реакции — несамопроизвольный процесс: для того чтобы происходил синтез глутамина, нужен внешний источник энергии, а также механизм использования этой энергии; кроме того, чтобы реакция протекала достаточно быстро, нужен катализатор. Источником энергии в таких реакциях служит АТФ, а две другие функции выполняют ферменты лигазы (синтетазы).

Синтез глутамина происходит при участии глутаминсинтетазы:



Эту реакцию можно представить как две сопряженно протекающие реакции:



Первая реакция — самопроизвольная, экзергоническая; вторая — несамопроизвольная, эндергоническая. Часть энергии, освобождающейся в первой реакции, поглощается во второй реакции. Другая же часть рассеивается в виде теплоты, так что энергия Гиббса системы в целом уменьшается. Вследствие этого весь сопряженный процесс в целом является экзергоническим, самопроизвольным.

Сопряжение двух реакций достигается в активном центре фермента в результате образования промежуточного соединения АТФ с глутаматом: концевой фосфатный остаток АТФ соединяет-

ся с γ -карбоксильной группой глутамата. С этим высокоэнергетическим промежуточным соединением реагирует аммиак.

Многочисленные реакции, катализируемые синтетазами, — один из основных путей расходования энергии в организме.

КОФАКТОРЫ ФЕРМЕНТОВ

Многие ферменты для проявления каталитической активности нуждаются в присутствии некоторых веществ неперитидной природы — *кофакторов*. Различают две группы кофакторов — ионы металлов (а также некоторые неорганические анионы) и коферменты, которые представляют собой органические вещества.

Металлозависимые ферменты

Примерно треть всех известных ферментов содержит ион металла или активируется ионами металла. Прочность связи металлов с белковой частью фермента колеблется в широких пределах. Некоторые ферменты в процессе их выделения утрачивают ион металла вследствие диссоциации, так что при измерении

Таблица 10. Некоторые металлозависимые ферменты

Фермент	Ион металла	Функция иона металла
Аденилатдезаминаза	K^+	Стабилизация третичной структуры
Гексокиназа	Mg^{2+}	Связывание субстрата
Енолаза	$3Mg^{2+}$	Связывание субстрата и катализ
Пируваткиназа	Mg^{2+}, K^+	То же
Лейцинаминопептидаза	Mn^{2+} или Mg^{2+}	Связывание субстрата
Аргиназа	$4Mn^{2+}$	Связывание субстрата и катализ
Пируваткарбоксилаза	$4Mn^{2+}$	Катализ
α -Амилаза	Ca^{2+} (и анион Cl^-)	Стабилизация третичной структуры
Транскетолаза	Ca^{2+}	Стабилизация четвертичной структуры
Карбоксипептидаза А	Zn^{2+}	Катализ
Фосфатаза (щелочная)	$2Zn^{2+}$	Связывание субстрата и катализ
Аспартаттранскарбамоилаза	$6Zn^{2+}$	Стабилизация четвертичной структуры
Супероксиддисмутаза	$2Zn^{2+}, 2Cu^{2+}$	Катализ
Тирозиназа	$2Cu^{2+}$	»
Моноаминоксидаза	$4Cu^{2+}$	»
Церулоплазмин	$8Cu^{2+}$	»
Оксигеназа <i>п</i> -оксифенилпирувата	$2Fe^{2+}$	»
Ксантиноксидаза (ФАД)	$2Mo^{6+}, 2Fe_4S_4$	»

активности фермента приходится эти ионы добавлять — это ферменты, активируемые металлами. Другие ферменты сохраняют ион металла при очистке — это металлоферменты (металлопротеины). Деление на эти группы условно, поскольку между крайними формами существует ряд промежуточных форм.

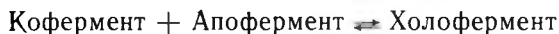
В роли кофактора могут выступать ионы различных металлов (см. табл. 10). Ион металла может участвовать в присоединении субстрата, собственно в катализе, в стабилизации оптимальной конформации молекулы фермента, в стабилизации четвертичной структуры. Активность металлозависимых ферментов после удаления металла либо утрачивается полностью, либо заметно снижается.

коферменты

Коферменты — это органические вещества, как правило, неаминокислотной природы, непосредственно участвующие в катализе в составе фермента.

В табл. 11 приведены некоторые наиболее распространенные коферменты. Многие коферменты являются производными витаминов — незаменимых пищевых факторов (гл. VI). Отметим, что в числе коферментов есть такие, которые содержат металл: кобальт в кобаламидах, железо в геме.

Фермент, содержащий кофермент, называют *холоферментом*, а белковую часть такого фермента — *апоферментом*. Реакция образования холофермента обратима:



В некоторых случаях в условиях живой клетки равновесие сильно смещено влево и кофермент присоединяется к апоферменту.

Таблица 11. Важнейшие коферменты и витамины, входящие в их состав

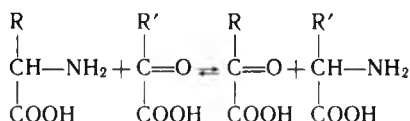
Кофермент	Основная функция	Витамин
Коферменты дегидрогеназ: НАД, НАДФ ФАД, ФМН	Перенос водорода	Никотиновая кислота Витамин В ₂ (рибофлавин)
КоQ (кофермент Q) Липоевая кислота Тиаминпирофосфат	Декарбоксилирование α -кетокислот	Витамин В ₁ (тиамин)
Кофермент ацилирования (КоА)	Перенос ацильных групп	Пантотеновая кислота
Тетрагидрофолиевая кислота	Перенос одноуглеродных групп	Фолиевая кислота
Пиридоксальфосфат	Перенос аминогрупп	Витамин В ₆ (пиридоксин)
Биотин	Перенос CO ₂	Биотин
Гем	Перенос электронов	—
Кобаламины	Перенос алкильных групп	Витамин В ₁₂

ту вместе с субстратом в момент реакции. Другой крайний случай — стабильные холоферменты, содержащие прочно связанный кофермент. Такие ферменты представляют собой сложные белки.

Взаимодействие кофермента с апоферментом отличается высокой специфичностью. Это объясняется, как и в случае субстратной специфичности, наличием в апоферменте центра связывания, комплементарного коферменту.

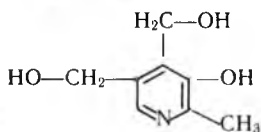
Ниже описаны некоторые важные типы реакций, катализируемых ферментами с участием коферментов.

Аминотрансферазы. Эти ферменты катализируют реакции *трансаминирования* — переноса аминогруппы с α -аминокислоты на α -кетокислоту:

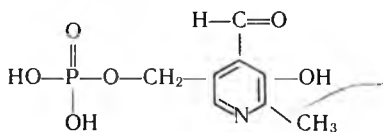


Реакции трансаминирования открыты и подробно изучены А. Е. Браунштейном с сотр. (1937).

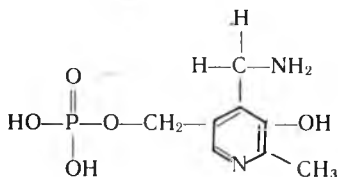
Коферментом аминотрансфераз служит **пиридоксальфосфат** — производное пиридоксина (витамина В₆). Пиридоксальфосфат в ходе реакции трансаминирования образует пиридоксаминфосфат:



пиридоксин



пиридоксальфосфат

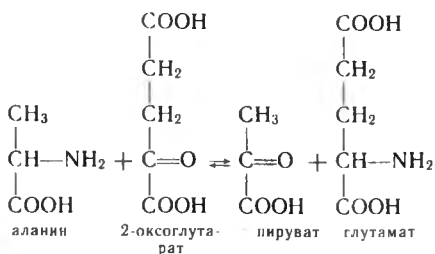
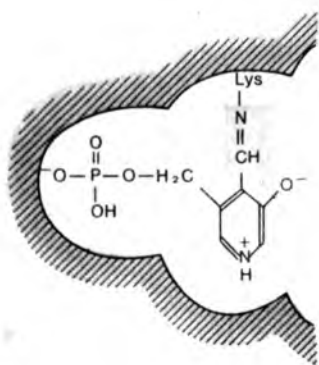


пиридоксаминфосфат

Пиридоксальфосфат присоединяется к центру связывания на молекуле белка за счет образования альдиминной связи с ϵ -аминогруппой одного из остатков лизина (Lys258) пептидной цепи (рис. 25, см. также рис. 3). Кроме того, между белком и пиридоксальфосфатом образуются ионные связи с участием фосфатного остатка и заряженного атома азота в пиридиновом цикле.

В организме человека имеется несколько аминотрансфераз, различающихся субстратной специфичностью. **Аланин-2-оксоглутаратаминотрансфераза** катализирует перенос аминогруппы

с аланина на 2-оксоглутарат
(α -кетоглутарат):

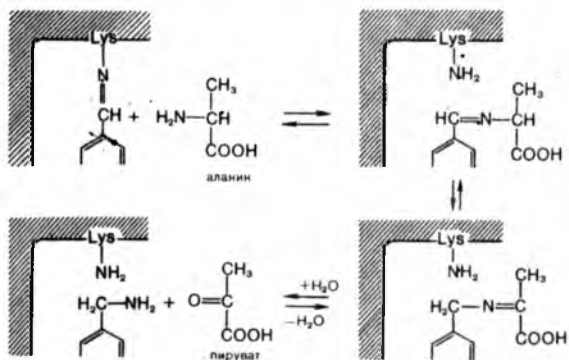
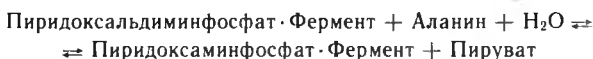


25

Пиридоксальфосфат в активном центре фермента

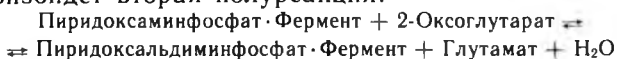
Реакции трансминирования проходят в две стадии (полуреакции). Если к раствору фермента добавить только один из двух субстратов — аланин, то произойдет первая полуреакция (рис. 26). Аминогруппа аланина присоединяется к углероду альдиминной группы фермента:

альдиминная связь между коферментом и белком заменяется на альдиминную связь между коферментом и аланином. Далее происходит внутримолекулярная перестройка в области альдиминной связи (см. рис. 26) и затем гидролиз с образованием аминогруппы на коферменте и кетогруппы — на бывшей аминокислоте (теперь это уже α -кетокислота). В целом в результате этой полуреакции пиридоксальфосфат (точнее, пиридоксальдиминфосфат) превращается в пиридоксаминфосфат, а аланин — в пирувиноградную кислоту:



Полуреакция трансминирования

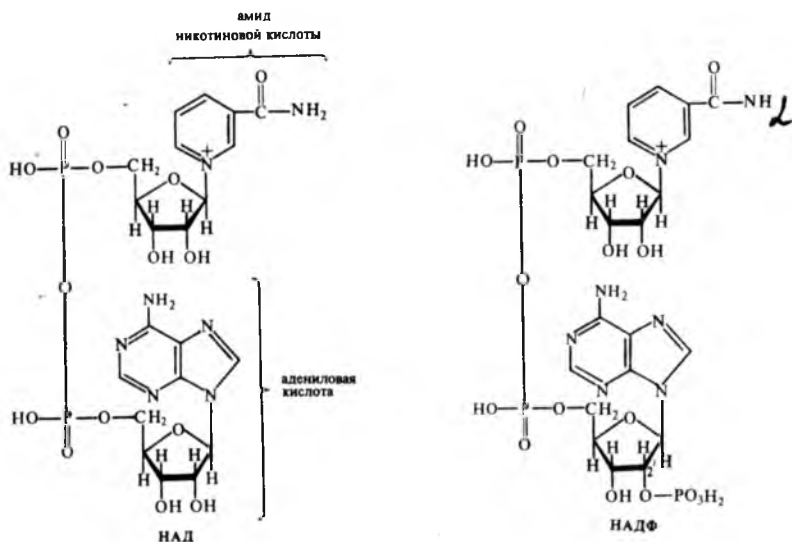
При наличии второго субстрата — 2-оксоглутаровой кислоты — произойдет вторая полуреакция:



В этой полуреакции фермент переходит в начальную (альдиминную) форму и образуется второй продукт реакции — глутамат. Механизм этой полуреакции такой же, как и первой, но протекает она в обратном направлении. Суммарный результат двух полуреакций — перенос аминогруппы с аланина на 2-оксоглутарат.

Конечно, в этом процессе участвуют и функциональные группы белковой части фермента, а не только кофермент. Субстратная специфичность разных аминотрансфераз определяется исключительно белковой частью, поскольку кофермент во всех случаях один и тот же. Специфичность пути превращения также зависит от белковой части, поскольку пиридоксальфосфат функционирует в качестве кофермента не только в реакциях трансминирования, но и в некоторых реакциях других типов (изомеризация, декарбоксилирование, дегидратация).

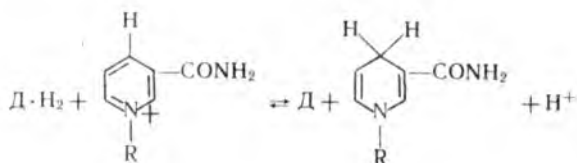
НАД-Зависимые дегидрогеназы. В реакциях, катализируемых этими ферментами, в качестве кофермента участвует никотинамидадениндинуклеотид (НАД). Две половины молекулы НАД, объединенные связью между остатками фосфорной кислоты, построены по одинаковому плану:



Одна половина представляет собой остаток нуклеотида (адениловой кислоты). Другая половина — тоже нуклеотид; его азотсодержащая гетероциклическая группа представлена амидом никотиновой кислоты. Никотиновая кислота — это витамин РР.

√ НАД-Зависимые дегидрогеназы катализируют реакции окис-

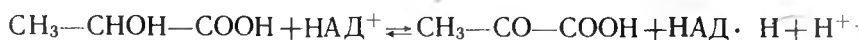
ления веществ путем дегидрирования; при этом окисляемое вещество служит донором водорода ($D \cdot H_2$), а НАД выполняет роль акцептора водорода, т. е. восстанавливается. Остаток никотинамида в молекуле НАД принимает непосредственное участие в реакции:



Отметим, что из двух атомов водорода (2 протона + 2 электрона), отщепляемых от субстрата, к НАД присоединяются один протон (второй переходит в среду) и два электрона, в результате чего утрачивается положительный заряд пиридинового цикла НАД. Поэтому в уравнениях реакций окисленный и восстановленный НАД изображают следующим образом:



Например, лактатдегидрогеназа катализирует дегидрирование молочной кислоты с образованием пировиноградной кислоты:



Равновесие реакции

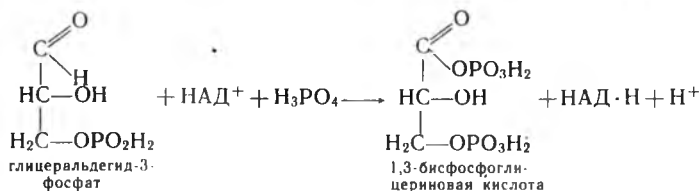


сильно смещено влево: НАД находится в цитозоле в свободном состоянии и взаимодействует с ферментом в момент реакции; в этом отношении он сходен с субстратами ферментов.

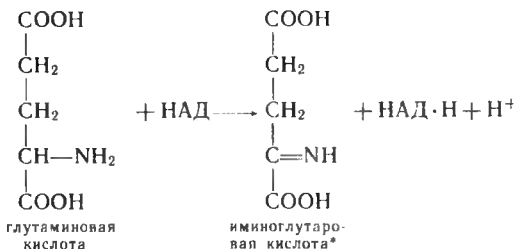
✓ НАД-Зависимые дегидрогеназы катализируют следующие типы реакций.

1. Дегидрирование гидроксильных групп. Примером может служить приведенная выше реакция, катализируемая лактатдегидрогеназой.

2. Дегидрирование альдегидных групп. Примером может служить дегидрирование глицеральдегид-3-фосфата:

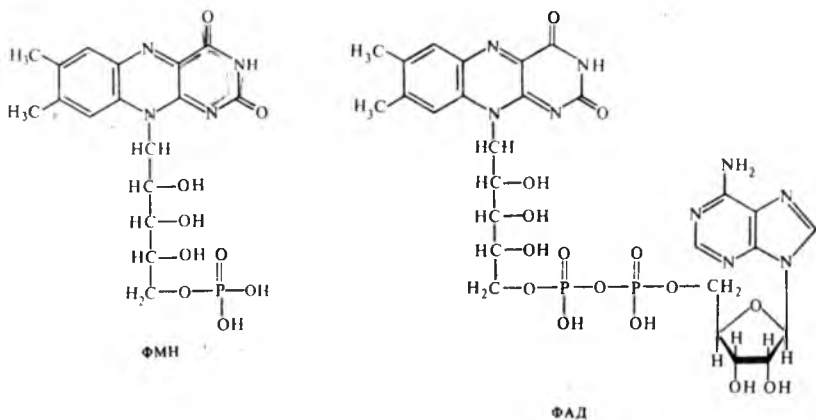


3. Дегидрирование амино групп. Например, глутаматдегидрогеназа катализирует дегидрирование глутаминовой кислоты:



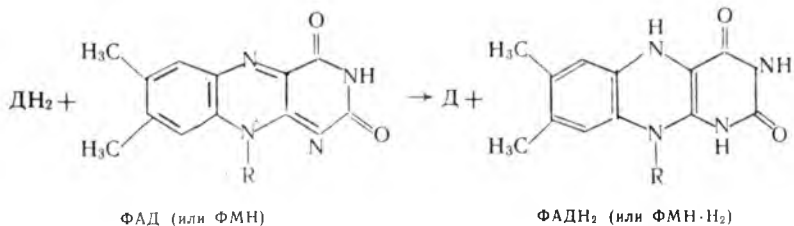
Такого же типа реакции катализируют дегидрогеназы, использующие в качестве кофермента никотинамидадениндинуклеотид-фосфат (НАДФ). Этот кофермент отличается от НАД только наличием дополнительного фосфатного остатка в положении 2' остатка рибозы в адениловой части молекулы. Однако биологические функции НАД и НАДФ различны (подробнее об этом см. гл. VIII).

Флавиновые дегидрогеназы составляют другую группу дегидрогеназ. Коферментами для них являются флавинадениндинуклеотид (ФАД) или флавиномононуклеотид (ФМН). Эти коферменты являются производными рибофлавина (витамина В₂). Рибофлавин содержит циклическую изоаллоксазиновую группировку и остаток пятиатомного спирта рибитола [7,8-диметил-10(1'-рибитил)изоаллоксазин]. ФМН представляет собой рибофлавин-5'-фосфат, а ФАД, кроме того, содержит остаток адениловой кислоты (см. формулы).

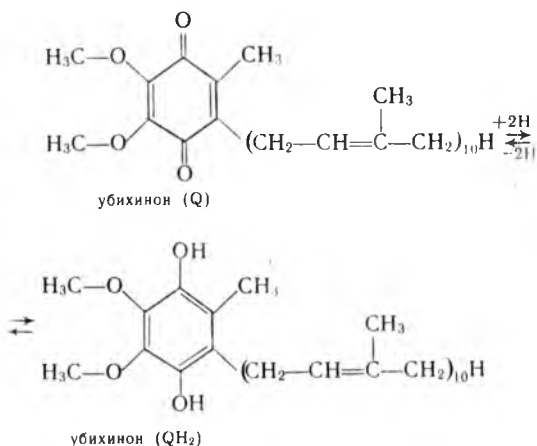


Флавиновые коферменты прочно связаны с апоферментами, следовательно, флавиновые дегидрогеназы — это сложные белки. В ходе реакции отщепляемые от субстрата атомы водорода присоединяются к изоаллоксазиновой группировке кофермента:

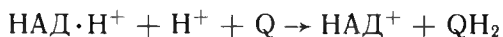
* Иминоглутаровая кислота нестабильна и неферментативно распадается на α-кетоглутаровую кислоту и аммиак (см. гл. XI).



К флавиновым ферментам, содержащим ФМН, принадлежит НАД·Н-дегидрогеназа, которая окисляет НАД·Н. Акцептором водорода в этой реакции служит кофермент Q (убихинон), который в клетке может существовать в окисленной и восстановленной формах (Q и QH₂):

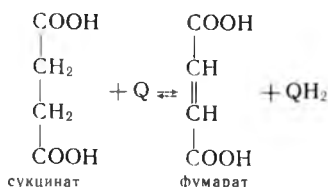


НАД·Н-Дегидрогеназа переносит водород с НАД·Н на убихинон:



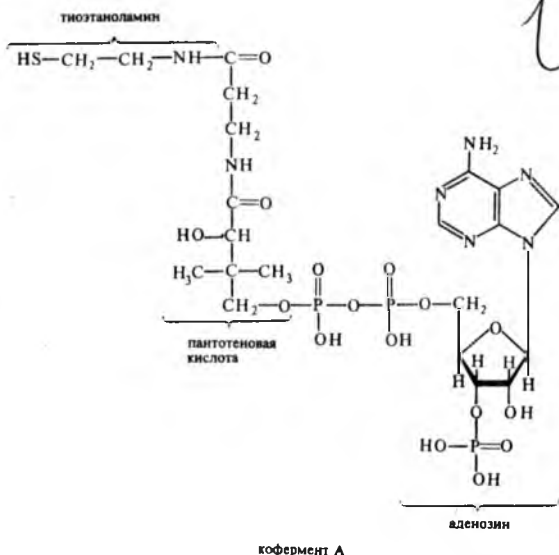
При этом атомы водорода сначала присоединяются к ФМН в составе НАД·Н-дегидрогеназы (первая полуреакция), а затем передаются на убихинон (вторая полуреакция).

Дегидрогеназы, содержащие ФАД, катализируют отщепление водорода от групп —CH₂—CH₂— с образованием двойной связи. Примером может служить сукцинатдегидрогеназа, катализирующая окисление янтарной кислоты; акцептором водорода и в этом случае служит убихинон:



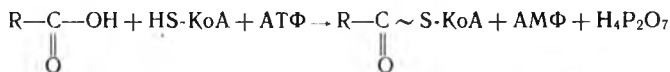
Атомы водорода сначала присоединяются к ФАД в составе фермента, а затем передаются на убихинон.

Кофермент ацилирования (кофермент А, коэнзим А, КоА). Молекула кофермента А построена из аденозин-3'-фосфат-5'-пирофосфата, соединенного сложноэфирной связью с пантотеновой кислотой, которая в свою очередь соединена амидной связью с β-меркаптоэтиламином (тиоэтаноламином):



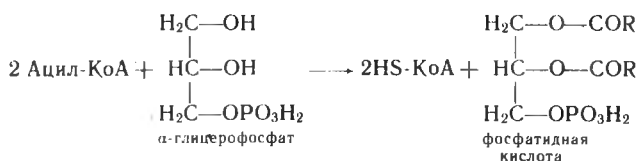
Пантотеновая кислота является витамином. Кофермент А участвует во множестве превращений карбоновых кислот в живой клетке. Карбоновые кислоты присоединяются своей карбоксильной группой к SH-группе кофермента А, образуя тиоэфирную связь. Эта связь имеет высокоэнергетический характер. В уравнениях реакций кофермент изображают символом HS-KoA, а ацильные производные — ацил-S-KoA или просто ацил-KoA (ацетил-KoA, пальмитил-KoA, сукцинил-KoA и т. п.).

Ацильные производные КоА чаще всего образуются при действии ферментов, относящихся к группе ацил-KoA-синтетаз. Реакцию можно представить следующим образом:



В этой реакции АТФ используется в качестве источника энергии при образовании высокоэнергетической тиоэфирной связи в ацил-KoA. Ацильный остаток в составе ацил-KoA может подвергаться многообразным превращениям или может быть перенесен без изменений на другое вещество. Реакции переноса катализируются ферментами группы ацилтрансфераз. Например, таким

путем происходит перенос остатков высших жирных кислот на α -глицерофосфат при синтезе жиров:



✓ КоА и его ацильные производные находятся в клетке в свободном состоянии и взаимодействуют с ферментом в момент реакции вместе с субстратом, являясь, по существу, вторым субстратом фермента.

Из рассмотренных примеров видно, что каждый из коферментов может существовать в двух формах, циклически превращающихся друг в друга; ФАД и ФАД·Н₂, КоА и ацил-КоА и т. д. Некоторые коферменты можно рассматривать как часть активного центра фермента, например пиридоксальфосфат, ФАД, ФМН. Другие же участвуют в ферментативных реакциях скорее как субстраты (регенерирующиеся субстраты) — НАД, КоА; в этом случае превращение кофермента из одной формы в другую может вызываться действием двух разных ферментов. Например, превращение КоА в ацил-КоА катализирует ацил-КоА-синтетаза, а регенерация КоА происходит при действии ацилтрансферазы.

КЛАССИФИКАЦИЯ И НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТОВ

В основе классификации ферментов лежит специфичность их действия. Все ферменты разделены на шесть основных классов по типу катализируемых ими реакций (табл. 12). Каждый класс разделен на подклассы и далее — на подподклассы по тому же принципу, т. е. по типу реакций.

✓ **Оксидоредуктазы.** Класс оксидоредуктаз включает ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции разных типов. ✓ В частности, в него входят НАД-зависимые и флавиновые дегидрогеназы, рассмотренные выше.

Другой тип оксидоредуктаз — оксидазы. Эти ферменты катализируют окисление субстратов путем присоединения кислорода. Так, аминоксидазы окисляют амины с образованием альдегидов и аммиака. Например, реакция окисления гистамина:

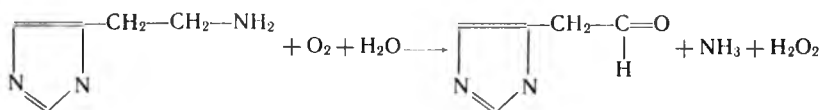


Таблица 12. Классы ферментов

Номер класса	Название класса	Катализируемые реакции
1	Оксидоредуктазы	Окислительно-восстановительные
2	Трансферазы	Перенос групп
3	Гидролазы	Гидролиз
4	Лиазы	Расщепление негидролитическим путем связей С—С, отщепление групп с образованием двойной связи, присоединение по двойной связи
5	Изомеразы	Изомерные превращения
6	Лигазы (синтетазы)	Присоединение друг к другу двух молекул с использованием энергии высокоэнергетических связей АТФ (или других высокоэнергетических соединений)

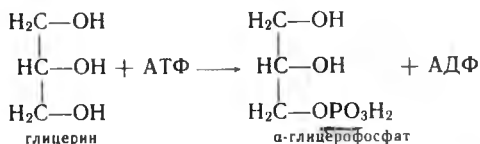
Образующийся в таких реакциях пероксид водорода разлагается тоже оксидоредуктазой — каталазой (гемопrotein):



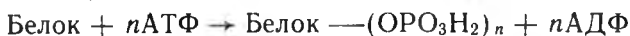
Трансферазы. К классу трансфераз относятся рассмотренные выше аминотрансферазы и ацилтрансферазы, а также метилтрансферазы, гликозилтрансферазы, фосфотрансферазы и др.

В подкласс фосфотрансфераз входит группа ферментов, называемых **киназами**: они используют аденозинтрифосфорную кислоту (АТФ) в качестве донора фосфатного остатка.

Киназы катализируют перенос γ -фосфатного остатка на другие вещества; АТФ при этом превращается в АДФ. Например, глицеринкиназа катализирует фосфорилирование глицерина по α -гидроксильной группе:



В результате действия разных киназ в организме синтезируются многочисленные фосфорилированные соединения. В частности, сложные белки фосфопротеины образуются при участии протеинкиназ; остатки фосфорной кислоты присоединяются к гидроксильным группам серина или треонина пептидной цепи:



Все киназы для проявления максимальной активности нуждаются в ионах Mg^{2+} или Mn^{2+} .

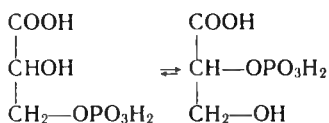
Гидролазы. Эти ферменты катализируют реакции расщепления разнообразных связей с присоединением воды по месту расщепления:



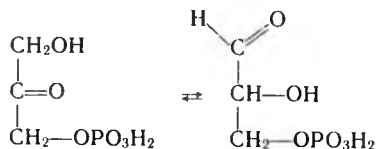
К классу гидролаз относятся эстеразы, расщепляющие сложнэфирные связи (например, липаза, холинэстераза); пептидазы; или пептидгидролазы (пепсин, трипсин, карбоксипептидаза и др.); гликозидазы, гидролизующие гликозидные связи, и т. д.

Лиазы. К лиазам принадлежат декарбоксилазы, отщепляющие карбоксильную группу от органических кислот, например уже упоминавшаяся гистидиндекарбоксилаза; альдолазы, расщепляющие углерод-углеродную связь с образованием альдегида; гидратазы, присоединяющие воду по двойной связи (например, фумараза); дегидратазы, отщепляющие от соединений молекулу воды с образованием двойной связи.

Изомеразы. В организме животных наиболее часто встречаются реакции изомеризации двух типов: внутримолекулярный перенос групп и внутримолекулярные окислительно-восстановительные реакции. Первый тип реакций катализируют изомеразы, называемые внутримолекулярными трансферазами. Например, фосфоглицеромутаза превращает 3-фосфоглицериновую кислоту в 2-фосфоглицериновую кислоту:



Реакции изомеризации второго типа катализируются внутримолекулярными оксидоредуктазами. К числу таких реакций принадлежат взаимопревращения альдоз и кетоз. Например, триозофосфатизомераза катализирует взаимопревращение диоксиацетонфосфата и глицеральдегидфосфата:



Лигазы (синтетазы). Отличительной чертой реакций, катализируемых ферментами этого класса, является использование АТФ в качестве источника энергии (см. выше).

Номенклатура ферментов. Исторически возникшие (тривиальные) названия ферментов часто строятся по названию субстрата с изменением суффикса на *-аза* (фумараза, гистидаза, аргиназа и т. п.). Комиссия по ферментам Международного биохимического союза разработала правила рациональной номенклатуры ферментов. Согласно этим правилам в названии фермента указываются его субстраты и основной класс, к которому принадлежит фермент. Каждый фермент обозначается специальным шифром, указывающим номер класса, подкласса, подподкласса и номер фермента в подподклассе. Например, 2.6.1.2 — аланин:оксоглутарат-аминотрансфераза; 4.3.1.3 — гистидин-аммиак-лиаза

(гистидаза); 1.1.1.28 — лактат:НАД-оксидоредуктаза (лактатдегидрогеназа). Рациональные названия без дополнительных объяснений позволяют представить реакцию, которую катализирует данный фермент. Однако часто они довольно длинные, поэтому наряду с ними используются и тривиальные названия.

КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

Уравнение Михаэлиса — Ментен

Скорость ферментативной реакции измеряют по убыли субстрата S или приросту продукта P за единицу времени. В простейшем случае реакцию можно представить как двухстадийный процесс. Первая стадия — образование фермент-субстратного комплекса, т. е. присоединение субстрата к активному центру фермента E :



Константу равновесия этой реакции называют *субстратной константой*:

$$K_S = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{[E][S]}{[ES]}.$$

Субстратная константа идентична константе равновесия взаимодействия любого белка с лигандом (см. гл. I).

В отличие от других белков, фермент не только присоединяет лиганд (субстрат), но и катализирует его химическое превращение — это вторая стадия процесса; образовавшийся продукт отделяется от фермента:



Как видно из реакций (а) и (б), комплекс ES образуется только в одной реакции (с константой k_1), а распадается в двух: на E и S (реакция с константой k_{-1}) и на E и P (реакция с константой k_2):

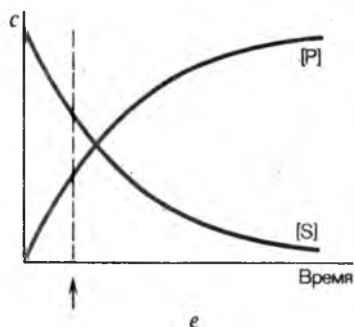
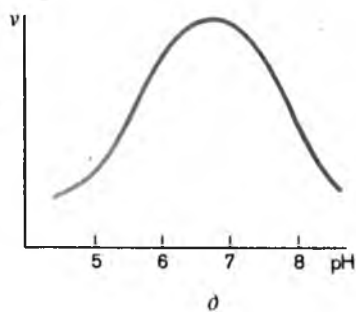
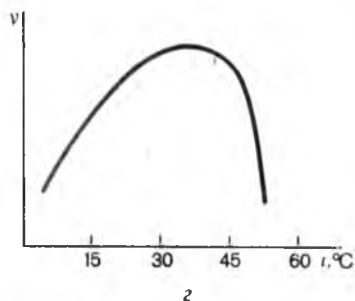
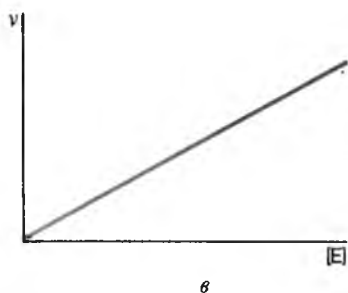
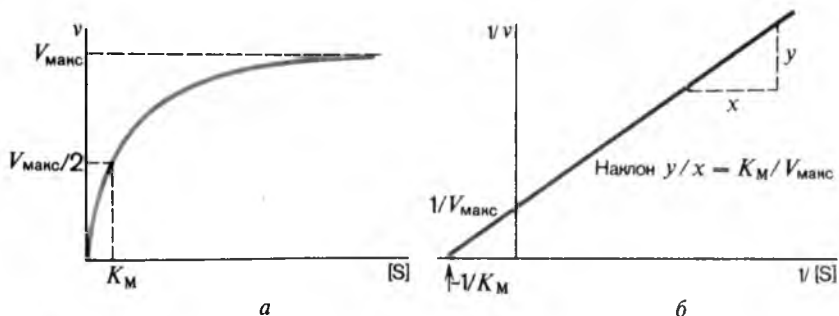


Отношение суммы констант скорости реакций, в которых комплекс ES распадается, к константе скорости реакции, в которой он образуется, называют *константой Михаэлиса* K_M :

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

Легко видеть, что если $k_{-1} \gg k_2$, то $K_M \approx K_S$.

График зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата имеет вид гиперболы, т. е. такой же, как кривая насыщения белка лигандом (рис. 27, а). При высо-



27

Зависимость скорости ферментативных реакций от концентрации субстрата (а, б), концентрации фермента (в), от температуры (г), pH (д) и времени (е)

кой концентрации субстрата, когда все молекулы фермента находятся в форме ES (полное насыщение), скорость реакции становится максимальной (V_{\max}). Очевидно, что при полунасыщении (т. е. когда половина молекул фермента находится в форме ES) скорость реакции равна $1/2 V_{\max}$. Концентрация субстрата, при которой достигается эта скорость, и дает численную величину константы Михаэлиса (поэтому константу Михаэлиса называют также *концентрацией Михаэлиса*).

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

$$v = \frac{V_{\text{макс}} [S]}{K_M + [S]}.$$

Решая это уравнение относительно K_M , получим

$$K_M = [S] \left(\frac{V_{\text{макс}}}{v} - 1 \right).$$

Отсюда также следует, что если $v = 1/2 V_{\text{макс}}$, то $K_M = [S]$.

В ходе реакции фермент в реакционной смеси существует в двух формах — E и ES; суммарная концентрация этих двух форм равна начальной (до добавления субстрата) концентрации фермента $[E]_0$:

$$[E_0] = [E] + [ES]. \quad (1)$$

Скорость образования продукта реакции пропорциональна концентрации фермент-субстратного комплекса:

$$v = k_2 [ES]. \quad (2)$$

При насыщающей концентрации субстрата весь фермент находится в форме ES, т. е. $[ES] = [E]_0$, а скорость становится максимальной:

$$V_{\text{макс}} = k_2 [E]_0. \quad (3)$$

Концентрация $[ES]$ определяется балансом скорости его образования в реакции с константой k_1 и скоростей распада в реакциях с константами k_{-1} и k_2 :

$$v_{\text{обр}} = k_1 [E] [S] = k_1 ([E]_0 - [ES]) [S]; \quad (4)$$

$$v_{\text{расп}} = k_{-1} [ES] + k_2 [ES] = (k_{-1} + k_2) [ES]. \quad (5)$$

Концентрация фермента в реакционной смеси значительно ниже концентрации субстрата. В этих условиях устанавливается стационарная концентрация комплекса ES, т. е. $v_{\text{обр}} = v_{\text{расп}}$; следовательно,

$$k_1 ([E]_0 - [ES]) [S] = (k_{-1} + k_2) [ES]. \quad (6)$$

После преобразования получаем

$$\frac{[S] ([E]_0 - [ES])}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_M. \quad (7)$$

Решая относительно $[ES]$, получаем

$$[ES] = \frac{[E]_0 [S]}{K_M + [S]}. \quad (8)$$

Подставляя в это уравнение значения $[ES]$ из уравнения (2) и $[E]_0$ из уравнения (3), получаем уравнение Михаэлиса — Ментен:

$$v = \frac{V_{\text{макс}} [S]}{K_M + [S]}.$$

В большинстве реакций в организме участвуют не один, а два субстрата, например $A + B \rightleftharpoons C + D$. Взаимодействие фермента с каждым из субстратов характеризуется собственной константой K_M . Ее определяют по зависимости скорости реакции от концентрации данного субстрата при постоянной (обычно насыщающей) концентрации второго субстрата.

Мы рассмотрели простейший случай ферментативной реакции.

В действительности промежуточных стадий может быть больше, и все они могут быть обратимыми:



Кроме того, возможны и другие, параллельно протекающие реакции образования некоторых промежуточных продуктов. Но и в таких случаях уравнение Михаэлиса—Ментен оказывается справедливым, только K_M представляет собой более сложную функцию констант скорости частных реакций.

K_M и V_{\max} — важные характеристики фермента. Их можно определить по результатам измерения v при разных концентрациях S , как указано на рис. 27, а. Более точный результат дает метод Лайнуивера—Бэрка. Уравнение Лайнуивера—Бэрка представляет собой обратное уравнение Михаэлиса—Ментен:

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

График зависимости $1/v$ от $1/[S]$ — это прямая с наклоном K_M/V_{\max} , отсекающая на оси ординат отрезок $1/V_{\max}$ (рис. 25, б).

Единицы ферментативной активности

Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации фермента имеет линейный характер (рис. 25, в). Поскольку в большинстве случаев количество фермента невозможно измерить в абсолютных величинах (например, в граммах), то приходится пользоваться условными единицами, основанными на линейной зависимости скорости реакции от количества фермента.

За единицу фермента (E) принимают такое его количество, которое катализирует превращение 1 мкмоль вещества за 1 мин. Число единиц фермента в тканях определяют по формуле

$$\frac{\text{количество превращенного субстрата, мкмоль}}{\text{навеска ткани, г} \times \text{время инкубации, мин}} = nE.$$

Например, для определения лактатдегидрогеназы было взято 100 мг ткани печени, эту навеску инкубировали в течение 15 мин в растворе субстрата и обнаружили, что образовалось 210 мкмоль продукта, следовательно, в печени содержится $210 : (0,1 \times 15) = = 140$ единиц лактатдегидрогеназы на 1 г печени.

Часто находят удельную активность фермента: она равна числу единиц фермента в образце, деленному на массу белка (в мг) в этом образце. Например, если в 1 г ткани печени содержится 140 единиц лактатдегидрогеназы и 200 мг белка, то удельная активность лактатдегидрогеназы в печени равна $140/200 = = 0,7$ (мкмоль/мин)/мг. Удельной активностью особенно часто пользуются при очистке ферментов: по мере удаления посторонних белков доля выделяемого фермента в препарате увеличивается, следовательно, возрастает удельная активность (табл. 13;

Таблица 13. Очистка гистидазы печени

Стадия очистки	Объем раствора, мл	Общая концентрация белков, мг/мл	Активность, Е/мл	Удельная активность, Е/1 мг белка	Выход, %	Степень очистки
Экстракт	795	19,5	44,8	2,3	100	1
Нагревание при 60°C 20 мин	680	5,6	35,7	6,5	74	3
Осаждение сульфатом аммония 35—75% насыщения	50	27	515,4	19,1	72	8
Хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе	180	0,8	128	160,0	65	70
Хроматография на сефарозе 6В-СL	63,5	0,4	238,7	597	42,5	260
Хроматография на гидроксилпатите	21	0,1	111,6	1116	6,6	485

см. также табл. 9). По возрастанию удельной активности оценивают эффективность отдельных стадий очистки.

Если имеется очищенный, индивидуальный фермент, то можно измерить его молярную активность: она равна числу единиц фермента в образце, деленному на количество фермента, выраженное в микромолях. Например, если в растворе фумаразы, содержащем 0,002 мкмоль фермента, обнаружено 240 единиц фермента (в мкмоль/мин), то молярная активность фумаразы равна $\frac{240 \text{ мкмоль/мин}}{0,002 \text{ мкмоль}} = 12 \cdot 10^4 \text{ мин}^{-1}$.

Молярная активность указывает, сколько молекул субстрата превращается одной молекулой фермента за 1 минуту (в старой литературе молярная активность часто обозначается как «число оборотов»). В табл. 14 приведена молярная активность некоторых ферментов.

Таблица 14. Молярная активность некоторых ферментов

Фермент	Активность, мин ⁻¹	Фермент	Активность, мин ⁻¹
Карбоангидраза С	36 000 000	Фумараза	120 000
Δ ⁵ -3-Кетостероидизомераза	17 100 000	β-Галактозидаза	12 500
Супероксиддисмутаза	4 800 000	Фосфоглюкомутаза	1 240
Каталаза	1 200 000	Сукцинатдегидрогеназа	1 150
β-Амилаза	1 100 000		

Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры, рН и времени инкубации

Зависимость скорости реакции от температуры. Скорость ферментативных реакций, как и всяких других, зависит от температуры. При повышении температуры на каждые 10°C скорость увеличивается примерно вдвое (правило Вант-Гоффа). Однако для ферментативных реакций это правило справедливо лишь в области низких температур — до $50\text{--}60^{\circ}\text{C}$. При более высоких температурах ускоряется денатурация фермента, что означает уменьшение его количества, соответственно снижается и скорость реакции (рис. 27, з). При $80\text{--}90^{\circ}\text{C}$ большинство ферментов денатурируется практически мгновенно. Количественное определение ферментов рекомендуется проводить при 25°C .

Зависимость скорости реакции от рН. Изменение рН приводит к изменению степени ионизации ионогенных групп в активном центре, а это влияет на сродство субстрата к активному центру и на каталитический механизм. Кроме того, изменение ионизации белка (не только в области активного центра) вызывает конформационные изменения молекулы фермента. Колоколообразная форма кривой (рис. 27, д) означает, что существует некоторое оптимальное состояние ионизации фермента, обеспечивающее наилучшее соединение с субстратом и катализ реакции. Оптимум рН для большинства ферментов лежит в пределах от 6 до 8. Однако есть и исключения: например, пепсин наиболее активен при рН 2. Количественное определение ферментов проводят при оптимальном для данного фермента рН.

Зависимость скорости реакции от времени. По мере увеличения времени инкубации скорость реакции снижается (рис. 27, е). Это может происходить вследствие уменьшения концентрации субстрата, увеличения скорости обратной реакции (в результате накопления продукта прямой реакции), ингибирования фермента продуктом реакции, денатурации фермента. При количественном определении ферментов и кинетических исследованиях измеряют начальную скорость реакции (скорость непосредственно после начала реакции). Время, в течение которого скорость с допустимым приближением можно считать начальной, для каждого фермента и для данных условий подбирается экспериментально, на основе графика, представленного на рис. 27, е: прямолинейный участок графика, начинающийся от отметки нулевого времени, соответствует интервалу времени, в течение которого скорость реакции равна начальной скорости или близка к ней (на рисунке этот интервал отмечен пунктирной линией).

ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ

Ингибиторами ферментов называют вещества, снижающие их активность. Наибольший интерес представляют ингибиторы,

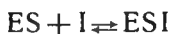
взаимодействующие с активным центром фермента. Такие ингибиторы чаще всего являются структурными аналогами субстрата и, следовательно, комплементарны активному центру фермента. Поэтому они подавляют активность только одного фермента или группы ферментов с очень сходным устройством активного центра. Различают ингибиторы конкурентные и неконкурентные, обратимые и необратимые.

Малоновая кислота $\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ является структурным аналогом янтарной кислоты, поэтому она может присоединяться к активному центру сукцинатдегидрогеназы (см. выше). Но дегидрирование малоновой кислоты невозможно. Если в реакционной смеси имеются одновременно и янтарная, и малоновая кислоты, то происходят следующие процессы:



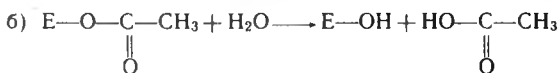
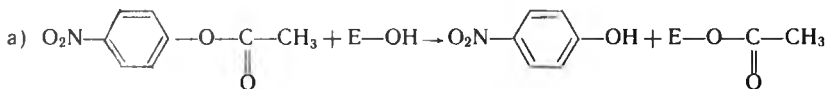
Некоторые молекулы фермента оказываются занятыми ингибитором (I) и не участвуют в реакции превращения субстрата: следовательно, скорость образования продукта снижается. Если повышать концентрацию субстрата, то доля комплекса ES увеличивается, а комплекса EI уменьшается: субстрат и ингибитор конкурируют за активный центр фермента. Это пример *конкурентного ингибирования*. При достаточно высокой концентрации субстрата весь фермент будет в форме комплекса ES и скорость реакции будет максимальной, несмотря на присутствие ингибитора.

Некоторые ингибиторы образуют комплекс не со свободным ферментом, а с фермент-субстратным комплексом:



В этом случае повышение концентрации субстрата не уменьшает действие ингибитора: такие ингибиторы называются *неконкурентными*.

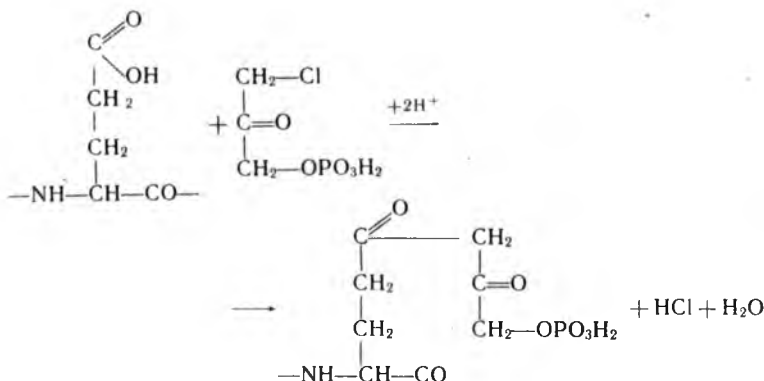
В некоторых случаях ингибитор может подвергаться химическому превращению под действием фермента. Например, *n*-нитрофенилацетат гидролизует протеолитическим ферментом химотрипсином; гидролиз происходит в две стадии:



Сначала ацетильный остаток присоединяется к гидроксильной группе остатка серина в активном центре фермента (реакция а), а затем происходит гидролиз ацетил-фермента (реакция б). Первая стадия протекает быстро, а вторая очень медленно, поэтому

даже при небольших концентрациях *n*-нитрофенилацетата значительная часть молекул фермента находится в ацелированной форме, и скорость гидролиза природного субстрата (пептидов) снижается. Такие ингибиторы называют *псевдосубстратами* или *плохими субстратами*.

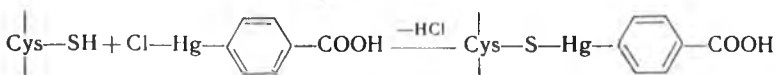
Иногда химическое превращение ингибитора в активном центре приводит к образованию продукта, который не может отделиться от фермента: это *необратимое ингибирование*, или *инактивация*. Например, 3-хлорацетолфосфат необратимо ингибирует триозофосфатизомеразу. Этот ингибитор является структурным аналогом диоксиацетонфосфата и необратимо присоединяется к остатку глутаминовой кислоты в активном центре фермента:



Ингибиторами могут быть не только аналоги субстратов, но и аналоги коферментов, способные занимать место настоящего кофермента, но неспособные выполнять его функцию.

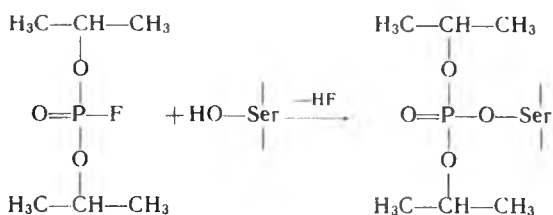
Взаимодействие фермента с ингибитором часто в такой же мере специфично, как и взаимодействие с субстратом или коферментом. На этом основано применение ингибиторов для избирательного подавления активности того или иного фермента в сложной ферментной системе или в организме. В частности, многие лекарственные вещества являются ингибиторами ферментов.

Есть ингибиторы, действующие менее избирательно. Например, *n*-хлормеркурибензоат является специфическим реагентом на сульфгидрильные группы в белках:



Поэтому *n*-хлормеркурибензоат ингибирует все ферменты, которые имеют SH-группы, участвующие в катализе.

Другим примером может служить ингибирование диизопропилфторфосфатом пептидгидролаз и эстераз, имеющих серин в активном центре. Ингибитор необратимо присоединяется к остатку серина:



Остатки серина вне активного центра при этом остаются незатронутыми. Диизопропилфторфосфат — представитель группы фосфорорганических соединений, обладающих чрезвычайно высокой токсичностью. Токсическое действие обусловлено именно ингибированием ферментов, и прежде всего ацетилхолинэстеразы (см. гл. XXII).

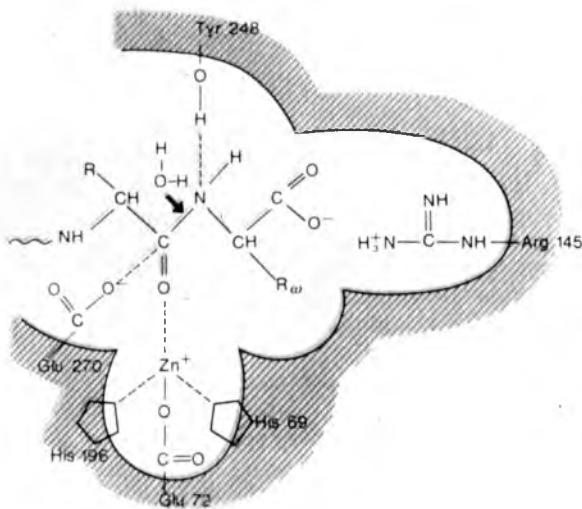
Ингибиторы — очень эффективные инструменты для исследования строения активного центра ферментов и механизма катализа. Ингибиторы, необратимо присоединяющиеся к активному центру фермента, «метят» активный центр: если теперь фермент гидролизовать, то одна из аминокислот в гидролизате остается связанной с ингибитором. Таким способом узнают, какие аминокислоты и функциональные группы формируют активный центр.

МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

Рассмотрим в качестве примера хорошо изученный фермент карбоксипептидазу А. Механизм действия этого фермента выяснен путем рентгеноструктурного исследования комплексов фермента с разными ингибиторами и псевдосубстратами.

Карбоксипептидаза А построена из одной пептидной цепи, включающей 307 аминокислотных остатков; фермент содержит атом Zn в активном центре. Размеры молекулы $5 \times 4,2 \times 3,8$ нм. Активный центр фермента расположен в нише глубиной около 1 нм. Карбоксипептидаза А — пищеварительный фермент, образующийся в поджелудочной железе и в составе сока этой железы поступающий в кишечник. Здесь он участвует в переваривании белков: катализирует отщепление С-концевых аминокислотных остатков от пептидов.

На рис. 28 показана С-концевая часть пептида (два аминокислотных остатка) в активном центре карбоксипептидазы А. В связывании субстрата и катализе участвуют аминокислотные остатки Tyr248, Arg145, Glu270, ион Zn, который соединен с карбоксильной группой Glu72, и, кроме того, двумя координационными связями — с имидазольными циклами His69 и His196. В активном центре имеется углубление, содержащее гидрофобные радикалы аминокислот (гидрофобный карман). В этот карман входит радикал С-концевой аминокислоты субстрата, поэтому наилучшими субстратами карбоксипептидазы А являются пептиды с гидрофобной С-концевой аминокислотой (радикал R_w на рис. 26).



Субстрат в активном центре карбоксипептидазы А

Реакция начинается со взаимодействия R_{ω} с гидрофобным карманом и образования ионной связи карбоксильной группы субстрата с гуанидиновой группой Arg145. При этом пептидная цепь в области Arg145 подтягивается в сторону карбоксильной группы субстрата (примерно на 0,2 нм). Это ведет к конформационным перестройкам и в других частях активного центра: в направлении к субстрату перемещаются Glu270 (на 0,2 нм) и Tyr248 (на 1,2 нм). В результате возникает взаимодействие карбонильной группы субстрата с карбоксилем Glu270 и атомом Zn, а также атома азота пептидной связи с OH-группой Tyr248. Пептидная связь при этом ослабляется, и происходит ее гидролиз, приводящий к образованию карбоксильной группы аминокислотного остатка R и аминогруппы C-концевого остатка. Эти группы не могут взаимодействовать с функциональными группами активного центра, т. е. комплементарность нарушается: продукты гидролиза покидают активный центр, а фермент восстанавливает исходную конформацию.

Конечно, строение активного центра и механизмы действия разных ферментов различны — они соответствуют особенностям строения субстрата и типу реакции. Однако приведенный пример иллюстрирует некоторые общие черты, характерные для ферментативного катализа. Эти черты перечислены ниже.

① Активный центр фермента формируется из участков пептидной цепи и отдельных аминокислотных остатков, содержащих разные функциональные группы. Субстрат соединяется с активным центром в нескольких точках: это обеспечивает высокую избирательность связывания (комплементарность субстрата и ак-

тивного центра) и ориентацию субстрата, необходимую для катализа реакции.

② Активный центр, как правило, располагается в углублении (в нише) поверхности фермента. В результате субстрат, соединяясь с активным центром, оказывается не в водной среде цитозоля клетки, а в специфическом окружении функциональных групп активного центра.

③ В ходе присоединения субстрата и в ходе катализа происходят конформационные изменения молекулы фермента и субстрата. До взаимодействия пространственная структура субстрата и активного центра лишь приблизительно соответствуют друг другу, строгая комплементарность возникает в процессе взаимодействия в результате изменений конформации (индуцированное соответствие). Конформационные изменения могут способствовать «растягиванию» разрываемой связи или, наоборот, сближению молекул при реакциях синтеза и тем самым вносят вклад в ускорение реакции.

ФЕРМЕНТЫ И МЕТАБОЛИЗМ

Метаболизмом называют химические превращения веществ в организме (от греч. *metabole* — изменение, превращение). Вещества, участвующие в метаболизме, называют *метаболитами*. Метаболизм — результат действия ферментов: все реакции, определяющие баланс веществ в живой клетке, катализируются ферментами.

В живой клетке имеются многие тысячи разных веществ. Каждое из них в принципе может реагировать со многими другими. Однако фактически каждое вещество участвует в немногих реакциях, часто только в одной. Например, в мышечных клетках практически вся глюкоза реагирует только с АТФ, превращаясь в глюкозо-6-фосфат. Это происходит потому, что в этих клетках есть фермент, катализирующий реакцию образования глюкозо-6-фосфата; ферментов, которые катализировали бы другие в принципе возможные реакции глюкозы, в мышцах нет, а некатализируемые реакции протекают настолько медленно, что практически не оказывают влияния на баланс глюкозы. Глюкозо-6-фосфат затем превращается в другой метаболит, тоже при участии специального фермента, и т. д. Таким образом, получается определенная последовательность реакций и метаболитов — метаболический путь глюкозы. Каждый метаболит образуется из предшественника при участии специфического фермента и в свою очередь служит субстратом для следующего фермента. Аналогично и другие вещества превращаются по характерным для них метаболическим путям. Метаболические пути всех веществ связаны друг с другом общими метаболитами, образуя единую сетку реакций.

Таким образом, ферментативный катализ в живой клетке служит инструментом отбора определенных реакций из множества

возможных. В ходе биологической эволюции возник набор ферментов, катализирующих лишь те реакции, которые оказались полезными для живой системы. В результате в организме существует не хаос реакций, а определенная система реакций — метаболизм.

✓ Говоря о метаболизме, чаще всего имеют в виду превращения низкомолекулярных веществ и метаболитами обычно называют низкомолекулярные вещества. Однако многие ферменты катализируют химические изменения (модификацию) высокомолекулярных соединений — удаление части мономеров, добавление новых мономеров, присоединение других веществ, например присоединение фосфорной кислоты к белкам при образовании фосфопротеина или присоединение углеводов при образовании гликопротеинов, и т. п. В результате таких перестроек изменяются функциональные свойства полимеров, поэтому многие реакции модификации полимеров играют важную роль в регуляции метаболизма.

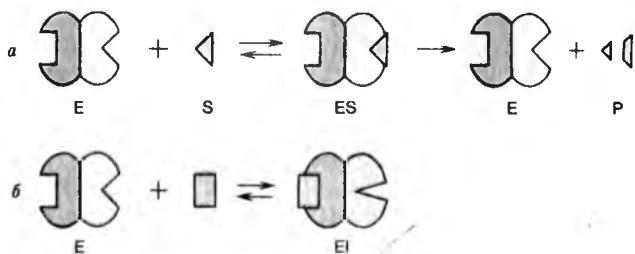
Промежуточное место между метаболизмом низкомолекулярных соединений и реакциями модификации макромолекул занимают реакции синтеза полимеров, в том числе белков и самих ферментов, а также реакции распада полимеров на мономеры в тканях и распада полимерных веществ пищи в желудочно-кишечном тракте. Число ферментов, естественными субстратами которых являются полимеры, превышает число ферментов, действующих на низкомолекулярные субстраты.

РЕГУЛЯЦИЯ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

Скорости химических реакций, составляющих метаболизм, изменяются (регулируются) в зависимости от условий среды и физиологического состояния. Одним из основных механизмов регуляции метаболизма служит регуляция активности ферментов. Существует несколько способов такой регуляции.

Аллостерическая регуляция. Многие ферменты могут обратимо связывать определенные метаболиты, ингибирующие или активирующие фермент. Такие метаболиты называют эффекторами.

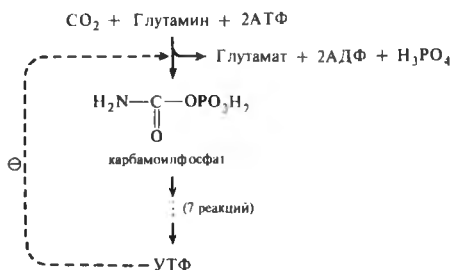
Эффектор присоединяется не к каталитическому активному центру фермента, а к специальному регуляторному центру, который называют также аллостерическим центром («в другом месте расположенный центр»). Аллостерические ферменты построены, как правило, из двух или большего числа субъединиц. На рис. 29 представлена схема аллостерического ингибирования фермента. Одна субъединица имеет каталитический центр (каталитическая субъединица) другая — регуляторный центр (регуляторная субъединица). В отсутствие аллостерического ингибитора субстрат присоединяется к каталитическому активному центру и происходит реакция. Если в среде есть аллостерический ингибитор, он присоединяется к регуляторному центру, что ведет к изменению конформации регуляторной субъединицы; вследст-



Механизм аллостерического ингибирования ферментов: в отсутствие ингибитора (а) и при его наличии (б)

вие этого изменяется конформация и каталитической субъединицы, в том числе каталитического активного центра. В результате активность фермента снижается. Чем выше концентрация аллостерического ингибитора, тем больше молекул фермента блокируется им и тем меньше скорость превращения субстрата. Аналогично происходит и активация ферментов при действии аллостерических активаторов.

Рассмотрим в качестве примера регуляцию синтеза уридинтрифосфата (УТФ) (см. схему). По строению УТФ сходен с АТФ (подробнее о строении и синтезе УТФ см. гл. III и VII).

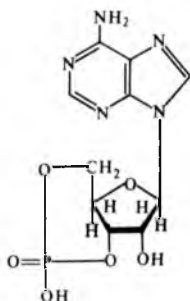


Метаболический путь синтеза УТФ включает восемь реакций. Первая реакция катализируется ферментом карбамоилфосфатсинтетазой II. Продукт реакции — карбамоилфосфат — образуется из диоксида углерода, амидной группы глутамина и фосфатного остатка АТФ; АТФ служит также источником энергии. Карбамоилфосфатсинтаза II — это аллостерический фермент: конечный продукт метаболического пути — УТФ — является его аллостерическим ингибитором. Чем больше концентрация УТФ, тем меньше скорость первой реакции, а значит, и всех остальных реакций, поскольку для них образуется мало субстратов. Таким способом скорость синтеза УТФ уравнивается со скоростью его расходования, т. е. с потребностью клетки в этом веществе. Здесь мы имеем дело с регуляцией по механизму отрицательной обратной связи. В последующих главах описаны многие другие примеры такой регуляции.

В приведенном примере регуляция действия фермента осуществляется эффектором, по химической природе отличающимся от субстрата: это *гетеротропные аллостерические ингибиторы и активаторы*. Если фермент построен из идентичных протомеров, т. е. каждый протомер имеет каталитический активный центр, то аллостерическая регуляция может осуществляться самим субстратом: присоединение субстрата к одному протомеру изменяет конформацию всего белка, и активность других протомеров может изменяться (*гомotropная аллостерическая регуляция*).

Аллостерические механизмы регуляции характерны не только для ферментов, но и для белков, выполняющих другие функции. Например, транспорт кислорода гемоглобином регулируется по механизму гомотропной аллостерической активации: молекула кислорода, присоединившаяся к одному протомеру, увеличивает сродство к кислороду других протомеров.

Более сложным механизмом аллостерической регуляции контролируется синтез циклоаденозинмонофосфата (3',5'-цикло-АМФ, или цАМФ):



Циклоаденозинмонофосфат образуется из АТФ при действии аденилатциклазы:

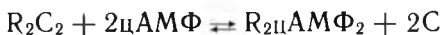


Эффекторами аденилатциклазы служат некоторые гормоны (адреналин, глюкагон и ряд других). В регуляции участвуют еще два белка — рецептор гормона и ГТФ-связывающий белок; эти белки можно рассматривать как субъединицы аденилатциклазы. Все три субъединицы локализованы в плазматической мембране (рис. 30). Рецептор гормона ориентирован центром связывания на наружную поверхность мембраны, и к нему может присоединяться гормон из межклеточной жидкости. Каталитическая субъединица (собственно аденилатциклаза) своим активным центром выходит на внутреннюю поверхность мембраны. Когда рецептор гормона свободен, ГТФ-связывающий белок соединен с ГДФ; в этом состоянии системы аденилатциклаза неактивна. Если к рецептору присоединяется гормон, ГДФ в ГТФ-связывающем

белке заменяется на ГТФ, и этот новый комплекс активирует аденилатциклазу — начинается синтез цАМФ.

В присутствии гормона ГТФ-связывающий белок и сам активируется — начинает с небольшой скоростью гидролизовать ГТФ на ГДФ и H_3PO_4 . При этом образуется комплекс с ГДФ, который не активирует аденилатциклазу, но если рецептор по-прежнему соединен с гормоном, то ГДФ в комплексе снова заменяется на ГТФ и аденилатциклаза активируется. Изменения активности аденилатциклазы происходят в результате конформационных перестроек всех трех белков, вызываемых присоединением гормона.

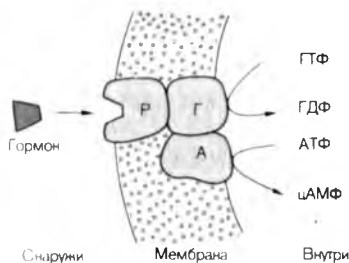
Регуляция белковыми ингибиторами. Одним из важных примеров регуляции белковыми ингибиторами является регуляция протеинкиназ — ферментов, фосфорилирующих белки. Протеинкиназа в активной форме представляет собой белок, построенный из одной пептидной цепи (субъединица С). В клетке имеется белок (субъединица R), способный соединяться с белком С, причем образуется тетрамерный комплекс R_2C_2 . Этот комплекс не обладает ферментативной активностью. Активация фермента происходит при участии цАМФ. На поверхности субъединицы R есть центр связывания цАМФ: после присоединения цАМФ изменяется конформация белка, и сродство субъединицы R к субъединице С уменьшается — происходит диссоциация комплекса:



Поскольку этот процесс обратимый, повышение концентрации цАМФ в клетке ведет к активации протеинкиназ, а снижение — к ингибированию.

Широко распространены белковые ингибиторы протеолитических ферментов. Функция этих ингибиторов — предотвращение несвоевременного разрушения белков в тканях и жидкостях организма. В частности, в плазме крови белковые ингибиторы протеиназ участвуют в регуляции таких процессов, как образование и разрушение физиологически активных пептидов, свертывание крови, растворение кровяных сгустков (подробнее см. гл. XVIII).

Механизм действия белковых эффикторов может быть связан с изменением конформации фермента, как и при аллостерической регуляции метаболитами.



30

Регуляция действия аденилатциклазы:

Р — рецептор гормона; Г — ГТФ-связывающий белок; А — каталитическая субъединица аденилатциклазы

Регуляция ферментов путем их фосфорилирования — дефосфорилирования. Протеинкиназы катализируют фосфорилирование белков. Если фосфорилируемые белки — это тоже ферменты, то их активность в результате фосфорилирования в одних случаях уменьшается, в других увеличивается. Например, в клетках жировой ткани есть липаза, существующая в двух формах — фосфопротеина и простого белка. Эти формы могут превращаться друг в друга. Фосфопротеин образуется в результате действия протеинкиназы:



Фосфорилированная липаза может вновь превращаться в простой белок при действии фосфопротеинфосфатазы — фермента, гидролитически отщепляющего фосфорную кислоту от фосфопротеинов:

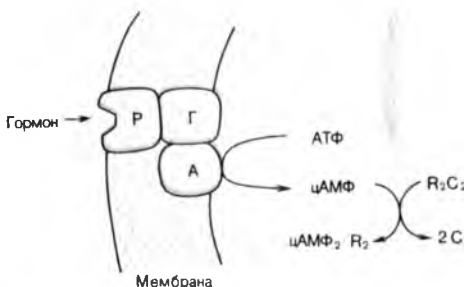


Фосфорилированная липаза обладает значительно более высокой активностью, чем нефосфорилированная.

Протеинкиназы — это группа ферментов, различающихся специфичностью: разные протеинкиназы фосфорилируют разные белки. Такой механизм регулирует активность многих ферментов.

Аденилатциклазная система. Аденилатциклаза и протеинкиназы образуют единую регуляторную систему (каскад реакций), служащую для передачи физиологического сигнала из внеклеточной среды внутрь клетки (рис. 31). Первым вестником сигнала чаще всего служат некоторые гормоны, активирующие аденилатциклазу. В результате образуется α АМФ — второй (внутриклеточный) вестник сигнала; α АМФ активирует протеинкиназы, протеинкиназы фосфорилируют некоторые ферменты, изменяя их активность. Таким путем гормон, не проникая в клетку, изменяет ее метаболизм.

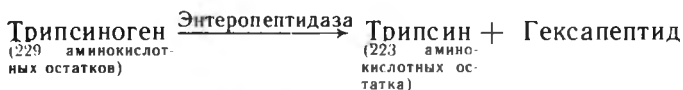
Активация частичным протеолизом. Многие ферменты образуются из неактивных белков (проферментов) в результате отщепления части пептидной цепи. Например, пищеварительный протеолитический фермент трипсин образуется из профермента трипсиногена. Трипсиноген синтезируется в клетках поджелудочной железы и секретируется в панкреатический сок, который выводится в двенадцатиперстную кишку. Клетки кишечника выделяют протеолитический



Передача физиологического сигнала из внеклеточной среды внутрь клетки

Многие ферменты образуются из неактивных белков (проферментов) в результате отщепления части пептидной цепи. Например, пищеварительный протеолитический фермент трипсин образуется из профермента трипсиногена. Трипсиноген синтезируется в клетках поджелудочной железы и секретируется в панкреатический сок, который выводится в двенадцатиперстную кишку. Клетки кишечника выделяют протеолитический

фермент энтеропептидазу, который отщепляет гексапептид с N-конца молекулы трипсиногена:



В результате отщепления части пептидной цепи происходит перестройка пространственной структуры и формируется активный центр, т. е. неактивный предшественник превращается в фермент трипсин.

В некоторых случаях функционируют целые каскады последовательных реакций частичного протеолиза, когда активированный предыдущий фермент в свою очередь активирует следующий, и т. д. Например, свертывание крови происходит в результате каскада реакций активации серии ферментов, последний из которых превращает растворимый белок плазмы крови фибриноген в нерастворимый белок фибрин. Подробнее свертывание крови рассматривается в гл. XX.

Механизм активации путем частичного протеолиза наиболее характерен для протеолитических ферментов (пептидогидролаз). Это связано с тем, что белки, являющиеся субстратами пептидогидролаз, составляют основу структурно-функционального аппарата клетки; нерегулируемое действие пептидогидролаз могло бы быть опасным для клетки. Поэтому в ходе эволюции выработался механизм, заключающийся в том, что протеолитические ферменты образуются и хранятся в неактивной и безопасной форме проферментов и активируются в нужный момент.

ИЗОФЕРМЕНТЫ

✓Изоферменты, как и другие изофункциональные белки, выполняют одинаковую функцию, т. е. катализируют одну и ту же реакцию. Однако по ряду свойств изоферменты могут различаться, например по молекулярной активности, по кинетике реакции, по способам регуляции, по стабильности. В основе особенностей изоферментов лежат генетически обусловленные различия их первичной структуры, обычно небольшие. Формы ферментов, образующиеся в результате модификации их молекул уже после синтеза, не называют изоферментами. Например, не являются изоферментами фосфорилированная и дефосфорилированная липазы жировой ткани.

✓Приведем в качестве примера изоферментов глюкокиназу и гексокиназу. Обе эти киназы катализируют превращение глюкозы в глюкозо-6-фосфат, но различаются по значению константы Михаэлиса, а также по локализации в организме: глюкокиназа — это фермент печени, а гексокиназа обнаруживается в печени, мышцах и многих других тканях. Физиологическое значение этих различий глюкокиназы и гексокиназы описано в гл. IX.

Если фермент имеет олигомерную структуру и построен из неидентичных протомеров, то изоферменты могут получаться в результате различных комбинаций протомеров, подобно тому, как это имеет место в случае неферментного белка гемоглобина (гемоглобины А, F, A₂). Например, лактатдегидрогеназа представляет собой тетрамер, в котором могут быть протомеры двух типов — Н и М. Возможны пять комбинаций этих протомеров в тетрамерной молекуле: М₄, М₃Н₁, М₂Н₂, М₁Н₃ и Н₄. Все пять комбинаций реализуются в организме. Протомеры М и Н различаются по электрофоретической подвижности, поэтому изоферменты лактатдегидрогеназы легко разделить методом электрофореза.

Не всегда просто решить, являются ли сходные ферменты изоферментами, или их следует отнести к разным ферментам. В качестве примера укажем на карбамоилфосфатсинтетазы I и II. Оба эти фермента синтезируют карбамоилфосфат (см. выше), но реакции различаются тем, что первый из них образует аминогруппу за счет аммиака, а второй — за счет амидной группы глутамина. Таким образом, продукт реакций в обоих случаях один и тот же, а субстраты фермента, хотя и сходны, но не идентичны. Карбамоилфосфатсинтетазы I и II различаются и по локализации в клетке, и по физиологической роли. Первый фермент находится в митохондриях, участвует в метаболическом пути синтеза мочевины, а второй — в цитозоле, участвует в синтезе пиримидиновых нуклеотидов. По-видимому, есть равные основания рассматривать эти ферменты и как изоферменты, и как разные ферменты.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ В ОРГАНИЗМЕ

Многие ферменты обнаруживаются практически во всех клетках организмов. Это ферменты, которые участвуют в процессах жизнеобеспечения самой клетки, таких, как синтез нуклеиновых кислот и белков, образование мембран и других основных клеточных органелл, энергетический обмен. С другой стороны, дифференцированные клетки, выполняющие различные специализированные функции, различаются и по ферментному составу. Например, клетки печени содержат набор ферментов, необходимых для синтеза мочевины, клетки коры надпочечников содержат ферменты, синтезирующие стероидные гормоны, в мышечных клетках много креатинфосфокиназы. Некоторые ферменты обнаруживаются лишь в одном-двух органах (так называемые органоспецифичные ферменты). Например, урокиназа есть только в печени, гистадаза — в печени и коже, кислая фосфатаза — преимущественно в предстательной железе.

Внутри клеток ферменты также распределены неравномерно. Одни ферменты находятся в коллоидно-растворенном состоянии в составе цитозоля, другие фиксированы в клеточных органеллах (подобно аденилатциклазе в плазматической мембране). Разные

органеллы — ядро, митохондрии, лизосомы, мембраны — имеют специфический набор ферментов. Ферменты, фиксированные в органеллах, помимо каталитического активного центра имеют еще специфические центры связывания с определенными компонентами органелл, поэтому они сами находят и занимают свои места в клетке. Таким образом, в клетке образуются отсеки (компартменты), различающиеся по набору ферментов, а следовательно, и по метаболизму (*компартментализация метаболизма*).

Изменения ферментного состава организма. При нормальных физиологических изменениях организма, например при онтогенезе или адаптации к переменным условиям среды, может изменяться не только каталитическая активность ферментов (в результате действия регуляторных механизмов), но и их количество (подробнее см. гл. IV и XIII) √ Активность ферментов, их количество, а также компартментализация изменяются и при болезнях. Эти проявления болезней называют *энзимопатиями*; они являются частным случаем протеинопатий.

√ Энзимопатии, как и вообще протеинопатии, бывают наследственные (первичные) и приобретенные (вторичные). Например, врожденное отсутствие фермента гистидазы проявляется как наследственная болезнь гистидинемия. Вследствие нарушения метаболизма гистидина его концентрация в крови и моче больных значительно больше, чем у здоровых людей. Это в свою очередь ведет к нарушению обмена и других веществ и как следствие к нарушению физического и умственного развития, обычно настолько резкому, что больные не доживают до взрослого состояния. Таким образом, недостаточность даже одного фермента может оказаться несовместимой с жизнью.

√ Приобретенные энзимопатии, как и вообще протеинопатии, по-видимому, сопровождают любую болезнь. Например, при воспалении, характерном для очень многих болезней, из поврежденных клеток в очаге воспаления освобождаются протеолитические и другие ферменты, которые могут разрушать окружающие ткани. В этом случае имеет место нарушение компартментализации ферментов.

Причины и проявления ряда других энзимопатий подробнее рассматриваются в других разделах.

В плазме крови здоровых людей имеется небольшой по сравнению с клетками набор ферментов, и их концентрация значительно ниже, чем в клетках. При повреждении и нарушении компартментализации ферменты из клеток могут попадать в кровь. Изменения ферментного состава крови при разных заболеваниях различны, поэтому определение ферментов в сыворотке крови используется как метод диагностики болезней и метод контроля эффективности лечения.

√ С целью диагностики определяют активность ферментов и в *биоптатах* — кусочках тканей (печени, мышц, слизистой оболочки кишечника и др.), взятых из органа с помощью специальных инструментов.

Применение ферментов в качестве лекарств. Некоторые ферменты нашли применение как лечебные средства. Например, при желудочных заболеваниях, сопровождающихся снижением содержания пепсина в желудочном соке, для улучшения пищеварения назначают препараты пепсина (заместительная терапия). Разные протеолитические препараты применяются при первичной обработке ран: гидролизуя белки разрушенных клеток, ферменты способствуют очищению раны и уменьшению воспалительных явлений. Нуклеазы используют при лечении некоторых вирусных заболеваний. Например, при лечении вирусного конъюнктивита успешно применяют глазные капли, содержащие ДНКазу: фермент разрушает ДНК вируса и тем самым излечивает болезнь. Особенно широко применяют некоторые протеолитические ферменты для предотвращения или лечения тромбозов, т. е. закупорки кровеносных сосудов сгустками крови (подробнее см. гл. XX).

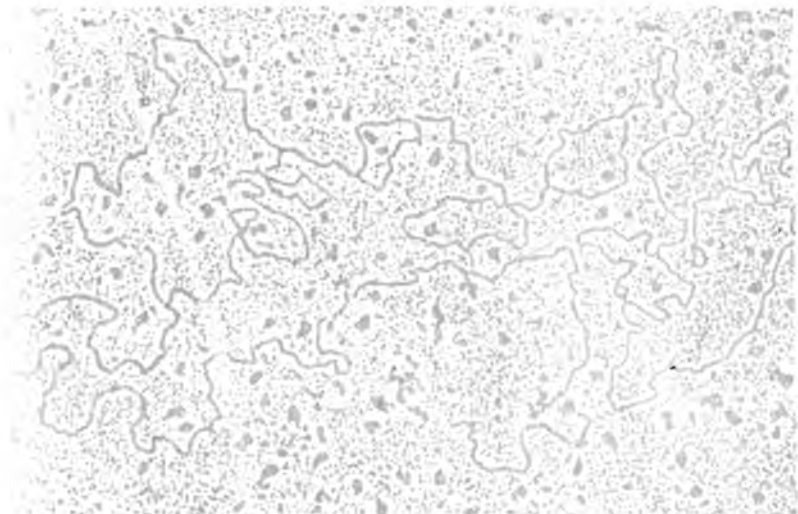
Аспарагиназу применяют для лечения некоторых форм лейкозов (рак белой крови). Лечение основано на том, что аспарагин (одна из аминокислот, необходимых для синтеза белков) в лейкозных клетках не синтезируется, и клетки получают его из плазмы крови. Если ввести в кровь больного аспарагиназу, то аспарагин в плазме крови разрушается и синтез белков в лейкозных клетках прекращается — клетки погибают. Известны и другие ферменты, пригодные для лечения злокачественных опухолей и действующие по такому же механизму: они разрушают какое-либо вещество, необходимое для роста опухолевой ткани.

Применение ферментов как аналитических реактивов. Высокая субстратная специфичность ферментов делает их совершенно уникальными аналитическими реактивами: с помощью фермента можно определить его субстрат в смеси, содержащей множество других веществ. Ферментные методы определения концентрации метаболитов в крови и других жидкостях организма все больше внедряются в практику клинического лабораторного анализа. Этими методами измеряют содержание глюкозы, мочевины, мочевой кислоты, молочной кислоты, креатинина, холестерина, триацилглицеринов и других веществ.

Глава III

СТРОЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

В 1869 г. швейцарский биолог Ф. Мишер выделил из ядер клеток вещество, по свойствам отличавшееся от известных в то время компонентов клетки. Он назвал его *нуклеином*. Уже в нашем столетии, когда стало известно строение этого вещества, за ним закрепилось название *дезоксирибонуклеиновая кислота*



Электронная микрофотография молекулы ДНК

(ДНК) в отличие от *рибонуклеиновой кислоты* (РНК), открытой позднее в ходе исследований ДНК. Всего через несколько лет после работы Мишера появились экспериментальные данные, позволившие предположить участие нуклеина (т. е. ДНК) в передаче признаков организма по наследству. Однако твердое обоснование и развитие эта идея нашла лишь в 50-е годы XX в.; тогда же были выяснены и функции РНК.

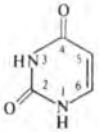
Знания о строении нуклеиновых кислот необходимы для понимания процесса биосинтеза белков, механизмов наследственности и генетической изменчивости организмов, происхождения и механизмов развития наследственных болезней.

Нуклеиновые кислоты — высокомолекулярные соединения. Их молекулы имеют нитевидную форму (рис. 32). Такая форма молекул обуславливает высокую вязкость растворов нуклеиновых кислот. Длина молекул ДНК в клетках человека достигает нескольких сантиметров. Возможно, что ДНК каждой хромосомы представляет собой единую гигантскую молекулу или небольшое число таких молекул. Общая длина ДНК в 23 парах хромосом человека равна примерно 1,5 м. Вирионы и клетки бактерий часто содержат единственную молекулу ДНК. Молекулы РНК короче: длина их обычно не превышает 0,01 мм.

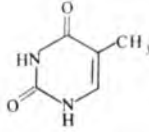
Основная часть ДНК находится в ядре клетки — в составе хроматина; небольшое количество ДНК имеется в митохондриях (около 0,2% от всей клеточной ДНК). РНК обнаруживается во всех частях клетки.

НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫЕ НУКЛЕИДЫ КЛЕТКИ

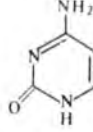
Нуклеиновые кислоты представляют собой полимеры нуклеотидов. В свою очередь нуклеотиды построены из трех компонентов — пиримидинового или пуринового основания, пентозы и фосфорной кислоты. Строение оснований и пентоз представлено ниже:



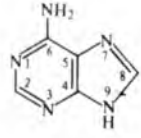
урацил
(2,4 - диокси-
пиримидин)



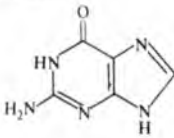
тимин
(5-метил-2,4-диокси-
пиримидин)



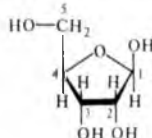
цитозин
(2-окси-4-аминопи-
римидин)



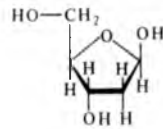
аденин
(6-аминопурин)



гуанин
(2-амино-6-окси-
пурин)



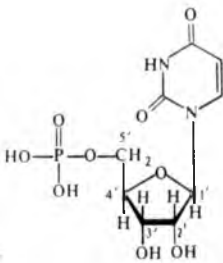
D - рибоза
(β - D - рибофураноза)



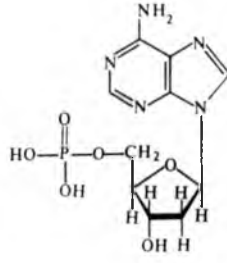
D-2- дезоксирибоза
(β - D - 2- дезоксирибофураноза)

Соединение основания и пентозы называют *нуклеозидом*. Связь (β-гликозидная) образована первым атомом углерода пентозы с первым атомом азота в пиримидиновых нуклеозиде и девятым атомом азота в пуриновых нуклеозиде.

Нуклеотиды представляют собой нуклеозидмонофосфаты. Например:

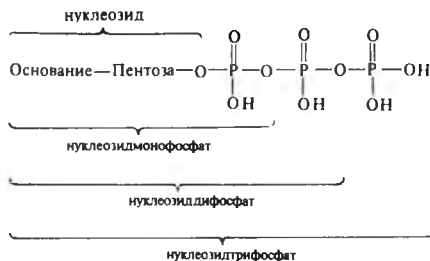


уридиливая кислота (УМФ)



дезоксадениловая кислота (дАМФ)

В клетках имеются также нуклеозиддифосфаты и нуклеозидтрифосфаты:



В зависимости от природы пентозного остатка нуклеотиды делят на два типа — рибонуклеотиды и дезоксирибонуклеотиды. Наиболее распространенные нуклеозиды и нуклеозидфосфаты приведены в табл. 15.

Дезоксирибонуклеотиды в организме используются для образования ДНК. Функции рибонуклеотидов более разнообразны. Основная их масса расходуется на образование РНК. Кроме того, рибонуклеотиды выполняют роль коферментов в некоторых трансферазных реакциях (в частности, при синтезе полисахаридов). Адениловые рибонуклеотиды входят в состав коферментов НАД, НАДФ, ФАД, КоА. Уникальную роль в превращениях энергии в организме выполняет АТФ (гл. VIII). Все нуклеозидтрифосфаты, подобно АТФ, содержат две высокоэнергетические связи, т. е. связи, при гидролизе которых освобождается значительное количество энергии (около 50 кДж/моль); это связи между фосфатными остатками.

Пурины и пиримидины поглощают ультрафиолетовое излучение с длиной волны около 260 нм. На этом основан метод определения концентрации нуклеотидов и нуклеиновых кислот.

Т а б л и ц а 15. Номенклатура наиболее распространенных нуклеозидов и нуклеозидфосфатов

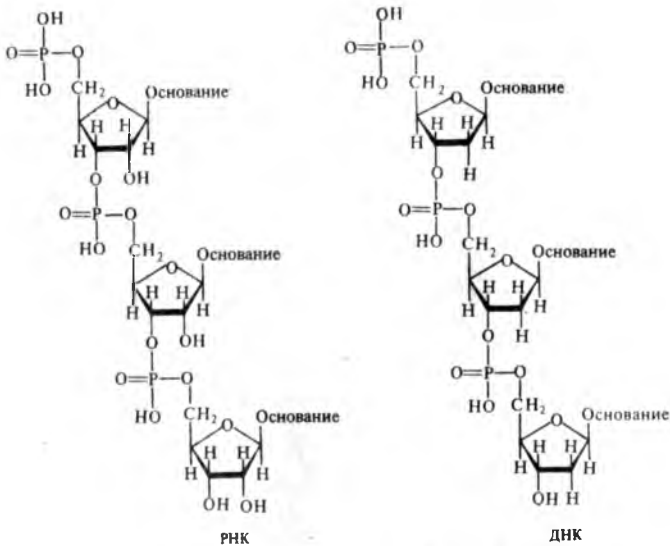
Нуклеозиды	Нуклеозидмонофосфаты	Сокращенные обозначения моно-, ди- и трифосфатов нуклеозидов
<i>Рибонуклеозиды</i>	<i>Рибонуклеозидмонофосфаты</i>	
Аденозин	Аденозин-5'-монофосфат (адениловая кислота)	АМФ, АДФ, АТФ
Гуанозин	Гуанозин-5'-монофосфат (гуаниловая кислота)	ГМФ, ГДФ, ГТФ
Цитидин	Цитидин-5'-монофосфат (цитидиловая кислота)	ЦМФ, ЦДФ, ЦТФ
Уридин	Уридин-5'-монофосфат (уридиловая кислота)	УМФ, УДФ, УТФ
<i>Дезоксирибонуклеозиды</i>	<i>Дезоксирибонуклеозидмонофосфаты</i>	
Дезоксиаденозин	Дезоксиаденозин-5'-монофосфат (дезоксиадениловая кислота)	дАМФ, дАДФ, дАТФ
Дезоксигуанозин	Дезоксигуанозин-5'-монофосфат (дезоксигуаниловая кислота)	дГМФ, дГДФ, дГТФ
Дезоксицитидин	Дезоксицитидин-5'-монофосфат (дезоксицитидиловая кислота)	дЦМФ, дЦДФ, дЦТФ
Тимидин*	Тимидин-5'-монофосфат* (тимидиловая кислота)	дТМФ, дТДФ, дТТФ

* Отсутствие приставки *дезокси-* связано с тем, что тимин встречается почти исключительно в дезоксирибонуклеотидах (однако в сокращенных обозначениях приставка «д» сохраняется).

ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

При действии ферментов, относящихся к группе нуклеаз (РНКазы, ДНКазы), нуклеиновые кислоты гидролитически расщепляются на нуклеозидмонофосфаты — мономеры нуклеиновых кислот. При этом в гидролизате РНК обнаруживается четыре типа рибонуклеозидмонофосфатов, а в гидролизате ДНК — четыре типа дезоксирибонуклеозидмонофосфатов (см. табл. 15). Азотистые основания мономеров РНК и ДНК в трех случаях совпадают, а в одном — различны: УМФ (основание урацил) — в РНК, ТМФ (основание тимин) — в ДНК.

Мономеры в молекулах нуклеиновых кислот соединены сложнoэфирной связью, образованной фосфатным остатком одного монoнуклеотида и 3'-гидроксильной группой пентозного остатка другого мононуклеотида (3', 5'-фосфодиэфирная связь):



Таким образом, нуклеиновые кислоты представляют собой линейные полимеры нуклеозидмонофосфатов — *полинуклеотиды*. Концы полинуклеотида различаются по структуре: на одном конце имеется свободная 5'-фосфатная группа (5'-конец), на другом — свободная 3'-ОН-группа (3'-конец).

Разные нуклеиновые кислоты отличаются друг от друга числом мононуклеотидных остатков в молекуле, нуклеотидным составом и порядком чередования нуклеотидных остатков (фактически оснований, поскольку пентозофосфатные части у всех мономеров одинаковы). Для краткого изображения первичной структуры нуклеиновых кислот пользуются однобуквенными символами нуклеозидов: А — аденозин, G — гуанозин, С — цитидин, U —

уридин, Т — тимидин. Первичная структура РНК может быть представлена, например, такой записью:



Запись структуры ДНК отмечается приставкой «д» (дезокси-):



[эти две записи, помимо символа «д», различаются еще тем, что в первой (РНК) не встречается символ Т, а во второй (ДНК) не встречается символ U].

При такой записи предполагается, что слева находится 5'-конец, справа — 3'-конец. Иногда приходится писать полинуклеотиды противоположным образом; в этом случае во избежание путаницы вводят дополнительные приставки: (5' → 3') A—U—A—A—G—...— здесь 5'-конец слева; или (3' → 5') G—A—A—U—A—...—5'-конец справа.

Из четырех разных нуклеотидов можно построить огромное количество нуклеиновых кислот, различающихся по первичной структуре, подобно тому как с помощью двух знаков азбуки Морзе — точки и тире — можно записать неисчерпаемое количество разных текстов. В этом отношении нуклеиновые кислоты сходны с белками.

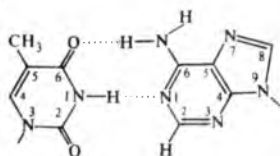
ВТОРИЧНАЯ СТРУКТУРА ДНК

Особенностью нуклеотидного состава ДНК является то, что число адениловых нуклеотидов равно числу цитидиловых: $A=T$, $G=C$, следовательно, $A+G=T+C$, т. е. число пуриновых нуклеотидов равно числу пиримидиновых (правила Чаргаффа). Такие соотношения не свойственны РНК.

Исходя из правил Чаргаффа о нуклеотидном составе ДНК и из рентгеноструктурных исследований, Дж. Уотсон и Ф. Крик (Великобритания) предложили модель строения ДНК (1953). Ниже сформулированы основные черты этой модели.

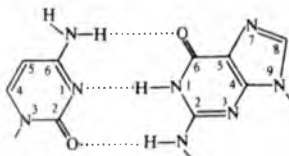
1. Молекула ДНК построена из двух полинуклеотидных цепей, ориентированных антипараллельно и на всем протяжении связанных друг с другом водородными связями (каждый из мононуклеотидов участвует в образовании водородных связей).

2. Водородные связи между цепями образуются за счет специфического взаимодействия аденинового остатка одной цепи с тимининовым остатком другой цепи (пара А...Т) и гуанинового остатка одной цепи с цитозининовым остатком другой цепи (пара G...C):



ТИМИН

АДЕНИН

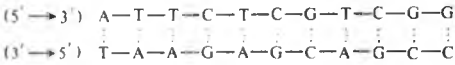


ГУАНИН

ЦИТОЗИН

Основания, образующие пару, комплементарны друг другу в том смысле, что между ними легче возникают водородные связи, чем при других сочетаниях (например, А и G, А и С и др.); это объясняется геометрией расположения групп, участвующих в образовании водородных связей между парами оснований, и геометрией молекулы ДНК в целом.

3. Первичная структура одной цепи молекулы ДНК комплементарна первичной структуре другой цепи. Это легко понять, рассматривая следующую схему:



Если в положении n (считая с 5'-конца) первой цепи находится остаток дезоксиадениловой кислоты (А), то в положении n (считая с 3'-конца) второй цепи находится комплементарный ему остаток тимидиловой кислоты (Т), а не какой-либо иной мономер. Таким образом, если известна первичная структура одной цепи молекулы ДНК, то первичная структура другой цепи легко может быть написана исходя из правил комплементарности оснований и комплементарности цепей.

Следует отметить, что комплементарность цепей не означает идентичности их первичных структур: например, в приведенной вы-

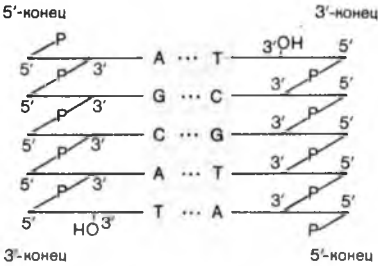
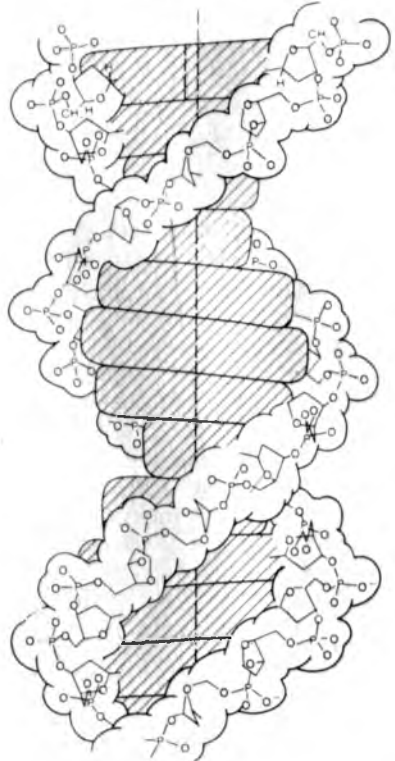
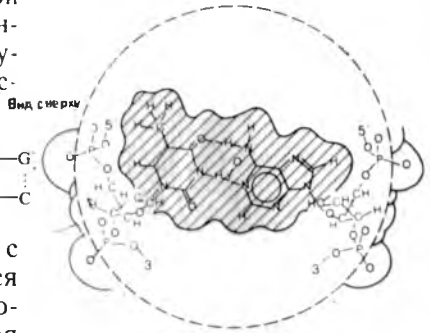


Схема фрагмента молекулы ДНК. Горизонтальные линии обозначают дезоксирибозные остатки

Модель фрагмента ДНК (двойная спираль)

ше молекуле первая цепь содержит четыре остатка тимидиловой кислоты, а вторая — только один; в первой цепи есть тройка нуклеотидов с последовательностью С—Т—С, а во второй цепи такой тройки нет.

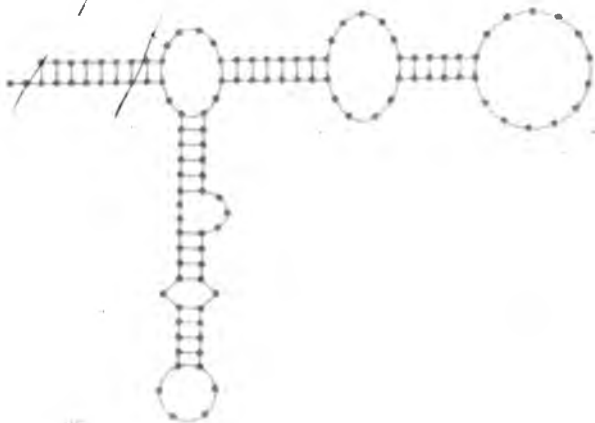
4. Обе цепи закручены в спираль, имеющую общую ось; цепи могут быть разделены только путем раскручивания (такие спирали называют плектонемическими). Пуриновые и пиримидиновые основания обращены внутрь спирали; их плоскости перпендикулярны оси спирали и параллельны друг другу, так что получается стопка оснований. Между основаниями в этой стопке возникают гидрофобные взаимодействия, вносящие основной вклад в стабилизацию двойной спирали, больший, чем водородные связи между цепями. Рибозофосфатные части располагаются по периферии, образуя ковалентный остов спирали (рис. 33, 34).

Структура ДНК позволяет объяснить молекулярный механизм фундаментальных биологических явлений, таких, как самовоспроизведение организмов, наследственность, изменчивость. Поэтому 1953 г., когда Ф. Крик и Дж. Уотсон разработали модель строения ДНК, принято считать годом рождения молекулярной биологии.

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ РНК

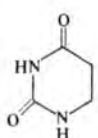
Как уже упоминалось, каждая клетка содержит небольшое число молекул ДНК, возможно, лишь по одной гигантской молекуле на каждую хромосому. РНК отличаются большим разнообразием молекул. По особенностям структуры и функций различают три основных типа РНК.

1. *Рибосомные РНК (рРНК)* — компоненты рибосом (см. с. 105). На долю рРНК приходится около 80 % всей РНК клетки. Имеется три вида рРНК: 28 S-рРНК, молекулярная масса около 1,5 млн. (примерно 4000 нуклеотидных остатков); 18S-рРНК, молекулярная масса около 700 000; 5S-рРНК, молекулярная масса около 30 000 (примерно 100 нуклеотидных остатков).

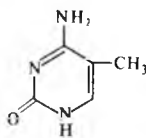


Вторичная структура рибосомной 5S РНК человека

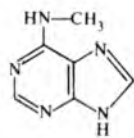
2. *Транспортные РНК (тРНК)* составляют около 15% всей РНК клетки. Имеется несколько десятков видов тРНК, различающихся первичной структурой. Молекулярная масса тРНК около 25 000. Характерной особенностью первичной структуры тРНК является наличие в их молекулах кроме обычных мономеров еще так называемых минорных нуклеотидов (нуклеотидов, содержащихся в малых количествах). Минорные нуклеотиды содержат необычные основания (например, метилированные); в псевдоуридиловой кислоте необычна связь между основанием и рибозным остатком (не N—C, а C—C):



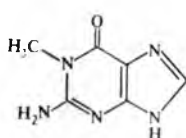
дигидроурацил



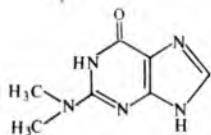
5-метилтиазин



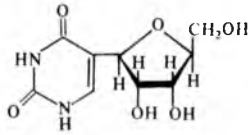
N⁶-метиладенин



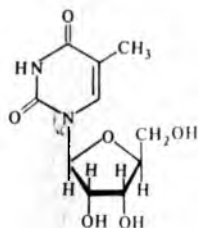
1-метилгуанин



N⁷,N²-диметилгуанин



псевдоуридин



риботимидин

3. *Матричные РНК (мРНК)* составляют около 2% от всей РНК клетки. Имеется огромное количество мРНК, различающихся по первичной структуре, — не меньше, чем число разных белков в организме. Матричные РНК называют также информационными РНК (иРНК).

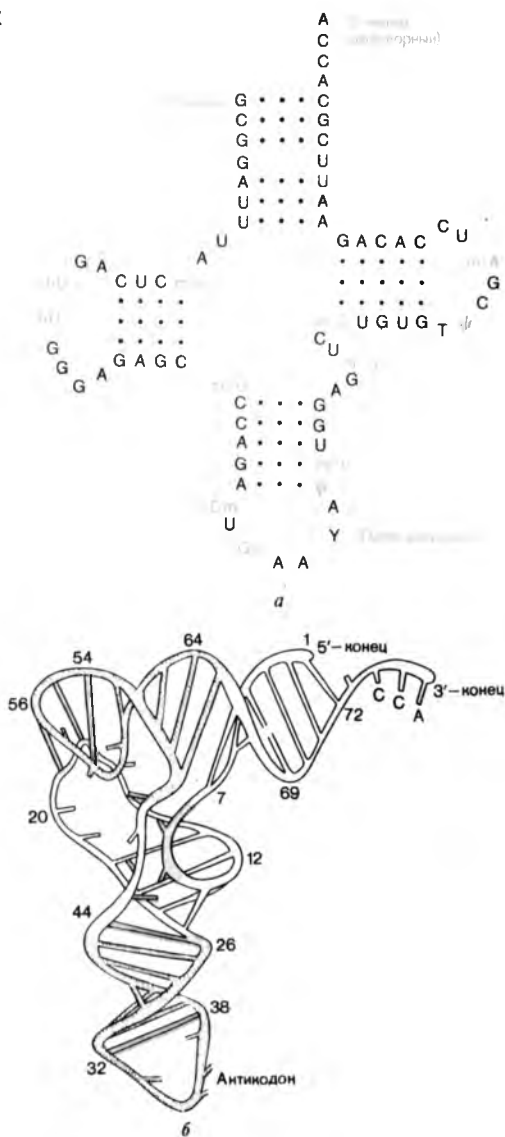
Вторичная структура РНК. Молекулы РНК в отличие от ДНК построены из одной полинуклеотидной цепи. Однако в этой цепи имеются комплементарные друг другу участки, которые могут взаимодействовать, образуя двойные спирали. При этом соединяются нуклеотидные пары А...U и G...C. Такие спирализованные участки (их называют шпильками) обычно содержат небольшое число нуклеотидных пар (до 20—30) и чередуются с неспирализованными участками (рис. 35).

Характерную вторичную структуру имеют тРНК. Они содержат четыре спирализованных участка и три (иногда четыре) одноцепочечные петли. При изображении такой структуры на плоскости получается фигура, называемая «клеверным листом» (рис. 36). Все несколько десятков разных тРНК клетки имеют общий план пространственной структуры, но различаются в деталях.

ГИБРИДИЗАЦИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

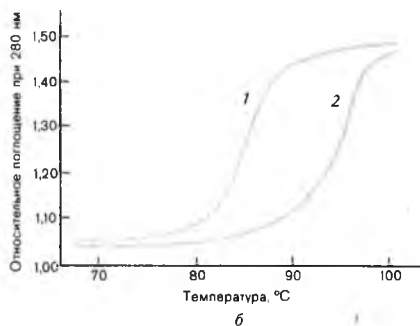
Денатурация нуклеиновых кислот. Вторичная структура нуклеиновых кислот образуется за счет возникновения водородных и гидрофобных связей между основаниями, т. е. слабых взаимодействий. Поэтому, как и в случае белков, возможна денатурация нуклеиновых кислот при умеренных воздействиях. Денатурация происходит при нагревании растворов нуклеиновых кислот до 70—100 °С, а также в сильноокислой или щелочной средах, при добавлении мочевины. В результате разрушения водородных и гидрофобных связей цепи расходятся и принимают конформацию беспорядочного клубка. Денатурация сопровождается увеличением поглощения при 260 нм (так называемый гиперхромный эффект). Поглощение может увеличиться примерно в 1,5 раза. Это дает удобный метод наблюдения за ходом денатурации (рис. 37). Денатурацию можно обнаружить также по уменьшению вязкости раствора.

Если раствор нуклеиновой кислоты, денатурированной нагреванием, охлаждать, то вновь возникают слабые связи, и при определенных условиях могут получиться двухспиральные структуры, идентичные структурам исходного (до денатурации) препарата, т. е. произойдет ренативация. На явлении денатурации и ренативации основан метод молекулярной гибридизации, который применяют для изучения строения нуклеиновых кислот, а также для их фракционирования.



Вторичная структура тРНК:

а — схема (минорные нуклеотиды выделены цветом); *б* — пространственная модель (указаны номера некоторых нуклеотидов)



Денатурация ДНК:

а — схема изменения вторичной структуры; *б* — графики денатурации (плавления) двух образцов ДНК: образец 2, имеющий более высокую температуру плавления, содержит больше пар ГС, чем образец 1.

Относительное поглощение — это отношение поглощения УФ излучения раствором ДНК при комнатной температуре к поглощению при температурах, указанных на графике

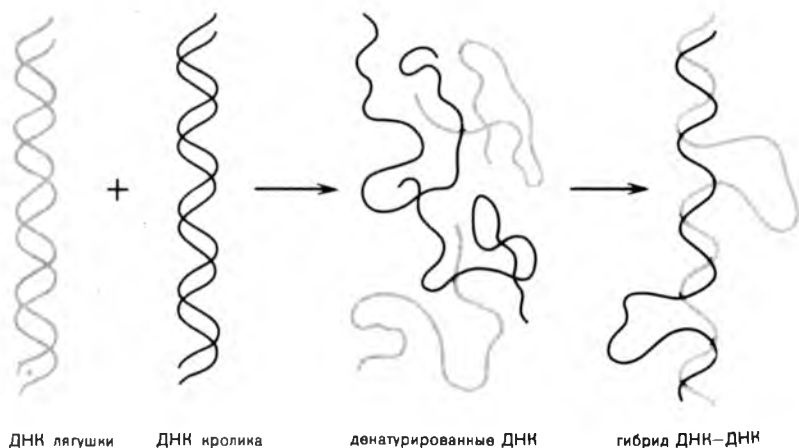
Гибридизация ДНК—ДНК. Если смешать растворы ДНК, выделенных из организмов разных видов (например, лягушки и кролика), нагреть эту смесь (т. е. денатурировать ДНК), а затем охладить, то вновь будут возникать двуспиральные структуры. При этом наряду с двуспиральными молекулами, идентичными исходным молекулам ДНК, могут образовываться гибридные молекулы, содержащие одну нуклеотидную цепь из ДНК лягушки, а другую — из ДНК кролика (рис. 38). Такие гибридные молекулы бывают несовершенными: спирализованные участки чередуются в них с неспирализованными; очевидно, в неспирализующихся участках полинуклеотидные цепи не комплементарны друг другу. Несовершенство гибридов ДНК — ДНК можно обнаружить с помощью электронного микроскопа. Изучение гибридизации ДНК — ДНК позволило сделать следующие важные для биологии выводы.

1. ДНК всех органов и тканей одного и того же организма идентичны.

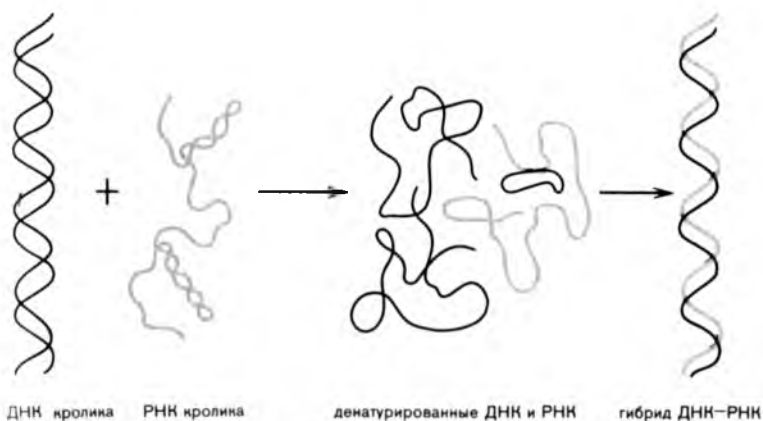
2. ДНК, выделенные из тканей разных особей одного биологического вида, идентичны. Однако могут быть небольшие различия, не обнаруживаемые методом гибридизации (двойные спирали не образуются, когда некомплементарные участки содержат более 3—5 нуклеотидных остатков).

3. ДНК, полученные от особей разных биологических видов, неидентичны, образуют несовершенные гибридные молекулы. Степень несовершенства гибридов ДНК — ДНК тем больше, чем отдаленнее филогенетическое родство между видами. В связи с этим метод гибридизации ДНК — ДНК оказалось возможным применять для уточнения систематики организмов.

Из результатов изучения ДНК методом гибридизации следу-



а



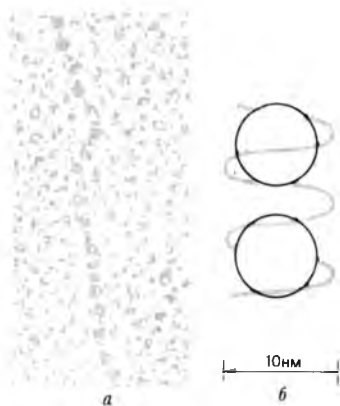
б

Гибридизация нуклеиновых кислот:

а — гибридизация ДНК — ДНК; б — гибридизация ДНК — РНК

ет, что первичная структура ДНК характеризуется видовой специфичностью.

Гибридизация ДНК — РНК. Сходным образом может происходить и гибридизация ДНК — РНК: в этом случае гибридная молекула содержит одну дезоксирибонуклеотидную цепь и одну рибонуклеотидную (см. рис. 38). При гибридизации ДНК и РНК (первичных транскриптов), выделенных из одного и того же ор-



Электронная микрофотография хроматиновой цепи с нуклеосомами (увеличение 225000) (а) и строение нуклеосом (б)

ганизма, образуются совершенные гибриды. Иначе говоря, вся РНК организма комплементарна ДНК того же организма. Это означает, что все соображения относительно видовой специфичности ДНК в равной мере применимы и к РНК.

СТРОЕНИЕ ХРОМАТИНА

Нуклеиновые кислоты в живой клетке находятся в форме нуклеопротеинов — соединений с белками. Лишь тРНК обнаруживается преимущественно в свободно растворенном состоянии в цитозоле. Основные нуклеопротеиновые структуры — это *хроматин* (дезоксирибонуклеопротеин) и *рибосомы* (рибонуклеопротеин).

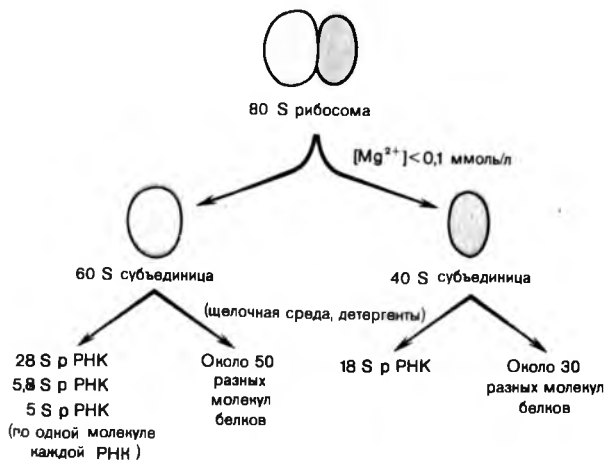
Структурная организация хроматина сложна и изучена далеко не полностью. Состояние хроматина изменяется в зависимости от клеточного цикла. В фазе покоя хроматин равномерно распределен по всему объему ядра и не обнаруживается обычными микроскопическими методами. В фазе деления клетки хроматин образует компактные частицы — *хромосомы**, которые видны в обычный микроскоп.

Примерно $\frac{2}{3}$ массы хроматина составляют белки, $\frac{1}{3}$ — ДНК. Хроматин содержит также РНК (до 10%). Половина всех белков хроматина это *гистоны* — белки с молекулами сравнительно небольшого размера (мол. масса 11 000—22 000). Характерная особенность гистонов — высокое содержание лизина и (или) аргинина; это придает им щелочной характер и способность взаимодействовать с кислотными группами ДНК.

На электронно-микроскопических фотографиях хроматина видны образования, напоминающие бусы, нанизанные на нитку (рис. 39). Каждая бусина содержит 8 молекул гистонов и намотанную на них ДНК длиной около 150 нуклеотидных пар. Такую структуру называют *нуклеосома*. На рис. 39 представлена схема нуклеосомного строения хроматина. При такой укладке длина молекул ДНК уменьшается примерно в 7 раз по сравнению с вытянутой молекулой. Это лишь первый уровень укладки ДНК.

Длина молекул ДНК человека измеряется сантиметрами

* Следует иметь в виду, что термин «хромосомы» часто употребляют в более широком смысле, для обозначения генетического материала вообще. В этом смысле хроматин покоящейся клетки — тоже хромосомы; у прокариот нет ядра и не бывает хромосом в узком смысле слова, однако их генетический материал тоже называют хромосомами в расширительном толковании этого слова.



Компоненты рибосом эукариот

(около 3—5 см), а длина хромосом — всего несколько нанометров. Следовательно, степень укорочения (компактизации) ДНК при укладке в хромосомы должна достигать нескольких миллионов. Это происходит в результате дополнительного скручивания нуклеосомной нитки бус. Высшие уровни укладки ДНК изучены недостаточно.

СТРОЕНИЕ РИБОСОМ

Рибосомы представляют собой субклеточные частицы с коэффициентом седиментации 80S и молекулярной массой 4,5 млн. Они состоят из двух субъединиц — большой (60S) и малой (40S); при снижении концентрации ионов Mg²⁺ в растворе до 0,1 мМ 80S-частица распадается на субъединицы. Каждая из субъединиц содержит РНК и белки. Субъединицы распадаются на составные части в растворах с низким значением рН и в присутствии детергентов (рис. 40). Нуклеиновые кислоты субъединиц выполняют, в частности, роль каркаса для объединения белков в определенном порядке. Рибосома в целом функционирует как устройство для синтеза белков (см. гл. IV).

Глава IV

БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И БЕЛКОВ (МАТРИЧНЫЕ БИОСИНТЕЗЫ)

Первичную структуру важнейших биополимеров — белков и нуклеиновых кислот — можно сравнить с буквенной записью: и в том, и в другом случае имеется не произвольное, а строго опреде-

ленное, «имеющее смысл» чередование элементов — мономеров или букв. На этом основании нуклеиновые кислоты и белки называют информационными молекулами. Чтобы получить такие молекулы, недостаточно смешать мономеры и обеспечить условия образования пептидной или фосфодиэфирной связи, необходима еще программа, определяющая последовательность присоединения разных мономеров к растущей цепи полимера. При биосинтезе новых молекул нуклеиновых кислот и белков носителями такой программы являются нуклеиновые кислоты; в этой роли их называют матрицами. Матрица в ходе матричного синтеза не расходуется и может использоваться многократно; в этом отношении она сходна с катализатором.

Различают три основных типа матричных биосинтезов:

- 1) биосинтез ДНК (репликация ДНК) с использованием в качестве матрицы уже существующих молекул ДНК;
- 2) биосинтез РНК на матрице ДНК (транскрипция);
- 3) биосинтез белков с использованием в качестве матрицы мРНК (трансляция).

Возможен также биосинтез ДНК на матрице РНК (обратная транскрипция) и синтез РНК на матрице РНК (репликация РНК) (см. раздел «Особенности репликации вирусного генома»).

БИОСИНТЕЗ ДНК (РЕПЛИКАЦИЯ)

ДНК и наследственность

История изучения строения, биосинтеза и функций ДНК связана с возникновением и решением общебиологической проблемы наследственности.

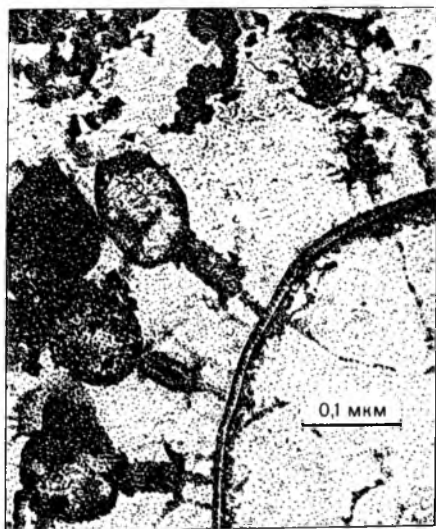
На рубеже XIX и XX вв. генетические и цитологические исследования привели к выводу, что ответственными за передачу признаков по наследству являются хромосомы. При этом можно выделить некоторый наследственный признак, который передается с определенным участком хромосомы — *геном*. Все му набору признаков организма соответствует набор генов всех хромосом — *генотип*. Объяснение механизма передачи признаков включало представление о самовоспроизведении (репликации) генотипа; в результате самовоспроизведения генотип клетки удваивается, и при последующем делении дочерние клетки получают по полному набору генов. Это представление обосновывалось картиной удвоения и расхождения хромосом в процессе митоза.

Поскольку хромосомы содержат белок и ДНК, возник вопрос, какое из этих веществ участвует в передаче наследственных признаков. В 40—50-е годы XX в. появилось много экспериментальных указаний на то, что передача наследственной информации осуществляется молекулами ДНК. Одним из наглядных доказательств этого послужило изучение размножения бактериофагов — вирусов, паразитирующих на бактериях. Бактериофаг Т4,



а

Строение бактериофага Т4 (а) и электронная микрофотография фагов, прикрепленных к стенке *E. coli* (б)



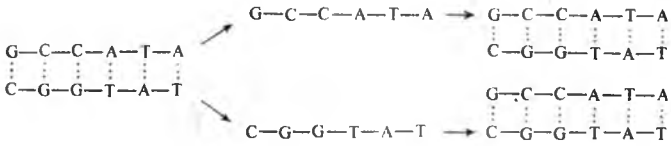
б

размножающийся в клетках кишечной палочки, состоит из ДНК и белковой оболочки с довольно сложной морфологией (рис. 41 а, б). Фаг имеет головку икосаэдрической формы, в которой тесно упакована одна молекула ДНК, и полый цилиндрический хвост, от конца которого отходят шесть тонких нитей. Хвост имеет двойные стенки и представляет собой как бы трубку, вставленную в трубку большего диаметра. Процесс заражения бактерии фагом представляет собой сложную последовательность молекулярных событий. Фаг присоединяется к ее поверхности с помощью хвостовых нитей, и конец хвоста фиксируется на оболочке бактерии. Прикрепление фага к бактерии основано на комплементарном взаимодействии белков хвостовых нитей и конца хвоста с веществами бактериальной стенки. Затем наружная трубка хвоста сокращается, внутренняя трубка проникает через оболочку бактерии и через нее из головки внутрь бактерии «впрыскивается» ДНК фага, тогда как белковая оболочка фага остается на поверхности. Через некоторое время, измеряемое десятками минут, в бактерии обнаруживается уже несколько сот фаговых частиц, имеющих и белковую оболочку, и ДНК внутри нее. Из этого следует, что вся информация о структуре фага содержится в его ДНК.

Такого рода работами завершилась линия исследований, посвященных выяснению материальной основы наследственности; начало этой линии восходит к первым наблюдениям и осознанию явления наследственности, роль которой стала вполне ясной после появления теории биологической эволюции.

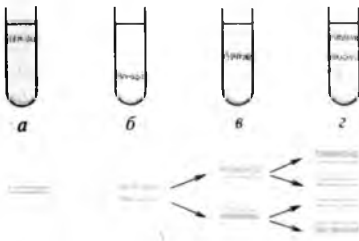
Механизм репликации

После установления химической природы наследственного материала проблема самовоспроизведения (репликации) хромосом, а точнее генотипа превратилась в проблему репликации ДНК. Первостепенное значение для решения этой проблемы имела разработка модели строения ДНК Ф. Криком и Дж. Уотсоном в 1953 г. Структура двойной спирали позволяла представить простой механизм репликации ДНК: двойная спираль сначала раскручивается, цепи расходятся, а затем каждая одноцепочечная половина молекулы ДНК достраивается до целой, двухцепочечной молекулы:



Последовательность нуклеотидов вновь синтезирующихся цепей определяется правилом комплементарности оснований и последовательностью нуклеотидов имеющейся цепи. Иначе говоря, имеющиеся нуклеотидные цепи служат матрицей для синтеза новых цепей; в результате получаются две двухцепочечные молекулы ДНК, полностью идентичные исходной молекуле.

Такой способ репликации получил название полуконсервативного (в принципе возможен и другой механизм — консервативный, при котором вновь синтезируемая нуклеотидная цепь образуется прямо на двойной спирали ДНК, без ее раскручивания). Полуконсервативный механизм репликации ДНК нашел подтверждение в экспериментах с клетками кишечной палочки. Культуру *E. coli* на протяжении нескольких поколений выращивали на среде, содержащей в качестве единственного источника азота $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$. После этого все вещества клеток *E. coli*, в которые входит азот, содержали не обычный изотоп азота ^{14}N , а тяжелый ^{15}N . ДНК с ^{15}N имеет большую плотность, чем ДНК с ^{14}N , и это можно обнаружить методом центрифугирования (рис. 42). Если культуру, содержащую ^{15}N -ДНК, пересеять на среду с немеченым азотом ($^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$), то ДНК кле-



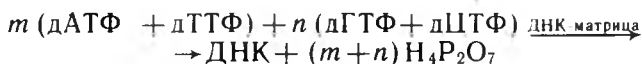
Эксперимент, доказывающий полуконсервативный механизм репликации ДНК. Заштрихованные зоны в пробирках указывают положение ДНК после центрифугирования:

а и б — ДНК из клеток *E. coli*, выращенных на среде с $^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$ (а) и $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ (б); в и г — ДНК из клеток первого (в) и второго (г) поколений после пересева со среды с $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ на среду с $^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$.

Внизу — схема, объясняющая результаты центрифугирования. Каждая пара горизонтальных линий изображает двухцепочечную ДНК: тонкая линия — легкая нуклеотидная цепь, толстая — тяжелая цепь (содержащая ^{15}N)

ток первого поколения имеет плотность, промежуточную между плотностями ^{15}N -ДНК и ^{14}N -ДНК; в клетках второго поколения обнаруживается два типа ДНК — с промежуточной плотностью и легкая (^{14}N -ДНК). Эти результаты легко объясняются, если исходить из полуконсервативного механизма репликации ДНК (см. рис. 42). Позднее было установлено, что в клетках эукариот репликация ДНК происходит также полуконсервативным способом.

Реакцию синтеза ДНК удается осуществить и изучать *in vitro*, используя ферменты, выделенные из организма. Ее можно представить такой схемой:

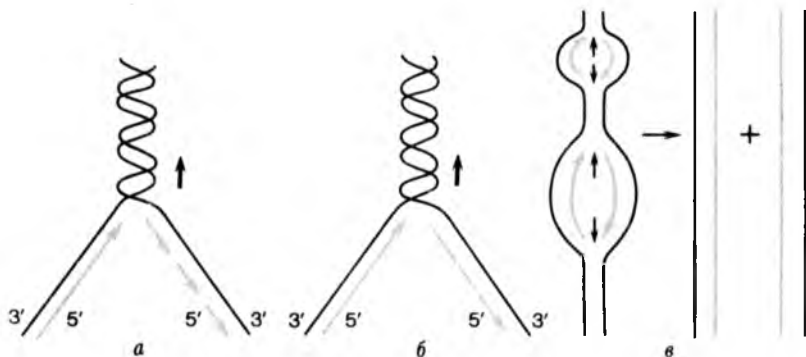


Отметим важнейшие особенности реакции.

1. Субстратами служат трифосфаты дезоксирибонуклеозидов. В ходе реакции от каждого из них отщепляется пиродифосфатный остаток; таким образом, включение каждого мономера в молекулу ДНК требует расхода энергии высокоэнергетических связей.

2. Реакция идет только в присутствии уже готовой ДНК, выполняющей роль матрицы. Все вновь синтезируемые молекулы ДНК имеют первичную структуру, идентичную первичной структуре ДНК-матрицы.

3. Поскольку в молекуле ДНК нуклеотидные остатки образуют пары А...Т и Г...С, в реакции расходуются одинаковые количества дАТФ и дТТФ (стехиометрический коэффициент m) и одинаковые количества дГТФ и дЦТФ (стехиометрический коэффициент n).



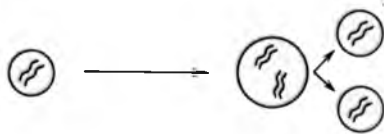
Синтез ДНК:

a — на одной ветви репликативной вилки синтезируется непрерывная нуклеотидная цепь, на другой — фрагменты Оказаки; *b* — фрагменты Оказаки соединены между собой в результате действия ДНК-лигазы, по мере роста новых цепей репликативная вилка перемещается по ДНК; *в* — репликация начинается сразу во многих местах длинной молекулы ДНК, в каждом месте расхождения цепей образуются две репликативные вилки, движущиеся в противоположных направлениях. В молекуле ДНК, изображенной на рис. 32, можно видеть четыре места, где ДНК удвоилась

Репликация происходит при участии сложного набора белков, образующих репликативный комплекс. В него, в частности, входят белки, раскручивающие спираль ДНК, в результате чего образуется репликативная вилка (рис. 43). Затем при участии ДНК-полимеразы (репликазы) образуются новые полинуклеотидные цепи. Синтез новых цепей всегда идет в направлении от 5'-конца к 3'-концу. Поэтому на одной из ветвей репликативной вилки новая цепь нарастает непрерывно по мере раскручивания ДНК-матрицы (левая ветвь на рис. 43, а). На другой же ветви (правая на рис. 43, а) по мере раскручивания ДНК образуются короткие фрагменты новой цепи — *фрагменты Оказаки*. Затем концы этих фрагментов соединяются между собой в результате действия ДНК-лигазы. Здесь названы основные этапы репликации; в действительности в этом процессе имеется больше число стадий, в которых участвуют специальные белки. Всего в репликативном комплексе содержится около десятка разных белков.

Репликация и фазы клеточного цикла

В митотическом клеточном цикле выделяют фазы, которые можно различить и морфологически, и по особенностям биохимических процессов (рис. 44). Синтез ДНК происходит во время фазы S. Во время фазы G₁ соматические клетки человека диплоидны, т. е. содержат две копии гено типа. В результате репликации ДНК за время фазы S каждая из этих копий удваивается, и клетка становится тетраплоидной. Во время митоза (M) происходит конденсация хроматина и образование хромосом (тетраплоидного набора), а при последующем делении образуются диплоидные дочерние клетки.



Синтез ДНК и фазы клеточного цикла

лоидные дочерние клетки.

Следовательно, в клетке существует механизм, который регулирует периодичность репликации ДНК, совпадающую с периодичностью митотического цикла. Этот механизм пока не выяснен. Исследование этого вопроса составляет одну из важных задач современной биохимии, поскольку здесь может открыться путь для управления скоростью размножения клеток при заживлении ран или регенерации тканей.

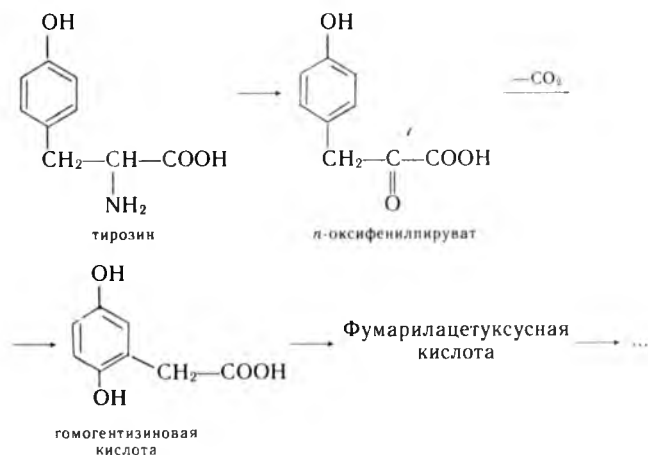
Если молекулу ДНК можно рассматривать как форму записи информации, то репликация ДНК в материнской клетке и последующее распределение копий поровну между дочерними клетками — это передача информации от поколения к поколению.

ПУТЬ ИНФОРМАЦИИ ОТ ГЕНОТИПА К ФЕНОТИПУ

Как мы видели, репликация служит для передачи информации новым поколениям. С другой стороны, информация, записанная в ДНК (в генотипе), обеспечивает образование фенотипических признаков организма, трансформируется в *фенотип*. Это направление потока информации имеет гораздо более сложную природу и включает два других типа матричных биосинтезов — *транскрипцию* и *трансляцию*.

Классическая генетика пользуется такими фенотипическими признаками, как окраска цветка, форма крыльев у дрозофилы, длина шерсти у овец и т.п. Такие признаки не позволяют анализировать механизм трансформации генотипа в фенотип в терминах молекулярных процессов. Но вот в 1902 г. английский врач Гаррод опубликовал исследования по алкаптонурии у человека. Для этой болезни характерно выделение с мочой значительных количеств гомогентизиновой кислоты, которая, окисляясь кислородом воздуха, образует черный пигмент. Болезнь врожденная, и ее обычно обнаруживают по появлению черных пятен на пеленках.

Гаррод установил, что алкаптонурия наследуется как рецессивный единичный, не сцепленный с другими признак. Отсюда следовал вывод, что гены контролируют простые биохимические реакции. Значительно позднее (в 1958 г.) выяснилась причина накопления гомогентизиновой кислоты: это вещество оказалось промежуточным продуктом распада тирозина:



Гомогентизиновая кислота у здоровых людей превращается в фумарилацетоуксусную кислоту при действии оксидазы гомогентизиновой кислоты. У больных алкаптонурией этот фермент отсутствует или его активность очень низка, поэтому превращения тирозина останавливаются на этой стадии. Теперь можно было заключить, что гены контролируют синтез ферментов, и связь между геном и фенотипическим признаком представить следующим образом:

Ген → Фермент → Продукт реакции

Некоторые продукты реакции проявляются как непосредственно видимые фенотипические признаки классического типа, например пигмент цветка. Однако первым продуктом гена может быть не обязательно фермент, а любой белок, свойства которого определяют тот или иной фенотипический признак. Например, от зрительного пурпура (родопсина) сетчатки глаза зависит способность воспринимать свет, от синтеза фибриллярных белков кератинов зависит образование шерсти или рогового покрова, и т. д.

В 40—50-е годы это представление о связи между генотипом и фенотипом было экспериментально подтверждено на многих ферментах и других белках разных организмов; результаты нашли отражение в афористической формуле *один ген — один белок*.

Но каким образом гены контролируют синтез белков? Можно представить два механизма: а) ген просто включает и выключает синтез белка; б) ген содержит инструкцию о строении белка.

В решении этого вопроса помогло исследование другой наследственной болезни человека — серповидноклеточной анемии. Л. Полинг (США) в 1949 г. обнаружил, что гемоглобин таких больных отличается от гемоглобина здоровых людей по электрофоретической подвижности. Как стало ясно позднее, это различие обусловлено заменой 6Glu → Val в β-цепи гемоглобина. Отсюда следовал вывод, что ген определяет первичную структуру белков. При этом информация, записанная с помощью определенного чередования нуклеотидных остатков, переводится в информацию, записанную чередованием аминокислотных остатков. Это можно сравнить с переводом записи, сделанной азбукой Морзе, на буквенную запись.

ДНК в клетках эукариотов сосредоточена главным образом в ядре, а синтез белков обнаруживается и в частях клетки, не содержащих ДНК. Роль промежуточного переносчика информации от ДНК к местам синтеза белка выполняют рибонуклеиновые кислоты. Направление потока информации в клетке от генотипа к фенотипу представляют так: ДНК → РНК → белки. Иначе говоря, **ДНК служит матрицей для синтеза РНК, а РНК — матрицей для синтеза белков**. Это положение называют *основным постулатом молекулярной биологии*.

Синтез РНК можно представить схемой:



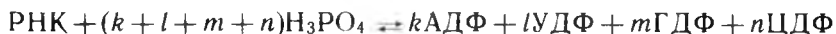
Субстратами реакции служат трифосфаты рибонуклеозидов, следовательно, синтез РНК связан с расходом энергии.

Реакция идет только в присутствии ДНК, выполняющей роль матрицы (матрицей служит одна из цепей ДНК). Все синтезированные молекулы РНК имеют структуру, комплементарную матрице (т. е. одной из цепей ДНК). Поскольку РНК представляет собой одноцепочечную молекулу (спирализованные участки составляют лишь часть молекулы), стехиометрические коэффициенты для всех четырех субстратов различны.

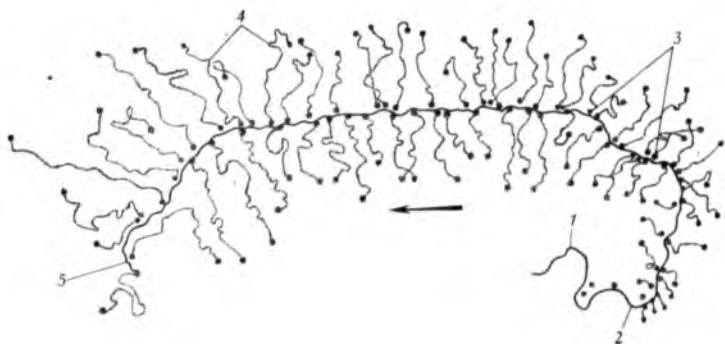
Транскрипция катализируется ферментом *РНК-полимеразой*. Фермент присоединяется к матрице не в любом ее месте, а в специальных участках, которые называются промоторными участками: в этих местах молекулы ДНК есть последовательности нуклеотидов, узнаваемые РНК-полимеразой. Связывание РНК-полимеразы с промотором приводит к локальному расхождению нуклеотидных цепей в этом участке; одна из цепей служит матрицей. Нарастание молекулы РНК происходит в результате перемещения РНК-полимеразы вдоль ДНК путем присоединения очередного рибонуклеотида, комплементарного тому дезоксирибонуклеотиду ДНК, который в данный момент находится в области активного центра РНК-полимеразы. В участке ДНК, где заканчивается ген, имеется последовательность нуклеотидов (терминирующий кодон), достигнув которого РНК-полимераза и синтезированная РНК отделяются от ДНК. Таким образом получаются отдельные молекулы РНК, каждая из которых содержит информацию одного гена.

Синтез РНК происходит в направлении от 5'-конца к 3'-концу. По мере освобождения промотора к нему могут присоединяться новые молекулы РНК-полимеразы, так что ген может транскрибироваться одновременно большим количеством молекул фермента (рис. 45).

Помимо РНК-полимеразы в клетках есть другой фермент, с помощью которого *in vitro* может синтезироваться РНК, — это *полинуклеотидфосфорилаза*. В живой клетке фермент катализирует фосфоролиз 3',5'-фосфодиэфирных связей в молекуле РНК, причем продуктами реакции являются нуклеозиддифосфаты:



Реакция обратима, поэтому при проведении *in vitro* в условиях избытка нуклеозиддифосфатов идет в направлении синтеза РНК. При этом не требуется никакой матрицы. В результате



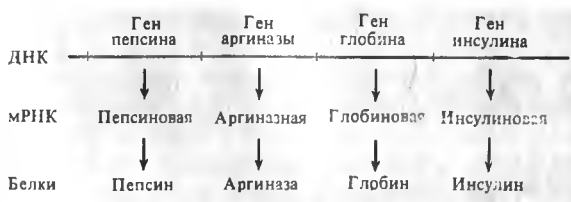
Синтез РНК:

1 -- ДНК; 2 — область инициации; 3 — полимеразы; 4 — растущие цепи РНК; 5 — область терминции. Стрелка указывает направление перемещения РНК-полимераз

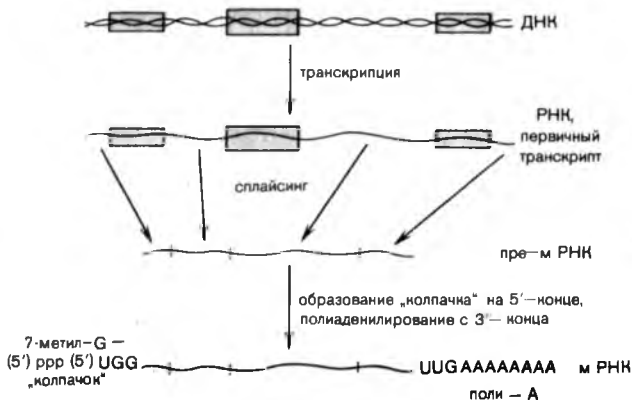
последовательность присоединения очередных нуклеотидных остатков к растущей цепи РНК определяется случайностью, и среди синтезированных молекул РНК вряд ли можно найти хотя бы две, идентичные по структуре, в то время как при матричном синтезе все молекулы РНК, синтезируемые на одной и той же матрице, комплементарны этой матрице и идентичны друг другу. В этом состоит принципиальное отличие матричных синтезов от безматричных.

Все типы РНК (рРНК, тРНК, мРНК) синтезируются сходным образом. Поэтому для любой молекулы РНК, имеющейся в организме, можно найти участок ДНК, которому она комплементарна (методом гибридизации ДНК — РНК).

Все типы РНК участвуют в биосинтезе белков, но их функции в этом процессе различны. Роль матрицы, определяющей первичную структуру белков, выполняют матричные РНК (мРНК). Основной постулат молекулярной биологии теперь можно представить так, как это изображено ниже:



Отметим, что в ДНК эукариот, в том числе человека, имеется большое число нетранскрибируемых участков: на их долю приходится половина, а может быть и $3/4$ всей ДНК. Чаще всего они представлены многократно повторяющимися одинаковыми последовательностями нуклеотидных остатков. Биологические функции нетранскрибируемой ДНК неизвестны.



46

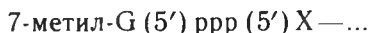
Созревание мРНК:

в рамках — интроны ДНК и РНК (первичного транскрипта). Интроны РНК удаляются при сплайсинге

Созревание РНК. В результате транскрипции образуются предшественники тРНК, рРНК и мРНК. Затем в ядре происходит постреприпционная доработка (созревание, процессинг) этих предшественников, и получают функционально активные рибонуклеиновые кислоты. Предшественники обычно имеют избыточные участки по концам нуклеотидной цепи, которые при созревании отщепляются специфическими РНКазами.

Созревание мРНК имеет ряд особенностей. В геноме эукариот есть участки ДНК — *интроны*, не несущие структурной информации и вклинивающиеся в разных местах в гены, кодирующие белки. Ген, таким образом, оказывается разбитым на ряд кусков. При транскрипции получается РНК (первичный транскрипт), включающая участки, комплементарные как структурным частям, так и интронам (рис. 46). Длина такой РНК в несколько раз больше, чем длина мРНК. В ходе созревания фрагменты, соответствующие интронам, удаляются, а структурные части соединяются (*сплайсинг*). Биологическое значение интронов неизвестно.

Кроме того, при созревании мРНК на ней образуется «колпачок»: он содержит 7-метилгуаниловую кислоту, присоединенную «не тем концом», т. е. не 3'-, а 5'-концом к 5'-концу следующего нуклеотида через три остатка фосфорной кислоты (р):



На 3'-конце у большей части молекул мРНК образуются полиадениловые последовательности длиной 100—200 нуклеотидных остатков (полиА-мРНК). Возможно, что колпачки и полиА-последовательности защищают мРНК от гидролиза клеточными РНКазами.

БИОСИНТЕЗ БЕЛКОВ (ТРАНСЛЯЦИЯ)

Важное значение для выяснения механизмов биосинтеза белка имело использование бесклеточных систем (начиная с 50-х годов). Если инкубировать гомогенаты тканей со смесью аминокислот, из которых хотя бы одна меченая, то по включению метки в белки можно регистрировать биосинтез белков. В результате исследования таким методом разных фракций гомогената было установлено, что для биосинтеза белков необходимы следующие компоненты:

аминокислоты	факторы инициации, элонгации, терминации
транспортные РНК	
аминоацил-тРНК-синтетазы	АТФ
матричная РНК	ГТФ
рибосомы	ионы Mg^{2+}

Первичная структура синтезируемого белка определяется первичной структурой мРНК, добавленной в систему. Если бесклеточная система составлена с глобиновой мРНК (ее можно выделить из ретикулоцитов), синтезируется глобин (α - и β -цепи глобина); если с альбуминовой мРНК, выделяемой из гепатоцитов, синтезируется альбумин крови, и т. д.

Биологический код

Биосинтез белков (трансляция) отличается от других типов матричных биосинтезов — репликации и транскрипции — двумя принципиальными особенностями:

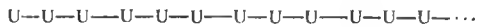
1) нет соответствия между числом знаков (мономеров) в матрице и в продукте реакции (в мРНК 4 разных нуклеотида, в белке 20 разных аминокислот);

2) структура рибонуклеотидов (мономеров матрицы) и аминокислот (мономеров продукта) такова, что избирательные взаимодействия между ними, подобные образованию пар А...Т или G...C, невозможны, иначе говоря, между мРНК (матрицей) и пептидной цепью белка (продуктом) нет комплементарности.

Из этого следует, что механизм использования матрицы при биосинтезе белков должен быть иным, чем в случае синтеза ДНК или РНК. Если репликацию и транскрипцию можно сравнить просто с переписыванием текста, то трансляция — это дешифровка, декодирование информации об аминокислотной последовательности, записанной (закодированной) с помощью нуклеотидной последовательности. Способ шифровки в нуклеиновых кислотах информации о первичной структуре белков получил название *биологического кода* (его называют также генетическим, нуклеотидным, аминокислотным кодом).

Один из первых вопросов, который возникает при выяснении структуры биологического кода, — это вопрос о *кодovém числе*, т. е. о числе нуклеотидных остатков, кодирующих включение в белок одной аминокислоты. Очевидно, что кодоевое число не может быть равным 1, так как в этом случае с помощью четырех нуклеотидов можно было бы закодировать только четыре аминокислоты. При кодоевом числе 2 количество разных нуклеотидных пар будет равно числу перестановки из четырех элементов по 2, т. е. равно $4^2 = 16$, что тоже недостаточно для кодирования всех аминокислот. Число разных троек нуклеотидов равно $4^3 = 64$. Это в три с лишним раза превышает минимальное число, необходимое для кодирования 20 аминокислот. Экспериментально доказано, что в биологическом коде кодоевое число равно трем: тройку нуклеотидных остатков (триплет), кодирующих включение одной аминокислоты, называют кодоном.

Для выяснения *смысла кодонов*, т. е. вопроса, какой аминокислоте соответствует каждый из кодонов, были использованы бесклеточные системы синтеза белков. В такой системе матрицей могут служить синтетические рибонуклеиновые кислоты с известной нуклеотидной последовательностью, например поли(U). В этой РНК имеются триплеты только одного типа — UUU:



В бесклеточной системе с поли(U) в качестве матрицы синтезируется полифенилаланин. Из этого следует, что триплет UUU служит кодоном фенилаланина. Если в качестве матрицы используется поли(C), то синтезируется полипролин; следовательно, триплет CCC кодирует аминокислоту пролин. Для выяснения смысла других кодонов применялись смешанные синтетические полимеры рибонуклеотидов с известными триплетами. Такие опыты одновременно послужили доказательством того, что кодоевое число равно трем.

Из 64 триплетов 61 используется для кодирования аминокислот, а три — UAA, UAG и UGA — обозначают конец матрицы: на этих триплетах обрывается дальнейшее наращивание пептидной цепи — *терминирующие триплеты* (см. табл. 16). Отметим, что каждый триплет кодирует только какую-нибудь одну аминокислоту. Это свойство кода называют *специфичностью* или *однозначностью*. С другой стороны, одна аминокислота может кодироваться двумя или большим числом (до шести) разных триплетов, т. е. код вырожденный. Путь информации от ДНК к белку представляется следующим образом:

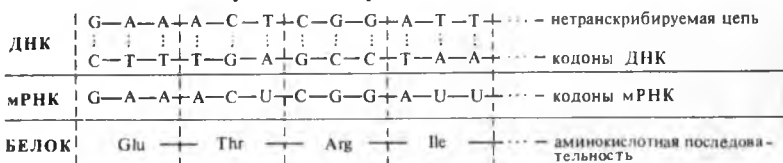


Таблица 16. Биологический код

Первый нуклеотид	Второй нуклеотид				Третий нуклеотид
	U	C	A	G	
U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U C A G
	UUC } Leu		UAC } Терм.	UGC } Терм.	
	UUA } Leu		UAA } Терм.	UGA } Терм.	
	UUG } Leu		UAG } Терм.	UGG } Try	
C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U C A G
	CUC } Leu		CAC } Gln	CGC } Arg	
	CUA } Leu		CAA } Gln	CGA } Arg	
	CUG } Leu		CAG } Gln	CGG } Arg	
A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	U C A G
	AUC } Ile		AAC } Lys	AGC } Ser	
	AUA } Met		AAA } Lys	AGA } Arg	
	AUG } Met		AAG } Lys	AGG } Arg	
G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	U C A G
	GUC } Val		GAC } Glu		
	GUA } Val		GAA } Glu		
	GUG } Val		GAG } Glu		

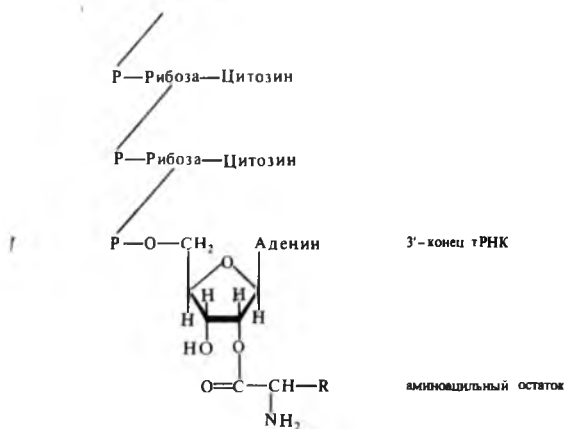
К настоящему времени биологический код изучен у большого количества разных организмов — от вирусов и бактерий до высших животных. Во всех случаях он оказался одинаковым. Эта универсальность кода лишней раз свидетельствует о единстве происхождения всех форм жизни на Земле.

Адапторная функция тРНК

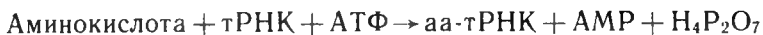
Между аминокислотами и нуклеотидами (или триплетами нуклеотидов) невозможны специфические, комплементарные взаимодействия по типу образования нуклеотидных пар А · · · Т (или А · · · U) и G · · · C. Поэтому было сделано предположение о существовании молекул-адапторов, каждая из которых может взаимодействовать с определенным кодоном — с одной стороны, и с определенной аминокислотой — с другой стороны. В 1957 г. такие молекулы обнаружены — ими оказались транспортные РНК (тРНК). Очевидно, что для адаптирования 20 разных аминокислот к соответствующим им кодонам нужно не меньше 20 разных тРНК: для каждой аминокислоты своя. Эти тРНК обозначают следующим образом: тРНК^{Ala}, тРНК^{His}, тРНК^{Val} и т. д. (аланиновая тРНК, гистидиновая тРНК и т. д.). Однако поскольку код вырожденный, число разных тРНК больше

30 (не меньше числа кодонов, имеющих смысл, т. е. не меньше 61).

Взаимодействие тРНК с аминокислотами — ферментативный процесс, приводящий к образованию ковалентной связи между аминокислотой и тРНК. Такие соединения называют аминоацил-тРНК (аа-тРНК). Аминокислота присоединяется к 3'-концу нуклеотидной цепи тРНК (где имеется последовательность А—С—С—, общая для всех тРНК); при этом образуется сложноэфирная связь за счет карбоксильной группы аминокислоты и гидроксильной группы концевого остатка адениловой кислоты в тРНК:



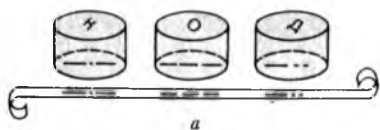
Эта связь имеет высокоэнергетический характер, так что образование аа-тРНК можно рассматривать как активацию аминокислоты. Реакции аминокислот с тРНК нуждаются в энергии (используется АТФ) и катализируются аминоацил-тРНК-синтетазами:



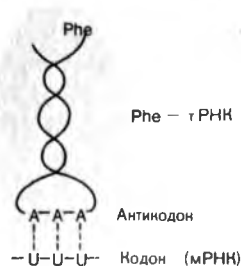
Существует не менее двадцати разных аминоацил-тРНК-синтетаз, различающихся субстратной специфичностью: каждый из этих ферментов катализирует реакцию только одной из 20 аминокислот с тРНК, соответствующей этой аминокислоте. Например, аланил-тРНК-синтетаза катализирует реакцию аланина с аланиновой тРНК:



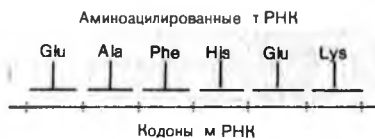
Таким образом, аминоацил-тРНК-синтетазы должны иметь в активном центре участок, комплементарный одной из аминокислот, и участок, комплементарный какой-то части молекулы одной из тРНК. Именно вследствие такой субстратной специфичности каждая аминацил-тРНК-синтетаза «узнает» и «выбирает» из смеси двадцати аминокислот и нескольких десятков тРНК определенную пару — аминокислоту и соответствующую ей тРНК, и соединяет эту пару.



a



б



в

47

Роль мРНК и тРНК в процессе трансляции:

а — чтение телеграфной ленты с помощью двойного шрифта; б — взаимодействие кодон — антикодон; в — перевод последовательности кодонов мРНК в аминокислотную последовательность

Взаимодействие аа-тРНК с кодоном мРНК обеспечивается тем, что в одной из петель молекулы тРНК имеется триплет нуклеотидов, комплементарный какому-нибудь кодону. Такой триплет называют *антикодомом*. Образование аа-тРНК можно сравнить с изготовлением двойного шрифта, например для перевода знаков азбуки Морзе в знаки буквенного алфавита (рис. 47).

Роль матричной РНК

Располагая двойным шрифтом, легко прочитать текст, записанный азбукой Морзе. Достаточно расставить шрифт на телеграфной ленте соответственно знакам азбуки Морзе. Роль мРНК в трансляции аналогична роли телеграфной ленты в этом примере: аа-тРНК присоединяются антикодонами к соответствующим кодомам мРНК, в результате чего аминокислотные остатки оказываются расположенными в той последовательности, в какой расположены кодоны в мРНК (рис. 47). Теперь остается

лишь соединить аминокислотные остатки пептидной связью, чтобы получилась пептидная цепь (белок) с определенной первичной структурой. Таким образом, последовательность кодонов мРНК *коллинеарна* последовательности аминокислотных остатков в соответствующем белке. Эта схема отражает лишь принципиальный механизм перевода нуклеотидной последовательности (точнее, последовательности кодонов) в аминокислотную последовательность.

Функционирование рибосом

Реальный процесс синтеза белков совершается при участии рибосом и ряда других факторов. Рибосомы содержат ферменты и другие белки, обеспечивающие взаимодействие между мРНК и аа-тРНК, образование пептидной связи и отделение готового белка. Весь процесс образования пептидной цепи можно разделить на три стадии: инициация, элонгация и терминация.

Инициация. Синтез белка начинается с образования *иници-*

ирующего комплекса. Поступившая из ядра в цитоплазму мРНК соединяется с малой (40S) субъединицей рибосомы и иницирующей аа-тРНК, роль которой при синтезе любого белка выполняет Met-тРНК^{Met}. Затем к этому комплексу присоединяется большая (60S) субъединица рибосом. Met-тРНК^{Met} взаимодействует своим антикодоном с кодонами AUG или GUG на мРНК: эти кодоны называют *иницирующими* — с одного из них начинается синтез любого белка (однако если эти кодоны находятся не в начале мРНК, то они кодируют включение в белок метионина или валина соответственно). Кроме того, Met-тРНК^{Met} взаимодействует и с белками рибосомной частицы в разных ее участках; для простоты будем обозначать все эти участки как пептидильный центр (рис. 48). В образовании иницирующего комплекса участвуют внерибосомные белки — *факторы инициации* (около восьми разных белков); после образования комплекса они вновь переходят в цитозоль.

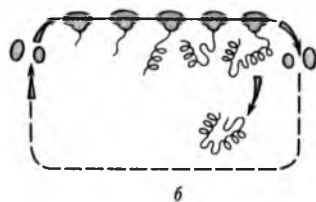
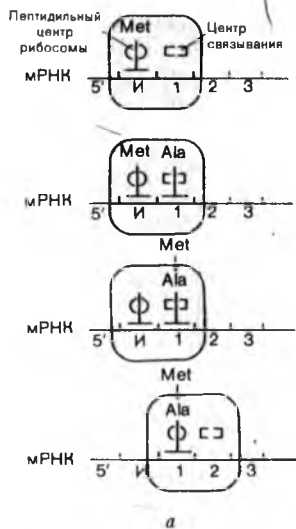
Элонгация. Этот сложный процесс удобнее рассматривать, выделив в нем отдельные фазы.

а) Связывание аа-тРНК¹. К иницирующему комплексу присоединяется аа-тРНК¹, соответствующая первому кодону мРНК (следующему за иницирующим кодоном). Эта тРНК взаимодействует и с мРНК (своим антикодоном), и с определенными участками рибосомы — обозначим их как центр связывания.

Связывание аа-тРНК сопряжено с расходом энергии — используется одна молекула ГТФ. В этой реакции участвует внерибосомный белок — *фактор элонгации* EF1.

б) Образование пептидной связи. Остаток метионина с Met-тРНК^{Met} переносится на аминокислотную группу остатка аминокислоты в аа-тРНК¹. При этом получается дипептидил-тРНК¹, связанная с кодоном 1 и с центром связывания.

в) Транслокация — перемещение рибосомы относительно мРНК и дипептидил-тРНК¹. В результате этого перемещения дипептидил-тРНК¹ оказывается в области пептидильного центра рибосомы, но по-прежнему связана с 1-м кодоном мРНК. При этом тРНК^{Met} освобождается из комплекса. При транслокации расходуется энергия, источником которой служит ГТФ (две моле-



48
Функционирование рибосомы (а) и полирибосомы (б)

кулы). Здесь также участвует вне ribосомный белок — фактор элонгации EF2.

Дальнейшее удлинение пептидной цепи происходит путем повторения этих фаз, но уже присоединяется aa-тРНК², соответствующая второму кодону мРНК. Затем пептидный остаток с тРНК¹ переносится на аминокислоту, соединенную с тРНК², т. е. образуется вторая пептидная связь (получается трипептид), и т. д. Скорость элонгации значительная: синтез пептида из 100 аминокислот занимает примерно 2 мин.

Остаток метионина, участвующий в инициации и занимающий в растущей пептидной цепи N-концевое положение, отщепляется при участии специфической пептидгидролазы еще во время элонгации (однако в некоторых белках сохраняется).

Терминация. Удлинение пептидной цепи продолжается до тех пор, пока на пути рибосомы не встретится один из терминирующих триплетов РНК — UAA, UAG или UGA. В области этих триплетов при участии вне ribосомных белков — *факторов терминации* — происходит гидролитическое расщепление связи между пептидом и последней тРНК, и освобождается готовый белок.

На включение в белок каждой аминокислоты расходуется энергия четырех высокоэнергетических связей: используется одна молекула АТФ (на стадии синтеза aa-тРНК) и три молекулы ГТФ (на стадиях связывания aa-тРНК и транслокации).

При образовании иницирующего комплекса рибосома присоединяется к 5'-концу мРНК и в ходе трансляции перемещается в направлении 3'-конца. По мере освобождения 5'-конца к мРНК присоединяются новые рибосомы, на которых тоже начинается рост пептидной цепи. Каждая рибосома занимает участок РНК длиной примерно в 30 кодонов. На молекуле мРНК может поместиться несколько рибосом, такие структуры называют *полирибосомами* (см. рис. 48). Чем длиннее пептидная цепь кодируемого белка, тем длиннее молекула РНК и тем больше число рибосом в полирибосоме.

Некоторые мРНК содержат информацию о нескольких белках — *полицистронные мРНК*. Каждый из белков закодирован в отдельном участке мРНК — *цистроне*, имеющем свои иницирующие и терминирующие кодоны.

Вторичная и третичная структуры белков формируются в процессе трансляции по мере удлинения пептидной цепи. Как мы помним, конформация пептидной цепи определяется ее первичной структурой. С другой стороны, в результате формирования вторичной и третичной структур образуются активные центры белков. Следовательно, можно сказать, что в генах закодирована информация о строении активных центров белков.

Транскрипция и трансляция происходят во все фазы клеточного цикла, резко замедляясь лишь во время митоза.

ПОСТТРАНСЛЯЦИОННАЯ ДОСТРОЙКА БЕЛКОВ

В результате трансляции не всегда сразу образуется функционально активный белок. Во многих случаях необходимы дополнительные посттрансляционные изменения. Например, инсулин образуется из предшественника (проинсулина) в результате отщепления части пептидной цепи под действием специфических протеаз (рис. 49). Сходным образом, т. е. путем частичного протеолиза, активируются многие ферменты.

Присоединение простетической группы с образованием сложных белков и объединение протомеров олигомерных белков также относятся к посттрансляционным изменениям. В некоторых белках после завершения синтеза пептидной цепи происходит модификация аминокислотных остатков, например превращение пролина и лизина в гидроксипролин и гидроксилизин в коллагенах, метилирование аргинина и лизина в гистонах, иодирование тирозина в тироглобулине.

ИНГИБИТОРЫ МАТРИЧНЫХ БИОСИНТЕЗОВ

Прекращение матричных биосинтезов ведет к гибели клетки. На этом основано применение ингибиторов матричных биосинтезов для лечения инфекционных болезней и злокачественных опухолей. К таким ингибиторам, в частности, относятся многие антибиотики — вещества, выделяемые из микроорганизмов, главным образом из микроскопических грибов. Некоторые примеры указаны в табл. 17.

Антибиотики, взаимодействующие с ДНК, нарушают ее матричную функцию и подавляют репликацию или транскрипцию, или оба эти процесса. Их применяют для лечения опухолей. Противоопухолевые антибиотики практически одинаково взаимодействуют с ДНК, выделенной из любых клеток, как нормальных, так и опухолевых, т. е. они не отличаются избирательностью. Избирательность в их действии на клетки определяется не ДНК, а другими факторами, например различной проницаемостью клеточных мембран или особенностями метаболизма. Но эта избирательность не абсолютна, при лечении могут повреждаться и здоровые клетки, что требует осторожности при клиническом использовании противоопухолевых антибиотиков.

Антибиотики, взаимодействующие с белками рибосом, ингибируют трансляцию. Они применяются



49

Превращение проинсулина в инсулин:

пунктиром выделены связи, гидролизуемые протеазой; отщепляемый пептид содержит 33 аминокислотных остатка

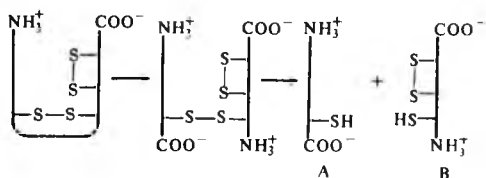
Т а б л и ц а 17. Антибиотики, ингибирующие матричные биосинтезы

Антибиотик	Механизм действия
<i>Противоопухолевые препараты</i>	
Актиномицин D (дактиномицин)	Внедряется (интеркалирует) между основаниями ДНК, образуя с ней нековалентные соединения. Ингибирует синтез РНК и, в меньшей мере, синтез ДНК
Рубомицин С (дауномицин)	Действует аналогично актиномицину
Митомицин С	Образует ковалентные сшивки между цепями ДНК. Ингибирует синтез ДНК
<i>Противобактериальные препараты</i>	
Тетрациклин	Блокирует центр связывания aa-тРНК на малой субъединице рибосом. Ингибирует элонгацию
Левомецетин (хлорамфеникол)	Соединяется с большой субъединицей рибосом. Ингибирует пептидилтрансферазную активность
Эритромицин	Соединяется с большой субъединицей рибосом. Ингибирует транслокацию
Стрептомицин	Соединяется с малой субъединицей рибосом, нарушая ее функции
Фузидиевая кислота	Соединяется с большой субъединицей рибосом. Ингибирует трансляцию, препятствуя отделению ГДФ от рибосом

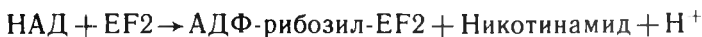
главным образом как противобактериальные средства, отличаются достаточно высокой избирательностью и часто сравнительно мало токсичны для человека. Это объясняется тем, что у бактерий рибосомы в целом, а также отдельные ферменты и другие белки, входящие в состав рибосом, несколько отличаются по строению от рибосом и соответствующих белков эукариот.

ИНГИБИРОВАНИЕ СИНТЕЗА БЕЛКОВ ДИФТЕРИЙНЫМ ТОКСИНОМ

Некоторые механизмы развития бактериальных инфекций связаны с ингибированием матричных биосинтезов. Примером может служить патогенез дифтерии. Возбудитель этой болезни *Corynebacterium diphtheriae* размножается в поверхностном слое слизистой зева и смежных областей. Клетки бациллы выделяют токсин белковой природы. Этот белок построен из одной полипептидной цепи с молекулярной массой около 60 000. Под действием протеолитических ферментов клеток хозяина белок распадается на два фрагмента:



Фрагмент А представляет собой фермент АДФ-рибозилтрансферазу, переносящий АДФ-рибозильный остаток с НАД на фактор элонгации EF 2:



Модифицированный таким образом фактор элонгации утрачивает свою способность участвовать в транслокации рибосомы, и трансляция прекращается. Этим и объясняется токсическое действие белка. Фрагмент В не имеет ферментативной активности и не токсичен, но он необходим для проведения фрагмента А через клеточную мембрану внутрь клетки.

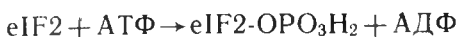
С действием токсина связаны все основные симптомы дифтерии. Бациллы размножаются в слизистой зева, выделяют токсин, вследствие чего ближайшие клетки погибают в несколько часов. Это улучшает условия размножения бацилл, а также вызывает воспалительную реакцию. Из лейкоцитов, экссудата и погибших клеток образуется пленка. Если она образуется в гортани или опускается туда из зева — возникает асфиксия, наиболее опасное проявление дифтерии. Кроме того, дифтерийный токсин вызывает поражение сердца, что является частым осложнением заболевания.

Развитие многих вирусных инфекций также связано с ингибированием матричных синтезов: вскоре после проникновения вирионов в клетки выключается синтез РНК и белков клетки-хозяина, аппарат переключается на синтез вирусных нуклеиновых кислот и белков. Именно это происходит при заражении вирусами оспы, полиомиелита, гриппа и др. Механизм ингибирования пока неизвестен.

ИНТЕРФЕРОНЫ

Интерферонами называют группу белков, регулирующих некоторые функции клетки, в частности реакцию клетки на вирусную инфекцию. В организме человека имеется около десятка родственных, но все же несколько различающихся по структуре и свойствам интерферонов.

Синтез интерферонов индуцируется некоторыми компонентами вирусных частиц, в том числе двуспиральной РНК, имеющейся во многих вирусах. Интерферон в свою очередь индуцирует синтез фермента протеинкиназы, которая катализирует фосфорилирование одного из факторов инициации — фактора eIF2:



В результате этой реакции фактор инициации утрачивает активность и синтез всех белков в клетке прекращается. Кроме того, в результате сложной последовательности реакций интерфероны активируют латентную РНКазу, которая расщепляет матричные и рибосомные РНК. Конечно, это ведет к гибели клетки, но вместе с ней погибают и вирионы; таким образом самопожертвование небольшой части клеток может спасти организм в целом от болезни.

Введение интерферона защищает от некоторых вирусных болезней и, кроме того, подавляет рост злокачественных опухолей. Применение интерферона в качестве лекарственного средства ограничивается тем, что методы его выделения сложны и не могут обеспечить получения достаточных количеств препарата.

Несмотря на успешное применение интерферонов при лечении некоторых болезней, механизм их лечебного действия и функции в здоровом организме изучены еще недостаточно.

РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА БЕЛКОВ

Кругооборот белков

Белки, как и другие компоненты клетки, находятся в динамическом состоянии, т. е. непрерывно обновляются. Это можно обнаружить в простом эксперименте. Если животному давать корм, содержащий меченые аминокислоты (^{14}C -аминокислоты), то они включаются во вновь синтезируемые белки и с течением времени все белки становятся мечеными. Если теперь животное перевести на обычный корм, то количество меченых белков в тканях начинает убывать. Таким способом можно определить *время полужизни белка*: оно равно времени, в течение которого количество метки в белке снизилось наполовину. *Среднее время полужизни белков* — это время, за которое белки всего организма обновляются наполовину. Можно измерить время полужизни и отдельных белков. Например, время полужизни растворимых белков печени колеблется в пределах от 12 мин до 25 дней. В табл. 18 приведена скорость обновления некоторых быстрообменивающихся белков печени. Печень — орган с интенсивным обменом веществ. В костях и сухожилиях полуобновление белков занимает месяцы, а то и годы. Особенно медленно обновляются

Таблица 18. Скорость обновления некоторых быстрообменивающихся белков печени крыс

Белок	Время полужизни, ч	Белок	Время полужизни, ч
Орнитиндекарбоксилаза	0,2	Серин-треонин-дегидратаза	4,0
РНК-полимераза I	1,3	Фосфоенолпируват-карбоккиназа	5,0
Тирозинаминотрансфераза	1,5	Глюкокиназа	12
Тимидинкиназа	2,6	Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа	15

фибрилярные белки — коллаген, эластин. У человека белки всего тела обновляются наполовину за 12 недель, белки печени — за 2 недели, белки мышц — за 27 недель. Если скорость синтеза и скорость распада белка одинаковы, то его концентрация сохраняется постоянной (стационарное состояние).

Концентрация многих белков в клетке непостоянна и изменяется в зависимости от условий, например в зависимости от количества и состава пищи, в процессе онтогенеза, при введении некоторых лекарственных веществ. Это происходит в результате регуляции скоростей синтеза и распада белков. На рис. 50 указаны процессы, от которых зависит концентрация белков в клетке и которые могут быть точками приложения регуляторных механизмов.

Регуляция на уровне транскрипции

Регуляция концентрации белков в клетках животных изучена недостаточно. Значительно лучше известны механизмы регуляции у бактерий, особенно регуляция синтеза белков на уровне транскрипции. Эти примеры важны и для изучения биохимии животных, поскольку дают представление об общих молекулярных основах регуляции действия генов.

Скорость биосинтеза белков под действием регуляторных механизмов может изменяться в двух направлениях — увеличиваться (*индукция синтеза*) или уменьшаться (*репрессия синтеза*).

Рассмотрим пример индукции синтеза белков. Кишечная палочка в качестве пищевого вещества может использовать



Основные процессы, от скорости которых зависит концентрация белка в живой клетке:

1 — транскрипция; 2 — созревание и транспорт мРНК из ядра в цитоплазму; 3 — трансляция; 4 — посттрансляционные модификации; 5 — распад мРНК; 6 — распад белка

дисахарид лактозу. Превращения лактозы в клетках *E. coli* начинаются с гидролиза при участии β -галактозидазы (лактазы):



При выращивании *E. coli* на среде без лактозы β -галактозидаза в клетках обнаруживается в очень малых количествах. Если же в среду добавить лактозу, количество фермента увеличивается в сотни раз за несколько минут, т. е. происходит индукция синтеза фермента. Изучение молекулярных механизмов этого явления привело к созданию *теории оперона* (Ф. Жакоб, Ж. Моно, А. Львов, Франция). Опероном называют отрезок ДНК, содержащий *структурные гены* определенных белков и регуляторные участки. На рис. 51 приведена схема лактозного оперона.

С участком оперона, называемым *промотор*, связывается РНК-полимераза. При ее движении по оперону происходит транскрипция структурных генов β -галактозидазы, пермеазы, необходимой для транспорта лактозы в клетку, и галактозидтранс-ацетилазы (функция этого фермента неизвестна). При этом получается одна молекула мРНК, содержащая матрицы (цистроны) для всех трех белков (полицистронная мРНК). Последующая трансляция этой мРНК ведет к образованию указанных белков.

В результате транскрипции *гена-регулятора* образуется мРНК, служащая матрицей для синтеза белка-регулятора. Этот белок может присоединяться к *оператору* и тем самым блокировать транскрипцию структурных генов. Белок-регулятор может также соединяться с лактозой; при этом утрачивается его сродство к оператору.

Если в среде есть лактоза, то белок-регулятор связан с ней, оператор свободен и возможна транскрипция — синтезируются белки, необходимые для усвоения лактозы. Если лактозы в среде нет, то белок-регулятор соединяется с оператором, транскрипции нет и белки, ненужные в этих условиях, не синтезируются. Биологическая целесообразность такой регуляции очевидна: достигается экономия веществ и энергии.



Лактозный оперон

Обязательным условием этого механизма регуляции является нестабильность мРНК: после исчерпания лактозы в среде мРНК должна быть быстро разрушена, чтобы прекратился синтез ставших ненужными белков. Это происходит путем гидролиза мРНК под действием РНКаз. Время полужизни мРНК в клетках бактерий измеряется немногими минутами.

Примером регуляции путем репрессии и синтеза может служить гистидиновый оперон бактерий *Salmonella typhimurium*. Этот оперон содержит 10 структурных генов, кодирующих 10 ферментов, необходимых для синтеза гистидина. Ферменты образуются только в том случае, когда в среде нет готового гистидина и клетки вынуждены сами синтезировать его из других веществ; добавление гистидина в среду прекращает синтез ферментов. Несмотря на противоположный результат индукции и репрессии синтеза белков, их молекулярные механизмы очень сходны. В действии гистидинового оперона легко разобраться, если на рис. 51 вместо «в присутствии лактозы» поставить «в отсутствие гистидина», вместо «в отсутствие лактозы» — «в присутствии гистидина» и вместо трех структурных генов лактозного оперона — 10 структурных генов, кодирующих ферменты для синтеза гистидина.

Регуляция биосинтеза белков на уровне транскрипции имеет место и в организме человека. Например, стероидные гормоны и тироксин взаимодействуют с хроматином, стимулируя синтез некоторых мРНК и соответствующих белков (гл. XIII). Уже упоминалась индукция синтеза интерферона в клетках животных при заражении вирусами, и индукция интерфероном синтеза протеинкиназы, фосфорилирующей фактор инициации.

Матричные РНК клеток животных — более долгоживущие молекулы, чем бактериальные: время их жизни измеряется часами, днями, в некоторых случаях даже неделями. Поэтому большее значение приобретают механизмы регуляции на уровне трансляции, при постоянной концентрации мРНК. Регуляция синтеза глобина на уровне трансляции описана в гл. XX.

Регуляция действия генов и клеточная дифференцировка

В клетках животных можно выделить два типа регуляции действия генов:

1) кратковременная, адаптивная индукция и репрессия, возникающие при изменении концентрации определенного вещества — гормона, метаболита (этот тип регуляции вполне подобен индукции и репрессии у бактерий);

2) длительная, часто сохраняющаяся на протяжении всей жизни клетки или даже многих поколений клетки (такая индукция и репрессия возникают в ходе клеточной дифференцировки).

В теле человека насчитывают до 200 типов клеток. Фенотипические различия этих клеток определяются различиями их белкового состава. С другой стороны, эксперименты по гибридизации

ДНК и по выращиванию из одной соматической клетки целого многоклеточного организма (многие растения, лягушка) указывают, что в разных дифференцированных клетках сложного организма имеется, как правило, одинаковый набор генов. Следовательно, различия клеток при дифференцировке возникают в результате стабильной репрессии одних генов и дерепрессии других генов. Молекулярные механизмы регуляции такого типа пока неизвестны. Изучение биохимии клеточной дифференцировки составляет одно из основных направлений современной биохимии; оно имеет важное значение для медицины, поскольку может открыть средства управления процессами регенерации поврежденных или даже утраченных органов.

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ, ФУНКЦИЙ И РЕГУЛЯЦИИ БИОСИНТЕЗА АНТИТЕЛ

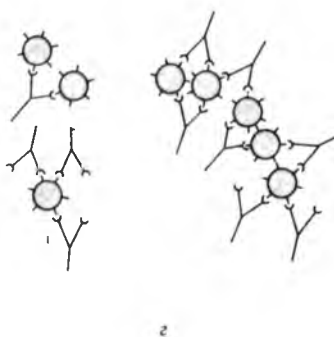
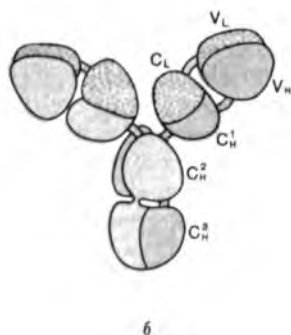
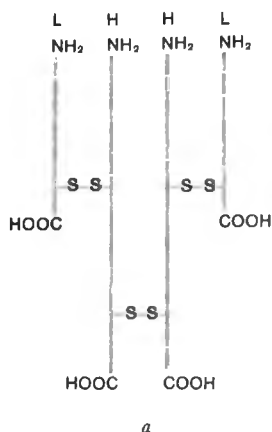
Антитела, или *иммуноглобулины* (Ig), — это группа белков с характерными особенностями строения, функций и регуляции биосинтеза. С ними связана невосприимчивость к инфекционным болезням (*иммунитет*). Антитела синтезируются в лимфоцитах В (главным образом в лимфатических узлах и селезенке) и выделяются в кровь, образуя фракцию иммуноглобулинов плазмы.

Строение антител

Структурную основу иммуноглобулинов составляют четыре пептидные цепи, соединенные друг с другом дисульфидными связями: две тяжелые (цепи H) с молекулярной массой 50 000 (от 450 до 700 аминокислотных остатков), и две легкие (цепи L) с молекулярной массой 25 000 (около 200 аминокислотных остатков) (рис. 52). Такую структуру обычно называют мономером. В пептидных цепях различают переменные (V) и постоянные, или константные (C), области. По различиям первичной структуры постоянных областей легкие цепи делятся на два типа (κ и λ), тяжелые — на пять типов (табл. 19). По типу тяжелых цепей, входящих в момеры, все иммуноглобулины делятся на пять классов. Каждый класс включает огромное множество индивидуальных иммуноглобулинов, различающихся по первичной структуре переменных областей; общее число индивидуальных иммуноглобулинов всех классов равно примерно 10^7 . Молекулы антител классов IgG, IgD и IgE мономерны; они имеют Y-образную форму. Антитела IgA построены из 2—4 четырехцепочечных структур (мономеров), а IgM — из пяти.

Реакция антиген — антитело

Синтез антител начинается в ответ на попадание во внутреннюю среду организма чужеродных макромолекул, например белков бактериальной клетки. Вещества, индуцирующие синтез ан-



Строение иммуноглобулинов:

а — пептидные цепи иммуноглобулинов (пунктиром выделены вариабельные области); б — модель молекулы иммуноглобулина; пептидные цепи имеют доменную структуру: легкие цепи по два домена, тяжелые — по четыре (в IgM по пять); в — схема пентамерной молекулы IgM; мономеры соединены друг с другом дисульфидными связями; з — комплексы антиген — антитело

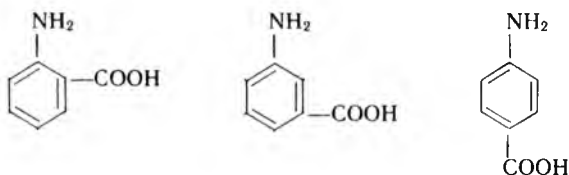
тител, называются *антигенами*. Роль антигенов могут выполнять не только свободные макромолекулы, но и молекулы, встроенные в поверхность каких-либо крупных частиц, например молекулы поверхности бактериальной клетки. Собственные макромолекулы

Таблица 19. Классы иммуноглобулинов человека

Класс	Цепь H	Содержание цепей в молекуле	Молекулярная масса	Концентрация в сыворотке крови, г/дл
IgG	γ	$\kappa_2\gamma_2$ или $\lambda_2\gamma_2$	150 000	0,6—1,7
IgA	α	$(\kappa_2\alpha_2)_n$ или $(\lambda_2\alpha_2)_n$ ($n=2, 3$ или 4)	360 000— —720 000	0,14—0,42
IgM	μ	$(\kappa_2\mu_2)_5$ или $(\lambda_2\mu_2)_5$	950 000	0,05—0,19
IgD	δ	$\kappa_2\delta_2$ или $\lambda_2\delta_2$	160 000	0,003—0,04
IgE	ϵ	$\kappa_2\epsilon_2$ или $\lambda_2\epsilon_2$	190 000	0,00001—0,00014

организма в норме не индуцируют синтез антител (не являются антигенами).

Антитела способны связывать антиген, вызвавший их образование, и тем самым защищать организм от возможного вредного действия чужеродных макромолекул, бактерий или других частиц. Реакция связывания антигена антителом отличается высокой специфичностью. Так, антитела, индуцированные белками возбудителя дифтерии (*C. diphteriae*), связывают эти белки, но не реагируют с белками дизентерийной палочки или других бактерий. Еще более наглядно специфичность антител обнаруживается в опытах с синтетическими антигенами. Низкомолекулярные вещества сами по себе не индуцируют синтез антител, но после их присоединения к молекуле белка стимулируется образование антител как к белку, так и к присоединенному низкомолекулярному веществу — гаптену. Даже если в роли гаптена выступают очень сходные вещества, например изомеры аминобензойной кислоты, к каждому из них синтезируются специфические антитела, не реагирующие с двумя другими гаптенами.



Избирательность взаимодействия обусловлена комплементарностью между структурой активного центра антитела и структурой некоторого участка антигена — *антигенной детерминанты*. Антигенной детерминантой может быть участок поверхности белка, образованный радикалами аминокислот, гаптен или простетическая группа белка (особенно часто полисахаридные группы гликопротеинов). Многие части поверхности одного и того же антигена могут быть антигенными детерминантами. Иначе говоря, к одному антигену может быть несколько разных антител.

Активные центры (центры связывания) антител расположены в переменных областях пептидных цепей. Антитела класса IgG двухвалентны, т. е. имеют два центра связывания антигена. Таким образом, каждая молекула антитела может присоединить две молекулы антигена. С другой стороны, к каждой молекуле антигена может присоединиться несколько молекул антител, поскольку на антигене есть несколько антигенных детерминант и к каждой из них образуются антитела. В результате возникают сложные молекулярные комплексы (см. рис. 52, з). Такие комплексы могут выпадать в осадок, на этом основана *реакция precipitation* для обнаружения антител или антигенов. Если антиген не свободен, а содержится в мембране клеток, то происходит склеивание (агглютинация) клеток антителами. *Реакция агглютинации* также используется для обнаружения антител и анти-

генов (в частности, при определении групп крови). В результате действия антител может разрушаться клеточная оболочка — происходит *лизис* клеток. В лизисе клеток, помимо антител, участвует сложная ферментная система, находящаяся в плазме крови, — *комплемент*.

В конечном счете комплексы антитело — антиген поглощаются фагоцитирующими клетками, и все компоненты комплекса разрушаются до мономеров. Так завершается обезвреживание чужеродных макромолекул и клеток.

Индукция синтеза антител

При первом контакте организма с новым антигеном (например, с патогенным микроорганизмом) антитела начинают синтезироваться через 2—3 дня и их концентрация в крови достигает максимума примерно через неделю, а затем снижается. Это *первичный иммунный ответ*. После первичного иммунного ответа в крови постоянно обнаруживается небольшое количество антител, которых не было прежде. В крови взрослого человека находят сотни антител — результат прошлых контактов с разными антигенами.

При повторном контакте с тем же антигеном (через месяцы, годы) синтез антител начинается раньше и их концентрация в крови бывает выше — это *вторичный иммунный ответ*. Следовательно, в организме сохраняется память об имевшем место контакте с антигеном — *иммунологическая память*. Благодаря скорости и интенсивности вторичного ответа повторное заражение тем же микроорганизмом не успевает развиться в болезнь — в этом и состоит сущность приобретенной невосприимчивости к инфекционной болезни. На этом же основана и искусственная иммунизация с целью профилактики инфекционных болезней. Для лечения уже развившейся болезни (при первом заражении) применяют готовые антитела к тому виду микроорганизма, который вызвал заболевание.

Клеточный иммунитет

Имуноглобулины и синтезирующие их В-лимфоциты составляют только часть иммунной системы организма, обеспечивающей гуморальный иммунитет. Другая часть представлена Т-лимфоцитами. Эти клетки в ответ на введение антигена тоже синтезируют белки — *рецепторы антигена*, но отличающиеся от иммуноглобулинов по структуре. Рецепторы антигена не выделяются в кровь, а остаются в клеточной мембране Т-лимфоцитов, с активным центром на наружной поверхности. Т-лимфоциты присоединяются к клеткам, в мембранах которых содержатся антигены к белкам-рецепторам, и разрушают эти клетки (клеточный иммунитет). Клеточный иммунитет лежит в основе

отторжения чужеродного трансплантата (тканевая несовместимость). Кроме того, Т-лимфоциты ответственны за защиту от небактериальных инфекций — вирусной, грибковой, паразитарной. Системы клеточного и гуморального иммунитета тесно связаны и функционируют как единая иммунная система организма. Молекулярные механизмы клеточного иммунитета изучены хуже, чем гуморального.

Значение иммунной системы

Иммунная система необходима для выживания организма. Это со всей очевидностью следует из наблюдений наследственной недостаточности иммунной системы. Различают три группы иммунодефицитных состояний. Наиболее тяжелые формы связаны с нарушением дифференцировки стволовых клеток, дающих начало как В, так и Т-лимфоцитам. Дети с таким дефектом сразу же после рождения подвержены разным инфекционным болезням — бактериальным, вирусным, грибковым, вследствие чего продолжительность их жизни не превышает нескольких месяцев.

Вторая группа иммунодефицитности — это результат нарушения дифференцировки Т-клеток. Хотя В-лимфоциты при этом имеются в нормальных количествах, их ответ на введение антигена ослаблен, что указывает на взаимосвязь двух видов иммунитета — гуморального и клеточного. По последствиям эта группа нарушений сходна с первой.

Третья группа иммунодефицитности связана с нарушением дифференцировки В-клеток. Организм этих больных справляется с вирусными инфекциями (клеточный иммунитет сохраняется), но подвержен бактериальным. При постоянном приеме антибиотиков и введении иммуноглобулинов больные доживают до 20—30 лет.

О механизмах индукции синтеза антител

Главными особенностями биохимии иммунной системы являются следующие: 1) большое разнообразие антител; 2) синтез антител индуцируется только в ответ на попадание в организм антигенов; 3) антигенами в норме служат только чужеродные, а не собственные макромолекулы (различение «сам — не сам»). Изучение молекулярных основ этих особенностей находится в начальной стадии.

Число разных активных центров (центров связывания), образуемых лимфоцитами в форме антител, по примерным оценкам составляет 10^7 ; это значительно больше (примерно на два порядка), чем число разных центров связывания, образуемых в форме всех других белков всеми другими клетками вместе

взятыми. Разнообразие антител соответствует разнообразию В-лимфоцитов. Как показали опыты по культивированию лимфоцитов *in vitro*, колония клеток, выращенных из одной клетки (моноклональная культура), синтезирует антитела одного типа, тогда как моноклональные колонии, выращенные из разных клеток лимфоцитов, синтезируют разные антитела. Следовательно, популяция лимфоцитов в организме гетерогенна. По-видимому, существует 10^7 клонов лимфоцитов, каждый из которых синтезирует антитела только одного типа.

В отсутствие антигена антител образуется настолько мало, что в крови их обнаружить не удастся. Как же антигены индуцируют синтез антител? Согласно распространенной точке зрения, это происходит следующим образом. В плазматической мембране лимфоцитов содержатся антитела (или их фрагменты), причем в клетках разных клонов антитела разные. Антиген, попавший в организм, присоединяется к лимфоцитам, содержащим антитела, центр связывания которых комплементарен данному антигену. Присоединенный антиген служит сигналом для начала двух процессов: пролиферации лимфоцитов этого клона и ускорения в них синтеза антител. В результате количество антител в крови быстро нарастает, развивается иммунный ответ.

Одним из наиболее важных является вопрос о том, имеются ли в гаметях все огромное множество генов антител, или они образуются в лимфоцитах в процессе онтогенеза, при дифференцировке клеток-предшественников лимфоцитов. Этот вопрос будет рассмотрен в следующей главе.

ОСОБЕННОСТИ РЕПЛИКАЦИИ ВИРУСНОГО ГЕНОМА

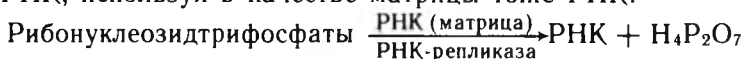
Отличие вирусов от других организмов заключается в двух особенностях: 1) вирусная частица (вирион) содержит только один вид нуклеиновых кислот — или ДНК, или РНК; 2) вирионы отличаются необычной для живых существ простотой организации — они не имеют собственного метаболизма, не содержат клеточных органелл, в том числе рибосом, и очень часто состоят только из нуклеиновой кислоты, заключенной в белковую оболочку. В связи с этим вирусы способны размножаться исключительно за счет использования метаболического аппарата другой клетки, т. е. они являются **внутриклеточными паразитами**.

Цикл размножения вируса начинается с его прикрепления к поверхности клетки. Вирион содержит специальные белки, узнающие определенные вещества мембраны клетки-хозяина; эти вещества называются *рецепторами* вируса. Например, бактериофаг Т4 прикрепляется только к клеткам *E. coli*, полиовирус — к определенным клеткам человека, а также обезьян, вирус гриппа — к клеткам слизистой оболочки дыхательных путей. После прикрепления вирион проникает через мембрану внутрь клетки;

иногда в клетку попадает только нуклеиновая кислота вириона. Затем с использованием аппарата клетки-хозяина начинается репликация вирусного генома и синтез вирусных белков; из них путем самосборки образуются новые вирионы, которые освобождаются из клетки, либо разрушая ее (лизис клеток), либо проходя через мембрану без разрушения клетки.

Многие вирусы в качестве генетического материала содержат ДНК, но есть группа вирусов, геном которых представлен рибонуклеиновой кислотой. Размеры генома вирусов невелики. Например, в ДНК бактериофага Т4 обнаружено 135 генов; из них 36 генов кодируют синтез разных белков, входящих в оболочку фага, а остальные — гены белков, обеспечивающих переключение аппарата клетки-хозяина на синтез компонентов вируса, а также гены белков, выполняющих вспомогательную роль при самосборке вирионов. Геном маленького бактериофага фХ174, также паразитирующего на *E. coli*, содержит всего 9 генов. Размеры нуклеиновых кислот некоторых вирусов указаны в табл. 20.

Механизм репликации генома ДНК-содержащих вирусов принципиально не отличается от репликации ДНК других организмов. РНК-содержащие вирусы по механизму репликации генома делятся на две группы. В одну группу входят полиовирус, вирусы гриппа, бешенства, везикулярного стоматита, реовирусы, вирусы свинки, кори и др. Репликация РНК этих вирусов происходит при участии РНК-репликазы (РНК-зависимой РНК-полимеразы); фермент катализирует синтез РНК, используя в качестве матрицы тоже РНК:



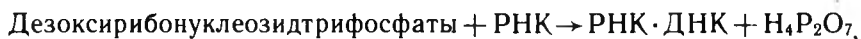
Такого фермента нет в клетках организма-хозяина: он содержится в самих вирусных частицах и вместе с ними попадает в инфицируемую клетку. В результате действия РНК-полимеразы увеличивается количество молекул вирусной РНК. Одновременно происходит трансляция этих РНК и образуются вирусные белки,

Т а б л и ц а 20. Размеры нуклеиновых кислот некоторых вирусов

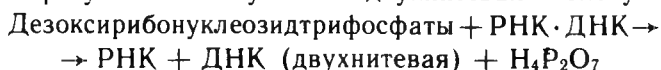
Вирус	Число нуклеотидов	Вирус	Число нуклеотидов
<i>РНК-содержащие вирусы</i>		<i>ДНК-содержащие вирусы</i>	
Полиовирус	6 000	Бактериофаг фХ174	5 400
Вирус бешенства	16 000	Вирус SV40	5 000
Вирус везикулярного стоматита	16 000	Вирус папилломы (бородавки)	8 000
Реовирус	23 000	Аденовирус	36 000
Вирус гриппа	6 100	Бактериофаг Т4	120 000
Риновирусы	7 600	Вирус герпеса	156 000
		Вирус оспы	240 000

в том числе РНК-репликаза. Цикл размножения завершается самосборкой вирионов.

Репликация генома другой группы РНК-содержащих вирусов происходит через промежуточное образование ДНК. Эти вирусы содержат *обратную транскриптазу* (РНК-зависимую ДНК-полимеразу). Обратная транскриптаза катализирует синтез ДНК, используя в качестве матрицы РНК; при этом сначала образуется гибридная молекула РНК—ДНК:



а затем на цепи ДНК синтезируется комплементарная ей вторая цепь. В результате получается двухнитевая молекула ДНК:



Вирусная ДНК затем интегрируется с геномом клетки-хозяина, т. е. целиком включается в ДНК клетки, образуя в ней группу вирусных генов в ряду собственных генов клетки. В составе генома происходит транскрипция вирусной ДНК и образуется большое количество вирусной РНК, которая используется для синтеза вирусных белков. Затем из этих белков и РНК происходит самосборка вирионов. Вирусы с таким механизмом размножения индуцируют развитие опухолей у животных (онкогенные вирусы).

Глава V

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ

В предыдущей главе матричные биосинтезы рассматривались как механизм копирования, точного воспроизведения генотипа и соответственно фенотипа. Копирование создает молекулярную основу одного из фундаментальных свойств жизни — наследственности. Противоположное свойство — изменчивость — столь же существенно, поскольку наряду с наследственностью обеспечивает возможность естественного отбора и биологической эволюции.

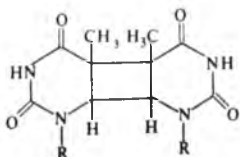
С изменчивостью связаны такие важные для медицины явления, как гетерогенность популяций человека, существование наследственных болезней и предрасположенность к болезням. Изучение изменчивости по-новому раскрывает роль иммунологической системы организма, объясняет происхождение и причины тканевой (трансплантационной) несовместимости.

Молекулярную основу изменчивости организмов составляют наследуемые изменения первичной структуры ДНК — мутации. Мутации возникают в результате ошибок синтеза ДНК в процессе репликации или при репарации повреждений ДНК, вызванных разного рода внешними факторами. Другой механизм

изменчивости составляют *рекомбинации* — обмен участками ДНК между гомологичными хромосомами при половом размножении.

ПОВРЕЖДЕНИЯ И РЕПАРАЦИЯ ДНК

Ряд экзогенных факторов — ультрафиолетовое, ионизирующие излучения, многие химические соединения — вызывают в ДНК разнообразные изменения. Например, для действия УФ-излучения характерно образование димеров тимидиловой кислоты:

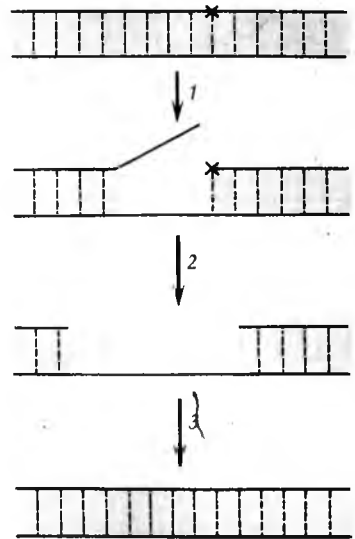


Ионизирующие излучения вызывают разрывы нуклеотидных цепей и разнообразные изменения азотистых оснований. Этим объясняется летальное действие ионизирующей радиации. Многочисленные повреждения возникают при действии разных химических соединений — образование ковалентных связей между цепями ДНК, дезаминирование оснований, отщепление оснований и др.

Такие изменения могут происходить в живой клетке спонтанно, т. е. в результате локальных флуктуаций тепловой энергии, а также под действием фонового излучения (в том числе космического) и некоторых веществ, попадающих в организм из среды. Наиболее часто при этом происходит гидролитическое отщепление пуриновых оснований (депуринизация ДНК). В результате депуринизации из ДНК диплоидных клеток человека за сутки теряется около $5 \cdot 10^4$ нуклеотидов. В пересчете на 70 лет жизни это означает утрату примерно 40% всех пуриновых оснований организма. С меньшей скоростью (на 2—3 порядка) происходят дезаминирование цитозина и депиримидинизация.

Очевидны фатальные последствия таких повреждений, если бы они не устранялись. В клетке существуют системы репарации ДНК — ферментные механизмы, которые обнаруживают и исправляют повреждения. В общих чертах репарация происходит следующим образом. Если повреждены азотистые основания (например, произошло их дезаминирование), то они обнаруживаются и удаляются ДНК-гликозидазами. Эти ферменты гидролитически расщепляют связь между поврежденным основанием и дезоксирибозным остатком, в результате чего на молекуле ДНК образуется апуриновый или апириимидиновый участок, т. е. пентозофосфатная цепь без азотистых оснований. Специфические эндонуклеазы узнают такие участки и гидролизуют в них

3',5'-фосфодиэфирные связи (рис. 53, 1). Если депуринизация или депиримидинизация вызваны самим повреждающим агентом, то репарация начинается сразу с действия эндонуклеаз. Затем экзонуклеазы удаляют некоторое число нуклеотидных остатков по обе стороны от места разрыва (рис. 53, 2) и наконец ДНК-полимераза достраивает поврежденную нуклеотидную цепь, используя в качестве матрицы сохранившуюся цепь (рис. 53, 3). Известно несколько систем репарации, устраняющих повреждения разного типа.



МУТАГЕНЕЗ

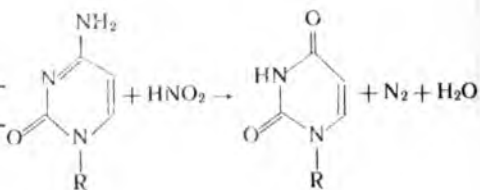
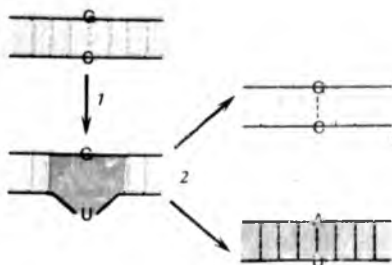
Мутациями в широком смысле называют весьма разнообразные изменения генома. Эти изменения могут затрагивать один-единственный нуклеотид ДНК (точечные мутации) или более протяженный фрагмент, целые гены, хромосомы (хромосомные аномалии) и даже весь геном (полиплоидия). Нередко мутациями называют только те изменения ДНК, которые проявляются фенотипически; иногда к мутациям относят любые наследуемые изменения ДНК. Мутацией обозначают как процесс возникновения изменений в геноме (мутагенез), так и результат этого процесса.

Репарация повреждений ДНК

В этом разделе мы рассмотрим только генные мутации — точечные или захватывающие сравнительно небольшие отрезки гена.

Генные мутации

Сущность генных мутаций составляют нерепарированные наследуемые изменения первичной структуры ДНК, которые ведут либо к прекращению синтеза белка, кодируемого поврежденным геном, либо к синтезу измененного, «неправильного» белка. Мутации в регуляторных участках оперона ведут к нарушению регуляции или прекращению синтеза белка. Механизмы мутагенеза сложны и недостаточно изучены. Сравнительно простой пример дает мутагенное превращение цитозина в урацил (окислительное дезаминирование), которое можно вызвать, действуя на клетки азотистой кислотой:



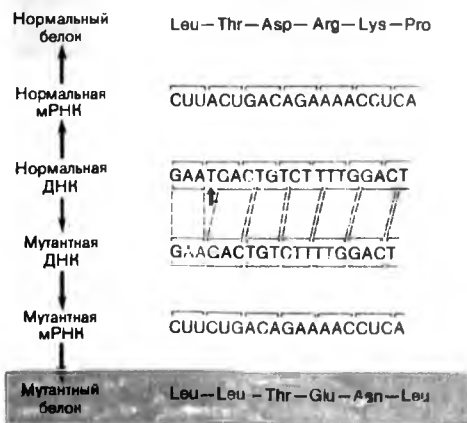
Мутация, вызванная дезаминированием цитозина:

1 — превращение цитозина в урацил; 2 — расхождение цепей материнской ДНК и синтез на них комплементарных цепей. Одна из дочерних клеток получает ДНК с парой А — U в отличие от другой дочерней клетки, которая, как и материнская, содержит в этом месте ДНК пару GС

Такое изменение может остаться «незамеченным» репарирующими системами, поскольку урацил тоже нормальное азотистое основание РНК. В результате возникает наследуемое изменение гена (рис. 54). Это пример так называемых точечных мутаций, когда в ДНК изменяется один мономер.

Замена нуклеотида может привести к изменению смысла кодона (*миссенс-мутация*) и, следовательно, к синтезу измененного белка. Так возникла, например, мутация, проявляющаяся как серповидноклеточная анемия: кодон, ответственный за включение глутаминовой кислоты в положение 6 β-цепи гемоглобина, превратился в кодон валина.

Если в результате замены образуется один из терминирующих кодонов — UAA, UAG или UGA (*нонсенс-мутация*), то синтез пептидной цепи обрывается на этом кодоне, получается незавершенный белок. Поскольку код вырожденный, то замена нуклеотида не всегда изменяет смысл кодона — может получиться другой кодон той же аминокислоты; такое изменение ДНК фенотипически не проявляется.



Мутация со сдвигом рамки (жирной стрелкой отмечен нуклеотид, утрачиваемый при мутации)

Мутация может быть связана с утратой мономера (*делеция*) или, наоборот, со вставкой дополнительных мономеров. В случае делеции одного мономера изменяется считывание всех последующих кодонов — это мутация со «сдвигом рамки» (рис. 55). В результате такой мутации синтезируется белок с «бессмысленной» последовательностью аминокислот, не приспособленный для выполнения какой-либо функции. При делении двух мономеров также происходит сдвиг рамки. Если же утрачены

три мономера (или число, кратное трем), то сдвига рамки нет, но синтезируется белок, укороченный на одну (или несколько) аминокислоту. Вставки дополнительных нуклеотидов (в количестве, не кратном трем) также приводят к сдвигу рамки.

Биологические последствия мутаций

Мутации могут быть нейтральными, полезными или вредными. К нейтральным относятся, в частности, такие мутации, когда замена аминокислотного остатка в белке не сказывается на его функции. Так может быть при замене одной аминокислоты на другую, сходную по свойствам — по размерам боковой группы, по заряду, по гидрофобности (эквивалентная замена). Если в результате мутации свойства белка изменяются таким образом, что особь получает преимущества для выживания, то мутация биологически полезна. Чаще всего, однако, мутации бывают вредными. Это обусловлено случайным характером мутаций: изменения ДНК случайны в том смысле, что с одинаковой (или почти одинаковой) вероятностью могут возникать в любом месте молекулы. Случаен также и характер изменения — замена, делеция или вставка любого из четырех нуклеотидов. Мало вероятно, чтобы случайное вмешательство в сложно организованную, отлаженную эволюцией систему оказалось полезным для нее, и наоборот — велика вероятность вредных последствий.

Мутации могут происходить как в соматических клетках, так и в половых. При половом размножении наследуются только мутации половых клеток.

Частота мутаций

Мутации в отличие от репарируемых повреждений ДНК — сравнительно редкие события. При расчете на единичный ген одна из каждых 100 000—1 000 000 гамет содержит вновь возникшую мутацию. Однако для генотипа в целом мутация — явление совсем не редкое: если принять число генов у человека равным 100 000, то получается, что значительная часть гамет имеет новую мутацию. Большая часть мутаций резко нарушает жизнеспособность клетки; до 70% гамет гибнет на самых ранних стадиях развития в результате мутаций.

Частоту мутаций, сохранившихся в процессе эволюции, можно оценить по различиям первичной структуры какого-либо белка у разных животных. Например, известна первичная структура цитохрома *c* примерно 70 разных видов организмов. Сравнивая число аминокислотных замен в цитохроме *c* некоторых видов по сравнению с цитохромом *c* человека (табл. 21), легко видеть, что различия тем больше, чем меньше филогенетическое родство. Зная время, потребовавшееся для эволюции, например от земноводных до млекопитающих, можно рассчитать частоту замен. Для цитохрома *c* она оказалась равной трем заменам за

Т а б л и ц а 21. Число аминокислотных замен в цитохромах с разных организмов по сравнению с цитохромом с человека

Вид	Количество замен	Вид	Количество замен
Шимпанзе	0	Лягушка	18
Обезьяна резус	1	Карп	18
Кролик	9	Шелковичная бабочка	31
Собака	11	Пшеница	43
Курица	13	Дрожжи (<i>Saccharomyces</i>)	45

100 млн. лет. Для других белков получены величины от 0,2 до 60 замен за 100 млн. лет. Конечно, эти величины отражают лишь незначительную часть всех мутаций, поскольку большинство из них являются вредными и элиминируются в ходе естественного отбора. Отметим, что при таком методе определяется частота мутаций одного гена, а не всего генотипа.

Сохраняющиеся в поколениях изменения одного и того же гена отражают филетическую эволюцию этого гена и соответствующего белка. В результате филетической эволюции общее число генов в геноме индивида не изменяется. Однако в генофонде популяции разнообразие генов при этом увеличивается.

УДВОЕНИЕ И ДИВЕРГЕНЦИЯ ГЕНОВ В ФИЛОГЕНЕЗЕ

Филогенез характеризуется усложнением генома, которое проявляется в увеличении количества и разнообразия генов и, соответственно, белков. Геном кишечной палочки содержит $3,8 \cdot 10^6$ нуклеотидных пар. Средний белок построен примерно из 300 аминокислотных остатков; следовательно, размер среднего гена — около 900 нуклеотидных пар. Таким образом, в клетке кишечной палочки ДНК хватило бы для кодирования примерно 4000 белков. Однако часть ДНК не входит в состав структурных генов, а выполняет регуляторные функции в оперонах, поэтому число разных белков в клетке кишечной палочки меньше 4000.

ДНК гаплоидного набора хромосом клетки человека содержит $2,3 \cdot 10^9$ нуклеотидных пар, т. е. на три порядка больше, чем *E. coli*. Такого количества ДНК хватило бы для кодирования 2,5 млн. белков. В клетках человека (и других эукариот) доля ДНК, занятая структурными генами, значительно меньше, чем у прокариот: по примерным оценкам, в организме человека синтезируется 50—200 тыс. разных белков (в 20—60 раз больше, чем у *E. coli*). В это число не входят иммуноглобулины, разнообразие которых обеспечивается механизмами, отличающимися от синтеза всех других белков (см. ниже).

Усложнение генома при филогенезе достигается в результате двух процессов: удвоения генов и их независимых мутаций.

В результате удвоения возникают две копии гена в одной молекуле ДНК (в одной хромосоме), т. е. в геноме образуется дополнительный локус. Многократное удвоение приводит к образованию большего количества копий. Многие гены человека в гаплоидном наборе представлены двумя или большим числом копий. В некоторых (редких) случаях число копий значительно; например, имеется до 1000 копий гистоновых генов, которые в молекуле ДНК расположены последовательно (тандемно).

При наличии двух копий гена мутации одной из них, ведущие к синтезу «неправильного» белка, не будут губительными для клетки, поскольку другая копия обеспечит синтез «правильного» белка. Следовательно, мутантный ген не будет элиминироваться естественным отбором, и через ряд поколений в результате накопления мутаций кодируемый им мутантный белок может оказаться полезным для организма. Это означает появление нового гена. Такие родственные гены сходны по последо-

10

Val - Leu - Ser - Pro - Ala - Asp - Lys - Thr - Asn - Val - Lys - Ala - Ala - Trp - Gly - Lys - Val -
 Gly - Ala - His - Ala - Gly - Glu - Tyr - Gly - Ala - Glu - Ala - Leu - Glu - Arg - Met - Phe - Leu -
 Ser - Phe - Pro - Thr - Thr - Lys - Thr - Tyr - Phe - Pro - His - Phe - Asp - Leu - Ser - His - Glu -
 Ser - Ala - Glu - Val - Lys - Gly - His - Gly - Lys - Lys - Val - Ala - Asp - Ala - Leu - Thr - Asn -
 Ala - Val - Ala - His - Val - Asp - Asp - Met - Pro - Asn - Ala - Leu - Ser - Ala - Leu - Ser - Asp -
 Leu - His - Ala - His - Lys - Leu - Arg - Val - Asp - Pro - Val - Asn - Phe - Lys - Leu - Leu - Ser -
 His - Cys - Leu - Leu - Val - Thr - Leu - Ala - Ala - His - Leu - Pro - Ala - Glu - Phe - Thr - Pro -
 Ala - Val - His - Ala - Ser - Leu - Asp - Lys - Phe - Leu - Ala - Ser - Val - Ser - Thr - Val - Leu -
 Thr - Ser - Lys - Tyr - Arg

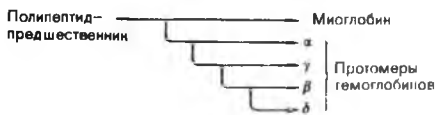
Цепь α

10

Val - His - Leu - Thr - Pro - Glu - Glu - Lys - Ser - Ala - Val - Thr - Ala - Leu - Trp - Gly - Lys -
 Val - Asp - Val - Asp - Glu - Val - Gly - Gly - Glu - Ala - Leu - Gly - Arg - Leu - Leu - Val - Val -
 Tyr - Pro - Trp - Thr - Glu - Arg - Phe - Phe - Glu - Ser - Phe - Gly - Asp - Leu - Ser - Thr - Pro -
 Asp - Ala - Val - Met - Gly - Asp - Pro - Lys - Val - Lys - Ala - His - Gly - Lys - Lys - Val - Leu -
 Gly - Ala - Phe - Ser - Asp - Gly - Leu - Ala - His - Leu - Asp - Asp - Leu - Lys - Gly - Thr - Phe -
 Ala - Thr - Leu - Ser - Glu - Leu - His - Cys - Asp - Lys - Leu - His - Val - Asp - Pro - Glu - Asn -
 Phe - Arg - Leu - Leu - Gly - Asp - Val - Leu - Val - Cys - Val - Leu - Ala - His - His - Phe - Gly -
 Lys - Glu - Phe - Thr - Pro - Pro - Val - Gln - Ala - Ala - Tyr - Gln - Lys - Val - Val - Ala - Gly -
 Val - Ala - Asp - Ala - Leu - Ala - His - Lys - Tyr - His

Цепь β

Первичная структура пептидных цепей гемоглобина А



Происхождение миоглобина и протомеров гемоглобина

вательности кодонов, а соответствующие белки — по последовательности аминокислот. Например, подобное семейство белков составляют миоглобин и протомеры гемоглобинов. В организме взрослого человека имеется три основные формы гемо-

глобинов: HbA (96%), HbF (2%) и HbA₂ (2%). Все они тетрамеры; формула HbA — 2 α 2 β ; в молекулах HbF и HbA₂ вместо β -протомеров содержатся γ - и δ -протомеры: HbF — 2 α 2 γ , HbA₂ — 2 α 2 δ . Первичная структура всех протомеров сходна во многих частях пептидной цепи (рис. 56). Учитывая число различий в первичной структуре протомеров, а также сравнивая первичные структуры гемоглобинов разных животных, можно считать, что миоглобин и протомеры гемоглобинов возникли из общего предшественника в результате удвоения генов и независимых мутаций (рис. 57).

Основная функция всех гемоглобинов одинакова, поэтому их можно рассматривать как изобелки. Следовательно, удвоение генов и последующие независимые мутации копий — это один из механизмов образования изобелков, в том числе изоферментов. Дальнейшее накопление мутаций в родственных генах ведет к еще большей дивергенции (расхождению) свойств соответствующих белков. Например, семейство родственных белков составляет группа протеолитических ферментов, включающая трипсин, химотрипсин, эластазу, тромбин, плазмин. Эти ферменты различаются по субстратной специфичности и роли, которую они выполняют в организме, и название «изоферменты» к ним уже вряд ли применимо. Продолжающееся накопление мутаций в конечном счете приводит к тому, что гены, возникшие в результате удвоения их общего предшественника, утрачивают признаки родства, а кодируемые ими белки имеют совершенно различные первичную структуру и функцию. Этот путь и ведет к увеличению количества и разнообразия генов при филогенезе. Удвоение генов и их дивергенция путем независимых мутаций составляют механизм дихотомической эволюции генов и соответствующих белков.

Организм должен реплицировать ДНК с высокой точностью, чтобы поддерживать свою генетическую идентичность. На это направлено действие механизмов, обеспечивающих точность репликации, и действие репарирующих систем, устраняющих повреждения. И все же он должен допускать некоторое количество ошибок при репликации ДНК или репарации повреждений, чтобы была возможна эволюция. Мутации — это первичная причина появления разнообразия фенотипов, необходимого для действия естественного отбора. Другая причина — вторичная — это рекомбинации мутантных генов при половом размножении.

У разных особей возникают варианты (мутации) разных генов или варианты одного и того же гена. Варианты генов, образующиеся у отдельных особей, могут постепенно распространяться в популяции в результате наследования, если они не летальны. Так формируется генотипическая неоднородность популяции, которая ведет и к фенотипической неоднородности. На молекулярном уровне наиболее изучен как следствие генотипической гетерогенности полиморфизм белков — существование разных форм белка, выполняющего одинаковые или очень сходные функции (изобелки). Чаще всего изучают полиморфизм ферментов (т. е. наличие изоферментов), поскольку их гораздо легче обнаружить, чем другие белки, по катализируемой ими реакции.

Как известно, место, занимаемое геном в хромосоме (или молекуле ДНК), называют *генным локусом*. Варианты одного гена в гомологичных хромосомах, занимающие в них гомологичные же локусы (т. е. одинаковое место в одномерном пространстве нитей ДНК), называют *аллелями*. В популяции может быть множество аллелей одного гена, в то время как у отдельного индивида — только два, поскольку клетки человека диплоидны (в гаплоидных половых клетках — только один аллель). Гомологичные хромосомы половых клеток в процессе мейоза (профаза I) могут обмениваться аллелями или их частями (рекомбинация). Если при рекомбинации обмениваются не целиком аллельные гены, а участки ДНК меньшей длины, то такой обмен может приводить к появлению новых, прежде не существовавших в популяции аллелей, а не просто новых сочетаний прежних аллелей. После слияния гамет в диплоидном наборе зиготы получаются различные сочетания аллелей, как уже существовавших в популяции, так и вновь возникших в процессе мейоза в паре гамет, образовавших данную зиготу. Диплоидная клетка гомозиготна по данному гену, если аллели (гомологичные локусы) одинаковы, и гетерозиготна, если они разные.

Рекомбинации — гораздо более частые события, чем мутации, поэтому разнообразие форм внутри вида обусловлено главным образом именно рекомбинациями.

Существование в популяции двух или большего числа аллелей одного гена и соответствующих белков называют аллеломорфизмом (частный случай полиморфизма). Аллеломорфизм возникает в процессе филетической эволюции генов. Распространенность (частота) разных аллелей в популяции неодинакова. Принято считать, что аллели с частотой больше 1% являются полиморфами; если частота меньше, то существование измененного локуса можно объяснить за счет одних только повторных мутаций.

При дихотомической эволюции происходит удво-

ение генов, т. е. образуются новые генные локусы: сначала это копии исходного гена, но последующие независимые, неодинаковые мутации копий приводят к появлению в организме изобелков. В этом случае варианты белка являются продуктами разных генных локусов, а не аллельных генов. На практике не всегда легко доказать, являются ли варианты белка продуктами одного локуса, т. е. аллеломорфами, или разных локусов.

Таким образом, изобелки — это множественные молекулярные формы белка, обнаруживаемые в пределах организмов одного биологического вида, как результат наличия более чем одного структурного гена в генофонде вида. Множественные гены могут быть представлены как множественные аллели или как множественные генные локусы.

Рассмотрим некоторые примеры полиморфизма белков.

Гемоглобин

Гемоглобины $A(2\alpha 2\beta)$, $F(2\alpha 2\gamma)$, $A_2(2\alpha 2\delta)$ есть в эритроцитах почти всех людей. Гены этих белков не аллельны — они занимают разные локусы. Эти гены возникли в результате дупликации гена-предшественника и мутационной дивергенции копий. Но в крови некоторых людей обнаруживаются (обычно редко) другие гемоглобины, являющиеся продуктами аллельных генов. В частности, известно много аллельных вариантов гемоглобина А. Один из вариантов — это HbS , который отличается от HbA лишь одной аминокислотой в шестом положении β -цепи ($\beta 6 \text{Glu} \rightarrow \text{Val}$).

По аллелям HbA и HbS все люди делятся на три группы с генотипами AA , AS и SS . У людей первой группы эритроциты содержат HbA , у второй — HbA и HbS , у третьей — HbS . Распространенность аллеля S (т. е. суммы людей с генотипами AS и SS) географически неравномерна: у некоторых народностей Азии и Африки — до 35%; у европейцев встречается редко.

Существует еще вариант гемоглобина: HbC ($\beta 6 \text{Glu} \rightarrow \text{Lys}$). По этой паре аллелей существуют генотипы AA , AC и CC . Теперь всех людей можно разделить на пять генотипически и фенотипически разных групп: AA , AS , SS , AC и CC . Известно около 300 разных вариантов HbA ; некоторые из них приведены в табл. 22. Следовательно, по всем аллелям гемоглобина А люди образуют около 600 генотипически различающихся групп (если не считать очень редко встречающиеся гетерозиготы по вариантам, например SC).

Ингибитор протеиназ α_1 -антитрипсин

Другой пример полиморфизма белков дает α_1 -антитрипсин — ингибитор некоторых протеолитических ферментов. Физиологическая роль этого белка состоит, вероятно, в регуляции активности протеолитических ферментов, выделяемых лейкоцитами в

Т а б л и ц а 22. Некоторые варианты гемоглобина А человека

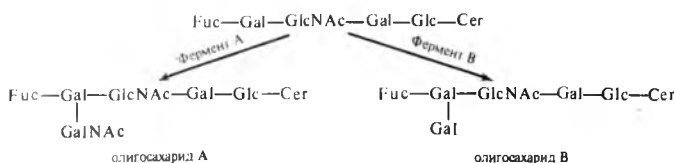
Название	Мутация	Аномальное свойство
<i>Замены аминокислот</i>		
HbI Torino	$\alpha 16 \text{Lys} \rightarrow \text{Glu}$ $\alpha 43 \text{Phe} \rightarrow \text{Val}$	Нет Нарушен контакт с гемом; нестабилен
Nasharon Buda Iwate	$\alpha 47 \text{Asp} \rightarrow \text{His}$ $\alpha 61 \text{Lys} \rightarrow \text{Asn}$ $\alpha 87 \text{His} \rightarrow \text{Tyr}$	Нестабилен Снижено сродство к O_2 Снижено сродство к O_2 ; легко окисляется в MetHb
Denmark Hill	$\alpha 95 \text{Pro} \rightarrow \text{Ala}$	Нарушен $\alpha_1\beta_2$ -контакт; сродство к O_2 повышено
HbC HbS	$\beta 6 \text{Glu} \rightarrow \text{Lys}$ $\beta 6 \text{Glu} \rightarrow \text{Val}$	Нет Снижены растворимость и сродство к O_2
Baltimore Genova Zurich	$\beta 16 \text{Gly} \rightarrow \text{Asn}$ $\beta 28 \text{Leu} \rightarrow \text{Pro}$ $\beta 63 \text{His} \rightarrow \text{Arg}$	Нет Повышено сродство к O_2 Повышено сродство к O_2 ; нестабилен
Köln Kansas	$\beta 98 \text{Val} \rightarrow \text{Met}$ $\beta 102 \text{Asn} \rightarrow \text{Thr}$	То же Нарушен $\alpha_1\beta_2$ -контакт; сродство к O_2 повышено
San Diego	$\beta 109 \text{Val} \rightarrow \text{Met}$	Нарушен $\alpha_1\beta_1$ -контакт; сродство к O_2 снижено
Hiroshima	$\beta 146 \text{His} \rightarrow \text{Asp}$	Сильно повышено сродство к O_2
<i>Делеции аминокислот</i>		
Leiden Tochigi	$\beta 6$ или $\beta 7 \rightarrow 0$ $\beta(56-59) \rightarrow 0$ (Leu-His-Cys-Asp-Lys)	Нестабилен Нестабилен
Green Hill	$\beta(91-95) \rightarrow 0$	Нестабилен; повышено сродство к O_2
<i>Вставки аминокислот</i>		
Так	Цепь удлинена на 10 остатков с С-конца	Повышено сродство к O_2

очаге воспаления. Найдены четыре аллельных варианта α_1 -анти-трипсина с распространенностью 94, 2,3, 2 и 1,3 % и еще около десятка редких вариантов. Варианты легко обнаруживаются по различиям в электрофоретической подвижности.

Группы крови

Хорошо изучены различия людей по групповой принадлежности крови. Наиболее известна система АВО, имеющая важное значение для практики переливания крови. На наружной поверхности плазматической мембраны созревающих эритроцитов имеется олигосахарид, начинающийся с такой последовательности моносахаридов: фукоза — галактоза — N-ацетилглюкозамин — R. Олигосахарид ковалентно связан с липидом, входящим в структуру мембраны. При созревании эритроцита олигосахарид удлиняется на один моносахаридный остаток.

Присоединение дополнительного моносахарида катализирует фермент гликозилтрансфераза. В популяциях человека встречаются три аллельных гена этого фермента (А, В и О) и соответственно три аллельных варианта фермента, которые обозначаются теми же буквами. Варианты фермента А и В различаются по субстратной специфичности: вариант А присоединяет к олигосахариду N-ацетилгалактозу, а вариант В—галактозу:



Аллельный ген О кодирует синтез белка, не имеющего ферментативной активности. Таким образом, разные аллели обуславливают разные цепочки событий в организме:

Аллель А → Фермент А → Олигосахарид А
 Аллель В → Фермент В → Олигосахарид В
 Аллель О → Неактивный белок; олигосахарид остается недостроенным

Разветвленные олигосахариды А и В являются антигенами (точнее, антигенными детерминантами): к каждому из них могут образоваться антитела (анти-А и анти-В). При смешивании раствора анти-А с кровью, эритроциты которой содержат антиген А, происходит агглютинация эритроцитов. То же произойдет при встрече анти-В с эритроцитами, содержащими антиген В.

По трем аллелям А, В и О возможно шесть диплоидных генотипов (табл. 23). По наличию того или иного антигена эти генотипы делятся на четыре группы. В крови людей имеются и антитела к антигенам эритроцитов, но они распространены в популяции так, что не встречаются вместе с соответствующим антигеном у одного и того же индивида. При переливании крови руководствуются тем же правилом: кровь донора и реципиента не должна содержать антиген и антитело, реагирующие между собой, иначе произойдет агглютинация эритроцитов и гемолиз.

Таблица 23. Группы крови

Генотипы		Антигены в эритроцитах	Антитела (агглютинины) в плазме крови	Группа крови	Частота, %
гомозиготы	гетерозиготы				
ОО		Нет	Анти-А, анти-В	О (I)	40
АА	АО	А	Анти-В	А (II)	44
ВВ	ВО	В	Анти-А	В (III)	12
	АВ	А, В	Нет	АВ (IV)	4

Кроме системы АВО известны группы крови по аллельным вариантам и других белков; общее число разных групп крови свыше 30.

Биохимическая индивидуальность

В настоящее время известны десятки белков, для которых найдены множественные формы. Для их обнаружения требуются массовые обследования, поэтому применяют несложные методы, позволяющие быстро провести анализ большого числа образцов. Наиболее часто используют электрофорез. Нет сомнения, что применение других методов откроет еще новые варианты, не обнаруживаемые методом электрофореза. Есть основания думать, что для значительной части из десятков тысяч структурных локусов генома человека имеются аллели. Это значит, что число разных генотипов может быть практически неисчерпаемым.

Полиморфизм белков, а следовательно, и других биохимических структур и процессов настолько велик, что можно говорить о биохимической индивидуальности. О каждом человеке можно сказать, что нет в мире такого же, не было никогда прежде и не будет после того, как он умрет. С биохимической индивидуальностью связаны и индивидуальные особенности развития и здоровья.

ПРОИСХОЖДЕНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ АНТИТЕЛ

В предыдущей главе мы уже отмечали, что число активных центров, образуемых в форме антител В-лимфоцитами, примерно на два порядка превышает число активных центров всех других белков вместе взятых, образуемых всеми другими клетками. Напомним, что активные центры антител сформированы переменными областями Н-цепей (V_H) и L-цепей (V_L). Константные области этих цепей (C_H и C_L) прямо не участвуют в связывании антигена. Разнообразие антител определяется преимущественно разнообразием переменных областей, в то время как константных областей имеется лишь несколько типов.

Согласно распространенной клонально-селекционной теории синтеза антител все В-лимфоциты, имеющиеся в организме, образуют большое число клонов. Каждый клон синтезирует антитела только одного вида, т. е. имеющие одинаковые переменные области в их полипептидных цепях. Число разных антител, которые могут синтезироваться в организме одного человека, равно 10^7 . Число В-лимфоцитов в теле человека составляет 10^{12} ; следовательно, они образуют 10^7 клонов по 10^5 клеток в каждом клоне (все приведенные величины являются приближенными). Антиген, попадая в организм, встречает 10^7 разных клонов лимфоцитов и выбирает из них лимфоциты только одного клона. Узнавание определяется тем, что в лимфоцитах имеются уже го-

товые антитела, причем в клетках каждого клона—антитела своего вида, отличающие этот клон от всех других клонов. Антитела располагаются на поверхности клетки и служат рецепторами антигена. Практически для любого из чужеродных веществ, которые могут попасть в организм, найдется среди 10^7 клонов лимфоцитов хотя бы один клон, антитела которого имеют центр связывания, комплементарный этому веществу.

Таким образом, существование антител к данному антигену не является результатом действия самого антигена: в организме уже заранее имеется готовый набор антител, способных связывать огромное количество разных чужеродных веществ, с которыми организм прежде никогда не встречался. Однако до встречи с антигеном концентрация антител к нему в организме ничтожна. Антиген, присоединяясь к лимфоцитам соответствующего клона, лишь вызывает пролиферацию этого клона и активирует синтез и секрецию антител клетками этого клона.

Теперь вопрос о происхождении многообразия антител можно представить как вопрос о происхождении многообразия В-лимфоцитов. На этот счет были предложены две основные гипотезы: гипотеза гаметных клонов и гипотеза соматических изменений генома лимфоцитов.

Согласно первой гипотезе для каждого из 10^7 разных антител существует свой ген, который передается с гаметами. Клоны возникают в результате клеточной дифференцировки так же, как и любые другие специализированные клетки: одни гены активируются, другие, наоборот, переходят в латентное состояние. При образовании клонов В-лимфоциты сохраняют геном клеток-предшественников, в том числе 10^7 V-генов разных антител, но только один из этих 10^7 V-генов функционирует в клетках данного клона, в то время как все другие стабильно репрессированы.

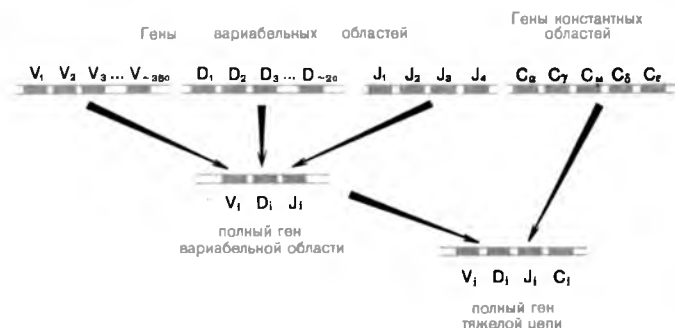
Гипотеза соматических изменений генома лимфоцитов исходит из того, что в ходе дифференцировки лимфоцитов действуют специальные механизмы рекомбинаций и мутирования, которые и служат причиной появления клонов, имеющих разные V-гены. Следовательно, в этом случае в отличие от первой гипотезы клоны В-лимфоцитов различаются не только фенотипически, но и генотипически; они отличаются по V-генам также и от других клеток организма, в том числе от гамет.

Разработка этих гипотез привела к их объединению. Выяснилось, что в эмбриональном периоде в предшественниках лимфоцитов гены, кодирующие различные области пептидных цепей антител, расположены не рядом друг с другом, а в разных частях молекулы ДНК. В процессе онтогенеза происходит дифференцировка лимфоцитов и образование клонов. Важнейшим моментом дифференцировки является особого рода рекомбинация генов: она заключается в том, что происходит перенос генов (или их частей) из одного места в другое в пределах одной молекулы ДНК. Такую рекомбинацию называют *транспозицией генов*.

Рассмотрим этот процесс на примере рекомбинации генов, кодирующих тяжелые цепи. В ДНК лимфоцитов содержатся гены константных областей пяти классов (см. табл. 19) и гены переменных областей трех типов: 300—400 разных генов V , около 20 разных генов D и четыре разных гена J . Эти группы генов расположены в разных участках ДНК (рис. 58). В результате транспозиции происходит объединение трех генов V , D и J в полный ген переменной области цепи H . При этом выбор каждого гена из группы соответствующих генов происходит случайно: любой ген V_i из сотен генов V может оказаться объединенным с любыми генами D_i и J_i из группы D и J . Далее также путем транспозиции полный ген переменной области может объединиться с любым из генов константной области, в результате получается полный ген соответствующей H -цепи (H_γ , H_α и т. д.). Общее число вариантов полного гена H -цепи равно примерно 4000. Сходным путем образуются и гены легких цепей; их тоже может быть около 4000 вариантов. При образовании иммуноглобулинов цепи H и L могут соединяться в разных сочетаниях (см. табл. 19), поэтому общее число разных иммуноглобулинов достигает порядка 10^7 ($4000 \times 4000 = 1,6 \cdot 10^7$).

Поскольку объединение генов при транспозиции имеет случайный характер, в разных лимфоцитах образуются разные сочетания генов V , D , J и C в полном гене иммуноглобулиновой цепи, т. е. происходит дифференциация лимфоцитов и образование клонов, различающихся генотипически и фенотипически (по способности синтезировать антитела определенной специфичности).

Приведенные здесь результаты получены главным образом при изучении генетического аппарата иммунной системы мыши, однако есть основания считать, что в принципиальных чертах он одинаков у всех высших животных, в том числе и у человека.



Трансплантационная несовместимость

От полиморфизма белков в сочетании с иммунологическими реакциями зависит трансплантационная несовместимость. Клетки трансплантата содержат аллельные варианты белков, отличающиеся от вариантов реципиента. Эти белки донора являются антигенами для организма реципиента и приводят к развитию реакции клеточного иммунитета, в результате которой трансплантированная ткань отторгается. Роль антигенов могут выполнять также полисахариды или другие вещества, структура которых у донора и реципиента различна. Однако и в этом случае первичная причина различий—полиморфизм белков, поскольку все вещества в организме синтезируются при участии ферментов, т. е. белков. Решающую роль в отторжении трансплантата играют антигены (белки и полисахариды), расположенные на наружной поверхности плазматической мембраны клеток.

Отторжение трансплантата в наибольшей мере определяется *главным комплексом тканевой совместимости* — так называют участок генома, содержащий небольшое число структурных генов (не меньше трех), и белки, кодируемые этими генами. Белки главного комплекса тканевой совместимости представляют собой гликопротеины; они являются интегральными белками плазматической мембраны клеток. Гены главного комплекса тканевой совместимости отличаются необычайно высоким полиморфизмом: число комбинаций разных аллелей по генам этой системы достигает нескольких миллионов. Это самая полиморфная система человека из всех известных в настоящее время. Высокая степень полиморфизма генов обеспечивает столь же высокую степень индивидуальности по белкам, которые кодируются этими генами. Подбор донора и реципиента, сходных по антигенным свойствам белков главного комплекса совместимости, значительно повышает вероятность приживления трансплантата. Этот комплекс в настоящее время интенсивно изучается с целью преодолеть трансплантационную несовместимость — главное препятствие на пути трансплантологии.

Концепция иммунологического надзора

Разумеется, в ходе биологической эволюции такая реакция на чужеродные клетки выработалась не для отторжения трансплантата. По-видимому, действительная биологическая роль клеточного иммунитета, помимо защиты от вирусной и некоторых других инфекций, состоит в устранении измененных клеток, которые возникают в результате соматических мутаций. Общее число клеток в организме человека громадно—порядка 10^{18} , поэтому и число мутантных клеток тоже велико: в каждый момент оно может измеряться миллиардами клеток. Размножение

мутантных клеток, неспособных выполнять нормальные функции, могло бы оказаться вредным для организма. На них и направлено действие клеточного иммунитета. Таким способом осуществляется иммунологический надзор за постоянством клеточного состава организма. Иммунологический надзор служит как бы второй линией обороны против появления мутантных клеток (первую линию обороны составляют системы репарации ДНК).

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ

Аллельные варианты белков могут различаться по функциональной способности. Например, HbS хуже выполняет функцию транспорта кислорода, чем HbA. Если функция белка нарушена существенно, то «плохой» аллель проявляется как наследственная болезнь (наследственная протеинопатия). По механизму возникновения наследственные болезни можно разделить на две группы. Наследственная болезнь может возникнуть в результате мутации, которая произошла в гаметях или зиготе, давших начало данной особи. Это первая группа наследственных болезней, первичные мутации. Если первичная мутация не летальна до репродуктивного возраста, то мутантный аллель может передаваться последующим поколениям и тоже проявляется как болезнь. Это вторая группа наследственных болезней.

В результате первичной генной мутации возникает гетерозиготность по данному локусу, поскольку одновременное повреждение сразу двух гомологических локусов диплоидной клетки маловероятно. В гетерозиготном состоянии «плохой» аллель часто не проявляется как болезнь или бывает причиной болезни, не слишком существенно снижающей жизнеспособность. Поэтому такие аллели могут сохраняться и распространяться в популяции. У родителей, каждый из которых является носителем мутантного аллеля в гетерозиготном состоянии, могут родиться дети, гомозиготные по такому аллелю: в этом случае развивается болезнь, нередко тяжелая.

✓ Вернемся еще раз к серповидноклеточной анемии. В крови гомозигот SS имеется только HbS. Поскольку эритроциты, содержащие HbS, менее стабильны, чем эритроциты с HbA, у таких гомозигот скорость разрушения эритроцитов больше, и наступает анемия. Серповидноклеточная анемия проявляется в общей слабости, отставании развития, желтухе; больные обычно умирают в раннем детском возрасте. Как же такой вредный для отдельных индивидов аллель сохраняется в популяции, не элиминируется отбором? Дело в том, что для популяции в целом его нельзя назвать вредным. Гетерозиготы AS имеют в эритроцитах и HbA, и HbS; они практически здоровы или у них обнаруживаются слабые признаки болезни. С другой стороны, в эритроцитах гетерозигот хуже развивается малярийный плазмодий, и они не заболевают малярией или легко переносят ее. Вот почему в местностях, где распространена малярия, частота аллеля S ве-



59

Значение наследственности и факторов среды в развитии болезней

лика — до 35%. Таким образом ген серповидноклеточности, когда-то возникший в результате мутации, приводит к гибели части людей (гомозигот) от серповидноклеточной анемии (до миллиона детей ежегодно), но популяция в целом приспособлена к среде, где важным фактором отбора является малярийный плазмодий. После ликвидации малярии аллель S начнет исчезать из генофонда людей.

Тяжесть наследственной болезни зависит от степени повреждения функции мутантного белка по сравнению с нормальным. Например HbC ($\beta\beta\text{Glu} \rightarrow \text{Lys}$) по свойствам мало отличается от HbA; даже гомо-

зиготы CC практически здоровы или страдают легкими формами анемии. Конечно, тяжесть болезни зависит и от важности функции, выполняемой данным белком. Частота каждой в отдельности наследственной болезни невелика, однако общая частота существенна и достигает 2—4%. В настоящее время известно около 1500 разных наследственных болезней; биохимическая природа многих из них остается неизвестной.]

Выше речь шла о болезнях, наследственная природа которых ясно выражена. Кроме того, существует наследственная (семейная) предрасположенность к некоторым болезням, в том числе к таким распространенным, как атеросклероз, сахарный диабет, подагра, язва желудка, шизофрения, эпилепсия. Вряд ли можно сомневаться, что и в этих случаях наследственный компонент определяется полиморфизмом белков, однако остается неизвестным, какие именно белки и аллельные формы ответственны за предрасположенность.

Между наследственными болезнями и болезнями, вызванными факторами среды, нет резкой границы. Например, появление анемии при наследовании гемоглобина S практически не зависит от среды; таким болезням соответствует колонка 1 на рис. 59. С другой стороны, болезни вследствие травм, отравлений, инфекционные болезни и т. д. мало зависят от наследственности—им соответствует колонка 7 на рис. 59. Здесь речь идет о восприимчивости к повреждающим агентам среды. Однако дальнейшее развитие болезни всегда зависит от индивидуальных особенностей генотипа. Например, раны у одних людей заживают быстрее, у других медленнее.

Между крайними формами болезней — наследственными и вызванными факторами среды—имеется непрерывный ряд промежуточных форм.

Примером такой промежуточной формы может быть эмфизе-

ма легких, связанная с недостаточностью α_1 -антитрипсина. Белок сыворотки крови α_1 -антитрипсин является ингибитором некоторых протеолитических ферментов. Возможно, что он участвует в регуляции воспалительной реакции, хотя точно его функции неизвестны. Некоторые аллельные варианты этого белка обладают сниженной ингибиторной способностью. Индивиды, гомозиготные по таким аллелям, предрасположены к возникновению эмфиземы легких, которая обычно развивается в возрасте 40—50 лет. Если эти индивиды подвергаются раздражающим ингаляциям (производственные или бытовые загрязнения воздуха, курение), то эмфизема развивается раньше. Больше того, при этих условиях эмфизема возникает и у гетерозигот по данному аллелю, в то время как при обитании в условиях чистого воздуха они остаются здоровыми.

Таким образом, «плохой» аллель может существовать в скрытом состоянии и обнаруживает себя лишь при определенных условиях. Особенно выразительно это проявляется в случаях индивидуальной непереносимости некоторых лекарственных веществ. Рассмотрим реакцию на дитилин людей с разными аллеломорфами холинэстеразы плазмы крови. Этот фермент сходен с ацетилхолинэстеразой нервной ткани (гл. XXII), но отличается от нее более широкой субстратной специфичностью: он гидролизует не только ацетилхолин, но и некоторые другие эфиры, в том числе дитилин (см. гл. II). Напомним, что дитилин применяется как миорелаксант при некоторых хирургических операциях и эндоскопических обследованиях, например при бронхоскопии. Действие дитилина в применяемых дозах обычно непродолжительно—несколько минут. Это связано с тем, что он быстро разрушается холинэстеразой плазмы. Однако в редких случаях (примерно у одного пациента из 2000) паралич мышц продолжается часами: чтобы спасти жизнь больного, его приходится все это время держать на искусственном дыхании. Оказалось, что у таких людей активность холинэстеразы плазмы крови значительно ниже, чем обычно; низкая активность обнаруживается и у родственников этих людей. Следовательно, имеются аллельные формы фермента; они различаются не только по активности, но и по другим свойствам, в частности по электрофоретической подвижности. Индивиды с низкой активностью холинэстеразы плазмы совершенно здоровы, аллельный ген обнаруживает себя лишь при введении дитилина.

✓ Непереносимость дитилина—это следствие ясно выраженного наследственного дефекта. С этой точки зрения болезнь, вызванную введением дитилина, можно было бы поместить в колонку 1 рис. 59. С другой стороны, непереносимость обнаруживается только при действии фактора среды — дитилина и, значит, ее можно отнести к типу болезней, помещенных в колонку 7. В целом непереносимость дитилина в равной мере зависит от генетического дефекта и внешнего фактора, поэтому правильнее отнести ее к группе болезней колонки 4 на рис. 59. Большее значение

имеют генетические дефекты, проявляющиеся как непереносимость некоторых пищевых веществ, поскольку пищевые вещества в отличие от лекарств потребляются всеми людьми и постоянно.

У некоторых взрослых людей наблюдается постоянная непереносимость лактозы: молоко и молочные продукты вызывают у них газообразование в кишечнике боли в животе и понос. Непереносимость обусловлена отсутствием в кишечнике фермента лактазы.

Лактаза содержится в кишечнике новорожденных и обеспечивает усвоение лактозы грудного молока, расщепляя ее на глюкозу и галактозу. Ко времени прекращения грудного вскармливания или немного позднее активность лактазы в кишечнике заметно снижается, а у некоторых детей исчезает полностью. Лактаза отсутствует примерно у 15% взрослых людей европейских народностей и у 80% восточных народностей, негров, индейцев Америки. Непереносимость наследуется как простой доминантный признак. Генетический дефект не связан с повреждением гена лактазы, поскольку в грудном возрасте фермент синтезируется. Очевидно, имеются аллеломорфы какого-то белка, участвующего во включении и выключении гена лактазы в ходе онтогенеза. Отметим, что молоко стало обычной пищей для взрослых лишь с того времени, когда человек научился разводить молочный скот; с этого времени и могло начаться распространение в популяциях аллеля, который обеспечивал сохранение лактазы у взрослых людей.

Рассмотренные здесь примеры непереносимости лекарственных или пищевых веществ представляют группу явлений того же рода, что и наследственная предрасположенность к болезням. Сходным образом распространенность диабета и атеросклероза невелика в периоды недостаточного питания (войны, введение карточной системы и др.), и значительно повышается вместе с увеличением потребления пищи. Очевидно, функция некоторых аллельных белков, имеющих у части индивидов, в условиях обильного питания оказывается недостаточной, что и ведет к нарушению обмена веществ и другим проявлениям болезни.

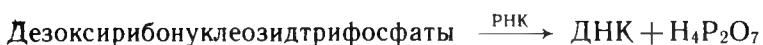
ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Успехи биохимии последнего десятилетия привели к разработке методов, позволяющих манипулировать генами с целью изменения генотипа, а следовательно и фенотипических признаков организма. Это направление исследований получило название генной инженерии. Основная цель таких исследований — научиться создавать новые фенотипы путем прямой пересадки генов из одного организма в геном другого, а также исправлять этим методом наследственные дефекты генома, т. е. лечить наследственные болезни. Первые успехи генной инженерии связаны с получением новых форм микроорганизмов, синтезирующих

полезные для человека продукты, в том числе лекарственные вещества.

Процедура пересадки гена включает следующие операции: 1) получение гена; 2) получение рекомбинантной (гибридной) ДНК; 3) введение рекомбинантной ДНК в клетку; 4) клонирование (размножение) рекомбинантной ДНК (рекомбинантных клеток).

Получение гена. Исходя из первичной структура белка и биологического кода, можно узнать последовательность нуклеотидов в гене этого белка, а затем химическим путем синтезировать ген. Этим способом удается получить небольшие гены длиной до двух десятков кодонов. Еще более трудная задача—выделить готовый ген из генома клетки: это связано с тем, что на долю каждого гена приходится лишь небольшая часть всего генома и, кроме того, многие гены разделены на куски интронами. Наименьшие сложности связаны с получением генов при помощи обратной транскриптазы. Этот фермент есть в частицах некоторых РНК-содержащих вирусов: у таких вирусов генетическая информация хранится не в ДНК, а в РНК (см. гл. IV). Обратная транскриптаза катализирует синтез ДНК, используя в качестве матрицы РНК:



Если при реакции *in vitro* с этим ферментом добавить в инкубационную смесь определенную мРНК (например, мРНК интерферона), то синтезируется ген, комплементарный этой мРНК, в котором закодирована структура соответствующего белка (например, интерферона).

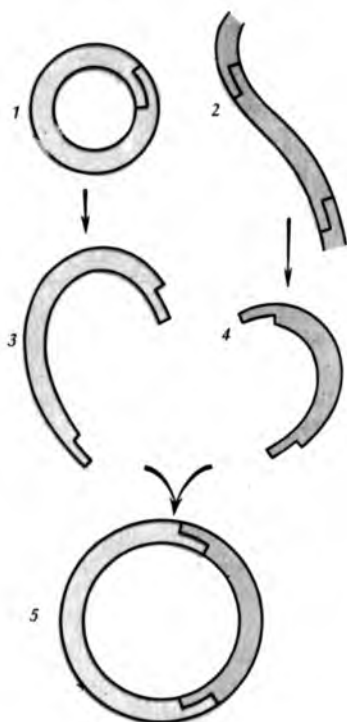
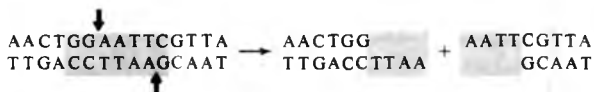
Многие индивидуальные РНК удается выделить из сложной смеси разных мРНК клетки и использовать для синтеза генов.

Получение рекомбинантной ДНК. Ген нужно ввести в клетку таким образом, чтобы он не был разрушен клеточными нуклеазами, а интегрировался с геномом клетки. Для этого *in vitro* ген соединяют с определенной ДНК, выполняющей роль проводника (*вектора*). Часто в качестве вектора используют *плазмиды*—небольшие кольцевые молекулы ДНК, содержащие несколько генов. В исследованиях по генной инженерии обычно используют кишечную палочку *E. coli*. Геном этой бактерии представлен одной хромосомой (молекулой ДНК), прикрепленной к мембране, и плазмидами, «плавающими» в цитозоле. Плазида примерно в тысячу раз меньше основной молекулы ДНК. В клетке может быть несколько разных плазмид, и каждая из них может быть представлена большим числом копий (до нескольких сотен). Репликация плазмид происходит независимо от репликации основного генетического материала. Некоторые плазмиды могут включаться в хромосому и снова отделяться от нее. Плазмиды могут переходить из одной бактериальной клетки в другую при конъюгации клеток.

Для получения рекомбинантной ДНК плазмиды выделяют из *E. coli* и удаляют из них часть кольцевой молекулы ДНК. Для этого применяют рестрикрсионные эндонуклеазы (рестриктазы). Субстратная специфичность рестриктаз проявляется в том, что каждая из них узнает определенную нуклеотидную последовательность. Например, рестриктаза *EcoRI* узнает последовательность

GAATTC
CTTAAG

и гидролизует связь между нуклеотидами G и A:



60

Получение рекомбинантной ДНК: плазмиды (1) и ДНК (2), содержащая ген, выбранный для пересадки; ломаной линией отмечены места разрезания рестриктазами. После обработки рестриктазами образуются плазмидная ДНК (3) и ген (4) с «липкими концами». При смешивании они соединяются, образуя рекомбинантную ДНК (5)

Здесь цветом выделены узнаваемые рестриктазой последовательности цепей ДНК, а вертикальными стрелками — места гидролиза.

Используя рестриктазы разной специфичности, можно разрезать ДНК в выбранных местах. Комплементарные цепи молекулы ДНК разрезаются в разных местах, в результате чего образуются «липкие» концы — неспаренные участки цепей, способные присоединять комплементарные им полинуклеотиды. На гене, выбранном для пересадки, тоже создают липкие концы, комплементарные липким концам рестриктированной плазмиды. Если теперь смешать ген и плазмиду, то они соединятся липкими концами (рис. 60). Затем с помощью фермента лигазы образуют фосфодиэфирную связь между концевыми нуклеотидами обеих молекул, и вновь получают кольцевую молекулу ДНК, но теперь она вместо части плазмидной ДНК содержит ген, выбранный для пересадки. Это и есть рекомбинантная ДНК, или рекомбинантная плаزمида.

Клонирование рекомбинантной ДНК. Описанная выше процедура сложна и позволяет получать лишь очень небольшие количества реком-

бинантной ДНК. Клонирование — это способ ее накопления.

Если к культуре *E. coli* добавить рекомбинантные плазмиды, то они при определенных условиях включаются в бактериальные клетки — получаются рекомбинантные бактерии. В клетке плазмиды начинают реплицироваться. При размножении бактерии образующиеся бактериальные клетки тоже содержат эти плазмиды. Теперь из бактериальной массы можно выделить рекомбинантную ДНК в достаточном количестве.

Практическое значение рекомбинантных микроорганизмов.

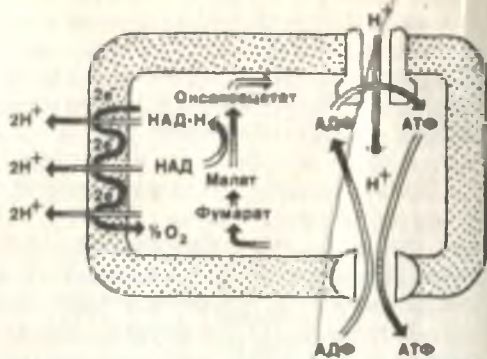
Микроорганизмы — очень удобный объект для промышленного получения многих природных продуктов: они быстро размножаются (биомасса может удваиваться всего за полчаса), процессы выращивания и обработки биомассы технологичны, поддаются автоматизации. С развитием генной инженерии появилась возможность заставить микроорганизмы синтезировать нужные человеку вещества, которые получить другими методами сложно. Например, интерферон для применения в качестве лекарства получают либо из лейкоцитов крови человека, либо из культуральной жидкости, в которой выращивают клетки человека, синтезирующие этот белок. Такие методы очень дороги и не позволяют получать достаточные количества интерферона.

Недавно (в 1980 г.) была получена рекомбинантная плазида, содержащая ген интерферона человека. Плазмиду ввели в клетки *E. coli*, и они начали продуцировать интерферон — белок, который природные штаммы бактерии не синтезируют. В настоящее время методами генной инженерии созданы также микроорганизмы, синтезирующие человеческие гормоны соматостатин, соматотропин, инсулин и человеческий фермент урокиназу. Все эти белки применяются для лечения болезней. В настоящее время пока не существует промышленного производства этих лекарств с использованием рекомбинантных микроорганизмов, но организация такого производства уже началась.

Генная инженерия и наследственные болезни. Плазмиды можно ввести не только в бактериальные клетки, но и в клетки эукариот. При этом плазмиды могут включаться в геном (хромосомы) клетки и функционировать в качестве матрицы; следовательно, в клетке будут синтезировать белки, закодированные в генах плазмиды. Такие результаты получены в экспериментах на животных. Это открывает перспективы радикального лечения наследственных болезней методами генной инженерии — путем изготовления рекомбинантной ДНК, содержащей тот ген, который поврежден у больного, и введения ее в геном больного.

Часть 2

Обмен веществ и энергия



Глава VI

ВВЕДЕНИЕ В ОБМЕН ВЕЩЕСТВ

В результате обмена веществ потребляемые с пищей вещества превращаются в собственные вещества и структуры клетки и, кроме того, организм обеспечивает энергией для совершения внешней работы. Самовоспроизводство, т. е. постоянное обновление структур организма и размножение, — наиболее характерная особенность обмена веществ в живых организмах, отличающая его от обмена веществ в неживой природе

Существует непрерывный поток веществ через организм, и прекращение этого потока означает прекращение жизни. Однако из этого не следует, что обмен веществ характерен только для живых существ. Системы, которые обмениваются веществами и энергией со средой, называют термодинамически открытыми системами в отличие от закрытых систем, обменивающихся со средой только энергией. К открытым системам относится, например, любое озеро, поскольку вода в нем постоянно обновляется. Доменная печь, в которую загружают руду и другие компоненты и из которой получают чугун, шлак, газообразные продукты — пример неживой открытой системы с достаточно сложным обменом веществ.

Обмен веществ живых организмов включает поступление веществ из среды в организм (в результате питания и дыхания), перемещения и превращения веществ в организме (промежуточный обмен) и выделение конечных продуктов обмена. Наиболее сложную часть обмена веществ состав-

ляет промежуточный обмен. Он включает следующие молекулярные процессы.

1. Взаимодействие молекул без изменения их ковалентной структуры: образование олигомерных белков из протомеров; самосборка клеточных органелл, включая мембраны; образование двойной спирали ДНК; присоединение аминоксил-тРНК к мРНК и рибосомам; присоединение аллостерических эффекторов к регуляторным центрам ферментов; присоединение кислорода к гемоглобину и др. Все эти взаимодействия представляют собой физико-химические процессы. Это послужило основанием тому, что отрасль биохимии, изучающую преимущественно явления такого рода, в последнее время называют *физико-химической биологией*.

2. Взаимодействия молекул, завершающиеся изменением их ковалентной структуры, т. е. собственно химические процессы. Именно совокупность этих процессов обычно называют метаболизмом (*metabole* — изменение, превращение). Как мы уже знаем, все химические реакции в организме катализируются ферментами. В ходе ферментативной реакции, конечно, имеют место и физико-химические процессы, например образование нековалентных связей между ферментом и субстратом, изменение конформации и др.

3. Перенос веществ. Существуют разные механизмы и маршруты транспорта веществ в организме.

а) Транспорт с циркулирующей жидкостью по кровеносным и лимфатическим сосудам. Это механический процесс. Однако многие вещества транспортируются в форме соединений со специальными транспортными белками, подобно переносу кислорода в форме $\text{Hb} \cdot \text{O}_2$. В крови имеются транспортные белки для переноса многих соединений — гормонов, витаминов, липидов, ионов металлов и др. Образование и распад комплекса транспортного белка с переносимым веществом — это обычно физико-химические процессы, не связанные с изменением ковалентной структуры веществ.

б) Трансмембранный перенос, который может быть межклеточным и внутриклеточным. Основные формы межклеточного переноса следующие:

из кишечника в кровь через мембраны клеток кишечного эпителия и стенок капилляров;

из крови и межклеточного пространства в клетки разных органов через мембраны этих клеток;

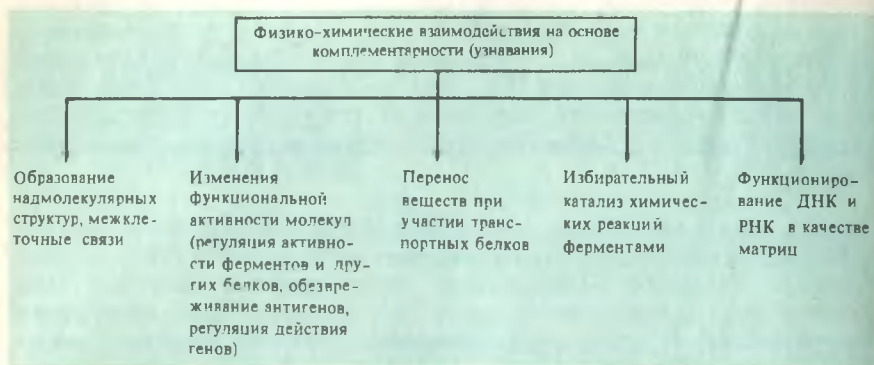
из клеток в межклеточное вещество или в кровь через те же мембраны;

в почечных клубочках из крови в первичную мочу, а в почечных канальцах из первичной мочи в кровь через мембраны соответствующих клеток.

Примером внутриклеточного трансмембранного переноса является транспорт мРНК из ядра в цитоплазму. Ряд других примеров трансмембранного переноса подробно рассмотрен в

гл. V и VII. Трансмембранный перенос как путем простой диффузии, так и с участием переносчиков представляет собой физико-химический процесс.

Таким образом, физико-химические взаимодействия составляют основу всех важнейших процессов организма на молекулярном уровне:



Такие представления о роли физико-химических процессов явились результатом развития биохимии примерно в два последние десятилетия; прежде основной предмет биохимии составляли исследования химических превращений веществ в организмах, т. е. метаболизм. Наиболее характерной чертой молекулярных физико-химических процессов в живых организмах является соединение молекул за счет комплементарных поверхностей (центров связывания).

Одним из результатов обмена веществ в организмах является их самовоспроизведение. Под самовоспроизведением понимают превращение веществ, поступающих извне, в вещества и структуры самого организма, в результате чего происходят непрерывное обновление тканей, рост и размножение (рис. 61). Именно самовоспроизведение представляется важнейшим критерием жизни и важнейшей особенностью обмена веществ в живых существах,



Обмен веществ в неживых (а) и живых (б) открытых системах

нехарактерной для обмена веществ в неживых открытых системах.

Поступление веществ в организм и выделение продуктов метаболизма в совокупности составляет обмен веществами между средой и организмом. Некоторые величины, характеризующие эту сторону обмена веществ у человека, приведены в табл. 24.

Таблица 24. Суточный обмен человека (округленные величины; взрослый человек с массой тела около 70 кг)

Вещества	Содержание в организме, г	Суточное потребление, г	Суточное выделение, г
O ₂	—	850	—
CO ₂	—	—	1000
Вода	42 000	2200	2600
Органические вещества:			
белки	15 000	80	—
липиды	10 000	100	—
углеводы	700	400	—
нуклеиновые кислоты	700	—	—
мочевина	—	—	30
Минеральные соли	3 500	20	20
Всего . . .	71 900	3650	3650

Организм взрослого здорового человека находится в стационарном состоянии в том смысле, что его масса сохраняется постоянной. Это значит, что масса потребляемых веществ равна массе выделяемых за то же время веществ.

Общая масса органических веществ в теле человека составляет около 25 кг (отметим, что больше половины из них приходится на белки). Ежедневное потребление органических веществ с пищей равно примерно 0,6 кг; следовательно, человек потребляет такую же массу органических веществ, какая имеется в его теле, за 40—50 дней.

В каждой клетке организма происходит непрерывный распад ее структурно-функциональных компонентов, и за счет этого образуются аминокислоты, моносахариды, жирные кислоты, нуклеотиды и другие вещества. Они смешиваются с такими же веществами, образующимися из пищи, составляя общий фонд метаболитов организма. Этот фонд расходуется по двум направлениям: часть используется для возобновления распавшихся структурно-функциональных компонентов клетки; другая часть превращается в конечные продукты обмена веществ, которые выводятся из организма. При распаде веществ до конечных продуктов обмена освобождается энергия, у взрослого человека 8000—12 000 кДж (2000—3000 ккал) в сутки. Эта энергия используется клетками организма для совершения разного рода работы, а также для поддержания температуры тела на постоянном уровне.

Между содержанием разных веществ в организме и величиной их суточного потребления нет соответствия. Например, для белков отношение содержание/потребление равно примерно 180, а для углеводов оно менее 2, т. е. различие по этому коэффициенту между белками и углеводами почти стократное. Это связано с тем, что подавляющая часть пищевых углеводов используется именно как источник энергии и распадается до конечных продуктов обмена, минуя стадию включения в структурно-функциональные компоненты клетки. То же в значительной мере относится и к жирам.

Основную массу элементов, из которых построены пищевые вещества, а также и тело человека, составляют углерод, водород, кислород и азот. Эти же элементы входят в состав главных конечных продуктов обмена веществ — CO_2 , H_2O и мочевины $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}_2$. В форме H_2O выводится водород органических веществ, причем организм выделяет воды больше, чем потребляет (см. табл. 24): примерно 400 г воды образуется за сутки в организме из водорода органических веществ и кислорода вдыхаемого воздуха (метаболическая вода). В форме CO_2 выводятся углерод и кислород органических веществ, а в форме мочевины — азот.

Человек выделяет с мочой, калом, потом, выдыхаемым воздухом много и других веществ, но в незначительных количествах, так что их вклад в общий баланс обмена веществами между организмом и средой незелик. Однако надо отметить, что физиологическое значение выделения таких веществ может быть существенным. Например, нарушение выделения продуктов распада гема или продуктов метаболизма чужеродных соединений, в том числе лекарств, может быть причиной тяжелых нарушений обмена веществ и функций организма.

БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ

Пища человека содержит множество химических соединений как органических, так и минеральных. Часть из них используется организмом для построения структурно-функциональных компонентов клеток и получения энергии — это собственно пищевые вещества (табл. 25). В пище содержатся также вещества, ненужные организму, а иногда и вредные для него. Главную долю органических веществ пищи составляют основные пищевые вещества — углеводы, жиры, белки. Часть органических веществ — это *минорные пищевые вещества*, требующиеся в малых количествах. К ним принадлежат, в частности, витамины.

Пищевые вещества могут быть заменимыми и незаменимыми. Заменимые — это те, которые могут образоваться в организме из других веществ. Например, жиры могут образоваться из углеводов, углеводы — из аминокислот, некоторые аминокислоты образуются из других аминокислот или из углеводов. Незаме-

Таблица 25. Средняя потребность взрослого человека в пищевых веществах

Пищевые вещества	Суточная потребность	Пищевые вещества	Суточная потребность
Углеводы	400—500 г	Биотин	0,15—0,3 мг
Жиры:	80—100 г	D (холекальциферол)	0,04 мг
полиненасыщенные жирные кислоты	3—6 г	P (рутин)	25 мг
Белки	80—100 г	B ₉ (фолиевая кислота)	0,1—0,5 мг
Аминокислоты:		E (токоферол)	2—6 мг
триптофан	1 г	K (2-метил-3-фитил-1,4-нафтохинон)	2 мг
глутаминовая кислота	16 г	Минеральные вещества:	
прочие (каждая из них)	От 2 до 6 г	вода	~2 л
Витамины:		NaCl	~10 г
C (аскорбиновая кислота)	70—100 мг	кальций	0,8—1 г
B ₁ (тиамин)	1,5—2,0 мг	фосфор	1—1,5 г
B ₂ (рибофлавин)	2,0—2,5 мг	калий	2,5—5 г
PP (никотиновая кислота)	15—25 мг	магний	0,3—0,5 г
B ₃ (пантотеновая кислота)	5—10 мг	железо	15 мг
A (ретинол)	1,5—2,5 мг	цинк	10—15 мг
B ₆ (пиридоксин)	2—3 мг	марганец	5—10 мг
B ₁₂ (кобаламин)	0,005—0,080 мг	медь	2 мг
		молибден	0,5 мг
		селен	0,5 мг
		иод	0,1—0,2 мг

нимые пищевые вещества не синтезируются из других веществ и поэтому должны содержаться в пище в готовом виде.

Основные пищевые вещества большей частью представляют собой полимеры. В желудочно-кишечном тракте они гидролизуются при участии ферментов класса гидролаз на мономеры: в этом заключается суть пищеварения. В процессе пищеварения происходит уменьшение разнообразия веществ: из бесчисленного количества белков разного строения, полисахаридов, жиров получается 20 разных аминокислот, небольшое число моносахаридов (главным образом глюкоза, фруктоза, галактоза), глицерин, жирные кислоты (главным образом олеиновая, стеариновая, пальмитиновая). Мономеры как низкомолекулярные вещества значительно легче проникают через клеточные мембраны кишечного эпителия (полимеры практически не всасываются). С кровью мономеры транспортируются во все органы и ткани и используются клетками.

Незаменимые аминокислоты

Многие из мономерных веществ, образующихся в результате переваривания пищи, являются заменимыми. Например, клетки человека способны синтезировать любой необходимый им моносахарид. Однако среди мономеров есть и незаменимые. В част-

ности, незаменимы некоторые аминокислоты. Аминокислоты, входящие в состав белков, можно разделить на следующие группы:

1. Незаменимые

Валин
Лейцин
Изолейцин
Треонин
Метионин
Фенилаланин
Триптофан
Лизин

**2. Частично
заменимые**

Гистидин

Аргинин

3. Условно заменимые

Цистеин

Тирозин

4. Заменимые

Аланин

Аспарагиновая кислота

Аспарагин

Глутаминовая кислота

Глутамин

Пролин

Глицин

Серин

Если в пище нет заменимой аминокислоты, клетки синтезируют ее из других веществ, и тем самым поддерживается полный набор аминокислот, необходимый для синтеза белков. Если же отсутствует хотя бы одна из незаменимых аминокислот, то прекращается синтез белков. Это объясняется тем, что в состав подавляющего большинства белков входят все 20 аминокислот; следовательно, если нет хотя бы одной из них, синтез белков невозможен.

Частично заменимые аминокислоты синтезируются в организме, однако скорость синтеза недостаточна для обеспечения всей потребности в этих аминокислотах, особенно у детей. Условно заменимые аминокислоты могут синтезироваться из незаменимых: цистеин — из метионина, тирозин — из фенилаланина (см. гл. XI). Иначе говоря, цистеин и тирозин — это заменимые аминокислоты при условии достаточного поступления с пищей метионина и фенилаланина.

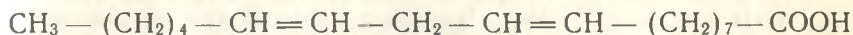
Содержание незаменимых аминокислот определяет пищевую ценность того или иного белка. Пищевая ценность высока, если белок содержит все незаменимые аминокислоты в необходимых для человека пропорциях. Такому требованию отвечают многие белки животных. Растительные белки часто содержат недостаточное количество незаменимых аминокислот, обычно лизина, метионина и триптофана, что снижает их пищевую ценность.

Белковая недостаточность. В экономически слабо развитых странах основу питания составляют растительные продукты. Содержание белков в них, а главное, содержание незаменимых аминокислот в белках меньше, чем в мясных продуктах. В результате возникает белковая недостаточность, которая особенно тяжело проявляется в детском возрасте. Болезнь, вызванная белковой недостаточностью у детей, получила название *квashiоркор*. На языке одной из африканских народностей это означает «золотой (красный) мальчик»: одним из признаков болезни является красный цвет кожи и волос у негритянских детей. При квashiоркоре наблюдаются задержка роста, малокровие, поражение печени и почек. Нарушается секреция пищеварительных соков, а следовательно, и переваривание белков, что усугубляет белковую недостаточность. Квashiоркор — одна из основных причин детской смертности в слаборазвитых районах мира. Чаше

всего болезнь является следствием низкого содержания лизина в растительной пище. При своевременном переводе на мясное и молочное питание симптомы болезни исчезают.

Незаменимые жирные кислоты

Большинство жирных кислот, необходимых человеку, может синтезироваться в организме из углеводов. К числу незаменимых пищевых факторов относится линолевая кислота:



Эта непредельная жирная кислота в организме человека служит предшественником арахидоновой кислоты, которая в свою очередь необходима для синтеза простагландинов — группы гормонов местного действия (см. гл. XVII). Возможно, незаменимой является и линоленовая кислота. Основными пищевыми источниками полиненасыщенных жирных кислот, в том числе линолевой, являются растительные масла.

Витамины

Витамины — важнейшая группа незаменимых пищевых факторов. Концентрация витаминов в тканях и суточная потребность в них невелики, но при недостаточном поступлении витаминов в организм наступают характерные и опасные патологические изменения. Витамины были открыты при изучении таких заболеваний, как бери-бери, цинга и другие, о которых теперь известно, что они возникают вследствие недостаточности витаминов. По выражению академика В. А. Энгельгардта, витамины обнаружили себя не своим присутствием в организме, а своим отсутствием.

Недостаточность витамина В₁₂. Разберем такой пример. Больной В., 50 лет, поступил в клинику с жалобами на потерю аппетита, потерю веса, слабость, боли в области желудка. При лабораторном исследовании обнаружены следующие отклонения от нормы:

эритроцитов в крови $1,7 \cdot 10^{12}/\text{л}$ (норма $5 \cdot 10^{12}/\text{л}$);

желудочная секреция 0,4 л за сутки (норма 2,5 л за сутки);

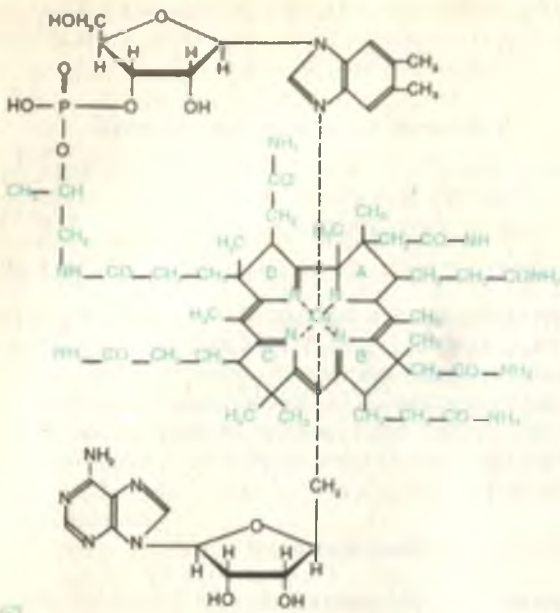
pH желудочного сока 7,0 (норма 1,5).

Эритроциты больного имели необычную форму и большие размеры: диаметр 12—14 мкм (норма 7—8 мкм). Поставлен диагноз — болезнь Аддисона — Бирмера.

Болезнь Аддисона — Бирмера (злокачественная анемия, пернициозная анемия) описана более 100 лет назад и долго считалась неизлечимой. Первые случаи выздоровления отмечены в 1926 г., когда для лечения применили сырую печень. Сразу же начались поиски вещества, содержащегося в печени и оказывающего лечебное действие. В 1948 г. это вещество — витамин В₁₂ — было выделено. Его содержание в печени оказалось очень

небольшим — около 1 мкг в 1 г печени, т. е. 1/1 000 000 часть веса печени. Семь лет спустя было выяснено строение витамина В₁₂ (кобаламина) (рис. 62).

Введение витамина В₁₂ быстро излечивает злокачественную анемию. Однако при этом выяснилось, что имеет значение способ введения: внутримышечные инъекции излечивают анемию, а прием витамина через рот не излечивает. Если же витамин В₁₂ принимать перорально вместе с желудочным соком, тоже наступает излечение.



62

Витамин В₁₂ (аденозилкобаламин)

Отсюда следует, что в желудочном соке содержится какое-то вещество, необходимое для усвоения витамина В₁₂ при его введении через рот. Это вещество (внутренний фактор, фактор Касла) сейчас выделено: им оказался гликопротеин, который у здоровых людей синтезируется в клетках желудка и секретируется в желудочный сок. Внутренний фактор избирательно связывает витамин В₁₂ (одна молекула витамина на одну молекулу белка); затем, уже в кишечнике, этот комплекс присоединяется к специфическим рецепторам мембраны энтероцитов, и происходит перенос витамина через их мембрану, т. е. всасывание.

Злокачественная анемия обычно развивается как осложнение гастрита, причем таких его форм, при которых резко снижается образование желудочного сока. Отсюда такие симптомы, как боли в области желудка, отсутствие аппетита. В желудке при этом нет внутреннего фактора и, следовательно, невозможно всасывание витамина В₁₂: витамин, содержащийся в пище, выводится с калом. Развитие анемии — это уже следствие недостатка витамина В₁₂ в тканях.

Витамин В₁₂ выполняет коферментные функции. В организме человека есть две коферментные формы витамина В₁₂ (кобаламина): метилкобаламин — в цитоплазме и дезоксиаденозилкобаламин — в митохондриях. В метилкобаламине вместо аденозильной группы, связанной с атомом кобальта (см. рис. 62),

имеется метильная группа. В развитии анемии основная роль принадлежит дефициту метилкобаламина, который служит коферментом в реакциях трансметилирования (подробнее об этих реакциях см. гл. XI). Реакции трансметилирования происходят, в частности, при синтезе нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Поэтому при недостатке метилкобаламина синтез нуклеиновых кислот нарушается. Это проявляется прежде всего в тканях с интенсивной клеточной пролиферацией. К их числу относятся и кроветворная ткань. Деление и созревание клеток эритроцитарного ряда нарушаются, размеры клеток превышают нормальные, значительная часть клеток — предшественников эритроцитов — разрушается еще в костном мозге, в циркулирующей крови количество эритроцитов резко уменьшено, размеры их увеличены. При отсутствии лечения наступают изменения и в других тканях, и болезнь заканчивается гибелью больного. Введение 100—200 мкг витамина В₁₂ ежедневно в течение примерно двух недель излечивает болезнь.

Другая коферментная форма витамина В₁₂ — дезоксиаденозилкобаламин — участвует в метаболизме метилмалоновой кислоты, которая получается в организме из жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов, а также из аминокислот с разветвленной углеродной цепью (подробнее об этом см. в гл. X). При дефиците витамина В₁₂ метилмалоновая кислота накапливается в организме и в больших количествах выводится с мочой; ее определение в моче используется для диагностики злокачественной анемии.

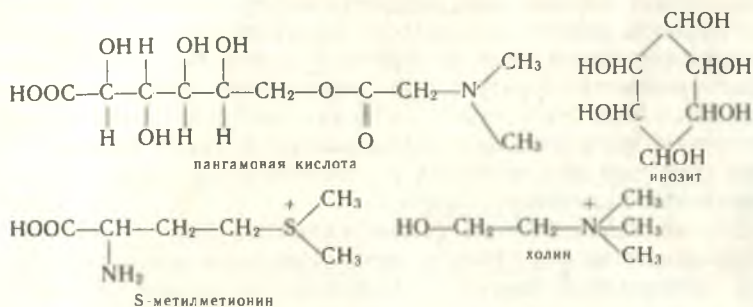
Метилмалоновая кислота токсична для нервной ткани, и при отсутствии лечения вызывает дегенерацию заднебоковых столбов спинного мозга.

Единственным источником витамина В₁₂ в природе являются микроорганизмы, синтезирующие его из других веществ; через почву он попадает в растения, а с растениями в организмы животных. Для человека основным источником витамина В₁₂ служит животная пища. Наиболее богата витамином печень — около 100 мкг на 100 г печени; в говяжьем мясе содержится около 5 мкг витамина на 100 г мяса. Суточная потребность человека в этом витамине составляет 2,5—5 мкг.

Общая характеристика витаминов. Известно около полутора десятков витаминов (см. табл. 25). Исходя из растворимости витамины делят на две группы: жирорастворимые — витамины А, D, E, K, и водорастворимые — все остальные. Большинство витаминов входит в состав коферментов и именно по этой причине они необходимы организму. Витамин А служит кофактором белка неферментной природы — родопсина, или зрительного пурпура; этот белок сетчатки глаза участвует в восприятии света. Витамин D (точнее, его производное — кальцитриол) регулирует обмен кальция; по механизму действия он скорее сходен с гормонами — регуляторами обмена и функций организма. Как участвует в обмене веществ витамин E (токоферол),

остаётся не вполне ясным. Подробнее функции каждого из витаминов рассматриваются в других разделах.

Существует группа веществ, в строгом смысле не относящихся к витаминам (по механизму их участия в обмене веществ), но сходных с витаминами в том отношении, что при определенных условиях возникает их недостаточность: это так называемые витаминоподобные вещества. К ним относят пангамовую кислоту (витамин В₁₅), S-метилметионин (витамин U), инозит, холин и некоторые другие соединения:



Потребность в пангамовой кислоте и S-метилметионине возникает, вероятно, лишь при недостаточном содержании в пище незаменимой аминокислоты метионина. Оба эти вещества, как и метионин, содержат метильные группы, которые используются для синтеза ряда других соединений. S-Метилметионин применяется как эффективное лекарство при лечении язвенной болезни желудка.

Инозит и холин входят в состав сложных липидов; холин, кроме того, может также служить источником метильных групп при синтезе других соединений. Оба вещества в организме здорового человека синтезируются из глюкозы (инозит) или серина и метионина (холин) в необходимых количествах.

Гиповитаминозы. Состояния, при которых снижена концентрация витаминов в тканях организма, называют *гиповитаминозами*. Они возникают вследствие недостатка витаминов в пище или нарушения их всасывания в желудочно-кишечном тракте.

Гиповитаминозы клинически могут проявляться весьма характерным образом: при недостатке витамина В₁₂ развивается злокачественная анемия, витамина D — рахит, витамина С — цинга, витамина В₁ — бери-бери и т. д. Лечение гиповитаминозов сводится к введению витаминов (в состав пищи или лекарственных препаратов). При отсутствии лечения углубляющийся гиповитаминоз неизбежно приводит к летальному исходу.

Наиболее часто возникают легкие формы гиповитаминозов, не проявляющиеся как ясно выраженная болезнь. Их причиной обычно бывает общее нарушение питания, при этом возникает нехватка сразу многих витаминов. Такого рода гиповитаминозы нередки у городских жителей в конце зимы, вследствие недоста-

точного потребления овощей и сниженного количества витаминов в долго хранившихся продуктах.

Многие витамины синтезируются микроорганизмами, населяющими кишечник человека, и за счет этого источника удовлетворяется часть потребности организма человека в витаминах. При лечении антибиотиками, сульфаниламидами и другими лекарствами, угнетающими кишечную флору, может возникать гиповитаминоз. Поэтому при таком лечении одновременно назначают и витамины.

Бывают и наследственные формы гиповитаминозов. Как уже отмечено, большинство витаминов входит в состав коферментов. Синтез коферментов осуществляется при участии ферментов, как и все химические превращения в организме. Если имеется наследственный дефект фермента, участвующего в превращении какого-либо витамина в кофермент, то возникает недостаточность этого кофермента. Она проявляется как недостаточность соответствующего витамина (гиповитаминоз), хотя концентрация витамина в тканях при этом может быть и высокой.

Гипервитаминозы. Избыточное потребление витаминов приводит к нарушениям обмена и функций организма, которые отчасти связаны со специфической ролью витамина в обмене веществ, отчасти носят характер неспецифического отравления. Гипервитаминозы возникают сравнительно редко, поскольку существуют механизмы устранения избытка витаминов из тканей, и лишь потребление больших количеств витамина может оказаться опасным. Более других витаминов токсичны жирорастворимые витамины, особенно А и D. Известен, например, гипервитаминоз у новичков в Арктике, которые по неведению употребляют в пищу печень белого медведя (местные жители ее не едят): после небольшой порции возникают головная боль, рвота, расстройство зрения и даже может наступить смерть. Это связано с высоким содержанием витамина А в печени белого медведя: несколько граммов печени могут удовлетворить годовую потребность человека в этом витамине.

Происхождение витаминов. В растениях синтезируются все органические вещества, составляющие их ткани, в том числе витамины (за исключением витамина В₁₂), а также и все аминокислоты (незаменимых аминокислот для них не существует). Многие микроорганизмы также не нуждаются во внешних источниках этих веществ. В организмы животных витамины и незаменимые аминокислоты поступают главным образом из растений, у травоядных — непосредственно, у хищников — в результате питания травоядными. Витамин В₁₂ синтезируется только микроорганизмами. Особенно активно образуют витамин В₁₂ микроорганизмы, населяющие рубец жвачных животных и размножающиеся также и в навозе: в сточных водах скотных дворов концентрация витамина В₁₂ может быть в 1000 раз больше, чем в печени животных.

При эволюции гетеротрофных организмов, пища которых

содержала готовые витамины и аминокислоты, отпала необходимость образовывать собственные ферменты для синтеза многих из этих веществ, и соответствующие гены были утрачены. При этом достигаются упрощение метаболической системы и экономия ресурсов клетки. Одновременно возникает зависимость организма от внешних источников этих веществ, которые становятся незаменимыми пищевыми факторами. Набор незаменимых пищевых факторов для разных видов животных различен. Например, аскорбиновая кислота (витамин С) является витамином для человека, обезьян, морской свинки, а собаки, крысы и многие другие животные не нуждаются в ней: аскорбиновая кислота синтезируется в их организме из глюкозы. Синтез витамина РР происходит почти у всех организмов, начиная от растений и до человека; его предшественником служит триптофан. Однако у человека скорость синтеза недостаточна, чтобы удовлетворить полностью потребность организма в этом витамине. У кошек витамин РР совсем не синтезируется.

Минеральные вещества

Ряд элементов, содержащихся в пище главным образом в форме минеральных солей или ионов, также относится к незаменимым пищевым веществам. По массе основную часть минеральных веществ пищи составляют хлориды, фосфаты и карбонаты натрия, калия, кальция и магния. Кроме того, абсолютно необходимы микроэлементы, называемые так потому, что они требуются в малых количествах: это железо, цинк, медь, марганец, молибден, иод, селен (см. табл. 25). Кобальт поступает в организм человека не в форме минеральных солей, а в составе готового витамина В₁₂.

Микроэлементы поступают в организм главным образом с водой и растительной пищей. Недостаточность микроэлементов у человека возникает сравнительно редко. Исключение составляют недостаточность железа, проявляющаяся в форме железодефицитной анемии (см. гл. XX), и недостаточность иода в местностях, где почва и вода содержат мало этого элемента (см. гл. XVII).

МЕТАБОЛИЗМ

Напомним, что вещества в организме последовательно превращаются сначала в один метаболит, из которого образуется другой, и т. д. Такие последовательности превращений называются *метаболическими путями*. Метаболизм — это совокупность всех метаболических путей; она может быть представлена в форме карты метаболизма.

Катаболизм и анаболизм

В метаболизме выделяют два основных направления превращений веществ — *катаболизм* и *анаболизм* (рис. 63). При катаболизме органические вещества распадаются в конечном счете

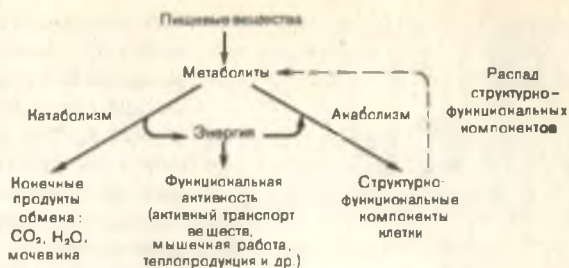


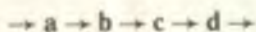
Схема катаболизма и анаболизма

до диоксида углерода и воды. Процесс катаболизма экзергонический. Анаболизм — это превращение более простых веществ в более сложные, служащие структурно-функциональными компонентами клетки, такие, как коферменты, гормоны, белки, нуклеиновые кислоты и др. Многие реакции анаболизма относятся к числу эндергонических; источником энергии для них служит процесс катаболизма. Кроме того, энергия катаболизма используется для обеспечения функциональной активности клетки (двигательной и других).

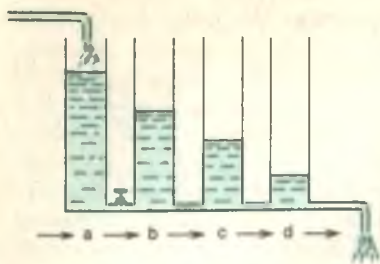
Структурно-функциональные компоненты клеток непрерывно обновляются. В организме постоянно происходят и распад, и синтез структурно-функциональных компонентов; образующиеся при распаде метаболиты могут подвергаться катаболизму или вновь используются для синтеза структурно-функциональных компонентов. В растущем организме скорость образования структурно-функциональных компонентов превышает скорость распада, и общая их масса увеличивается. У взрослого человека скорости этих процессов одинаковы.

Стационарные концентрации метаболитов

Обмен веществ протекает непрерывно. В результате питания организм получает все новые количества исходных веществ, подвергающихся метаболическим превращениям; из организма постоянно выводятся конечные продукты метаболизма. Таким образом, организм представляет собой термодинамически открытую химическую систему. Простейший пример метаболической системы — отдельная неразветвленная метаболическая цепь:



При постоянном потоке веществ в такой системе устанавливается динамическое равновесие, когда скорость образования каждого метаболита равна скорости его расходования. Это значит, что концентрация каждого метаболита сохраняется постоянной. Такое состояние системы называют стационарным, а концентрации веществ в этом состоянии — стационарными концентрациями. На рис. 64 представлена гидродинамическая модель неразветвлен-



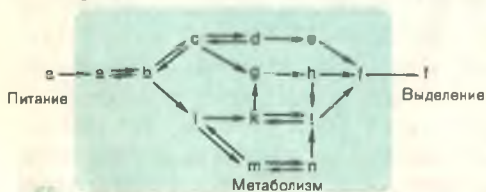
64
Гидродинамическая модель стационарного состояния в неразветвленном метаболическом пути

жидкости во всех цилиндрах, и скорость протекания жидкости через всю систему: система перешла в новое стационарное состояние. Аналогичные переходы происходят и в метаболических процессах в живой клетке.

Регуляция концентрации метаболитов

Обычно в метаболической цепи есть реакция, протекающая значительно медленнее, чем все другие реакции, — это лимитирующая стадия пути. На рисунке такую стадию моделирует узкая соединительная трубка между первым и вторым цилиндрами. Лимитирующая стадия определяет общую скорость превращения исходного вещества в конечный продукт метаболической цепи. Часто фермент, катализирующий лимитирующую реакцию, является регуляторным ферментом: его активность может изменяться при действии клеточных ингибиторов и активаторов. Таким путем обеспечивается регуляция метаболического пути. На рис. 63 переходная трубка с заслонкой между первым и вторым цилиндрами моделирует регуляторный фермент: поднимая или опуская заслонку, можно переводить систему в новое стационарное состояние, с другой общей скоростью протекания жидкости и другими уровнями жидкости в цилиндрах.

В разветвленных метаболических системах регуляторные ферменты обычно катализируют первые реакции в



65
Схема обмена веществ

месте разветвления, например реакции $b \rightarrow c$ и $b \rightarrow i$ на рис. 65. Этим обеспечивается возможность независимой регуляции каждой ветви метаболической системы.

Многие реакции метаболизма обратимы; направление их протекания в живой клетке определяется расходом продукта в последующей реакции или удалением продукта из сферы реакции, например путем экскреции (рис. 65).

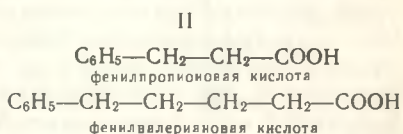
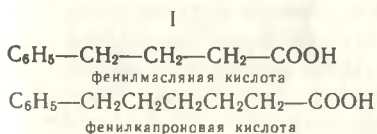
При изменениях состояния организма (прием пищи, переход от покоя к двигательной активности и др.) концентрация метаболитов в организме изменяется, т. е. устанавливается новое стационарное состояние. Однако в одинаковых условиях, например после ночного сна (до завтрака), они примерно одинаковы у всех здоровых людей; за счет действия регуляторных механизмов концентрация каждого метаболита поддерживается на характерном для него уровне. Средние значения этих концентраций (с указанием пределов колебаний) служат одной из характеристик нормы. При болезнях стационарные концентрации метаболитов изменяются, причем эти изменения часто бывают специфичными для той или иной болезни. На этом основаны многие биохимические методы лабораторной диагностики болезней.

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

Для изучения обмена веществ применяют два подхода: исследования на целом организме (эксперименты *in vivo*) и исследования на изолированных частях организма — дезинтегрирующие методы (эксперименты *in vitro*, т. е. вне организма, в пробирке или других лабораторных сосудах).

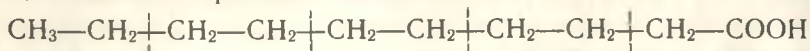
Исследования на целом организме

Классический пример исследований на целом организме, проведенных еще в начале нашего века, составляют эксперименты Кноопа. Он изучал способ распада жирных кислот в организме. Для этого Кнооп скормил собакам различные жирные кислоты с четным (I) и нечетным (II) числом атомов углерода, в которых один атом водорода в метильной группе был замещен на фенильный радикал C_6H_5 :



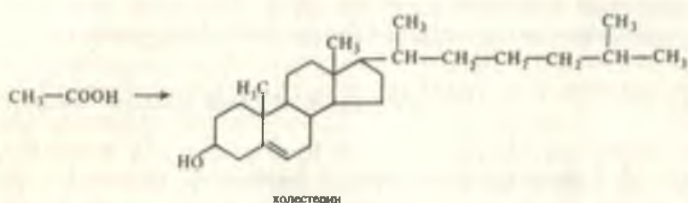
В первом случае с мочой собак всегда выводилась фенилуксусная кислота $C_6H_5-CH_2-COOH$, а во втором — бензойная кислота C_6H_5-COOH . На основании этих результатов Кнооп сделал вывод, что распад жирных кислот в организме происходит

путем последовательного отщепления двууглеродных фрагментов, начиная с карбоксильного конца:



Позднее этот вывод был подтвержден другими методами (см. гл. X).

По существу в этих исследованиях Кнооп применил метод мечения молекул: он использовал в качестве метки фенольный радикал, не подвергающийся изменениям в организме. Начиная примерно с 40-х годов XX в. получило распространение применение веществ, молекулы которых содержат радиоактивные или тяжелые изотопы элементов. Например, скармливая экспериментальным животным разные соединения, содержащие радиоактивный углерод (^{14}C), установили, что все атомы углерода в молекуле холестерина происходят из углеродных атомов ацетата:



(подробнее о синтезе холестерина см. гл. X). С помощью изотопной метки изучают также время полужизни белков и других соединений, т. е. скорость обновления тканей.

В исследованиях на целых организмах изучают и потребности организма в пищевых веществах: если устранение из рациона какого-либо вещества приводит к нарушению роста и развития или физиологических функций организма, значит, это вещество является незаменимым пищевым фактором. Сходным образом определяют и необходимые количества пищевых веществ.

Дезинтегрирующие методы

При использовании дезинтегрирующих методов объектами исследования являются изолированные части организма — отдельные органы, срезы тканей, субклеточные фракции, вплоть до очень простых биохимических систем, например таких, как система, содержащая индивидуальный фермент и его субстрат, или система из фермента, субстрата и аллостерического ингибитора. Разумеется, эти методы имеют ценность только как этап, необходимый для решения конечной цели — понимания функционирования целого организма.

Изолированные органы. Если в артерию изолированного органа вводить раствор какого-либо вещества и анализировать вещества в жидкости, вытекающей из вены, то можно установить, каким превращениям подвергается это вещество в

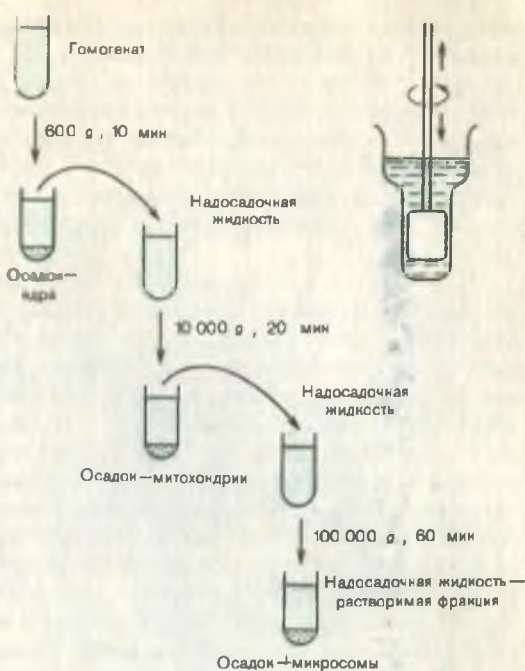
органе. Например, таким путем было найдено, что в печени за счет азота аминокислот образуется мочевины. Сходные опыты можно проводить на органах без их выделения из организма (метод артерио-венной разницы): в этих случаях кровь для анализа отбирают с помощью канюль, вставленных в артерию и вену органа, или с помощью шприца. Таким путем, например, можно установить, что в крови, оттекающей от работающих мышц, увеличена концентрация молочной кислоты, а протекая через печень, кровь освобождается от молочной кислоты.

Срезы тканей. Срезы — это тонкие кусочки тканей, которые

изготавливаются с помощью микротомы или просто бритвенного лезвия. Срезы инкубируют в растворе, содержащем питательные вещества (глюкозу или другие) и вещество, превращения которого в клетках данного типа хотят выяснить. После инкубации анализируют продукты метаболизма исследуемого вещества в инкубационной жидкости. Применение срезов ограничивается тем, что клеточные мембраны непроницаемы для многих веществ.

Гомогенаты тканей. Гомогенаты — это бесклеточные препараты. Их получают путем разрушения клеточных мембран растиранием ткани с песком или в специальных приборах — гомогенизаторах (рис. 66). В гомогенатах нет барьера непроницаемости между добавляемыми субстратами и ферментами.

Фракционирование гомогенатов. Из гомогената можно выделить субклеточные частицы как надмолекулярные (клеточные органеллы), так и отдельные соединения (ферменты и другие белки, нуклеиновые кислоты, метаболиты). Например, с помощью дифференциального центрифугирования можно получить фракции ядер, митохондрий, микросом (микросомы — это фрагменты эндоплазматического ретикулыма). Эти органеллы различаются размерами и плотностью и поэтому осаждаются



Фракционирование гомогената методом ультрацентрифугирования

при разных скоростях центрифугирования. После осаждения микросом в надосадочной жидкости остаются растворимые компоненты клетки — растворимые белки, метаболиты. Каждую из этих фракций можно разными методами фракционировать дальше, выделяя составляющие их компоненты. Из выделенных компонентов можно реконструировать биохимические системы, например простую систему «фермент + субстрат» и такие сложные, как системы синтеза белков и нуклеиновых кислот, описанные в гл. III.

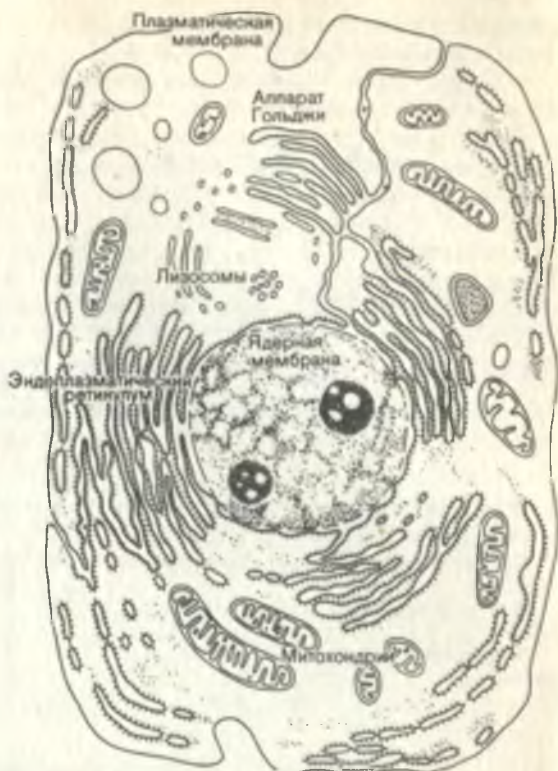
Особенности изучения биохимии человека. В молекулярных процессах разных организмов, населяющих Землю, имеется далеко идущее сходство. Такие фундаментальные процессы, как матричные биосинтезы, механизмы трансформации энергии, основные пути метаболических превращений веществ примерно одинаковы у организмов от бактерий до высших животных. Поэтому многие результаты исследований, проведенных с кишечной палочкой, оказываются применимыми и к человеку. Чем больше филогенетическое родство видов, тем больше общего в их молекулярных процессах. Подавляющую часть знаний о биохимии человека получают таким путем: исходя из известных биохимических процессов у других животных, строят гипотезу о наиболее вероятном варианте данного процесса в организме человека, а затем проверяют гипотезу прямыми исследованиями клеток и тканей человека. Такой подход позволяет проводить исследования на небольшом количестве биологического материала, получаемого от человека. Чаще всего используют ткани, удаляемые при хирургических операциях, клетки крови (эритроциты и лейкоциты), а также клетки тканей человека, выращиваемые в культуре *in vitro*.

Изучение наследственных болезней человека, необходимое для разработки эффективных методов их лечения, одновременно дает много информации о биохимических процессах в организме человека. В частности, врожденный дефект фермента приводит к тому, что в организме накапливается его субстрат; при изучении таких нарушений обмена иногда открывают новые ферменты и реакции, количественно незначительные (поэтому они и не были замечены при изучении нормы), которые имеют, однако, витальное значение.

Глава VII

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ

Мембраны — наиболее распространенные клеточные органеллы. Основными мембранными структурами клетки являются плазматическая мембрана, отделяющая клетку от соседних клеток или межклеточного вещества, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, митохондриальная и ядерная мембраны



67
Основные мембранные структуры клетки

(рис. 67). Каждая из этих мембран имеет существенные структурные особенности и выполняет специфические функции в клетке, но все они построены по единому типу.

Изучение биологических мембран необходимо для понимания таких процессов, как взаимодействие клеток при образовании тканей, питание клеток, фагоцитоз, секреция, трансформация энергии в клетке. Структура и функции мембран нарушаются при ряде заболеваний, и нередко составляют существенный этап патогенеза болезни.

СТРОЕНИЕ МЕМБРАН

Главные структурные компоненты мембран — это белки и липиды. В большинстве мембран содержится 50—75% белков; остальная часть приходится в основном на долю липидов. В плазматических мембранах обнаруживается до 10% углеводов, которые составляют углеводную часть гликопротеинов и глико-

липидов; в других мембранах углеводов значительно меньше (в 5—10 раз).

Следует отметить, что разнообразие мембран не исчерпывается перечисленными основными типами. Мембраны одного типа в клетках разной специализации неодинаковы. Например, плазматическая мембрана эритроцитов отличается от плазматической мембраны мышечных клеток. Более того, мембрана одного и того же типа в разных частях одной и той же клетки может быть неодинаковой. Например, плазматическая мембрана секретирующего конца клеток кишечного эпителия отличается от мембраны противоположного конца. Все мембраны имеют общий план строения, но различаются в деталях химического состава и структуры. В табл. 26 указан состав некоторых мембран.

Таблица 26. Состав некоторых клеточных мембран (%)

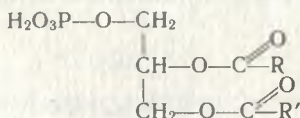
Мембраны	Белки	Фосфо- липиды	Холесте- рин	Угле- воды
Миелиновые мембраны (мозг человека)	18	60	19	3
Плазматическая мембрана эритроцитов человека	49	32	11	8
Внутренняя мембрана митохондрий печени	76	22	2	—
Эндоплазматический ретикулум клеток печени	55	42	3	—

Липиды мембран

Липидам принадлежит главная роль в образовании мембран как клеточных структур: пластинчатая, «мембранная» форма и основные физико-химические свойства мембран определяются именно липидами. Основная часть липидов (до 90%) в мембранах представлена фосфолипидами, гликолипидами и холестерином.

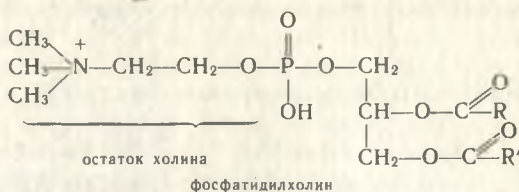
Фосфолипиды. В мембранах имеются фосфолипиды двух типов — глицерофосфолипиды и сфингофосфолипиды.

Глицерофосфолипиды. Эти липиды являются производными фосфатидной кислоты (диацилглицеринфосфата):



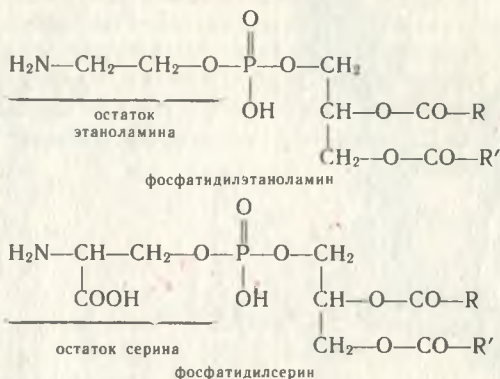
(здесь R и R' — углеводородные радикалы жирных кислот). В состав фосфолипидов входят жирные кислоты — как насыщенные, так и ненасыщенные, с длиной углеродной цепи чаще всего от 16 до 20 углеродных атомов. Наиболее распространенные глицерофосфолипиды — это *фосфатидилхолины* (устаревшее на-

звание — лецитины). Их отличительной чертой является наличие в молекуле остатка холина, связанного с фосфорной кислотой;



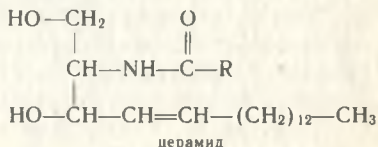
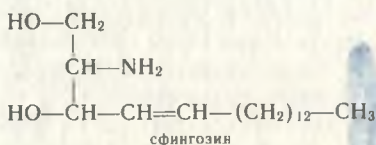
Фосфатидилхолинами называют группу соединений, отличающихся друг от друга природой жирнокислотных остатков (радикалов R).

По такому же типу построены и другие глицерофосфолипиды — *фосфатидилэтанолamines* и *фосфатидилсерины*, содержащие соответственно этаноламин и серин:



Глицерофосфолипиды в живой клетке могут превращаться друг в друга; остаток серина декарбоксилируется и превращается в остаток этаноламина; остаток этаноламина путем метилирования превращается в остаток холина (см. гл. X).

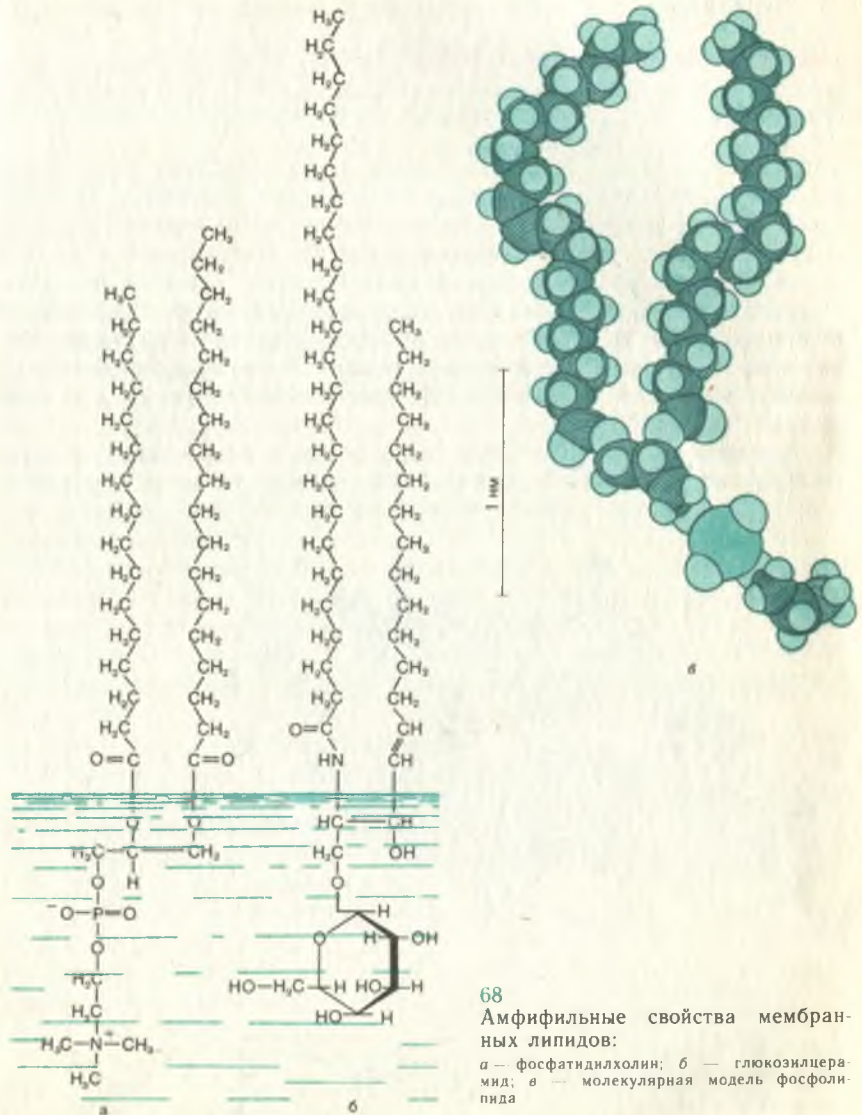
Сфингофосфолипиды (сфингомиелины). В эту группу входят липиды, содержащие аминокислотный спирт сфингозин; в остальных сфингофосфолипиды построены сходно с глицерофосфолипидами. Сфингофосфолипиды являются производными *церамидов* — N-ацильных производных *сфингозина*:



Здесь R — углеводородный радикал жирной кислоты, которая связана с аминокислотной группой сфингозина амидной связью. Церамиды — это группа соединений, различающихся по остатку жирной кислоты. В сфингофосфолипиде водород гидроксильной группы

Двойной липидный слой мембран

Характерной особенностью молекул фосфолипидов и гликолипидов является их амфифильность: один конец молекулы гидрофобный, другой — гидрофильный (рис. 68). Гидрофобный конец составляют углеводородные радикалы жирных кислот и сфингозина; он занимает большую часть длины молекулы — до $\frac{3}{4}$. Гидрофильный конец в гликолипидах образован углеводной частью, в фосфолипидах — фосфатным остатком с присоединенным к нему холином, этаноламином или серином. Вследствие





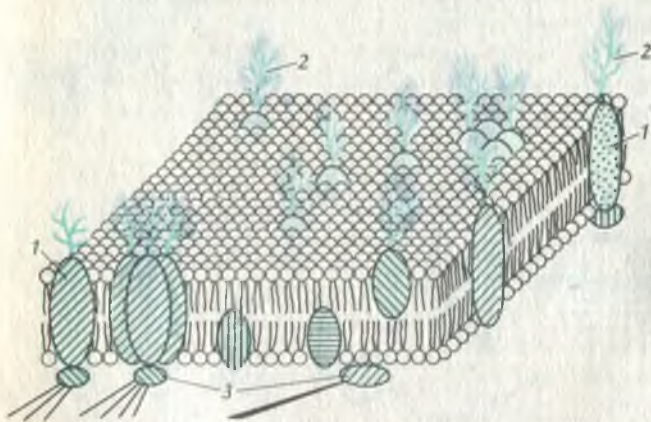
69

Структуры, образуемые амфифильными липидами в водной среде:

1 — монослой молекул на поверхности воды; 2 — мицелла; 3 — бимолекулярный слой, окружающий каплю воды (липосома); 4 — монослой амфифильных липидов на поверхности капли неамфифильного липида; 5 — схема строения сложной липосомы; 6 — локализация холестерина в липидном бислое

амфифильности эти липиды в водной среде образуют многомoleкулярные структуры с упорядоченным расположением молекул (рис. 69): гидрофобные части вытесняются из водной среды и взаимодействуют друг с другом (как бы растворяются друг в друге), а гидрофильные части контактируют с водой и гидратируются (как бы растворяются в воде). Именно эта особенность строения и физико-химических свойств определяет роль фосфолипидов и гликолипидов в построении биологических мембран: основу мембран составляет бимолекулярный липидный слой (рис. 70).

Холестерин, хотя и содержит небольшую гидрофильную группу (гидроксил в положении 3), в основном является гидрофоб-



70

Схема строения биологических мембран:

белки (1) и липиды наружной поверхности содержат углеводные компоненты (2), обычно разветвленные олигосахариды. С внутренней поверхностью мембраны контактируют белки (3), соединенные со скелетными и сократительными структурами клетки — микрофибриллами и микротрубочками

ным, его амфифильность выражена слабо. Молекула холестерина имеет вытянутую форму:



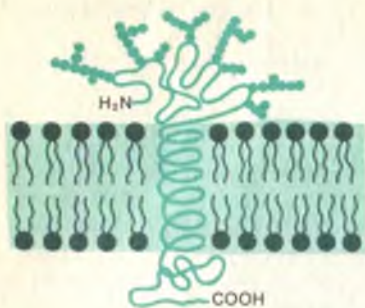
В мембранах молекулы холестерина находятся практически целиком в гидрофобной части бимолекулярного липидного слоя. При этом гидроксильная группа примыкает к гидрофильным головкам фосфолипидных молекул, а молекула холестерина в целом ориентирована параллельно гидрофобным цепям фосфолипидов (см. рис. 69). Холестерин в значительных количествах содержится в плазматических мембранах (в некоторых клетках до 50% от всех липидов); во внутриклеточных мембранах его гораздо меньше (см. табл. 26).

Белки мембран

Белки могут быть частично или полностью погружены в мембрану (интегральные белки) или расположены на ее поверхности (периферические белки). Погруженная часть интегральных белков гидрофобна — содержит большое количество аминокислот с гидрофобными радикалами. Гидрофобные взаимодействия обеспечивают удерживание белков в липидном слое мембраны и их определенную ориентацию: белок с гидрофильной выступающей частью не может повернуться этой частью в гидрофобный слой.

Часть мембранных белков представлена углеводсодержащими белками — гликопротеинами. Гликопротеины обнаруживаются преимущественно в плазматических мембранах. Углеводную часть (простетическую группу) этих белков составляют ковалентно присоединенные моносахаридные остатки или олигосахаридные цепи.

Некоторые интегральные белки прошивают мембрану насквозь, выступая за ее пределы по обе стороны. Примером может служить углеводсодержащий белок гликофорин, входящий в состав плазматической мембраны эритроцитов. На его долю в этой мембране приходится около 10% от всех белков. Гликофорин построен из одной полипептидной цепи, содержащей примерно 200 аминокислотных остатков; к пептиду присоединено около 20 олигосахаридных цепей длиной до 12 моносахаридов. Углеводы составляют примерно половину всей массы гликопротеина. Все углеводные цепи сосредоточены на N-концевой части молекулы, захватывающей несколько меньше половины пептидной цепи гликофорина. Далее следует гидрофобный участок цепи, примерно из 30 аминокислот, имеющий конформацию α -спирали; именно этот участок прошивает насквозь мембрану.



71
Гликофорин в мембране эритроцита

При этом гидрофильная концевая часть с углеводами оказывается на наружной поверхности мембраны, а С-концевая часть, тоже гидрофильная, но без углеводных цепей, — на внутренней поверхности (рис. 71).

Белковый состав разных мембран различен. Например, плазматическая мембрана клеток печени содержит десятки разных белков, а в состав мембраны наружных сегментов палочек сетчатки глаза входит только один белок — родопсин (зрительный пурпур).

В мембране эритроцитов белки занимают 25% поверхности мембраны; остальные 75% приходятся на липиды. В некоторых других мембранах площадь, занимаемая белками, больше — до $\frac{2}{3}$ всей поверхности.

Белки мембран выполняют разные функции: это могут быть и структурные белки, и ферменты, и белки, осуществляющие трансмембранный перенос веществ, и рецепторы гормонов или других регуляторов функций клетки. Упомянутый выше родопсин зрительных палочек улавливает свет: это первый акт в цепочке молекулярных событий, ведущих к зрительному ощущению.

Асимметрия мембран

Все мембранные структуры клетки замкнуты: они ограничивают некоторый объем (полость мембраны) от среды или других частей клетки. Это очевидно в тех случаях, когда мембранная структура имеет простую геометрическую форму, приближающуюся к сферической, например такую, как форма плазматической или ядерной мембраны. Но это справедливо и для мембран со сложной конфигурацией, таких, как мембраны митохондрий, эндоплазматического ретикулума, аппарата Гольджи. Следовательно, каждая мембрана имеет внутреннюю и внешнюю поверхности.

Поверхности одной и той же мембраны различаются по составу липидов, белков и углеводов (поперечная асимметрия). Например, в плазматической мембране эритроцитов в наружном монослое двойного липидного слоя преобладают фосфатидилхолины, а во внутреннем — фосфатидилэтаноламины и фосфатидилсерины. Углеводные части гликолипидов и гликопротеинов выходят на наружную поверхность, иногда сбразую сплошное покрытие клетки — так называемый гликокаликс; на внутренней поверхности углеводы отсутствуют. Белки — рецепторы гормонов располагаются на наружной поверхности плазматической

мембраны, а регулируемая ими аденилатциклаза — на внутренней (см. гл. II). В дальнейшем будут рассмотрены и другие случаи структурной и функциональной асимметрии мембран.

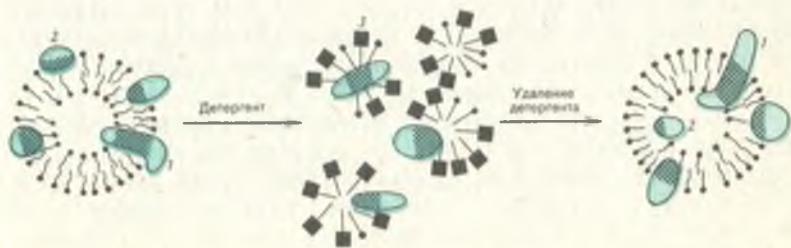
Жидкость мембран

Двойной липидный слой имеет жидкокристаллическую структуру; положение молекул липидов упорядочено, однако они сохраняют способность к диффузии в пределах слоя параллельно поверхности мембраны (латеральная диффузия). Иначе говоря, липидный слой ведет себя как двумерная жидкость. Молекулы белков также способны к латеральной диффузии: они как бы плавают в липидном слое. Однако размеры молекул белков ограничивают скорость их диффузии, кроме того, во многих мембранах белки расположены достаточно тесно (занимают половину, а то и $\frac{2}{3}$ всей площади поверхности мембраны). Что касается поперечной диффузии в мембранах, то она возможна лишь в ограниченных размерах.

Самосборка мембран

Существуют методы выделения клеточных мембран, позволяющие изучать их в упрощенных условиях. Удобным объектом для исследований оказались мембраны эритроцитов. Если эритроциты поместить в гипотонический раствор, они набухают в результате осмотического переноса воды внутрь клетки, мембрана лопается, содержимое выходит в раствор и остаются пустые мембраны — «тени» эритроцитов. Методом центрифугирования в определенных условиях из такой смеси можно выделить чистые мембраны.

Если тени эритроцитов поместить в раствор детергента, то мембраны разрушаются; при достаточной концентрации детергента все молекулы мембраны включаются в мицеллы детергента (рис. 72). Если теперь каким-либо способом удалить детер-



72

Разрушение и самосборка мембран:

в центре мицеллы, образованные детергентом (3) и компонентами мембраны. После самосборки (справа) ориентация белка 1 изменилась, а белок 2 оказался на внутренней поверхности мембраны

гент, то компоненты мембран вновь объединяются и образуются мембранные пузырьки.

Мембраны всегда существуют в форме замкнутых структур. Это объясняется тем, что на открытом краю мембраны поверхностное натяжение больше, чем в других местах, и края стягиваются вплоть до слияния в одной точке (подобно тому, как стягивается шнурком рюкзак). В живой клетке все мембраны тоже замкнуты, но их форма часто отличается от сферической.

Процесс самосборки мембран, по существу, мало отличается от самосборки других клеточных структур, таких, как олигомерные белки, микротрубочки, рибосомы и др. И в том и в другом случае молекулы, участвующие в самосборке, имеют такое строение, что минимуму свободной энергии отвечает не произвольное их размещение, а определенное, упорядоченное расположение в соединении друг с другом. Иначе говоря, и информация о структуре, и энергия, необходимая для ее построения, содержатся в самих строительных блоках. Однако физические силы, участвующие в самосборке белковых структур, более разнообразны, чем при самосборке мембран: в последнем случае преобладающее значение имеют гидрофобные взаимодействия между компонентами мембраны и гидрофильные взаимодействия этих компонентов с окружающей водной средой.

Надо отметить, что при самосборке мембран *in vitro* может утрачиваться поперечная асимметрия (см. рис. 71). Асимметричность мембран в живой клетке является результатом компартиментализации ферментов и метаболических процессов, которая создается теми же мембранами и, кроме того, специальными механизмами переноса веществ из мест их синтеза в места, где они функционируют.

Процесс, аналогичный описанной выше самосборке мембран, используют для создания искусственных мембранных пузырьков — *протеолипосом* — с заданным составом. Для этого выбранные липиды и белки растворяют в растворе детергента, а затем детергент удаляют диализом. При этом можно получить и асимметричные мембраны: если белок, имеющий гидрофильную и гидрофобную части, добавить к суспензии уже готовых липосом, то он будет включаться только в наружную поверхность липосомы. Липосомы широко используют для моделирования и изучения свойств мембран. Изучается возможность применения липосом в качестве капсул для введения в организм лекарств. Липосомы, введенные через желудочно-кишечный тракт, попадают в кровь, а затем улавливаются органами (главным образом печенью и селезенкой) и разрушаются в их клетках. Путем подбора мембранных компонентов можно получить липосомы, избирательно задерживающиеся в том или ином органе; с помощью таких липосом можно направить лекарство точно по адресу — в пораженный орган. Эти исследования пока проводятся в экспериментах на животных.



ТРАНСМЕМБРАННЫЙ ПЕРЕНОС ВЕЩЕСТВ

Клеточные мембраны создают существенные ограничения для перемещения веществ, но не являются наглухо закрытыми перегородками. Одна из главных функций мембран — регуляция переноса веществ. Например, плазматическая мембрана должна впустить в клетку и удержать вещества, которые нужны клетке, и освободиться от ненужных. Через мембраны клетки в одно и то же время в обоих направлениях проходят сотни разных веществ. Различают три способа переноса веществ через мембраны — простую диффузию, облегченную диффузию и активный транспорт.

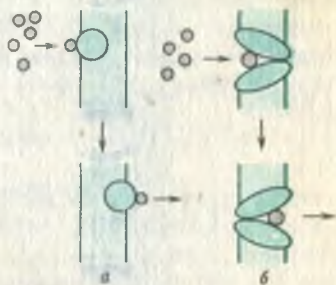
Простая диффузия

Небольшие нейтральные молекулы типа H_2O , CO_2 , O_2 , а также гидрофобные низкомолекулярные органические вещества могут диффундировать через мембрану без участия каких-либо специальных механизмов. Если существует трансмембранный градиент концентраций вещества (концентрация по одну сторону мембраны больше, чем по другую), то скорость диффузии в сторону меньшей концентрации будет больше, чем в обратном направлении, и перенос веществ будет происходить, пока сохранился градиент концентрации.

Облегченная диффузия

При облегченной диффузии вещества переносятся через мембрану также по градиенту концентрации, но с помощью специальных мембранных белков-переносчиков (транслоказы, пермеазы). Роль этих белков заключается в том, чтобы провести гидрофильное вещество через гидрофобный слой мембраны. Основные механизмы облегченной диффузии представлены на рис. 73. По-видимому, наиболее распространенным является перенос путем присоединения вещества к транслоказе и изменения ее конформации, в результате чего в мембране открывается гидрофильный канал и вещество освобождается с другой стороны мембраны (рис. 73, б).

Белок-переносчик имеет центр связывания, комплементарный переносимому веществу, поэтому для облегченной диффузии в отличие от простой, характерна высокая избирательность. Например, из мембран эритроцитов



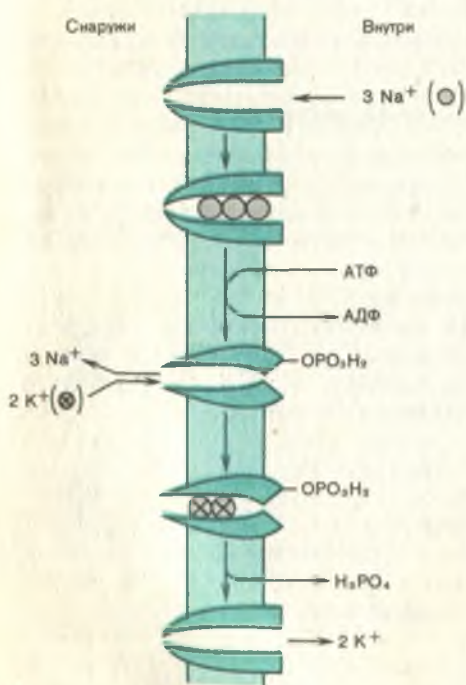
Возможные механизмы облегченной диффузии:

а — поперечная диффузия переносчика; б — канал, открывающийся после присоединения к переносчику транспортируемого вещества

человека был выделен переносчик глюкозы и включен в искусственные липосомы. Такие липосомы с большой скоростью переносят *D*-глюкозу из окружающего раствора внутрь, но не переносят *L*-глюкозу или другие вещества. Для каждого вещества или группы сходных веществ в клеточных мембранах имеется свой переносчик. Направленные потоки веществ путем простой и облегченной диффузии в живой клетке никогда не прекращаются, поскольку выравнивание концентраций никогда не достигается; вещества, поступающие в клетку, например кислород, глюкоза, используются в метаболических процессах, а их убыль постоянно восполняется в результате трансмембранного переноса.

Активный транспорт

В этом процессе в отличие от простой и облегченной диффузии перенос вещества совершается против градиента концентрации. Таким способом происходит перенос многих минеральных ионов из межклеточной жидкости в клетку или в обратном направлении, перенос аминокислот из просвета кишечника в клетки кишечника, перенос глюкозы из первичной мочи через клетки канальцев почки в кровь. Транспорт против градиента концентрации — несамопроизвольный процесс: он связан с расходом энергии.



Источником энергии может быть или гидролиз АТФ (первично-активный транспорт), или одновременный перенос другого вещества, которое движется по градиенту своей концентрации (вторично-активный транспорт).

Активный транспорт некоторых минеральных ионов происходит за счет энергии АТФ при участии *транспортных АТФаз*, или *ионных насосов*. Ионные насосы — это белковые устройства, способные избирательно присоединять переносимый ион и гидролизовать АТФ; при этом энергия гидролиза АТФ трансформируется в энергию разности концентраций ионов по сторонам мембраны.

Na, K-АТФаза. На рис. 74 представлен механизм действия Na, K-АТФазы (на-

триевого насоса). Присоединение к АТФазе трех ионов Na^+ (стадии 1 и 2) активирует фермент, и он катализирует расщепление АТФ, причем фосфатный остаток присоединяется к АТФазе. В результате происходит изменение конформации фермента: ионный канал закрывается с внутренней стороны мембраны и открывается с наружной (стадия 3); одновременно уменьшается (примерно в 10 раз) сродство центров связывания к иону Na^+ . Ионы Na^+ покидают фермент, а к нему (к специальным центрам связывания) присоединяются ионы K^+ (стадия 4). Ионы K^+ так изменяют фермент, что происходит гидролитическое отщепление фосфатного остатка от фермента. В результате вновь изменяется конформация фермента: ионный канал закрывается с наружной стороны и открывается с внутренней, сродство к ионам K^+ снижается, и они освобождаются в цитозоль (стадия 5). Энергия гидролиза АТФ нужна именно для того, чтобы изменять сродство к ионам по разные стороны мембраны.

За полный цикл работы насоса из клетки в межклеточное вещество переносятся три иона Na^+ , а в обратном направлении — два иона K^+ . Поскольку перенос катионов неэквивалентен, одновременно с разностью их концентраций возникает и разность электрических потенциалов, т. е. натриевый насос работает в электрогенном режиме. Разность потенциалов совсем небольшая, меньше 0,1 В. Однако расстояние между заряженными областями тоже очень мало, поэтому напряженность электрического поля получается значительной — порядка 100 000 В/см. Так образуется *трансмембранный электрохимический потенциал* $\Delta\mu$, который складывается из энергии разности электрических потенциалов $\Delta\psi$ и энергии разности концентраций веществ Δc по сторонам мембраны:

$$\Delta\mu = F\Delta\psi + RT\Delta\ln c$$

(F — число Фарадея; R — газовая постоянная; T — температура).

Натриевый насос локализован в плазматической мембране клеток и имеется, по-видимому, во всех клетках. В результате его действия создается разность концентраций ионов между цитозолем и межклеточной жидкостью. Например, концентрация ионов в мышечной ткани (ммоль/л):

внутриклеточная: Na^+ — 13; K^+ — 150;

внеклеточная: Na^+ — 120; K^+ — 5.

Ионы Na^+ и K^+ в некоторой степени способны проходить через мембрану и путем простой диффузии. Эта диффузия ведет к уменьшению разности концентраций. Для поддержания градиента на постоянном уровне Na, K -АТФаза должна работать непрерывно, чтобы компенсировать постоянную утечку ионов.

Концентрация органических веществ внутри клетки обычно больше, чем в межклеточной жидкости. Многие из этих веществ, включая все макромолекулы, не могут свободно проходить через мембрану, и поэтому вследствие осмоса вода стремится проник-

нуть внутрь клетки. Если для этого нет препятствий, то клетка набухает, внутриклеточное давление увеличивается и происходит разрыв мембраны (осмотический шок). Одна из важных функций натриевого насоса как раз и заключается в создании препятствия для набухания клетки: его работа приводит к такому распределению ионов, что по обе стороны мембраны образуется разность потенциалов, которая уравнивает избыток концентрации веществ внутри клетки (*равновесие Доннана*).

Например, при наследственной микросфероцитарной гемолитической анемии имеется врожденный дефект эритроцитов — их мембрана более проницаема для ионов, чем в норме. В эритроцитах этих больных Na, K-АТФаза работает с большей интенсивностью, расходуется значительное количество АТФ, и все же в результате высокой скорости простой диффузии внутриклеточная концентрация ионов Na^+ выше, чем в норме, соответственно в эритроциты проникает больше воды, т. е. они набухают и принимают характерную для этой болезни сферическую форму. Такие эритроциты менее стабильны, они с большей скоростью, чем нормальные, разрушаются в селезенке, что и является непосредственной причиной малокровия.

Натриевый насос участвует также в создании градиента концентрации ионов, необходимого для передачи нервного импульса, и в переносе через мембрану кроме ионов Na^+ и K^+ еще и других веществ (симпорт и антипорт, см. ниже).

В условиях эксперимента ионные насосы могут работать в обратном направлении, т. е. синтезировать АТФ из АДФ и H_3PO_4 за счет энергии градиента концентраций ионов. Например, в опытах с выделенными плазматическими мембранами (мембранными пузырьками) можно искусственно создать высокий градиент концентраций ионов между содержимым пузырька и внешним раствором. В этом случае ионы начинают перемещаться через Na, K-АТФазу по градиенту концентрации, и все стадии процесса, изображенного на рис. 74, протекают в обратном направлении. В результате энергия (электрохимический потенциал) искусственно созданного градиента ионов трансформируется в энергию высокоэнергетических связей АТФ.

Са-АТФаза. В мембранах многих клеток есть Са-АТФаза, которая за счет энергии АТФ переносит ионы Ca^{2+} против градиента концентрации (два иона на одну молекулу гидролизуемой АТФ).

Концентрация кальция во внеклеточной жидкости значительно больше, чем внутри клетки: например, в плазме крови 3 ммоль/л, а в эритроцитах меньше 0,001 ммоль/л. Более чем тысячекратная разница в концентрации поддерживается действием кальциевого насоса плазматических мембран.

В саркоплазматическом ретикулуме Са-АТФаза составляет больше половины всех белков мембраны; она является частью механизма, регулирующего цикл сокращения — расслабления мышечного волокна (см. гл. XXI).

H⁺-АТФазы. В некоторых внутриклеточных мембранах есть транспортные АТФазы, функционирующие как протонные насосы: они перекачивают через мембрану ионы водорода. При этом возникает и разность концентраций протонов (разность рН), и разность электрических потенциалов, в совокупности образующих протонный электрохимический потенциал $\Delta\mu_{H^+}$:

$$\Delta\mu_{H^+} = F\Delta\psi + RT\Delta\ln [H^+] = F\Delta\psi - 2,3RT\Delta pH.$$

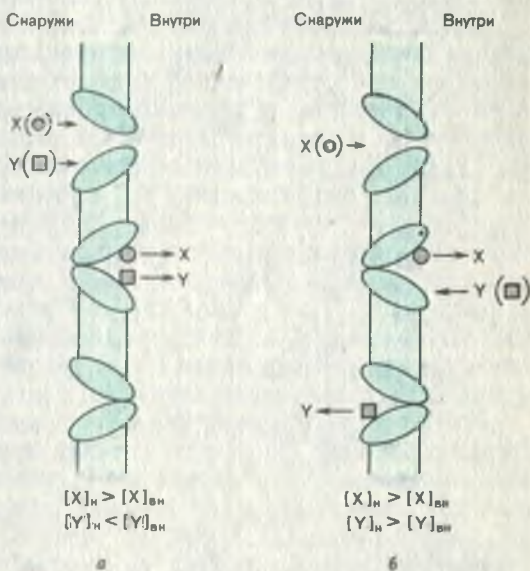
За счет действия H⁺-АТФазы создается кислая среда в некоторых отсеках клетки (например, в лизосомах, в секреторных гранулах хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечников).

В мембране митохондрий есть белок, который в экспериментах *in vitro* может создавать трансмембранный градиент концентраций H⁺ за счет энергии гидролиза АТФ, т. е. действует как протонный насос. Однако в живой клетке функция этого белка противоположна: за счет градиента концентрации H⁺ он синтезирует АТФ, поэтому его называют H⁺-АТФ-синтетаза (см. гл. VIII).

Симпорт и антипорт. Активный перенос вещества через мембрану может осуществляться за счет энергии градиента концентрации другого вещества. Переносчик в этом случае имеет специфические центры связывания для обоих веществ (рис. 75). Если концентрация вещества X снаружи больше, чем внутри, оно может перемещаться

путем облегченной диффузии. Переносчик имеет центр связывания и для вещества Y, которое транспортируется попутно с веществом X (*симпорт*), причем вещество Y может транспортироваться и против градиента своей концентрации. Сходным образом происходит и *антипорт* — перемещение вещества против градиента своей концентрации в направлении, противоположном перемещению другого вещества по его градиенту концентрации (рис. 75, б).

Симпорт и антипорт могут происходить за



Симпорт (а) и антипорт (б)

счет энергии градиента концентрации ионов Na^+ , создаваемого Na, K-ATФазой . Таким способом происходит, например, всасывание аминокислот из кишечника и глюкозы из первичной мочи. Следовательно, в этих случаях первичным источником энергии служит АТФ: сначала энергия гидролиза АТФ трансформируется в энергию трансмембранного градиента концентрации Na^+ , а затем энергия этого градиента используется для переноса аминокислот или глюкозы (вторично-активный транспорт).

В хромаффинных клетках мозгового вещества надпочечников, в специальных секреторных гранулах накапливаются гормоны адреналин и норадреналин. Мембрана гранул содержит H^+ -АТФазу, переносящую протоны из цитозоля внутрь гранулы, в результате чего создается протонный электрохимический потенциал $\Delta\mu\text{H}^+$. Затем за счет энергии протонного электрохимического потенциала происходит перенос гормонов: в обмен на два протона, выходящих из гранулы по градиенту своей концентрации, из цитозоля внутрь гранулы транспортируется одна молекула гормона против градиента своей концентрации.

Для переноса углеводов, аминокислот и других метаболитов вторично-активный транспорт имеет, по-видимому, наибольшее значение по сравнению с другими механизмами.

Кинетика трансмембранного переноса

Скорость простой диффузии через мембрану линейно зависит от градиента диффундирующего вещества.

Для транспорта веществ с участием переносчиков (облегченная диффузия, активный перенос) характерна кинетика насыщения: при определенной (насыщающей) концентрации переносимого вещества в переносе принимают участие все молекулы переносчика и скорость транспорта достигает предельной величины ($V_{\text{макс}}$). Например, для переносчика глюкозы, обеспечивающего реабсорбцию глюкозы из первичной мочи, насыщающая концентрация глюкозы равна 180 мг/дл — почечный порог. Если концентрация глюкозы в крови больше 180 мг/дл, то часть ее остается в окончательной моче и выводится из организма (глюкозурия). При наследственной почечной глюкозурии почечный порог снижен, и глюкозурия начинается уже при концентрации глюкозы в крови около 150 мг/дл. По-видимому, это связано с дефектом переносчика глюкозы.

Известны ингибиторы трансмембранных переносчиков. Некоторые сердечные гликозиды ингибируют Na, K-ATФазу . Сердечные гликозиды — это группа лекарственных веществ, применяемых для лечения ряда заболеваний сердца. Один из них — убаин (строфантин G) — широко используется в исследованиях натриевого насоса. Убаин присоединяется к Na, K-ATФазе с наружной стороны плазматической мембраны. Используя меченый убаин, можно подсчитать количество молекул Na, K-ATФазы .

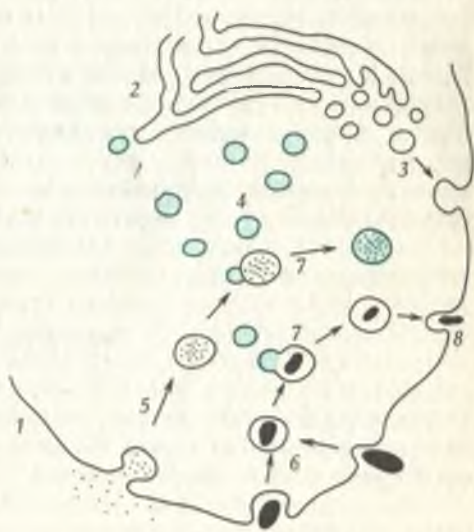
зы в мембране. В эритроцитах обнаруживается 100—200 молекул фермента на одну клетку; в других клетках содержится до миллиона молекул этого фермента на одну клетку.

Флоридзин — вещество из группы флавонолов, встречающееся в корнях некоторых растений, — при введении в организм вызывает глюкозурию. Это действие флоридзина обусловлено ингибированием переносчика глюкозы в клетках нефронов, вследствие чего замедляется или прекращается реабсорбция глюкозы в почечных канальцах.

Эндоцитоз

Эндоцитоз — очень распространенная функция клеток, заключающаяся в переносе веществ из среды в клетку вместе с частью плазматической мембраны, путем образования мембраной пузырьков. Таким путем в клетку вводятся как растворенные вещества (вместе с капелькой растворителя) — *пиноцитоз*, так и нерастворимые вещества (частицы) — *фагоцитоз*. Большинство клеток (если не все) способны к эндоцитозу. Особенно активны в этом отношении лейкоциты, макрофаги, клетки эндотелия капилляров.

Образование эндоцитозного пузырька (рис. 76) может начаться без каких-либо внешних сигналов: многие клетки образуют эндоцитозные пузырьки ритмично, с постоянной частотой, поглощая внеклеточную жидкость и содержащиеся в ней частицы. В других случаях эндоцитоз индуцируется при контакте мембраны с определенными веществами. Для некоторых веществ, являющихся нормальными компонентами организма, в мембране имеются специфические рецепторы, улавливающие из крови или межклеточной жидкости комплементарные им лиганды; присоединение лиганда к рецептору индуцирует эндоцитоз. Например, рецепторы плазматической мембраны гепатоцитов улавливают многие гликопротеины плазмы крови, а затем эти белки эндоцитируются (см. гл. IX). В лейкоцитах есть



76

Эндоцитоз и экзоцитоз:

1 — плазматическая мембрана; 2 — аппарат Гольджи; 3 — включение мембранного пузырька, образованного аппаратом Гольджи, в плазматическую мембрану; 4 — первичные лизосомы; 5 — пиноцитоз; 6 — фагоцитоз; 7 — образование вторичной лизосомы; 8 — экзоцитоз остаточного тельца

рецепторы для связывания иммуноглобулинов и их комплексов с антигенами.

В образовании эндоцитозного пузырька участвует ряд специальных белков. Белок клатрин накапливается на мембране с цитозольной стороны в месте эндоцитозного впячивания (получается так называемое окаймленное углубление). Движение мембраны осуществляется сократительными структурами клетки — микрофиламентами. Микрофиламенты содержат сократительные белки актин и миозин, сходные с актином и миозином мышц. В этом процессе участвуют также микротрубочки, построенные из белка тубулина.

Эндоцитоз — процесс, нуждающийся в энергии; источником энергии служит АТФ. Непосредственным потребителем энергии, вероятно, являются сокращающиеся микрофиламенты. По-видимому, присоединение лиганда к рецепторам изменяет их конформацию, после чего к ним присоединяются микрофибриллы, их сокращение приводит к впячиванию мембраны и отделению пузырька. Детали молекулярных механизмов эндоцитоза изучены недостаточно.

В результате эндоцитоза клетка поглощает значительные количества собственной плазматической мембраны. Например, фибробласты «съедают» половину своей мембраны за 1 ч, а макрофаги — даже за 15 мин. Конечно, эти потери компенсируются образованием новой мембраны с такой же скоростью, так что площадь поверхности клетки сохраняется постоянной. Синтез новой мембраны происходит в *аппарате Гольджи*. Аппарат Гольджи — тоже мембранная структура, морфологически представленная цистернами, полостями, трубочками разного размера. Синтез плазматической мембраны — одна из многих функций этого аппарата. В нем образуются компоненты мембраны, затем часть мембраны отщуровывается от аппарата Гольджи, образуя пузырек; этот пузырек перемещается к плазматической мембране и сливается с ней (см. рис. 76). Липидные компоненты мембраны могут также поставляться транспортными липопroteинами крови.

Лизосомы

Лизосомы — это клеточные органеллы, представляющие собой мембранные пузырьки, в которых находятся гидролитические ферменты. Набор гидролаз в лизосомах такой, что они могут деполимеризовать любой полимер, имеющийся в организме. Характерной особенностью содержимого лизосом является кислая реакция среды ($\text{pH} \approx 5$), в то время как в других частях клетки реакция близка к нейтральной. Кислая среда в лизосомах создается за счет действия H^+ -АТФазы в мембране, перекачивающей протоны внутрь лизосом. Лизосомы, как и плазматическая мембрана, образуются в аппарате Гольджи (первичные лизосомы).

Функция лизосом заключается в «переваривании», т. е. деполимеризации, как эндоцитируемых веществ — *гетерофагия*, так и собственных компонентов клетки — *аутофагия*.

Гетерофагия. Этот процесс является совокупным результатом эндоцитоза и действия лизосом. Эндоцитозные пузырьки в цитоплазме сливаются с первичными лизосомами, образуя вторичные лизосомы (см. рис. 76). Содержимое эндоцитозного пузырька во вторичной лизосоме деполимеризуется, и мономеры утилизируются клеткой. Иногда эндоцитируются вещества, которые не перевариваются ферментами лизосом: они сохраняются в лизосоме, образуя остаточное тельце. В некоторых случаях остаточные тельца могут удаляться из клетки путем слияния лизосомы с плазматической мембраной (экзоцитоз, рис. 76).

Наиболее известный пример гетерофагии связан с фагоцитозом бактерий: этот процесс — существенное звено механизмов защиты от инфекций. Некоторые микроорганизмы имеют поверхностную структуру (капсулу), которая препятствует их присоединению к лейкоцитам, и таким образом они избегают фагоцитирования. Однако при иммунном ответе образуются антитела к веществам капсулы бактерий; антитела покрывают поверхность бактерий, и они фагоцитируются лейкоцитами, имеющими рецепторы для иммуноглобулинов.

Микроорганизмы, паразитирующие внутриклеточно (возбудители проказы, туберкулеза, бруцеллеза и др.), а также некоторые вирусы используют механизм эндоцитоза для проникновения в клетки. Разрушающего действия лизосом они избегают разными способами: одни имеют ингибиторы, препятствующие слиянию эндоцитозных пузырьков с лизосомами, у других есть механизмы защиты от лизосомных ферментов, и они паразитируют внутри лизосом.

Хотя значение фагоцитоза патогенных организмов очевидно, однако основную массу эндоцитируемого и затем поступающего в лизосомы материала составляют собственные стареющие и погибающие клетки, клеточные фрагменты, растворенные макромолекулы организма. Например, у человека фагоциты каждый день удаляют из кровотока около $4 \cdot 10^{11}$ эритроцитов (1/120 часть всех эритроцитов). Пигментные эпителиальные клетки сетчатки эндоцитируют состарившиеся части наружных сегментов палочек. Нарушение этой функции пигментных клеток ведет к пигментозному ретиниту и слепоте. Таким образом, гетерофагия, вместе с пролиферацией клеток, обеспечивает обновление клеточных популяций организма.

Еще одна функция гетерофагии связана с питанием клетки. Всякий акт эндоцитоза и последующей деполимеризации в лизосомах пополняет клеточный фонд веществ. Кроме того, есть формы гетерофагии, специально направленные на доставку в клетки определенных веществ.

Аутофагия. Поглощение и переваривание в лизосомах «составившихся» или поврежденных молекул или органелл собствен-

ной клетки — необходимая часть их обновления наряду с образованием новых молекул и органелл. Не вполне ясно, как лизосомы захватывают внутриклеточный материал. Возможно, что он сначала включается в пузырьки, образуемые мембранами эндоплазматического ретикулума, а затем эти пузырьки сливаются с лизосомами.

При воспалительных процессах мембранные структуры клеток повреждаются, в том числе и мембраны лизосом. Лизосомные ферменты освобождаются и переваривают клетку; этот процесс может способствовать образованию язв. Разрушение соединительно-тканного матрикса при таких заболеваниях, как ревматоидный артрит, миодистрофия, инфаркт миокарда, связано с освобождением лизосомальных ферментов.

Если имеется врожденный дефект какого-либо лизосомного фермента, то его субстрат не деполимеризуется и накапливается в лизосомах (лизосомные болезни). Чаще всего лизосомные болезни связаны с нарушением распада полисахаридов (гликозидозы, см. гл. IX) или сложных липидов (липидозы, см. гл. X).

Секреция

Многие клетки синтезируют макромолекулы «на экспорт», т. е. для использования в других частях организма. К ним относятся белки и гетерополисахариды межклеточного матрикса, белки плазмы крови, пищеварительные ферменты, белковые гормоны, белки и липиды молока. Поскольку мембрана для макромолекул непроницаема, то их секреция происходит путем экзоцитоза, т. е. путем образования внутри клетки мембранных пузырьков, наполненных секретиремым веществом, и их опорожнения во внеклеточную среду. Таким же способом выделяются из клеток и некоторые низкомолекулярные вещества, накапливающиеся и хранящиеся внутри мембранных пузырьков, например адреналин в



77
Синтез и трансмембранный перенос секретиремых белков:
1 — мРНК в составе полирибосомы; 2 — гидрофобная N-концевая часть синтезируемого белка; 3 — пептидгидролаза, отщепляющая гидрофобный конец пептида; 4 — отщепленный гидрофобный пептид; 5 — готовый белок

клетках мозгового вещества надпочечников, нейромедиаторы в синапсах.

Секретируемые белки синтезируются на рибосомах шероховатой эндоплазматической сети. Как уже говорилось, все мембраны клетки образуют замкнутые структуры. Полость эндоплазматических мембран отделена от остальной части цитоплазмы. Рибосомы прикреплены к наружной поверхности мембран, а белки, предназначенные на экспорт, в ходе синтеза проникают через мембрану в цистерну (рис. 77).

Поскольку белки — вещества гидрофильные, для их проведения через гидрофобный слой мембраны необходимы специальные приспособления. Одно из таких приспособлений заключается в том, что секретируемый белок снабжается гидрофобным N-концевым участком. Этот гидрофобный конец проникает через мембрану, образуя канал, через который протягивается гидрофильная часть пептидной цепи (рис. 77). На внутренней поверхности мембраны (в полости цистерны) гидрофобная часть отщепляется специальным протеолитическим ферментом мембраны. По цистернам эндоплазматического ретикулула белки перемещаются в аппарат Гольджи, от которого отшнуровываются пузырьки, содержащие секретируемый белок (секреторные гранулы).

Многие секретируемые белки представляют собой гликопротеины; их углеводная часть синтезируется в ходе перемещения белка по цистернам эндоплазматического ретикулула и аппарата Гольджи. Секреторные гранулы сливаются с плазматической мембраной, освобождая содержимое наружу, т. е. происходит собственно экзоцитоз (конечная стадия секреции).

Есть и другой механизм экзоцитоза, характерный для секреции липидов, например при образовании молока в молочных железах. Жиры в клетках молочной железы образуют капли, свободно взвешенные в цитозоле. Приближаясь к плазматической мембране, жировые капли вызывают образование выпячивания, и в конечном счете от плазматической мембраны отшнуровывается пузырек, содержащий жир. Сходным образом покидают клетку некоторые вирусы; захваченный при этом кусочек плазматической мембраны хозяйской клетки становится оболочкой вириона на время его внеклеточного существования.

Глава VIII

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН

Человек, как и все гетеротрофные организмы, получает энергию за счет разложения органических веществ пищи. Органические вещества в условиях поверхности Земли являются термодинамически нестабильными — они самопроизвольно (необратимо) распадаются. Самопроизвольные процессы — это экзергонические процессы, т. е. они сопровождаются уменьшением

свободной энергии ($-\Delta G$), и по этой причине они могут служить источниками энергии для функционирования живой клетки. В результате самопроизвольного распада в конечном счете образуются термодинамически стабильные продукты. Такими конечными продуктами распада пищевых веществ в организме человека являются диоксид углерода и вода. Еще один из основных конечных продуктов обмена — это мочевина. Она не относится к числу термодинамически стабильных веществ; образование мочевины связано с энергетическим обменом лишь косвенно и служит для выведения избытка азота из организма, поэтому синтез мочевины подробнее рассматривается в связи с обменом аминокислот в гл. XI.

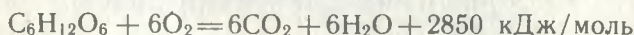
Термодинамически нестабильные вещества могут быть достаточно стабильными кинетически. Например, глюкоза вне организма может сохраняться столетиями, в то время как в организме человека ежесуточно распадается примерно 0,5 кг глюкозы. Кинетическая стабильность в живой клетке преодолевается в результате ферментативного катализа.

Основными веществами, за счет которых организм человека обеспечивается энергией, служат углеводы и жиры пищи (табл. 27). Меньшее значение имеют белки, однако при преимущественно белковом питании и при голодании их роль значительно возрастает.

Т а б л и ц а 27. Среднее суточное потребление энергии с основными пищевыми веществами у взрослого человека

Вещество	Удельная калорийность		Суточное потребление		
	ккал/г	кДж/г	г	ккал	кДж
Белки	4,1	17	80	328	1 360
Жиры	9,3	39	100	930	3 900
Углеводы	4,1	17	400	1640	6 800
Всего	—	—	580	2898	12 060

Распад глюкозы до конечных продуктов обмена можно представить следующим уравнением:



В углеводах, жирах и белках (аминокислотах) содержание кислорода меньше, чем в конечных продуктах их распада. Иначе говоря, катаболизм этих веществ связан с потреблением кислорода и реакциями окисления. В этом и состоит сущность дыхания, впервые объясненная Лавуазье (1777).

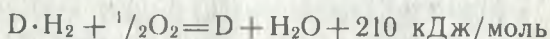
ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ

Распад органических веществ в живых тканях, сопровождающийся потреблением кислорода и выделением диоксида углерода, называют *тканевым дыханием*. Тканевое дыхание можно наблюдать, используя срезы тканей. Если срезы инкубировать в растворе глюкозы в замкнутом сосуде, то в растворе происходит убыль глюкозы, а в воздухе над жидкостью — убыль кислорода и прирост диоксида углерода. Интенсивность тканевого дыхания в разных тканях неодинакова (табл. 28).

Таблица 28. Потребление кислорода (Q_{O_2} , мкл/ч на 1 мг сухого вещества ткани) в разных тканях

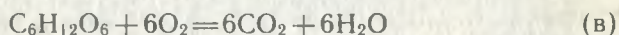
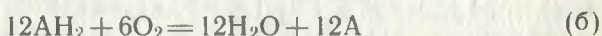
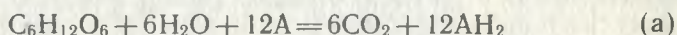
Ткань	Q_{O_2}	Ткань	Q_{O_2}
Сетчатка глаза	31	Легкие	8
Почки	21	Поджелудочная железа	6
Печень	15	Сердечная мышца (в покое)	5
Кора головного мозга	12	Скелетные мышцы (в покое)	3
Надпочечники	10	Кожа	0,8

Если этот опыт проводить в присутствии меченого кислорода, то обнаруживается, что весь потребляемый кислород включается в молекулы воды, в то время как в образующемся диоксиде углерода меченый кислород не содержится. Из этого следует, что вдыхаемый кислород используется для синтеза воды за счет водорода окисляемых субстратов (в нашем опыте глюкозы). Процесс можно представить следующим уравнением:



Здесь $D \cdot H_2$ — дегидрируемый субстрат, который служит донором водорода (дегидрируется), а кислород выполняет роль акцептора водорода (гидрируется).

Углерод окисляемых веществ превращается в диоксид углерода за счет кислорода самих окисляемых веществ и кислорода воды. Это можно доказать в опытах с применением органических веществ и воды, содержащих меченый кислород. Учитывая результаты приведенных здесь опытов, превращение глюкозы в конечные продукты можно представить уравнениями (а) и (б), которые в сумме дают уравнение (в):



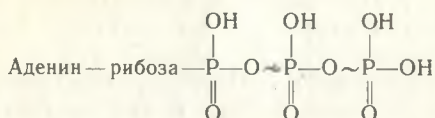
Уравнение (а) отражает суммарный результат сложного метаболического пути окисления глюкозы, который включает

много реакций и промежуточных продуктов. Некоторые промежуточные продукты являются субстратами дегидрогеназ: они дегидрируются, причем акцепторами водорода служат коферменты — переносчики водорода (в уравнениях они обозначены буквой А). Далее происходит перенос водорода с коферментов на кислород [уравнение (б)]. Это тоже многостадийный процесс, совершающийся при участии специальной ферментной системы в митохондриях.

Таким же способом — с участием реакций дегидрирования и последующего синтеза воды — окисляются и другие вещества (жиры, аминокислоты) при их использовании в качестве источников энергии.

ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ АДФ

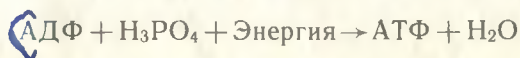
Энергия окисляющихся веществ используется для синтеза АТФ из АДФ. В молекуле АТФ имеются две высокоэнергетические (макроэргические) связи; в приведенной ниже формуле они изображены знаком ~ (тильда):



В молекуле АДФ только одна высокоэнергетическая связь; в результате синтеза АТФ путем окислительного фосфорилирования добавляется еще одна, т. е. энергия окисления субстрата трансформируется в энергию химических связей в молекуле АТФ.

Энергия, освобождающаяся при реакциях гидролиза разных веществ, обычно невелика. Если она превышает 30 кДж/моль, то гидролизуемую связь называют высокоэнергетической. Разумеется, эта граница между высокоэнергетическими и низкоэнергетическими соединениями условна. В табл. 29 приведены значения свободной энергии гидролиза некоторых соединений. Величины, приведенные в таблице, рассчитаны для рН 7,0 и стандартных условий, т. е. для концентрации веществ 1 моль/л, температуры 25°C, давления $1,01 \cdot 10^5$ Па (1 атм). Условия в живой клетке далеки от стандартных (особенно в отношении концентраций), поэтому свободная энергия гидролиза веществ в клетке может существенно отличаться от указанных в таблице. Кроме того, в разных отсеках клетки условия неодинаковы. Энергия гидролиза АТФ в зависимости от локализации в клетке может изменяться в пределах примерно от 40 до 60 кДж/моль; в среднем ее принято считать равной 50 кДж/моль.

Главный путь синтеза АТФ из АДФ — окислительное фосфорилирование. При этом АДФ фосфорилируется неорганическим фосфатом:



Т а б л и ц а 29. Энергия Гиббса гидролиза некоторых соединений

Соединение	Продукты реакции	$-\Delta G^{\circ}$, кДж/моль
Фосфоенолпируват	Пируват + H_3PO_4	61,9
1,3-Бисфосфоглицерат	3-Фосфоглицерат + H_3PO_4	54,5
Карбамоилфосфат	Карбамат + H_3PO_4	51,5
Ацетилфосфат	Ацетат + H_3PO_4	47,7
Креатинфосфат	Креатин + H_3PO_4	43,1
АТФ	АМФ + $H_4P_2O_7$	37,4
АТФ	АДФ + H_3PO_4	34,5
АДФ	АМФ + H_3PO_4	36,3
АМФ	Аденозин + H_3PO_4	9,6
$H_4P_2O_7$	$2H_3PO_4$	33,4
Ацетангидрид	2 Ацетат	48,9
Ацетил-КоА	Ацетат + $HS-CoA$	35,0
Сукцинил-КоА	Сукцинат + $HS-CoA$	43,5
Глицерофосфат	Глицерин + H_3PO_4	9,2
Глюкозо-6-фосфат	Глюкоза + H_3PO_4	13,8
Глюкозо-1-фосфат	Глюкоза + H_3PO_4	20,9
Мальтоза	2 Глюкоза	16,7
Аланилглицин	Аланин + глицин	16,7
Аспарагин	Аспарат + NH_3	15,1
Лактоза	Глюкоза + галактоза	12,5

Реакция энергетически сопряжена с переносом водорода с восстановленных коферментов на кислород. При этом переносе освобождается основная часть энергии окисляемых веществ. Энергия синтеза воды из газообразных H_2 и O_2 составляет 230 кДж/моль; практически столько же получается, если используется водород, входящий в состав органических соединений. Энергетическое сопряжение реакций переноса водорода и синтеза АТФ происходит при участии митохондриальной мембраны и H^+ -АТФ-синтетазы.

Другой путь синтеза АТФ из АДФ—субстратное фосфорили-



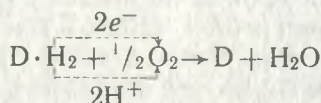
рование; в этом случае механизм сопряжения не требует участия мембран (см. ниже).

Энергия гидролиза АТФ в свою очередь используется для обеспечения разнообразных эндергонических процессов (рис. 78). Реакции фосфорилирования АДФ и последующего использования АТФ в качестве источника энергии образуют циклический процесс (цикл АДФ—АТФ).

Таким образом, энергия пищевых веществ в клетке трансформируется сначала в энергию АТФ, а затем АТФ служит непосредственным источником энергии для совершения разного рода работы в биохимических и физиологических процессах. Эти превращения энергии и есть то, что обозначают как энергетический обмен. В настоящей главе будет рассматриваться лишь та часть энергетического обмена, которая завершается синтезом АТФ. Что касается процессов использования энергии АТФ, то они рассматриваются в большинстве разделов учебника.

ДЫХАТЕЛЬНАЯ ЦЕПЬ

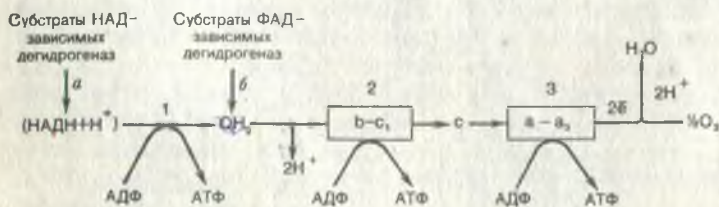
Окисление субстратов в процессе дыхания можно представить как перенос электронов и протонов (т. е. в целом—атомов водорода) от органических веществ на кислород:



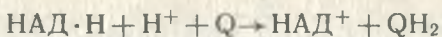
Этот процесс включает много этапов; в нем участвует ряд промежуточных переносчиков, образующих цепь переноса электронов и протонов, или дыхательную цепь (рис. 79).

Водород от первичных доноров вводится в дыхательную цепь с участием НАД-зависимых и ФАД-зависимых дегидрогеназ (рис. 79, реакции *a* и *b*), описанных в гл. II. ФАД-Зависимые дегидрогеназы переносят водород на убинон (образуется убиноин, QH_2), а НАД-зависимые дегидрогеназы—на НАД (образуется НАД·Н).

Далее с НАД·Н водород передается тоже на убинон; эту реакцию катализирует *НАД·Н-дегидрогеназа* (реакция 1 на рис. 79):



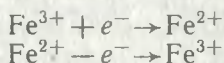
Митохондриальная дыхательная цепь



НАД·Н-Дегидрогеназа представляет собой ФМН-содержащий фермент. В процессе реакции водород сначала присоединяется к ФМН, соединенному с ферментом, а затем передается на убихинон.

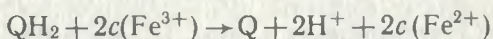
На стадии образования QH_2 сливаются два потока атомов водорода, вводимых в дыхательную цепь НАД-зависимыми и ФАД-зависимыми дегидрогеназами.

Затем в дыхательной цепи пути электронов и протонов расходятся. Перенос электронов осуществляется с помощью *цитохромов*. Цитохромы представляют собой гемопротеины (геминовые ферменты). Атом железа в геме цитохромов может менять валентность, присоединяя или отдавая электрон:



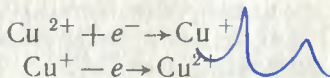
Цитохромы дыхательной цепи обозначают латинскими буквами: *b*, *c*₁, *c*, *a*, и *a*₃.

Комплекс цитохромов *b* и *c*₁ функционирует как *QH₂-дегидрогеназа*: он осуществляет перенос электронов с QH_2 на цитохром *c*:

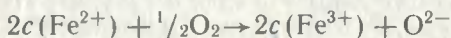


Электроны последовательно проходят через атомы железа цитохромов *b* и *c*₁, а затем поступают на цитохром *c*; протоны при этом освобождаются в раствор. Стехиометрический коэффициент 2 перед символом цитохрома обусловлен тем, что с QH_2 передаются два электрона, а цитохромы за один цикл переносят по одному электрону.

Комплекс цитохромов *a* и *a*₃ действует как *цитохромоксидаза* (цитохром *c* оксидаза). Цитохромоксидаза, помимо гема, содержит ионы меди, которые тоже участвуют в переносе электронов, меняя валентность:



Этот комплекс цитохромов переносит электроны с цитохрома *c* на кислород:



Электроны последовательно присоединяются к ионам железа цитохромов *a* и *a*₃, затем к иону меди и, наконец, попадают на кислород.

Кислород, поступающий в митохондрии из крови, связывается

с атомом железа в геме цитохрома a_3 в форме молекулы O_2 (подобно тому, как он связывается с гемоглобином). Затем каждый из атомов молекулы O_2 последовательно присоединяет по два электрона и по два протона, превращаясь в молекулу воды:



Некоторые характеристики компонентов дыхательной цепи приведены в табл. 30.

Т а б л и ц а 30. Основные компоненты митохондриальной дыхательной цепи

Компонент	Молекулярная масса	Число субъединиц	Простетические группы
НАД·Н-Дегидрогеназа (комплекс I)	850 000	16	1ФМН, 16—24FeS
Сукцинатдегидрогеназа (комплекс II)	125 000	4	1ФАД, 1 гем, 8FeS
Убихинон	108	—	—
Убихинолдегидрогеназа (комплекс III)	250 000	6—8	3 гем, 2FeS
Цитохром <i>c</i>	13 000	—	1 гем
Цитохромоксидаза (комплекс IV)	110 000	12	2 гем, 2Cu
H^+ -АТФ-Синтетаза	~500 000	8—10	—

Таким путем через дыхательную цепь атомы водорода пищевых веществ достигают конечного акцептора—атмосферного кислорода. В организме человека в результате тканевого дыхания образуется 300—400 мл воды за сутки (метаболическая вода). Некоторые жуки-чернотелки, обитающие в абсолютно сухих пустынях, получают воду только в результате тканевого дыхания, питаясь сухими пылевидными остатками растений, которые приносит ветер.

ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ ПЕРЕНОСЧИКОВ ЭЛЕКТРОНОВ

В табл. 31 приведены окислительно-восстановительные потенциалы, рассчитанные для стандартных условий. В этом перечне способность отдавать электроны (т. е. окисляться) убывает сверху вниз, а способность присоединять электроны (восстанавливаться) нарастает сверху вниз. Перемещение электронов в дыхательной цепи происходит по градиенту окислительно-восстановительного потенциала. Окислительно-восстановительный потенциал — это форма выражения для свободной энергии окислительно-восстановительных реакций; отношения между E^0 и G^0 описываются уравнением

$$-\Delta G^0 = nF\Delta E^0,$$

где ΔG^0 — стандартная свободная энергия реакции; n — число

Т а б л и ц а 31. Окислительно-восстановительные потенциалы некоторых компонентов дыхательной цепи

Вещество		E^0 , В (рН 7)
восстановленная форма	окисленная форма	
НАД·Н	НАД	-0,32
Убихинол	Убихинон	+0,10
Цитохром <i>b</i> (Fe^{2+})	Цитохром <i>b</i> (Fe^{3+})	+0,12
Цитохром <i>c</i> ₁ (Fe^{2+})	Цитохром <i>c</i> ₁ (Fe^{3+})	+0,21
Цитохром <i>c</i> (Fe^{2+})	Цитохром <i>c</i> (Fe^{3+})	+0,25
Цитохром <i>a</i> ₃ (Fe^{2+})	Цитохром <i>a</i> ₃ (Fe^{3+})	+0,29
2Н ₂ О	О ₂	+0,82

электронов, участвующих в реакции; F — постоянная Фарадея; ΔE^0 — разность между значениями окислительно-восстановительных потенциалов исходных веществ и продуктов реакции.

Общая разность окислительно-восстановительных потенциалов между НАД·Н и О₂ равна 1,14 В [0,82 - (-0,32) = 1,14]; этому соответствует разность свободных энергий ΔG , равная -220 кДж в пересчете на каждую пару переносимых электронов. Такого количества энергии хватило бы на синтез четырех молекул АТФ. Однако в действительности может синтезироваться не более трех молекул АТФ. Отметим, что энергия синтеза воды из молекулярного водорода и молекулярного кислорода равна 230 кДж/моль, т. е. несущественно отличается от энергии синтеза воды при переносе водорода с НАД·Н на молекулярный кислород в живой клетке.

СТРОЕНИЕ МИТОХОНДРИЙ

Митохондрии обычно имеют форму цилиндра с закругленными концами, длиной 1—4 мкм и поперечником 0,3—0,7 мкм. Однако в разных клетках размеры и форма митохондрий могут быть существенно различными. Количество митохондрий в разных клетках также различно: например, сперматоцит содержит 100—200 митохондрий, гепатоцит—до 2000.

Митохондрии имеют внешнюю и внутреннюю мембраны — вроде мешка в мешке. Внутренняя мембрана образует многочисленные складки — *кристи* (рис. 80). Содержимое пространства, ограничиваемого внутренней мембраной, называют *матриksom*.

Внешняя и внутренняя мембраны сильно различаются по составу, свойствам и функциям. Внешняя мембрана свободно проникает



80
Строение митохондрий:
1 — наружная мембрана; 2 — внутренняя мембрана; 3 — матрикс; 4 — кристы, образованные внутренней мембраной

ма для молекул с молекулярной массой примерно до 5000, в то время как проницаемость внутренней мембраны ограничена и избирательна: она определяется наличием специфических транспортных систем. Вследствие этого химический состав межмембранного пространства мало отличается от состава цитозоля, тогда как состав матрикса существенно иной.

Локализация некоторых белков в митохондриях

Наружная мембрана

Моноаминоксидаза
Система удлинения цепи жирных кислот
Холинфосфотрансфераза
Фосфолипаза А

Матрикс

Ферменты цитратного цикла (кроме сукцинатдегидрогеназы)
Ферменты β -окисления жирных кислот
Фосфоенолпируваткарбоксилаза
Глутаматдегидрогеназа

Внутренняя мембрана

НАД·Н-Дегидрогеназа
Сукцинатдегидрогеназа
Цитохромы *b*, *c*₁, *c*, *a*, *a*₃
 H^+ -АТФ-Синтетаза
Карнитин-ацилтрансфераза
АДФ-АТФ-Транслоказа
Фосфаттранслоказа
Глутамат-аспартаттранслоказа
Глутамат-ОН⁻-транслоказа
Пируваттранслоказа
Малат-цитраттранслоказа
Малат- α -кетоглутараттранслоказа

НАД-Зависимые дегидрогеназы (и многие ФАД-зависимые) находятся в матриксе митохондрий, а другие компоненты дыхательной цепи—во внутренней мембране. Активные центры НАД·Н-дегидрогеназы и сукцинатдегидрогеназы выступают на матриксной стороне мембраны: субстраты этих ферментов образуются в матриксе. На долю ферментов дыхательной цепи приходится 30—40% всех белков внутренней мембраны. НАД·Н-Дегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа, QH_2 -дегидрогеназа и цитохромоксидаза — это крупные малоподвижные комплексы, в то время как убихинон — некрупная липофильная молекула. Перемещаясь в липидном слое мембраны, убихинон обеспечивает передачу электронов между комплексами I—III и II—III. Цитохром *c* фиксирован в мембране между комплексами III и IV (рис. 81).

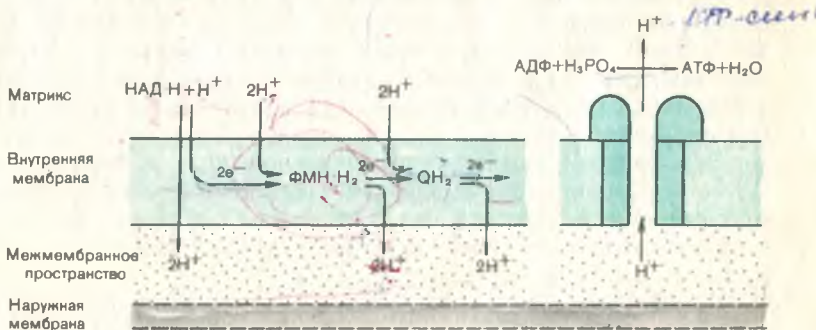
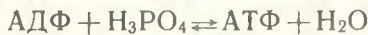


Вероятная топография компонентов дыхательной цепи во внутренней мембране митохондрий

МЕХАНИЗМ СОПРЯЖЕНИЯ ОКИСЛЕНИЯ С ФОСФОРИЛИРОВАНИЕМ

Ферменты цепи переноса электронов фиксированы в митохондриальной мембране таким образом, что их действие векторно, т. е. характеризуется не только величиной, но и пространственной направленностью, подобно действию транспортных АТФаз. Основным проявлением векторности в дыхательной цепи является перенос ионов водорода с внутренней стороны мембраны (со стороны матрикса) на наружную. Это может происходить так, как показано на рис. 82. С НАД·Н электроны переходят на ФМН — кофермент НАД·Н-дегидрогеназы, а протоны освобождаются с внутренней стороны мембраны. Протоны, необходимые для восстановления ФМН, поступают из матрикса. На следующем этапе происходит аналогичный процесс: электроны с ФМН·Н₂ переходят на убухинон, а протоны — в межмембранное пространство; убухинон же получает протоны из матрикса. В области цитохромоксидазы тоже происходит трансмембранный перенос протонов (на рисунке не показан). Таким образом, цепь переноса электронов работает как протонный насос, перекачивая ионы водорода из матрикса на наружную сторону мембраны. В результате по сторонам мембраны возникает разность концентраций протонов и одновременно разность электрических потенциалов со знаком плюс на наружной поверхности. Иначе говоря, энергия разности окислительно-восстановительных потенциалов веществ трансформируется в энергию протонного электрохимического потенциала $\Delta\mu\text{H}^+$.

Электрохимический потенциал заставляет протоны двигаться в обратном направлении — с наружной поверхности внутрь. Однако мембрана непроницаема для них, за исключением специальных участков — протонных каналов (рис. 81, справа). В области этих каналов на внутренней поверхности внутренней мембраны располагается H^+ -АТФ-синтетаза, катализирующая такую реакцию:



Трансмембранный перенос протонов и синтез АТФ в митохондриях

При избытке протонов на внешней стороне за счет энергии потока протонов через канал эта реакция идет слева направо. Образующаяся АТФ при участии транслоказы транспортируется из матрикса на наружную сторону мембраны и попадает в цитозоль. Одновременно та же транслоказа переносит АДФ в обратном направлении— из цитозоля в матрикс митохондрии (АДФ-АТФ-транслоказа).

В искусственных условиях, в опытах *in vitro* можно создать избыток АТФ со стороны внутренней поверхности внутренней мембраны. В этом случае реакция идет справа налево, т. е. фермент работает как транспортная АТФаза, переносящая протоны (H^+ -АТФаза). Мембрана при этом энергизуется: $\Delta\mu H^+$ возникает за счет энергии гидролиза АТФ.

Изложенные здесь представления о сопряжении окисления с фосфорилированием в принципиальных чертах надежно обоснованы экспериментами, однако многие детали остаются еще недостаточно ясными. В частности, механизм переноса H^+ на наружную сторону мембраны может быть и не таким (или не только таким), как показано на рис. 82. До сих пор неизвестен механизм использования энергии электрохимического потенциала H^+ -АТФ-синтетазой.

КОЭФФИЦИЕНТ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ

В дыхательной цепи существует три участка, где перенос электронов сопряжен с синтезом АТФ (пункты фосфорилирования): первый находится между НАД·Н-дегидрогеназой и убихиноном, второй— между цитохромами *b* и *c*₁, третий — в области цитохромов *a* и *a*₃ (см. рис. 79). В этих участках перепад энергии при переносе одной пары электронов достаточен для синтеза одной высокоэнергетической связи. Иначе говоря, в расчете на каждый атом поглощенного кислорода митохондрии образуют максимум три молекулы АТФ (т. е. связывают три молекулы H_3PO_4 с АДФ). Отношение количества связанной H_3PO_4 к количеству поглощенного кислорода (O) называют *коэффициентом фосфорилирования* и обозначают P/O; коэффициент $P/O \leq 3$. ФАД-Зависимые дегидрогеназы переносят водород с первичных доноров прямо на убихинон, минуя первый пункт сопряжения. Следовательно, в этом случае коэффициент P/O не может быть больше двух.

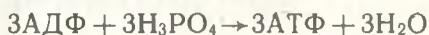
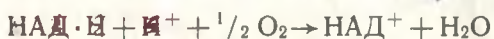
Эти величины отражают теоретический максимум синтеза АТФ. Фактически часть энергии электрохимического потенциала используется не для синтеза АТФ, а для переноса веществ через митохондриальную мембрану при участии транслоказ по механизмам симпорта и антипорта.

Человек за сутки потребляет из воздуха около 600 л (~27 моль) кислорода. Подавляющая часть кислорода (примерно 90%) восстанавливается до воды при участии дыхательной цепи. Если считать, что в митохондриях восстанавливается 25 моль

O_2 (т. е. 50 моль атомарного кислорода), а коэффициент $P/O = 2,5$, то в митохондриях организма синтезируется $50 \cdot 2,5 = 125$ моль АТФ, т. е. около 62 кг АТФ в сутки. Конечно, такое же количество АТФ и распадается за сутки: эта величина характеризует не общую массу АТФ в организме, а скорость кругооборота АТФ—АДФ. Общее содержание АТФ в организме невелико—порядка 20—30 г. Каждая молекула АТФ расщепляется и вновь регенерируется 2,5 тысячи раз в сутки, так что средняя продолжительность ее жизни меньше 1 мин.

ДЫХАТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ

Сопряжение окисления с фосфорилированием в митохондриях отличается прочностью: если невозможен синтез АТФ, то прекращается и перенос электронов в дыхательной цепи. Суммарный результат окисления НАД·Н и фосфорилирования в дыхательной цепи можно представить следующим образом:



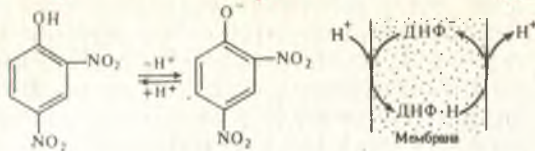
Эти реакции можно изучать *in vitro* в суспензии митохондрий. Если в инкубационной смеси есть все исходные вещества, за исключением АДФ, то поглощения O_2 (дыхания) не наблюдается. После внесения АДФ сразу же начинается и дыхание, и синтез АТФ; по мере расходования АДФ скорость дыхания снижается и совсем прекращается, когда вся АДФ превратится в АТФ.

Зависимость дыхания митохондрий от концентрации АДФ называют *дыхательным контролем*. Этот механизм регуляции имеет очень важное значение, так как в результате его действия скорость синтеза АТФ определяется потребностью клетки в энергии: при увеличении расходования АТФ в клеточных процессах (реакции, катализируемые синтетазами, транспорт ионов и др.) увеличивается концентрация АДФ, а это автоматически ведет к ускорению дыхания и фосфорилирования. Можно сказать, что темп работы митохондриям задается фактическими затратами АТФ.

Механизм дыхательного контроля отличается высокой чувствительностью и точностью, поэтому относительные концентрации АТФ и АДФ в тканях изменяются в узких пределах, в то время как потребление энергии клеткой (т. е. частота оборотов цикла АДФ—АТФ) может изменяться в десятки раз.

Пироглицил *эпокси*
РАЗБОЩЕНИЕ ОКИСЛЕНИЯ
И ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ *масса*
жесткие и

Некоторые вещества разобщают окисление и фосфорилирование. Примером может служить 2,4-динитрофенол:



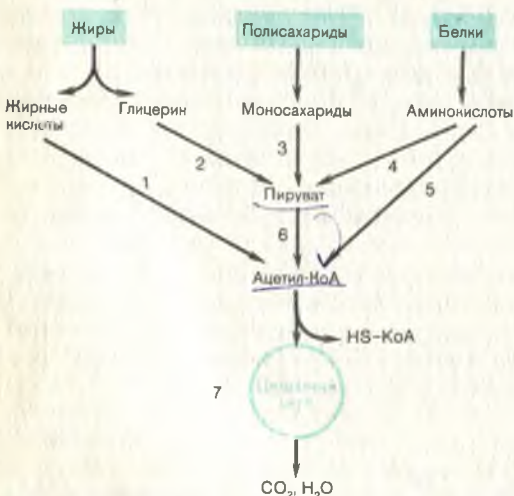
Это липофильное вещество легко диффундирует через митохондриальную мембрану как в ионизированной, так и в неионизированной форме и, следовательно, может переносить ионы водорода через мембрану в сторону их меньшей концентрации. Поэтому 2,4-динитрофенол уничтожает $\Delta\mu\text{H}^+$ митохондриальной мембраны, а энергия рассеивается в форме теплоты. Потребление кислорода и окисление субстратов при этом продолжаются, но синтез АТФ, естественно, невозможен.

Поскольку энергия окисления при разобщении рассеивается в форме теплоты, то разобщители повышают температуру тела (пирогенное действие).

ОБЩИЙ ПУТЬ КАТАБОЛИЗМА

В пище человека практически не содержатся готовые первичные доноры водорода, служащие субстратами для дегидрогеназ; они образуются в ходе катаболизма пищевых веществ.

В процессах катаболизма можно выделить два типа путей: специфические пути катаболизма, разные для разных классов веществ, и общий путь катаболизма, который служит единым продолжением специфических путей



(рис. 83). В результате специфических путей катаболизма продукты переваривания пищевых веществ (моносахариды, глицерин, жирные кислоты, аминокислоты) превращаются всего в два вещества — пировиноградную кислоту и ацетильный остаток ацетил-КоА, т. е. происходит значительное уменьшение разнообразия веществ.

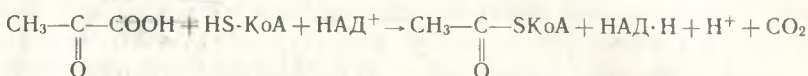
К общему пути катаболизма относятся окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты и цитратный цикл. Некоторые специфические

Рис. 83. Катаболизм основных пищевых веществ: 1—5 — специфические пути катаболизма; 6, 7 — общий путь катаболизма

пути вливаются в общий путь на стадии пирувата, другие — на стадии ацетил-КоА. Ряд веществ вступает в общий путь катаболизма на промежуточных стадиях цитратного цикла. Именно в общем пути катаболизма образуется основная масса первичных доноров водорода для дыхательной цепи, хотя они образуются и в специфических путях катаболизма.

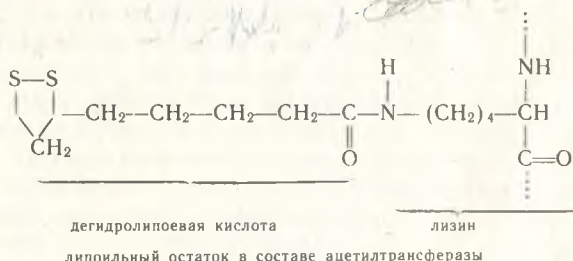
✓ Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты

В результате окислительного декарбоксилирования пирувата образуются ацетил-КоА, восстановленный НАД и диоксид углерода:



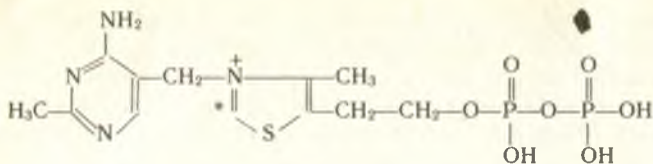
Эта схема представляет собой суммарный результат многостадийного процесса, который катализируется сложной ферментной системой — пируватдегидрогеназным комплексом. Комплекс содержит три фермента — пируватдекарбоксилазу, ацетилтрансферазу и дегидрогеназу дигидролипоевой кислоты. Кроме того, в реакциях участвуют пять коферментов: НАД, ФАД, тиаминдифосфат, липоевая кислота и кофермент А (КоА).

Первую реакцию процесса катализирует пируватдекарбоксилаза (E₁, рис. 84). Субстратами этого фермента служат пируват и дегидролипоевая кислота, которая является простетической группой второго фермента — дигидролипоат-ацетилтрансферазы (E₂). Липоевая кислота содержит дисульфидную группу в составе пятичленного гетероцикла и боковую цепь; своей карбоксильной группой липоевая кислота соединена амидной связью с ε-аминогруппой остатка лизина, входящего в пептидную цепь ацетилтрансферазы:



В результате действия пируватдекарбоксилазы (E₁) от пировиноградной кислоты отщепляется карбоксильная группа, а ацетильный остаток присоединяется к атому серы липоевой кислоты, т. е. получается ацетиллипоат-E₂.

Пируватдекарбоксилаза — сложный белок: он содержит тиаминдифосфат, выполняющий роль кофермента:



тиаминдифосфат

Тиаминдифосфат — это производное витамина В₁ (тиамина) и пирофосфорной кислоты. Декарбоксилирование пирувата происходит при прямом участии тиаминдифосфата: в ходе реакции к атому углерода тиазолового кольца (помечен звездочкой) присоединяется промежуточный продукт превращения пирувата — оксиэтильный остаток $\text{CH}_3\text{—CH(OH)—}$, который затем переносится на липоевую кислоту, превращаясь при этом в ацетильный остаток $\text{CH}_3\text{—CO—}$.

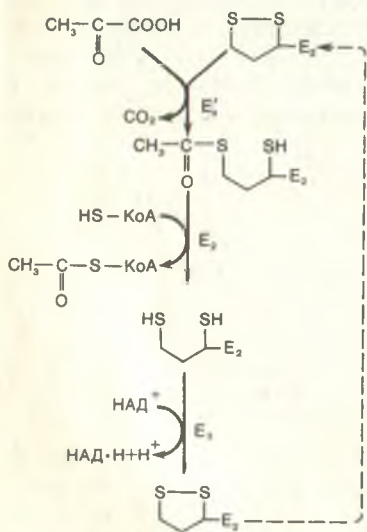
Второй фермент комплекса — дигидролипоат-ацетилтрансфераза — катализирует перенос ацетильного остатка, соединенного с его собственной простетической группой, на КоА; при этом получают дигидролипоевую кислоту (в составе ацетилтрансферазы) и ацетил-КоА.

Третий фермент — дегидрогеназа дигидролипоевой кислоты (Е₃). Акцептором водорода в реакции служит НАД. В результате дегидрирования дигидролипоевая кислота превращается в начальную форму — дегидролипоевую кислоту, и пируватдегидрогеназный комплекс может реагировать с очередной молекулой пирувата. Дигидролипоилдегидрогеназа содержит в качестве ко-

фермента ФАД, который служит промежуточным акцептором водорода.

Таким образом, в окислительном декарбоксилировании пирувата участвует пять коферментов. Три из них — тиаминпирофосфат, липоевая кислота и ФАД — прочно связаны с ферментами комплекса, а два других — КоА и НАД — находятся в свободно растворенном состоянии и служат акцепторами главных конечных продуктов — ацетильного остатка и атомов водорода. Ацетильный остаток затем окисляется в цитратном цикле, а водород с НАД·Н поступает в цепь переноса электронов и протонов.

Пируватдегидрогеназный комплекс представляет собой крупную частицу с молекулярной массой 7—10 млн. В его состав вхо-



84
Окислительное декарбоксилирование пирувиноградной кислоты

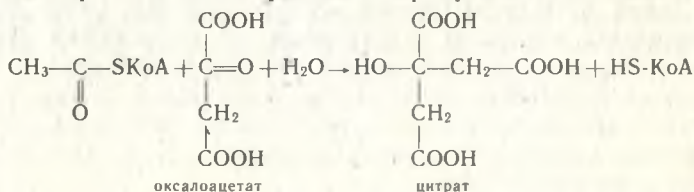
дит примерно по 3 десятка молекул E_1 и E_2 и около десятка молекул E_3 . Отдельные ферменты соединены друг с другом таким образом, что серусодержащая часть липоевой кислоты, соединенная с E_2 достаточно длинной и гибкой углеводородной цепью, может «наносить визиты» последовательно активному центру E_1 , своему собственному активному центру и активному центру E_3 . Поэтому комплекс работает подобно конвейеру, в котором полупродукт передается непосредственно от машины к машине. Такая организация пируватдегидрогеназного комплекса делает процесс более эффективным: промежуточные продукты не освобождаются в раствор и, следовательно, устраняется зависимость встречи реагирующих веществ от диффузии и случайности.

Пируватдегидрогеназный комплекс — митохондриальный фермент: он соединен с внутренней мембраной со стороны матрикса; пируват поступает к комплексу из матрикса, и сюда же освобождаются ацетил-КоА и НАД·Н.

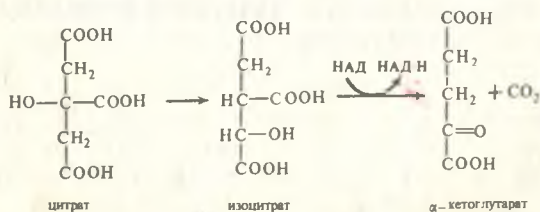
Цитратный цикл

В цикле лимонной кислоты (цитратный цикл, цикл Кребса, цикл трикарбоксильных кислот) ацетильный остаток, входящий в ацетил-КоА, образует ряд первичных доноров водорода. Далее водород при участии дегидрогеназ поступает в дыхательную цепь. В результате сопряженного действия цитратного цикла и дыхательной цепи ацетильный остаток окисляется до CO_2 и H_2O .

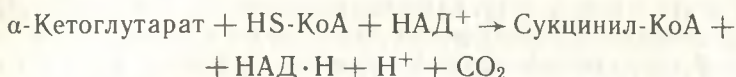
Процесс начинается с конденсации ацетильного остатка (из ацетил-КоА) и оксалоацетата (щавелевоуксусной кислоты) при участии цитратсинтазы; в реакции образуется лимонная кислота:



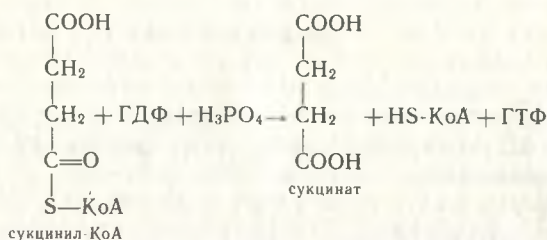
Лимонная кислота изомеризуется в изолимонную кислоту при участии аконитазы (в качестве промежуточного продукта в составе ферментсубстратного комплекса образуется аконитовая кислота). Далее при действии изоцитратдегидрогеназы изолимонная кислота дегидрируется и одновременно декарбоксилируется, превращаясь в α -кетоглутаровую кислоту:



Продукт последней реакции, подобно пирувату, представляет собой α -кетокислоту: общая формула для них $R-CO-COOH$. Подобно пирувату, α -кетоглутарат подвергается окислительному декарбоксилированию; это превращение катализирует α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс, сходный по структуре и катализируемым реакциям с пируватдегидрогеназным комплексом. Суммарный результат действия α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса следующий:



Сукцинил-KoA — это аналог ацетил-KoA. Связь, соединяющая ацильные остатки с KoA, является высокоэнергетической. В случае сукцинил-KoA энергия этой связи используется для образования высокоэнергетической связи ГТФ; реакцию катализирует сукцинаттиокиназа:

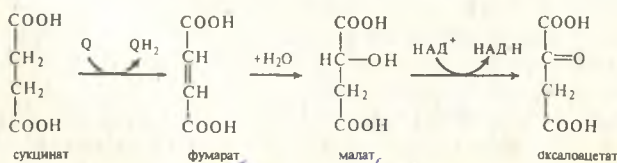


В составе фермент-субстратного комплекса KoA сначала замещается на фосфатный остаток, который затем переносится на ГДФ. Такой путь образования макроэргической связи нуклеозидтрифосфата называют субстратным фосфорилированием; его главное отличие от окислительного фосфорилирования — отсутствие предварительного превращения химической формы энергии в энергию электрохимического потенциала мембраны. Энергия ГТФ может трансформироваться в энергию АТФ при действии нуклеозиддифосфаткиназы:



Однако в некоторых процессах, например при синтезе белков, в качестве источника энергии используется непосредственно ГТФ (см. гл. III).

Последние три реакции цикла, катализируемые сукцинатдегидрогеназой, фумаразой и малатдегидрогеназой, завершаются регенерацией оксалоацетата:

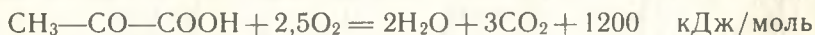


На рис. 85 представлена схема цитратного цикла как части общего пути катаболизма.

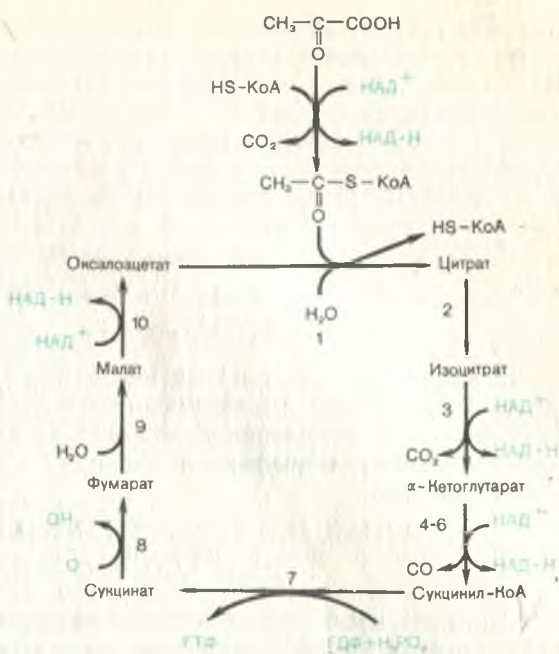
В общем пути катаболизма распадается трехуглеродное вещество — пировиноградная кислота; соответственно образуется три молекулы CO_2 (в расчете на 1 молекулу пирувата): одна при окислительном декарбоксилировании пирувата и две за счет окисления ацетильного остатка в цитратном цикле (реакции 3 и 4). Человек за сутки выделяет с выдыхаемым воздухом около 500 л углекислого газа; подавляющая часть его (примерно 90%) образуется в общем пути катаболизма, в указанных трех реакциях.

Как уже говорилось, пируватдегидрогеназный комплекс фиксирован на внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрий. Сукцинатдегидрогеназа частью своей молекулы выступает в матрикс, а частью погружена во внутреннюю мембрану: в матриксной части находится центр связывания сукцината, а в погруженной — центр связывания убихинона. Все остальные ферменты цитратного цикла находятся в матриксе митохондрий.

Общий путь катаболизма — это прежде всего путь поставки водорода органических веществ в дыхательную цепь. При сгорании в калориметрической бомбе пируват окисляется в соответствии со следующим уравнением:



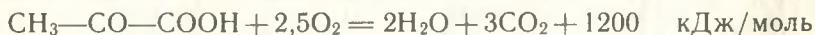
В живой клетке энергия, заключенная в пирувате, извлекается иным путем — с участием реакций дегидрирования: всего в общем пути катаболизма происходит пять реакций дегидрирования, в которых участвует 10 атомов водорода. Но пировиноградная кислота содержит только 4 атома водорода, т. е. только на



Общий путь катаболизма

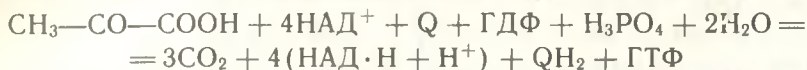
✓ Роль общего пути катаболизма в энергетическом обмене

Общий путь катаболизма — это прежде всего путь поставки водорода органических веществ в дыхательную цепь. При сгорании в калориметрической бомбе пируват окисляется в соответствии со следующим уравнением:

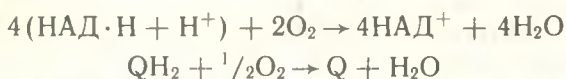


В живой клетке энергия, заключенная в пирувате, извлекается иным путем — с участием реакций дегидрирования: всего в общем пути катаболизма происходит пять реакций дегидрирования, в которых участвует 10 атомов водорода. Но пировиноградная кислота содержит только 4 атома водорода, т. е. только на

две реакции дегидрирования. Еще шесть атомов водорода поступает из двух молекул воды, потребляемых в реакциях цитратного цикла (реакции 1 и 9 на рис. 85), и из молекулы воды, которая получается в реакции 7 при превращении ГДФ и H_3PO_4 в ГТФ. Следовательно, водород трех молекул воды (в расчете на молекулу пирувата) включается в метаболиты цитратного цикла и в конечном счете попадает в гидрированные коферменты — НАД·Н или QH_2 . Суммарный результат реакций общего пути катаболизма можно представить следующим уравнением:



Для непрерывного протекания процесса слева направо коферменты, перешедшие в восстановленное состояние, должны снова окислиться. Их окисление происходит путем переноса водорода с коферментов на атмосферный кислород в митохондриальной дыхательной цепи



Таким образом, общий путь катаболизма и дыхательная цепь представляют собой единый процесс, и эти две его части не могут функционировать отдельно одна от другой.

Энергия переноса водорода с дегидрируемых субстратов общего пути катаболизма на атмосферный кислород используется для синтеза АТФ. В четырех реакциях дегидрирования образуется НАД·Н; при переносе водорода с каждой молекулы НАД·Н в дыхательной цепи действует три пункта сопряжения, следовательно, синтезируется $4 \cdot 3 = 12$ молекул АТФ. В одной реакции (катализируемой сукцинатдегидрогеназой) водород переносится на убихинон; при дальнейшем переносе в дыхательной цепи в этом случае действует два пункта сопряжения, синтезируется две молекулы АТФ. И, наконец, в цитратном цикле происходит одна реакция субстратного фосфорилирования, дающая еще одну молекулу АТФ. Всего при распаде 1 моль пирувата образуется 15 моль АТФ. Отметим, что 3 из них образуются при окислительном декарбоксилировании пирувата, и 12 — в цитратном цикле. Эти величины отражают теоретически возможный максимум синтеза АТФ; фактически АТФ синтезируется меньше, поскольку часть электрохимического потенциала расходуется на перенос разных веществ через мембрану при участии транслоказ.

✓ Регуляция общего пути катаболизма

Как мы видели, скорость дыхания и фосфорилирования в митохондриях зависит от концентрации АДФ и, в конечном счете определяется скоростью расходования АТФ (дыхательный контроль). В свою очередь скорость реакций общего пути катаболиз-

ма, поставляющего водород в митохондрии, зависит от скорости дыхания митохондрий и окислительного фосфорилирования.

Один из механизмов этой зависимости уже отмечен выше — он связан с необходимостью регенерации НАД^+ , которая происходит в результате передачи водорода с $\text{НАД}\cdot\text{Н}$ в дыхательную цепь митохондрий. Кроме того, существует регуляция по типу отрицательной обратной связи, с участием аллостерических ферментов. $\text{НАД}\cdot\text{Н}$ ингибирует некоторые ферменты общего пути катаболизма (рис. 86).

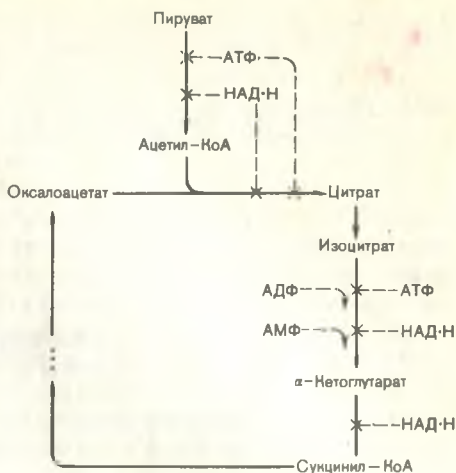
При снижении дыхания митохондрий расходуется меньше $\text{НАД}\cdot\text{Н}$, его концентрация увеличивается и приводит к замедлению реакций общего пути катаболизма в результате ингибирования указанных реакций.

Ряд реакций общего пути катаболизма зависит от концентрации адениловых нуклеотидов — АТФ , АДФ и АМФ . Суммарная концентрация адениловых нуклеотидов в клетке постоянна, но относительные концентрации могут изменяться вследствие их взаимопревращений. Во многих клетках концентрации АТФ , АДФ и АМФ относятся примерно как 100:10:1 (однако отметим, что это приближенная оценка — в клетках разных типов различия могут быть заметными). Отсюда следует, что небольшие изменения концентрации АТФ могут приводить к значительным изменениям концентрации других нуклеотидов. Например, если 1/10 часть всей АТФ превратится в АДФ , то концентрация АДФ увеличится в два раза. Это имеет существенное значение, поскольку изменения активности аллостерических ферментов зависят от величины изменения концентрации эфффекторов.

Для оценки влияния системы адениловых нуклеотидов на метаболические процессы пользуются величиной энергетического заряда клетки:

$$\text{Энергетический заряд} = \frac{[\text{АТФ}] + \frac{1}{2} [\text{АДФ}]}{[\text{АТФ}] + [\text{АДФ}] + [\text{АМФ}]}$$

Если весь фонд адениловых нуклеотидов представлен только АТФ (максимум высокоэнергетических связей), то энергетический заряд равен единице. Если в клетке имеется только АМФ (высокоэнергетических связей нет), то энергетический заряд ра-



Регуляция общего пути катаболизма

вен нулю. В большинстве клеток энергетический заряд равен 0,8—0,9, т. е. адениловая система клетки почти насыщена энергией. При уменьшении энергетического заряда (уменьшение [АТФ], увеличение [АДФ] и [АМФ]) скорость реакций общего пути катаболизма уменьшается, а при увеличении — увеличивается (рис. 86).

В скелетных мышцах энергетический заряд равен 0,94 как в покое, так и при интенсивной мышечной работе. По-видимому, в мышцах энергетический заряд не выполняет регуляторной функции.

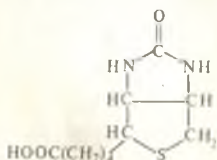
У Анаболические функции цитратного цикла

Общий путь катаболизма выполняет и анаболические функции. Это проявляется в том, что некоторые промежуточные продукты используются для синтеза структурно-функциональных компонентов клетки. Пируват, α -кетоглутарат и оксалоацетат являются кетоаналогами аланина, глутаминовой кислоты и аспарагиновой кислоты и путем трансаминирования могут превращаться в эти аминокислоты. Ацетил-КоА служит предшественником жирных кислот. Сукцинил-КоА используется для синтеза гема.

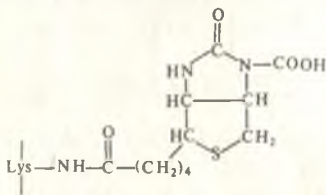
В результате каждого оборота цитратного цикла регенерируется щавелевоуксусная кислота, необходимая для начала следующего оборота цикла. Поэтому удаление щавелевоуксусной кислоты или ее предшественников в цикле в другие метаболические процессы привело бы к прерыванию цикла. Это предотвращается тем, что отток метаболитов цитратного цикла компенсируется превращением части пирувиноградной кислоты в щавелевоуксусную кислоту, главным образом в реакции, катализируемой пируваткарбоксилазой:



Пируваткарбоксилаза содержится только в митохондриях. Фермент построен из четырех субъединиц, каждая из которых содержит прочно связанный ион Mn^{2+} и витамин биотин, выполняющий коферментную функцию. Биотин соединен с ферментом амидной связью через ϵ -аминогруппу остатка лизина:



биотин



карбоксибиотин в составе фермента

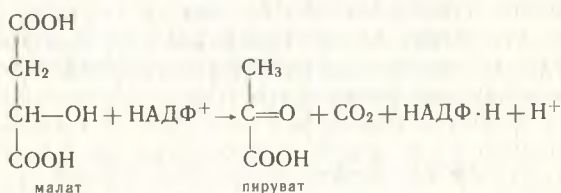
В ходе реакции CO_2 вначале присоединяется к биотину (получается карбоксибиотин), затем переносится на пируват.

ОБРАЗОВАНИЕ ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ЭКВИВАЛЕНТОВ ДЛЯ АНАБОЛИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

При синтезе многих соединений в живой клетке происходят реакции восстановления путем гидрирования. Источником водорода для восстановительных синтезов служат некоторые метаболиты цитратного цикла, а промежуточным переносчиком водорода в таких реакциях является НАДФ (никотинамидадениндинуклеотидфосфат). Механизм участия НАДФ в реакциях переноса водорода такой же, как и у НАД: один протон и два электрона присоединяются к пиридиновому циклу остатка никотинамида, один протон остается в растворе. Однако биологические функции НАДФ и НАД различны.

Два метаболита цитратного цикла могут дегидрироваться с участием НАДФ-зависимых дегидрогеназ — яблочная кислота и изолимонная кислота.

НАДФ-Зависимая малатдегидрогеназа (малик-фермент) локализована в цитозоле клетки. В отличие от митохондриальной НАД-зависимой малатдегидрогеназы (см. рис. 85, реакция 10) НАДФ-зависимая малатдегидрогеназа катализирует одновременно с дегидрированием и декарбоксилирование малата:



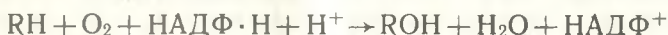
НАДФ-Зависимая изоцитратдегидрогеназа катализирует такую же реакцию, как и НАД-зависимая изоцитратдегидрогеназа (см. рис. 85, реакция 3), с той лишь разницей, что акцептором водорода служит НАДФ (образуется $\text{НАДФ} \cdot \text{H} + \text{H}^+$). Этот фермент имеется как в митохондриях, так и в цитозоле клеток. В отличие от $\text{НАД} \cdot \text{H}$ $\text{НАДФ} \cdot \text{H}$ не может передавать водород в дыхательную цепь: водород $\text{НАДФ} \cdot \text{H}$ используется в восстановительных реакциях. Особенно много восстановительных реакций происходит при синтезе жирных кислот и стероидов; в органах с интенсивным синтезом этих веществ (печень, жировая ткань, кора надпочечников) высока и активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ. Малат и изоцитрат поставляют примерно половину всего водорода, используемого в восстановительных синтезах; другая половина образуется в пентозофосфатном пути распада глюкозы (см. гл. IX).

При восстановительных синтезах энергия высокоэнергетиче-

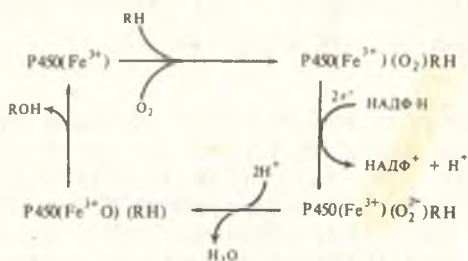
ского водорода НАДФ · Н не теряется: она сохраняется во вновь синтезированных веществах, и во многих случаях может быть использована при их катаболизме. Особенно важное значение имеет такая трансформация энергии при превращении углеводов, поступающих с пищей, в жиры, депонируемые в жировой ткани.

✓ МИКРОСОМАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ

Важный путь использования НАДФ · Н связан с микросомальным окислением. В мембранах гладкого эндоплазматического ретикулума, а также в митохондриальной мембране некоторых органов (в частности, в митохондриях коры надпочечников) есть окислительная система, которая катализирует гидроксилирование большого числа разных субстратов. В этих реакциях используется молекулярный кислород: один атом кислорода расходуется на образование гидроксильной группы, а второй восстанавливается, образуя воду (монооксигеназное окисление). Для восстановления второго атома кислорода используется НАДФ · Н. Реакцию микросомального гидроксилирования можно представить следующим образом:



Эта окислительная система включает по крайней мере два белковых компонента: цитохром Р450 и НАДФ · Н-цитохром-Р450-редуктазу. Цитохром Р450, как и другие цитохромы, является гемопротеином; он присоединяет гидроксилируемый субстрат (RH) и молекулу кислорода, а редуктаза переносит на этот комплекс два электрона с НАДФ · Н:



Превращение атомов кислорода в молекулу воды и гидроксильную группу окисляемого субстрата происходит в результате действия цитохрома Р450. В некоторых клетках эта система включает еще дополнительный промежуточный переносчик электронов между редуктазой и цитохромом Р450.

При выделении эндоплазматического ретикулума из клеток мембрана распадается на части, каждая из которых образует замкнутый пузырек — микросому. Окисление с участием цитохрома Р450 обычно изучают, используя препараты микросом, отсюда и название — микросомальное окисление.

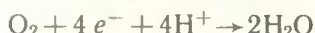
Цитохром Р450 катализирует образование гидроксильных групп при синтезе желчных кислот, стероидных гормонов, при катаболизме ряда веществ и обмене чужеродных соединений. Гидроксيليруемый субстрат присоединяется к цитохрому Р450, следовательно, субстратная специфичность определяется именно этим компонентом системы. Известно много форм (изоферментов) цитохрома Р450, различающихся по субстратной специфичности; каждая из этих форм окисляет широкий круг субстратов, очень разных по строению, но, как правило, гидрофобных. Цитохром Р450 катализирует не только гидроксילирование, но и реакции других типов: N-окисление, эпоксидирование, дезалкилирование, дезаминирование, дегалогенирование, восстановление нитрогрупп. Значение этих реакций в метаболизме и обезвреживании чужеродных веществ, а также в химическом канцерогенезе рассматривается в гл. XIX.

ТОКСИЧНОСТЬ КИСЛОРОДА

До появления фотосинтезирующих организмов земная атмосфера, по-видимому, почти не содержала кислорода. Он создавался и создается фотосинтезирующими организмами путем разложения воды за счет энергии солнечного света (см. гл. IX). При фотосинтезе водород используется для синтеза органических веществ (восстановления CO_2), а кислород является побочным продуктом. С образованием кислородной атмосферы стало возможным развитие организмов, использующих энергию органических веществ (иначе говоря, энергию солнечного света, запасенную в органических веществах) путем их окисления кислородом по механизмам, рассмотренным в этой главе. Такой путь получения энергии гораздо более эффективен, чем те, которые возможны в отсутствие кислорода и действуют у анаэробных организмов. Однако вместе с преимуществами кислород принес и новую опасность для жизни. Молекулярный кислород, не слишком реакционноспособный в своем основном состоянии, может образовывать высокоактивные формы, способные даже убить живую клетку. В связи с этим одновременно с механизмами использования кислорода в ходе биологической эволюции вырабатывались и механизмы защиты от его повреждающего действия. Некоторые анаэробные микроорганизмы особенно чувствительны к токсическому действию кислорода вследствие слабого развития у них защитных механизмов. Такие микроорганизмы (облигатные анаэробы) могут размножаться только в местах, не доступных для кислорода, например в кишечнике животных, в глубоких слоях омертвевших тканей при гангрене. С другой стороны, фагоцитирующие лейкоциты используют активные формы кислорода для разрушения бактерий и других клеток.

Молекулярный кислород O_2 в основном триплетном состоянии имеет два неспаренных электрона с одинаково ориентированными спинами, занимающих самостоятельные внешние орбитали. Каж-

дая из этих орбиталей может принять еще один электрон. Присоединение первого электрона образует супероксидный анион O_2^- ; присоединение двух электронов образует пероксидный анион O_2^{2-} . Полное восстановление O_2 до $2H_2O$ требует присоединения четырех электронов:

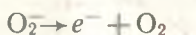


Однако в большинстве случаев в организме восстановление кислорода происходит поэтапно, с переносом одного электрона на каждом этапе.

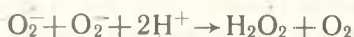
Супероксидный анион может действовать как окислитель (акцептор электрона) и как восстановитель (донор электрона). В первом случае, получая еще один электрон, в водной среде он превращается в пероксид водорода:



Во втором случае супероксид теряет электрон и превращается в кислород:



Донорами электрона (в первой реакции) или акцепторами (во второй) могут быть разнообразные вещества. В том числе возможна и такая реакция, когда одна молекула супероксида служит донором электрона, а другая—акцептором (реакция дисмутации):

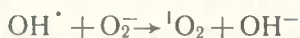


Пероксид водорода в свою очередь может восстанавливаться супероксидом:



В этой реакции образуется свободный гидроксильный радикал OH^\cdot .

Гидроксильный радикал при взаимодействии с супероксидом образует синглетный кислород:

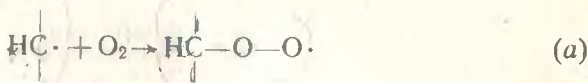


В молекуле синглетного кислорода оба электрона внешней орбиты имеют разнонаправленный спин.

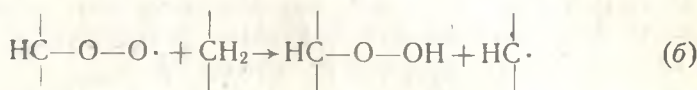
Супероксид, пероксид водорода, гидроксильный радикал и синглетный кислород имеют высокую химическую активность и реагируют со многими веществами организма, в том числе с нуклеиновыми кислотами, белками и липидами. Лучше других изучено их повреждающее действие на липиды.

Активные формы кислорода способны отнимать водород из

определенных групп $-\text{CH}_2-$ ненасыщенной жирной кислоты, превращая их в свободнорадикальные группы $-\dot{\text{C}}\text{H}-$. Такой радикал жирной кислоты легко присоединяет молекулу кислорода и превращается в пероксидный радикал жирной кислоты:



Пероксидный радикал может отнимать водород от другой молекулы жирной кислоты:



В этой реакции пероксидный радикал восстанавливается в гидропероксид за счет окисления другой молекулы жирной кислоты в свободный радикал. Этот второй радикал проходит реакцию а, затем снова следует реакция б, в которой образуется третий свободный радикал жирной кислоты, и т. д. Иначе говоря, возникает цепная химическая реакция. Активные формы кислорода нужны лишь для инициирования цепной реакции, а начавшись, она продолжается уже независимо от иницирующих веществ. Пероксиды весьма нестабильны, и распадаются с образованием альдегидов: это происходит путем разрыва в жирной кислоте углерод-углеродной связи, соседствующей с пероксидной группой.

Таким путем могут окисляться как свободные жирные кислоты, так и остатки жирных кислот в составе других липидов. Этот процесс называют пероксидным окислением липидов. Пероксидное окисление уменьшает гидрофобность липидов, изменяет их конформацию, приводит к образованию ковалентных сшивок между молекулами липидов или липидов и белков. Вследствие этого при окислении мембранных липидов резко повреждаются структура и функции мембран.

Активные формы кислорода в организме образуются в реакциях самопроизвольного (неферментативного) окисления ряда веществ. Одним из важных примеров является окисление гемоглобина в метгемоглобин, при котором образуется супероксид (подробнее этот процесс рассматривается в гл. XX). В ферментативных реакциях восстановление кислорода также происходит поэлектронно, и в составе фермент-субстратного комплекса образуются промежуточные продукты неполного восстановления. Эти продукты быстро подвергаются дальнейшим превращениям, но возможна их некоторая утечка в окружающий раствор. Пероксид водорода образуется в реакциях, катализируемых оксидазами, а также в реакции дисмутации супероксидного иона. Считается, что значительная часть активных форм кислорода образуется в процессе переноса электронов в митохондриальной дыхательной

цепи, и прежде всего в QH₂-цитохром-*c*-редуктазном комплексе: вероятно, это происходит в результате неферментативного переноса (утечки) электрона с восстановленного убихинона на кислород.

МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ ОТ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КИСЛОРОДА

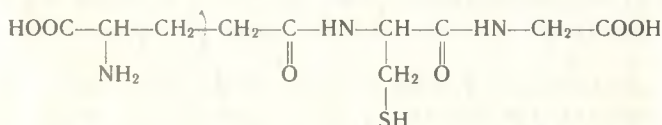
Супероксиддисмутаза и каталаза. Во всех клетках имеется фермент супероксиддисмутаза, катализирующая реакцию дисмутации супероксидного иона (см. выше). Пероксид водорода, образующийся при действии супероксиддисмутазы, а также в реакциях, катализируемых оксидазами, расщепляется каталазой, которая также содержится во всех клетках:



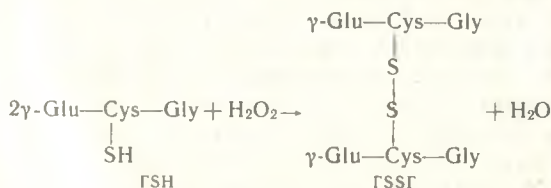
Высокая активность и высокое сродство этих ферментов к их субстратам предотвращает накопление в клетке супероксида и пероксида водорода.

Глутатионпероксидаза. Этот фермент катализирует восстановление пероксида водорода за счет окисления глутатиона.

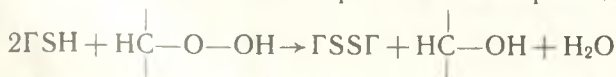
Глутатион представляет собой трипептид γ -глутамилцистеинилглицин; остаток глутаминовой кислоты в этом пептиде соединен со следующей аминокислотой своей γ -карбоксильной группой:



Здесь представлена восстановленная форма глутатиона (GSH). При дегидрировании по SH-группе получается окисленная форма (GSSG); при этом две молекулы глутатиона соединяются дисульфидной связью. Реакция, катализируемая глутатионпероксидазой, представляется следующим образом:



Фермент восстанавливает также органические пероксиды:



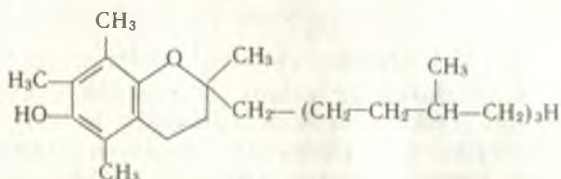
Глутатион-пероксидаза обнаружена в эритроцитах, в печени, в хрусталике глаза. Структурной особенностью этого фермента является наличие в его пептидной цепи остатка селеноцистеина—

аналога цистеина, в котором атом серы замещен атомом селена. Селеноцистеин входит в активный центр фермента.

Восстановленный глутатион, расходуемый в этих реакциях, регенерируется при действии глутатионредуктазы:



Витамин Е. Несколько сходных соединений образуют группу витаминов Е, или токоферолов; наиболее распространенным из них является α -токоферол:



Важнейшее свойство α -токоферола заключается в способности окисляться (отдавать электрон) с образованием малоактивного свободного радикала. Акцепторами электрона могут быть, в частности, свободные радикалы жирных кислот: восстанавливая их, α -токоферол прерывает цепную реакцию пероксидного окисления жирных кислот (антиоксидантная функция витамина Е).

Характерным проявлением недостаточности витамина Е является атрофия мышц. Это объясняют тем, что при гиповитаминозе вследствие усиленного пероксидного окисления липидов происходит повреждение лизосомных мембран и освобождающиеся гидролазы разрушают клетку. Кроме витамина Е антиоксидантными свойствами обладают и многие другие вещества: природные и синтетические фенолы, ароматические амины, гидрированные пиридины; они могут замедлять мышечную атрофию, вызванную недостатком витамина Е.

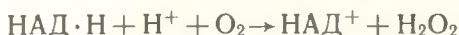
БАКТЕРИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ ФАГОЦИТИРУЮЩИХ ЛЕЙКОЦИТОВ

Фагоцитоз, открытый в 1883 г. И. И. Мечниковым, — один из важнейших механизмов иммунитета. Лишь в последние годы выясняются молекулярные основы бактерицидности фагоцитов. Основными фагоцитирующими лейкоцитами являются гранулоциты (полиморфноядерные лейкоциты), макрофаги и эозинофилы. В этих клетках в процессе фагоцитоза усиливается поглощение кислорода, который расходуется на образование его активных форм. Активные формы кислорода образуются при действии специальных ферментов; к их числу относятся НАДФ·Н-оксидаза, НАД·Н-оксидаза, миелопероксидаза.

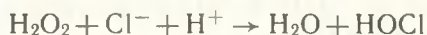
НАДФ·Н-Оксидаза катализирует образование супероксидного иона:



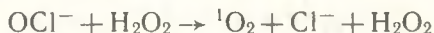
НАД·Н-Оксидаза продуцирует пероксид водорода:



Миелопероксидаза катализирует образование гипохлорной (хлорноватистой) кислоты из пероксида водорода и хлоридов:



Анион гипохлорной кислоты может реагировать с другой молекулой пероксида водорода с образованием синглетного кислорода:



Молекулы бактериальных клеток (нуклеиновые кислоты, белки, липиды) повреждаются активными формами кислорода, что и составляет сущность бактерицидного действия лейкоцитов. Основную роль в бактерицидном действии играют, по-видимому, пероксид водорода и гипохлорит. Гипохлорит тоже является сильным окислителем: он издавна применяется в качестве дезинфицирующего средства [в форме хлорной извести $\text{Ca}(\text{Cl})\text{OCl}$], а также для обезвреживания ядовитых веществ и отбеливания тканей и бумаги.

В результате действия активных форм кислорода могут погибать и сами лейкоциты. Соседние клетки ткани тоже повреждаются как активными формами кислорода, так и лизосомными гидролазами, освобождающимися из погибших клеток. Эти процессы характерны для воспалительной реакции.

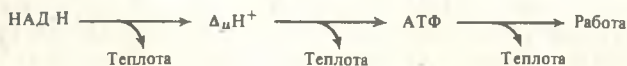
Известна наследственная болезнь хронический грануломатоз: при этой болезни имеется дефект ферментов, участвующих в продуцировании активных форм кислорода в лейкоцитах, вследствие этого больные грануломатозом страдают повышенной восприимчивостью к бактериальной инфекции.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН И ТЕПЛОПРОДУКЦИЯ

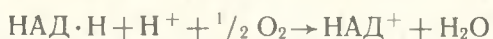
Таким образом, превращения энергии пищевых веществ в организме включают следующие основные этапы:

- 1) аккумуляция в НАД·Н или QH_2 —донорах высокоэнергетических электронов;
- 2) превращение в форму электрохимического потенциала митохондриальной мембраны;
- 3) аккумуляция в АТФ;
- 4) использование АТФ для совершения работы.

Разумеется, на всех этапах трансформации часть энергии рассеивается в форме теплоты:



Суммарную реакцию окисления НАД·Н в дыхательной цепи можно представить следующим образом:



Свободная энергия этой реакции равна —220 кДж/моль. Если принять, что в АТФ при образовании одной макроэргической связи запасается 50 кДж/моль, а коэффициент фосфорилирования равен трем, то получается, что на этом этапе используется 150 кДж/моль — несколько больше половины всей энергии; остальная часть рассеивается.

При использовании АТФ для совершения работы значительная часть энергии также превращается в теплоту. Именно поэтому при напряженной физической работе, когда синтезируется и расходуется много АТФ, становится жарко: теплоты образуется столько, что включаются специальные физиологические механизмы для удаления ее избытка из организма. Наоборот, при снижении температуры тела включается механизм дрожания (несогласованного сокращения отдельных групп мышечных клеток) для увеличения продукции теплоты.

Основные источники теплоты, поддерживающие температуру тела гомойотермных животных, по-видимому, связаны именно с использованием АТФ. В частности, значительный вклад в образование теплоты вносят транспортные АТФазы. Например, самый распространенный ионный насос Na, K-АТФаза работает непрерывно, обеспечивая вторично-активный перенос веществ и компенсируя диффузию ионов натрия и калия через мембрану. В результате активного переноса и обратной простой диффузии ионов энергия АТФ в конечном счете превращается в теплоту.

В постабсорбтивном периоде и в состоянии покоя, в лежачем или сидячем положении расходование энергии на внешнюю работу минимально и теплопродукция становится главным путем расхода энергии организмом. Такое состояние энергетического обмена называют *основным обменом*. Интенсивность основного обмена можно оценить количественно по величине теплопродукции. Для взрослого человека она равна примерно 350 кДж/ч (8400 кДж, или 2000 ккал за сутки); это соответствует мощности 100-ваттной лампочки (360 кДж/ч). Однако надо отметить, что расход энергии зависит от размеров тела и примерно линейно пропорционален площади поверхности тела.

В других состояниях энергетические траты складываются из энергии основного обмена и энергии, затрачиваемой на внешнюю работу: при неторопливой пешей прогулке расходуется около 450 кДж/ч, при тяжелой физической работе (например, такой, как работа лесоруба) — до 2000 кДж/ч. Калорийность потребляемой пищи должна быть равна этим тратам; соответственно увеличивается и потребление кислорода.

Некоторые терминологические вопросы. При описании превращений энергии в организме наряду с термином энергетический

обмен часто используют термины *тканевое дыхание* и *биологическое окисление*. Значения этих терминов совпадают лишь частично.

Под *энергетическим обменом* имеют в виду трансформацию энергии пищевых веществ в энергию АТФ или другие конвертируемые формы энергии (НАДФ·Н, НАД·Н, $\Delta\mu\text{H}^+$) и использование клеткой этих форм энергии для совершения работы.

Термин *тканевое дыхание* прежде всего указывает на ту сторону процесса, которая связана с поглощением кислорода и выделением углекислого газа. Поглощение кислорода происходит в результате действия митохондриальной цепи переноса электронов и протонов, поэтому ее называют также дыхательной цепью. Выделение CO_2 , как мы видели, происходит за счет реакций декарбоксилирования в общем пути катаболизма.

Термин *биологическое окисление* — наименее определенный: иногда его употребляют в том же значении, что и тканевое дыхание. Однако часто в это понятие включают более широкий круг явлений, относя к биологическому окислению многие окислительно-восстановительные реакции, не связанные с утилизацией энергии организмом.

ГИПОЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ СОСТОЯНИЯ

Живая клетка нуждается в АТФ непрерывно, поскольку разнообразные процессы, связанные с использованием АТФ, в клетке никогда не прекращаются. Например, для обновления белков расходуется около 15% всей энергии основного обмена (т. е. обмена в состоянии покоя), на поддержание трансмембранного градиента концентраций ионов натрия и калия — около 30%. При переходе к мышечной активности потребность в АТФ многократно увеличивается.

Запасов АТФ в клетке практически не создается. Например, в сердечной мышце АТФ истощается за несколько секунд, если блокирован его синтез. Следовательно, клетка непрерывно должна получать пищевые вещества (доноры водорода) и кислород для поддержания синтеза АТФ. При голодании в качестве источников энергии используются собственные вещества тканей. Энергетический обмен в этих условиях снижен: через две недели голодания потребление кислорода уменьшается на 40% (алиментарная форма гипоэнергетического состояния). Резервов пищевых веществ в организме хватает на несколько недель полного голодания, запасов же кислорода нет, поэтому при лишении кислорода уже через 2—3 мин наступает смерть. Гипоксия — наиболее частая причина гипоэнергетических состояний (табл. 3*), а гипоксия мозга — наиболее частая непосредственная (последняя) причина смерти. Поэтому среди реанимационных процедур ведущее место занимают меры, направленные на восстановление снабжения органов кислородом.

Энергетический обмен и гиповитаминозы. В процессах энерге-

Т а б л и ц а 32. Гипоэнергетические состояния

Формы гипоэнергетических состояний	Причины возникновения
I. Алиментарные II. Гипоксические А. Связанные с нарушением поступления кислорода в кровь: экзогенная гипоксия легочная (дыхательная) гипоксия Б. Связанные с нарушением транспорта кислорода в ткани: гемодинамическая гипоксия гемоглобиновая гипоксия III. Митохондриальные (т. е. связанные с нарушением использования кислорода в клетках)	Голодание, гиповитаминозы Недостаток O ₂ во вдыхаемом воздухе Нарушение легочной вентиляции или перехода O ₂ из альвеол в кровь Нарушения кровообращения (генерализованные — пороки сердца, кровопотеря, шок и др.; локальные — спазм сосудов, тромбоз, артерио-венозный шунт) Гипогемоглобинемия, блокирование гемоглобина ядами, патологические варианты гемоглобина Нарушение функций митохондрий ингибиторами ферментов дыхательной цепи, разобщителями окисления и фосфорилирования, мембранотропными веществами

тического обмена, рассмотренных в этой главе, участвуют коферменты, содержащие витамины B₁, PP, B₂, пантотеновую кислоту и биотин.

✓ Недостаточность витамина B₁ проявляется как болезнь бери-бери. При этом наблюдаются потеря веса, атрофия мышц, невриты, мышечная слабость, могут возникнуть неврозы и нарушения интеллекта. При гиповитаминозе PP развивается пеллагра, характерные симптомы которой — дерматиты на участках кожи, доступных солнечному свету, стоматит, диарея, кровоизлияния в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта. При недостатке витамина B₂ наблюдаются себорейный дерматит, трещины на губах и в углах рта, васкуляризация роговицы глаза. Молекулярные механизмы развития симптомов этих гиповитаминозов неизвестны.

Признаки недостаточности пантотеновой кислоты и биотина у человека не изучены. Оба эти витамина широко распространены в природе, в достаточных количествах содержатся во многих пищевых продуктах, синтезируются кишечной флорой, поэтому гиповитаминозы возникают лишь при общем нарушении питания, когда имеет место недостаточность и других витаминов.

ОБМЕН И ФУНКЦИИ УГЛЕВОДОВ

В организме человека имеется несколько десятков разных моносахаридов и очень много (тысячи) разных олиго- и полисахаридов. Функции углеводов в организме заключаются в следующем.

1. Углеводы служат источником энергии: за счет их окисления удовлетворяется примерно половина всей потребности человека в энергии. В энергетическом обмене главная роль принадлежит глюкозе и гликогену.

2. Углеводы входят в состав структурно-функциональных компонентов клеток. К ним относятся пентозы нуклеотидов и нуклеиновых кислот, углеводы гликолипидов и гликопротеинов, гетерополисахариды межклеточного вещества.

3. Из углеводов в организме могут синтезироваться соединения других классов, в частности липиды и некоторые аминокислоты (рис. 87).

Таким образом, углеводы выполняют многообразные функции, и каждая из них жизненно важна для организма. Но если говорить о количественной стороне, то первое место принадлежит использованию углеводов в качестве источника энергии.

Наиболее распространенный углевод животных — глюкоза. Она играет роль связующего звена между энергетическими и пластическими функциями углеводов, поскольку из глюкозы могут образоваться все другие моносахариды, и наоборот — разные моносахариды могут превращаться в глюкозу.

Источником углеводов организма служат углеводы пищи — главным образом крахмал, а также сахароза и лактоза. Кроме того, глюкоза может образоваться в организме из аминокислот, а также из глицерина, входящего в состав жиров (триацилглицеринов).



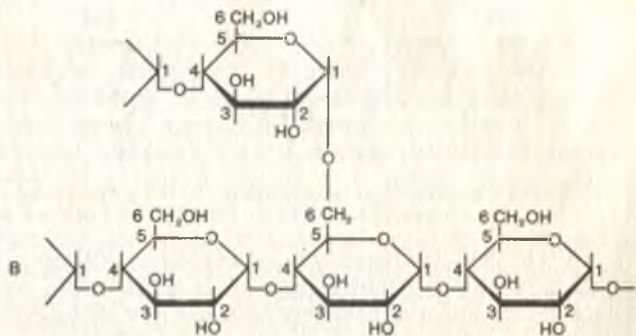
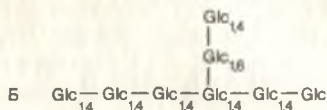
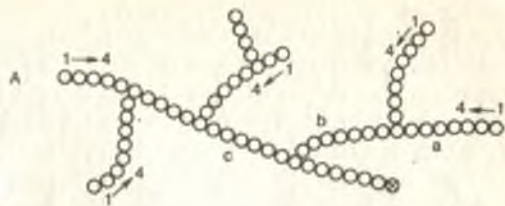
ПЕРЕВАРИВАНИЕ УГЛЕВОДОВ

Углеводы пищи в пищеварительном тракте распадаются на мономеры при действии гликозидаз — ферментов, катализирующих гидролиз гликозидных связей.

Переваривание крахмала начинается уже в ротовой полости: в слюне содержится фермент *амилаза* (α -1,4-

87
Общая схема метаболизма глюкозы:

1 — запасание углеводов в виде гликогена; 2 — мобилизация гликогена; 3—6 — анаболические превращения глюкозы; 7 — катаболизм глюкозы

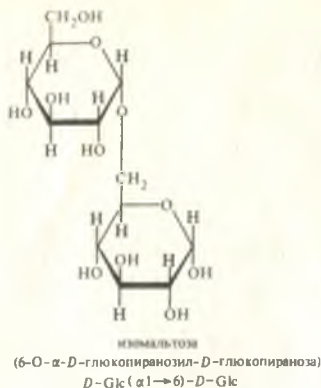
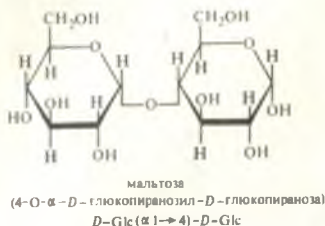


Строение крахмала и гликогена:

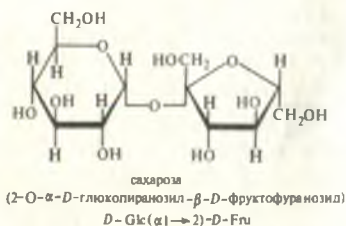
А. Общая схема: *a* — концевые цепи, *b* — внутренние цепи, *c* — единственная в молекуле цепь, имеющая глюкозный остаток (обозначен крестиком) со свободным гликозидным гидроксилом — редуцирующий конец. Гликоген отличается от крахмала большей ветвистостью: в гликогене цепи между ответвлениями содержат в среднем 12 мономеров, в крахмале 24. Б. Фрагмент молекулы, включающий точку ветвления. В. Гликозидные связи в молекуле крахмала и гликогена: 1→4 — в линейных участках, 1→6 — в месте разветвления

гликозидаза), расщепляющий α -1,4-гликозидные связи (рис. 88). Поскольку пища в ротовой полости находится недолго, то крахмал здесь переваривается лишь частично.

Основным местом переваривания крахмала служит тонкий кишечник, куда поступает амилаза в составе сока поджелудочной железы. Амилаза не гидролизует гликозидную связь в дисахаридах, поэтому основным продуктом действия кишечной амилазы является дисахарид мальтоза. Из тех глюкозных остатков, которые в молекуле крахмала соединены 1,6-гликозидной связью, образуется дисахарид изомальтоза:



Кроме того, с пищей в организм поступают дисахариды сахаразы и лактозы:

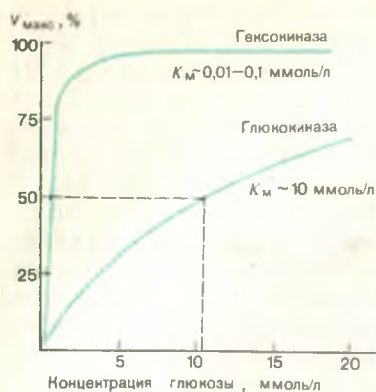


Мальтоза, изомальтоза, лактоза и сахараза гидролизуются специфическими гликозидазами — мальтазой, изомальтазой, лактазой и сахаразой соответственно. Эти ферменты синтезируются в клетках кишечника, но не выделяются в просвет кишечника: гидролиз дисахаридов происходит, вероятно, на поверхности клеток, а возможно — и внутри клеток кишечника.

Продукты полного переваривания углеводов — глюкоза, галактоза и фруктоза — через клетки кишечника поступают в кровь. При всасывании из кишечника в кровь моносахариды проникают через клеточные мембраны путем облегченной диффузии, с участием специальных переносчиков. Кроме того, для переноса глюкозы и галактозы существует еще и другой способ — активный транспорт по механизму симпорта за счет градиента концентрации ионов натрия, который создается Na, K-АТФазой. Этот механизм обеспечивает перенос моносахаридов против градиента концентрации, и поэтому может функционировать тогда, когда концентрация глюкозы или галактозы в кишечнике невелика.

ВРЕМЕННАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ ЛАКТАЗЫ

Уже упоминалось о наследственном отсутствии лактазы и непереносимости молока у значительной части взрослых людей (см. гл. V). Однако чаще непереносимость лактозы бывает



Зависимость активности гексокиназы и глюкокиназы от концентрации глюкозы

Глюкоза способна проходить через клеточные мембраны, в то время, как для глюкозо-6-фосфата мембраны непроницаемы. Таким образом, в результате фосфорилирования глюкоза «запирается» в клетке. В паренхиматозных клетках печени есть два фермента (изофермента), катализирующих эту реакцию, — гексокиназа и глюкокиназа (в других органах — только гексокиназа). Гексокиназа обладает высоким сродством к глюкозе ($K_M < 0,1$ ммоль/л); следовательно, максимум скорости реакции достигается при низкой концентрации глюкозы (рис. 89). Глюкозо-6-фосфат ингибирует гексокиназу.

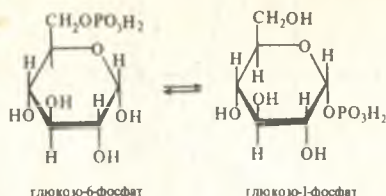
Глюкокиназа отличается от гексокиназы высоким значением K_M для глюкозы — около 10 ммоль/л и не ингибируется глюкозо-6-фосфатом. Эти свойства соответствуют условиям ее функционирования в печени. В постабсорбтивном состоянии концентрации глюкозы в крови около 5 ммоль/л. При такой концентрации скорость глюкокиназной реакции составляет примерно $1/5$ от максимальной скорости, т. е. фермент работает не на полную мощность. Во время пищеварения в воротную вену и далее в печень поступают большие количества глюкозы, и ее концентрация в клетках печени может превышать 10 ммоль/л. Соответственно увеличивается скорость глюкокиназной реакции и значительная часть глюкозы задерживается в печени. Наряду с другими механизмами (см. гл. XIV) это предотвращает чрезмерное повышение концентрации глюкозы в периферической крови при пищеварении.

Возможно и обратное превращение глюкозо-6-фосфата в глюкозу при действии глюкозо-6-фосфатазы:



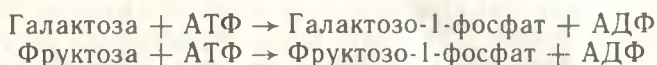
Глюкозо-6-фосфатаза есть в печени, в почках, а также в клетках эпителия кишечника. В других органах и тканях, в частности в мышцах, этого фермента нет и, следовательно, проникновение глюкозы в клетки этих органов необратимо (вследствие фосфорилирования глюкозы в клетках и непроницаемости клеточной мембраны для глюкозо-6-фосфата).

Глюкозо-6-фосфат может превратиться в глюкозо-1-фосфат при участии фосфоглюкомутазы, катализирующей обратимую реакцию:



Глюкозо-1-фосфат получается также при распаде гликогена (см. ниже).

Галактоза и фруктоза, поступающие из кишечного тракта, при участии соответственно галактокиназы и фруктокиназы фосфорилируются по первому углеродному атому:



Фосфорилирование («активация») служит первой стадией любых дальнейших превращений моносахаридов.

КАТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ

✓ **Аэробный распад**

Основной путь катаболизма глюкозы у аэробных организмов — это аэробный распад. В этом процессе можно выделить три части:

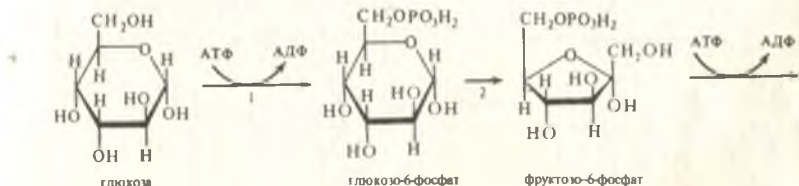
специфические для глюкозы превращения, завершающиеся образованием пирувата (*аэробный гликолиз*);

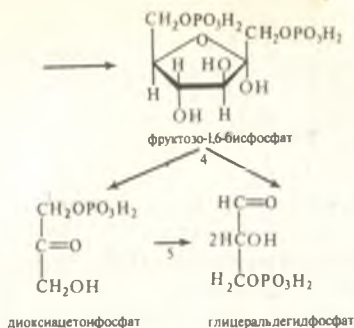
общий путь катаболизма (окислительное декарбоксилирование пирувата и цитратный цикл);

митохондриальная цепь переноса электронов.

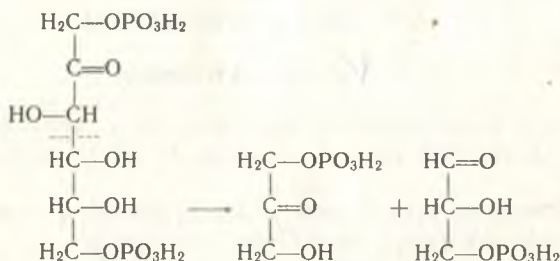
✓ В результате этих процессов глюкоза распадается до CO_2 и H_2O , а освобождающаяся энергия используется для синтеза АТФ. Вторая и третья части рассмотрены в гл. VIII, а здесь мы представим превращения, специфические для глюкозы.

Распад глюкозы до пирувата в свою очередь можно разделить на два этапа: от глюкозы до глицеральдегидфосфата и от глицеральдегидфосфата до пирувата. В реакциях первого этапа происходит включение фосфатных остатков в гексозы и превращение гексозы в триозу:



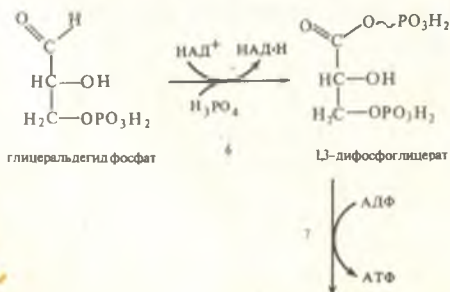


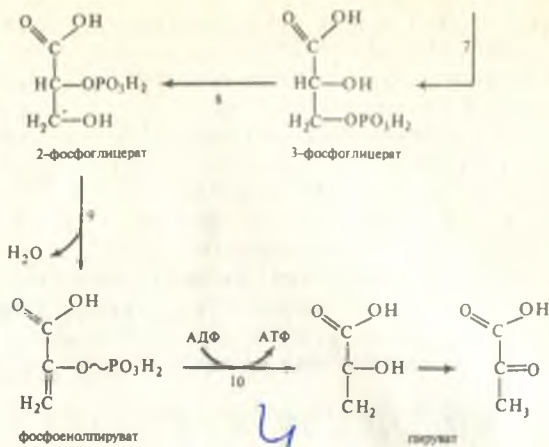
Реакции этого этапа катализируют следующие ферменты: гексокиназа или глюкокиназа (1); фосфоглюкоизомеразы (2); фосфофруктокиназа (3); альдолаза фруктозо-1,6-бисфосфата (4); фосфотриозоизомеразы (5). В реакции 4 гексоза при действии альдолазы распадается на две триозы (альдольное расщепление). Эту реакцию легче понять, если фруктозо-1,6-бисфосфат представить в линейной (открытой) форме:



Поскольку дигидроксиацетонфосфат тоже превращается в глицеральдегидфосфат (реакция 5), то в конечном счете этот этап завершается превращением каждой молекулы глюкозы в две молекулы глицеральдегидфосфата.

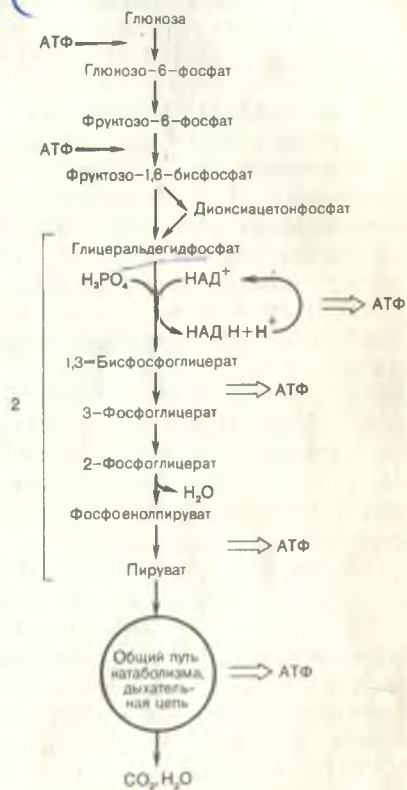
Второй этап распада глюкозы включает реакции, связанные с синтезом АТФ. В этом этапе участвует тоже пять ферментов: дегидрогеназа глицеральдегидфосфата (6); фосфоглицераткиназа (7); фосфоглицеромутаза (8); енолаза (9); пируваткиназа (10):





В реакции 6 происходит дегидрирование глицеральдегидфосфата, причем акцептором водорода служит НАД; в реакции участвует неорганическая фосфорная кислота, а образующийся 1,3-бисфосфоглицерат содержит высокоэнергетическую ангидридную связь. В реакции 7 фосфатный остаток с 1,3-бисфосфоглицерата переносится на АДФ, т. е. происходит синтез АТФ путем субстратного фосфорилирования (фермент, катализирующий эту реакцию, назван фосфоглицераткиназой по обратной реакции). В реакции 9 в результате дегидратации 2-фосфоглицерата образуется фосфоенолпируват, содержащий высокоэнергетическую связь, и становится возможной еще одна реакция субстратного фосфорилирования (реакция 10). В реакции 10 получается енольная форма пирувата, которая превращается в кето-форму неферментативно.

На рис. 90 представлена схема аэробного распада глюкозы. При аэробном распаде



90

Аэробный распад глюкозы (число 2 слева — стехиометрический коэффициент во всех реакциях, отмеченных квадратной скобкой)

происходит шесть реакций дегидрирования: одна — на стадии глицеральдегидфосфата, и пять — в общем пути катаболизма. С восстановленных коферментов водород в конечном счете передается на кислород воздуха через митохондриальную дыхательную цепь. Именно поэтому рассматриваемый процесс называется аэробным. В отсутствие кислорода все имеющиеся в клетке запасы окисленных коферментов (НАД и других) превратились бы в восстановленные формы, и дальнейшее окисление глюкозы стало бы невозможным.

Выход АТФ при аэробном распаде глюкозы. Основное физиологическое назначение аэробного распада глюкозы заключается в использовании ее энергии для синтеза АТФ. В этом метаболическом пути имеется ряд стадий, ведущих к синтезу АТФ:

Три реакции субстратного фосфорилирования (7-я, 10-я и одна — в цитратном цикле)	3 АТФ
Пять реакций дегидрирования, акцептор НАД ⁺ (Р/О=3)	15 АТФ
Одна реакция дегидрирования, акцептор убихинон (Р/О=2)	2 АТФ
<hr/>	<hr/>
Всего	20 АТФ

Все реакции, связанные с синтезом АТФ, происходят после расщепления гексозы на две триозы. Поэтому, учитывая стехиометрический коэффициент, полученную величину нужно умножить на 2, т. е. в расчете на 1 моль распадающейся глюкозы синтезируется 40 моль АТФ. В начальных стадиях (реакции 1 и 3) затрачивается 2 моль АТФ; после их вычитания получаем чистый выход — 38 моль АТФ на 1 моль глюкозы.

Полная энергия распада глюкозы составляет 2880 кДж/моль. Свободная энергия гидролиза высокоэнергетической связи АТФ равна 50 кДж/моль. Для синтеза АТФ при окислении глюкозы используется $38 \cdot 50 = 1900$ кДж, что составляет около 65% от всей энергии распада глюкозы. Это максимально возможная эффективность использования энергии глюкозы. Следует иметь в виду, что реальная эффективность может быть существенно ниже; возможно, образуется всего около 25 моль АТФ на 1 моль глюкозы.

Челночные механизмы. Десять ферментов, катализирующих распад глюкозы до стадии пирувата, локализованы в цитозоле; все остальные — в митохондриях. В числе первых десяти реакций есть дегидрирование с участием НАД⁺ (реакция 6). Образующийся здесь НАД·Н не может передавать водород непосредственно на дыхательную цепь, поскольку митохондриальная мембрана непроницаема для НАД·Н. Перенос водорода с цитозольного НАД·Н в митохондрии происходит при участии специальных механизмов, называемых *челночными*. Суть этих механизмов сводится к тому, что НАД·Н в цитозоле восстанавливает некоторое соединение, способное проникать в митохондрию; в митохондрии это соединение окисляется, восстанавливая внутримитохондриальный НАД, и вновь переходит в цитозоль.



91

Малат-аспартатный челнок:

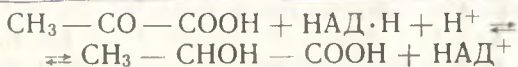
1 — малат- α -кетоглутараттранслоказа; 2 — глутамат-аспартаттранслоказа; 3 и 4 — реакция трансминирования, протекающая в матриксе митохондрий и в цитозоле в противоположных направлениях

На рис. 91 представлен один из таких механизмов — *малат-аспартатный челнок*.

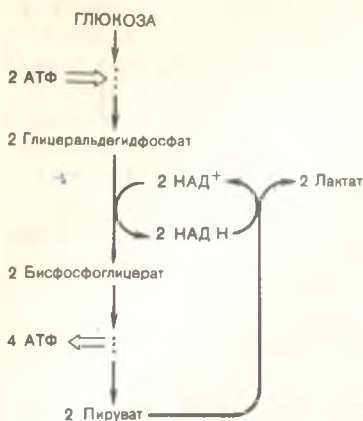
Аэробный распад глюкозы в мозге. Аэробный распад глюкозы может происходить во всех органах и тканях. Но многие органы используют и другие источники энергии или другие способы синтеза АТФ. В наибольшей зависимости от аэробного распада глюкозы находится мозг. Он расходует около 100 г глюкозы в сутки. В состоянии основного обмена около 20% всего поступающего в организм кислорода потребляется мозгом (отметим, что на долю мозга приходится лишь 2% массы тела). Поэтому как недостаток глюкозы, так и недостаток кислорода проявляются прежде всего симптомами со стороны центральной нервной системы — головокружением, потерей сознания, судорогами.

Анаэробный гликолиз

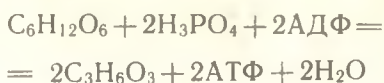
В клетках животных и человека широко распространен фермент лактатдегидрогеназа, катализирующий обратимое превращение пировиноградной кислоты в молочную:



Десять цитозольных ферментов, превращающих глюкозу в пироват, совместно с лактатдегидрогеназой способны обеспечить синтез АТФ в отсутствие кислорода, в анаэробных условиях. При этом акцептором водорода служит пировиноградная кислота, которая превращается в молочную кислоту, выполняющую функцию накопителя, резервуара восстановительных эквивалентов, т. е. водорода (рис. 92). В анаэробном процессе, не нуждающемся в митохондриальной дыхательной цепи, АТФ образуется за счет двух реакций субстратного фосфорилирования. В этих реакциях в расчете на 1 моль глюкозы образуется 4 моль АТФ; после вычитания 2 моль АТФ, потребляемых на начальных стадиях, получаем чистый выход АТФ при гликолизе — 2 моль АТФ на 1 моль глюкозы. Суммарный результат гликолиза выражается следующим уравнением:



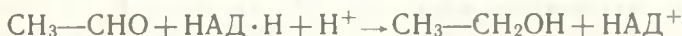
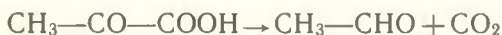
99 Анаэробный распад глюкозы



Фигурирующая в этом уравнении неорганическая фосфорная кислота потребляется в реакции, катализируемой дегидрогеназой глицеральдегидфосфата.

Аналогичный процесс у бактерий называют молочнокислым брожением: он лежит в основе приготовления многих кисломолочных продуктов. У дрожжей в анаэробных условиях имеет место сходный процесс — спиртовое брожение: в этом случае пируват сначала декарбоксилируется с образованием уксусного альде-

гида, который затем восстанавливается в этиловый спирт:



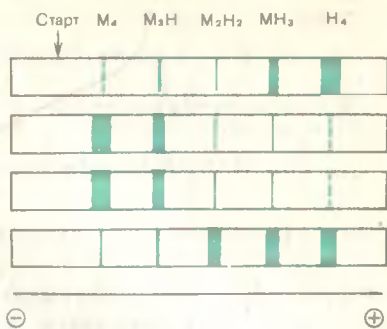
✓ Гликолиз у животных и человека может происходить во многих типах клеток, но его значение для разных органов различно. В интенсивно работающих скелетных мышцах мощность механизма транспорта кислорода к митохондриям и мощность митохондриального аппарата синтеза АТФ оказываются недостаточными для обеспечения всей энергетической потребности; в этих условиях резко усиливается анаэробный путь синтеза АТФ и в мышцах накапливается молочная кислота: после ночного сна концентрация лактата в крови составляет 1—2 ммоль/л, а после тяжелой мышечной работы может достигать 20 ммоль/л. Особенно большое значение анаэробный гликолиз имеет при кратковременной интенсивной работе. Так, бег в течение примерно 30 с (дистанция около 200 м) полностью обеспечивается анаэробным гликолизом. При этом скорость анаэробного гликолиза довольно быстро уменьшается, а аэробного распада — увеличивается. Через 4—5 мин бега (дистанция около 1,5 км) энергия поставляется поровну аэробным и анаэробным процессами, а через 30 мин (около 10 км) — почти целиком аэробным процессом. В продолжение первой минуты работы благодаря анаэробному процессу достигается гораздо большая мощность, чем при дальнейшей работе. Отметим, что при длительной работе в аэробном процессе все в большей мере используется не глюкоза, а жирные кислоты (см. гл. X).

Эритроциты вообще не имеют митохондрий, и их потребность

в АТФ целиком удовлетворяется за счет анаэробного гликолиза. Интенсивный гликолиз характерен также для клеток злокачественных опухолей. Меньшее значение этот процесс имеет для сердечной мышцы, мозга, почек.

Отметим, что в живых тканях анаэробных условий не бывает. Определение «анаэробный» в термине «анаэробный распад» указывает лишь на то, что кислород в этом процессе не используется.

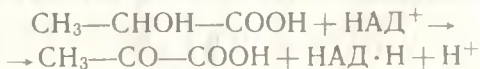
Изоферменты лактатдегидрогеназы. Лактатдегидрогеназа представляет собой тетрамер, содержащий протомеры двух типов — М (от англ. muscle — мышца) и Н (от англ. heart — сердце). Известно пять изоферментов, различающихся набором протомеров: M_4 , M_3H_1 , M_2H_2 , M_1H_3 , H_4 . Изоферментный состав разных органов неодинаков. Например, в скелетных мышцах преобладает изофермент M_4 , в сердечной мышце — H_4 (рис. 93). Изоферменты имеют разный суммарный заряд молекулы, что позволяет разделять их методом электрофореза и измерять активность (количество) каждого изофермента. При ряде заболеваний лактатдегидрогеназа появляется в крови; определив ее изоферментный состав, можно узнать, какой орган поражен. Этот метод используется в клинической практике для диагностики.



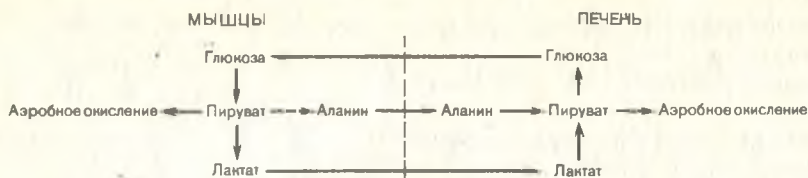
93 Распределение на электрофореграмме и относительные количества изоферментов ЛДГ в разных органах

БИОСИНТЕЗ ГЛЮКОЗЫ (ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ)

Молочная кислота не является конечным продуктом обмена, но ее образование — это тупиковый путь метаболизма: единственный способ использования молочной кислоты связан с ее превращением вновь в пируват при участии той же лактатдегидрогеназы:



Из клеток, в которых происходит гликолиз, образующаяся молочная кислота поступает в кровь и улавливается в основном печенью, где и превращается в пируват. Пируват в печени частично окисляется, частично превращается в глюкозу — цикл Кори, или глюкозо-лактатный цикл (рис. 94). Часть пирувата

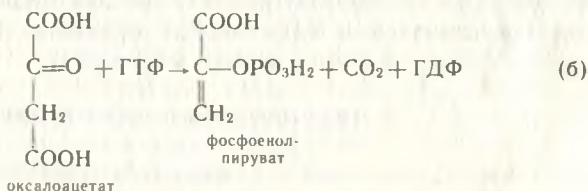
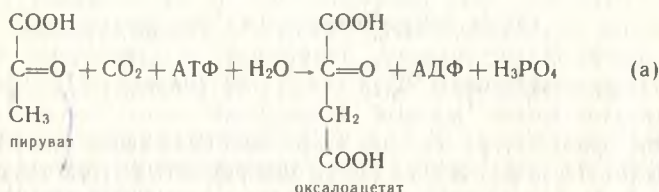


Глюкозолактатный и глюкозоаланиновый циклы

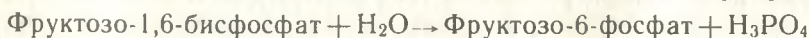
в мышцах путем трансаминирования превращается в аланин, который транспортируется в печень, и здесь снова образует пируват — *глюкозо-аланиновый цикл*.

Глюконеогенез в основном протекает по тому же пути, что и гликолиз, но в обратном направлении. Однако три реакции гликолиза необратимы, и на этих стадиях реакции глюконеогенеза отличаются от реакций гликолиза (рис. 95, стадии I, II, III).

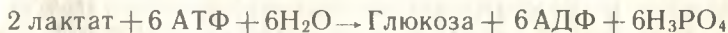
Превращение пирувата в фосфоенолпируват (необратимая стадия I) осуществляется при участии двух ферментов — пируваткарбоксилазы (а) и карбоксикиназы фосфоенолпирувата (б):



Две другие необратимые стадии катализируются фосфатазой фруктозо-1,6-бисфосфата и фосфатазой глюкозо-6-фосфата:

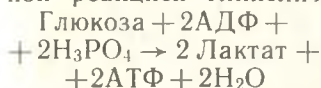


На каждую молекулу лактата при глюконеогенезе расходуется три молекулы АТФ (точнее, две АТФ и одна ГТФ); поскольку для образования глюкозы необходимо две молекулы лактата, суммарный процесс глюконеогенеза описывается так:



Образовавшаяся глюкоза может вновь поступать в мышцы

и там превращаться в молочную кислоту. Сопоставим суммарную реакцию глюконеогенеза с суммарной реакцией гликолиза:

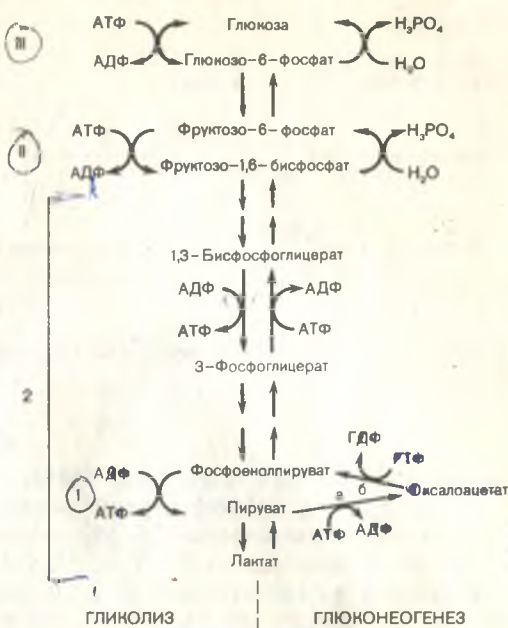


Из этого сопоставления следует, что в результате действия цикла Кори работающие мышцы добывают 2АТФ за счет расходования 6 АТФ в печени.

Из рис. 92 видно, что вся имеющаяся в организме глюкоза (как поступающая с пищей, так и синтезирующаяся) в конечном счете окисляется до CO_2 и H_2O аэробным путем. Иначе говоря, анаэробный распад служит вспомогательным путем использования энергии глюкозы, имеющим локальное (например, в эритроцитах) или временное, ситуационное (в работающей мышце) значение; продукт анаэробного распада — молочная кислота — в конечном счете тоже окисляется аэробным путем.

Глюкоза может синтезироваться не только из лактата, но и из других веществ, способных превращаться в какой-либо из промежуточных продуктов глюконеогенеза — в пируват, оксалоацетат, глицеральдегидфосфат. Кроме синтеза глюкозы из молочной кислоты важное значение имеет глюконеогенез из глицерина и аминокислот (см. гл. X, XI). В организме взрослого человека за сутки может синтезироваться около 80 г глюкозы, главным образом в печени, а также в корковом веществе почек и в слизистой оболочке кишечника.

Биологическое значение глюконеогенеза заключается не только в возвращении лактата в метаболический фонд углеводов, но и в обеспечении глюкозой мозга при недостатке углеводов в организме, например при углеводном или полном голодании, при сахарном диабете.



Реакции гликолиза и глюконеогенеза

РЕГУЛЯЦИЯ ГЛИКОЛИЗА И ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗА

На рис. 96 указаны аллостерические эффекторы, от концентрации которых зависит скорость гликолиза и глюконеогенеза. Отметим, что регулирующие воздействия направлены на необра-



Регуляция гликолиза и глюконеогенеза энергетическим статусом клетки

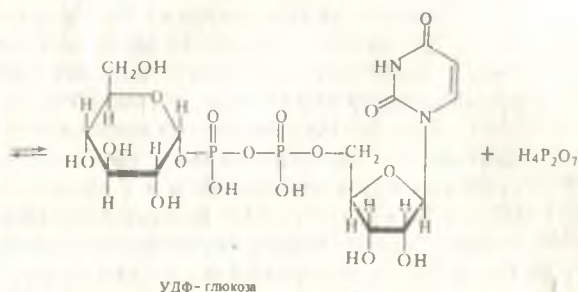
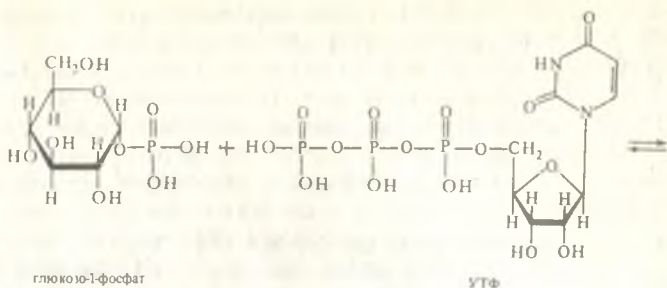
тимые стадии этих процессов. Детали регуляции различны для разных органов. Общей чертой является зависимость скоростей гликолиза и глюконеогенеза от энергетического статуса клетки. Высокие концентрации АТФ и НАД·Н ингибируют гликолиз, и тем самым предотвращается дальнейшее накопление этих веществ. Поскольку при высокой концентрации АТФ концентрации АДФ и АМФ будут низкими, то ингибирование карбоксилазы и фруктозо-1,6-бисфосфатазы прекращается и скорость глюконеогенеза увеличивается. Высокие концентрации АДФ и АМФ, наоборот, стимулируют гликолиз и подавляют глюконеогенез.

Кроме того, скорость этих процессов зависит от поступления в клетки исходных субстратов. В мышцах скорость гликолиза увеличивается при сокращении в результате ускоренного поступления глюкозы из крови в мышечные клетки. В печени в этих условиях ускоряется глюконеогенез в результате усиленного поступления лактата из мышц. Напомним, что глюконеогенез в мышцах вообще не происходит. В печени и в коре почек возможен как глюконеогенез, так и гликолиз, однако интенсивность гликолиза, по-видимому, невелика. В этих органах благодаря регуляторным механизмам происходит переключение с распада глюкозы на ее синтез (или наоборот) в соответствии с потребностями организма в энергии.

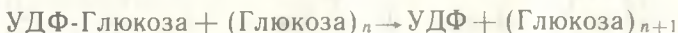
БИОСИНТЕЗ ГЛИКОГЕНА

Значительная часть глюкозы, поступающей в клетки при пищеварении, превращается в них в гликоген — запасный полисахарид, используемый в интервалах между приемами пищи.

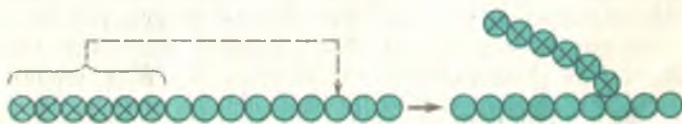
Гликоген по строению сходен с крахмалом. Непосредственным донором глюкозных остатков при биосинтезе гликогена служит уридиндифосфатглюкоза (УДФ-глюкоза) — продукт взаимодействия глюкозо-1-фосфата и УТФ:



Эта реакция обратима, и фермент по обратной реакции назван УДФ-глюкозопирофосфорилазой. Однако в живой клетке реакция идет в сторону синтеза УДФ-глюкозы, поскольку образующийся пирофосфат ($H_4P_2O_7$) тут же гидролизуется пирофосфатазой до H_3PO_4 . При синтезе гликогена роль акцептора глюкозных остатков с УДФ-глюкозы выполняют олигосахариды из трех или более глюкозных остатков, связанных 1,4-гликозидной связью, или уже имеющиеся молекулы гликогена:

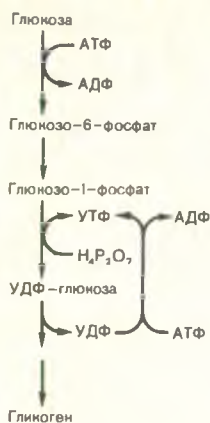


Реакцию катализирует гликогенсинтаза (глюкозилтрансфераза); при этом образуются 1,4-гликозидные связи в линейных участках молекулы гликогена. Ветвления возникают в результате действия фермента ветвления (амило-1,4 \rightarrow 1,6-гликозилтрансфераза). Этот фермент переносит фрагмент из пяти — семи мономеров с конца линейного участка ближе к его середине (рис. 97); фрагмент присоединяется 1,6-гликозидной связью. Затем оба конца удлиняются при участии гликогенсинтазы и на них вновь возникают ветвления, и т. д.



97

Схема действия фермента ветвления (○ — глюкозные остатки)



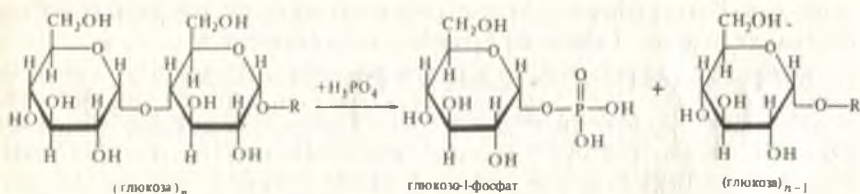
98
Схема синтеза гликогена

Таким путем синтезируются огромные молекулы с молекулярной массой от $1 \cdot 10^6$ до $2 \cdot 10^8$, содержащие от 6 тыс. до 1 млн. глюкозных остатков. В клетке гликоген находится не в растворенном состоянии, а в виде гранул диаметром 40—200 нм, включающих одну или несколько молекул. Необходимость превращения глюкозы в гликоген при запасании энергетического материала обусловлена тем, что накопление легко растворимой глюкозы в клетках могло бы привести к осмотическому шоку — разрушению клеточной мембраны. Запасание гликогена связано с расходом двух молекул АТФ на каждую молекулу глюкозы, включающуюся в гликоген (рис. 98).

Гликоген образуется практически во всех клетках организма, однако наибольшая концентрация обнаруживается в печени — от 2 до 6%, и в мышцах — от 0,5 до 2%. Поскольку общая масса мышц велика, большая часть всего гликогена организма содержится в мышцах.

МОБИЛИЗАЦИЯ ГЛИКОГЕНА

Глюкоза, депонированная в форме гликогена, освобождается из него при участии гликогенфосфорилазы. Этот фермент катализирует фосфоролитиз 1,4-гликозидной связи нередуцирующих концов гликогена:



Глюкозный остаток отщепляется в форме глюкозо-1-фосфата (на схеме R — остальная часть молекулы гликогена). В точках разветвления 1,6-гликозидная связь расщепляется амило-1,6-гликозидазой гидролитически, с образованием свободной глюкозы.

Голодание в течение 24 ч приводит практически к полному исчезновению гликогена в клетках печени. Однако при ритмичном питании каждая молекула гликогена может существовать неопределенно долго: при отсутствии пищеварения и поступления в ткани глюкозы молекулы гликогена уменьшаются за счет расщепления периферических ветвей, а после очередного приема пищи вновь вырастают до прежних размеров. Аналогичные процессы происходят и в мышечной ткани, но здесь они в значительной мере определяются режимом мышечной работы.

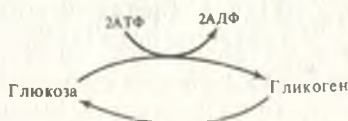
Глюкозо-1-фосфат, образующийся из гликогена, при участии

фосфоглюкомутазы превращается в глюкозо-6-фосфат, дальнейшая судьба которого в печени и в мышцах различна. В печени глюкозо-6-фосфат превращается в глюкозу при участии глюкозо-6-фосфатазы, глюкоза выходит в кровь и используется в других органах и тканях. В мышцах нет этого фермента, поэтому глюкозо-6-фосфат используется здесь же, в мышечных клетках, распадаясь аэробным или анаэробным путем.



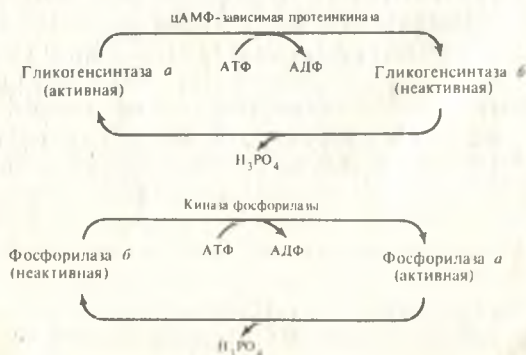
РЕГУЛЯЦИЯ ДЕПОНИРОВАНИЯ И МОБИЛИЗАЦИИ ГЛИКОГЕНА

Гликоген как запасная форма глюкозы накапливается в клетках во время пищеварения и расходуется в промежутках между приемами пищи. Очевидно, при смене этих периодов должны изменяться относительные скорости синтеза и распада гликогена. Кроме того, энергетические потребности организма изменяются при переходе от покоя к активности и наоборот и соответственно должна регулироваться скорость расходования гликогена. Наконец, одновременное протекание и синтеза, и распада гликогена в одной и той же клетке привело бы к образованию порочного цикла, единственным результатом которого было бы растрачивание АТФ:

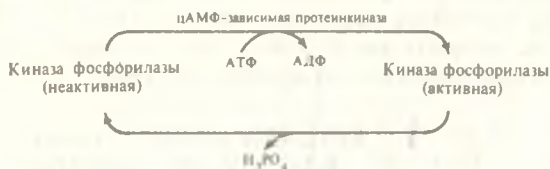


Следовательно, регуляторные механизмы должны быть такими, чтобы при включении одного процесса автоматически выключался бы другой.

Ключевую роль в регуляции синтеза и распада гликогена играют гликогенсинтаза и гликогенфосфорилаза. Каждый из этих ферментов существует в двух формах, способных к взаимопревращению и различающихся активностью. Изменения активности происходят в результате фосфорилирования и дефосфорилирования ферментов:



Гликогенсинтаза *a* фосфорилируется цАМФ-зависимой протеинкиназой. Этот фермент фосфорилирует также киназу фосфорилазы:

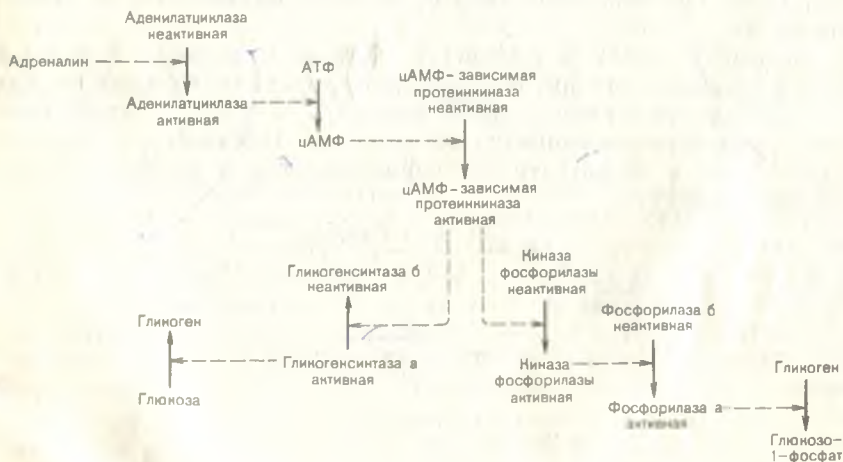


Киназа фосфорилазы (активная форма) в свою очередь фосфорилирует фосфорилазу *b*.

Важно заметить, что фосфорилирование гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы приводит к противоположным изменениям их активности: гликогенсинтаза инактивируется, а гликогенфосфорилаза активируется.

Дефосфорилирование ферментов происходит при участии фосфопротеинфосфатазы, катализирующей гидролитическое отщепление фосфатных остатков.

Мобилизация гликогена — это конечное звено каскада реакций, представленных на рис. 99 (см. также гл. II). Активация первого фермента каскада — аденилатциклазы — приводит в конечном счете к усилению распада гликогена и одновременно к подавлению его синтеза.



Наибольшее значение каскадный механизм мобилизации гликогена имеет для мышц. При кратковременных мышечных нагрузках основным поставщиком энергии служит глюкоза, которая частью поступает в мышцы из крови, частью образуется (в форме глюкозо-1-фосфата) из гликогена, запасенного в самих мышечных клетках. Отметим, что 100 г гликогена могут обеспечить бег примерно в течение 15 мин.

При переходе от состояния покоя к интенсивной мышечной работе потребность скелетных мышц в энергии за короткое время (доли секунды) возрастает в сотни раз. Каскадный механизм обеспечивает быстрое включение реакций, поставляющих энергию. Процесс начинается вне организма — с возникновения стрессовой ситуации, связанной с необходимостью напряженной работы, например в спортивных состязаниях, при бегстве от опасности и т. п. В ответ на сигнал центральной нервной системы из мозгового вещества надпочечников секретруется в кровь адреналин, который взаимодействует с рецепторами мембран мышечных клеток и запускает каскад реакций (см. рис. 99). В этом каскаде есть ступени усиления сигнала. Одна молекула адреналина активирует одну молекулу аденилатциклазы — здесь усиления нет. Но одна молекула аденилатциклазы может синтезировать много молекул цАМФ — происходит усиление сигнала. Таким же образом сигнал усиливается на всех четырех ферментативных стадиях. Если на каждой из них усиление будет десятикратным, то суммарный результат каскада — усиление сигнала в 10 000 раз. Иначе говоря, присоединение к мембране клетки одной молекулы адреналина приведет к образованию 10 000 молекул глюкозо-1-фосфата. Это значит, что каскадный механизм обеспечивает включение в процесс катаболизма больших количеств глюкозы за короткое время.

Когда необходимость в мышечной работе отпадает, секреция адреналина прекращается. Уже выделившийся адреналин разрушается, в результате этого инактивируется аденилатциклаза. Имеющийся в клетке цАМФ разрушается фосфодиэстеразой, а следовательно, инактивируются протеинкиназы; гликогенфосфоорилаза и гликогенсинтаза дефосфорилируются фосфатазами, и система приходит в состояние, когда мобилизация гликогена подавлена, но возможен его синтез.

Влияние адреналина на работоспособность связано не только с мобилизацией гликогена. Адреналин стимулирует также мобилизацию жиров (тоже через каскадный механизм — см. гл. II и X). Кроме того, адреналин увеличивает частоту и силу сокращений сердечной мышцы, а значит, и скорость кровотока. В результате увеличивается доставка в мышцы кислорода, а также глюкозы и других веществ, служащих источниками энергии.

Существует еще один механизм ускорения мобилизации гликогена при мышечной работе. Киназа фосфоорилазы — Са-зави-

симый фермент. В покоящейся мышце концентрация Ca^{2+} в саркоплазме очень низка и киназа фосфорилазы практически неактивна. При поступлении нервного импульса ионы Ca^{2+} из цистерн саркоплазматического ретикулула переходят в саркоплазму и киназа фосфорилазы активируется.

Каскадный механизм в мышцах функционирует лишь при необходимости интенсивной и срочной работы. При умеренных нагрузках в мышцах практически нет фосфорилазы *a*, но распад гликогена тем не менее происходит. Это связано с тем, что фосфорилаза *b* может активироваться иным способом, без превращения в фосфорилазу *a*. В работающих мышцах в результате распада АТФ повышается концентрация H_3PO_4 . Кроме того, в результате действия аденилаткиназы повышается концентрация АМФ:



АМФ и H_3PO_4 являются аллостерическими активаторами фосфорилазы *b*. Активированная фосфорилаза *b* обеспечивает скорость мобилизации гликогена, достаточную для выполнения умеренной физической работы. Выведены мутантные мыши, в клетках которых нет киназы фосфорилазы, и, следовательно, вообще невозможно образование фосфорилазы *a*. В обычных ситуациях по двигательной активности эти мыши не отличаются от нормальных, в частности могут долго плавать в воде, при этом гликоген в их мышцах расходуется. Но если такую мышь напугать кошкой, то вместо стремительного бега у нее возникают судороги в результате невозможности срочной и интенсивной мобилизации гликогена.

✓ **Депонирование и мобилизация гликогена в печени**

В печени обмен гликогена отличается рядом особенностей. Здесь главное значение регуляции скоростей синтеза и распада гликогена заключается в поддержании постоянной концентрации глюкозы в крови.

В норме в постабсорбтивном состоянии концентрация глюкозы в крови составляет 3,5—5,5 ммоль/л (60—100 мг/дл) и может сохраняться на этом уровне в течение многих дней голодания. Во время пищеварения концентрация ее несколько повышается. Основным источником глюкозы в крови во время пищеварения служит глюкоза пищи, в постабсорбтивном состоянии — гликоген печени и глюконеогенез в печени и почках. Потребляют глюкозу из крови все органы и ткани. Концентрация глюкозы в крови определяется отношением скоростей ее поступления и расходования. При несбалансированности этих скоростей концентрация глюкозы в крови выходит за пределы нормы — снижается (*гипоглюкоземия*) или повышается (*гиперглюкоземия*).

Постоянство концентрации глюкозы в крови наибольшее значение имеет для питания мозга. Это связано с двумя обстоятельствами: 1) потребности мозга в энергии удовлетворяются почти исключительно за счет глюкозы, в то время как другие ткани могут использовать и жирные кислоты; 2) проникновение глюкозы в клетки мозга происходит путем диффузии по градиенту концентрации и, следовательно, прямо зависит от ее концентрации в крови. Поэтому гипогликемия прежде всего проявляется нарушениями функций центральной нервной системы — головокружением, потерей сознания, судорогами.

При гипергликоземии возможно превышение почечного барьера проницаемости глюкозы и возникновение глюкозурии — выделения глюкозы с мочой.

У здоровых людей гипергликоземия (за исключением алиментарной) и гипогликоземия не возникают в результате действия ряда контрольных механизмов. Здесь мы рассмотрим лишь тех из них, которые связаны с распадом и синтезом гликогена (другие способы регуляции — см. гл. XV).

В печень поступает кровь воротной вены, содержащая продукты переваривания пищи, в том числе глюкозу. Концентрация глюкозы в воротной вене может превышать 10 ммоль/л, т. е. больше, чем в других отделах кровеносного русла. Существенная часть глюкозы задерживается в печени. Это обеспечивается, во-первых, особыми свойствами глюкокиназы (см. с. 236), во-вторых, тем, что глюкоза при такой концентрации непосредственно стимулирует дефосфорилирование гликогенфосфоорилазы и гликогенсинтазы печени. В результате усиливается синтез и одновременно подавляется распад гликогена.

В постабсорбтивном состоянии печень, наоборот, начинает выделять глюкозу в кровь. Это происходит в результате стимуляции распада гликогена глюкагоном — гормоном поджелудочной железы. Глюкагон, по-видимому, включает каскадный механизм активации фосфоорилазы гликогена, подобно адреналину в мышечных клетках. Кроме того, глюкагон стимулирует глюконеогенез. Сигналом для секреции глюкагона из эндокринных клеток служит небольшое понижение концентрации глюкозы в крови. При интенсивной мышечной работе фосфоорилиз гликогена в печени и глюконеогенез усиливаются еще больше. В целом за счет распада гликогена и глюконеогенеза печень поставляет в кровь около 300 г глюкозы за сутки, из них примерно $\frac{2}{3}$ — из гликогена.



ГЛИКОГЕНОВЫЕ БОЛЕЗНИ

✓ Гликогеновыми болезнями называют наследственные нарушения обмена гликогена, обусловленные недостаточностью какого-либо из ферментов, участвующих в этом процессе. Недостаточность выражается в снижении активности фермента или в его полном отсутствии; она возникает в случае наследования мутант-

ного аллеля соответствующего фермента в гомозиготном состоянии.

Гликогенозы. Если нарушена мобилизация гликогена, то гликоген накапливается в клетках в больших количествах, что может привести к разрушению клеток. Такие гликогеновые болезни называют *гликогенозами*. Известно несколько типов гликогенозов, связанных с недостаточностью разных ферментов или одного и того же фермента в разных органах. В табл. 33 перечислены некоторые наиболее изученные типы гликогенозов.

Клинические симптомы гликогенозов характерны для каждого типа болезни. Наиболее часто наблюдаются увеличение печени, мышечная слабость, гипогликоземия натошак. Продолжительность жизни больных, как правило, уменьшена, нередко смерть наступает в раннем детстве.

Т а б л и ц а 33. Некоторые формы гликогенозов

Тип гликогеноза	Дефектный фермент	Пораженный орган
I (болезнь Гирке)	Глюкозо-6-фосфатаза	Печень, почки
II (болезнь Помпе)	α -1,4-Глюкозидаза (лизосомная)	Все органы
III (болезнь Кори)	Амило-1,6-глюкозидаза	Печень, сердечная и скелетные мышцы, лейкоциты
IV (болезнь Андерсена)	Фермент ветвления	Печень, мышцы, почки, лейкоциты
V (болезнь Мак-Ардуля)	Фосфорилаза (мышечная)	Мышцы
VI (болезнь Херса)	Фосфорилаза (печеночная)	Печень

Агликогенозы. Если нарушен синтез гликогена (например, вследствие дефекта гликогенсинтазы), то содержание гликогена в клетках понижено: эти формы гликогеновых болезней называют *агликогенозами*. Самый характерный симптом агликогенозов — резкая гипогликоземия натошак (поскольку нет запасов гликогена), особенно после ночного перерыва в кормлении. В результате гипогликоземии могут возникать рвота, судороги, потеря сознания. Постоянное голодание мозга приводит к отставанию умственного развития. Обычно эти больные погибают в раннем детстве; частые кормления могут существенно ослабить проявления болезни.

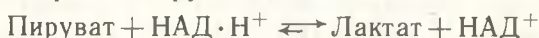
Частота гликогеновых болезней невелика — примерно 1:40 000.

ОБМЕН ФРУКТОЗЫ И ГАЛАКТОЗЫ

✓ Фруктоза включается в путь распада глюкозы на стадии триозофосфатов (рис. 100, а). С наследственной недостаточностью фруктозо-1-фосфатальдолазы (фермент 2 на схеме) связана врожденная непереносимость фруктозы. В этом случае при наличии в пище фруктозы в тканях накапливается фруктозо-1-фосфат

Уксусная кислота затем образует ацетил-КоА, и в этой форме ацетильный остаток включается в цитратный цикл. Это основной путь метаболизма этанола в организме, через который проходит 70—90% всего поступившего в организм спирта. Частично этанол окисляется другими путями — при участии микросомальных ферментов окисления. Метаболизм этанола происходит главным образом (примерно на 90%) в печени.

В результате быстрого дегидрирования больших количеств этанола в клетках печени уменьшается концентрация НАД^+ и увеличивается концентрация $\text{НАД}\cdot\text{Н}$. Для окисления 125 г этанола требуется НАД^+ столько же, сколько для окисления 500 г глюкозы, т. е. такого количества углеводов, которое потребляется за сутки. Значительная часть глюкозы пищи после еды депонируется в форме гликогена и расходуется постепенно. Обмен этанола происходит за существенно более короткое время, особенно первая реакция — образование ацетальдегида, поэтому после приема алкоголя отношение $[\text{НАД}^+]/[\text{НАД}\cdot\text{Н}]$ уменьшается. Это ведет к тому, что изменяется скорость всех реакций, зависящих от НАД^+ и $\text{НАД}\cdot\text{Н}$. В частности, изменяются стационарные концентрации пирувата и лактата:

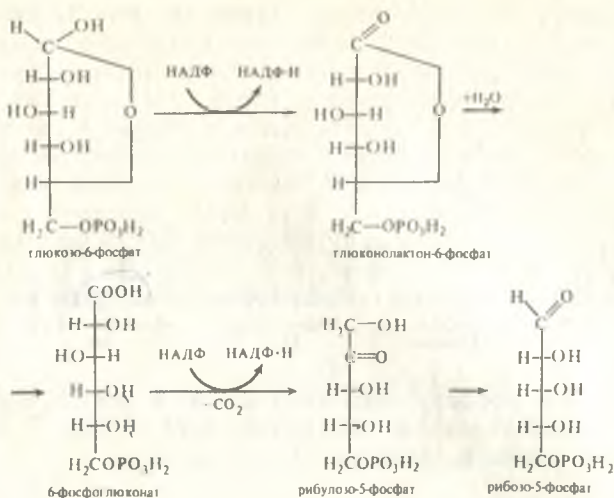


Концентрация пирувата в клетках и в крови уменьшается, а концентрация лактата увеличивается. Вследствие этого снижается скорость глюконеогенеза в печени, поскольку предшественником глюкозы служит пируват. Так как глюконеогенез — один из источников глюкозы крови, то возникает гипоглюкоземия. Особенно выраженной гипоглюкоземия бывает в тех случаях, когда отсутствуют запасы гликогена в печени и мышцах — при приеме алкоголя натощак, после значительной физической работы, у хронических алкоголиков, у которых постоянно снижен аппетит. Гипоглюкоземия может быть причиной потери сознания при алкогольном отравлении.

ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ ПРЕВРАЩЕНИЙ ГЛЮКОЗЫ

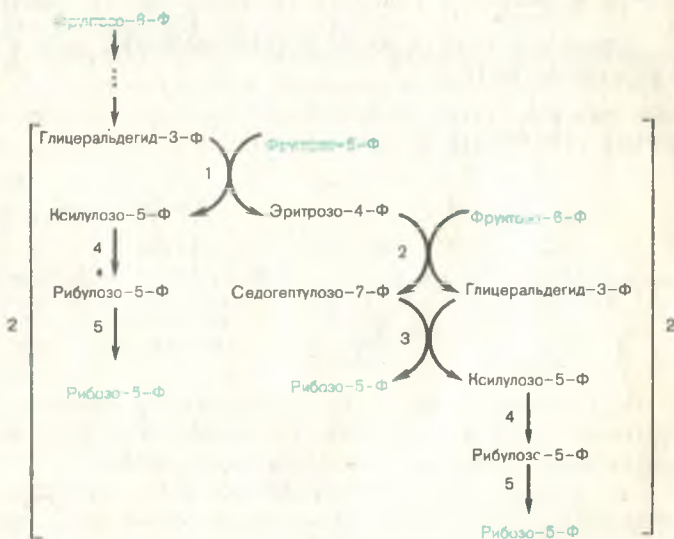
Пентозофосфатный (фосфоглюконатный) путь обеспечивает клетку гидрированным НАДФ для восстановительных синтезов и пентозами для синтеза нуклеотидов. Следовательно, этот процесс выполняет анаболические функции. В пентозофосфатном пути можно выделить две части — окислительный и неокислительный пути образования пентоз.

Окислительный путь включает две реакции дегидрирования, в которых акцептором водорода служит НАДФ. Во второй из этих реакций одновременно происходит декарбоксилирование — углеродная цепь укорачивается на один атом углерода и получаются пентозы:



Неокислительный путь значительно сложнее. В этом пути нет реакций дегидрирования и, следовательно, он может служить только для синтеза пентоз или, наоборот, для превращения пентоз в глюкозу. Общая схема неокислительного пути образования пентоз представлена на рис. 101.

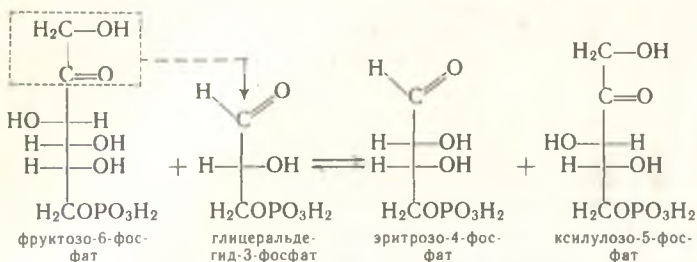
Исходные вещества — глицеральдегид-3-фосфат и фруктозо-6-фосфат — образуются из глюкозы в реакциях, описанных в пре-



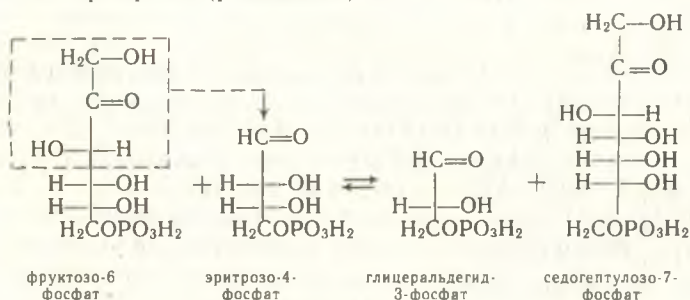
101

Неокислительный путь образования пентоз (у всех соединений в квадратных скобках стехиометрические коэффициенты равны двум; Ф — фосфат)

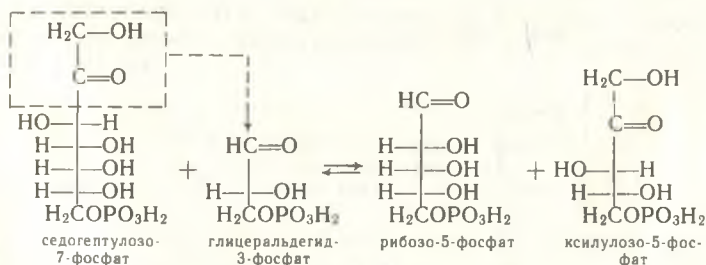
дыдущих разделах этой главы. Далее реакция 1 (см. рис. 99) катализируется транскетолазой:



Эритрозо-4-фосфат, образовавшийся в этой реакции, при участии трансальдолазы взаимодействует с другой молекулой фруктозо-6-фосфата (реакция 2):



Продукты этой реакции взаимодействуют друг с другом с образованием пентоз:



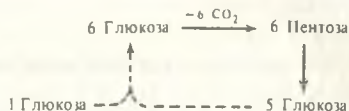
Ксилулозо-5-фосфат, образующийся в реакциях 1 и 3, в результате двух последующих реакций (4 и 5), катализируемых изомерами, превращается в рибозо-5-фосфат.

В процессе, представленном на рис. 101, исходными веществами являются пять молекул фруктозо-6-фосфата, в сумме содержащие 30 углеродных атомов; продукт реакции — шесть молекул рибозо-5-фосфата в сумме содержат также 30 углеродных атомов. Поскольку исходные вещества в свою очередь образуются из глюкозы, можно сказать, что в этом процессе

пять молекул глюкозы превращаются в шесть молекул пентозы без каких-либо потерь вещества.

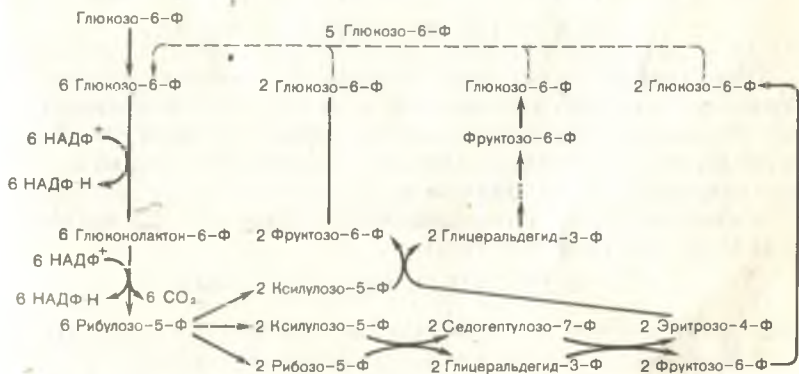
Все реакции неокислительного пути образования пентоз обратимы. Следовательно, можно представить процесс, в котором шесть молекул пентоз превращаются в пять молекул глюкозы, т. е. путь возвращения пентоз в фонд гексоз. Этим способом могут утилизироваться пентозы, образующиеся в разных метаболических процессах, например при распаде нуклеотидов или в окислительном пути образования пентоз.

Окислительный путь образования пентоз и путь возвращения пентоз в гексозы вместе составляют циклический процесс:



В этом цикле за один оборот полностью распадается одна молекула глюкозы, все шесть углеродных атомов которой превращаются в CO_2 . Диоксид углерода — это продукт выделения, а единственным полезным продуктом является НАДФ·Н, образующийся в окислительной части цикла (рис. 102). Такой процесс называют *пентозофосфатным циклом* или апотомическим путем распада глюкозы. Энергия распадающейся глюкозы трансформируется в энергию НАДФ·Н, а затем, после использования водорода НАДФ·Н для восстановительных синтезов, в энергию других веществ, например жирных кислот.

Пентозофосфатный путь особенно активно функционирует в органах, где синтезируются большие количества липидов, — в печени, жировой ткани, молочной железе, коре надпочечников. Это связано с тем, что при синтезе липидов происходят реакции

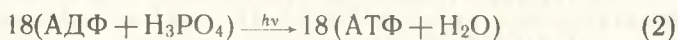
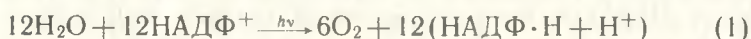


гидрирования, в которых донором водорода служит НАДФ·Н. За счет окислительного пути синтеза пентоз обеспечивается примерно половина всей потребности клеток в НАДФ·Н (другая получается в результате действия НАДФ-зависимых малатдегидрогеназы и изоцитратдегидрогеназы — см. гл. VIII).

Распространение и физиологическая роль окислительного и неокислительного путей образования пентоз в большинстве органов изучены недостаточно. Что касается пентозфосфатного цикла, то он, по-видимому, функционирует только в жировой ткани. Следует отметить, что некоторые промежуточные продукты пентозфосфатного цикла могут включаться в пути гликолитического и аэробного распада глюкозы и служить источниками энергии для синтеза АТФ.

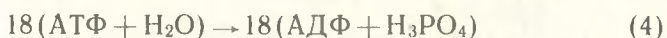
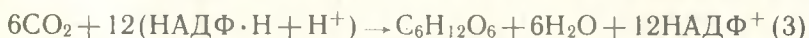
ФОТОСИНТЕЗ УГЛЕВОДОВ В РАСТЕНИЯХ

При фотосинтезе энергия света преобразуется в энергию химических связей органических соединений. Различают две части фотосинтеза — световой и темновой процессы. Световой процесс включает поглощение света, разложение воды на водород и кислород (фотоокисление), восстановление НАДФ⁺ (фотовосстановление), фосфорилирование АДФ (фотофосфорилирование):



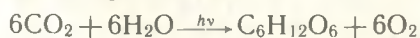
Реакции (1) и (2) могут быть сопряженными или разобщенными (см. ниже). Кислород, выделяемый растениями, образуется в световом процессе.

Темновой процесс фотосинтеза — это восстановление диоксида углерода за счет водорода НАДФ·Н и энергии АТФ:



Реакции (3) и (4) энергетически сопряжены: энергия экзергонической реакции (4) используется в эндергоническом процессе (3). В темновом процессе половина атомов водорода из НАДФ·Н включается в молекулу глюкозы, а другая половина идет на восстановление кислорода.

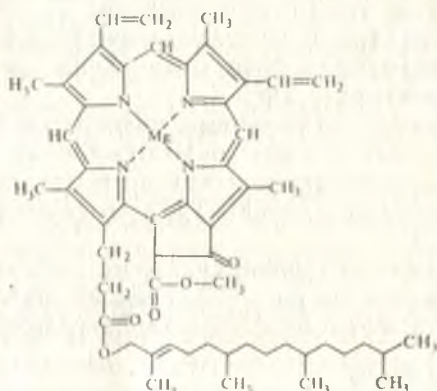
Суммарный результат светового и темнового процессов представляют следующим образом:



Еще раз отметим, что выделяемый растениями кислород образуется из воды при ее фоторазложении в световом процессе, а кислород диоксида углерода включается в молекулы воды в темновом процессе. Эти особенности не отражаются суммарным уравнением фотосинтеза.

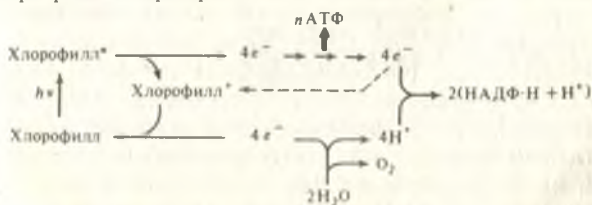
При фотосинтезе поглощается свет преимущественно красной области спектра. Для восстановления шести молей CO_2 необходимо около 54 моль квантов света. Так как 1 моль квантов красного света содержит 172 кДж, затрата энергии составляет примерно $54 \cdot 172 = 9288$ кДж на 1 моль глюкозы. Из этого количества в молекуле глюкозы сохраняется 2875 кДж, т. е. около 30%; остальная часть энергии рассеивается. Однако это не означает, что растения преобразуют треть энергии падающего на них света в энергию органических соединений. Приведенный расчет относится непосредственно к фотосинтетическим реакциям. Между тем значительная часть энергии теряется на предшествующих стадиях: не все фотоны попадают на светособирающие пигменты («антенны») фотосинтетического аппарата; потери происходят также при передаче энергии с «антенн» на активные центры, обеспечивающие фотосинтетические реакции. Растение использует лишь около 1% энергии падающего на него света.

Механизм светового процесса. Свет поглощается хлорофиллом, связанным с белками. Хлорофилл — это производное порфирина, содержащее магний:



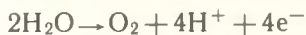
хлорофилл а

Поглощающие свет хлорофилл-белковые комплексы находятся в тилакоидах — мембранных структурах хлоропластов. При поглощении света хлорофилл переходит в высокоэнергетическое, возбужденное состояние. В этом состоянии он становится донором высокоэнергетического электрона. Электрон акцептируется электронпереносящей цепью мембраны тилакоидов, а молекула хлорофилла превращается в свободный радикал:



световой процесс в хлоропластах растений

Этот же комплекс хлорофилла с белком осуществляет фоторазложение воды:

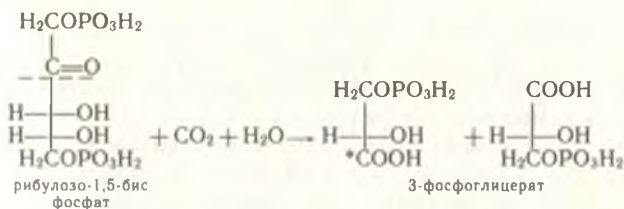


Электроны, образующиеся при восстановлении воды, акцептируются радикалами хлорофилла, который возвращается в исходное, невозбужденное состояние.

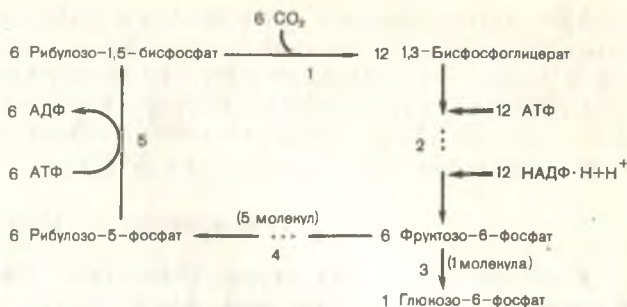
Электронпереносная цепь тилакоидных мембран содержит переносчики электронов, которые по механизму действия в принципе сходны с переносчиками митохондриальной электронпереносной цепи. Как и в митохондриях, перенос электронов сопровождается трансмембранным переносом протонов, в результате чего создается протонный электрохимический потенциал $\Delta\mu\text{H}^+$. Энергия градиента протонов используется H^+ -АТФ-синтетазой для фосфорилирования АДФ. Конечным акцептором электронов в тилакоидной мембране служит НАДФ^+ , который восстанавливается в $\text{НАДФ}\cdot\text{H}$. Акцептором электронов с электронпереносной цепи может быть и радикал хлорофилла (пунктирная стрелка на схеме). В этом случае АТФ синтезируется, а фотолиз воды и восстановление НАДФ не происходят. С другой стороны, возможны фотолиз воды и восстановление НАДФ без синтеза АТФ в электронпереносной цепи (разобщение переноса электронов и фосфорилирования АДФ).

Таким образом, фотосистемы тилакоидов преобразуют энергию света сначала в энергию возбужденных электронов, затем в мембранный электрохимический потенциал и, наконец, в энергию макроэргических связей АТФ и высокоэнергетического водорода $\text{НАДФ}\cdot\text{H}$.

Реакции темного процесса. Схема синтеза глюкозы в растениях представлена на рис. 103. Реакция фиксации CO_2 катализируется рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксылазой:



В результате реакции получаются две молекулы 3-фосфоглицериновой кислоты (в формуле одной из них звездочкой помечен углерод, происходящий из CO_2). Для синтеза одной молекулы глюкозы необходима фиксация шести молекул CO_2 , поэтому на рис. 101 проставлены соответствующие стехиометрические коэффициенты. Далее 3-фосфоглицерат в реакциях, идентичных тем, которые происходят при глюконеогенезе, превращается во фруктозо-6-фосфат. Одна из шести молекул фруктозо-6-фосфата составляет чистый выход и может превратиться в глюкозо-6-



103

Темновой процесс фотосинтеза глюкозы:

1 — реакция фиксации CO₂; 2 — реакции глюконеогенеза; 3 — превращение одной из шести молекул фруктозо-6-фосфата в глюкозо-6-фосфат (чистый выход фотосинтеза); 4 — неокислительный путь образования пентоз; 5 — фосфолирование рибулозо-5-фосфата

фосфат, глюкозу и другие углеводы. Пять других молекул фруктозо-6-фосфата необходимы для возобновления цикла: они превращаются в шесть молекул рибулозо-5-фосфата по пути неокислительного образования пентоз. Наконец, рибулозо-5-фосфат при участии соответствующей киназы образует рибулозо-1,5-бисфосфат (шесть молекул) и цикл повторяется. Таким образом, на входе цикла — шесть молекул CO₂, а на выходе — одна молекула глюкозы.

Следует, однако, отметить, что главными нефосфорилированными углеводами, образующимися при фотосинтезе, у большинства растений являются сахароза и крахмал, а не глюкоза. Кроме того, часть предшественников глюкозы используется для синтеза аланина, ацетил-КоА, оксалоацетата и некоторых других метаболитов. Затем из этих соединений в самих растениях и в организмах, поедаящих растения, образуется все многообразие и вся масса органических веществ живой природы.

Фотосинтезирующие организмы, используя энергию солнца, создают органические вещества из CO₂ и H₂O. При этом в качестве побочного продукта образуется кислород. Фотосинтез можно рассматривать как трансформацию энергии солнечного света в энергию органических веществ. Животные извлекают эту законсервированную растениями энергию солнца, окисляя органические вещества кислородом обратно в CO₂ и H₂O.

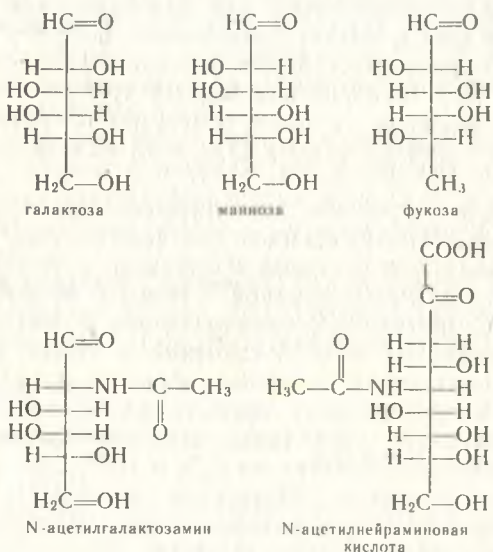
УГЛЕВОДЫ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ КЛЕТКИ

В предыдущих разделах этой главы был рассмотрен обмен углеводов, в основном глюкозы, связанный главным образом с их использованием в качестве источника энергии для организма. Исключение составляют пентозофосфатный путь и фотосин-

тез, которые выполняют анаболические функции. В этом разделе описаны углеводы, которые содержатся в качестве составной части молекул в гликолипидах и гликопротеинах, выполняющих структурные и другие специальные функции в клетке. Структурные углеводы, характерные для межклеточного матрикса и соединительной ткани, рассмотрены в гл. XVIII.

Гликолипиды и гликопротеины

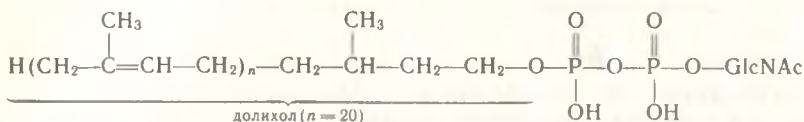
Строение углеводной части. Углеводная часть гликолипидов и гликопротеинов может быть представлена моносахаридами, а также полисахаридами, которые обычно построены из разных моносахаридных остатков (гетерополисахариды). Чаще всего в углеводной части встречаются следующие моносахариды: галактоза (Gal), манноза (Man), глюкоза (Glc), 6-дезоксимоносахарид фукоза (Fuc), N-ацетилгалактозамин (GalNAc), N-ацетилглюкозамин (GlcNAc) и сиаловая кислота (N-ацетилнейраминная кислота, NeuNAc):



Все эти моносахариды в организме синтезируются из глюкозы.

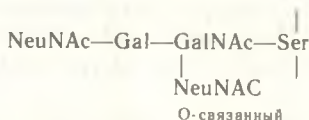
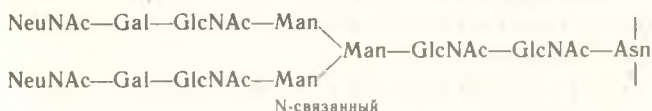
В полисахаридах моносахариды соединены гликозидными связями, в образовании которых участвует полуацетальный (гликозидный) гидроксил одного моносахарида и любая гидроксильная группа другого моносахарида. Для альдогексоз возможны такие связи: 1→1, 1→2, 1→3, 1→4, 1→5, 1→6. При этом гликозидный гидроксил может иметь α- и β-конфигурацию. Вследствие этих особенностей даже из небольшого числа мономеров возможно построить огромное число разных олигосахаридов,

зидной связью, происходит иначе: в этом случае участвует промежуточный носитель олигосахарида *долихолфосфат* — вещество изопреноидной природы. Долихолфосфат — амфифильное вещество. Гидрофобным концом оно погружено в мембрану, а выступающий гидрофильный конец служит акцептором первого моносахарида — GlcNAc; в результате реакции получается N-ацетилглюкозаминилдифосфорилдолихол:

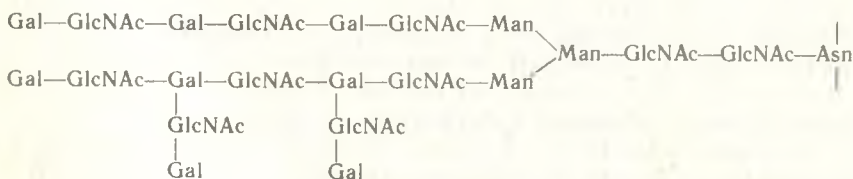


Затем последовательно при действии серии специфических гликозилтрансфераз присоединяются другие моносахариды, и образуется олигосахарид, включающий больше десятка мономеров. Этот олигосахарид при участии специальной трансферазы целиком переносится на амидную группу аспарагина в составе пептидной цепи. Затем происходит доработка олигосахарида: часть мономеров отщепляется, вместо них присоединяются другие. В результате образуются разные углеводные компоненты у разных гликопротеинов.

Гликопротеины есть среди всех классов белков — ферментов, гормонов, транспортных белков, структурных белков и др. Ниже приведены примеры олигосахаридных структур гликопротеинов:



углеводы хорионального гонадотропина



углевод гликопротеина из мембран эритроцитов

В некоторых случаях одинаковые полисахариды обнаруживаются в составе как гликолипидов, так и гликопротеинов. Например, антигены системы АВО в эритроцитах связаны с керамидом, а в слюне — с белком.

Гликолипиды встречаются только в мембранах, и главным

образом в плазматической мембране. Гликопротеины содержатся и в мембранах, и в цитозоле, и в жидкостях организма.

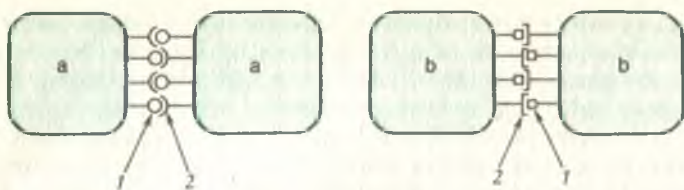
Функции углеводов мембран. Углеводная часть гликолипидов и гликопротеинов плазматической мембраны всегда находится на наружной поверхности мембраны, контактируя с межклеточным веществом. Углеводы плазматической мембраны выполняют роль специфических лигандов для белков. Они образуют участки узнавания, к которым присоединяются определенные белки; присоединившийся белок может изменить функциональное состояние клетки.

В наружной мембране эритроцитов некоторые полисахариды содержат N-ацетилнейраминую кислоту на концах цепей. Если эритроциты выделить из крови, обработать *in vitro* нейраминидазой, отщепляющей N-ацетилнейраминую кислоту от мембранных углеводов, и вновь ввести в кровь тому же животному, то обнаруживается, что время полужизни таких эритроцитов в крови уменьшается в несколько раз: они задерживаются в селезенке и разрушаются. Как выяснилось, в клетках селезенки есть рецептор, узнающий углевод, который утратил концевые остатки нейраминовой кислоты. Возможно, что такой механизм обеспечивает отбор селезенкой состарившихся эритроцитов и их разрушение.

Известно, что в суспензии клеток, выделенных из какой-либо ткани, через некоторое время образуются агрегаты клеток, причем в каждом агрегате, как правило, оказываются клетки одного типа. Например, в суспензии клеток, полученных из гастролы, образуется три вида агрегатов: каждый из них содержит клетки, принадлежащие одному и тому же зародышевому листку — эктодерме, мезодерме или энтодерме. Узнавание между клетками обеспечивается, в частности, взаимодействием мембранных углеводов одной клетки с белками-рецепторами другой клетки (рис. 104). Эти механизмы узнавания могут участвовать в таких процессах, как гистогенез и морфогенез.

Полисахариды клеточной мембраны наряду с белками выполняют роль антигенов при развитии клеточного иммунитета, в том числе при реакции отторжения трансплантата. Они также служат местами узнавания при заражении патогенными вирусами и микроорганизмами. Например, вирус гриппа при проникновении в клетку сначала присоединяется к ее мембране, взаимодействуя с полисахаридом определенной структуры.

Роль углеводной части немембранных гликопротеинов. Углевод гликопротеина может защищать белковую часть от действия протеолитических ферментов. Например, внутренний фактор Касла, обеспечивающий перенос витамина В₁₂ в клетки кишечника, представляет собой гликопротеин, достаточно устойчивый к действию пищеварительных протеиназ. Если этот белок обработать гликозидазами, разрушающими углеводную часть, он становится легко доступным для протеиназ и быстро переваривается.



104

Межклеточные контакты с участием углеводов мембраны:

1 — белки-рецепторы; 2 — углеводы; клетки а комплементарны друг другу, как и клетки б; клетки а некомплементарны клеткам б

Белок плазмы крови церулоплазмин — тоже гликопротеин. Как у большинства гликопротеинов крови, углеводная часть церулоплазмينا (сиалоцерулоплазмينا) содержит на концах цепей сиаловую кислоту:



Скорость обновления этого белка в крови довольно велика: время полужизни измеряется несколькими часами. Если же удалить концевые остатки сиаловой кислоты, время полужизни белка (асиалоцерулоплазмينا) уменьшается до нескольких минут: такой церулоплазмин улавливается рецепторами гепатоцитов, комплементарными к дисахаридным остаткам Gal—GlcNAc—. Присоединение асиалоцерулоплазмينا к рецепторам запускает механизм эндоцитоза, эндоцитозный пузырек затем сливается с лизосомой, и асиалоцерулоплазмин разрушается лизосомными ферментами. Если у церулоплазмينا удалить еще и остаток галактозы, то взаимодействие с рецептором уже невозможно и время полужизни церулоплазмينا в крови вновь увеличивается, становится таким же, как у исходного церулоплазмينا. Таким образом, здесь, как и в случае с эритроцитами, углеводная часть гликопротеина определяет продолжительность его существования в крови.

Известны десятки белков, извлекаемых печенью из крови по такому же механизму, как церулоплазмин. Помимо рецепторов, узнающих углевод с галактозным концевым остатком, есть рецепторы, улавливающие гликопротеины с концевой фукозой, фосфоманнозой, маннозой, N-ацетилглюкозамином. Аналогичные рецепторы есть не только в плазматической мембране гепатоцитов, но и в клетках Купфера, в фибробластах, в некоторых клетках почек и, вероятно, во многих других органах. Набор рецепторов в клетках разных типов может быть неодинаковым. Например, некоторые асиалогликопротеины, если от них отщепить еще и следующие моносахариды, улавливаются уже не печенью, а почками. После введения в кровь крысам меченных изотопами лимфоцитов через некоторое время можно обнаружить их накопление в селезенке. Если же перед введением удалить с помощью фермента фукозу из углеводов поверхности лимфоцитов, то их маршрут изменяется, и они оказываются в печени.

Таким образом, углеводная часть гликопротеинов служит

чем-то вроде путевки, в которой при помощи определенного чередования моносахаридов записан адрес следования гликопротеина. Это относится не только к секретируемым белкам. Многие внутриклеточные гликопротеины локализованы и функционируют не в том месте, где они синтезируются: окончательное место они находят с помощью своей углеводной части и соответствующих рецепторов в определенном отсеке клетки.

В плазме крови содержится много разных гликопротеинов. Молекулы гликопротеинов, утратившие N-ацетилнейраминную кислоту (асиалогликопротеины), улавливаются большей частью печенью и разрушаются в ней. При некоторых болезнях печени эта ее функция нарушается, и концентрация асиалогликопротеинов в крови увеличивается: в 1 мл плазмы крови здорового человека содержится от 1 до 5 мкг асиалогликопротеинов, а при гепатите, циррозе, раке печени — в два-три раза больше. По концентрации асиалогликопротеинов в крови часто можно оценить и тяжесть повреждения печени. Например, при раке печени наблюдается прямая корреляция между размерами опухоли и отношением асиалотрансферрин/сиалотрансферрин. Измерение концентрации асиалогликопротеинов в крови используется для диагностики заболеваний печени и для контроля эффективности лечения.

Делаются попытки применить полисахаридную «путевку» для доставки лекарственных веществ в нужный орган или нужные клетки. Если к простым белкам (не гликопротеинам) в условиях *in vitro* присоединить олигосахариды, характерные для асиалогликопротеинов, а затем ввести эти белки в кровь, то такие искусственные асиалогликопротеины тоже очень быстро извлекаются из крови печенью. Этим способом можно было бы, например, ввести гликогенфосфорилазу в клетки больного гликогенозом и удалить накопившийся гликоген. Аналогично можно вводить точно по адресу и другие лекарства, корректирующие нарушенные функции разных органов и клеток.

Гликозидозы

Как и все вещества в организме, гетерополисахариды гликолипидов и гликопротеинов непрерывно обновляются. При наследственной недостаточности ферментов, участвующих в обмене гетерополисахаридов, они накапливаются в клетке — развивается гликозидоз. Чаще всего такие болезни связаны с дефектом гликозидаз — ферментов, разрушающих гетерополисахариды. Известно несколько десятков гликозидаз, гидролирующих разные гликозидные связи в гетерополисахаридах. Эти ферменты локализованы преимущественно в лизосомах. Существует много форм гликозидозов: каждая из них обычно обусловлена дефектом какой-либо одной гликозидазы и характеризуется накоплением в клетках (в лизосомах) определенного гетерополисахарида или группы сходных гетерополисахаридов. В табл. 34 приведены

Т а б л и ц а 34. Некоторые типы гликолипидозов

Название болезни	Продукты накопления	Дефектный фермент
Болезнь Гоше	Glc—Cer	Глюкоцереброзид- β-глюкозидаза
Болезнь Краббе	Gal—Cer	Галактоцеребро- зид-β-галактозидаза
Церамидлактозид- липидоз	Gal—Glc—Cer	Нейтральная β-га- лактозидаза
Метахроматическая лейкодистрофия	Gal(3-OSO ₃)—Cer	Арилсульфатаза А
Болезнь Фабри	Gal—Gal—Glc—Cer	Церамидтригексо- зид-α-галактозидаза
Болезнь Тея—Сакса	GalNAc—Gal—Glc—Cer NeuNAc	Гексозаминидаза А
Болезнь Зандгоффа	GalNAc—Gal—Gal—Glc—Cer	Гексозаминидазы А и В
G _{M1} -Ганглиозидоз	Gal—GalNAc—Gal—Glc—Cer NeuNAc	β-Галактозидаза

некоторые формы гликозидозов, связанные с нарушением метаболизма углеводной части гликолипидов (гликолипидозы). Гликозидозы, при которых нарушен метаболизм гетерополисахаридов соединительной ткани и межклеточного матрикса, описаны в гл. XVIII.

Гликозидозы часто проявляются с первых недель жизни и обычно связаны с резким нарушением развития ребенка. Продолжительность жизни больных уменьшена, часто смерть наступает в раннем детском возрасте. Частота гликозидозов равна примерно 1:100 000.

Глава X

ОБМЕН И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ

Липиды организма человека включают соединения, значительно различающиеся и по структуре, и по функциям в живой клетке. Наиболее важные группы липидов указаны ниже.

1. Жирные кислоты, самые простые по строению липиды. В организме они служат главным образом промежуточными продуктами при распаде или синтезе других липидов.

2. Жиры (триацилглицерины) выполняют главным образом функцию резервного энергетического материала. Липиды пищи представлены в основном жирами (около 99%).

3. Фосфолипиды и гликолипиды (сложные липиды) — важнейшие компоненты клеточных мембран.

4. Стероиды; наиболее распространенный их представитель — холестерин. Он входит как структурный элемент в состав клеточ-

ных мембран, а также служит предшественником ряда других стероидов — желчных кислот, стероидных гормонов, витамина D₃.

5. Простагландины — производные жирных кислот, содержащие пятиуглеродный цикл. Выполняют регуляторные функции.

Эти разнородные вещества объединяют в класс липидов главным образом на основе общего для них свойства — гидрофобности всей или значительной части молекулы. Гидрофобность определяет ряд особенностей метаболизма и функций липидов.

С нарушением обмена липидов связан ряд патологических состояний, таких, как ожирение, желчнокаменная болезнь, метаболический ацидоз, атеросклероз.

ОБМЕН ЖИРНЫХ КИСЛОТ

В липидах человека обнаруживается большое разнообразие жирных кислот; некоторые из них приведены в табл. 35. Цифровой символ жирной кислоты расшифровывается следующим образом: первая цифра указывает число углеродных атомов в молекуле, цифра после двоеточия — число двойных связей, а цифры в скобках — положение двойной связи, т. е. номер одного из двух углеродных атомов, соединенных двойной связью (ближайшего к карбоксилу).

Таблица 35. Некоторые жирные кислоты липидов человека

Название	Формула	Цифровой символ
<i>Насыщенные жирные кислоты</i>		
Масляная	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	4:0
Миристиновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	14:0
Пальмитиновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	16:0
Стеариновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	18:0
Арахидиновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	20:0
Бегеновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	22:0
Лигноцериновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	24:0
<i>Ненасыщенные жирные кислоты</i>		
Пальмитоолеиновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	16:1(9)
Олеиновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	18:1(9)
Линолевая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	18:2(9, 12)
α -Линоленовая	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	18:3(9, 12, 15)
γ -Линоленовая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	18:3(6, 9, 12)
Арахидоновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	20:4(5, 8, 11, 14)
Нервоновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{13}\text{COOH}$	24:1(15)



108

Основные пути превращений жирных кислот

фосфолипидов клеточных мембран гораздо более разнообразен. Особенно много характерных жирных кислот найдено в сложных липидах нервных клеток.

Источниками жирных кислот организма служат липиды пищи (главным образом жиры) и синтез жирных кислот из углеводов. Расходятся жирные кислоты в основном по трем направлениям: 1) включаются в состав резервных жиров; 2) включаются в состав сложных липидов; 3) окисляются до диоксида углерода и воды с использованием энергии для синтеза АТФ.

Свободные жирные кислоты в тканях содержатся в небольших концентрациях, поскольку они служат лишь промежуточными продуктами при синтезе и распаде других липидов. В крови циркулируют жирные кислоты (в соединении с альбуминами), образующиеся при гидролизе триацилглицеринов жировой ткани.

Все превращения свободных жирных кислот в клетках начинаются с образования ацил-КоА (активация жирных кислот):



Эти реакции катализируются ацил-КоА-синтетазы. В качестве промежуточного продукта как при окислении, так и при синтезе

Таблица 36. Примерное содержание основных жирных кислот в триацилглицеринах жировой ткани человека

Жирная кислота	Содержание, %	Жирная кислота	Содержание, %
Миристиновая	3	Олеиновая	55
Пальмитиновая	20	Линолевая	10
Стеариновая	5	Арахидоновая	0,2
Пальмитоолеиновая	5		

жирных кислот образуется ацетил-КоА. Схема основных путей обмена жирных кислот представлена на рис. 105. Метаболизм жирных кислот тесно связан с метаболизмом всех других липидов.

Окисление жирных кислот

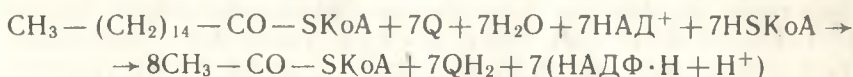
В катаболизме жирных кислот можно выделить три части:

- 1) β -окисление — специфический для жирных кислот путь окисления, завершающийся превращением молекулы жирной кислоты в несколько молекул ацетил-КоА;
- 2) цитратный цикл, в котором окисляются ацетильные остатки;
- 3) митохондриальная дыхательная цепь.

При β -окислении окисляется группа $-\text{CH}_2-$ в β -положении жирной кислоты до группы $\begin{array}{c} -\text{C}- \\ || \\ \text{O} \end{array}$ (см. рис. 106, реакции 1—3).

При этом на двух стадиях происходит дегидрирование: при участии ацилдегидрогеназы (реакция 1, флавиновый фермент, водород переносится на убихинон) и β -оксиацилдегидрогеназы (реакция 3, акцептор водорода НАД⁺). Затем β -кетоацил-КоА при действии фермента тиолазы (реакция 4) распадается на ацетил-КоА и ацил-КоА, укороченный на два углеродных атома по сравнению с исходным. Этот ацил-КоА вновь подвергается β -окислению.

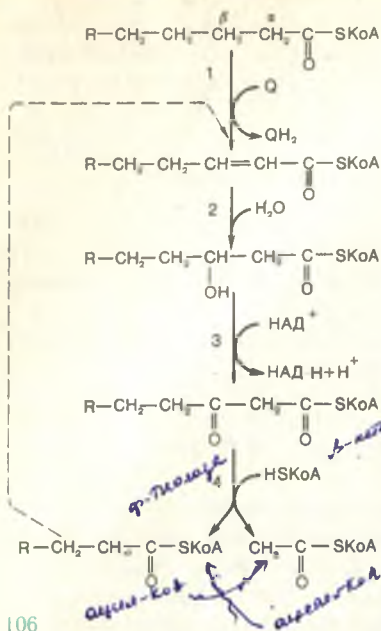
Многочисленное повторение этого процесса приводит к полному распаду жирной кислоты до ацетил-КоА. Например, молекула пальмитиновой кислоты (пальмитил-КоА), содержащая 16 углеродных атомов, превращается в 8 молекул ацетил-КоА за 7 циклов β -окисления. Суммарный результат окисления пальмитил-КоА можно представить так:



Образующиеся в реакциях дегидрирования восстановленные коферменты передают водород в дыхательную цепь: за счет этого при β -окислении 1 моль пальмитиновой кислоты может синтезироваться 35 моль АТФ.

Ацетильный остаток окисляется в цитратном цикле. За счет окисления 8 моль ацетил-КоА, образующихся из пальмитиновой кислоты, может синтезироваться 96 моль АТФ. Полный выход АТФ при окислении 1 моль пальмитил-КоА составляет 131 моль. В АТФ запасается около 60% всей энергии распада пальмитиновой кислоты до CO_2 и H_2O . При расчете на один атом углерода выход АТФ составляет 8,1 для окисления пальмитата и 6,3 — для окисления глюкозы; таким образом, энергетическая емкость жирных кислот существенно больше, чем глюкозы.

Все ферменты β -окисления находятся в митохондриях. Мемб-



106
Схема окисления жирных кислот

рана митохондрий непроницаема для жирных кислот; их перенос происходит при участии карнитина:



При действии карнитин-ацил-трансферазы к спиртовой группе карнитина присоединяется жирная кислота (сложноэфирной связью):



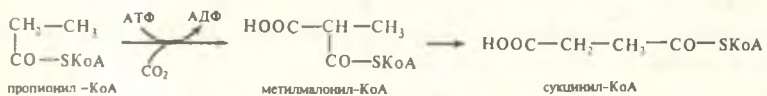
Ацилкарнитин может диффундировать в митохондрию.

Использование жирных кислот путем β -окисления происходит во многих тканях. Особенно значительна роль этого источника энергии в скелетных мышцах при длительной физической работе и в

сердечной мышце. Около 70% кислорода, поглощаемого сердечной мышцей, используется для окисления жирных кислот. Нервная ткань не использует жирные кислоты как источник энергии.

Обмен пропионовой кислоты. В организме преобладают жирные кислоты с четным числом углеродных атомов. Из жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов, имеющих в организме в небольшом количестве, на завершающей стадии β -окисления образуется пропионил-КоА. Кроме того, пропионил-КоА образуется при распаде некоторых аминокислот (валина, изолейцина, треонина, метионина).

Пропионил-КоА окисляется по особому пути:

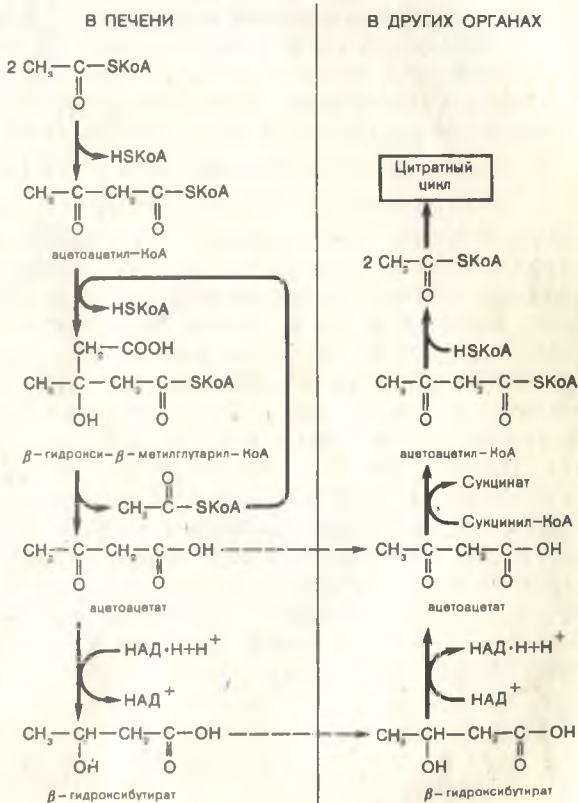


Вначале происходит карбоксилирование с образованием метилмалонил-КоА; фермент, катализирующий эту реакцию, как и карбоксилаза пирувата, содержит биотин. Затем метилмалонил-КоА под действием метилмалонилмутаза превращается в сукцинил-КоА. Фермент катализирует внутримолекулярный перенос группы $-CO-SKoA$ на метильный радикал. Метилмалонилмутаза в качестве кофермента содержит дезоксиаденозилкобаламин — одну из двух коферментных форм витамина B_{12} . При

недостатке витамина В₁₂ эта реакция замедляется и с мочой выводятся большие количества метилмалоната и пропионата.

Синтез и использование кетоновых тел. В печени часть жирных кислот превращается в так называемые кетоновые тела — ацетоуксусную и β-гидроксиацетил-кислоты. Эти вещества затем поступают в кровь и используются как источники энергии в других органах и тканях (см. рис. 107). Непосредственным предшественником кетоновых тел служит ацетил-КоА, который может образоваться как из жирных кислот, так и из углеводов. Однако для синтеза кетоновых тел используется преимущественно ацетил-КоА, образующийся из жирных кислот: это происходит в результате действия специальных регуляторных механизмов (см. с 377).

В постабсорбтивном состоянии кетоновые тела в крови отсутствуют, или их концентрация невелика — до 3 мг/дл. Содержание кетоновых тел в крови увеличивается в таких состояниях, когда основным источником энергии для организма служат жирные кислоты — при длительной мышечной работе,



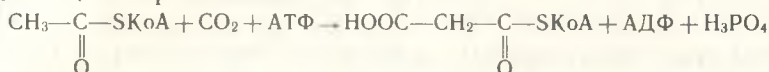
107
Схема синтеза и использования кетоновых тел

при голодании, при некоторых болезнях. Через двое суток голодания концентрация кетоновых тел в крови достигает 5—6 мг/дл, через неделю — 40—50 мг/дл. При сахарном диабете концентрация кетоновых тел может повышаться до 300—400 мг/дл, что приводит к метаболическому ацидозу (см. гл. XIV).

Биосинтез жирных кислот

Жирные кислоты синтезируются из ацетил-КоА. Несмотря на то, что все реакции β -окисления обратимы, этот путь не используется для синтеза жирных кислот. Основным местом синтеза является цитозоль в отличие от β -окисления, которое происходит в митохондриях.

Большая часть ацетил-КоА, используемого для синтеза жирных кислот, вначале превращается в малонил-КоА при действии ацетил-КоА-карбоксилазы:



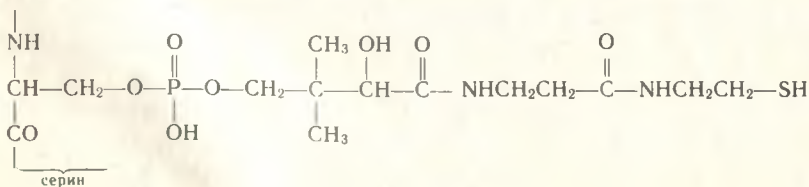
Фермент, как и другие карбоксилазы, содержит биотин, который непосредственно участвует в переносе CO_2 на субстрат.

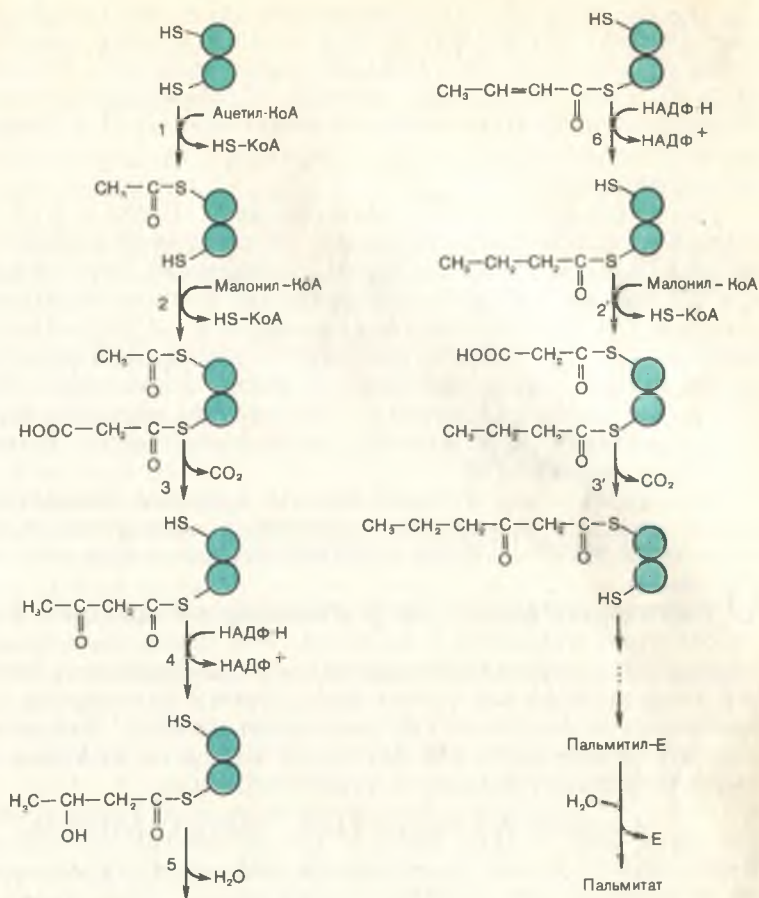
Центральную роль в синтезе жирных кислот играет *пальмитилсинтетаза* (синтетаза жирных кислот). Пальмитилсинтетаза—многофункциональный белок; она катализирует серию реакций, суммарный результат которых следующий:



В этом процессе семь молекул CO_2 образуются за счет свободных карбоксильных групп семи молекул малонил-КоА. Из 16 углеродных атомов пальмитиновой кислоты 2 атома образуются за счет ацетил-КоА (углеродные атомы метильного конца пальмитата CH_3-CH_2-), а остальные 14 — за счет малонил-КоА. В ходе синтеза семь карбонильных групп $-\text{CO}-$ восстанавливаются до семи групп $-\text{CH}_2-$ (одна карбонильная группа сохраняется в пальмитильном остатке). На это расходуется 14 ($\text{НАДФ} \cdot \text{H} + \text{H}^+$): за счет семи из них образуются водородные атомы групп $-\text{CH}_2-$, а за счет остальных семи кислород карбонильных групп превращается в воду.

Молекула пальмитилсинтетазы построена из двух идентичных субъединиц. Каждая из них содержит фосфорилированную пантотеновую кислоту (4'-фосфопантетеин). Фосфопантетеин связан с остатком серина пептидной цепи фермента через фосфорную кислоту:





108

Синтез пальмитиновой кислоты

Пальмитилсинтетаза обладает каталитической активностью, в результате которой ацетильный и малонильный остатки переносятся на SH-группу пантотеновой кислоты (ацилтрансферазная активность) (рис. 108, реакции 1 и 2). Далее в реакции 3 ацетильный остаток переносится на место карбоксильной группы малонильного остатка; карбоксильная группа при этом отщепляется в виде CO_2 (реакция конденсации двух ацетильных остатков). Затем последовательно происходят восстановление β -карбонильной группы (реакция 4), отщепление воды с образованием двойной связи между α - и β -углеродными атомами (реакция 5), восстановление (гидрирование) двойной связи (реакция 6). В результате получается остаток четырехуглеродной жирной кислоты, соединенный с ферментом (бутирил-Е). Все эти реакции катализируются разными активными центрами одного белка:

как мы уже отмечали, пальмитилсинтетаза — многофункциональный фермент. Субъединица пальмитилсинтетазы представляет собой доменный белок, каждый домен которого катализирует одну из шести указанных реакций. Промежуточные продукты остаются постоянно связанными с ферментом через пантотеновую кислоту, перемещаясь на этой «привязи» из одного активного центра в другой.

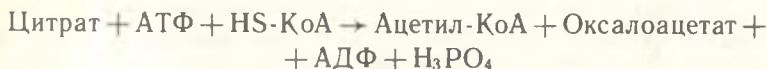
После образования масляной кислоты (точнее, бутирил-Е) к свободной SH-группе фермента присоединяется новый малонильный остаток из малонил-КоА (реакция 2'); его карбоксильная группа заменяется на бутирильный остаток (конденсация) (реакция 3'). Далее происходят реакции 4'—6', подобные реакциям 4—6; в результате получается остаток шестиуглеродной кислоты. Затем цикл повторяется снова; после семи оборотов цикла получается пальмитил-Е. При участии пальмитилдеацетилазы пальмитил-Е гидролитически распадается на пальмитиновую кислоту и фермент (Е).

Пальмитат — это основной продукт действия пальмитилсинтетазы, однако в небольших количествах образуются и другие жирные кислоты — с более короткой или более длинной углеродной цепью.

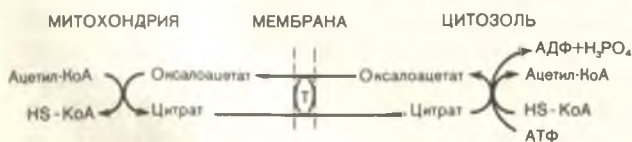
Перенос ацетил-КоА через мембрану митохондрий. Пальмитилсинтетаза находится в цитозоле, в то время как образование ацетил-КоА — митохондриальный процесс. Мембрана митохондрий непроницаема для ацетил-КоА. Перенос ацетильного остатка в цитозоль осуществляется при участии цитрата. Напомним, что в митохондриях ацетильный остаток из ацетил-КоА включается в цитрат (первая реакция цитратного цикла):



Часть цитрата не поступает в цитратный цикл, а транспортируется в цитозоль при участии специфической транслоказы митохондриальной мембраны (рис. 109). В цитозоле есть фермент *цитратлиаза*, превращающий цитрат снова в ацетил-КоА и оксалоацетат:



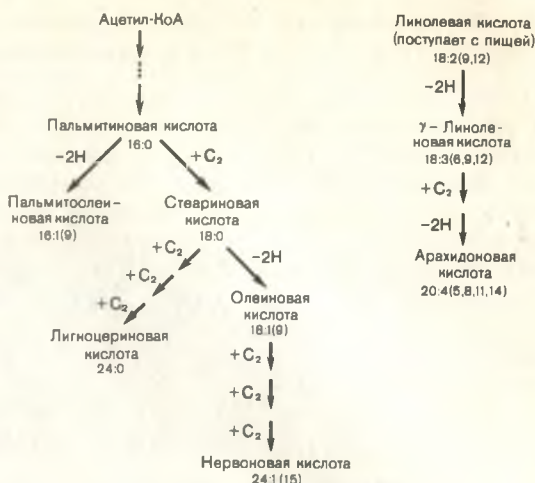
Удлинение углеродной цепи пальмитата. Пальмитиновая кислота служит предшественником других жирных кислот орга-



109

Перенос ацетильного остатка из митохондрий в цитозоль (T — транслоказа)

низма. Удлинение углеродной цепи происходит за счет дополнительного присоединения ацетил-КоА или малонил-КоА при помощи ферментов, имеющих как в цитозоле, так и в митохондриях. Присоединение к пальмитиновой кислоте ацетил-КоА и последующее восстановление β -карбонильной группы приводит к образованию стеариновой кислоты (18:0). При этом происходят реакции, сходные с теми, которые катализирует пальмитилсинтетаза. Таким путем образуются жирные кислоты и с более длинной цепью — до 24 углеродных атомов.



110
Пути биосинтеза некоторых жирных кислот

Синтез ненасыщенных жирных кислот. Большинство непредельных жирных кислот образуется путем дегидрирования предельных кислот. *Линолевая кислота* 18:2 (9, 12), а возможно и *α-линоленовая кислота* 18:3 (9, 12, 15) не синтезируются в организме человека, и должны поступать с пищей. Пути образования некоторых жирных кислот представлены на рис. 110.

Наиболее интенсивно синтез жирных кислот происходит в печени, жировой ткани, молочных железах.

ОБМЕН ЖИРОВ

Природные жиры представляют собой смесь триацилглицеринов, различающихся по жирнокислотному составу. Обычно в жирах обнаруживают смешанные триацилглицерины, т. е. содержащие в одной молекуле остатки разных жирных кислот, например 1-олеил-2-пальмитил-3-стеарилглицерин, 1,3-диолеил-2-пальмитилглицерин и т. п. В триацилглицеринах человека содержится много ненасыщенных жирных кислот (см. табл. 36), поэтому жир человека имеет низкую температуру плавления — 10—15°C; таким образом, в клетках он находится в жидком состоянии.

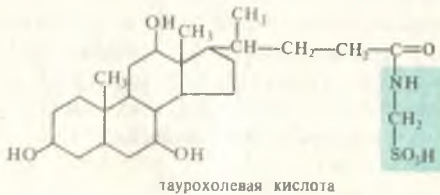
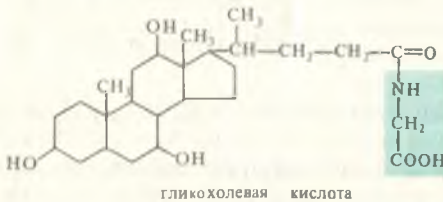
Жиры нерастворимы в воде, и с этим связан ряд особенностей их обмена, в частности необходимость специальных механизмов транспорта с кровью и лимфой, а также возможность депонирования в клетках, подобно гликогену. Биологическая функция жиров тоже подобна функции гликогена — оба эти вещества служат формами запасания энергетического материала.

Переваривание жиров и ресинтез в клетках кишечника

Жиры — одна из групп основных пищевых веществ человека. Суточная потребность в них составляет 50—100 г. Жиры обеспечивают до 50% потребности организма в энергии.

Переваривание жиров. В двенадцатиперстную кишку поступает желчь и сок поджелудочной железы, необходимые для переваривания жиров. В соке поджелудочной железы содержится липаза, гидролизующая сложноэфирную связь в триацилглицеринах. Поскольку жиры нерастворимы в водных средах, а липаза нерастворима в жирах, то гидролиз происходит лишь на поверхности раздела этих фаз и, следовательно, скорость переваривания зависит от площади этой поверхности.

В составе желчи содержатся конъюгированные желчные кислоты, в том числе гликохолевая и таурохолевая:

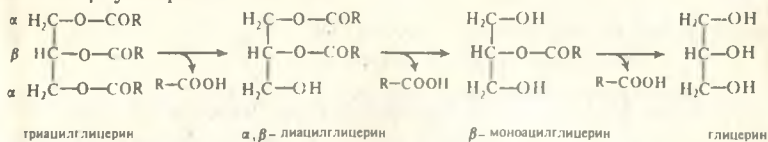


В желчи есть и другие желчные кислоты: их строение, а также синтез желчных кислот рассматриваются в разделе, посвященном обмену холестерина.

✓ Желчные кислоты обладают амфифильными свойствами. На поверхности раздела жир — вода они ориентируются таким образом, что гидрофобная циклическая часть ориентируется погруженной в жир, а гидрофильная боковая цепь — в водную фазу, в результате чего образуется стабильная эмульсия. Эмульгирование жиров увеличивает поверхность раздела фаз. Липаза адсорбируется на поверхности мицелл, где и происходит гидролиз жира.

В желчи содержится также вещество невыясненной природы, которое активирует и стабилизирует липазу. Оптимум pH липазы в присутствии желчи смещается с 8 до 6, т. е. до значения pH, которое бывает в верхнем отделе кишечника после приема жирной пищи.

Под действием липазы жирные кислоты отщепляются от триацилглицерина одна за другой, сначала от α -углеродных атомов, потом от β -углеродного атома:

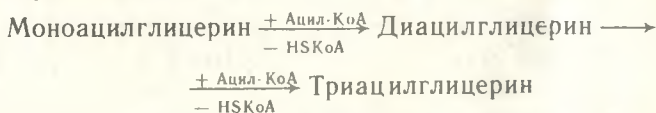


Жирные кислоты, диацилглицерины и моноацилглицерины также обладают эмульгирующим действием.

Всасывание продуктов переваривания. Всасываться в клетки могут все продукты переваривания, а в очень небольшой мере — и нерасщепленные жиры. Однако большая часть триацилглицеринов распадается до моноацилглицеринов, на долю которых приходится примерно $\frac{3}{4}$ всех всасывающихся продуктов. Всасывание тоже происходит при участии желчных кислот: они образуют с жирными кислотами и моноацилглицеринами мицеллы, которые проникают в клетки слизистой кишечника. Отсюда желчные кислоты поступают в кровь, а с ней — в печень и повторно участвуют в образовании желчи. Часть желчных кислот не всасывается и выводится с калом (0,2—0,5 г в сутки). Глицерин как водорастворимое вещество всасывается без участия желчи.

При нарушении желчеобразования или выделения желчи (например, вследствие закупорки желчного протока желчным камнем, опухолью) условия переваривания жиров и всасывания продуктов гидролиза ухудшаются, и значительная их часть выводится с калом (стеаторрея). Жирорастворимые витамины при этом также не всасываются, что приводит к развитию гиповитаминоза.

Ресинтез жиров в клетках кишечника. Большая часть продуктов переваривания в клетках кишечника вновь превращается в триацилглицерины. Жирные кислоты образуют ацил-КоА, а затем ацильные остатки переносятся на моноацилглицерин при участии трансацилаз:



Образование жиров из углеводов

Часть углеводов, поступающих с пищей, превращается в организме в жиры, особенно если количество углеводов превышает необходимое для возобновления запасов гликогена в печени и мышцах. Схема этого превращения представлена на рис. III. Глюкоза служит источником ацетил-КоА, из которого синтезируются жирные кислоты. Необходимый для восстановительных реакций НАДФ·Н поставляется за счет окисления глюкозы в пентозофосфатном пути, а также за счет НАДФ-зависимых

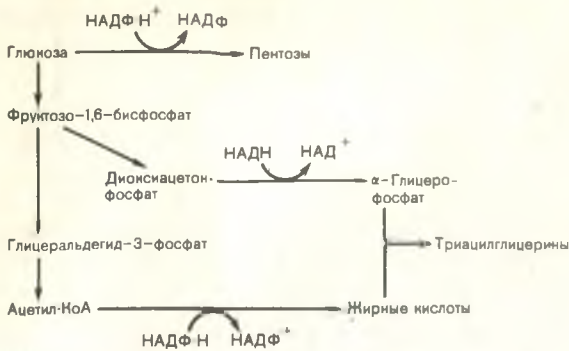
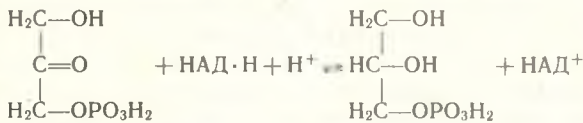


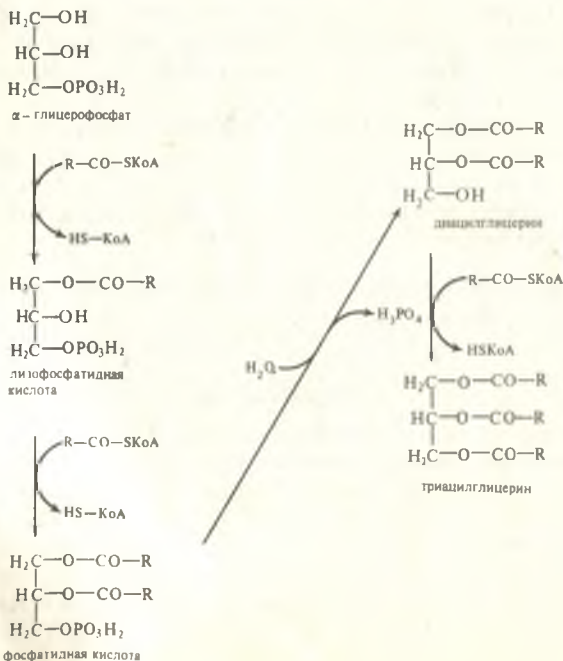
Схема образования жиров из глюкозы

малатдегидрогеназной и изоцитратдегидрогеназной реакций. Глицерофосфат получается путем восстановления доксиацетон-фосфата — промежуточного продукта гликолиза:



Таким образом, из глюкозы образуется все, что необходимо для синтеза жиров.

Синтез триацилглицеринов из α -глицерофосфата и ацил-КоА идет по схеме



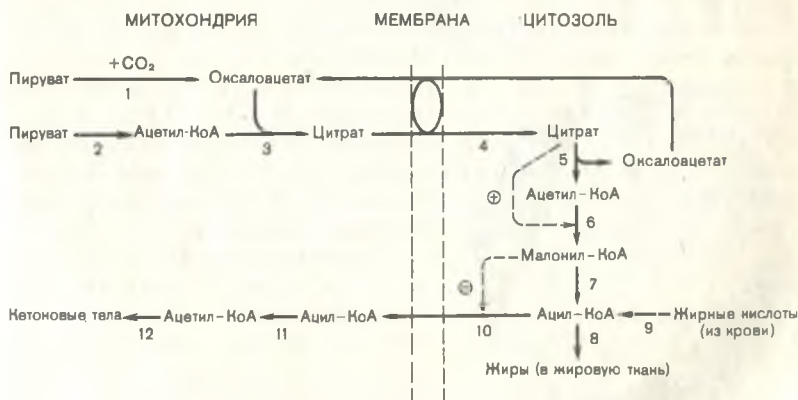
Синтез жиров из углеводов наиболее активно происходит в печени, менее активно — в жировой ткани.

WS

Регуляция окисления и синтеза жирных кислот в печени

Печень отличается от других органов тем, что в ней высоко активны ферментные системы как синтеза, так и распада жирных кислот. Однако эти процессы разделены в пространстве и во времени. О пространственном разделении уже упоминалось: окисление жирных кислот происходит в митохондриях, а синтез — в цитозоле. Разделение во времени достигается действием регуляторных механизмов, в том числе путем аллостерической активации и ингибирования ферментов.

Наибольшая скорость синтеза жирных кислот и жиров наблюдается после приема углеводной пищи. В этих условиях в клетки печени поступают большие количества глюкозы, накапливается пируват, часть которого превращается в оксалоацетат (рис. 112). Напомним, что ацетильные остатки, необходимые для синтеза жирных кислот, поставляются в цитозоль из митохондрий с участием оксалоацетата. Увеличение его концентрации усиливает поток ацетильных остатков в цитозоль. Связанное с этим увеличение концентрации цитрата в цитозоле активирует ацетил-КоА-карбоксилазу, что приводит к повышению концентрации малонил-КоА и началу синтеза жирных кислот. Малонил-КоА ингибирует карнитин-ацилтрансферазу, в результате поступление жирных кислот в митохондрии прекращается, а следовательно, прекращается их окисление. Таким образом, при включении синтеза жирных кислот автоматически выключается их распад. Наоборот, в постабсорбтивном периоде, когда концентрация



112

Регуляция окисления и синтеза жирных кислот в печени:

реакции 1—8 — при пищеварении; реакции 9—12 — в постабсорбтивном периоде

оксалоацетата снижается, поток ацетильных групп в цитозоль ослабевает, синтез жирных кислот прекращается. Уменьшение концентрации малонил-КоА открывает путь для жирных кислот в митохондрии, где начинается их окисление и превращение в кетоновые тела. Этот механизм регуляции обеспечивает первоочередное использование углеводов: печень сберегает или даже пополняет запас жиров в организме, когда есть углеводы, и лишь по мере их исчерпания начинается использование жира.

№5 Транспортные липопротеины

Поскольку жиры и другие липиды нерастворимы или очень мало растворимы в воде и в жидкостях организма, необходимы специальные механизмы для транспорта этих веществ кровью. Транспорт осуществляется в составе особых частиц — липопротеинов (рис. 113). В крови обнаруживается несколько форм липопротеинов; основные из них — хиломикроны, липопротеины очень низкой плотности (ЛОНП), липопротеины низкой плотности (ЛНП) и липопротеины высокой плотности (ЛВП). Липопротеины можно разделить методом центрифугирования, поскольку они различаются по плотности (табл. 37).

Таблица 37. Липопротеины крови человека

Липопротеины	Плотность, г/мл	Молекулярная масса	Диаметр, нм	Концентрация в плазме крови, г/л
Хиломикроны	0,95	1—10 млрд	30—500	1—2
ЛОНП (пре-β)	0,95—1,00	5—100 млн	30—75	1—1,5
ЛНП (β)	1,00—1,06	2—4 млн	20—25	2—4
ЛВП (α)	1,06—1,21	200—400 тыс.	10—15	1—3

Липопротеины различаются также по электрофоретической подвижности: при pH 8,6 хиломикроны остаются на месте нанесения, ЛОНП мигрирует впереди фракции β-глобулинов сыворотки крови (пре-β-липопротеины), ЛНП — вместе с β-глобулинами (β-липопротеины), ЛВП — с α-глобулинами (α-липопротеины).

Строение липопротеинов. Поверхностная часть липопротеинов (рис. 113) образована слоем ориентированных фосфолипидов и белками (аполипопротеинами). Фосфолипиды гидрофильными концами образуют наружную поверхность, а гидрофобные концы «растворены» в липидной фазе внутри частиц.



113
Строение липопротеинов

В составе липопротеинов обнаружено несколько разных белков. Для всех этих белков характерно наличие гидрофильной и гидрофобной частей; гидрофильная часть контактирует с плазмой крови, гидрофобная — с липидами внутри липопротеина.

Набор белков в разных липопротеинах различен. Внутренняя часть липопротеина — гидрофобное ядро — содержит главным образом триацилглицерины и холестерин. Состав липопротеинов представлен в табл. 38. Приведенные величины имеют лишь ориентировочный характер, поскольку в процессе функционирования липопротеинов их состав непрерывно изменяется.

Т а б л и ц а 38. Состав липопротеинов крови человека (%)

Липопротеины	Белки	Триацил- глицерины	Холестерин		Фосфолипиды
			эфиры	свободный	
Хиломикроны	2	85	4	2	7
ЛОНП	10	50	15	7	18
ЛНП	25	7	40	7	21
ЛВП	45	5	20	5	25

Плотность и электрофоретическая подвижность липопротеинов прямо пропорциональны содержанию белков и обратно пропорциональны содержанию триацилглицеринов.

Образование и функции липопротеинов. Липопротеины образуются в клетках слизистой оболочки кишечника (хиломикроны и ЛОНП), в гепатоцитах (ЛОНП и ЛВП), в плазме крови (ЛНП и ЛВП).

Жиры, синтезированные в клетке, проникают между слоями фосфолипидного бислоя в шероховатом ретикулуме, образуя каплю. В конечном счете фосфолипидный монослой замыкается вокруг капли, т. е. формируется отдельная липопротеиновая частица. При этом липопротеин оказывается локализованным в полости ретикулума. Затем липопротеины перемещаются в аппарат Гольджи, где образуются секреторные гранулы, заполненные липопротеинами. Освобождение липопротеинов в кровь или лимфу происходит путем экзоцитоза. Внутриклеточно образуются предшественники липопротеинов, которые в крови быстро превращаются в зрелые липопротеины. Важным моментом созревания является обмен поверхностными компонентами между разными липопротеинами.

Хиломикроны и ЛОНП служат для транспорта жиров по кровеносному руслу, а ЛНП и ЛВП — для транспорта холестерина.

Жиры, синтезирующиеся в клетках кишечника из продуктов переваривания, в этих же клетках включаются в липопротеины, главным образом в хиломикроны, а также в ЛОНП. Хиломикроны и ЛОНП поступают в лимфатические капилляры кишечника,

затем через лимфатические сосуды брыжейки в грудной проток и оттуда через яремную вену в общий кровоток.

Жиры, образующиеся в печени, упаковываются в липопротеины очень низкой плотности (ЛОНП), которые поступают в кровь. Печень выделяет в кровь 20—50 г жиров в сутки (в составе ЛОНП).

При пищеварении содержание липопротеинов в крови повышается, причем иногда настолько, что плазма крови становится белесоватой. Максимум концентрации липопротеинов наблюдается через 4—5 ч после приема пищи.

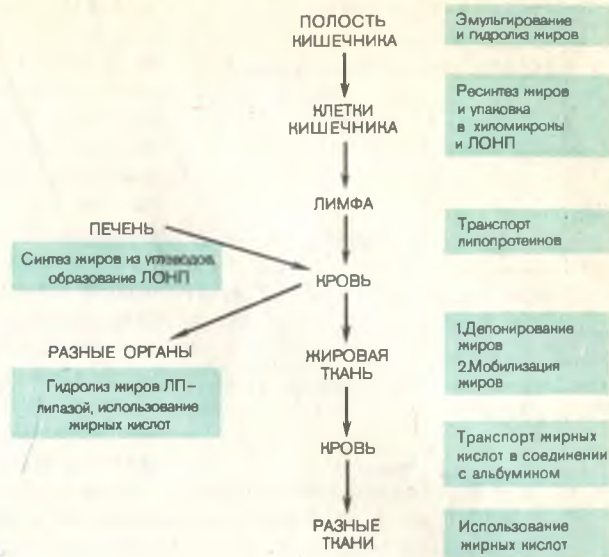
Липопротеинлипаза. Хиломикроны и ЛОНП распределяют по органам и тканям за сутки 70—150 г экзогенных (поступающих с пищей) и эндогенных (синтезируемых в печени) жиров. В эндотелии капилляров разных органов имеется фермент липопротеинлипаза, гидролизующий жиры липопротеинов. Липопротеинлипаза связана с гликозамингликанами внутренней поверхности капилляров и непосредственно контактирует с кровью. Липопротеинлипаза имеет центр связывания липопротеинов и каталитический центр для гидролиза жиров. Продукты гидролиза поступают в клетки, где могут окисляться или участвовать в других метаболических превращениях. Хиломикроны и ЛОНП, постепенно освобождаясь от триацилглицеринов, превращаются в ЛНП, а также, вероятно, и в ЛВП. Время полужизни хиломикронов и ЛОНП в крови около 5 ч. ЛНП и ЛВП поглощаются путем эндоцитоза клетками печени, кишечника, жировой ткани, почек, надпочечников и разрушаются в лизосомах.

Депонирование и мобилизация жиров

Жиры депонируются в специализированных клетках жировой ткани — адипоцитах (липоцитах). До 90% массы жировой ткани приходится на жиры. Большую часть объема жировой клетки составляет капля жира, окруженная тонким слоем цитоплазмы, в которой находятся ядро, митохондрии и другие клеточные структуры. Жир в жировой ткани накапливается за счет двух источников: поступает из липопротеинов и образуется из глюкозы в самих жировых клетках.

Жиры липопротеинов расщепляются липопротеинлипазой в капиллярах жировой ткани. Жирные кислоты проникают в жировые клетки, где вновь включаются в состав триацилглицеринов: при этом используется α -глицерофосфат, образующийся из глюкозы в жировых клетках.

Мобилизация депонированных жиров происходит путем их гидролиза до жирных кислот и глицерина липазами жировых клеток. Жирные кислоты поступают в кровь, где образуют нековалентные соединения с альбумином, и в такой форме транспортируются по кровеносному руслу. Глицерин транспортируется в растворенном состоянии и улавливается главным образом печенью; в печени глицерин превращается в α -глицерофосфат, ко-



114

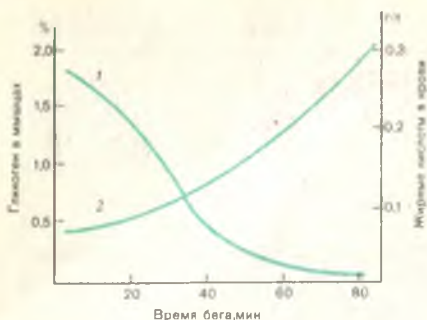
Транспорт и превращения жиров

торый может вступать в реакции глюконеогенеза или окисляться в реакциях гликолиза и общего пути катаболизма. На рис. 114 представлена обобщенная схема транспорта и превращений жиров.

Концентрация жирных кислот в крови невелика — на их долю приходится только 1—3% от всех липидов крови. Время полужизни жирных кислот в крови тоже очень мало — всего 2—4 мин. Последнее означает, что существует быстрый поток жирных кислот от жировой ткани к органам-потребителям. Высокая скорость этого потока даже при низкой концентрации переносимого вещества обеспечивает перенос значительных количеств жирных кислот — около 150 г за сутки.

✓ Адреналин активирует мобилизацию депонированных жиров, действуя по тому же механизму, как и в случае мобилизации гликогена, т. е. через каскад реакций, включающий синтез цАМФ, активацию протеинкиназы и фосфорилирование липазы. При *феохромцитомах* — опухолях хромаффинной ткани надпочечников — концентрация адреналина (а также норадреналина) в крови резко повышена; вследствие этого концентрация жирных кислот в крови больных в десятки раз больше, чем у здоровых людей.

Две формы депонированного энергетического материала — гликоген и жиры — различаются по очередности мобилизации: при голодании, физической работе в первую очередь используются преимущественно запасы гликогена, а затем постепенно нарастает скорость мобилизации жиров. Кратковременные физические



нагрузки практически полностью обеспечиваются энергией за счет гликогена, а при длительных используются и жиры. Об этом можно судить, например, по изменению содержания гликогена в мышцах и жирных кислот в крови при продолжительном беге (рис. 115).

Ожирение. Большая часть пищевых и синтезируемых в печени жиров проходит стадию депонирования в жировой ткани. При питании преимущественно углеводной пищей жировые запасы образуются за счет синтеза жиров из углеводов в

115

Изменение содержания гликогена в мышцах (1) и жирных кислот в крови (2) при беге

печени. У нормально упитанного человека жиры составляют около 15% массы тела. При полном голодании этот запас расходуется в течение 5—7 недель, т. е. его хватает на значительно большее время, чем запасов гликогена. При нормальном питании количество жира в организме здорового человека не изменяется. Однако и в этих условиях жиры жировой ткани постоянно обновляются. Иначе говоря, одновременно и постоянно происходят депонирование и мобилизация жира с равными скоростями. В результате жиры жировой ткани за несколько дней обновляются полностью. При длительном голодании и систематических физических нагрузках скорость мобилизации жиров больше скорости депонирования, и количество депонированного жира уменьшается. Наоборот, если скорость мобилизации постоянно меньше скорости депонирования, то наступает ожирение.

Наиболее частая причина ожирения — несоответствие между количеством потребляемой пищи и энергетическими тратами организма. Такое несоответствие возникает при чрезмерном потреблении пищи, при гиподинамии и особенно при сочетании этих двух факторов.

Насколько точным должно быть соответствие между потреблением пищи и энергетическими тратами, показывает следующий расчет: при ежедневном потреблении только 3 г (в пересчете на сухое вещество) лишней пищи за 10 лет могла бы накопиться избыточная масса тела примерно 10 кг. Вряд ли такая точность достижима на основе механизмов регуляции, связанных с ощущением голода, аппетита и насыщения.

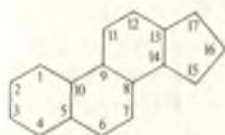
Как мы видели, скорость всех основных метаболических процессов, ведущих к синтезу АТФ, регулируется по механизму положительной обратной связи скоростью расходования АТФ: чем больше расход АТФ, тем больше скорость его синтеза (дыхательный контроль, регуляция гликолиза, цитратного цикла). Не исключено, что организм располагает некоторой возмож-

постью катаболизировать пищевые вещества и тогда, когда нет соответствующих затрат энергии на совершение внешней работы. Этот механизм мог бы предотвратить накопление депонированного жира при избыточном потреблении пищи.

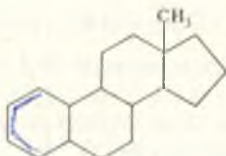
В регуляции потребления и катаболизма пищи участвует эндокринная система, поэтому ожирение является характерным признаком многих эндокринных заболеваний.

ОБМЕН И ФУНКЦИИ СТЕРОИДОВ

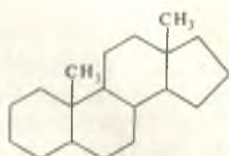
Стероиды можно рассматривать как производные тетрациклического насыщенного углеводорода циклопентанпергидрофенантрена, метилированного в положении 13 (*эстран*) или в положениях 10 и 13 (*андростан*):



циклопентан пергидрофенантрен
(гонан)



эстран



андростан

Многие стероиды содержат боковую цепь в положении 17. По строению этой боковой цепи, а также и по различиям функций стероиды тканей человека образуют четыре группы:

- 1) *стерины*, имеющие восьмиуглеродную боковую группу (основной представитель — холестерин);
- 2) *желчные кислоты*, у которых боковая группа содержит пять углеродных атомов;
- 3) *кортикостероиды* и *прогестерон* с двухуглеродной боковой группой;
- 4) женские и мужские половые гормоны (*эстрогены* и *андрогены*), у которых боковой группы в положении 17 нет совсем.

В этом разделе мы рассмотрим главным образом обмен и функции холестерина и желчных кислот.

Распространение и функции холестерина

На долю холестерина приходится основная масса всех стероидов организма. В тканях человека содержится около 140 г холестерина; содержание следующей по распространенности группы стероидов — желчных кислот — около 5 г. Наиболее богаты холестерином нервная ткань (миелиновые мембраны) и кора надпочечников. Часть холестерина тканевой этерифицирована высшими жирными кислотами, обычно олеиновой кислотой. Эфиры холестерина — это, как правило, депонированная или транспортная форма холестерина. Например, 70% холестерина липопротеинов крови этерифицировано. Столько же эфиров холе-

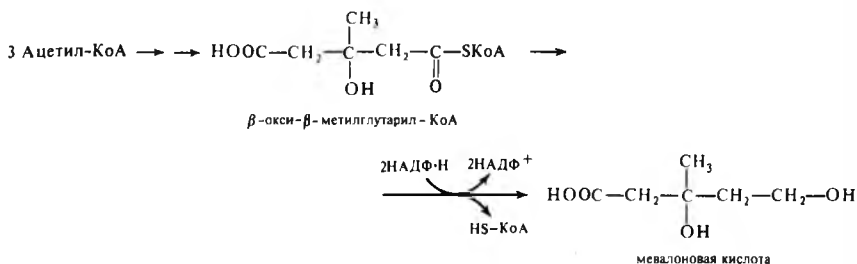
стерина в клетках надпочечников, где они депонируются в форме капель в цитоплазме. В большинстве других органов эфиры составляют меньшую часть всего холестерина; например, в печени их 20—25%.

✓ Холестерин выполняет в организме два рода функций: во-первых, он входит в качестве структурного компонента в состав клеточных мембран; во-вторых, служит предшественником при синтезе других стероидов — желчных кислот, стероидных гормонов, витамина D₃.

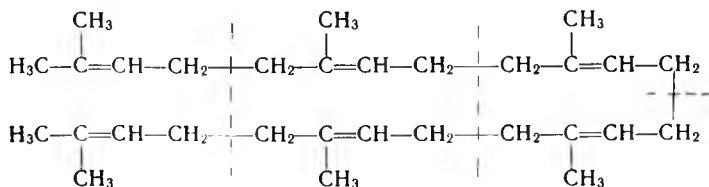
Фонд холестерина организма создается за счет холестерина пищи и его синтеза в самом организме. При питании растительной пищей, в которой холестерина мало, главное значение имеет синтез холестерина.

Биосинтез холестерина

Сложная молекула холестерина образуется целиком из ацетильных остатков ацетил-КоА (см. гл. VI). Одним из промежуточных продуктов является β-гидрокси-β-метилглутарил-КоА (ГМГ-КоА), который образуется и при синтезе кетоновых тел. Первая специфическая для биосинтеза холестерина реакция — восстановление ГМГ-КоА в мевалоновую кислоту при действии ГМГ-КоА-редуктазы;

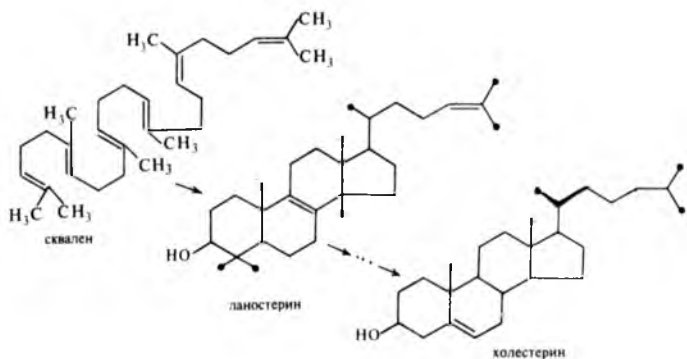


Мевалоновая кислота далее подвергается ряду превращений, в ходе которых отщепляется карбоксильная группа, а пятиуглеродные части шести молекул мевалоновой кислоты конденсируются, образуя сквален. Сквален представляет собой линейную симметричную молекулу, построенную из шести изопреновых единиц:



Сквален затем превращается в ланостерин, который уже содержит тетрациклическую группу, характерную для холестерина.

Из ланостерина в несколько стадий образуется холестерин:



Подавляющая часть холестерина — около 80% — синтезируется в печени; второе место занимают клетки тонкого кишечника, в которых образуется около 10% всего холестерина организма; еще примерно 5% добавляют клетки кожи. Ферменты, необходимые для синтеза холестерина, есть во всех клетках, кроме зрелых эритроцитов. Общее количество холестерина, синтезируемого в организме человека за сутки, достигает 1 г.

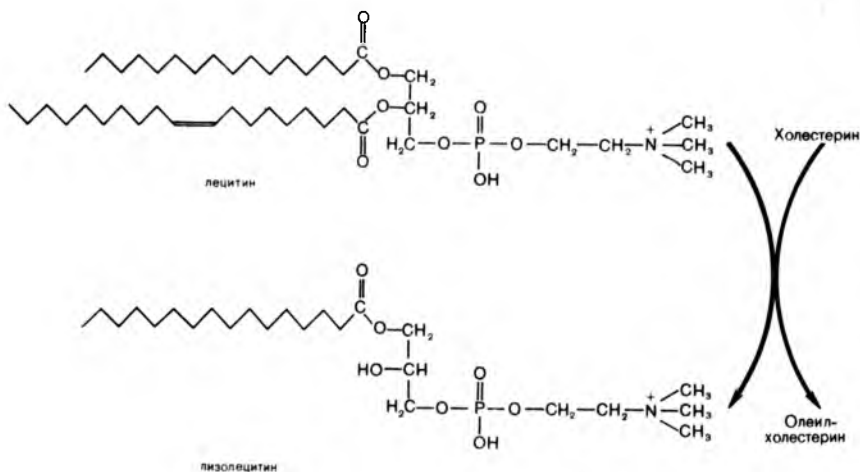
Скорость синтеза холестерина регулируется по механизму отрицательной обратной связи. Основным пунктом регуляции является реакция образования мевалоновой кислоты — первая специфическая реакция пути синтеза холестерина: холестерин ингибирует ГМГ-КоА-редуктазу и подавляет ее синтез. При содержании 2—3 г холестерина в суточной пище человека синтез собственного холестерина почти полностью прекращается.

Транспорт холестерина

Особая роль гепатоцитов и клеток кишечника заключается в том, что в них синтезируется холестерин не только для собственных нужд, но и «на экспорт». В этих клетках образуются липопротеины, поступающие в кровоток. Липопротеины содержат холестерин и эфиры холестерина. Свободный холестерин входит в состав поверхностного фосфолипидного монослоя и является интегральной частью этого монослоя: молекулы холестерина располагаются между гидрофобными концами фосфолипидных молекул. Эфиры холестерина находятся в ядре липопротеиновой частицы; они не могут встраиваться в поверхностный слой.

Между циркулирующими в крови липопротеинами происходит обмен холестерином, особенно активный между ЛНП и ЛВП: при контактах липопротеиновых частиц холестерин диффундирует из одной частицы в другую. Обмен имеет двусторонний характер, но в целом преобладает поток холестерина в ЛВП из всех других липопротеинов. Это связано с тем, что в ЛВП активно происходит этерификация под действием *лецитин-холестерин-ацилтранс-*

феразы (ЛХАТ). ЛХАТ катализирует перенос ацильного остатка из β -положения лецитина (фосфатидилхолина) на холестерин:



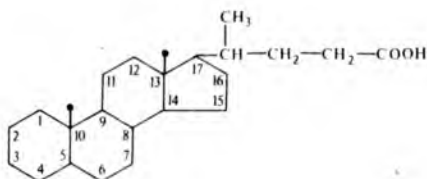
В наибольших количествах образуются эфиры олеиновой и линолевой кислот. В других липопротеинах образование эфиров происходит с меньшей скоростью, чем в ЛВП. ЛХАТ локализована в поверхностном слое ЛВП; образующиеся здесь эфиры холестерина погружаются внутрь частицы. Вследствие этого концентрация холестерина в поверхностном слое уменьшается и освобождается место для поступления холестерина из других липопротеинов.

Двусторонний обмен холестерином путем диффузии происходит также при контакте липопротеинов с клетками. И в этом случае существуют преимущественные направления потоков: ЛВП извлекают холестерин из клеточных мембран, а ЛНП, наоборот, снабжают клетки холестерином. ЛВП, нагруженные холестерином, удаляются из кровотока путем эндоцитоза клетками кишечника, а также печени. ЛНП поглощаются клетками многих органов.

Механизм обмена холестерином между клетками и липопротеинами поддерживает гомеостаз холестерина в клетках разных органов: с помощью ЛВП предотвращается накопление избытка холестерина в клетках, а ЛНП обеспечивают клетки холестерином при увеличении потребности в нем (например, при росте и делении клеток, когда холестерин расходуется на образование новых мембран).

Биосинтез желчных кислот

В печени часть холестерина превращается в желчные кислоты. Желчные кислоты можно рассматривать как производные холановой кислоты:



холановая кислота

Холановая кислота как таковая в организме не образуется. В гепатоцитах из холестерина получают непосредственно хенодезоксихолевую и холевую кислоты — первичные желчные кислоты:



Их образование включает реакции введения гидроксильных групп при участии гидроксилаз и реакции частичного окисления боковой цепи холестерина.

После выделения желчи в кишечник при действии ферментов кишечной флоры из первичных желчных кислот образуются литохолевая и дезоксихолевая кислоты — вторичные желчные кислоты. Они всасываются из кишечника, с кровью воротной вены попадают в печень, а затем в желчь. Следует отметить, что микроорганизмы кишечника образуют около 20 разных вторичных желчных кислот, но всасываются в заметных количествах только дезоксихолевая и, в меньшей мере, литохолевая кислоты; остальные выводятся с калом.

В желчи содержатся главным образом конъюгированные желчные кислоты, т. е. их соединения с глицином или таурином. Боковая цепь с остатком глицина или таурина гидрофильна, в то время как другой конец молекулы (циклическая группировка) гидрофобный. Амфифильная природа желчных кислот обуславливает их поверхностно-активные свойства и участие в переваривании жиров.

Концентрация желчных кислот в желчи равна примерно 1%; в желчи содержатся также фосфолипиды (главным образом фосфатидилхолина, 0,5%), холестерин (0,5%), а также билирубин, белки, минеральные соли. Следует отметить, что концентрация желчи непостоянна: желчь может концентрироваться вследствие всасывания воды в желчном пузырьре. Непостоянны также и относительные концентрации отдельных компонентов желчи.

Желчные кислоты, холестерин и фосфатидилхолина в пузырной желчи образуют смешанные мицеллы. Собственно эти мицеллы, т. е. все их компоненты, а не только желчные кислоты, участвуют в эмульгировании жиров в кишечнике и всасывании продуктов переваривания жиров.

Энтерогепатическая циркуляция и экскреция желчных кислот и холестерина

Основная часть желчных кислот (90—95%) из полости кишечника всасывается в клетки, с кровью воротной вены попадает в печень и повторно используется при образовании желчи. В результате этого вторичные желчные кислоты, возникшие при участии кишечных микроорганизмов, становятся равноправными функциональными компонентами желчи. Желчные кислоты проходят энтерогепатический круг 5—10 раз за сутки.

Небольшая часть желчных кислот — около 0,5 г за сутки — выводится с калом. Эта убыль компенсируется синтезом в печени новых желчных кислот в таком же количестве; фонд желчных кислот обновляется полностью примерно за 10 дней.

Холестерин из кишечника также всасывается неполностью и частично выводится с калом, главным образом в составе смешанных мицелл с желчными кислотами. В организме взрослого человека ежедневно обновляется примерно 1,3 г холестерина (в тканях; обмен в полости кишечника здесь не учитывается). Это значит, что 1,3 г новых молекул холестерина появляется в тканях и столько же удаляется из них. Пополнение фонда холестерина обеспечивается двумя путями: синтезом холестерина в тканях (около 1 г в сутки) и поступлением из кишечника (около 0,3 г в сутки). Удаление холестерина из тканей происходит тоже двумя путями: путем его окисления в желчные кислоты в печени с последующей экскрецией желчных кислот с калом (примерно 0,5 г в сутки) и путем экскреции неизменного холестерина (тоже с калом).

В кишечнике содержится холестерин из пищи и холестерин, поступающий с желчью. С пищей человек получает около 0,5 г холестерина в сутки; втрое-вчетверо больше поставляет в кишечник желчь. Всасывание холестерина происходит в основном в нижних отделах тонкого кишечника. Важно отметить, что всасывается не весь холестерин, а лишь около 30%. В стационарном состоянии суммарное количество холестерина, поступающего в кишечник с пищей, и холестерина, синтезированного в тканях, равно суммарному количеству экскретируемых холестерина и желчных кислот:

$$\text{Холестерин}_{\text{пищ}} + \text{Холестерин}_{\text{синт}} = \text{Холестерин}_{\text{экскр}} + \text{Желчные кислоты}_{\text{экскр}}$$

Выведение холестерина и желчных кислот — главный путь, которым организм может избавляться от избытка холестерина. Если холестерин в пище полностью отсутствует, то его синтез в тканях происходит с максимальной скоростью (около 1 г в сутки) и весь этот холестерин выводится частично в неизменном виде, а частично после превращения в желчные кислоты (примерно поровну). Чем больше поступление холестерина с пищей,

тем меньше синтезируется холестерина в тканях (вследствие регуляции МГ-КоА-редуктазы) и тем большую долю экскретируемого холестерина составляет холестерин пищи. Что касается желчных кислот, то их синтез и экскреция мало зависят от поступления холестерина с пищей.

Эти механизмы обеспечивают поддержание концентрации холестерина в организме на постоянном уровне. Если нарушен баланс между поступлением холестерина с пищей и его синтезом в организме, с одной стороны, и выведением желчных кислот и холестерина — с другой, то концентрация холестерина в тканях и в крови изменяется. Наиболее серьезные последствия связаны с **повышением** концентрации холестерина в крови (*гиперхолестеринемия*): при этом увеличивается вероятность заболевания атеросклерозом и желчно-каменной болезнью.

Желчно-каменная болезнь

При желчно-каменной болезни в желчном пузыре или протоках образуются камни в результате осаждения и кристаллизации компонентов желчи. Обычно в желчных камнях основная масса приходится на холестерин и билирубин — продукт распада гема. Различают два типа желчных камней: преимущественно холестериновые, которые содержат больше 70% холестерина, и преимущественно билирубиновые. Чаще встречаются холестериновые камни, примерно в $\frac{2}{3}$ всех случаев болезни. В этом разделе мы рассмотрим образование холестериновых камней.

Холестерин в желчи может существовать в трех фазах. Одна фаза — это *смешанные мицеллы*, содержащие холестерин, желчные кислоты и фосфатидилхолин. Вторая фаза — *внемицеллярный жидкокристаллический холестерин* в водном окружении желчи. Третья фаза — *твердокристаллический холестерин*, осадок. Жидкокристаллическая фаза нестабильна: холестерин из нее стремится перейти либо в мицеллы, либо в осадок. Уменьшение синтеза (или экскреции) желчных кислот или увеличение синтеза холестерина может привести к относительному избытку холестерина, к такому состоянию, когда имеющиеся мицеллы не способны вместить весь холестерин желчи — желчь становится насыщенной холестерином. В этих условиях и образуется твердокристаллическая фаза, т. е. холестериновые камни. Осаждению холестерина способствуют застой желчи, воспалительные заболевания желчного пузыря и протоков.

Центрами кристаллизации часто служат конгломераты белков или слущившихся клеток эпителия, на которые слой за слоем осаждаются холестерин. Нередко камни состоят из чередующихся слоев холестерина и билирубина. Камни могут быть одиночными или многочисленными, крупными (до размеров куриного яйца) или мелкими (песок). Камни вызывают спазмы желчного пузыря и протоков, которые больной ощущает как приступы боли. Камни затрудняют, а иногда полностью перекрывают отток

желчи через желчный проток, что приводит к еще большему ускорению их роста.

До настоящего времени основным способом лечения желчно-каменной болезни остается хирургическое удаление камней. Однако сейчас начинают применять и другой метод лечения — введение хенодезоксихолевой кислоты: от этой желчной кислоты в наибольшей степени зависит растворимость холестерина; кроме того, хенодезоксихолевая кислота ингибирует ГМГ-КоА-редуктазу. При приеме 1 г хенодезоксихолевой кислоты в день синтез холестерина снижается вдвое, его концентрация в желчи уменьшается; концентрация желчных кислот, наоборот, увеличивается в результате дополнения собственных желчных кислот введенным препаратом. В этих условиях не только прекращается осаждение холестерина, но становится возможным и растворение уже имеющихся камней; камни размером с горошину растворяются примерно в течение полугода. Разумеется, такой способ лечения возможен только в том случае, если камни образованы преимущественно холестерином; растворимость билирубина мало зависит от желчных кислот.

ГИПЕРЛИПОПРОТЕИНЕМИИ

Липопротеины в крови имеются постоянно, но их концентрация меняется в зависимости от ритма питания. После приема пищи концентрация липопротеинов повышается, достигает максимума через 4—5 ч, а затем вновь снижается. За нормальное принимают содержание липопротеинов у здоровых людей через 10—12 ч после еды (постабсорбтивное состояние; кровь для анализа берут утром до завтрака). В этом состоянии в крови здоровых людей отсутствуют хиломикроны и обнаруживаются только ЛОНП (около 15% от всех липопротеинов), ЛНП (60%) и ЛВП (25%).

Практически весь холестерин и все жиры плазмы крови находятся в липопротеинах. В норме содержание холестерина в крови равно 200 ± 50 мг/дл (сумма свободного и этерифицированного холестерина); содержание жиров 100 ± 90 мг/дл. При повышенном содержании липопротеинов в крови (гиперлипотеинемии) одновременно повышено содержание холестерина и жиров. Концентрация холестерина в большей мере связана с концентрацией ЛНП и ЛВП, а жиров — с концентрацией хиломикронов или ЛОНП. В связи с этим различают три формы гиперлипотеинемии:

1) гиперхолестеринемия (повышена концентрация ЛНП или ЛВП);

2) гипертриацилглицеринемия (повышена концентрация хиломикронов или ЛОНП);

3) смешанная форма.

Гиперлипотеинемии — очень распространенные нарушения обмена: они обнаруживаются примерно у каждого десятого

человека. Главная опасность гиперлиппротеинемий связана с тем, что повышается вероятность возникновения атеросклероза.

По механизму возникновения гиперлиппротеинемии делят на наследственные (первичные) и приобретенные (вторичные).

Примером наследственной гиперлиппротеинемии может быть гиперхиломикронемия. При этом заболевании имеется врожденный дефект липопротеинлипазы — ее активность в несколько раз ниже, чем у здоровых людей. В результате резко повышается содержание хиломикронов в крови, а следовательно, и жиров: концентрация жиров в крови в 10—40 раз больше, чем в норме (примерно такая, как в молоке). В то же время содержание холестерина лишь немного превышает норму. Кровь таких больных иногда имеет цвет борща со сметаной; при центрифугировании крови на поверхности образуется слой «сметаны» — хиломикронов. Частым осложнением гиперхиломикронемии является панкреатит, который служит основной причиной смертности при этой болезни. Если резко ограничить потребление жиров с пищей (менее 25 г в сутки), гиперхиломикронемия и другие симптомы исчезают или становятся менее выраженными. Гиперхиломикронемия встречается сравнительно редко.

✓ Другой пример — семейная гиперхолестеринемия, или β-липопротеинемия. Эта форма встречается значительно чаще — примерно один больной на каждые двести человек. Наследственный дефект при β-липопротеинемии заключается в нарушении поглощения ЛНП клетками, а следовательно, и в снижении скорости катаболизма ЛНП. Вследствие этого в крови повышается концентрация ЛНП, а также холестерина, поскольку его много в ЛНП. Поэтому для β-липопротеинемии характерно отложение холестерина в тканях, в частности в коже (ксантомы), в стенках артерий. ✓ Отложение холестерина в артериях сердца является причиной высокой частоты ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда, который у таких больных может быть в очень раннем возрасте, даже в 10 лет.

Вторичные гиперлиппротеинемии — обычное явление при таких хронических заболеваниях, как сахарный диабет, нефрозы, гепатиты, хронический алкоголизм.

14 ✓ АТЕРОСКЛЕРОЗ

Гиперлиппротеинемия и сопровождающая ее гиперхолестеринемия создают повышенную опасность заболевания атеросклерозом. Вероятность заболевания тем выше, чем больше отношение концентраций ЛНП и ЛВП в крови. Напомним, что ЛНП снабжают клетки холестерином, в то время как ЛВП удаляют из них избыток холестерина.

✓ Главное биохимическое проявление атеросклероза — отложение холестерина в стенках артерий. В 1913 г. Н. Аничков установил, что высокое содержание холестерина в корме кроликов вызывает у них гиперхолестеринемия и атеросклероз. Аничков сформулировал концепцию, согласно которой атеросклероз

есть результат гиперхолестеринемии и инфильтрации холестерина из крови в стенки артерий. Эта концепция лежит в основе и современных взглядов на патогенез атеросклероза.

✓ Атеросклеротические изменения начинаются с появления липидных пятен и полосок на внутренней поверхности артерий. В аорте пятна и полоски впервые появляются еще в детском возрасте, примерно с трех лет. Со временем их количество увеличивается; они возникают и в других местах сосудистого русла — в коронарных артериях (к 15—20 годам), в артериях нижних конечностей. Затем на месте пятен и полосок образуются утолщения — атеросклеротические бляшки. Если бляшку разрезать, из нее выдавливается желтая кашица, состоящая почти целиком из эфиров холестерина. Бляшки могут изъязвляться, язвы зарастают соединительной тканью (образуется рубец), в которую откладываются соли кальция. Стенки сосудов деформируются, становятся жесткими, нарушается моторика сосудов, суживается просвет вплоть до закупорки.

✓ Наиболее опасные и частые осложнения атеросклероза — ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, инсульт, облитерирующий эндоартериит и гангрена нижних конечностей, одна из форм почечной гипертензии.

✓ Гиперхолестеринемия — главная причина отложения холестерина в артериях. Но существенное значение имеют также первичные повреждения клеток сосудов. Повреждения эндотелия могут возникать вследствие гипертензии, воспалительных процессов, нарушений свертывания крови, при действии токсических веществ (например, никотина). В результате повреждений нарушается барьер проницаемости сосудистой стенки, в частности вследствие увеличения промежутков между эндотелиальными клетками. Вероятно, такое же действие оказывает и холестерин, осаждающийся на поверхности эндотелия артерий (стадия пятен и полосок).

В области повреждения эндотелия в стенку артерии проникают компоненты крови, в том числе липопротеины. Этот чужеродный для межклеточного вещества материал поглощается макрофагами и другими фагоцитирующими клетками. Кроме того, он вызывает специфическую реакцию гладких мышечных клеток сосудов: мышечные клетки начинают размножаться и тоже фагоцитировать липопротеины (наряду с другими компонентами крови). Все вещества фагоцитированных липопротеинов разрушаются в клетках ферментами лизосом, за исключением холестерина: в этих клетках нет ферментов для каких-либо превращений холестерина, кроме этерификации. Поэтому холестерин накапливается в клетках в больших количествах; капли эфиров холестерина в цитоплазме придают клеткам характерный пенистый вид. В конечном счете клетки погибают, холестерин оказывается в межклеточном пространстве и инкапсулируется соединительной тканью — образуется атеросклеротическая бляшка.

Между отложениями холестерина в артериях и липопротеинами крови происходит двусторонний обмен холестерином, но при гиперхолестеринемии преобладает поток холестерина в стенки артерий. Методы профилактики и лечения атеросклероза направлены на то, чтобы усилить обратный поток, обычно путем уменьшения гиперхолестеринемии. Для этого применяют малохолестериновую диету, лекарства, увеличивающие экскрецию холестерина или ингибирующие его синтез, прямое удаление холестерина из крови методом гемодиффузии и др.

Атеросклероз является результатом нарушения очень сложной биохимической системы, включающей синтез холестерина, его катаболизм и выведение, образование и созревание липопротеинов, рецепцию липопротеинов клетками, обмен компонентами между клетками и липопротеинами, катаболизм липопротеинов. Каждое из указанных звеньев в свою очередь представляет собой сложную цепь молекулярных событий. Вся система контролируется во многих участках специальными регуляторными механизмами. Легко представить, что отдельные нарушения в разных участках этой системы могут привести к одному и тому же результату — гиперхолестеринемии и отложению холестерина в стенках сосудов. Вероятно, наличие большого количества мишеней для повреждающих факторов и является молекулярной основой высокой распространенности атеросклероза.

Представленную здесь картину молекулярных механизмов развития атеросклероза нельзя считать окончательной. Дальнейшие биохимические исследования могут внести значительные изменения в современное понимание атеросклероза, а главное — в способы его предупреждения и лечения. А насколько такие исследования актуальны, следует из того, что атеросклероз разной степени обнаруживается у всех без исключения людей, а его осложнения занимают одно из первых мест в списке причин смертности.

ОБМЕН СЛОЖНЫХ ЛИПИДОВ

В отличие от жиров и жирных кислот (простых липидов), используемых в качестве энергетического материала, сложные липиды выполняют пластические функции и используются главным образом как структурные компоненты биологических мембран. Все сложные липиды содержат остаток жирных кислот. Спиртовая часть может быть представлена глицерином, сфингозином, инозитом.

Основные группы соединений, которые относят к сложным липидам, перечислены ниже.

1. Фосфолипиды.

1. Глицерофосфолипиды: фосфатидилхолины (лецитины), фосфатидилэтаноламины (кефалины), фосфатидилсерины, фосфатидилглицерины, фосфатидинозиты.

2. Сфингофосфолипиды (сфингомиелины).

II. Гликолипиды (гликосфинголипиды, гликозилцерамиды).

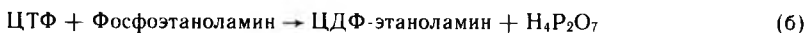
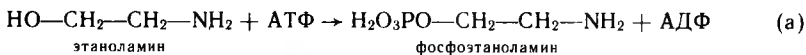
1. Цереброзиды (углеводная часть не содержит сиаловых кислот).

2. Ганглиозиды (сиалогликосфинголипиды).

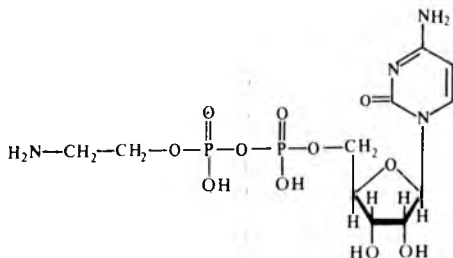
Обмен и функции гликолипидов описаны в гл. VII и IX; строение и функции фосфолипидов, входящих в мембраны, — в гл. VII. В этом разделе мы остановимся на путях образования фосфолипидов.

Основную группу фосфолипидов составляют глицерофосфолипиды. Синтез глицерофосфолипидов проходит через стадию фосфатидной кислоты, так же как и синтез триацилглицеринов.

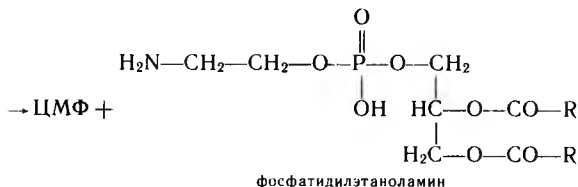
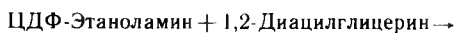
Синтез фосфатидилэтанолamines, фосфатидилхолинов и фосфатидилсеринов. Непосредственными предшественниками фосфатидилэтанолamines служат диацилглицерин и ЦДФ-этаноламин. Последнее соединение образуется путем фосфорилирования этаноламина (а) и взаимодействия фосфоэтанолamina с ЦТФ (б):



ЦДФ-Этаноламин имеет следующую структуру:

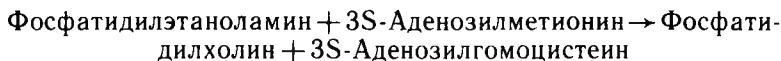


Остаток фосфоэтанолamina с ЦДФ-этанолamina затем переносится на глицериновый остаток 1,2-диацилглицерина:

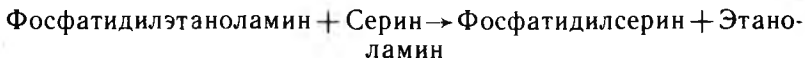


Аналогичная последовательность реакций, в которых вместо этаноламина используется холин $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$, приводит к образованию фосфатидилхолина (формула фосфатидилхолина приведена в гл. VII). Кроме того, фосфатидилхо-

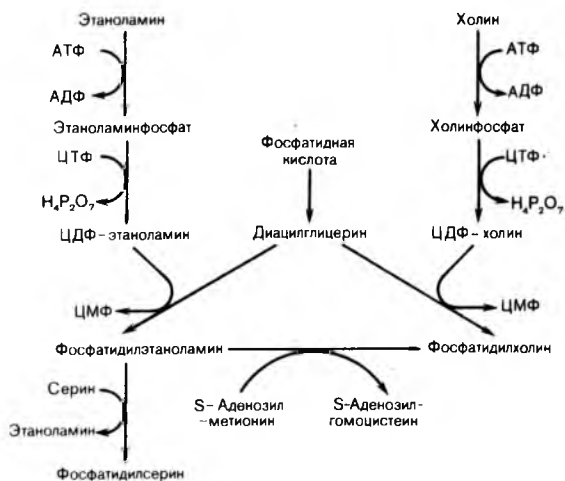
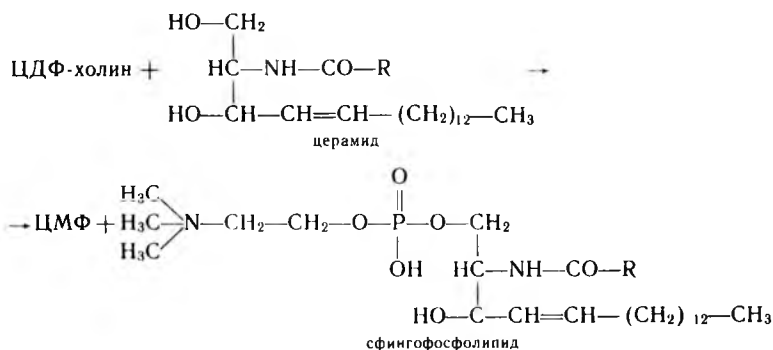
лин может образоваться путем метилирования фосфатидилэтаноламина с использованием метильных групп S-аденозилметионина (см. гл. XI):



Фосфатидилсерин образуется в обменной реакции фосфатидилэтаноламина с серином:



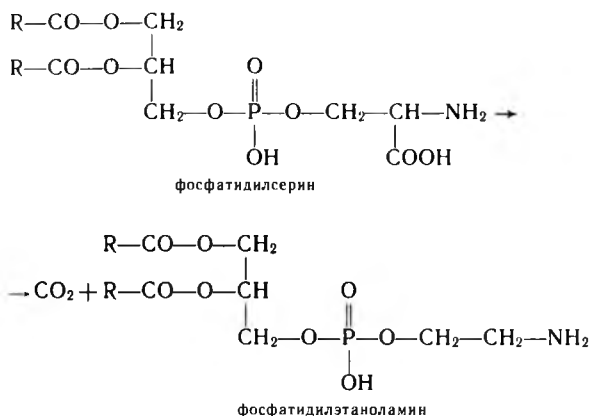
На рис. 116 представлена общая схема синтеза фосфатидилэтаноламинов, фосфатидилхолинов и фосфатидилсеринов. Сходным образом синтезируются и сфингофосфолипиды, но вместо диацилглицерина используется церамид (N-ацилсфингозин):



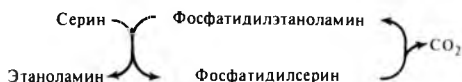
116

Схема синтеза фосфатидилэтаноламинов, фосфатидилхолинов и фосфатидилсеринов

Не вполне ясным остается вопрос об источниках этаноламина и холина для образования этих соединений. Одно из возможных объяснений связано с наличием в клетках фермента, декарбоксилирующего фосфатидилсерин:

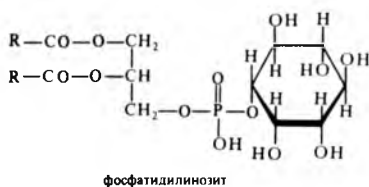
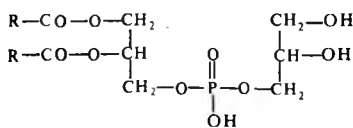


Эта реакция вместе с обменной реакцией фосфатидилэтанол-амина с серином может образовать цикл, в котором серин превращается в этаноламин:

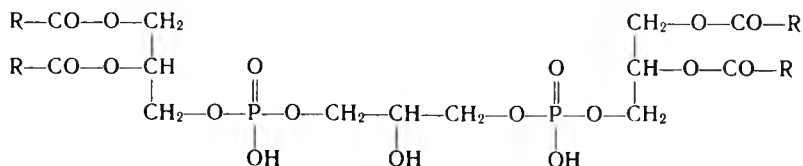


Этаноламин затем используется для синтеза новых молекул фосфатидилэтанол-амина по уже описанному пути (см. рис. 112), а в реакции трансметилирования фосфатидилэтанол-амин превращается в фосфатидилхолин. Однако возможно, что основным источником этаноламина и холина служит пища, особенно животного происхождения, поскольку эти вещества содержатся в значительных количествах в составе фосфолипидов клеточных мембран.

Фосфатидилглицерины и фосфатидилинозиты. Эти соединения по строению сходны с фосфолипидами, описанными выше, но вместо азотсодержащей группы имеют в своем составе остаток глицерина или инозита: последний представляет собой циклический шестиатомный спирт:



Во внутренней мембране митохондрий в значительных количествах (до 20% от всех фосфолипидов) содержатся дифосфатидилглицерины, или кардиолипины. Эти соединения имеют следующую структуру:



При гидролизе всех эфирных связей кардиолипина получают 4 моль жирной кислоты, 3 моль глицерина и 2 моль фосфорной кислоты. Кардиолипины образуются в результате взаимодействия двух молекул фосфатидилглицерина. Фосфатидилинозиты также содержатся в мембранах, но в небольших количествах.

Глава XI

ОБМЕН И ФУНКЦИИ АМИНОКИСЛОТ

Значение аминокислот для организма определяется прежде всего тем, что они используются для синтеза белков и пептидов. Кроме того, из аминокислот образуется большое количество веществ непептидной природы, выполняющих специальные функции. К ним относятся холин, таурин, амины, гем, тироксин и много других. Катаболизм аминокислот может служить источником энергии для синтеза АТФ. При обычном питании энергетическая роль аминокислот невелика, однако может быть существенной при преимущественно белковом питании, а также при голодании.

Фонд свободных аминокислот организма составляет около 30 г. Содержание аминокислот в крови равно 35—65 мг/дл. Подавляющая часть аминокислот организма входит в состав белков: в организме взрослого человека содержится около 15 кг белков.

Источниками свободных аминокислот организма служат пищевые белки, белки собственных тканей, а также синтез аминокислот из углеводов.

В организме человека ежедневно распадается на аминокислоты около 400 г белков. Однако столько же белков и синтезируется за сутки. Следовательно, тканевые белки не могут восполнять необратимые затраты аминокислот, которые происходят при их катаболизме или использовании для синтеза веществ неаминокислотной природы. Точно так же не могут служить первичным источником аминокислот и углеводы, поскольку из них образуется лишь углеродная часть аминокислот, а аминокислотные группы поставляются другими аминокислотами. К тому же почти

половина аминокислот — это незаменимые пищевые факторы, углеродная часть которых в организме человека не синтезируется. Таким образом первичным и главным источником аминокислот служат белки пищи.

АЗОТИСТЫЙ БАЛАНС

На долю аминокислот (в составе белков и свободных) приходится более 95% всего азота организма. Поэтому об общем состоянии аминокислотного и белкового обмена можно судить по *азотистому балансу*, т. е. разнице между количеством азота, поступающего с пищей, и количеством выделяемого азота (главным образом в составе мочевины). У взрослого здорового человека при нормальном питании имеет место *азотистое равновесие*, т. е. количество выделяемого азота равно количеству поступающего. В период роста организма, а также при выздоровлении после истощающих заболеваний выводится азота меньше, чем поступает, — *положительный азотистый баланс*. При старении, голодании и в течение истощающих заболеваний азота выводится больше, чем поступает, — *отрицательный азотистый баланс*.

При положительном азотистом балансе часть аминокислот пищи задерживается в организме, включаясь в состав белков и клеточных структур; общая масса белков в организме увеличивается. Наоборот, при отрицательном азотистом балансе общая масса белков уменьшается (*катаболические состояния*).

Если из диеты исключить все белки, но полностью сохранить другие компоненты в количествах, обеспечивающих энергетические потребности организма, то азотистый баланс становится отрицательным. Примерно через неделю пребывания на такой диете количество выводимого азота стабилизируется, достигая величины около 4 г за сутки. Такое количество азота соответствует 25 г белка (или аминокислот). Следовательно, при белковом голодании организм ежедневно расходует около 25 г белков собственных тканей. Практически такой же результат получается при исключении из диеты не всех белков, а только незаменимых аминокислот или даже только одной из незаменимых аминокислот.

При полном голодании отрицательный азотистый баланс еще больше, чем при исключении из пищи только белков. Это обусловлено тем, что аминокислоты, образующиеся при распаде тканевых белков, при полном голодании используются также и для обеспечения энергетических потребностей организма.

В рационе, достаточном по калорийности, минимальное количество белков, необходимое для поддержания азотистого равновесия, составляет 30—50 г. Однако это количество не обеспечивает оптимума для здоровья и работоспособности. Взрослый человек при средней физической нагрузке должен получать около 100 г белков в сутки.

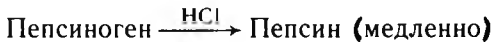
ПЕРЕВАРИВАНИЕ БЕЛКОВ

В желудочно-кишечном тракте пищевые белки распадаются на аминокислоты при участии пищеварительных протеолитических ферментов — *пептидгидролаз*. Это группа ферментов, различающихся по субстратной специфичности: каждый из этих ферментов предпочтительно (т. е. с наибольшей скоростью) гидролизует пептидные связи, образованные определенными аминокислотами. В результате совместного действия всех пищеварительных пептидгидролаз белки пищи полностью распадаются на аминокислоты. Таким путем организм получает мономеры для синтеза собственных белков.

Переваривание белков в желудке

В желудке переваривание белков происходит при действии протеолитического фермента пепсина; существенную роль в этом процессе играет соляная кислота желудочного сока. Соляная кислота образуется в обкладочных клетках желудочных желез и секретуруется в полость желудка, где ее концентрация достигает 0,16 М (около 0,5%). За счет этого желудочный сок имеет низкое значение рН, в пределах 1—2.

В главных (пепсиновых) клетках желудочных желез образуется белок пепсиноген — предшественник (профермент) пепсина. В желудочном соке от пепсиногена отщепляется N-концевая часть молекулы, включающая 42 аминокислотных остатка (18% всего числа аминокислотных остатков молекулы пепсиногена). В результате отщепления части молекулы и конформационных перестроек оставшейся части образуется активный центр — получается фермент пепсин. Превращение пепсиногена в пепсин может происходить при действии соляной кислоты или самого пепсина, т. е. аутокаталитически:



Реакция с участием соляной кислоты протекает медленно, в то время как аутокаталитический процесс очень быстрый. Таким образом, небольшое количество пепсина, образовавшегося при участии соляной кислоты вскоре после секреции желудочного сока, быстро приводит к превращению остальной части пепсиногена в пепсин.

Пепсин гидролизует пептидные связи, удаленные от концов пептидной цепи; такие пептидгидролазы называют *эндопептидазами*. Поэтому в результате действия пепсина белки в желудке распадаются на полипептиды; свободные аминокислоты практи-

чески не образуются. Наибольшую активность пепсин проявляет при рН 1—2,5.

Соляная кислота, помимо активации пепсиногена, выполняет и другие важные функции. В кислой среде желудочного сока большинство белков денатурируется, что облегчает их последующее переваривание пепсином. Конечно, если употребляется пища, обработанная при высокой температуре (например, вареное мясо), эта роль соляной кислоты не имеет значения. Кроме того, кислый желудочный сок, обладая бактерицидным действием, создает барьер для попадания болезнетворных бактерий в кишечник.

В желудочном соке детей грудного возраста имеется фермент *реннин*, створаживающий молоко: реннин в присутствии ионов Ca^{2+} превращает растворенные казеины молока в нерастворимую форму, что и составляет сущность створаживания. Как известно, жидкости не удерживаются долго в желудке. Физиологическое значение створаживания молока заключается в том, чтобы задержать его в желудке на время, необходимое для переваривания белков. В желудке взрослых людей реннина нет: молоко у них створаживается в результате совместного действия кислой среды и пепсина.

√ При многих заболеваниях желудочно-кишечного тракта, а также и других систем нарушается секреция соляной кислоты и пепсиногена в желудке. Изменения кислотности желудочного сока и содержания пепсина происходят не обязательно параллельно. Чаще увеличивается или уменьшается содержание соляной кислоты; с другой стороны, нарушение секреции пепсина свидетельствует о более тяжелом повреждении желудка; если нет секреции пепсина, то, как правило, нет секреции и соляной кислоты.

Измерение концентрации соляной кислоты и пепсина в желудочном соке используется для диагностики некоторых заболеваний желудка. При исследовании секреции соляной кислоты сначала откачивают содержимое желудка с помощью зонда, затем подкожно вводят гистамин, который стимулирует секрецию соляной кислоты. После этого вновь откачивают желудочный сок, отбирая пробы каждые 15 мин. Эти пробы титруют раствором щелочи. В норме концентрация соляной кислоты достигает максимума примерно через 1 ч после введения гистамина и составляет около 100 ммоль/л.

√ Высокая кислотность часто бывает при язве желудка и двенадцатиперстной кишки. Низкая кислотность редко позволяет поставить определенный диагноз. Полное отсутствие кислоты обычно наблюдается при атрофических гастритах; в этих случаях, как правило, отсутствует и пепсин, т. е., точнее говоря, не происходит образования желудочного сока (*ахилия*). Частым следствием ахилии является злокачественная анемия, поскольку при этом отсутствует внутренний фактор Касла, необходимый для всасывания витамина B_{12} , и наступает гиповитаминоз.

Переваривание белков в кишечнике

Переваривание белков завершается в верхнем отделе тонкого кишечника под действием ферментов поджелудочной железы и клеток кишечника.

В клетках поджелудочной железы синтезируются проферменты трипсиноген, химоотрипсиноген, прокарбокисептидазы А и В, проэластаза. Активация трипсиногена происходит при участии фермента энтеропептидазы, выделяемого клетками кишечника. Энтеропептидаза — это тоже протеолитический фермент: он отщепляет N-концевой гексапептид трипсиногена, в результате чего происходит изменение конформации оставшейся части молекулы и формируется активный центр — получается фермент трипсин. Все другие проферменты поджелудочной железы активируются трипсином также путем частичного избирательного протеолиза; в результате получают ферменты химоотрипсин, карбокисептидазы А и В, эластаза.

Трипсин, химоотрипсин и эластаза, подобно пепсину, относятся к эндопептидазам. Они различаются по субстратной специфичности; в табл. 39 указаны пептидные связи, которые расщепляются главными пищеварительными эндопептидазами с максимальной скоростью (при этом расщепляются и другие связи, но с меньшей скоростью). Основную часть продуктов действия этих ферментов составляют пептиды, но образуется также и некоторое количество аминокислот.

Карбокисептидазы — это экзопептидазы: они гидролизуют пептидную связь, образованную С-концевым аминокислотным остатком. Карбокисептидаза А отщепляет преимущественно С-концевые аминокислоты с гидрофобным радикалом, а карбокисептидаза В отщепляет С-концевые остатки лизина и аргинина. Механизм действия карбокисептидазы А описан в гл. II.

Кислое желудочное содержимое в двенадцатиперстной кишке нейтрализуется соком поджелудочной железы, имеющим слабощелочную реакцию. Содержимое верхнего отдела тонкой кишки имеет рН около 8; соответственно в этой же области рН находится оптимум активности ферментов, действующих в кишечнике.

Последний этап переваривания происходит при участии ферментов, синтезируемых клетками кишечника, — **аминопептидаз** и **дипептидаз**. Аминопептидазы отщепляют N-концевые аминокислоты от пептидов, дипептидазы гидролизуют дипептиды. Эти фер-

Таблица 39. Связи, предпочтительно расщепляемые эндопептидазами
(X — любая аминокислота)

Пепсин	Химоотрипсин	Трипсин
—Leu—Glu—	—Try—X—	—Arg—X—
—X—Phe—	—Phe—X—	—Lys—X—
—X—Try—	—Try—X—	

менты в небольших количествах выделяются в просвет кишечника. Однако преобладающая часть дипептидов и олигопептидов расщепляется после их поступления в клетки кишечника. В кровоток из клеток кишечника поступают только аминокислоты.

Последовательное действие всего набора пищеварительных пептидгидролаз обеспечивает полное расщепление белков до аминокислот. Частичное переваривание белков в желудке хотя и облегчает последующее переваривание в тонком кишечнике, но не является абсолютно обязательным, о чем свидетельствует отсутствие существенных нарушений усвоения белков после тотальной резекции желудка.

Клетки желудка и кишечника защищены от действия пищеварительных пептидгидролаз благодаря образованию в клетках желез неактивных предшественников ферментов, активирующихся лишь после секреции; кроме того, находясь в полости желудка или кишечника, ферменты не контактируют с белками клеток, поскольку слизистая оболочка защищена слоем слизи, а каждая клетка — полисахаридами наружной поверхности плазматической мембраны, которые не являются субстратами пептидгидролаз. Однако при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки происходит разрушение клеток протеиназами в области язвы. Механизмы начальных стадий образования язвы неизвестны.

РАСПАД ТКАНЕВЫХ БЕЛКОВ

Основные причины распада тканевых белков заключаются в следующем.

1. Старение клеток или их повреждение внешними факторами (токсические вещества, излучения). Состарившиеся и поврежденные клетки фагоцитируются, и все их компоненты, включая белки, деполимеризуются в лизосомах.

2. Денатурация белков, которая происходит непрерывно с определенной скоростью. Денатурированные белки — более доступные субстраты для протеолитических ферментов.

3. Частичный протеолиз белков в ходе посттрансляционной достройки. При превращении проферментов и предшественников других белков в функционально-активные белки отщепляемая часть пептидной цепи гидролизуеться до аминокислот.

4. Переваривание белков пищеварительных соков. Со всеми пищеварительными секретами у человека за сутки выделяется в кишечник около 50 г белков, в основном ферментов. Все эти белки тоже перевариваются, а аминокислоты всасываются.

5. Регуляция концентрации белков путем индукции и репрессии. Этот механизм регуляции немислим без его дополнения механизмом разрушения соответствующих белков (ферментов, гормонов и др.) в условиях, когда необходимость в них отпала.

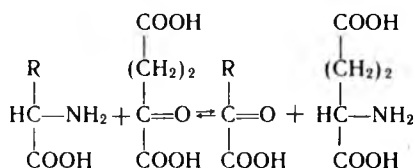
Уже упоминалось, что за сутки распадается около 400 г

тканевых белков, однако скорость обновления разных белков неодинакова (см. гл. IV).

Клетки разных органов содержат большое количество протеолитических ферментов, которые и обеспечивают внутриклеточный гидролиз белков. Основная часть белков распадается после их включения в лизосомы при действии внутрилизосомных пептидгидролаз.

ТРАНСАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

Трансаминирование — это реакция обмена аминогруппы и кетогруппы между α -аминокислотой и α -кетокислотой (см. гл. II). В организме человека имеется свыше десятка аминотрансфераз, различающихся по субстратной специфичности. В результате их действия почти все аминокислоты могут обмениваться аминогруппами. Исключение составляют лизин и треонин, которые не участвуют в реакциях трансаминирования. Во многих реакциях трансаминирования акцептором аминогрупп служит α -кетоглутаровая кислота:



Реакции трансаминирования обратимы; константа равновесия близка к 1. Направление превращения зависит от скорости поступления субстратов в клетку или скорости удаления продуктов реакции. Таким образом, трансаминирование может обеспечить образование тех аминокислот, содержание которых в пище недостаточно, за счет имеющихся в избытке.

Замещение кетогруппы в α -кетокислоте на аминогруппу обычно представляет собой конечную стадию синтеза аминокислоты. Наоборот, замещение аминогруппы в аминокислоте на кетогруппу — первая стадия катаболизма аминокислоты. Следовательно, трансаминирование может служить как для синтеза, так и для катаболизма аминокислот.

Аминотрансферазы содержатся практически во всех органах, но наиболее активно реакции трансаминирования протекают в печени. Функциональное значение трансаминирования в разных органах различно. Например, работающая мышца выделяет в кровь наряду с молочной кислотой значительные количества аланина. Аланин образуется в мышце из пировиноградной кислоты путем трансаминирования. Из кровотока аланин поглощается печенью, где в результате трансаминирования вновь превращается в пируват, а пируват используется для глюконеогенеза (глюкозо-аланиновый цикл, см. рис. 94). Этим путем осуществляется перенос из мышц в печень не только пирувата,

но и азота; в печени за счет аминогруппы аминокислот образуется мочеви́на, которая выводится из организма.

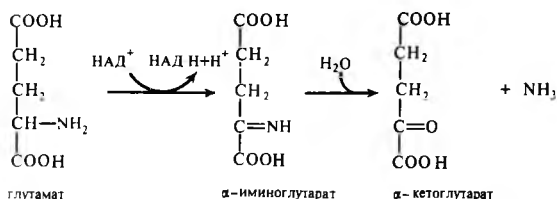
Одна и та же реакция трансаминирования может протекать в противоположных направлениях в разных отсеках одной клетки. Например, реакция трансаминирования, катализируемая глутамат-оксалоацетат-аминотрансферазой и составляющая часть малат-аспартатного челночного механизма, протекает в противоположных направлениях в матриксе митохондрий и в цитозоле (см. рис. 91).

ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

При дезаминировании аминокислот аминогруппа отщепляется в форме аммиака с образованием безазотистого остатка аминокислоты (обычно α -кетокислоты). В результате реакций трансаминирования общее количество аминокислот в организме не изменяется, поскольку в каждой реакции одна аминокислота превращается в безазотистый остаток (α -кетокислоту), а один безазотистый остаток — в новую аминокислоту. Напротив, дезаминирование ведет к уменьшению общего количества аминокислот, так как аминогруппа не используется для образования новой аминокислоты, а превращается в аммиак.

Глутаматдегидрогеназа

С наибольшей скоростью дезаминируется глутаминовая кислота; дезаминирование сопровождается окислением (окислительное дезаминирование). Коферментом глутаматдегидрогеназы служит НАД. Окислительное дезаминирование глутамата представляется следующим образом:



Дегидрирование глутамата катализируется ферментом, а превращение α -иминоглутарата в α -кетоглутарат и аммиак происходит неферментативно.

Окислительное дезаминирование глутамата — обратимая реакция и в какой-то мере может протекать в некоторых органах в сторону синтеза глутамата. Однако в среднем в организме преобладает направление в сторону образования аммиака.

Непрямое дезаминирование аминокислот

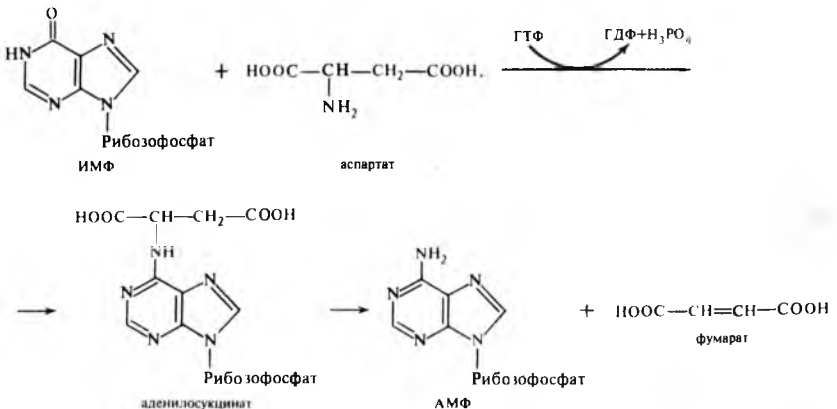
В отличие от глутаминовой кислоты аминогруппа других аминокислот превращается в аммиак непрямым путем, в результате последовательного действия аминотрансфераз и глутаматдегидрогеназы. При этом сначала происходит трансаминирование аминокислоты с α -кетоглутаратом и образуется глутаминовая кислота, которая затем дезаминируется α -кетоглутаратдегидрогеназой:

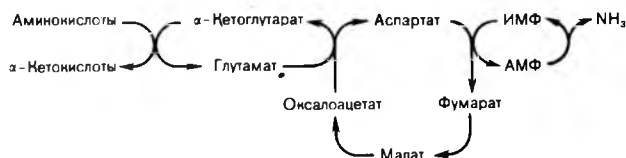


В результате циклических превращений α -кетоглутарата и глутамата аминокислоты перерабатываются в кетокислоты и аммиак. Поскольку все реакции этого цикла обратимы, в целом непрямое дезаминирование тоже обратимо, но в общем балансе организма преобладает распад аминокислот. Наиболее активно непрямое дезаминирование с участием глутаматдегидрогеназы происходит в печени.

Другой путь непрямого дезаминирования аминокислот включает перенос их аминогруппы сначала на аспартат, затем на инозиновую кислоту (ИМФ) с образованием АМФ и наконец дезаминирование АМФ (рис. 117).

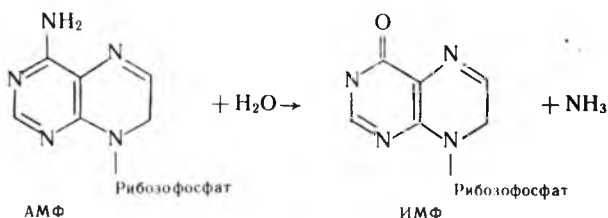
В реакции переноса аминогруппы на ИМФ аспартат превращается в фумарат:





Деаминация аминокислот с участием цикла ИМФ—АМФ

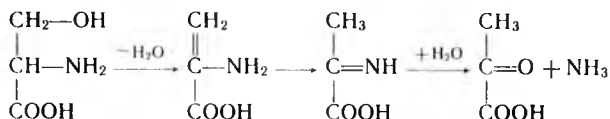
АМФ деаминаруется гидролитическим путем, вновь превращаясь в ИМФ



Этот сложный путь деаминации аминокислот особенно активно протекает в мышечной ткани, которая содержит мало глутаматдегидрогеназы, а также в мозге.

Деаминация гистидина, серина и треонина

Гистидин и серин могут деаминироваться непрямым путем, но для каждой из этих аминокислот есть еще и другая возможность. Деаминация гистидина при действии гистидазы описано в гл. II. Деаминация серина и треонина катализируется серин-треонин-дегидратазой. Реакция для серина представляется следующим образом:

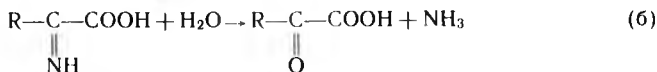
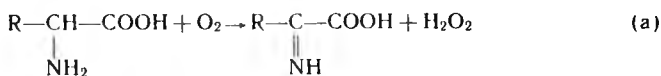


Лишь первая стадия (дегидратация) катализируется ферментом; две другие не нуждаются в катализаторе.

Деаминация треонина происходит аналогично. Напомним, что треонин не участвует в реакциях трансаминирования, а значит, не может деаминироваться непрямым путем.

Оксидазы аминокислот

В печени и почках имеется оксидаза *L*-аминокислот, катализирующая окислительное деаминирование многих аминокислот (реакция б проходит без участия фермента):



Коферментом оксидазы *L*-аминокислот является ФМН, выполняющий роль переносчика водорода с аминокислоты на кислород. Этот фермент наиболее активен при pH 10; скорость реакции *in vivo*, по-видимому, невелика, поскольку реакция среды в клетках близка к нейтральной.

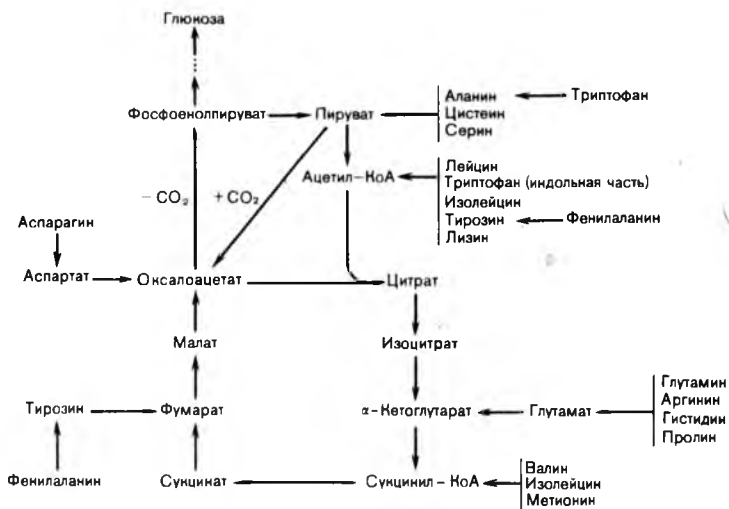
Другая оксидаза аминокислот, тоже содержащаяся в печени и почках, дезаминирует лишь *D*-изомеры аминокислот. Поскольку *D*-аминокислот в организме человека практически нет, значение этого фермента остается неясным.

КАТАБОЛИЗМ АМИНОКИСЛОТ И ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ ИЗ АМИНОКИСЛОТ

Взрослый человек ежедневно потребляет около 100 г аминокислот, поступающих с белками пищи. При азотистом равновесии такое же количество аминокислот распадается до конечных продуктов, выделяющихся из организма. Азот аминокислот превращается в мочевины — конечный продукт обмена азота. При этом половина выводимого азота проходит стадию превращения в аммиак, а другая половина включается в мочевины непосредственно из аминогрупп, не превращаясь в аммиак. И в том, и в другом случае аминокислоты образуют безазотистые остатки, главным образом α -кетокислоты.

Безазотистые остатки большинства аминокислот при катаболизме проходят стадию образования пировиноградной кислоты (рис. 118). При этом некоторые аминокислоты превращаются в пируват непосредственно (аланин, цистеин, серин). Другие аминокислоты проходят более длинный метаболический путь к пирувату: вначале они превращаются в промежуточные продукты цитратного цикла, а затем углерод аминокислот покидает цитратный цикл в составе оксалоацетата, который превращается в фосфоенолпируват, а затем в пируват. После окислительного декарбоксилирования пирувата оставшиеся углеродные атомы аминокислот (т. е. ацетильный остаток ацетил-КоА) вновь попадают в цитратный цикл, где и окисляются до CO_2 .

Предшественниками глюкозы при глюконеогенезе являются пируват, оксалоацетат и фосфоенолпируват. Поэтому аминокислоты, которые превращаются в эти соединения, могут быть использованы для синтеза глюкозы (глюконеогенез из аминокислот); такие аминокислоты называют *гликогенными*. Глюконеогенез с участием аминокислот происходит особенно активно при преимущественно белковом питании, а также при голодании. В по-



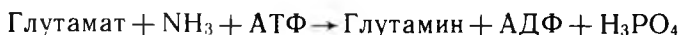
Введение аминокислот в общий путь катаболизма и глюконеогенез

следнем случае используются аминокислоты собственных белков тканей. Катаболизм лейцина и лизина не включает стадии образования пирувиноградной кислоты; углеродная часть превращается непосредственно в ацетоуксусную кислоту и ацетил-КоА, из которых синтез углеводов невозможен: это *кетогенные аминокислоты*. Тирозин, фенилаланин, изолейцин и триптофан являются одновременно и гликогенными, и кетогенными: часть углеродных атомов их молекул при катаболизме образует пируват, другая часть включается в ацетил-КоА, минуя стадию пирувата.

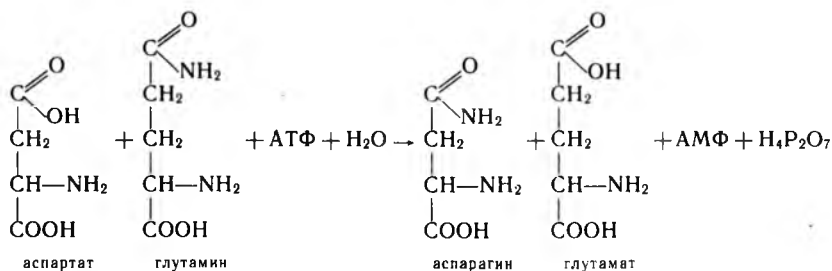
СИНТЕЗ АМИНОКИСЛОТ

Любая из заменимых аминокислот может синтезироваться в организме в необходимых количествах. При этом углеродная часть аминокислоты образуется из глюкозы, а аминогруппа вводится из других аминокислот путем трансаминирования.

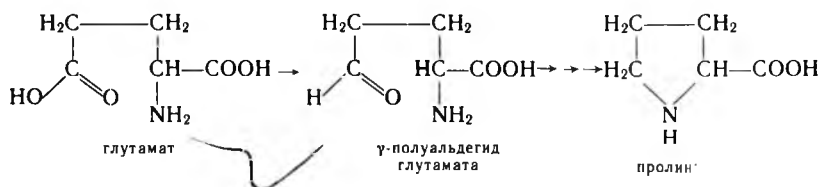
Аланин, аспарат, глутамат образуются из пирувата, оксалоацетата и α -кетоглутарата соответственно. Глутамин образуется из глутаминовой кислоты при действии глутаминсинтетазы:



Аспарагин синтезируется из аспарагиновой кислоты и глутамина, который служит донором амидной группы; реакцию катализирует аспарагинсинтетаза:



Пролин образуется из глутаминовой кислоты:



Гистидин (частично заменимая аминокислота) синтезируется из АТФ и рибозы: пуриновая часть АТФ поставляет фрагмент —N=CH—NH— для имидазольного цикла гистидина; остальная часть молекулы образуется за счет рибозы. Синтез других заменимых аминокислот описан в последующих разделах этой главы.

Незаменимые аминокислоты, за исключением лизина и треонина, участвуют в реакциях трансаминирования. Следовательно, при наличии соответствующих α-кетокислот они тоже могли бы синтезироваться в организме (кроме лизина и треонина). Незаменимы собственно α-кетокислоты, соответствующие незаменимым аминокислотам. Однако пища человека не содержит сколько-нибудь заметных количеств таких кетокислот, и их единственным источником служат незаменимые аминокислоты пищи. Из этого следует, что трансаминирование незаменимых аминокислот служит этапом только их катаболизма, а не синтеза в отличие от заменимых аминокислот, для которых трансаминирование может быть начальной стадией катаболизма или конечной стадией синтеза.

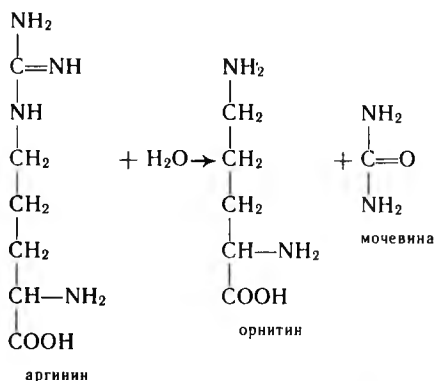
БИОСИНТЕЗ МОЧЕВИНЫ

√ Мочевина — главный конечный продукт обмена азота в организме: азот мочевины составляет около 90% всего выводимого азота. Количество выделяемой мочевины зависит от количества аминокислот (белков), поступающих с пищей. Если в суточном рационе содержится 80—100 г белков, то за сутки образуется и выводится с мочой 25—30 г мочевины. √ Синтез мочевины происходит в печени. Это было установлено в лаборатории И. П. Павлова в опытах по выключению печени из общего кровотока. Оказалось, что в этих условиях в крови и моче снижается

концентрация мочевины и повышается концентрация аминокислот. Позднее роль печени в образовании мочевины была подтверждена и другими методами. Нарушение синтеза и выведения мочевины ведет к повышению концентрации аммиака в тканях и крови, что в свою очередь вызывает ряд других нарушений обмена веществ и физиологических функций.

Мочевина представляет собой довольно простое соединение — полный амид угольной кислоты $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}_2$. Однако синтез этого вещества в печени происходит в несколько стадий, образующих циклический процесс.

В 1903 г. немецкий биохимик Коссель открыл фермент *аргиназу*, катализирующий гидролиз аргинина с образованием орнитина и мочевины:

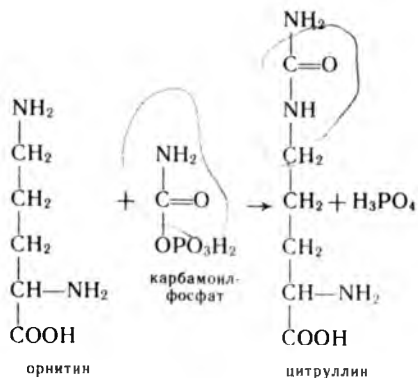


Тогда же было высказано предположение, что эта реакция может быть конечной стадией синтеза мочевины в печени. Спустя 30 лет Кребс и Гензелейт в опытах на срезах печени обнаружили, что синтез мочевины ускоряется при добавлении в инкубационную среду орнитина. На этом основании они предположили существование циклического процесса, в котором орнитин, получающийся при распаде аргинина, затем вновь превращается в аргинин (орнитиновый цикл, цикл Кребса — Гензелейта). В последующие десятилетия были раскрыты остальные реакции цикла.

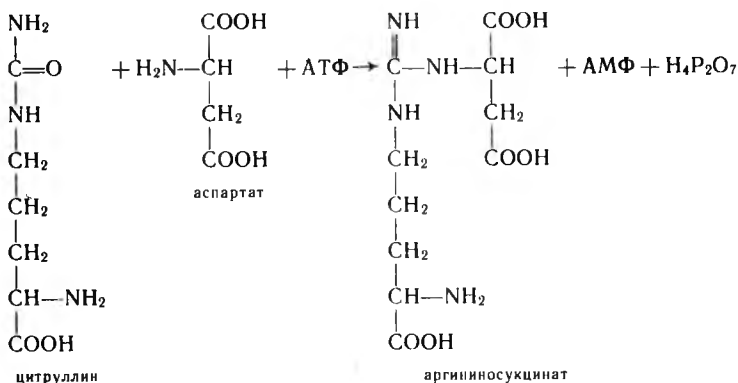
Один из двух атомов азота мочевины включается в нее за счет использования аммиака. При действии карбамоилфосфатсинтетазы I образуется карбамоилфосфат:



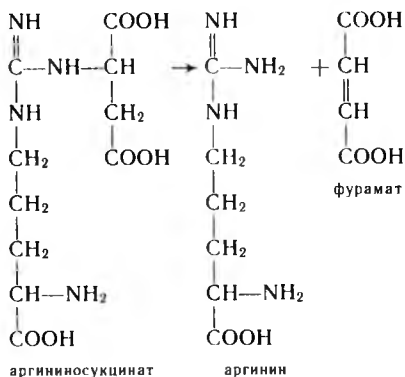
Карбамоильная группа далее переносится на орнитин с образованием цитруллина; реакцию катализирует орнитин-карбамоилтрансфераза:



Затем цитруллин реагирует с аспарагиновой кислотой, превращаясь в аргининоянтранную кислоту при действии аргинино-сукцинатсинтетазы:



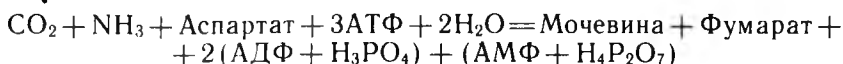
Аргининоянтранная кислота при участии аргининосукциназы распадается на аргинин и фумаровую кислоту:



Далее аргинин гидролизруется аргиназой с образованием мочевины.

Реакции орнитинового цикла до стадии образования цитруллина происходят в митохондриях, а последующие стадии — в цитозоле.

√ Суммарное уравнение синтеза мочевины:



На 1 моль синтезирующейся мочевины расходуется 3 моль АТФ. Эта затрата АТФ компенсируется тем, что образование аммиака происходит в глутаматдегидрогеназной реакции, где восстанавливается 1 моль НАД⁺ (в расчете на 1 моль аммиака); последующий перенос водорода с НАД в дыхательной цепи обеспечивает синтез АТФ (до 3 моль).

Из уравнения видно, что один атом азота мочевины образуется за счет аммиака, а другой — за счет аминогруппы аспарагиновой кислоты. На рис. 119 представлен путь азота аминокислот в мочевины. Фумарат, образующийся в орнитиновом цикле, превращается в оксалоацетат, а последний в аспарат в результате трансминирования. Таким путем аминогруппа любой аминокислоты (за исключением лизина и треонина) может включиться в мочевины. Если ввести в организм какую-либо меченую по азоту аминокислоту (¹⁵N-аминокислоту), то метка (изотоп ¹⁵N) очень скоро обнаруживается во всех аминокислотах, а также и в мочевины. Особенно активно метка включается в глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту, аланин и мочевины. Этот опыт указывает на постоянный обмен аминогруппами между разными аминокислотами и на постоянный поток азота аминокислот в мочевины.

Значительная часть азота аминокислот переносится в печень из других органов в составе аланина, который образуется из пирувата путем трансминирования. Особенно много аланина содержится в крови, оттекающей от мышц и от кишечника. Образование аланина в мышцах и его перенос в печень составляют



Путь азота при катаболизме аминокислот

Таблица 40. Содержание аминокислот в плазме крови человека

Аминокислота	Содержание, мг/дл	Аминокислота	Содержание, мг/дл
Аланин	2,5—7,5	Лизин	1,4—5,8
Аргинин	1,2—3,0	Метионин	0,2—1,0
Аспарагин	0,5—4,4	Фенилаланин	0,7—4,0
Аспарагиновая кислота	0,01—0,3	Пролин	1,5—5,7
Глутаминовая кислота	0,4—4,4	Серин	0,3—2,0
Глутамин	4,5—10	Треонин	0,9—3,6
Глицин	0,8—5,4	Триптофан	0,4—3,0
Гистидин	0,8—3,8	Тирозин	0,8—2,5
Изолейцин	0,7—4,2	Валин	1,9—4,2
Лейцин	1,0—5,2	Цистин	0,8—5,0

часть глюкозо-аланинового цикла. В мышцах образуется в больших количествах и выделяется в кровь еще одна аминокислота — глутамин. Глутамин из крови улавливается главным образом клетками кишечника, где используется для синтеза аланина, который затем транспортируется в печень. Концентрация аланина и глутамина в крови существенно превышает концентрацию любой другой аминокислоты (табл. 40). Это указывает на их важную роль в переносе азота аминокислот. Отметим, что в таблице приведены концентрации аминокислот в артериальной крови. В разных частях кровеносного русла концентрации могут заметно различаться. В частности, образование аланина и глутамина в мышцах, образование аланина и поглощение глутамина клетками кишечника, поглощение аланина печенью установлено по артерио-венозной разнице концентраций этих аминокислот для соответствующих органов.

При рационе, богатом белками, количество ферментов орнитинового цикла в печени увеличивается и соответственно возрастает скорость синтеза мочевины. Иначе говоря, в этих условиях увеличивается катаболизм аминокислот. Следовательно, синтез и выделение мочевины — это один из механизмов, регулирующих азотистый баланс.

ОБМЕН АММИАКА

Главным источником аммиака в организме служит непрямое дезаминирование аминокислот с участием глутаматдегидрогеназы, а также дезаминирования в более сложном пути, включающем циклические превращения АМФ — ИМФ. В тканях аммиак находится преимущественно в виде иона аммония NH_4^+ в равновесии с небольшой концентрацией неонизированного аммиака NH_3 . Концентрация аммиака в жидкостях и тканях человека очень невелика; в крови обнаруживается 25—40 мкмоль/л (0,4—0,7 мг/л). При более высоких концентрациях аммиак оказывает токсическое действие. Введение в кровь 50 мг аммиака (в форме соли аммония) убивает кролика.

Обезвреживание аммиака

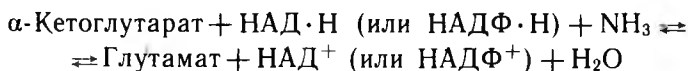
Концентрация аммиака в тканях здорового человека поддерживается на низком уровне с помощью механизмов, обеспечивающих его связывание (обезвреживание).

В печени аммиак обезвреживается в результате действия карбамоилфосфатсинтетазы I: за счет аммиака образуется аминокетогруппа карбамоилфосфата, которая в конечном счете включается в мочевины и выводится из организма.

Главная реакция обезвреживания аммиака — это синтез глутамина при участии глутаминсинтетазы. Синтез глутамина происходит во многих органах и тканях, но особенно активно в мышцах, мозге, печени. Основная часть глутамина из разных органов попадает в кровь и поглощается клетками кишечника. В крови, оттекающей от кишечника, содержится большое количество аланина. По-видимому, в клетках кишечника за счет глутамина образуется аланин (пути этого превращения неизвестны). Аланин из крови воротной вены улавливается печенью и используется для глюконеогенеза; при этом аминокетогруппа аланина включается в мочевины через цепь реакций, представленных на рис. 119.

Обезвреживание аммиака путем синтеза глутамина имеет и анаболическое значение, поскольку глутамин используется для синтеза ряда соединений. Прежде всего нужно отметить, что глутамин — одна из 20 аминокислот, входящих в белки. Кроме того, амидная группа глутамина используется для синтеза аспарагина, глюкозамина и других аминсахаров, пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Таким образом, в этих реакциях азот аммиака включается в разнообразные структурно-функциональные компоненты клетки.

Еще одним механизмом связывания аммиака может быть восстановительное аминирование α -кетоглутаровой кислоты глутаматдегидрогеназой, т. е. реакция, обратная окислительному дезаминированию глутаминовой кислоты:



Вклад этой реакции в обезвреживание аммиака неизвестен, но, по-видимому, он невелик. В общем балансе обмена азота в организме преобладает поток азота от разных аминокислот через глутаминовую кислоту в аммиак, а не наоборот. Однако не исключено, что в некоторых органах может происходить восстановительное аминирование α -кетоглутарата.

Образование аммиака в почках

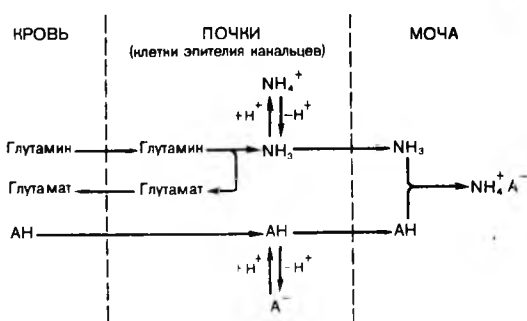
Экскреция аммиака с мочой в норме невелика — около 0,5 г в сутки. Но она в несколько раз повышается при ацидозе, т. е. при увеличении содержания кислот в организме. Аммиак в поч-

ках образуется главным образом за счет амидной группы глутамин. Глутамин гидролизуется активируемой фосфатом глутаминой, имеющейся в клетках эпителия канальцев почки. Часть аммиака (примерно 30%) образуется другим путем — в результате непрямого деаминации аминокислот.

Ацидоз стимулирует синтез глутамины в почках, а также погло-

щение глутамин клетками почек; образующийся аммиак нейтрализует кислоты: $\text{NH}_3 + \text{H}^+ \rightarrow \text{NH}_4^+$. Неионизированные аммиак и кислоты в клетках находятся в равновесии с их ионизированными формами. Через клеточные мембраны проникают преимущественно неионизированные аммиак и кислоты, и в просвете почечного канальца (т. е. уже в моче) аммиак акцептирует протон кислоты, образуя аммонийную соль, которая выводится из организма (рис. 120). Экскреция аммиака почками служит для выведения именно кислот, а не азота, на что указывает значительная скорость экскреции при ацидозе, малая — при нормальной кислотности межклеточной жидкости и крови, и отсутствие экскреции аммиака при алкалозе. Одновременно этот процесс обеспечивает сбережение организмом ионов Na^+ , которые в отсутствие ионов аммония выводились бы с анионами кислот. Потеря таких количеств Na^+ , которые необходимы для выведения кислот при ацидозе, могла бы вызвать снижение осмотического давления межклеточной жидкости и крови, а вследствие этого уменьшение объема межклеточной жидкости, т. е. обезвоживание тканей.

Образование и выведение солей аммония — далеко не единственный механизм регуляции кислотно-щелочного и водно-солевого гомеостаза в организме (другие механизмы описаны в гл. XIV и XX). Однако его нарушение может привести и к обезвоживанию организма в результате потери ионов натрия, и к ацидозу. Так бывает, например, при пиелонефрите с поражением той части паренхимы почек, где происходит образование и экскреция солей аммония.



126

Компенсация ацидоза путем увеличения выведения аммиака

Гипераммониемия

Повышение концентрации аммиака в крови может вызывать повторяющуюся рвоту, возбуждение, припадки с потерей сознания и судорогами. При хронической врожденной гипераммониемии

наблюдается отставание умственного развития. Наиболее частая причина гипераммониемии — нарушение функционирования орнитинового цикла, главного пути удаления азота из организма.

В орнитинном цикле участвует пять ферментов; соответственно известно пять типов наследственных болезней, связанных с недостаточностью какого-либо из этих ферментов. Первичное биохимическое следствие дефекта любого фермента — накопление предшественников субстрата поврежденного фермента. При дефекте аргиназы — последнего фермента цикла мочевины — накапливаются аргинин и предшествующие ему метаболиты; при дефекте аргининосукциназы накапливаются аргининоуксусная кислота и предшествующие ей метаболиты и т. д. Недостаточность первого фермента цикла — карбамоилфосфатсинтетазы I — ведет к накоплению аммиака и его предшественников, т. е. аминокислот; из аминокислот накапливаются главным образом глутамин и галамин. Гипераммониемия и вызываемые ею явления — признак, общий для всех пяти типов наследственных нарушений орнитинового цикла и притом наиболее опасный признак.

Активность поврежденного фермента у разных больных может быть снижена в разной степени по сравнению с активностью у здоровых людей, вплоть до нуля. Гипераммониемия и накопление других предшественников тем больше, чем ниже активность дефектного фермента, и, кроме того, они пропорциональны потреблению белковой пищи. Соответственно в разной степени выражены и другие симптомы гипераммониемии — от тяжелых нарушений обмена веществ и функций, которые приводят к летальному исходу вскоре после рождения, до таких, которые проявляются лишь тем, что индивиды не склонны к потреблению мясной и другой богатой белками пищи.

Точный диагноз типа гипераммониемии устанавливают путем определения метаболитов орнитинового цикла в крови или моче, а также путем измерения активности ферментов цикла в биоптате печени. Если гипераммониемия вызвана дефектом не карбамоилфосфатсинтетазы I, а любого другого из четырех ферментов цикла, то в крови повышена концентрация производных пиримидина. Это связано с тем, что карбамоилфосфат, не используемый в этих условиях для синтеза мочевины, переходит в цитозоль и расходуется для синтеза пиримидинов (см. гл. XII).

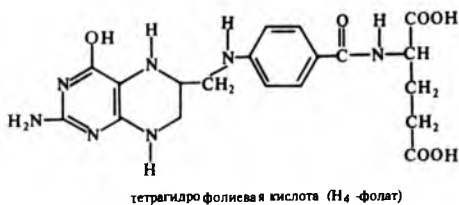
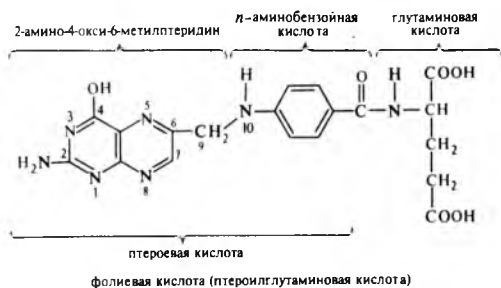
У детей возникает иногда тяжелая гипераммониемия после острых респираторных заболеваний и вирусных инфекций. При этом обнаруживается снижение активности орнитинкарбамоилтрансферазы и карбамоилфосфатсинтетазы I в печени; по-видимому, синтез этих ферментов специфически нарушается вирусом. Мощность орнитинового цикла вследствие этого снижена; в сочетании с усиленным распадом белков, характерным для инфекционных болезней (катаболическое состояние), это ведет к накоплению аммиака.

В норме орнитинный цикл функционирует примерно на 60%

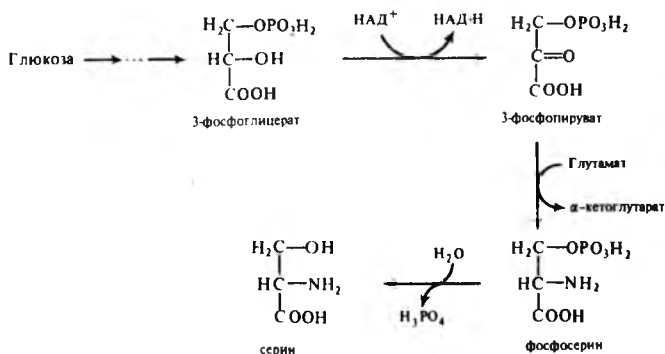
своей полной мощности. Запас мощности необходим для того, чтобы не возникла гипераммониемия при неизбежных колебаниях количеств потребляемого белка. При циррозе печени в результате уменьшения массы паренхимы печени мощность орнитинового цикла снижена. В связи с этим у больных циррозом печени возникновение катаболических состояний (инфекционные болезни, массивные операции) также может приводить к гипераммониемии.

ОБМЕН СЕРИНА И ГЛИЦИНА. ОБРАЗОВАНИЕ ОДНОУГЛЕРОДНЫХ ГРУПП

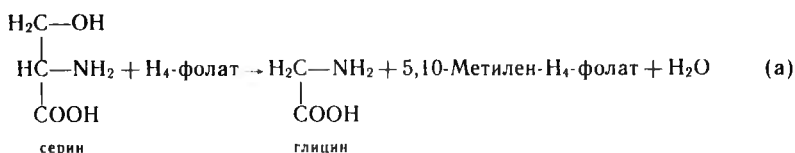
В превращениях серина и глицина ключевую роль играют ферменты, кофактором которых служат производные фолиевой кислоты. Этот витамин широко распространен в пищевых продуктах как животного, так и растительного происхождения (название витамина от лат. *folium* — лист). Коферментные формы фолиевой кислоты получаются после ее восстановления в тетрагидрофолиевую кислоту (Н₄-фолат). Строение фолата и Н₄-фолата приведено ниже:



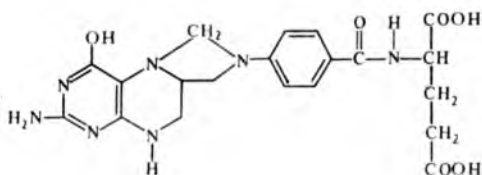
Серин — заменимая аминокислота, углеродная часть которой образуется из глюкозы. Метаболит глюкозы 3-фосфоглицерат дегидрируется, превращаясь в α-кетокислоту (3-фосфопируват). Затем реакции трансминирования и гидролитического отщепления фосфата завершают синтез серина:



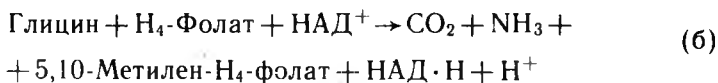
Из серина при действии серин-оксиметилтрансферазы получается глицин. Коферментом в этой реакции служит тетрагидрофолиевая кислота, которая акцептирует одноуглеродный фрагмент серина:



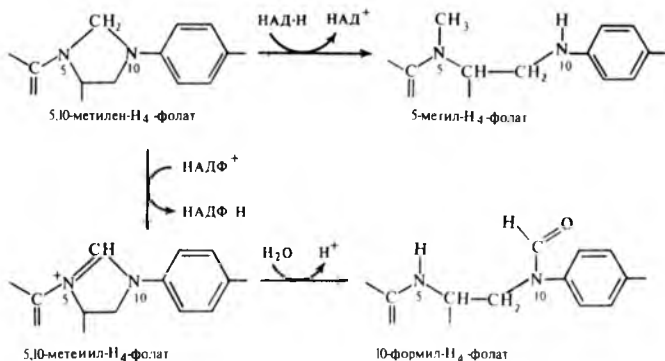
Образующаяся в этой реакции 5,10-метилентетрагидрофолиевая кислота имеет следующее строение:



Распад глицина происходит также с участием H_4 -фолата:



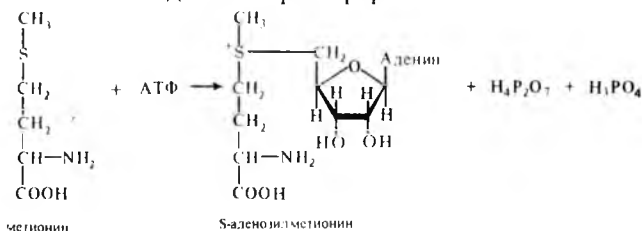
Физиологическое значение этих двух реакций с участием тетрагидрофолиевой кислоты заключается в том, что они служат для синтеза глицина (реакция а), катаболизма глицина (реакция б) и катаболизма серина (обе реакции вместе). Еще более широкое значение имеет то, что в этих реакциях образуется одноуглеродный (метиленовый) фрагмент. Метиленовая группа в молекуле 5,10-метилен- H_4 -фолата может превращаться при действии специальных ферментов в другие одноуглеродные группы;



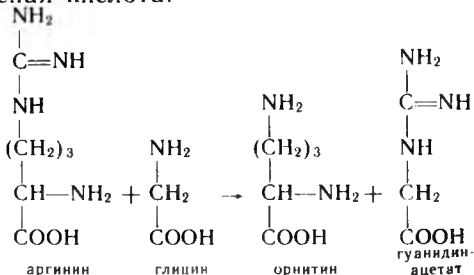
Все эти производные тетрагидрофолиевой кислоты служат донорами одноуглеродных фрагментов при синтезе ряда соединений, в том числе тимидиловой кислоты, пуриновых нуклеотидов, метионина.

МЕТИОНИН И РЕАКЦИИ ТРАНСМЕТИЛИРОВАНИЯ

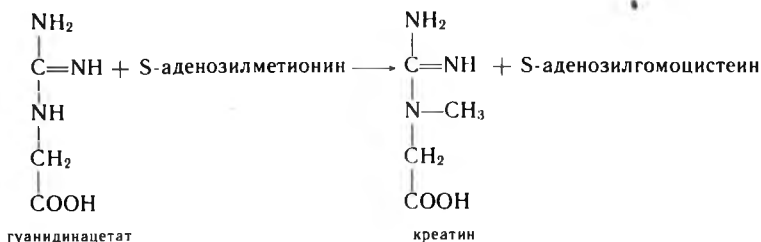
Метильная группа метионина — это тоже мобильный одноуглеродный фрагмент, который используется для метилирования большого числа разных соединений. Непосредственным донором метильной группы в реакциях трансметилирования служит производное метионина S-аденозилметионин, образующийся под действием метионин-аденозилтрансферазы из метионина и АТФ:



В качестве примера реакции трансметилирования укажем на синтез креатина. Это вещество играет важную роль в обеспечении работающей мышцы аденозинтрифосфатом. В синтезе креатина участвуют два органа — почки и печень. В почках образуется гуанидинуксусная кислота:

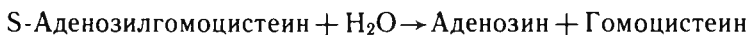


Гуанидинацетат с кровотоком транспортируется в печень, где в реакции трансметилирования превращается в креатин:

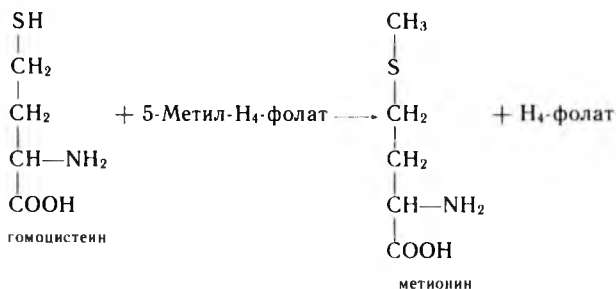


Другие примеры трансметилирования указаны в табл. 41. Одна из важных функций трансметилирования связана с метаболизмом и обезвреживанием чужеродных соединений, в том числе лекарств; эти реакции приводятся в главе о биохимии печени.

Регенерация метионина. В реакциях трансметилирования наряду с метилированным продуктом образуется S-аденозилгомоцистеин. Это вещество при действии специфической гидролазы распадается на аденозин и гомоцистеин:



Гомоцистеин может превращаться вновь в метионин в реакции трансметилирования с 5-метил-Н₄-фолатом:

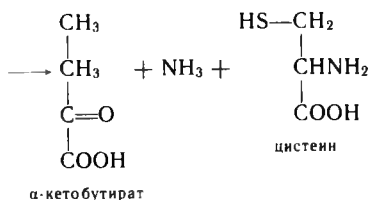
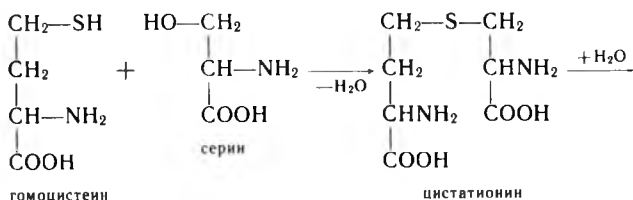


Т а б л и ц а 41. Примеры трансметилирования с использованием метильной группы S-аденозилметионина

Субстрат	Продукт	Субстрат	Продукт
Норадреналин Адреналин Гуанидинацетат Карнозин	Адреналин Метадреналин Креатин Анзерин	N-Ацетил-5-окситриптамин Гистамин Фосфатидилэтаноламин Основания нуклеотидов в нуклеиновых кислотах	Мелатонин N-Метилгистамин Фосфатидилхолин Метилированные основания

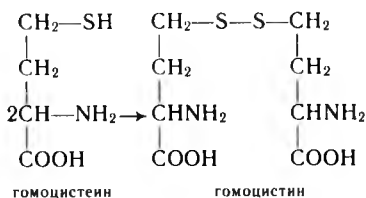
Промежуточным переносчиком метильной группы в этой реакции служит метилкобаламин — производное витамина В₁₂. Метионин — незаменимая для человека аминокислота. Учитывая возможности взаимопревращений метионина и гомоцистеина, в равной мере можно сказать, что незаменимым является и гомоцистеин. Однако единственный источник гомоцистеина в организме — это метионин. Содержание гомоцистеина в пище ничтожно, и потребности человека в метионине и гомоцистеине обеспечиваются именно метионином пищи.

Гомоцистеин используется также для синтеза цистеина: углеродная часть цистеина образуется из серина, а гомоцистеин поставляет атом серы. В качестве промежуточного продукта образуется цистатионин:

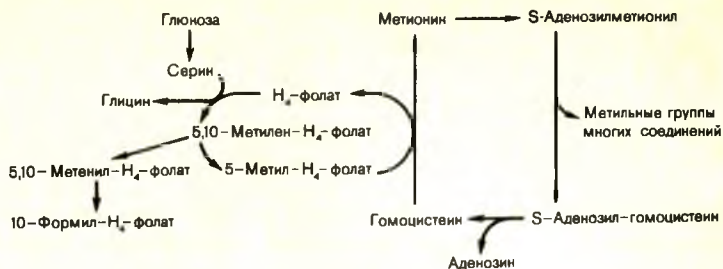


Цистатионин-β-синтаза и цистатионин-γ-лиаза, катализирующие эти реакции, содержат в качестве кофермента пиридоксальфосфат.

При нарушениях превращения гомоцистеина в метионин и цистеин в тканях и крови накапливается гомоцистин, образующийся из гомоцистеина:



Выделение гомоцистина с мочой (*гомоцистинурия*) — характерный симптом наследственной недостаточности ферментов, участвующих в обмене гомоцистеина, а также гиповитаминозов (недостаточность фолиевой кислоты, витамина В₁₂, витамина В₆).



121

Обмен одноуглеродных групп

ций, выполняемых образуемыми при этом веществами, определяет важность реакций синтеза и переноса одноуглеродных фрагментов.

При гиповитаминозе, связанном с недостаточностью фолиевой кислоты, обмен одноуглеродных групп нарушается. То же происходит и при дефиците витамина В₁₂, поскольку он участвует в одной из важных реакций, в которой регенерируются метионин и Н₄-фолат (реакция превращения гомоцистеина в метионин).

Первым клиническим проявлением недостатка фолиевой кислоты является мегалобластическая (макроцитарная) анемия.

Для этого заболевания характерно увеличение размеров эритроцитов, снижение количества эритроцитов в кровотоке, снижение концентрации гемоглобина в крови. Такие же симптомы наблюдаются при злокачественной анемии (см. гл. VI), и причины их появления в обоих случаях сходны. Клетки кроветворной ткани относятся к быстроделяющимся и поэтому особенно чувствительны к нарушениям синтеза нуклеиновых кислот, прежде всего синтеза ДНК. При недостаточности Н₄-фолата возникает дефицит предшественников ДНК — тимидиловой кислоты и пуриновых нуклеотидов, нарушается метилирование нуклеиновых кислот и в конечном счете происходят изменения эритропоэза. Мегалобластическая анемия — почти всегда результат недостаточности фолиевой кислоты (чаще всего) или витамина В₁₂, или того и другого вместе.

Суточная потребность взрослого человека в фолиевой кислоте составляет 0,1—0,5 мг. Основные источники витамина — свежие овощи и зелень, а также мясные продукты, особенно печень. Кроме того, фолиевая кислота синтезируется микроорганизмами кишечника. В организме взрослого человека содержится 7—12 мг фолиевой кислоты, из них больше половины — в печени.

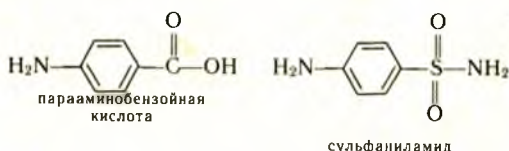
Фолиевая кислота широко распространена в обычных пищевых продуктах, и поэтому гиповитаминоз возникает сравнительно редко. Чаще всего причиной дефицита фолиевой кислоты бывает неправильное питание, когда пища содержит мало зеленых овощей и мясных продуктов; при этом одновременно с дефицитом

фолиевой кислоты имеется и дефицит метионина, а также холина, что усугубляет нарушение обмена одноуглеродных фрагментов. Энтериты и другие заболевания кишечника, нарушающие всасывание, также могут привести к гиповитаминозу. При гепатите или циррозе печени гиповитаминоз может возникнуть вследствие снижения фолатредуктазной активности; в этом случае фолиевая кислота не превращается в коферментную форму — N_4 -фолат. Нередко недостаточность фолиевой кислоты бывает при беременности как следствие увеличенной потребности в ней.

МЕХАНИЗМ БАКТЕРИОСТАТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СУЛЬФАНИЛАМИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Фолиевая кислота необходима и растениям, и животным, и микроорганизмам. В клетках растений это вещество синтезируется из других соединений, и они не нуждаются в его внешних источниках. Наоборот, для животных и человека фолиевая кислота — это незаменимый пищевой фактор, витамин. Среди микроорганизмов есть такие, которые способны синтезировать фолиевую кислоту, есть и такие, для которых она тоже витамин. В клетках многих бактерий, в том числе болезнетворных, фолиевая кислота образуется, если бактерии получают из среды парааминобензойную кислоту — одну из составных частей фолиевой кислоты. Иначе говоря, для таких бактерий витамином является парааминобензойная кислота, которая в клетках бактерий служит основой для образования фолиевой кислоты и соответствующих коферментов.

Сульфаниламидные лекарственные препараты — это производные сульфаниламида (белого стрептоцида), который является структурным аналогом парааминобензойной кислоты:



При попадании в клетку бактерии сульфаниламидный препарат подавляет синтез фолиевой кислоты. Это происходит по двум причинам. Во-первых, сульфаниламиды ингибируют ферменты, субстратом которых при синтезе фолиевой кислоты служит парааминобензойная кислота. Во-вторых, эти ферменты вследствие недостаточной субстратной специфичности могут использовать в качестве субстрата (псевдосубстрата) сульфаниламиды. При этом синтезируется не фолиевая кислота, а ее аналог, содержащий сульфаниламидный компонент вместо остатка парааминобензойной кислоты; такое соединение не способно выпол-

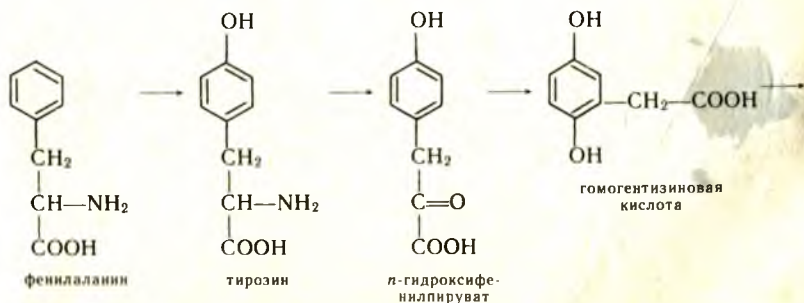
нять коферментные функции. В результате в бактериальной клетке возникает недостаточность фолиевой кислоты, нарушаются все реакции, в которых она участвует, и размножение бактерий становится невозможным. С другой стороны, в организме человека сульфаниламиды не вызывают таких изменений, поскольку человек получает с пищей готовую фолиевую кислоту, и процессы синтеза, на которые действуют сульфаниламиды, в клетках человека не происходят.

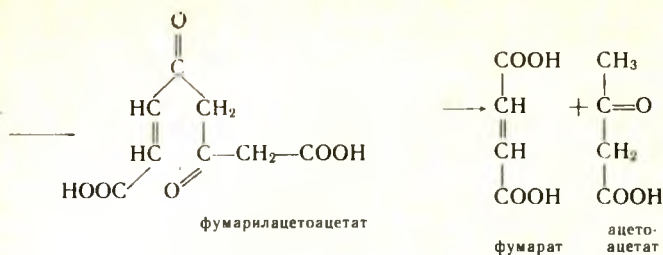
Современная медицина использует большое количество сульфаниламидных бактериостатических лекарств для лечения разнообразных инфекционных болезней. Со времени внедрения этих лекарств в лечебную практику (40-е годы XX в.) многие болезни, такие, как крупозная пневмония, раневые инфекции и др., перестали быть сложной проблемой для врача. Открытие сульфаниламидных лекарств — одно из величайших достижений медицины за всю ее историю. Несколько позднее широкое применение в медицине нашли антибиотики, которые оказались столь же эффективными противобактериальными средствами. Лекарства этих двух групп часто используются комбинированно, т. е. их назначают одновременно или последовательно.

ОБМЕН ФЕНИЛАЛАНИНА И ТИРОЗИНА

Фенилаланин — это незаменимая аминокислота, а тирозин — условно заменимая, поскольку образуется в организме из фенилаланина. Обе эти аминокислоты в достаточных количествах содержатся в пищевых белках, в том числе растительных. Основная масса фенилаланина расходуется по двум путям — включается в белки и превращается в тирозин. Обмен тирозина значительно сложнее: кроме использования для синтеза белков он служит предшественником катехоламинов, меланина, тироксина, а также может подвергаться катаболизму до CO_2 и H_2O .

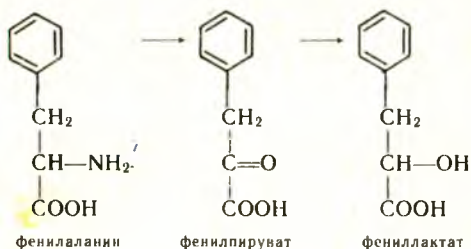
Катаболизм фенилаланина и тирозина. Специфической частью катаболизма этих аминокислот является серия реакций, завершающаяся образованием фумарата и ацетоацетата:





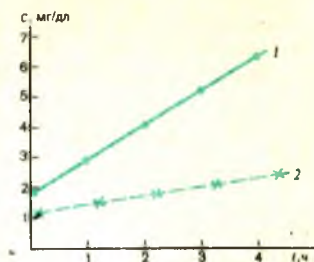
Превращение фенилаланина в тирозин скорее нужно для удаления избытка фенилаланина, чем для образования тирозина, поскольку недостатка в тирозине обычно не бывает. Эта реакция катализируется ферментом фенилаланин-гидроксилазой.

В генофонде человека имеются аллельные гены фенилаланин-гидроксилазы, кодирующие неактивные варианты фермента. В гетерозиготном состоянии эти аллели обнаруживаются примерно у 2% людей, но фенотипически обычно не проявляются, поскольку синтез активного фермента обеспечивается нормальным аллелем. У гомозиготных индивидов фенилаланин-гидроксилазной активности в тканях не обнаруживается (или она очень низка), в результате возникает блок реакции превращения фенилаланина в тирозин. Этот дефект метаболизма проявляется как болезнь *фенилкетонурия*. Концентрация фенилаланина в тканях больного повышается в десятки раз; его содержание в крови достигает 10—80 мг/дл (в норме 1—4 мг/дл). В этих условиях значительная часть фенилаланина превращается в фенилпировиноградную и фенилмолочную кислоты (в норме они почти не образуются):



Все эти соединения выделяются с мочой больного. Наиболее тяжелое проявление фенилкетонурии — резкое нарушение умственного и физического развития (в 10 лет ребенок не ходит, знает всего несколько слов). Вероятно, эти нарушения связаны с токсическим действием высоких концентраций фенилаланина. При диете, содержащей мало фенилаланина, его концентрация в крови больных снижается и развитие симптомов болезни замедляется. Если такое лечение начато сразу после рождения ребенка, повреждение мозга в значительной мере предотвращается.

Гетерозиготных носителей гена фенилкетонурии можно обнаружить с помощью теста толерантности к фенилаланину. Для этого обследуемому дают натощак около 10 г фенилаланина (обычно размешанного во фруктовом соке), затем через часовые интервалы берут пробы крови, в которых определяют концентрацию тирозина. В норме концентрация тирозина в крови после фенилаланиновой нагрузки значительно выше, чем у гетерозиготных носителей гена фенилкетонурии (рис. 122). Тест толерантности к фенилаланину используется в генетической консультации для определения риска рождения больного ребенка: если оба брачных партнера являются носителями гена фенилкетонурии, вероятность рождения такого ребенка равна 1 : 4.

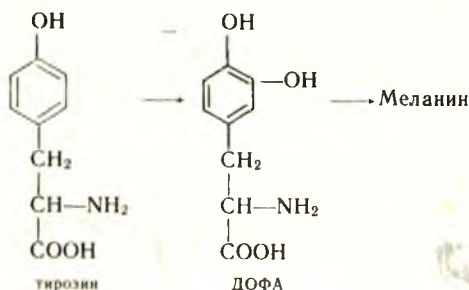


122

Изменение концентрации тирозина в крови при фенилаланиновой нагрузке в норме (1) и при гетерозиготном носительстве гена фенилкетонурии (2)

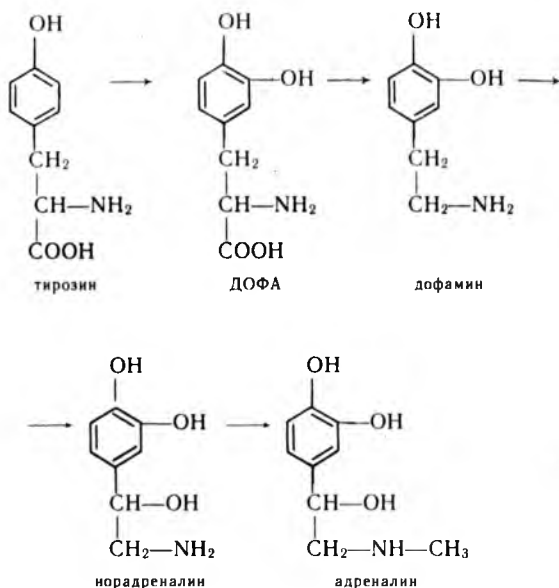
Наследственная болезнь *алкаптонурия*, связанная с блоком катаболизма тирозина на стадии гомогентизиновой кислоты, описана в гл. IV.

Биосинтез меланинов. В пигментных клетках (меланоцитах) тирозин служит предшественником темноокрашенных пигментов меланинов (от греч. *melas* — черный). При действии тирозиназы тирозин окисляется в дигидроксифениланин (ДОФА), из которого в результате ферментативных реакций образуется меланин:



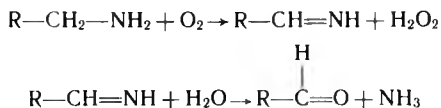
Меланины представляют собой группу полимерных соединений с неупорядоченной структурой. Цвет кожи зависит от количества и распределения меланоцитов и содержания меланинов в них. Меланины имеются также в сетчатке глаз. Врожденное отсутствие тирозиназы в меланоцитах или отсутствие самих меланоцитов проявляется как *альбицизм*. Для этой болезни характерны отсутствие пигментации кожи и волос, светобоязнь, сниженная острота зрения.

Биосинтез катехоламинов. В мозговом веществе надпочечников и нервной ткани тирозин служит предшественником катехоламинов, важнейшими из которых являются дофамин, норадреналин и адреналин:



Дофамин и норадреналин выполняют функции медиаторов в синаптической передаче нервного импульса; адреналин — это гормон мозгового вещества надпочечников, который, в частности, стимулирует мобилизацию депонированных углеводов и жиров.

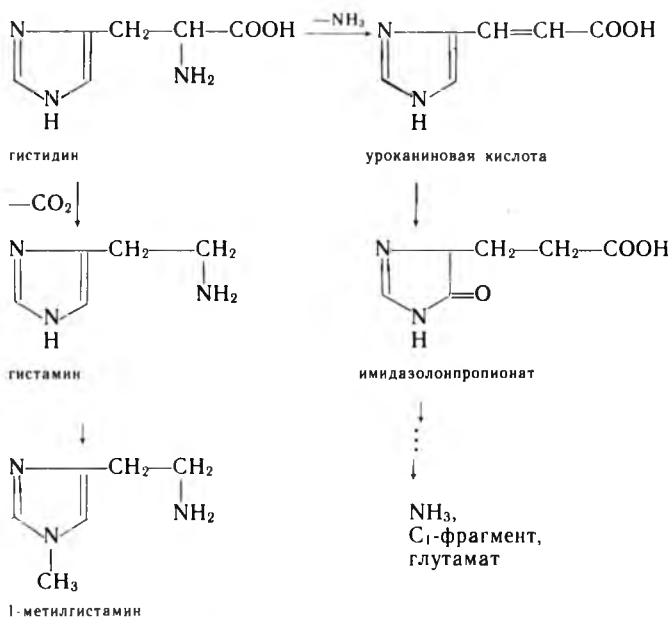
Инактивация катехоламинов происходит в основном двумя путями. Первый путь — метилирование по гидроксильной группе в третьем положении; донором метильной группы служит S-аденозилметионин (фермент катехол-O-метилтрансфераза). Второй путь связан с дезаминированием катехоламинов при действии моноаминоксидазы: в результате дезаминирования катехоламин превращается в катехолимин, который спонтанно гидролизуется с образованием альдегида и аммиака:



Таким образом, моноаминоксидаза катализирует дегидрирование амина, причем акцептором водорода служит кислород; пероксид водорода затем разрушается каталазой.

ОБМЕН ГИСТИДИНА

Катаболизм гистидина происходит путем его дезаминирования с образованием уроканиновой кислоты, которая затем в серии реакций превращается в аммиак, одноуглеродный фрагмент, соединенный с тетрагидрофолиевой кислотой, и глутаминовую кислоту. Физиологически важный путь превращений гистидина связан с его декарбоксилированием и образованием гистамина:



Дезаминирование гистидина катализируется гистидазой, которая содержится в печени и в коже; уроканиновая кислота превращается в имидазолонпропионовую кислоту при действии уроканиназы, которая содержится только в печени. Оба эти фермента появляются в крови при заболеваниях печени, и измерение их активности используется для диагностики. Известна наследственная болезнь *гистидинемия*, связанная с дефектом гистидазы; для нее характерно повышенное содержание гистидина в тканях и нарушения физического и умственного развития.

Декарбоксилирование гистидина происходит при участии *гистидиндекарбоксилазы*, главным образом в тучных клетках, которые имеются в соединительной ткани практически всех органов. Гистамин накапливается и хранится в этих клетках в связанном с белками состоянии в специальных секреторных гранулах. Он может освобождаться в межклеточную среду и попадать в кровь при самых разнообразных воздействиях — при ударе,

ожоге, электрическом раздражении, при действии многих эндогенных веществ. Гистамин обладает сильной и многообразной физиологической активностью. При введении гистамина в кровь наблюдаются следующие явления.

1. Расширяются артериолы и капилляры (в том числе в коже, возникает покраснение); в результате этого снижается кровяное давление.

2. Повышается проницаемость капилляров, жидкость из крови выходит в межклеточную среду, что приводит к уменьшению объема крови — еще одна причина снижения кровяного давления.

3. Расширение сосудов и выход жидкости из крови в головном мозге приводит к повышению внутричерепного давления и головной боли.

4. Сокращаются гладкие мышцы легких, что проявляется как приступ удушья.

5. Стимулируется секреция желудочного сока и слюны.

После введения гистамина все эти явления сильно выражены, имеют патологический характер, при достаточно большой дозе гистамина (для морской свинки примерно 1 мг) возникает опасный гистаминовый шок.

Предполагается, что в норме гистамин участвует в регуляции тех же систем, но изменения его концентрации, а соответственно и функций органов происходят в узких пределах, необходимых для адаптации или сохранения гомеостаза. Кроме того, гистамин, освободившийся из тучных клеток в результате локального воздействия (удар, ожог и др.), не попадает в значительных количествах в кровь и вызывает только местную реакцию.

При попадании в организм некоторых антигенов (белковой, полисахаридной природы, ряда лекарств) возникает особое сенсibilизированное состояние организма — гиперчувствительность немедленного типа. Повторное попадание в организм того же антигена в течение нескольких минут приводит к развитию острой реакции, которая представляет собой почти точную копию гистаминового шока (анафилактические и аллергические реакции). Механизм этих реакций включает освобождение гистамина из тучных клеток, которое происходит в результате взаимодействия антиген — антитело на поверхности клеток.

При внутрикожном введении гистамина возникают краснота, локальное повышение температуры, отек, боль, т. е. характерные признаки воспаления. На этом основании считают, что гистамин участвует в развитии воспалительной реакции.

Инактивация гистамина происходит путем его метилирования; 1-метилгистамин выводится из организма с мочой.

Гистамин применяют при исследовании секреторной функции желудка (см. выше): если слизистая желудка не отвечает на введение гистамина усилением секреции, то это указывает на грубые повреждения секреторных клеток (атрофические гастриты).

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ

Выше уже описаны некоторые наследственные дефекты обмена аминокислот; в табл. 42 приведен более широкий перечень таких болезней, но не исчерпывающий — всего их в настоящее время известно больше ста. Для многих из них описаны формы, различающиеся по клиническим проявлениям, в том числе по тяжести. Последнее указывает на то, что число аллельных вариантов соответствующего гена в генофонде человека больше двух. Многие наследственные нарушения обмена аминокислот, как и других соединений, приводят к нарушениям развития и функций мозга; причины этого пока неизвестны.

Т а б л и ц а 42. Наследственные нарушения обмена аминокислот

Болезнь	Дефектный фермент или транспортная система	Основные проявления
<u>Гиперглицинемия</u>	Глицинрасщепляющий фермент	Резкое повреждение мозга, судороги, гипотония, нарушение дыхания
<u>Гомоцистинурия</u>	1. Цистатионин-β-синтаза 2. Метилтетрагидрофолатредуктаза 3. Фермент, превращающий витамин В ₁₂ в метилкобаламин, или белки, транспортирующие витамин В ₁₂ из кишечника в кровь.	Высокая концентрация гомоцистина и метионина в тканях. Нарушение умственного развития и развития скелета Высокая концентрация гомоцистина, нормальная — метионина; нарушение умственного развития Высокая концентрация гомоцистина, низкая — метионина; пернициозная анемия
<u>Цистиноз</u>	Транспорт или восстановление цистина	Внутриклеточное накопление цистина, часто образующего кристаллы в лизосомах. Нарушение роста. Нарушения функции почек
<u>Цистинурия</u>	1. Нарушение транспорта цистина в почках 2. Нарушение транспорта цистина, лизина, аргинина и орнитина в почках и кишечнике	Значительная экскреция цистина с мочой: цистиновые камни в мочевых путях Экскреция всех названных аминокислот: цистиновые камни в мочевых путях
<u>Аспартат-глутаматурия</u> <u>Формиминослутаматурия</u> Гипервалинемия	Транспорт аспартата и глутамата в почках Печеночная глутаматформиминотрансфераза Валинаминотрансфераза	Бессимптомна Гиперкинезия, нарушение развития речи Нарушение физического и умственного развития, частая рвота

Болезнь	Дефектный фермент или транспортная система	Основные проявления
Болезнь кленового сиропа	Декарбоксилаза α -кетокислот с разветвленной углеродной цепью	Истощение, неврологические нарушения. Моча имеет запах кленового сиропа. Высокая концентрация лейцина, изолейцина, валина и соответствующих α -кетокислот в крови и моче
Синдром нарушения всасывания лизина	Транспорт лизина в кишечнике и почках	Нарушение физического и умственного развития. Увеличенная экскреция лизина с мочой, низкая концентрация лизина в крови
Гипераммониемия	Карбамоилфосфатсинтаза I	Непереносимость белковой пищи, рвота, судороги, кома
Гипераммониемия	Орнитин-карбамоилтрансфераза	Рвота, головные боли, судороги, кома. Выделение оротовой кислоты с мочой
Цитруллинемия	Аргининосукцинатсинтаза	Высокая концентрация цитруллина в крови и моче. Гипераммониемия разной степени
Аргининосукцинонатурия	Аргининосукциназа	Высокая концентрация аргининосукцината в крови и моче. Судороги, нарушение умственного развития. Нарушение развития волос
Гипераргининемия	Аргиназа	Нарушение умственного развития, судороги
Лизинурическая непереносимость белков	Транспорт лизина, орнитина и аргинина в почках, кишечнике и через мембрану гепатоцитов	Понос, рвота, гипераммониемия после приема белковой пищи. Нерасположение (или отвращение) к белковой пище. Высокая концентрация лизина, аргинина и орнитина в моче, низкая — в крови
Альбинизм	Тирозиназа	Нарушено образование меланина. Чувствительность к солнечному облучению. Снижение остроты зрения
Алкаптонурия	Диоксигеназа гомогентизиновой кислоты	Выделение с мочой гомогентизиновой кислоты, охроноз, артриты
Тирозинемия	Тирозинаминотрансфераза	Нарушение умственного развития, гиперкератоз ладоней и подошв, помутнение роговицы
Фенилкетонурия	1. Гидроксилаза фенилаланина 2. Дигидроптеридинредуктаза 3. Дигидробиптеринсинтаза	Симптомы см. раздел об обмене фенилаланина и тирозина
Гистидинемия	Гистидаза	То же Высокая концентрация гистидина в крови и моче. Разной степени нарушения умственного развития и речи. Иногда бессимптомна

Болезнь	Дефектный фермент или транспортная система	Основные проявления
Гистидинурия	Транспорт гистидина в почках и кишечнике	Высокая концентрация гистидина в моче, нормальная — в крови. Может быть отставание умственного развития Нарушение умственного развития
Уроканатурия	Уроканаза	

Глава XII

ОБМЕН И ФУНКЦИИ НУКЛЕОТИДОВ

В предыдущих разделах уже описаны многие функции нуклеотидов. Основные из них следующие.

1. Мононуклеотиды служат предшественниками и структурными компонентами нуклеиновых кислот.

2. Цикл АДФ — АТФ участвует в трансформации энергии окисления веществ в энергию, используемую в эндергонических процессах организма. В некоторых реакциях аналогичную роль могут выполнять и другие нуклеотиды.

3. Остаток адениловой кислоты входит в состав коферментов дегидрогеназ (НАД, НАДФ, ФАД) и кофермента ацилирования (КоА); УТФ, ГТФ и ЦТФ выполняют роль коферментов в реакциях переноса моносахаридных остатков; ЦТФ служит коферментом холинтрансферазы.

4. Циклические мононуклеотиды 3',5'-цАМФ и 3',5'-цГМФ являются посредниками при передаче гормональных и других сигналов на внутриклеточные эффекторные системы.

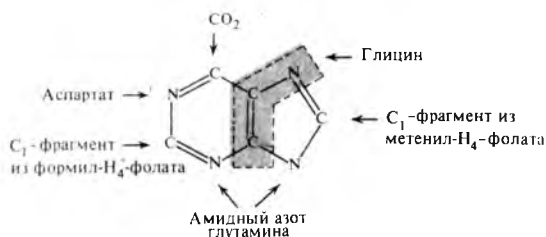
Практически все клетки организма способны к синтезу нуклеотидов. Кроме того, источниками нуклеотидов служат нуклеиновые кислоты пищи и собственных тканей организма, однако эти источники имеют второстепенное значение.

Нуклеиновые кислоты пищи в кишечнике гидролизуются под действием нуклеаз панкреатического сока — ДНКазы и РНКазы. Продуктами гидролиза являются мононуклеотиды (мононуклеозидфосфаты) и олигонуклеотиды. Фосфодиэстеразы кишечника расщепляют олигонуклеотиды до мононуклеотидов. Последние при участии фосфатаз гидролизуются с образованием нуклеозида и фосфорной кислоты; это происходит частично в просвете кишечника, частично же в клетках кишечника после всасывания в них мононуклеотидов.

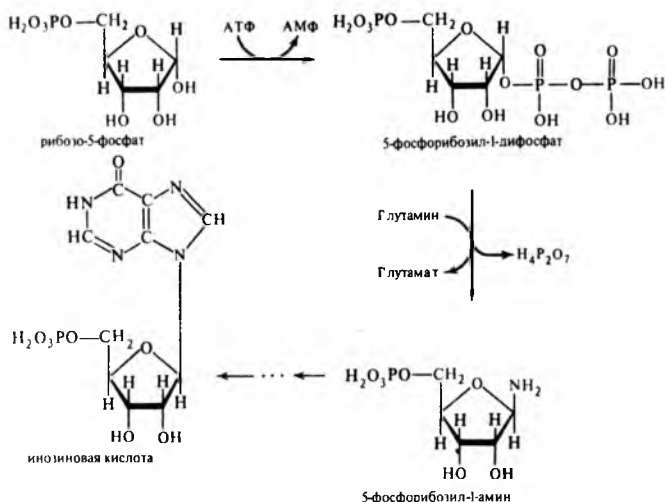
БИОСИНТЕЗ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ

В экспериментах с мечеными веществами еще в 50-е годы XX в. было выяснено происхождение атомов пуринового ядра пуриновых нуклеотидов. Оказалось, что пуриновая структура обра-

зуется из мелких фрагментов, поставляемых разными соединениями:

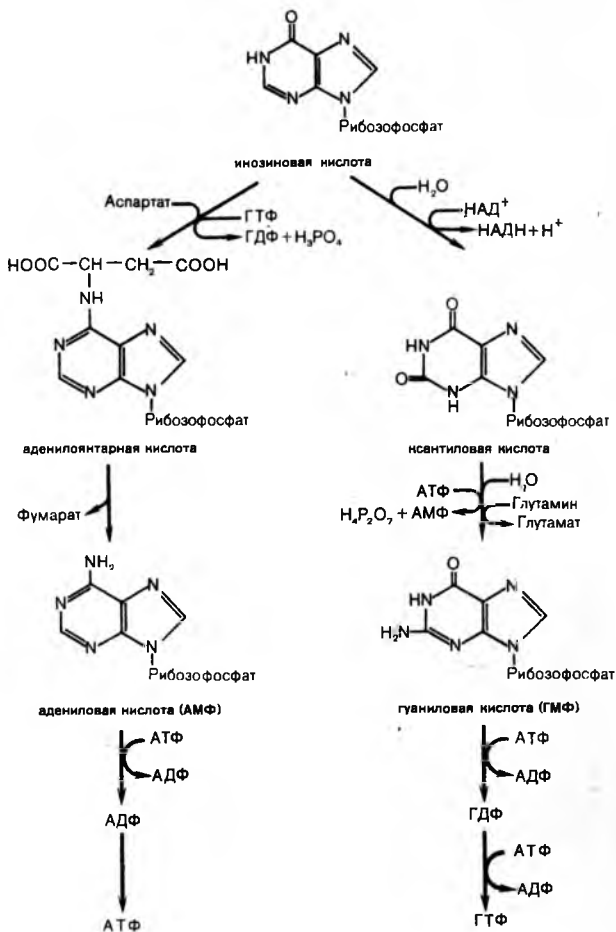


Позднее была изучена вся последовательность реакций, ведущих к пуриновым нуклеотидам. Синтез начинается с образования 5-фосфорибозил-1-амина:



затем к аминогруппе присоединяется остаток глицина и далее последовательно протекают реакции образования пуринового ядра с использованием метильной группы метенил- H_4 -фолат, еще одной амидной группы глутамин, диоксида углерода, аминогруппы аспарагиновой кислоты, формильного остатка формил- H_4 -фолат. Результатом этой серии реакций является образование инозиновой кислоты (ИМФ).

Инозиновая кислота — это нуклеотид, пуриновая часть которого представлена гипоксантином; она встречается в составе тРНК в качестве одного из минорных нуклеотидов. Кроме того, инозиновая кислота служит предшественником основных пуриновых нуклеотидов — АМФ и ГМФ, схема синтеза которых представлена на рис. 123. При действии специфических киназ эти нуклеозидмонофосфаты превращаются в нуклеозиддифосфаты и нуклеозидтрифосфаты.

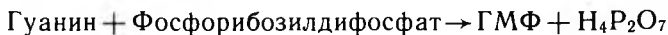


123

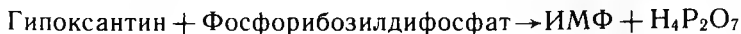
Схема синтеза адениловых и гуаниловых нуклеотидов

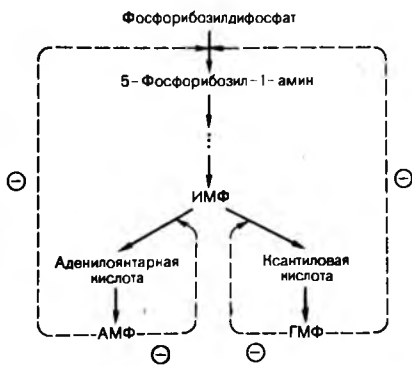
Биосинтез пуриновых нуклеотидов из аденина и гуанина.

В результате превращений нуклеотидов в тканях постоянно образуются свободные пуриновые основания — аденин и гуанин. Они могут повторно использоваться для синтеза нуклеотидов при участии ферментов аденинфосфорилтрансферазы и гипоксантин-гуанин-фосфорилтрансферазы:



Второй фермент может также использовать в качестве субстрата гипоксантин:





124

Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов по механизму отрицательной обратной связи

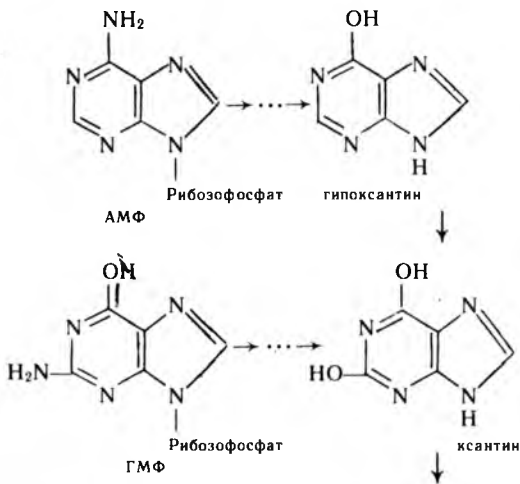
124). В целом механизм регуляции обеспечивает поддержание необходимой скорости синтеза АМФ и ГМФ.

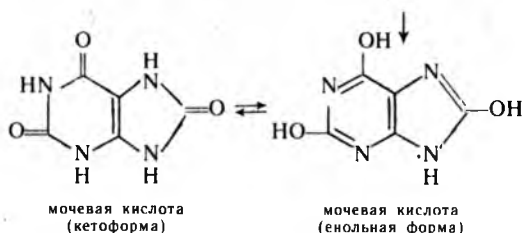
Этот механизм повторного включения азотистых оснований в метаболизм называют «путь спасения».

Регуляция биосинтеза пуриновых нуклеотидов. Реакция образования 5-фосфорибозиламина является лимитирующей стадией биосинтеза пуриновых нуклеотидов. Фермент, катализирующий эту реакцию, ингибируется адениловой и гуаниловой кислотами. Кроме того, эта метаболическая цепь регулируется в месте ее разветвления: АМФ ингибирует реакцию образования аденилосукцината, а ГМФ — реакцию образования ксантиловой кислоты (рис.

КАТАБОЛИЗМ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ

Катаболизм пуриновых нуклеотидов включает реакции гидролитического отщепления фосфатного остатка, рибозного остатка (или целиком рибозофосфатного остатка) и аминогруппы. В результате этих реакций из АМФ образуется гипоксантин, а из ГМФ — ксантин; в конечном счете пуриновое ядро пуриновых нуклеотидов превращается в мочевую кислоту:





Превращение гипоксантина в ксантин и ксантина в мочевую кислоту происходит при действии ксантиноксидазы; в этих реакциях используется молекула кислорода, один атом которого включается в пурин, а другой в пероксид водорода:



Образование мочевой кислоты происходит главным образом в печени. Мочевая кислота — основной продукт катаболизма пуриновых нуклеотидов у человека. В организме ежедневно образуется 0,5—1 г мочевой кислоты, которая выводится через почки.

ГИПЕРУРИКЕМИЯ И ПОДАГРА

В крови здорового человека содержится 3—7 мг/дл мочевой кислоты. Хроническое повышение концентрации мочевой кислоты (*гиперурикемия*) часто приводит к развитию *подагры*. Мочевая кислота плохо растворима в воде. В крови в норме концентрация мочевой кислоты больше, чем в насыщенном водном растворе. Это обусловлено тем, что часть мочевой кислоты связана с белками и некоторыми другими компонентами крови. Даже небольшое повышение концентрации мочевой кислоты в крови и тканях приводит к образованию кристаллов. С этим и связаны основные симптомы подагры.

Наиболее характерный клинический признак подагры — повторяющиеся приступы острого воспаления суставов, чаще всего мелких (подагрические кризы, или атаки). Обычно (в $\frac{3}{4}$ случаев) болезнь начинается с воспаления первого плюснефалангового сустава большого пальца ноги. При кризе боль настолько сильна, что больной не в состоянии выносить даже прикосновения простыни. Приступ длится часами и повторяется с перерывами в несколько месяцев.

Подагрический криз связан с отложением кристаллов мононатриевой соли мочевой кислоты (урата натрия) в суставе. Об этом свидетельствует, в частности, такой опыт: если ввести суспензию кристаллов мочевой кислоты в сустав экспериментального животного, возникает характерная для подагры реакция. Полагают, что кристаллы урата фагоцитируются лейкоцитами, в которых под действием этих кристаллов разрушаются мембраны лизосом; освободившиеся лизосомные ферменты в свою

очередь разрушают клетки, а продукты клеточного распада вызывают воспаление.

Другой характерный признак подагры — подагрические узлы (тофусы). Они возникают в результате местного отложения и накопления уратов. Наиболее частая локализация отложений — мелкие суставы, сухожилия, хрящи, кожа. Иногда кожа над тофусом атрофируется, разрушается, и тогда из тофуса высыпается порошок, который состоит в основном из уратов. Образование узлов в суставах деформирует их и нарушает функцию. Отложение уратов в ткани почек приводит к почечной недостаточности — частому осложнению подагры. Ураты могут откладываться и в почечных лоханках, образуя почечные камни (примерно у половины больных подагрой).

Подагра — распространенное заболевание: в разных странах от 0,3 до 1,7% взрослого населения страдает подагрой, причем мужчины болеют в 20 раз чаще, чем женщины. Подагру можно рассматривать как следствие гиперурикемии (точнее — повышенной концентрации уратов в тканях): среди людей с содержанием мочевой кислоты в крови от 7 до 8 мг/дл больны подагрой 20%; при гиперурикемии свыше 9 мг/дл больны 90%.

Гиперурикемия чаще всего имеет наследственный характер; среди родственников больного подагрой гиперурикемия обнаруживается во много раз чаще, чем в случайной подборке людей. Известна тяжелая форма гиперурикемии — *синдром Леша — Нихана*, которая наследуется как рецессивный признак, сцепленный с X-хромосомой (проявляется у детей — мальчиков). У таких детей кроме симптомов, характерных для подагры, наблюдаются церебральные параличи, нарушения интеллекта, попытки нанести себе раны (укусы губ, пальцев). Эта болезнь связана с дефектом гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы, катализирующей превращение гипоксантина и гуанина в ИМФ и ГМФ соответственно («путь спасения»): активность этого фермента у больных в тысячи раз ниже, чем в норме. Вследствие этого гипоксантин и гуанин не используются повторно для синтеза нуклеотидов, а целиком превращаются в мочевую кислоту, что и ведет к гиперурикемии (рис. 125).



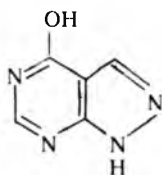
125

Блок метаболизма пуриновых нуклеотидов (помечено крестиками) при синдроме Леша — Нихана

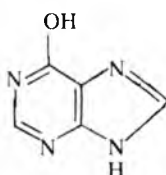
возвращаются в мочевую кислоту, что и ведет к гиперурикемии (рис. 125). Возможно, более высокая частота подагры у мужчин связана именно с аллельными вариантами гена гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы, локализованного в X-хромосоме. Однако легко представить, что нарушения и в других звеньях метаболизма пуринов также могут быть причиной гиперурикемии и подагры.

В пользу того, что гиперури-

кемия является основной причиной подагры, свидетельствует успешный опыт ее лечения и предупреждения аллопуринолом. Аллопуринол — это структурный аналог гипоксантина



аллопуринол



гипоксантин

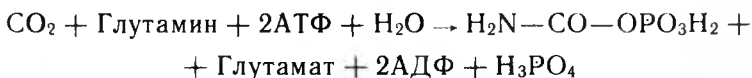
Он является конкурентным ингибитором ксантиноксидазы, и его прием в дозах 0,2—0,8 г в сутки снижает содержание мочевой кислоты в крови до нормальных величин. Содержание гипоксантина, наоборот, повышается. Однако гипоксантин примерно в десять раз лучше, чем мочевая кислота, растворяется в крови и моче, и поэтому легче выводится из организма. При лечении аллопуринолом выведение гипоксантина (а также ксантина) увеличивается.

Сравнительно редко бывают вторичные (приобретенные) гиперурикемия и подагра — при некоторых заболеваниях крови, почек, при отравлении свинцом, вследствие приема некоторых лекарственных веществ. Вторичные гиперурикемии обычно вызваны либо нарушением выведения мочевой кислоты, либо повреждением внешними агентами ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов.

ОБМЕН ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ

Пиримидиновое ядро пиримидиновых нуклеотидов образуется из диоксида углерода, амидной группы глутамина, аспарагиновой кислоты. В результате цепи реакций из этих веществ синтезируется уридинмонофосфорная кислота, которая в свою очередь служит предшественником других пиримидиновых нуклеотидов — цитидиловых и тимидиловых.

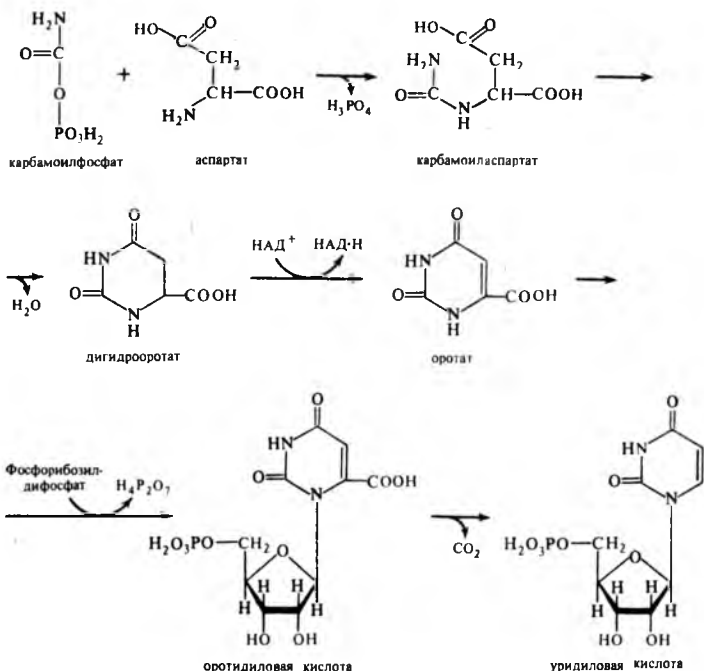
Биосинтез уридиловой кислоты. Первая реакция пути синтеза УМФ — это образование карбамоилфосфата при действии карбамоилфосфатсинтетазы II (точнее, при действии карбамоилфосфатсинтетазного активного центра полифункционального фермента). В этой реакции NH_2 -группа карбамоилфосфата образуется за счет амидной группы глутамина:



Напомним, что при синтезе мочевины в реакции, катализируемой карбамоилфосфатсинтетазой I, используется аммиак, а не глутамин. Эти ферменты различаются также локализацией:

карбамоилфосфатсинтетаза I содержится в митохондриях, главным образом в печени, а карбамоилфосфатсинтетаза II — в цитозоле, практически во всех клетках организма.

Далее карбамоилфосфат в реакции с аспарагиновой кислотой образует карбамоиласпарагиновую кислоту, которая дегидратируется с образованием пиримидинового цикла дигидрооротовой кислоты:



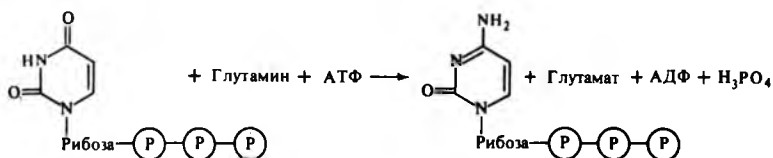
Первые три реакции — образование карбамоилфосфата, карбамоиласпартата и дигидрооротовой кислоты — катализируются одним белком, содержащим активные центры для катализа каждой из реакций. Карбамоилфосфат и карбамоиласпарат не освобождаются из фермент-субстратного комплекса; освобождающимся продуктом действия этого белка является дигидрооротовая кислота. Следовательно, карбамоилфосфат, образующийся при синтезе УМФ, не может быть использован для синтеза мочевины.

Дигидрооротовая кислота при действии отдельного фермента (дегидрогеназы) превращается в оротовую кислоту. Две следующие реакции — образование оротидиловой кислоты и ее декарбоксилирование — катализируются также одним белком. Таким образом, шесть активных каталитических центров, необходимых для синтеза пиримидиновых нуклеотидов, по-видимому, кодируются только тремя структурными генами.

Биосинтез цитидиловых нуклеотидов. Из УМФ при действии специфических киназ образуются УДФ и УТФ:



Путем аминирования УТФ образуется цитидинтрифосфорная кислота; в этой реакции используется амидная группа глутамина:



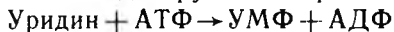
Более сложным путем из уридиловой кислоты (а также из цитидиловой кислоты) образуются тимидиловые нуклеотиды (см. ниже).

Синтез УМФ регулируется по механизму отрицательной обратной связи: УТФ является аллостерическим ингибитором первого фермента этой метаболической цепи — карбамоилфосфат-синтетазы II (см. с. 85). Этот механизм предотвращает избыточный синтез не только УМФ, но и всех других пиримидиновых нуклеотидов, поскольку они образуются из УМФ.

Оротацидурия. Оротацидурией называют выделение с мочой больших количеств оротовой кислоты. Известна наследственная оротацидурия, при которой выделяется до 1,5 г оротовой кислоты в сутки, в 1000 раз больше, чем в норме. При охлаждении мочи больных в ней образуется осадок игольчатых кристаллов оротовой кислоты. Болезнь связана с недостаточностью фермента, катализирующего две последние реакции синтеза УМФ — образования и декарбоксилирования оротидаиловой кислоты. В результате возникает недостаточность пиримидиновых нуклеотидов, необходимых для синтеза нуклеиновых кислот, а оротовая кислота, наоборот, накапливается. Накоплению оротовой кислоты способствует также и отсутствие в этих условиях регулирующего действия УТФ — аллостерического ингибитора первой реакции, поскольку концентрация в клетках УТФ, как и других пиримидиновых нуклеотидов, постоянно низка. Вследствие этого синтез оротовой кислоты происходит с большей скоростью, чем в норме.

При отсутствии лечения наследственная оротацидурия приводит к развитию необратимого резкого отставания умственного и физического развития; обычно больные погибают в первые годы жизни. Оротовая кислота не токсична; нарушения развития являются следствием «пиримидинового голода». Поэтому для лечения этой болезни применяют уридин (нуклеозид, построенный из урацила и рибозы) в дозах 0,5—1 г в сутки. Это обеспе-

чивает образование УМФ, а следовательно, и других пиримидиновых нуклеотидов в обход нарушенных реакций:



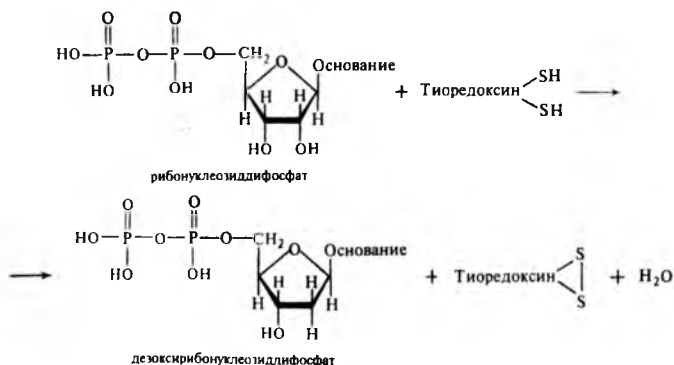
Такое лечение устраняет «пиримидиновый голод» и, кроме того, снижает выделение оротовой кислоты, поскольку включается механизм ингибирования первой реакции метаболического пути. Лечение должно продолжаться без перерывов на протяжении всей жизни; можно сказать, что уридин для таких больных является незаменимым пищевым фактором наряду с витаминами и незаменимыми аминокислотами.

Оротацидурия возможна также при гипераммониемии, когда последняя связана с дефектом не карбамоилфосфатсинтетазы I, а любого другого фермента орнитинового цикла. В этом случае карбамоилфосфат, образованный в митохондриях, используется не только для синтеза мочевины, но и для синтеза пиримидиновых нуклеотидов, а концентрация всех промежуточных метаболитов, в том числе оротовой кислоты, повышается.

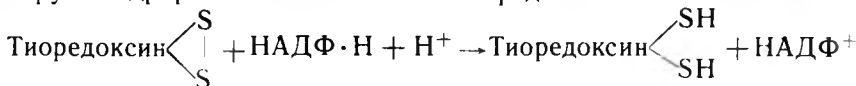
Причиной оротацидурии может быть также введение аллопуринола при лечении подагры. Аллопуринол в организме частично превращается в аналог природного мононуклеотида — оксипуринолмононуклеотид, который является сильным ингибитором реакции декарбоксилирования оротидиловой кислоты, вследствие чего и вызывает накопление оротовой кислоты в тканях.

БИОСИНТЕЗ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДОВ

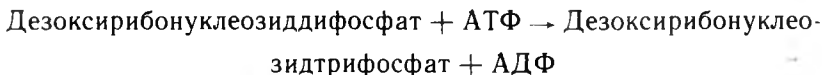
Дезоксирибонуклеотиды — предшественники ДНК — образуются из рибонуклеотидов путем восстановления рибозного остатка при участии специфической ферментной системы. Фермент рибонуклеозидредуктаза катализирует восстановление гидроксильной группы рибозного остатка у второго углеродного атома; субстратами фермента являются дифосфаты нуклеотидов. Донором водорода в этой реакции служит низкомолекулярный белок тиоредоксин, содержащий SH-группы; водород используется для восстановления кислорода гидроксильной группы до молекулы воды:



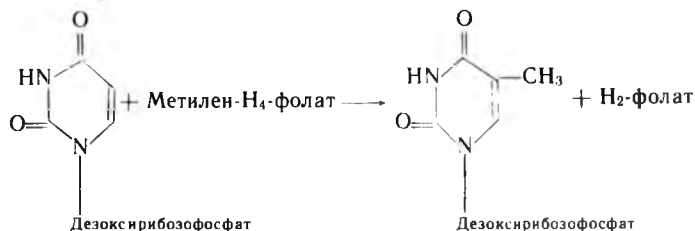
Другой фермент системы — тиоредоксинредуктаза — катализирует гидрирование окисленного тиоредоксина:



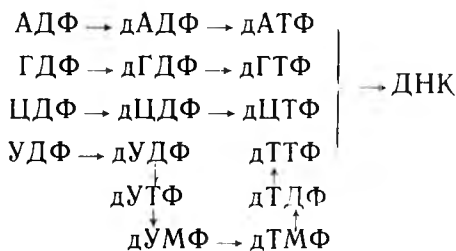
Дезоксирибонуклеозиддифосфаты при участии киназ превращаются в дезоксирибонуклеозидтрифосфаты:



Биосинтез тимидиловых нуклеотидов. Тимидиловая кислота (дТМФ) образуется из дезоксиуридилиновой кислоты (дУМФ) в реакции, катализируемой тимидилатсинтетазой. В этой реакции донором одноуглеродного фрагмента служит метилен-Н₄-фолат, превращающийся в дигидрофолат (Н₂-фолат):



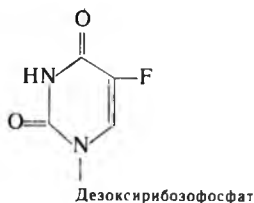
Биосинтез дезоксирибонуклеотидов и клеточное деление. Непосредственными предшественниками ДНК служат четыре дезоксирибонуклеозидтрифосфата, пути образования которых суммированы в следующей схеме:



Три нуклеотида — дАТФ, дГТФ и дЦТФ — образуются в результате действия рибонуклеотидредуктазы и киназ дезоксирибонуклеозиддифосфатов. Четвертый нуклеотид (дТТФ), необходимый для синтеза ДНК, синтезируется более сложным путем, включающим реакцию, катализируемую тимидилатсинтетазой. Рибонуклеотидредуктаза и тимидилатсинтетаза — это ключевые ферменты, лимитирующие скорость образования дезоксирибонуклеозидтрифосфатов.

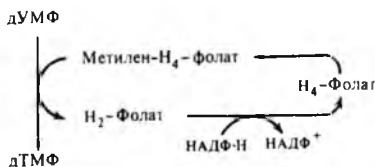
Синтез дезоксирибонуклеотидов в покоящихся клетках практически не происходит и активируется на стадиях клеточного

цикла, предшествующих делению. Ингибиторы синтеза дезоксирибонуклеотидов делают невозможной репликацию ДНК и деление клетки; на этом основано применение ингибиторов рибонуклеотидредуктазы и тимидилатсинтетазы для лечения злокачественных опухолей. В качестве примера укажем на применение 5-фтордезоксифуридина. В клетках 5-фтордезоксифуридин превращается в 5-фтордезоксифуридинмонофосфат:



Это вещество является структурным аналогом тимидиловой кислоты — отличается от нее только наличием атома фтора в пятом положении вместо метильной группы. Оно сильно ингибирует тимидилатсинтетазу, и тем самым блокирует синтез ДНК.

Другая мишень действия ингибиторов синтеза дТМФ — регенерация метилен- H_4 -фолатата. Напомним, что метилен- H_4 -фолат служит донором метильной группы в тимидилатсинтетазной реакции. Он превращается в дигидрофолат (H_2 -фолат), который затем снова превращается в метилен- H_4 -фолат, проходя стадию образования H_4 -фолатата:

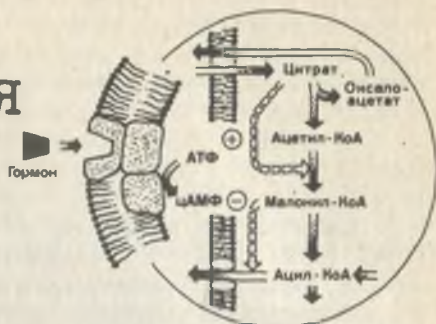


Некоторые структурные аналоги фолиевой кислоты ингибируют дигидрофолатредуктазу, и тем самым блокируют синтез дТМФ и ДНК. В химиотерапии рака наиболее часто применяют аминоптерин, содержащий аминогруппу в четвертом положении (вместо карбонильной группы, которая имеется в молекуле фолиевой кислоты), и метотрексат, который представляет собой 10-метиламиноптерин.

Ингибиторы синтеза дезоксирибонуклеотидов блокируют синтез ДНК и в нормальных клетках, поэтому они токсичны для организма. Однако на опухолевые ткани они действуют сильнее, поскольку раковые клетки отличаются значительно большей скоростью пролиферации, а следовательно, и большей потребностью в дезоксирибонуклеотидах.

Часть 3

Гормональная регуляция обмена веществ и функций



Глава XIII

ОБЩИЕ АСПЕКТЫ РЕГУЛЯЦИИ

В результате действия механизмов регуляции в живой клетке достигается согласование скоростей всех химических реакций и физико-химических процессов друг с другом, обеспечивается координация функций всех органов и адекватная реакция организма на изменения внешней среды.

В предыдущих разделах описаны многие частные случаи регуляции обмена веществ и функций. Здесь будет представлена более общая картина механизмов регуляции и подробно изложены механизмы гормональной регуляции.

В результате действия системы регуляции обеспечиваются оптимальный режим функционирования организма и оптимальная реакция на изменение внешних условий.

Многие характеристики организма сохраняются неизменными, особенно при постоянных условиях среды. В частности, это относится к концентрации ряда метаболитов в клетках и внеклеточных жидкостях. Например, измеряя у одного и того же человека концентрацию глюкозы в крови после ночного сна, натощак, мы обнаружим, что она день за днем, месяц за месяцем остается практически постоянной (или изменяется в узких пределах). Такое постоянство многих свойств организма называют *гомеостазом*. Гомеостаз поддерживается действием специальных регуляторных механизмов.

Однако еще более, чем гомеостаз, характерны для организма изменения ряда параметров, происходящие в определенном направлении и имеющие определенную величину.

1. *Онтогенез*. В процессе онтогенеза происходит включение и выключение действия разных генов в определенной последовательности, изменения метаболических процессов, белкового состава, морфологии и функционального состояния органов. Закономерный, одинаковый для всех особей вида ход онтогенеза свидетельствует о наличии механизмов управления этим процессом.

2. *Циклические изменения (биоритмы)*. К числу изменений такого рода относится, например, месячный половой цикл у женщин. Известны циклические колебания активности ферментов, концентраций гормонов, ряда метаболитов (например, суточные и сезонные изменения концентрации холестерина в крови).

3. *Изменения физиологической активности*. Наиболее обычные формы — изменения двигательной активности, функционального состояния нервной системы, органов чувств, органов пищеварения. В их основе лежат регулируемые изменения биохимических процессов.

4. *Адаптивные изменения организма*, вызванные внешними факторами, например, увеличение теплопродукции на холоде, увеличение концентрации гемоглобина в крови при низком содержании кислорода в воздухе, увеличение выделения солей аммония, если пища имеет кислый зольный остаток.

5. *Реакция на повреждающие агенты внешней среды*: индукция синтеза антител антигенами, индукция синтеза микросомальных гидроксилаз чужеродными веществами, образование тромбов при повреждении кровеносных сосудов, воспалительная реакция, заживление ран.



ИЕРАРХИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ СИСТЕМ

В механизмах регуляции, обеспечивающих гомеостаз, а также время, направление и величину изменений, можно выделить три уровня.

Первый уровень — внутриклеточные механизмы регуляции. Сигналами для изменения состояния клетки служат вещества, образующиеся в самой клетке или поступающие в нее извне. Эти вещества могут действовать тремя способами:

а) изменять активность ферментов путем ингибирования или активации;

б) изменять количество ферментов и других белков путем индукции или репрессии их синтеза или путем изменения скорости их распада;

в) изменять скорость трансмембранного переноса веществ, взаимодействуя с мембраной.

Многие примеры внутриклеточных механизмов регуляции описаны в предшествующих разделах.

Внутриклеточные механизмы регуляции действуют как у одноклеточных организмов, так и в клетках многоклеточных организмов. Но у сложно устроенных многоклеточных организмов с дифференцированными органами, выполняющими специальные функции, возникает необходимость межорганной координации обмена веществ. Например, интенсивная работа мышц требует включения процессов мобилизации гликогена в печени или мобилизации жиров в жировой ткани. Межорганная координация обеспечивается передачей сигналов двумя путями: через кровь с помощью гормонов (эндокринная система) и через нервную систему.

Эндокринная система — второй уровень регуляции. Она представлена железами (иногда отдельными клетками), синтезирующими гормоны — химические сигналы. Гормоны освобождаются в кровь в ответ на специфический стимул. Этим стимулом может быть нервный импульс или изменение концентрации определенного вещества в крови, протекающей через эндокринную железу (например, снижение концентрации глюкозы). Гормон транспортируется с кровью и, достигая клеток-мишеней, модифицирует в них обмен веществ через внутриклеточные механизмы, т. е. путем изменения активности или количества ферментов, либо скорости трансмембранного переноса веществ. В результате изменения обмена веществ устраняется стимул, вызвавший освобождение гормона (например, повышается концентрация глюкозы в крови). Выполнивший свою функцию гормон разрушается специальными ферментами.

Третий уровень регуляции — нервная система с рецепторами сигналов как внешней среды, так и внутренней. Сигналы трансформируются в волну деполяризации нервного волокна (нервный импульс), который в синапсе с клеткой-эффектором вызывает освобождение медиатора — химического сигнала. Медиатор через внутриклеточные механизмы регуляции вызывает изменение обмена веществ. Клетками-эффекторами могут быть и некоторые эндокринные клетки, отвечающие на нервный импульс синтезом и выделением гормона.

Все три уровня регуляции теснейшим образом взаимосвязаны и функционируют как единая система.

В этом разделе рассмотрены главным образом гормональные механизмы регуляции.

КЛАССИФИКАЦИЯ ГОРМОНОВ

По химической природе гормоны делятся на три группы: пептидные (белковые), стероидные и непептидные производные аминокислот.

Для всех гормонов первым звеном передачи сигнала служит взаимодействие с белком-рецептором, причем для каждого гор-

мона существует свой рецептор. Связывание гормона с рецептором — процесс обратимый; количество занятых рецепторов прямо пропорционально концентрации гормона в крови.

По механизму передачи сигнала в клетку-мишень гормоны можно разделить на две группы.

✓Первую группу составляют пептидные гормоны и адреналин. Их рецепторы расположены на наружной поверхности плазматической мембраны, и гормон внутри клетки не проникает. Эти гормоны (первые вестники сигнала) передают сигнал посредством второго вестника, роль которого выполняет цАМФ. После присоединения гормона к рецептору следует цепь событий, изменяющих метаболизм клетки (например, включается каскадный механизм мобилизации гликогена и т. п.).

✓Другую группу составляют стероидные гормоны и тироксин. Рецепторы этих гормонов находятся в цитозоле клетки. Гормон проникает из крови в клетку, соединяется с рецептором и вместе с ним транспортируется в ядро. Стероидные гормоны и тироксин изменяют обмен веществ, влияя на транскрипцию, а следовательно, и на синтез белков.

Наибольший интерес представляет классификация гормонов по биологическим функциям. Каждый гормон изменяет метаболизм специфическим образом и не обязательно действует на все органы. Избирательность действия гормонов на органы определяется наличием или отсутствием рецепторов для данного гормона в клетках органа. Кроме того, ответ разных органов даже на один и тот же гормон может быть различным в связи со специализацией клеток. Например, главный результат действия адреналина на клетки печени — усиление мобилизации гликогена, а на клетки жировой ткани — усиление мобилизации жиров.

По биологическим функциям гормоны можно разделить на следующие группы.

1. Регулирующие обмен углеводов, жиров, аминокислот: инсулин, глюкагон, адреналин, глюкокортикостероиды (кортизол).

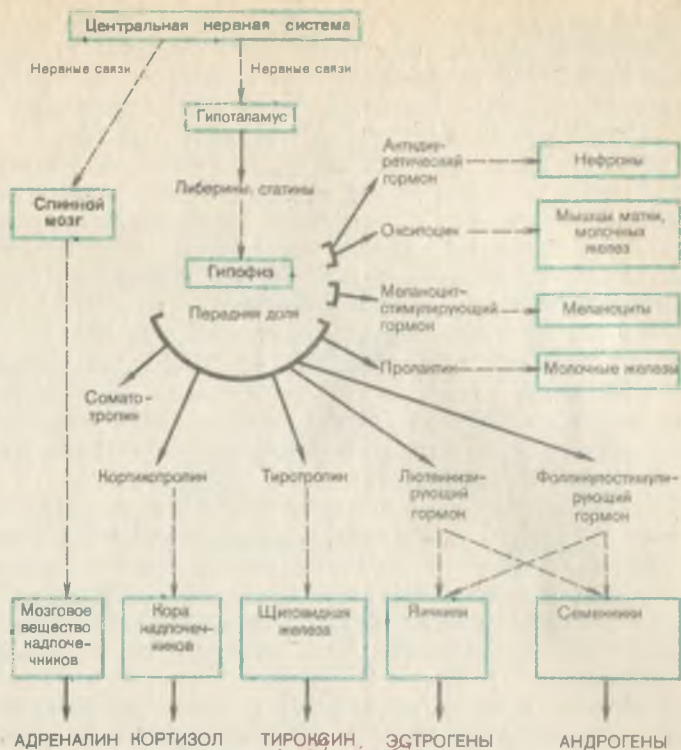
2. Регулирующие водно-солевой обмен: минералокортикостероиды (альдостерон), антидиуретический гормон (вазопрессин).

3. Регулирующие обмен кальция и фосфатов: паратгормон, кальцитонин, кальцитриол (производное витамина D₃).

4. Регулирующие обмен веществ, связанный с репродуктивной функцией (половые гормоны): эстрадиол, прогестерон, тестостерон.

5. Регулирующие функции эндокринных желез (тропные гормоны): кортикотропин, тиротропин, гонадотропин.

Некоторые гормоны человека и связь эндокринной системы с нервной системой представлены на рис. 126. Под прямым контролем нервной системы находятся мозговое вещество надпочечников и гипоталамус; другие эндокринные железы связаны с нервной системой опосредованно — через гормоны гипоталамуса и гипофиза.



126

Связи эндокринной и нервной систем. Сплошные стрелки обозначают синтез (секрецию) гормона, пунктирные — влияние гормона на органы-мишени

В клетках гипоталамуса синтезируются особые пептиды — **Либерины** (рилизинг-гормоны). В ответ на возбуждение определенных центров мозга либерины освобождаются из аксонов нервных клеток гипоталамуса, оканчивающихся в гипофизе, и **стимулируют** синтез и выделение тропных гормонов клетками гипофиза. Наряду с либерины в гипоталамусе вырабатываются **статины**, ингибирующие синтез и секрецию гипофизных гормонов. Схема гипоталамической регуляции функций гипофиза представлена ниже.

Гипоталамус		Гипофиз
Соматолиберин	→	Гормон роста
Соматостатин	→	Тиреотропный гормон
Тиреолиберин	→	Пролактин
Проктолиберин	→	Лютенизирующий гормон
Проктостатин	→	Фолликулостимулирующий гормон
Гонадолиберин	→	Кортикотропин
Кортиколиберин	→	

Классификация гормонов по биологическим функциям в известной степени условна, поскольку многие гормоны полифункциональны. Например, адреналин и норадреналин регулируют не только обмен углеводов и жиров, но и частоту сердечных сокращений, сокращение гладких мышц, кровяное давление.

В классификацию гормонов по функциям не включены соматотропин, тироксин и некоторые другие гормоны, поскольку многочисленные изменения в организме, наблюдаемые после их введения, до сих пор не удалось разделить на первичные и вторичные. Общее число известных гормонов превышает 50 и продолжает увеличиваться, причем в последние годы обнаруживают новые гормоны, главным образом пептидной природы.

Помимо гормонов, выделяющихся в кровь и действующих на органы, удаленные от места синтеза гормона, существуют еще гормоны местного действия, регулирующие обмен веществ в тех органах, где они образуются. К ним относятся гормоны желудочно-кишечного тракта, простагландины, гистамин.

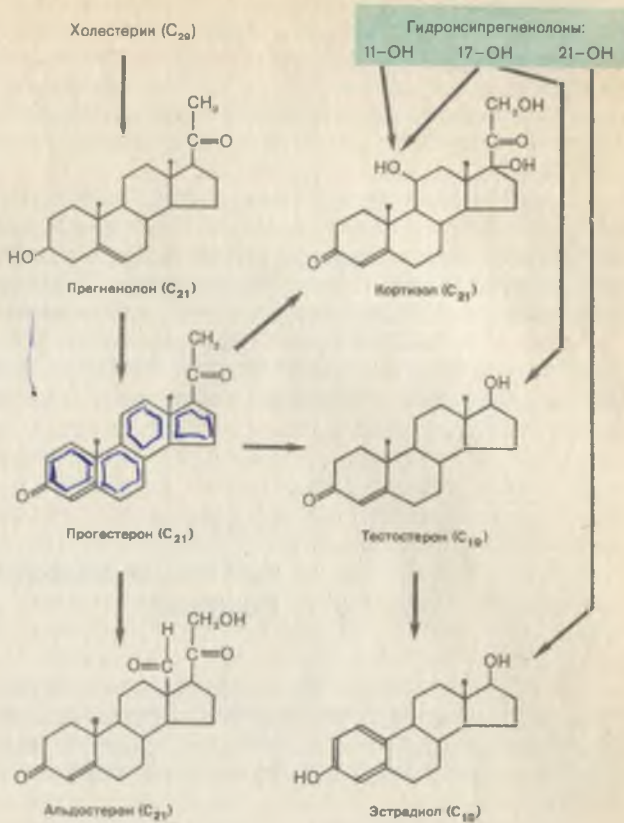
Концентрация гормонов в крови невелика: порядка 10^{-6} — 10^{-11} моль/л. Время полужизни в крови измеряется минутами, для некоторых гормонов — десятками минут, реже — часами. Увеличение концентрации гормона в крови при действии соответствующего стимула зависит от увеличения скорости синтеза гормона или скорости секреции уже имеющегося в эндокринной клетке гормона.

Стероидные гормоны представляют собой липофильные вещества, легко проникающие через клеточные мембраны. Поэтому они не накапливаются в клетках и повышение их концентрации в крови определяется увеличением скорости синтеза.

Пептидные гормоны выделяются в кровь при участии специальных механизмов секреции. Эти гормоны после их синтеза включаются в секреторные гранулы — мембранные пузырьки, образующиеся в аппарате Гольджи; гормон освобождается в кровь путем слияния гранулы с плазматической мембраной клетки (экзоцитоз). Синтез гормонов происходит быстро (например, молекула проинсулина синтезируется за 1—2 мин), в то время как образование и созревание секреторных гранул требует большего времени — 1—2 ч. Запасание гормона в секреторных гранулах обеспечивает быструю реакцию организма на действие стимула: стимул ускоряет слияние гранул с мембраной и освобождение запасенного гормона в кровь.

БИОСИНТЕЗ И КАТАБОЛИЗМ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ

Стероидные гормоны представляют собой группу соединений, родственных по происхождению и структуре; все они образуются из холестерина. Промежуточным продуктом при синтезе стероидных гормонов служит прегненолон (рис. 127). Прегненолон образуется во всех органах, синтезирующих любые стероидные гор-



моны. Далее пути превращения расходятся: в коре надпочечников образуются глюкокортикостероиды и минералокортикостероиды (C₂₁-стероиды), в семенниках — мужские половые гормоны (C₁₉-стероиды), в яичниках — женские половые гормоны (C₁₈-стероиды).

Прегненолон может превратиться в одно из четырех соединений — прогестерон или гидроксипрегненолоны с различным расположением гидроксигрупп. Из этих соединений затем образуются разные стероидные гормоны, причем каждый из них может синтезироваться больше, чем одним путем. За большинством стрелок на схеме скрывается не одна, а от двух до четырех реакций; кроме того, указаны не все возможные пути синтеза. В целом пути синтеза стероидных гормонов образуют довольно сложную сетку реакций. Многие промежуточные продукты этих путей также обладают некоторой гормональной активностью, причем часто одно и то же вещество проявляет активность в регуляции

разных процессов — обмена углеводов, водно-солевого баланса, репродуктивных функций. Однако основными стероидами, определяющими состояние этих метаболических и функциональных систем, служат *кортизол* (регуляция обмена углеводов и аминокислот), *альдостерон* (регуляция водно-солевого обмена), *тестостерон*, *эстрадиол* и *прогестерон* (регуляция репродуктивных функций).

В результате инактивации и катаболизма стероидных гормонов образуется значительное количество стероидов, содержащих кетогруппу в положении 17 (17-кетостероиды). Эти вещества выводятся через почки. Суточная экскреция 17-кетостероидов у взрослой женщины составляет 5—15 мг, у мужчины 10—25 мг. Определение 17-кетостероидов в моче используется для диагностики: их выделение увеличивается при болезнях, сопровождающихся гиперпродукцией стероидных гормонов, и уменьшается при гипопродукции.

Глава XIV

РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНО-СОЛЕВОГО ОБМЕНА

Вода и растворенные в ней вещества, в том числе минеральные соли, создают внутреннюю среду организма, свойства которой сохраняются постоянными или изменяются закономерным образом при изменении функционального состояния органов и клеток.

Вода тканей является не просто растворителем или инертным компонентом: она выполняет существенную структурную и функциональную роль. Например, взаимодействие белков с водой обеспечивает их конформацию с преимущественным расположением гидрофильных групп на поверхности белковой глобулы, а гидрофобных — внутри. Еще большее значение имеет вода для структурной организации биологических мембран и их основы — двойного липидного слоя, в котором гидрофильные поверхности каждого монослоя взаимодействуют с водой, отграничивая от нее гидрофобное пространство внутри мембраны, между монослоями.

Вода служит средством транспорта веществ как в пределах клетки и окружающего ее многоклеточного вещества, так и между органами (кровеносная и лимфатическая системы). Подавляющая часть химических реакций в организме происходит с веществами, растворенными в воде. Во многих химических превращениях вода служит реагентом: это реакции гидролиза, гидратации, дегидратации, образование воды при тканевом дыхании, гидроксилазных реакциях; у растений происходит фотоокисление воды, и образующийся при этом водород используется для восстановления углекислого газа при фотосинтезе.

Почти $\frac{2}{3}$ массы тела человека приходится на воду. Суточное потребление воды составляет около 2 л, к этому добавляется 0,3—0,4 л метаболической воды, образующейся при тканевом дыхании. При отсутствии питья человек погибает через несколько суток в результате дегидратации тканей, когда количество воды в организме уменьшается примерно на 12%.

Примерно 6% всей воды организма находится в крови, 25% — в межклеточном матриксе (*интерстициальная вода*). Воду этих двух бассейнов называют *внеклеточной водой*. Около 70% воды организма — *внутриклеточная вода*. Между тремя основными бассейнами существует интенсивный обмен жидкостью. Например, перемещение жидкости (путем диффузии) через стенки капилляров в теле человека составляет около 1500 л в 1 мин.

Основными параметрами жидкой среды организма являются осмотическое давление, pH и объем. Осмотическое давление и pH межклеточной жидкости и плазмы крови одинаковы; они также одинаковы в межклеточной жидкости разных органов. С другой стороны, значение pH внутри клеток разных типов может быть различным; оно может быть различным и в разных отсеках одной клетки. Различие pH объясняется особенностями метаболизма, механизмами активного транспорта, избирательной проницаемостью мембран. Однако значение pH, характерное для данного типа клеток, поддерживается на постоянном уровне; повышение или понижение pH приводит к нарушению функций клетки. Поддержание постоянства в н у т р и к л е т о ч н о й с р е д е обеспечивается постоянством осмотического давления, pH и объема межклеточной жидкости и плазмы крови, т. е. внеклеточной жидкости. В свою очередь постоянство параметров внеклеточной жидкости определяется действием почек и системы гормонов, регулирующих их функцию.

1. Осмотическое давление внеклеточной жидкости в значительной мере зависит от соли (NaCl), которая в этой жидкости содержится в наибольшей концентрации (табл. 43). Поэтому основной механизм регуляции осмотического давления связан с изменением скорости выделения либо воды, либо NaCl, вследствие чего изменяется концентрация NaCl в жидкостях тканей, а значит, изменяется и осмотическое давление. 2. Регуляция объема происходит путем одновременного изменения скорости выделения и воды, и NaCl. Кроме того, механизм жажды регулирует потребление воды. 3. Регуляция pH обеспечивается избирательным выделением кислот или щелочей с мочой: pH мочи в зависимости от этого может изменяться в пределах от 4,6 до 8,0.

С нарушением водно-солевого гомеостаза связаны такие патологические состояния, как дегидратация тканей или отеки, повышение или снижение кровяного давления, шок, ацидоз, алкалоз.

Следует различать понятия *водно-солевой обмен* и *минеральный обмен*. И говоря о водно-солевом обмене, имеют в виду обмен основных минеральных электролитов (см. табл. 3) и прежде все-

Т а б л и ц а 43. Электролитный состав жидкостей организма человека (приведены округленные значения)

Электролит	Плазма крови		Межклеточная жидкость		Внутриклеточная жидкость	
	ммоль/л	мг/дл	ммоль/л	мг/дл	ммоль/л	мг/дл
Na ⁺	140	325	140	325	10	22
K ⁺	5	16	5	16	160	510
Mg ²⁺	1	2,5	0,8	2	7	27
Ca ²⁺	2,5	10	1,3	5	—	—
Cl ⁻	100	360	110	390	2	7
HCO ₃ ⁻	30	200	25	170	8	55
H ₃ PO ₄	1,2	3,5	1,2	3,5	—	—
Белки*	7		0,5		20	

* Содержание белков приведено в процентах.

го обмен воды и NaCl. Минеральным обменом называют обмен любых минеральных компонентов организма, в том числе и таких, которые не влияют на основные параметры жидкой среды организма, т. е. на объем жидкости, осмотическое давление и рН (например, микроэлементы).

ВЫДЕЛЕНИЕ ВОДЫ И СОЛЕИ ПОЧКАМИ

Главная функция почек заключается в образовании мочи, которое происходит в функциональных единицах почек — *нефронах*. Из крови в боуменову капсулу нефрона фильтруется вода и все другие низкомолекулярные вещества плазмы; движущей силой этой фильтрации является разность гидростатического давления в капиллярах клубочка и в полости боуменовой капсулы. Таким образом, фильтрат боуменовой капсулы (первичная моча) по составу и концентрации низкомолекулярных веществ не отличается от плазмы крови. Обратное всасывание компонентов первичной мочи в кровь, которое происходит в канальцах нефрона, имеет избирательный характер. Избирательность определяется наличием специфических транспортных белков; при этом многие вещества всасываются против градиента концентрации, т. е. путем активного транспорта. Основной движущей силой этого переноса служит градиент концентраций ионов Na⁺ и K⁺, создаваемый Na,K-АТФазой, а вместе с этими ионами по механизмам симпорта или антипорта перемещаются и другие вещества. Таким путем в канальцах почек образуется окончательная моча, отличающаяся от плазмы крови по концентрации растворенных веществ (табл. 44).

В нефронах фильтруется и реабсорбируется около 180 л жидкости в сутки. В теле человека содержится примерно 45 л жидкости; следовательно, вся жидкость организма фильтруется четыре

Т а б л и ц а 44. Суточная фильтрация, реабсорбция и экскреция некоторых компонентов плазмы крови

Вещество	Фильтруется		Реабсорбируется		Выводится с мочой		м/п*
	ммоль	г	ммоль	г	ммоль	г	
Na ⁺	24 500	563	24 350	560	150	3,5	0,8—1,5
K ⁺	770	30	690	27	80	3	10—15
Mg ²⁺	135	33	127	32,8	8	0,2	2
Ca ²⁺	270	11	267	10,9	3	0,1	2
Cl	19 850	700	19 700	695	150	5,5	0,8—2
HCO ₃ ⁻	4 900	300	4 888	300	2	0—3	0—2
H ₂ PO ₄	210	6,5	180	5,5	30	1	25
Мочевина	870	53	460	28	410	25	60
Глюкоза	780	140	780	140	0	0	—
Вода, л	180		178,5		1,5		—

* м/п — отношение концентрации в моче к концентрации в плазме крови.

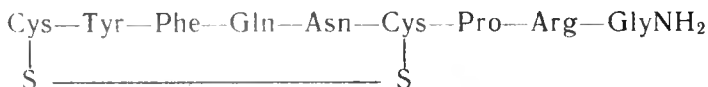
раза в сутки. Это нужно не только для поддержания водно-солевого гомеостаза, но и для выделения конечных продуктов обмена, главным из которых в моче является мочевина.

Почки отличаются интенсивным энергетическим обменом (см. табл. 28); в них расходуется 10% всего потребляемого человеком кислорода, в то время как масса почек составляет только 0,5% от массы тела. Это связано с необходимостью активного трансмембранного транспорта значительных количеств веществ при образовании мочи.

РЕГУЛЯЦИЯ ОСМОТИЧЕСКОГО ДАВЛЕНИЯ И ОБЪЕМА ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ЖИДКОСТИ

Выделение воды и NaCl почками регулируется антидиуретическим гормоном и альдостероном.

Антидиуретический гормон (вазопрессин). Этот гормон представляет собой нонапептид следующего строения:



Вазопрессин синтезируется в нейронах гипоталамуса, по аксонам транспортируется в заднюю долю гипофиза и секретируется из окончаний этих аксонов в кровь. Осморорецепторы гипоталамуса при повышении осмотического давления тканевой жидкости стимулируют освобождение вазопрессина из секреторных гранул. Вазопрессин увеличивает скорость реабсорбции воды из первичной мочи и тем самым уменьшает диурез. Моча при этом стано-

вится более концентрированной. Таким путем антидиуретический гормон сохраняет необходимый объем жидкости в организме, не влияя на количество выделяемого NaCl. Осмотическое давление внеклеточной жидкости при этом уменьшается, т. е. ликвидируется стимул, который вызвал выделение вазопрессина.

При некоторых болезнях, повреждающих гипоталамус или гипофиз (опухоли, травмы, инфекции), синтез и секреция вазопрессина уменьшаются и развивается *несахарный диабет*. Характерное проявление этой болезни — резкое увеличение выделения мочи, даже до 10 л в сутки; соответственно увеличивается и потребление воды.

Кроме снижения диуреза вазопрессин вызывает также сужение артериол и капилляров (отсюда и название), а следовательно, и повышение кровяного давления. Это действие обнаруживается лишь при достаточно высокой концентрации вазопрессина и, вероятно, не имеет физиологического значения.

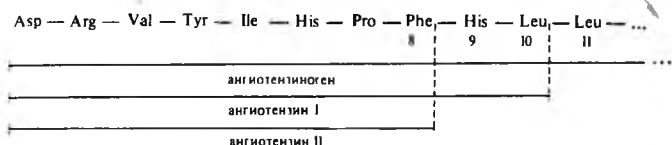
Альдостерон. Этот стероидный гормон вырабатывается в коре надпочечников; он содержит альдегидную группу, что нашло отражение в его названии. Суточная секреция альдостерона измеряется микрограммами. Секреция увеличивается при снижении концентрации NaCl в крови. В почках альдостерон увеличивает скорость реабсорбции Na^+ (а вместе с ним и Cl^-) в канальцах нефронов, что вызывает задержку NaCl в организме. Тем самым устраняется стимул, который вызвал секрецию альдостерона.

Избыточная секреция альдостерона (*гиперальдостеронизм*) приводит, соответственно, к избыточной задержке NaCl и повышению осмотического давления внеклеточной жидкости. А это служит сигналом освобождения вазопрессина, который ускоряет реабсорбцию воды в почках. В результате в организме накапливается и NaCl, и вода; объем внеклеточной жидкости увеличивается при сохранении нормального осмотического давления. Ежедневное введение альдостерона человеку приводит к дополнительному накоплению в организме до 400 ммоль NaCl (около 10 г) и до 3 л воды, после чего дальнейшее накопление прекращается. В результате увеличения объема внеклеточной жидкости повышается кровяное давление.

Система ренин — ангиотензин. Эта система служит главным механизмом регуляции секреции альдостерона; от нее зависит также и секреция вазопрессина.

Ренин представляет собой протеолитический фермент, синтезирующийся в юктагломерулярных клетках, окружающих приносящую артериолу почечного клубочка. Юктагломерулярные клетки являются рецепторами растяжения стенки артериолы; снижение кровяного давления в приносящих артериолах служит сигналом секреции ренина в кровь.

Субстратом ренина является ангиотензиноген — гликопротеин крови, синтезирующийся в печени. Ренин гидролизует пептидную связь между Leu 10 и Leu 11 в молекуле ангиотензиногена, и от



нее отщепляется N-концевой декапептид *ангиотензин I*. Последний превращается в *ангиотензин II* (октапептид) при действии карбоксидипептидилпептидазы, отщепляющей дипептид His — Leu с карбоксильного конца ангиотензина I. Карбоксидипептидилпептидаза имеется в плазматической мембране эндотелия кровеносных сосудов; особенно высока активность этого фермента в легких. Ангиотензин II — наиболее мощное из известных сосудосуживающих веществ; вследствие этого действия он повышает кровяное давление. Кроме того, ангиотензин II стимулирует освобождение альдостерона, а также вазопрессина, и вызывает жажду. Эти свойства ангиотензина II определяют его роль в регуляции водно-солевого обмена.

Ренин-ангиотензиновая система играет важную роль при восстановлении объема крови, который может уменьшиться в результате кровотечения, обильной рвоты, поноса (диарея), поноса. На рис. 128 представлена последовательность событий при восстановлении объема крови. Сужение сосудов под действием ангиотензина II играет роль экстренной меры для поддержания кровяного давления. Затем поступающие с питьем и пищей вода и NaCl задерживаются в организме в большей мере, чем в норме, что обеспечивает восстановление объема и давления крови. После этого ренин перестает выделяться, уже имеющиеся в крови вещества-регуляторы разрушаются и система приходит в исходное состояние.

Снижение перфузионного давления в почечных клубочках может наступить и вследствие сужения (стеноза) почечной артерии. В этом случае также включается вся система, представленная на рис. 128. Однако, поскольку исходные объем и давление крови при этом нормальны, включение системы приводит к повышению кровяного давления сверх нормы как вследствие сужения сосудов ангиотензином II, так и вследствие хронической задержки воды и NaCl. Эту форму гипертонии называют *почечной*.



128

Механизм восстановления объема крови и механизм возникновения почечной гипертонии

Значительное уменьшение объема циркулирующей жидкости может стать причиной опасного нарушения кровоснабжения тканей, прежде чем регуляторные системы восстановят давление и объем крови. При этом нарушаются функции всех органов, и прежде всего головного мозга; возникает состояние, которое называют шоком. В развитии шока (а также отеков) существенная роль принадлежит изменению нормального распределения жидкости и альбумина между кровеносным руслом и межклеточным пространством (см. гл. XX).

Вазопрессин и альдостерон участвуют в регуляции водно-солевого баланса, действуя на уровне канальцев нефрона — изменяют скорость реабсорбции компонентов первичной мочи. Недавно обнаружен гормон пептидной природы, действующий на уровне клубочков: он усиливает фильтрующую способность клубочкового аппарата, в результате чего увеличивается образование мочи без изменения концентрации натрия в ней. Необычным оказалось и место синтеза этого гормона — клетки предсердия, в связи с чем его назвали *атриальный натриуретический фактор*. Стимулом для секреции атриального фактора в кровь служит, по видимому, повышение артериального давления.

ВОДНО-СОЛЕВОЙ ОБМЕН И СЕКРЕЦИЯ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ СОКОВ

Объем суточной секреции всех пищеварительных желез составляет около 8 л (табл. 45). В нормальных условиях вода этих жидкостей вновь всасывается в кишечнике; обильная рвота и диарея, как мы уже упоминали, могут быть причиной драматического снижения объема внеклеточной жидкости и дегидратации тканей. Значительная потеря жидкости с пищеварительными соками влечет за собой повышение концентрации альбумина в плазме крови и межклеточной жидкости, поскольку альбумин с секретами не выводится; по этой причине повышается осмотическое давление межклеточной жидкости, вода из клеток начинает переходить в межклеточную жидкость и функции клеток нарушаются. Высокое осмотическое давление внеклеточной жидкости приводит также к снижению или даже прекращению образования мочи (*анурия*), и если вода и соли не поступают извне, у больного развивается коматозное состояние.

Одним из звеньев регуляции секреции кишечного сока явля-

Т а б л и ц а 45. Суточный объем секреции пищеварительных желез у взрослого человека

Секрет	Объем, л	Секрет	Объем, л
Слюна	1,5	Панкреатический сок	0,7
Желудочный сок	2,5	Кишечный сок	3,0
Желчь	0,5		



129

Цветущая молодая женщина 23 лет (слева) и она же через час после начала приступа холеры и за $\frac{3}{4}$ часа до смерти (справа). Рисунок сделан в начале XIX в. во время эпидемии холеры в Европе

ется аденилатциклаза: ее активация стимулирует секрецию, инактивация — прекращает. С активацией аденилатциклазы связано возникновение диареи при острых кишечных инфекциях (сальмонеллезы, дизентерия, холера). При холере аденилатциклаза активируется токсином холерного вибриона, который сходен с дифтерийным токсином (см. гл. II). Холерный токсин катализирует АДФ-рибозилирование регуляторной субъединицы аденилатциклазы — ГТФ-связывающего белка, в результате этот белок стабилизируется в форме комплекса с ГТФ и аденилатциклазы приобретает очень высокую активность независимо от наличия гормонов. Секреция кишечного сока увеличивается примерно в 10 раз, возникают характерный для холеры понос и резкая дегидратация тканей (рис. 129).

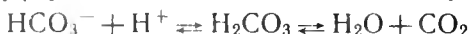
При некоторых опухолях поджелудочной железы наблюдается панкреатический холероподобный синдром — сильное обезвоживание из-за интенсивного выделения панкреатического сока, содержащего главным образом воду и электролиты, но мало ферментов.

РОЛЬ ПОЧЕК В РЕГУЛЯЦИИ КИСЛОТНО-ЩЕЛОЧНОГО РАВНОВЕСИЯ

Значение рН в внутриклеточной жидкости варьирует от 4,5 в клетках предстательной железы, а также в лизосомах всех клеток до 8,5 в остеобластах. Желудочный сок имеет рН 1,5—2; вероятно, в обкладочных клетках желудочных желез, точнее, в тех отсеках клеток, где образуется соляная кислота, рН также близок к этому значению. С другой стороны, рН в внеклеточной жидкости в норме лежит в пределах 7,36—

7.44. Постоянство рН поддерживается буферными системами внеклеточной жидкости, изменением легочной вентиляции (частоты и глубины дыхания) и скорости выделения кислот через почки. При патологии возможности регуляторных механизмов могут быть превышены и возникает ацидоз или алкалоз. Пределы отклонения рН от нормы, совместимые с жизнью, до 7,0 при ацидозе, и до 7,8 при алкалозе.

Главным буфером внеклеточной жидкости служит система



Равновесие в этой системе устанавливается довольно быстро даже в водном растворе; в организме же достижение равновесия дополнительно ускоряется действием фермента *карбангидразы*, которая катализирует более медленную реакцию из двух реакций системы:

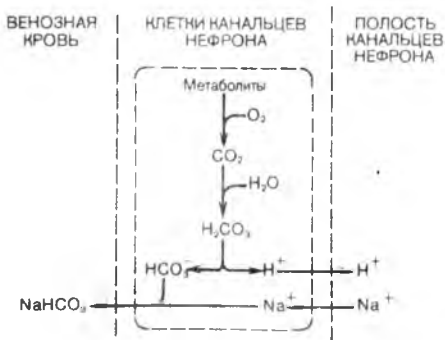


Карбангидраза имеется в эритроцитах, в почках, печени и многих других тканях.

Значение рН определяется отношением $[\text{HCO}_3^-]/[\text{CO}_2]$. При рН 7,4 оно равно 20:1; уменьшение этого отношения означает снижение рН, ацидоз; увеличение — повышение рН, алкалоз. Определенное количество кислот и щелочей может связываться этой системой за счет буферной емкости без изменения рН (компенсированный ацидоз или алкалоз).

Отношение $[\text{HCO}_3^-]/[\text{CO}_2]$ может возрастать или понижаться в результате изменения как $[\text{HCO}_3^-]$, так и $[\text{CO}_2]$. Концентрация CO_2 в крови зависит от скорости его удаления через легкие, и по этой причине при нарушениях дыхательной функции изменяется рН внеклеточной жидкости (дыхательный ацидоз или алкалоз). Концентрация HCO_3^- изменяется главным образом в результате метаболических нарушений, например уменьшается при повышении концентрации кетоновых тел (метаболический ацидоз).

Почки участвуют в регуляции кислотно-щелочного равновесия, изменяя выделение H^+ .



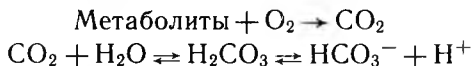
130

Компенсация ацидоза за счет окисления метаболитов в почках

Как уже отмечено выше, рН мочи может изменяться в пределах от 4,6 до 8,0, т. е. концентрация H^+ в предельно кислой моче более чем в 1000 раз превышает концентрацию в предельно щелочной моче. Ионы водорода выделяются или в составе недиссоциированных кислот, например ацетоуксусной кислоты, или в составе NH_4^+ .

Кроме того, клетки почек могут поставлять в кровь

дополнительные количества иона HCO_3^- , образующегося в результате окисления метаболитов:



Затем H^+ (кислота) выводится из клеток в каналцы нефрона (по механизму антипорта с Na^+) и экскретируется с мочой, а HCO_3^- (щелочь) из почечных клеток переходит в кровь в форме NaHCO_3 , понижая ее кислотность (рис. 130). Не исключено, что этот механизм является основным при компенсации ацидоза.

Пища животного происхождения имеет кислый зольный остаток, обусловленный главным образом фосфатами. Поэтому и моча в норме обычно имеет более кислую реакцию, чем кровь (рН 5,5—6,5), в связи с постоянным выделением избытка кислот.

Гормоны непосредственно не участвуют в регуляции рН внеклеточной жидкости, однако как вторичное явление нарушение кислотно-щелочного равновесия наблюдается при ряде заболеваний эндокринной системы, например ацидоз при диабете.

ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА МОЧИ

Главная проблема, которая решается нефронами почек, заключается в разделении потока веществ, поступающих из крови, на два потока разного химического состава: все ценное для организма (глюкоза, аминокислоты, витамины и др.) возвращается в кровь, а конечные продукты обмена направляются в мочу. Конечно, при этом происходит некоторая утечка и полезных веществ плазмы, но их концентрация в окончательной моче невелика. Если в крови концентрация какого-либо вещества увеличивается, то и с мочой его выводится больше. Другой причиной увеличения скорости выведения веществ является нарушение функции почек. При этом нарушение избирательности реабсорбции может быть специфичным (например, для какой-нибудь одной аминокислоты, см. табл. 42) или общим. Последнее наблюдается, в частности, при воспалительных заболеваниях почек. Таким образом, при любой болезни, сопровождающейся изменением состава крови или нарушением выделительной функции почек, изменяется состав мочи, причем часто характерным для данной болезни образом. На этом основано применение анализа мочи для диагностики болезней. Наиболее часто в моче измеряют концентрацию глюкозы, креатинина, кетоновых тел, билирубина, уробилина, белков. В некоторых специальных случаях определяют и другие вещества, как минеральные, так и органические.

КАМНИ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ

Мочекаменная болезнь очень распространена: она поражает около 1% людей, обычно в среднем и пожилом возрасте. Камни мочевых путей образуются из кристаллов солей щавелевой кис-

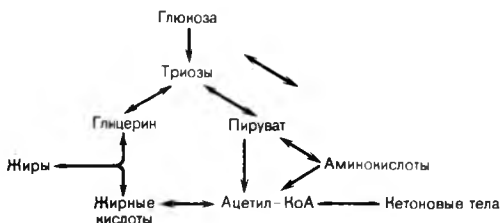
лоты (оксалатные камни), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, MgNH_4PO_4 , CaCO_3 , мочевой кислоты, цистина. Отдельный камень образуется не путем кристаллизации, а путем агрегации уже сформировавшихся кристаллов. Обычно камни содержат смесь кристаллов разных солей, но какие-нибудь из них могут быть в преобладающих количествах; наиболее часто (примерно в половине случаев) встречаются камни с преобладанием оксалатов.

Все перечисленные компоненты в нормальной моче содержатся в более высоких концентрациях, чем можно было бы растворить в воде. Часть из них находится в растворенном состоянии, часть — в форме микроскопических кристаллов. Кроме того, в моче содержатся вещества, препятствующие осаждению солей-камнеобразователей — ионы магния, пирофосфат, гликозамингликаны (особенно гепарин и хондроитинсульфаты). Уменьшение концентрации этих веществ или увеличение концентрации солей-камнеобразователей приводит к кристаллизации солей и агрегации кристаллов. Кроме того, образование камней может быть связано с изменением рН мочи: в кислой моче образуются оксалатные и уратные камни, в щелочной — фосфатные и карбонатные. Образование камня — процесс необратимый: в моче камни не растворяются. Попытки создать лекарства, растворяющие камни в мочевых путях, пока не привели к заметному успеху, и камни приходится удалять хирургическим путем.

Глава XV

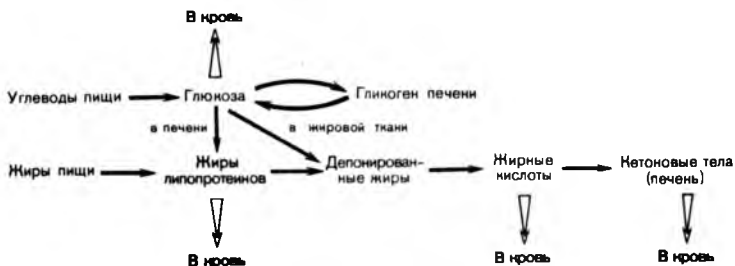
РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА УГЛЕВодов, ЖИРОВ И АМИНОКИСЛОТ

Из предыдущих разделов очевидно, что метаболические пути углеводов, жиров и аминокислот часто переплетаются. Взаимосвязь обмена этих групп веществ проявляется в наличии общего для них пути катаболизма и в возможности их взаимопревращений. Некоторые пути взаимопревращений, рассмотренные в предыдущих разделах, суммированы на рис. 131. Возможностью взаимопревращений объясняется частичная взаимозаменяемость



углеводов, липидов и белков (аминокислот) в питании. С этим же связана неэффективность попыток лечения ожирения безжировой диетой. Следует отметить необратимость превращения пирувата и аминокислот в ацетил-КоА. Это означает, что ацетил-КоА в орга-

131
Взаимопревращения углеводов, жиров и аминокислот



132

Основные энергоносители, транспортируемые кровью

ниже человека не может быть использован для синтеза глюкозы, глицерина, аминокислот. Жирные кислоты при β -окислении превращаются в ацетил-КоА, следовательно, использование жирных кислот для синтеза углеводов тоже невозможно.

Значительная масса углеводов, жиров и аминокислот расходуется в качестве источников энергии. Особенно это относится к углеводам: на их долю приходится половина или больше всего количества потребляемой пищи, а содержание углеводов в организме составляет лишь $1/10$ часть от всех других компонентов (вода в расчет не принимается). Основными энергоносителями, которые через кровоток распределяются по органам, служат глюкоза, жиры липопротеинов, жирные кислоты и кетонные тела (рис. 132). Главными их продуцентами являются печень и жировая ткань; потребляют эти энергоносители все органы, но в количественном отношении первое место принадлежит мышечной ткани вследствие ее значительной массы.

В зависимости от состава пищи, ритма питания, физиологической активности происходит изменение скоростей превращений углеводов, жиров, аминокислот и переключение с использования одного из них на использование другого. Эти перестройки метаболизма регулируются гормонами.

Ранее (гл. IX, X) уже были описаны механизмы регуляции мобилизации гликогена и депонированных жиров адреналином при переходе к интенсивной мышечной работе и при стрессовых воздействиях. В этой главе рассмотрены изменения обмена углеводов, жиров и аминокислот в зависимости от ритма питания.

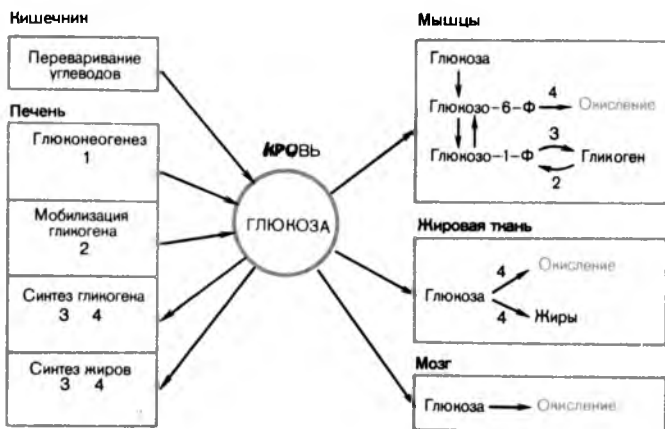
КОНЦЕНТРАЦИЯ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ

Обычный для человека ритм питания — это трехкратный прием пищи в дневное время с двумя 6—7-часовыми перерывами и с ночным перерывом продолжительностью 10—12 ч. После приема смешанной пищи переваривание углеводов заканчивается примерно через 2 ч, переваривание белков и жиров — через

4—5 ч: это *период пищеварения*. За ним следует *постабсорбтивный период*. За типичное постабсорбтивное состояние принимают состояние утром после сна.

При переходе от одного периода к другому происходят значительные изменения метаболизма: для первого периода характерны процессы депонирования углеводов (в форме гликогена), депонирования жиров, преимущественное использование глюкозы для обеспечения энергетических потребностей; для второго периода характерны мобилизация депонированных углеводов и жиров, преимущественное использование в качестве источников энергии жиров, а также аминокислот. Использование этих источников энергии обеспечивает экономное расходование глюкозы, что имеет важное значение, поскольку сберегает глюкозу для питания мозга и некоторых других зависимых от глюкозы тканей. Скорость поступления глюкозы в ткань мозга целиком зависит от ее концентрации в крови, поэтому поддержание этой концентрации на достаточном уровне — необходимое условие нормального питания и функционирования мозга.

✓ Концентрация глюкозы в крови определяется балансом скоростей ее поступления в кровь, с одной стороны, и потребления тканями — с другой (рис. 133). В постабсорбтивном состоянии в норме концентрация глюкозы в крови равна 60—100 мг/дл (3,3—5,5 ммоль/л); более высокая концентрация (*гипергликоземия*) указывает на нарушение обмена углеводов. После приема пищи или раствора сахара (сахарная нагрузка) гипергликоземия бывает и у здоровых людей — *алиментарная гипергликоземия*. Обычно она не превышает 150 мг/дл и начинает снижаться через 1—1,5 ч после еды. При нарушениях углеводного обмена (стероидный диабет, сахарный диабет) алиментарная гипергликоземия превышает 150 мг/дл и держится дольше, т. е. имеет



133

Основные источники и пути расходования глюкозы крови: влияние гормонов: 1 — кортизол стимулирует; 2 — адреналин и глюкагон стимулируют; 3 — адреналин и глюкагон подавляют; 4 — инсулин стимулирует

место снижение толерантности к глюкозе. Толерантность к глюкозе измеряют с целью диагностики нарушений углеводного обмена. Обследуемому дают выпить раствор сахара из расчета 1 г на 1 кг массы тела (*сахарная нагрузка*) и через каждые 30 мин берут пробы крови для определения концентрации глюкозы. Типичные результаты измерения толерантности приведены на рис. 134.

Если гипергликемия превышает почечный порог, т. е. величину 180 мг/дл, то глюкоза начинает выводиться с мочой (глюкозурия). Глюкозурия свидетельствует о нарушении углеводного обмена или о повреждении почек.

✓ *Гипогликемия* также возникает при патологических состояниях, в частности при голодании. Снижение концентрации глюкозы в крови до 40 мг/дл приводит к возникновению судорог и других симптомов нарушения функций головного мозга вследствие нарушения его питания.

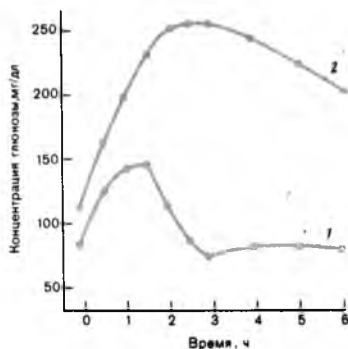
Переключение метаболизма при смене периодов пищеварения и постабсорбтивного состояния и поддержание концентрации глюкозы в крови обеспечиваются системой регуляторных механизмов, включающих гормоны кортизол, инсулин, глюкагон, адреналин.

ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДЫ И РЕГУЛЯЦИЯ ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗА

В постабсорбтивном состоянии по мере исчерпания запасов гликогена в печени стимулируется глюконеогенез. Мышечная активность ускоряет этот переход. Существенная роль в регуляции глюконеогенеза в этих условиях принадлежит глюкокортикоидам, основным из которых является кортизол.

В цитоплазме клеток разных органов есть белки-рецепторы, способные избирательно присоединять глюкокортикоиды. Затем гормон поступает в ядро, взаимодействует с хроматином и изменяет скорость транскрипции определенных генов. Следовательно, изменяется и скорость синтеза соответствующих белков.

Если животному или человеку ввести кортизол, наблюдается повышение концентрации глюкозы в крови, причем это происходит даже при отсутствии запасов гликогена в печени. Одновременно повышается образование и выделение мочевины. Отсюда следует, что глюкоза, появляющаяся в крови, образуется из аминокислот.



134 Измерение толерантности к глюкозе у здорового человека (1) и у больного диабетом (2)

Усиление глюконеогенеза из аминокислот является результатом двух процессов, вызываемых кортизолом.

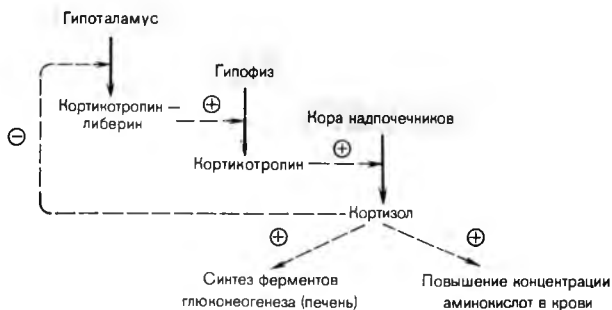
1. Кортизол сильно тормозит синтез белков в мышцах и других тканях, за исключением печени. Вследствие этого концентрация аминокислот в тканях и крови повышается, и они могут быть использованы для глюконеогенеза в печени и почках.

2. В печени кортизол стимулирует синтез белков, в частности ферментов, участвующих в глюконеогенезе (тирозинаминотрансфераза, триптофанпирролаза, серин-треонин-дегидратаза, карбоксикиназа фосфоенолпирувата). Содержание этих ферментов в гепатоцитах может повышаться в несколько раз, соответственно увеличивается и скорость глюконеогенеза.

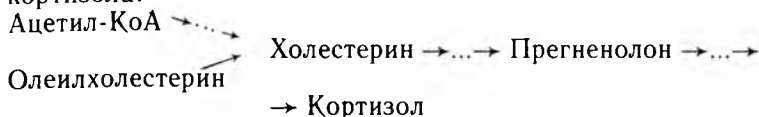
Сигналом для стимуляции глюконеогенеза служит снижение концентрации глюкозы в крови. Однако этот сигнал действует не непосредственно на надпочечники, а через цепь других сигналов (рис. 135). Контрольные механизмы центральной нервной системы реагируют на снижение концентрации глюкозы в крови и стимулируют секрецию клетками гипоталамуса кортикотропин-либерина. Либерин по отросткам нейронов поступает в гипофиз, где стимулирует секрецию кортикотропина (адренотропный гормон).

Кортикотропин — этот пептидный гормон, построенный из 39 аминокислотных остатков. Он поступает в кровь, улавливается специфическими рецепторами мембран клеток коры надпочечников, и через аденилатциклазную систему активирует ряд ферментов, участвующих в синтезе глюкокортикостероидных гормонов.

Клетки надпочечников, секретирующие стероидные гормоны, содержат большие количества липидных капель, основной компонент которых — олеилхолестерин. Холестерин может синтезироваться в этих клетках или поступает в них из липопротеинов



крови. В свою очередь холестерин служит предшественником кортизола:



Образование прегненолона является лимитирующей стадией на этом пути: кортикотропин активирует синтез прегненолона. Кроме того, активируются эстераза олеилхолестерина и ферменты синтеза холестерина из ацетил-КоА.

У человека за сутки образуется и секретируется в кровь около 10 мг кортизола.

Избыточное образование глюкокортикостероидов предотвращается механизмом отрицательной обратной связи: кортизол подавляет секрецию кортикотропин-либерина и тем самым прерывает цепь событий, ведущих к образованию кортизола (рис. 135).

Скорость глюконеогенеза у человека может изменяться от 0 до 3—4 г за 1 ч (около 80 г за сутки). В ближайшие часы после приема пищи, богатой углеводами, она минимальна, затем нарастает по мере исчерпания запасов гликогена в печени, достигая максимума при голодании в течение нескольких часов.

Напомним, что глюконеогенез происходит в печени, в корковом слое почек и клетках кишечника.

БОЛЕЗЬ ИЦЕНКО — КУШИНГА

Болезнь Иценко—Кушинга характеризуется избыточным образованием кортикостероидов, главным образом кортизола. Такое состояние (*гиперкортицизм*) может возникать при опухоли надпочечника, когда увеличивается масса ткани, продуцирующей кортикостероиды; при опухоли гипофиза и связанной с этим повышенной продукцией кортикотропина; при нарушениях образования либеринов в гипоталамусе. Гиперкортицизм может быть также следствием развития опухолей, выделяющих кортикотропинподобные вещества, в тимусе, бронхах, поджелудочной железе и др.

Один из симптомов болезни Иценко—Кушинга — снижение толерантности к глюкозе, т. е. превышающая норму гиперглюкоземия после еды или сахарной нагрузки. В тяжелых случаях гиперглюкоземия имеет место и в постабсорбтивном состоянии. Концентрация глюкозы в крови может превышать почечный барьер, и тогда возникает глюкозурия. Такое состояние называют стероидным диабетом. Снижение толерантности к глюкозе и гиперглюкоземия связаны с повышенным катаболизмом белков и глюконеогенезом из аминокислот.

Характерным проявлением гиперкортицизма является также *остеопороз* — изменение состава, главным образом минерального, костной ткани, в результате чего прочность кости резко

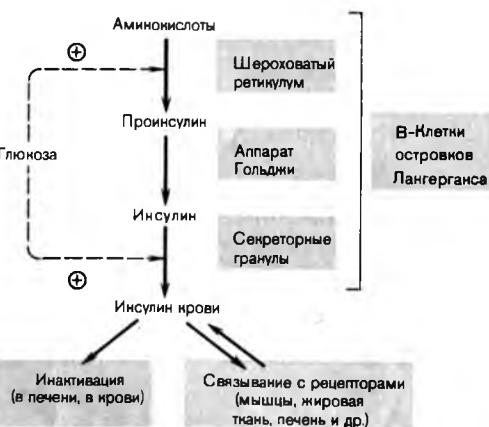
снижается. Кортизол ингибирует активность и синтез некоторых ферментов, участвующих в образовании коллагена и гликозамингликанов. Именно по этой причине происходит атрофия кожи в местах продолжительного введения кортизола. При гиперкортицизме синтез коллагена нарушается и в костях, а вследствие этого нарушается включение в костную ткань солей кальция и фосфатов: при болезни Иценко — Кушинга имеет место отрицательный баланс этих солей.

Гипертония, почти всегда сопровождающая болезнь Иценко—Кушинга, отчасти связана с повышенной продукцией другого гормона коры надпочечников — альдостерона (гиперальдостеронизм). Однако следует отметить, что все кортикостероиды в той или иной мере обладают смешанным действием. В частности, кортизол не только стимулирует глюконеогенез, но и вызывает задержку NaCl. В этом отношении он в сотни раз менее активен, чем альдостерон, однако, учитывая его более высокую концентрацию в крови (на два порядка), можно думать, что кортизол при гиперкортицизме вносит заметный вклад в развитие гипертонии.

При лечении гиперкортицизма применяют вещества, ингибирующие синтез кортизола. Одним из таких веществ является *хлудитан* — производное дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ). Токсичность ДДТ для животных обусловлена тем, что он нарушает обмен стероидов.

ИНСУЛИН И ГЛЮКАГОН

История открытия и изучения инсулина тесно переплетается с поисками причин, механизмов развития и способов лечения сахарного диабета. В конце XIX в. было установлено, что у животных после удаления поджелудочной железы появ-



ляются гипергликоземия, глюкозурия и другие симптомы диабета. В 1900 г. Л. В. Соболев обнаружил, что после перевязки протоков поджелудочной железы железистая ткань атрофируется, а островки Лангерганса сохраняются. Диабет при этом не возникает. Эти результаты наряду с известным фактом изменения островков у больных диабетом позволили Соболеву сделать заключение, что островки Лангерганса необходимы для регуляции углеводного об-

мена. Канадские исследователи Бантинг и Бест в 1922 г. впервые успешно применили очищенные препараты инсулина для лечения диабета. В 50-е годы была установлена структура инсулина.

Инсулин образуется в В-клетках островков Лангерганса. На рис. 136 представлены основные этапы превращений инсулина в организме. Проинсулин превращается в инсулин путем частичного протеолиза (см. рис. 49).

✓ Синтез и секреция инсулина регулируются глюкозой. Концентрация инсулина в крови человека в постабсорбтивном состоянии равна $1,3 \cdot 10^{-11}$ моль/л. После приема пищи или раствора сахаразы концентрация глюкозы в крови повышается, что приводит к увеличению концентрации инсулина.

Рецепторы инсулина обнаружены во многих типах клеток. Они находятся на наружной поверхности плазматической мембраны; инсулин внутрь клеток не проникает. Однако неясно, действует ли он через аденилатциклазную систему или каким-то иным способом.

✓ Инсулин увеличивает проницаемость плазматической мембраны для глюкозы и некоторых аминокислот. Многие клетки нуждаются в инсулине для переноса глюкозы через мембрану внутрь клетки; наиболее важным исключением являются клетки мозга. Независимо от влияния на проницаемость ✓ инсулин стимулирует синтез гликогена в печени и мышцах, синтез жиров в печени и жировой ткани, синтез белков в печени, мышцах и других органах. Все эти изменения направлены на ускоренное использование глюкозы, что приводит к снижению концентрации глюкозы в крови. Концентрация аминокислот также снижается (вследствие стимуляции синтеза белков), а концентрация липопротеинов увеличивается (вследствие стимуляции синтеза жиров в печени).

✓ Главные органы-мишени для инсулина — печень, мышцы и жировая ткань. До сих пор неизвестны первичные пункты действия инсулина. Для многочисленных изменений обмена, наблюдаемых при введении инсулина, не удается установить причинно-следственные отношения.

✓ При низкой концентрации глюкозы инсулин перестает выделяться в кровь, а уже имеющийся разрушается главным образом в печени — при однократном прохождении крови через печень разрушается около 80% инсулина.

Глюкагон — тоже пептидный гормон (одна пептидная цепь, 29 аминокислотных остатков), синтезируется в поджелудочной железе, в А-клетках островков Лангерганса. Содержание глюкагона в крови 100 нг/л (около $3 \cdot 10^{-4}$ моль/л); после приема безуглеводной пищи и при голодании концентрация глюкагона увеличивается в 1,5—2 раза.

Глюкагон стимулирует мобилизацию гликогена и жиров; в этом отношении он сходен с адреналином и норадреналином. Глюкагон, как и адреналин, действует на внутриклеточные механизмы регуляции через аденилатциклазную систему. Различие между ними состоит в следующем: адреналин выделяется

происходит переключение печени с синтеза жирных кислот и жиров на окисление жирных кислот и синтез кетоновых тел (рис. 137; см. также рис. 112).

При пищеварении существенная часть ацетил-КоА превращается в малонил-КоА и далее в жирные кислоты и жиры. Малонил-КоА, концентрация которого в этих условиях значительна, ингибирует транспорт жирных кислот в митохондрии и, следовательно, их окисления и образования кетоновых тел не происходит. Мобилизация депонированных жиров в этих условиях заторможена высокой концентрацией инсулина. Все органы в качестве источника энергии используют главным образом глюкозу, а также жиры липопротеинов.

В постабсорбтивном состоянии при высокой концентрации глюкагона ингибирован синтез малонил-КоА (вероятно, в результате фосфорилирования ацетил-КоА-карбоксилазы). Концентрация малонил-КоА снижается, становится возможным транспорт жирных кислот в митохондрии и их β -окисление. В результате уменьшения концентрации инсулина и увеличения концентрации глюкагона усиливаются мобилизация депонированных жиров и снабжение печени жирными кислотами. Ацетил-КоА в печени в этих условиях превращается в кетоновые тела. Таким образом, кетоновые тела синтезируются из того ацетил-КоА, который образуется из жирных кислот, но не из глюкозы. Основными источниками энергии для инсулинозависимых органов в этих условиях служат жирные кислоты и кетоновые тела. Клетки мозга и другие независимые от инсулина клетки обеспечиваются глюкозой за счет глюконеогенеза из аминокислот и глицерина.

ИЗМЕНЕНИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ¹ ПРИ ГОЛОДАНИИ

Голодание может быть неполным (недоедание) и полным. Главные патологические проявления неполного голодания связаны с белковой недостаточностью (см. гл. VI). В этом разделе рассмотрены биохимические изменения при полном голодании, которое можно считать экстремальным нарушением ритма питания.

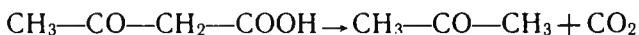
Полное голодание кроме ситуаций, возникающих при катастрофах и стихийных бедствиях, нередко связано с болезнями пищеварительного тракта и невозможностью потребления пищи, а также с психическими заболеваниями, когда больные отказываются от еды. Кроме того, полным голоданием лечат некоторые болезни.

В изменениях обмена веществ при полном голодании можно выделить три фазы.

Первая фаза продолжается примерно сутки. За это время исчерпываются запасы гликогена; концентрация инсулина в крови снижается в 10—15 раз по сравнению с периодом пищеварения, а концентрации глюкагона и кортизола увеличиваются.

В результате изменения гормонального статуса и действия внутриклеточных механизмов регуляции постепенно нарастает скорость мобилизации жиров и скорость глюконеогенеза из аминокислот и глицерина. Тем не менее концентрация глюкозы в крови уменьшается до нижних пределов нормы (близка к 60 мг/дл) и на этом уровне поддерживается и в последующие периоды голодания (за счет глюконеогенеза).

Вторая фаза длится около одной недели. Мобилизация жиров продолжается, концентрация жирных кислот в крови увеличивается в 3—4 раза по сравнению с постабсорбтивным состоянием, когда она равна 10—30 мг/дл. Увеличивается образование кетоновых тел в печени. При нормальном питании концентрация кетоновых тел в крови обычно бывает меньше 2 мг/дл, а через неделю голодания повышается до 20—30 мг/дл. При такой концентрации кетоновых тел становится заметной скорость реакции неферментативного декарбоксилирования ацетоксусной кислоты с образованием ацетона:



Ацетон не используется в организме и выводится главным образом с выдыхаемым воздухом и через кожу: уже на третий-четвертый день ощущается запах ацетона изо рта и от кожи голодающего человека. В этой фазе энергетические потребности мышц и большинства других органов удовлетворяются за счет жирных кислот и кетоновых тел. Поскольку концентрация инсулина в крови при голодании очень низка, глюкоза в мышечные клетки не проникает. Потребителями глюкозы в этих условиях становятся только инсулинезависимые клетки и прежде всего клетки мозга. Однако и в мозге в этом периоде часть энергетических потребностей обеспечивается кетоновыми телами. Глюконеогенез продолжается за счет распада тканевых белков. Интенсивность обмена веществ в целом снижена: через неделю голодания потребление кислорода уменьшается примерно на 40%.

Третья фаза продолжается несколько недель. Скорость распада белков стабилизируется на уровне примерно 20 г в сутки; при распаде такого количества белков образуется и выводится около 5 г мочевины в сутки (при обычном питании 25—30 г). Азотистый баланс во все фазы голодания отрицательный, поскольку поступление азота равно нулю. Соответственно снижению скорости распада белков уменьшается и скорость глюконеогенеза. В этой фазе и для мозга основным источником энергии становятся кетоновые тела. Если в этой фазе ввести аланин или другие гликогенные аминокислоты, немедленно повышается концентрация глюкозы в крови и снижается концентрация кетоновых тел.

При продолжении голодания нарастает атрофия тканей: через несколько недель (обычно от 4 до 8) масса сердечной мышцы и мозга уменьшается на 3—4%, скелетных мышц —

на $\frac{1}{3}$, печени — вдвое. В теле человека массой 70 кг имеется около 15 кг белков; после израсходования от $\frac{1}{3}$ до $\frac{1}{2}$ всех белков наступает гибель.

ВЛИЯНИЕ ДРУГИХ ГОРМОНОВ НА ОБМЕН УГЛЕВОДОВ, ЖИРОВ И АМИНОКИСЛОТ

Три гормона, рассмотренные выше, — инсулин, глюкагон и кортизол — переключают обмен веществ с накопления углеводов, жиров и белков в тканях на их использование при смене периодов пищеварения и голодания (хотя бы и кратковременного). Еще один гормон — адреналин — обеспечивает срочную мобилизацию гликогена и жиров при физической работе и стрессовых ситуациях. Указанные гормоны регулируют главным образом энергетический обмен — запасание и мобилизацию углеводов и жиров, катаболизм углеводов, жиров и аминокислот.

Однако состояние обмена этих веществ зависит и от многих других гормонов. В частности, соматотропин (гормон роста) стимулирует образование в печени *соматомединов* — белковых гормонов, которые, подобно инсулину, увеличивают поступление глюкозы в мышечные и жировые клетки, но в отличие от инсулина не подавляют, а активируют глюконеогенез в печени. Кроме того, соматотропин стимулирует секрецию инсулина и глюкагона, в то время как другой гормон — *соматостатин* — ингибирует ее. Андрогены и тироксин увеличивают скорость синтеза белков и скорость окисления глюкозы. По-видимому, основная функция перечисленных гормонов — регуляция анаболических процессов, связанных с ростом и морфогенезом, а их влияние на энергетический обмен углеводов, жиров и аминокислот является вторичным.

САХАРНЫЙ ДИАБЕТ

Сахарный диабет — одна из самых распространенных болезней: в мире насчитывается около 30 млн. больных диабетом. В основе болезни — нарушение регуляции обмена инсулином. При некоторых формах диабета снижен синтез инсулина, и его концентрация в крови в несколько раз меньше, чем в норме. Такие формы поддаются лечению инсулином: это так называемый *инсулинозависимый диабет*, или *диабет I типа*. Есть формы, когда содержание инсулина в крови нормально — *инсулинонезависимый диабет*, или *диабет II типа*; очевидно, в этих случаях имеются нарушения не синтеза инсулина, а других звеньев инсулиновой регуляции.

Все формы проявляются как недостаточность инсулина.

Рассмотрим основные симптомы диабета и биохимические механизмы их возникновения.

1. **Гипергликоземия и глюкозурия.** Вследствие недостаточ-

ности инсулина ослаблены все процессы использования глюкозы тканями. Глюкоза, всасываемая из кишечника, накапливается в крови в больших концентрациях и надолго задерживается в ней. Адреналин, кортизол, глюкагон являются антагонистами инсулина в отношении влияния на концентрацию глюкозы в крови. Эти гормоны при диабете продолжают действовать и усугубляют гипергликемию. Концентрация глюкозы в крови после приема пищи превышает величины, характерные для нормальной алиментарной гипергликемии (см. рис. 134), и может достигать 500 мг/дл. Гипергликемия сохраняется и в постабсорбтивном состоянии. Самые легкие формы диабета проявляются гипергликемией лишь после приема пищи, т. е. снижением толерантности к глюкозе (обнаруживается методом сахарной нагрузки). Это так называемый *скрытый диабет*.

Когда концентрация глюкозы в крови превышает почечный порог (180 мг/дл), глюкоза начинает выделяться с мочой (глюкозурия). В норме концентрация глюкозы в моче 10—20 мг/дл; при диабете она увеличивается в десятки раз. В норме за сутки с мочой выводится меньше 0,5 г глюкозы; при диабете может выводиться больше 100 г. Именно глюкозурия послужила основанием для названия болезни — *diabetes mellitus* (от лат. *diabetes* — прохожу через, *melle* — мед). Название возникло в те времена, когда врачи, анализируя мочу, пробовали ее на вкус.

2. Кетонемия и кетонурия. Вследствие недостаточности инсулина уменьшается отношение инсулин/глюкагон, т. е. имеется относительная избыточность глюкагона. По этой причине печень постоянно функционирует в режиме, который у здоровых людей характерен для постабсорбтивного состояния, т. е. интенсивно окисляет жирные кислоты и продуцирует кетоновые тела. Поскольку глюкоза при недостаточности инсулина усваивается клетками плохо, значительная часть потребностей организма в энергии обеспечивается за счет использования кетоновых тел. Однако скорость синтеза кетоновых тел может превышать даже увеличенное в этих условиях их потребление тканями. Напомним, что концентрация кетоновых тел в крови в норме меньше 2 мг/дл, при голодании до 30 мг/дл. При диабете кетонемия часто бывает 100 мг/дл, а может достигать и 350 мг/дл. При такой кетонемии возникает и кетонурия — с мочой выделяется до 5 г кетоновых тел в сутки. В тканях происходит декарбоксилирование ацетоуксусной кислоты: от больных исходит запах ацетона, который ощущается даже на расстоянии.

Кетоновые тела, являясь кислотами, снижают буферную емкость крови, а при высоких концентрациях снижают и рН крови — возникает ацидоз. В норме рН крови равна $7,4 \pm 0,04$. При содержании кетоновых тел 100 мг/дл и больше рН крови может быть близко к 7,0. Ацидоз такой степени резко нарушает функции мозга, вплоть до потери сознания.

3. Азотемия и азотурия. При недостаточности инсулина снижается синтез белков и соответственно увеличивается катабо-

лизм аминокислот. В связи с этим у больных повышена концентрация мочевины в крови и увеличено ее выведение с мочой.

4. Полиурия и полидипсия. Концентрационная способность почек ограничена, поэтому для выведения больших количеств глюкозы, кетоновых тел и мочевины при диабете требуется выделение больших количеств воды. Больные выделяют мочи в 2—3 раза больше, чем в норме (полиурия). Соответственно и потребление воды у них увеличивается (полидипсия). При тяжелых формах диабета может наступить обезвоживание организма: в результате выделения больших количеств мочи уменьшается объем крови; в нее поступает вода из межклеточной жидкости; межклеточная жидкость становится гиперосмолярной и «всасывает» воду из клеток. Быстро развиваются внешние признаки дегидратации — сухие слизистые оболочки, дряблая и морщинистая кожа, запавшие глаза. Кровяное давление при этом падает, и поэтому ухудшается снабжение тканей кислородом.

∇Ацидоз, вызванный накоплением кетоновых тел, и дегидратация — наиболее грозные симптомы диабета. Они являются предшественниками диабетической комы — резкого нарушения всех функций организма с потерей сознания. Больного, находящегося в предкоматозном или коматозном состоянии, можно спасти введением в кровь инсулина и больших количеств физиологического раствора.

Здесь рассмотрены наиболее характерные симптомы диабета. Существует много форм диабета, различающихся как по тяжести, так и по набору симптомов. В регуляции обмена углеводов, жиров и аминокислот участвуют не только те гормоны, о которых здесь шла речь, но и ряд других — соматотропин, соматостатин, тироксин, половые гормоны. Различные состояния этих систем у разных людей создают разнообразие форм диабета. Кроме того, проявления диабета могут быть разными в зависимости от того, в каком звене нарушена инсулиновая регуляция (см. рис. 136): это может быть снижение скорости синтеза или секреции инсулина на любом из многочисленных этапов процесса или увеличение скорости инактивации инсулина в печени и крови, или нарушение его связывания с рецепторами. В первых двух случаях концентрация инсулина в крови снижена (в 2—10 раз, диабет I типа), в третьем случае нормальна или даже больше нормы (диабет II типа).

Частота заболеваемости диабетом среди родственников больных выше, чем в случайной подборке людей. Это свидетельствует о наследственной предрасположенности к диабету; предрасположенность наследуется как рецессивный признак. С другой стороны, заболеваемость зависит и от условий существования, прежде всего от питания: высококалорийная, богатая жирами и углеводами пища способствует проявлению болезни у предрасположенных к ней людей.

Основным методом лечения диабета является заместительная терапия, т. е. систематическое введение недостающего гормона.

Лечение продолжается всю жизнь. Заместительная терапия применима только при формах диабета I типа, когда понижена концентрация инсулина в крови. Эти формы лечат и стимуляторами секреции инсулина — производными сульфаниламочевин. Известны случаи, когда больные при таком лечении доживали до 100 лет. Но все же в среднем продолжительность жизни больных диабетом примерно на $\frac{1}{3}$ меньше средней продолжительности жизни в популяции: это обусловлено главным образом осложнениями диабета.

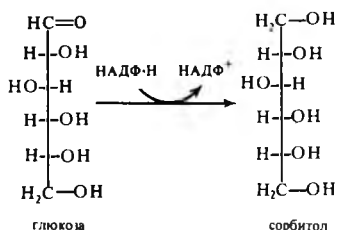
Биохимия осложнений сахарного диабета

Наиболее частые осложнения диабета — поражения почек, сетчатки и хрусталика глаза, нервов, артерий. Осложнения развиваются медленно, в течение многих лет. Их причиной является прежде всего гипергликоземия. Об этом свидетельствуют следующие наблюдения. Во-первых, вероятность появления осложнений и скорость их развития тем выше, чем больше средняя (например, среднегодовая) гипергликоземия у больного. Во-вторых, поражаемые ткани обладают общим свойством: проникновение глюкозы в их клетки не зависит от инсулина. Следовательно, в них всегда такая же концентрация глюкозы, как в крови.

Известны некоторые механизмы токсического действия глюкозы. Белки при инкубации в растворе глюкозы могут неферментативно гликозилироваться: остатки глюкозы присоединяются к свободным аминогруппам белков. Эта реакция происходит и в организме. При нормальной концентрации глюкозы ее скорость невелика, а поскольку белки постоянно обновляются, гликозилированные белки не накапливаются. При диабете вследствие гипергликоземии скорость гликозилирования увеличивается. Например, у здоровых людей гликозилировано 5—10% всего гемоглобина, а у больных диабетом в 2—3 раза больше. Доля гликозилированных белков в тканях с медленно обменивающимися белками будет больше, чем в тканях с быстро обменивающимися белками. Гликозилирование изменяет свойства белков и нарушает их функции.

Другой механизм связан с ферментативным гликозилированием. При высокой концентрации глюкозы в клетках увеличивается скорость ее превращения в другие моносахариды, а вследствие этого увеличивается и скорость синтеза гликолипидов, гликопротеинов и протеогликанов. И если даже превышение скорости синтеза над скоростью распада совсем невелико, за большое время (годы) может образоваться избыток этих веществ в клетке, нарушающий ее функции.

Еще один механизм неблагоприятного влияния высокой концентрации глюкозы на метаболизм связан с наличием в некоторых клетках специального пути превращения глюкозы, в котором образуется шестиатомный спирт сорбитол:



Сорбитол затем дегидрируется по второму углеродному атому и превращается во фруктозу. Этот путь функционирует в клетках артериальных стенок, клетках Шванна, в эритроцитах, в хрусталике и сетчатке глаза, в семенниках. При диабете в них обнаруживаются более высокие, чем в норме, концентрации сорбитола и фруктозы. Сорбитол плохо проникает через клеточные мембраны, его накопление приводит к осмотическому набуханию клеток и нарушению их функций.

Для поражения почек при диабете характерно утолщение базальных мембран и окклюзия капилляров в клубочках. Это может быть связано с накоплением гликопротеинов и протеогликанов, а также с гликозилированием коллагена. В результате нарушается фильтрация в клубочках.

Аналогичные изменения капилляров происходят в сетчатке глаза; обусловленные ими отек сетчатки и кровоизлияния являются частой причиной слепоты у больных диабетом.

Хрусталик построен из белков кристаллинов, которые обмениваются очень медленно, а может быть и совсем не обмениваются. Поэтому при диабете с годами все большая часть кристаллинов оказывается гликозилированной. Такие кристаллины склонны образовывать крупные многомолекулярные агрегаты, рассеивающие свет, и, следовательно, уменьшающие прозрачность хрусталика — возникает помутнение хрусталика, или катаракта. Кроме того, набухание хрусталика, вызванное накоплением сорбитола, разрушает упорядоченную укладку кристаллинов, что тоже приводит к его помутнению. При галактоземии накопление сорбитола (который в этом случае образуется из галактозы), по-видимому, единственная причина развития катаракты (см. гл. IX).

Поражение нервов проявляется в уменьшении толщины миелиновой оболочки, что ведет к нарушению проводимости аксона. При этом возникают ощущение онемения в разных частях тела и нарушения осязания. В развитии этих симптомов основная роль принадлежит повышению концентрации сорбитола в шванновских клетках, а также изменениям капилляров, подобным тем, которые происходят в сетчатке глаза и почечных клубочках.

Возникновению всех осложнений способствует нарушение снабжения тканей кислородом, вызванное тем, что гликозилирование гемоглобина изменяет его сродство к кислороду. Кроме того, увеличивается вязкость крови, и вследствие этого ухудшается кровообращение в капиллярах. Одной из причин увеличе-

ния вязкости крови является повышение концентрации белков в плазме. Напомним, что многие белки плазмы крови представляют собой гликопротеины, синтезирующиеся в печени, и время их полужизни в крови зависит от углеводного компонента. По-видимому, при гипергликоземии вследствие большей доступности углеводов синтез гликопротеинов усиливается.

Биохимические механизмы осложнений диабета изучены еще недостаточно, и наверняка не исчерпываются рассмотренными здесь.

Поскольку первое звено в цепи событий, ведущих к осложнениям, — высокая концентрация глюкозы в крови, при лечении диабета стремятся поддерживать ее настолько близкой к норме, насколько это возможно. Современные методы лечения не всегда удовлетворяют этому требованию. По результатам исследований, у больных диабетом с продолжительностью болезни 20 лет и больше частота осложнений в группе больных, наблюдение за которыми было систематическим, примерно в три раза меньше, чем в группе лечившихся без постоянного контроля. Перспективны исследования, направленные на разработку новых методов лечения, таких, как пересадка поджелудочной железы или суспензии В-клеток, а также создание портативного прибора, который непрерывно измеряет концентрацию глюкозы в крови и при ее повышении автоматически вводит рассчитанную им дозу инсулина.

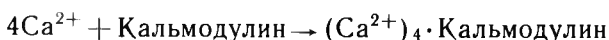
Глава XVI

РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА КАЛЬЦИЯ И ФОСФАТОВ

Основные функции кальция заключаются в следующем: 1) соли кальция образуют минеральный компонент костей; 2) ионы кальция являются кофакторами многих ферментов и неферментных белков; 3) ионы кальция во взаимодействии с белком кальмодулином служат посредником в передаче регуляторных сигналов (подобно цАМФ).

В табл. 47 указаны наиболее распространенные Са-связывающие белки.

Кальмодулин обратимо связывает ионы Ca^{2+} (4 иона на молекулу):



Комплекс $(\text{Ca}^{2+})_4 \cdot \text{Кальмодулин}$ активирует многие ферменты, соединяясь с ними:

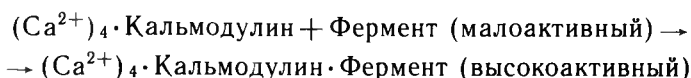
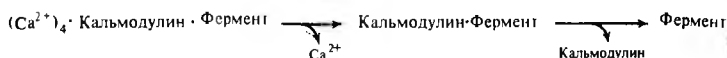


Таблица 47. Са-связывающие белки

Белок	Функция
Са-связывающий белок слизистой оболочки кишечника	Регуляция всасывания Ca^{2+} в кишечнике
Са-АТФаза	Активный трансмембранный перенос Ca^{2+}
Na, Са-переносчик	Антипорт ионов Na^+ и Ca^{2+}
Кальмодулин	Усиление чувствительности ферментов к ионам Ca^{2+}
Тубулин	Регуляция образования микротрубочек
Тропонин С	Регуляция взаимодействия актина с миоозином
Легкие цепи миозина	То же

Поскольку концентрация комплекса зависит от концентрации Ca^{2+} , активность фермента тоже зависит от концентрации Ca^{2+} в клетке. При снижении концентрации Ca^{2+} происходит распад активного комплекса и снижение активности фермента:



Таким способом регулируется активность фосфодиэстеразы цАМФ, липаз, некоторых протеинкиназ, в том числе киназы фосфоорилазы б.

Концентрация Ca^{2+} в клетке зависит от Са-АТФазы, кальциевых каналов и от концентрации Ca^{2+} во внеклеточной жидкости, а в последней она регулируется гормонами.

В организме взрослого человека содержится около 1,5 кг кальция, который образует два неравных фонда. Один из них — это кальций костей. В состав костей входит 99% всего кальция организма, 87% фосфора, около 60% магния и примерно 25% натрия. Кальций в костях находится в форме минерала гидроксиапатита, примерный состав которого $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Минеральные компоненты кости составляют половину ее массы; другая половина образована органическим матриком, который на 90% состоит из коллагена. Поскольку минеральная часть кости имеет большую плотность, на нее приходится только четверть объема кости.

Другой фонд кальция в организме — это ионы Ca^{2+} , растворенные в жидкостях или соединенные с белками жидкостей и тканей. Между обоими фондами происходит постоянный обмен кальцием.

Обмен кальция тесно связан с обменом фосфорной кислоты, образующей с кальцием плохо растворимые соли — $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaHPO_4 , $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ (перечисленные в порядке увеличения растворимости). В регуляции обмена кальция участвуют паратгормон, производные витамина D_3 и кальцитонин.

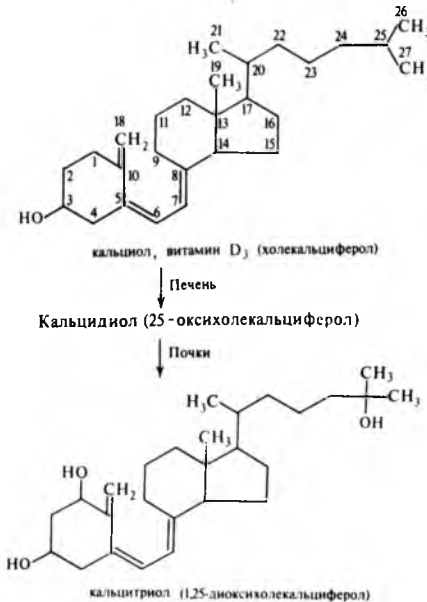
ПАРАТГОРМОН

Паратгормон — это пептидный гормон (84 аминокислотных остатка), образующийся в парашитовидных железах, расположенных на задней поверхности щитовидной железы. Его синтез и секреция стимулируются при снижении концентрации Ca^{2+} в крови и подавляются при повышении. Период полужизни паратгормона в крови человека составляет примерно 20 мин.

Основными органами-мишенями паратгормона являются кости и почки. Мембраны клеток этих органов содержат специфические рецепторы, улавливающие паратгормон, которые связаны с аденилатциклазой. В костях активация аденилатциклазы стимулирует метаболическую активность остеокластов, в результате чего начинается резорбция кости и поступление Ca^{2+} и фосфатов в кровь. В почках паратгормон увеличивает реабсорбцию Ca^{2+} и уменьшает реабсорбцию фосфатов; в результате Ca^{2+} сберегается для организма, а фосфаты выводятся. Восстановление нормальной концентрации Ca^{2+} в крови приводит к прекращению синтеза и секреции гормона.

ВИТАМИН D_3

В отличие от большинства витаминов, которые служат в качестве коферментов, витамин D_3 является предшественником вещества, функционирующего как гормон, это вещество — кальцитриол. Превращение витамина в кальцитриол происходит с участием двух органов — печени и почек: в печени образуется кальцидиол, который в почках превращается в кальцитриол:



Специфические гидроксилазы, которые катализируют эти реакции, активируются паратгормоном.

✓ **Органы-мишени кальцитриола** — тонкий кишечник и кости. В тонком кишечнике гормон стимулирует всасывание кальция и фосфатов, в костях — мобилизацию кальция. Подобно другим стероидным гормонам, кальцитриол взаимодействует с хроматином, изменяя скорость синтеза определенных белков. В частности, в клетках кишечника при введении витамина D₃ ускоряется синтез специального белка, связывающего кальций и участвующего в его всасывании. Таким образом, паратгормон и витамин D₃ являются синэргистами в отношении мобилизации кальция из костей и повышения его концентрации в крови.

✓ При недостаточности витамина D у детей развивается *рахит*. Основной признак этой болезни — нарушение минерализации растущих костей; вследствие этого кости не имеют нормальной жесткости, и у детей, страдающих рахитом, наблюдаются различные деформации скелета — выгнутые наружу голени, вывернутые внутрь колени, «четки» на ребрах, «птичья грудь» и др. Рахит обычно излечивается витамином D, однако есть формы, не поддающиеся такому лечению. Они, по-видимому, связаны с нарушением превращения витамина D₃ в организме в кальцитриол.

Лечебное действие витамина D₃ при рахите вряд ли можно объяснить только тем, что он стимулирует всасывание кальция в кишечнике; возможно, он непосредственно участвует в минерализации костей, хотя это экспериментально пока не подтверждено; наоборот, мобилизация кальция из костей при введении витамина D₃ экспериментально доказана.

Легкие формы рахита — довольно распространенная болезнь раннего детского возраста. Это связано с тем, что обычная пища ребенка в первые 1—2 года жизни содержит недостаточно витамина D. Вероятность заболевания увеличивается, если ребенок мало подвергается облучению солнечным светом: при действии солнечного света витамин D синтезируется в коже из 7-дегидрохолестерина, который образуется из холестерина.

Наиболее богатым источником витамина D является жир печени рыб. Суточная потребность взрослого человека в витамине D равна примерно 40 мкг. Продолжительное поступление избыточного количества (в несколько раз больше нормы) приводит к деминерализации костей (вследствие чего легко могут возникать переломы), к повышению концентрации кальция в крови и его отложению в мягких тканях, к образованию камней в мочевых путях.

КАЛЬЦИТОНИН

Пептидный гормон кальцитонин (32 аминокислотных остатка) синтезируется в C-клетках паращитовидных и щитовидной желез. ✓ Секрция кальцитонина увеличивается при возрастании содержания кальция в крови; таким образом, паратгормон и каль-

Кальцитонин регулируются кальцием противоположным образом. Основной орган-мишень для кальцитонина — кости, в которых он подавляет мобилизацию кальция.

КОНЦЕНТРАЦИЯ КАЛЬЦИЯ ВО ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ЖИДКОСТИ

В плазме крови здоровых людей концентрация кальция равна 9—11 мг/дл; половина этого количества представлена ионами Ca^{2+} в растворенном состоянии, другая половина — в соединении с альбумином. Постоянство концентрации поддерживается благодаря совместному действию трех гормонов — паратгормона, кальцитриола и кальцитонина (табл. 48). Эти гормоны регулируют обмен кальцием между двумя основными фондами — кальцием гидроксиапатита костей и кальцием других тканей; кроме того, они регулируют поступление кальция из кишечника и выведение через почки. Механизм обратной связи — зависимость синтеза и секреции гормонов от концентрации кальция — допускает лишь небольшие изменения его концентрации в межклеточной жидкости. Гипокальциемия и гиперкальциемия, когда концентрация кальция в плазме крови соответственно меньше 9 мг/дл или больше 11 мг/дл, свидетельствует о патологии. Изменение концентрации кальция во внеклеточной жидкости сказывается и на его концентрации внутри клеток: изменяются трансмембранные градиенты концентраций Ca^{2+} , нарушается функционирование кальциевого насоса, зависящих от кальция ферментов и регуляторных систем.

При гипокальциемии наблюдаются судороги, гиперрефлексия, спазмы гортани, которые могут быть причиной смерти от асфиксии. Эти явления — следствие снижения порога возбуждения нервных и мышечных клеток: нерв может быть возбужден даже легким стимулом в любом месте его протяжения. Тяжелая гипокальциемия бывает редко. Наиболее частая ее причина — это гипопаратиреоз, вызванный повреждением паращитовидных желез при операциях на щитовидной железе. Кроме того, гипо-

Таблица 48. Регуляция обмена кальция

Гормон	Вещество, регулирующее синтез и секрецию гормона	Действие гормона			Влияние на концентрацию Ca^{2+} в крови
		мобилизация Ca^{2+} из костей	выведение Ca^{2+} через почки	всасывание Ca^{2+} в кишечнике	
Паратгормон	Ca^{2+} ингибирует	Активирует	Ингибирует	Активирует	Повышает
Кальцитриол	Паратгормон активирует	То же			»
Кальцитонин	Ca^{2+} активирует	Ингибирует			Снижает

кальциемия может быть следствием нарушения всасывания кальция в кишечнике, например, при гиповитаминозе D, при большом содержании в пище оксалата или других соединений, связывающих кальций.

При гиперкальциемии снижается нервно-мышечная возбудимость; если концентрация кальция в крови достигает 16 мг/дл, наступает глубокое расстройство нервных функций — психозы, ступор и даже кома. Характерными симптомами гиперкальциемии являются кальцификация мягких тканей и образование камней в мочевых путях. Чаще всего причиной гиперкальциемии бывает гиперпаратиреоз как результат образования опухоли из клеток паращитовидных желез; гиперкальциемия бывает также при передозировке витамина D.

Глава XVII

ПОЛОВЫЕ ГОРМОНЫ. ГОРМОНЫ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ. ГОРМОНЫ МЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ

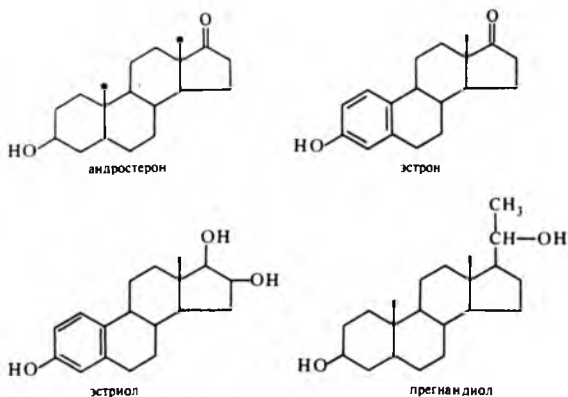
ПОЛОВЫЕ ГОРМОНЫ

Гонады выполняют две главные функции: образуют половые клетки (гаметы) и образуют половые гормоны. В свою очередь половые гормоны регулируют гаметогенез и развитие вторичных половых признаков. Половые гормоны у мужчин и женщин разные: эстрадиол у женщин и тестостерон у мужчин регулируют гаметогенез и развитие вторичных половых признаков; прогестерон у женщин стимулирует трансформацию эндометрия в децидуальную ткань для имплантации развивающейся яйцеклетки (гормон беременности). Однако в организме женщин синтезируется и тестостерон, а в организме мужчин — эстрадиол и прогестерон. Биологическое значение этого остается неясным. Гормоны, характерные для противоположного пола, обычно образуются в меньших количествах и не накапливаются в эндокринных клетках. Тестостерон в организме женщин служит промежуточным продуктом в одном из путей образования эстрадиола.

Синтез и секреция половых гормонов контролируются гонадотропными гормонами гипофиза, которые одинаковы у мужчин и женщин. В крови половые гормоны находятся в соединении со специальным транспортным белком (гликопротеином) плазмы. Половые гормоны, подобно другим стероидным гормонам, влияют на обмен веществ, изменяя скорость транскрипции определенных генов, а следовательно, и скорость синтеза соответствующих белков.

Катаболизм половых гормонов происходит в основном в печени. Главным продуктом катаболизма тестостерона, экскрети-

руемым с мочой, является андростерон; эстрадиол превращается большей частью в эстрон и эстриол; прогестерон — в прегнадиол:



Все эти метаболиты также обладают андрогенной или эстрогенной активностью; наряду с ними в моче обнаруживается много и других метаболитов половых гормонов.

Мужские половые гормоны. *Тестостерон* синтезируется в интерстициальных клетках семенников (клетки Лейдига). Синтез и секреция регулируются гипоталамо-гипофизарной системой, как показано на рис. 138. Гонадотропные гормоны гипофиза — *лютеинизирующий гормон** (гормон, стимулирующий интерстициальные клетки) и *фолликулостимулирующий гормон** представляют собой гликопротеины. Лютеинизирующий гормон ускоряет синтез и секрецию тестостерона, который в свою очередь стимулирует дифференцировку сперматогенного эпителия. Фолликулостимулирующий гормон действует непосредственно на сперматогенный эпителий. Секреция самих гонадотропных гормонов стимулируется пептидом гипоталамуса — *гонадолиберин*ом. Система регулируется по механизму отрицательной обратной связи: тестостерон ингибирует синтез и секрецию либерина и гонадотропных гормонов гипофиза.

В некоторых органах, например в гипофизе, в предстательной железе, тестостерон превращается в дигидротестостерон в результате восстановления двойной связи в цикле. Дигидротестостерон тоже обладает гормональной активностью и даже более высокой, чем тестостерон.

Стимуляция сперматогенеза и развития вторичных половых признаков андрогенами на молекулярном уровне еще не изучены и описываются в терминах морфологии и физиологии. Однако известно, что введение андрогенов приводит к положительному азотистому балансу, ускорению синтеза ДНК, РНК, белков,

* Названия этих гормонов сохранились с того времени, когда они считались специфическими для организма женщины.



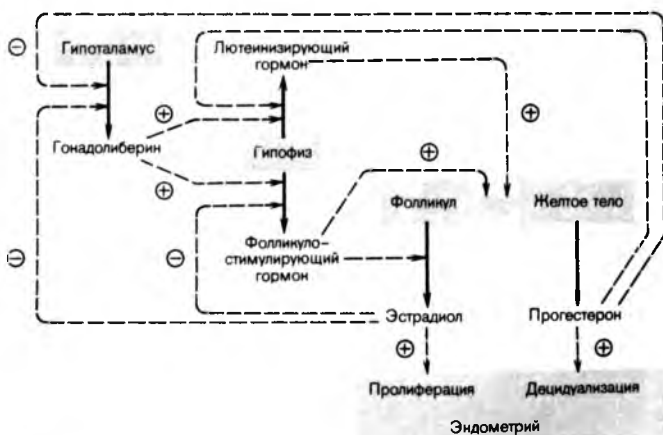
138

Регуляция синтеза мужских половых гормонов

структурных липидов и полисахаридов, т. е. всего, что необходимо для увеличения массы тканей (анаболическое действие). Некоторые синтетические аналоги андрогенов, не имеющие андрогенной активности, но стимулирующие рост тела и накопление мышечной массы, получили распространение у атлетов для повышения спортивных показателей, однако теперь выясняется, что их применение может быть опасным для здоровья.

Женские половые гормоны. Эстрадиол синтезируется в созревающем фолликуле яичника, а прогестерон — в желтом теле и в плаценте. Совместное действие гонадотропных гормонов, эстрадиола и прогестерона регулирует половой цикл у женщин (рис. 139).

В первые дни после менструации в крови немного увеличивается концентрация фолликулостимулирующего гормона и начинается созревание фолликула. Созревающий фолликул продуцирует эстрадиол; эстрадиол в эту фазу цикла вызывает проли-



139

Регуляция синтеза женских половых гормонов

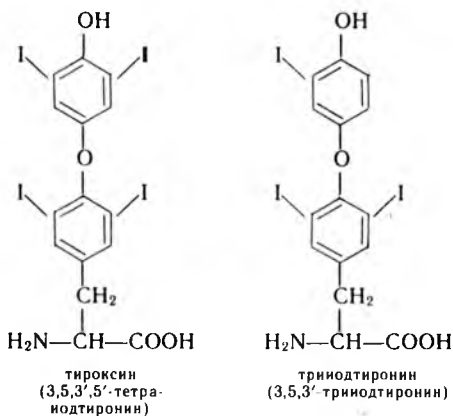
ферацию эндометрия. Примерно в середине цикла резко повышается секреция лютеинизирующего гормона, действие которого вызывает овуляцию — разрыв фолликула и освобождение яйцеклетки. Фолликул превращается в желтое тело, которое начинает секретировать прогестерон. Под действием прогестерона происходит трансформация эндометрия в децидуальную ткань, в нее имплантируется развивающаяся яйцеклетка (бластоцист) и начинается развитие эмбриона. Если же беременность не наступает, желтое тело дегенерирует, и цикл заканчивается менструацией.

Эстрадиол и прогестерон регулируют синтез и секрецию гонадотропных гормонов гипофиза по механизму отрицательной обратной связи. Синтетические аналоги эстрогенов, ингибирующие синтез и секрецию гонадотропных гормонов, но не обладающие другими свойствами эстрогенов, применяются в качестве контрацептивных средств.

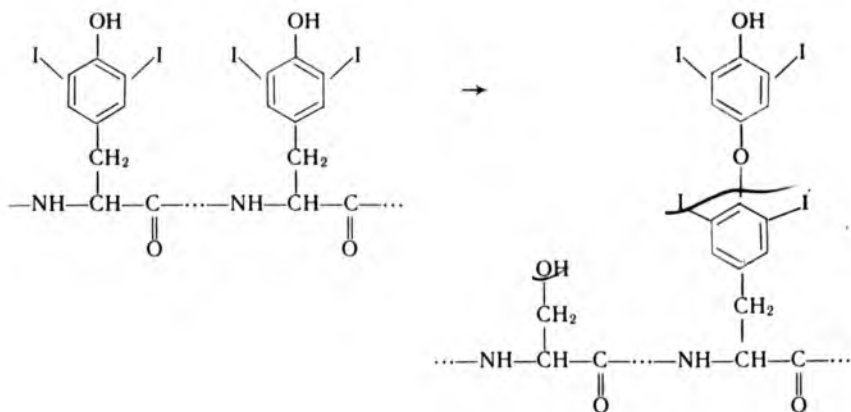
ГОРМОНЫ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Щитовидная железа синтезирует и секретирует иодтиронины: тироксин (тетраиодтиронин) и трииодтиронин. Кроме того, она образует кальцитонин (наряду с паращитовидными железами). Нарушения синтеза иодтиронинов в щитовидной железе проявляются как тяжелые болезни — диффузный токсический зоб, микседема.

Синтез иодтиронинов. Иодтиронины представляют собой иодированные производные тирозина:



В синтезе иодтиронинов участвует белок тиреоглобулин, который в результате иодирования превращается в иодтиреоглобулин. Иодирование происходит по некоторым остаткам тирозина в молекуле тиреоглобулина при участии специальной ферментной системы. При этом тирозиновые остатки превращаются в моноиодтирозиновые и диiodтирозиновые. Затем происходит конденсация двух иодированных остатков тирозина с образованием иодтиронинов, включенных в пептидную цепь белка:

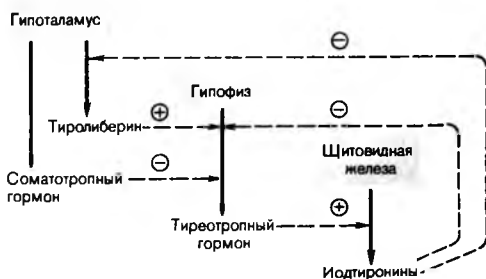


Если один из остатков иодированного тирозина представлен моноиодтирозином, то образуется трииодтиронин. Реакция эта изучена недостаточно, и возможно, что она протекает несколько иначе. Иодтиреоглобулин — белок с молекулярной массой 660 000, гликопротеин, содержит 0,5—1% иода.

Синтез иодтиреоглобулина происходит в кубоидальных эпителиальных клетках щитовидной железы. Эти клетки группируются в монослои, образующие пузырьки (фолликулы), в полость которых секретируется иодтиреоглобулин. Фолликулы заполнены гомогенным гелем, так называемым коллоидом, главный компонент которого — иодтиреоглобулин: он представляет собой запасную форму гормонов щитовидной железы.

Иодтиреоглобулин из фолликулов может путем эндоцитоза вновь поступать в клетки; эндоцитозный пузырек сливается с лизосомой и иодтиреоглобулин гидролизуется лизосомными ферментами. При этом образуются свободные иодтиронины, которые секретируются в кровь.

Регуляция синтеза и секреции иодтиронинов. Синтез и секреция иодтиронинов регулируются гипоталамо-гипофизарной системой (рис. 140). Тиролиберин гипоталамуса стимулирует секрецию гипофизарного тиреотропного гормона, который в свою очередь стимулирует синтез и секрецию иодтиронинов. Повышение концентрации иодтиронинов в крови ингибирует синтез и секрецию тиролиберина и тиреотропного гормона (отрицательная обратная связь). Образование тиреотропного гормона ингибируется также гормоном роста.



140. Регуляция синтеза иодтиронинов

Секретированные иод-

тиронины транспортируются кровью в соединении со специальным гликопротеином — тироксинсвязывающим белком. Концентрация иодтиронинов в крови равна 4—8 мкг/дл; тироксина в крови в 15—20 раз больше, чем трииодтиронина, но гормональная активность последнего примерно в 5 раз больше по сравнению с тироксином. Время полужизни иодтиронинов в крови составляет около пяти суток.

Иодтиронины проникают, по-видимому, во все клетки, кроме клеток мозга и гонад. В клетках-мишенях иодтиронины, подобно стероидным гормонам, взаимодействуют с хроматином, изменяя скорость транскрипции определенных генов.

Иодтиронины регулируют процессы двух типов: 1) рост и дифференцировку тканей; 2) энергетический обмен (при гипофункции щитовидной железы основной обмен понижается, при гиперфункции — повышается).

Гиперфункция щитовидной железы. Диффузный токсический зоб (болезнь Гревса, базедова болезнь) — наиболее распространенная форма гиперфункции щитовидной железы. При этой болезни щитовидная железа увеличена, на передней поверхности шеи отмечается припухлость (зоб); скорость синтеза иодтиреоглобулина повышена. Концентрация иодтиронинов в плазме крови в 2—5 раз превышает нормальную, что приводит к тиреотоксикозу.

Характерными симптомами тиреотоксикоза являются мышечная слабость, повышенные аппетит и потребление пищи и одновременно потеря веса (отрицательный азотистый баланс), повышенная температура тела. Эти проявления болезни объясняют одновременным усилением анаболических и катаболических процессов, причем катаболизм усиливается в большей мере, о чем свидетельствует потеря веса. Иодтиронины активируют транскрипцию определенных генов в клетках разных органов, соответственно увеличивается скорость синтеза белков, а это сопряжено со значительным расходом энергии.

Одним из белков, синтез которых увеличивается, является Na,K-АТФаза: количество этого фермента в плазматических мембранах клеток увеличивается, вследствие чего ускоряется обмен ионов между клетками и межклеточной средой. Работа натриевого насоса тоже требует существенного расхода АТФ (в норме натриевый насос потребляет около 20% всей синтезируемой в организме АТФ). Увеличенный расход АТФ при тиреотоксикозе приводит к ускорению катаболизма пищевых веществ и синтеза АТФ в результате действия дыхательного контроля и регуляции общего пути катаболизма. Основной обмен у страдающих диффузным токсическим зобом повышен на 30—60% по сравнению с нормой.

Причины возникновения диффузного токсического зоба неясны. Концентрация тиреотропного гормона в крови больных снижена вследствие высокой концентрации иодтиронинов, что указывает на нормальное функционирование гипоталамо-гипофи-

зарного звена регуляции. Примерно у половины больных в крови обнаруживается иммуноглобулин, избирательно связывающийся с рецепторами тиреотропного гормона в щитовидной железе; Этот иммуноглобулин имитирует действие тиреотропного гормона, т. е. стимулирует синтез иодтиреоглобулина. Возможно, в этих случаях гиперфункция щитовидной железы является следствием нарушения иммунных реакций организма, проявляющегося в образовании антител к белкам собственных тканей.

√ **Гипофункция щитовидной железы.** Характерными симптомами недостаточности иодтиронинов являются снижение основного обмена и температуры тела, больные плохо переносят холод. Гипофункция, начинающаяся в раннем детском возрасте, приводит к задержке роста и непропорциональному развитию тела, глубоким нарушениям психики и умственных способностей. У взрослых гипофункция проявляется как микседема (слизистый отек): происходит утолщение кожи вследствие избыточного накопления в ней протеогликанов и воды.

Гипофункция может возникать в результате врожденных дефектов ферментов и регуляторных белков, участвующих в синтезе иодтиронинов, или как осложнение других болезней, при которых повреждаются гипоталамус, гипофиз, щитовидная железа.

Одной из форм недостаточности иодтиронинов является *эндемический зоб* — болезнь, связанная с недостаточным поступлением иода в организм. Иод — элемент, сравнительно мало распространенный в земной коре, и есть районы, в которых его содержание в воде и почве недостаточно, чтобы обеспечить потребности организма. Именно в таких местностях часто встречается эндемический зоб (т. е. приуроченный к определенному географическому району). Недостаток иода приводит к увеличению размеров щитовидной железы, иногда значительному. Это происходит главным образом за счет разрастания соединительной ткани; продукция иодтиронинов при этом не увеличивается. Для предотвращения развития зоба в местностях с малым содержанием иода в воде и почве соли иода добавляют в продаваемые пищевые продукты, обычно в поваренную соль (1—2,5 г иодистого калия на 100 кг).

ГОРМОНЫ МЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ

Большинство рассмотренных выше гормонов после секреции из эндокринных клеток попадают в кровь и через нее становятся доступными во всех частях организма. Они обычно одновременно действуют на многие органы или регулируют системы и процессы, общие для всех органов, например такие, как энергетический обмен углеводов, жиров и аминокислот, объем и солевой состав жидкостей организма, рост и дифференцировку тканей.

Сфера влияния гормонов местного действия более узкая и ограничивается одним органом или небольшой частью тела. Эти

гормоны не обязательно транспортируются на большие расстояния в пределах тела, их путь может быть и очень коротким — лишь до соседней клетки. Гормоны местного действия образуются либо специализированными клетками, рассеянными в ткани, либо самими паренхиматозными клетками органа. Между истинными гормонами и гормонами местного действия нет резкой границы и нет принципиальной разницы: и те и другие выполняют роль дистантных химических сигналов, координирующих функции или соседних клеток, или отдаленных друг от друга органов.

Либерины и статины гипоталамуса, по существу, можно отнести к местным гормонам, поскольку они регулируют только функцию близко расположенного гипофиза. Гормонами местного действия являются гистамин и серотонин (см. гл. XI), производные арахидоновой кислоты — простагландины и тромбоксаны, кинины, гормоны пищеварительного тракта.

Простагландины и тромбоксаны

Арахидоновая кислота дает начало большой группе ненасыщенных жирных кислот, выполняющих функции местных гормонов: на рис. 141 приведены некоторые из них. Простагландины содержат пятичленный углеродный цикл, тромбоксаны — шестичленный гетероцикл. Первые два представителя — простагландины G_2 и H_2 — содержат пероксидную группу (эндопероксиды простагландинов). Простагландин H_2 служит предшественником простагландинов семейства E_2 , семейства F_2 и тромбоксанов (индекс указывает число углерод-углеродных двойных связей в молекуле; у других членов семейств оно может быть равным единице или трем). Многие простагландины и тромбоксаны — вещества чрезвычайно нестабильные: в водном растворе время их полупревращения измеряется минутами или даже секундами (например, время полупревращения тромбоксана A_2 составляет 30—40 с).

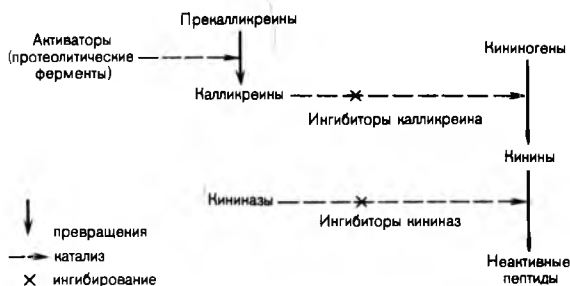
Простагландины и тромбоксаны обнаружены во многих органах и тканях. Описано множество физиологических и фармакологических проявлений их действия на разные клетки, причем разные простагландины и тромбоксаны действуют неодинаково. Например, простагландины семейства E вызывают расслабление гладких мышц бронхов и трахеи, а простагландины семейства F , наоборот, сокращение; тромбоксан A_2 стимулирует агрегацию тромбоцитов, а простагландины I_2 , наоборот, ингибируют. Молекулярные механизмы действия простагландинов и тромбоксанов пока неизвестны.

Простагландины и их синтетические аналоги применяются в качестве лекарственных средств в акушерской практике для стимуляции родовой деятельности, а также при астме для снятия спазма бронхов, для предупреждения и лечения тромбозов, снижения артериального давления.

Простагландины участвуют в воспалительном процессе: их концентрация в очаге воспаления повышена, и они усиливают

ной цепи кининогенов, расположенный в ее середине. Этот участок вырезается из молекулы кининогена специфическими пептид-гидролазами — *калликреинами*, которые имеются в плазме и клетках крови и во многих органах. Калликреин плазмы крови и тканевой калликреин — разные ферменты: калликреин плазмы отщепляет от кининогенов брадикинин, а калликреин тканей — лизилбрадикинин.

Время полужизни кининов очень невелико, всего 20—30 с: они расщепляются *кининазами* — группой пептидаз крови и тканей, гидролизующих в кининах разные пептидные связи. Расщепление хотя бы одной связи в брадикинине полностью его инактивирует. Концентрация кининогенов в тканях регулируется сложной системой активаторов и ингибиторов (рис. 142). Калликреины образуются из неактивных проферментов путем частичного протеолиза; ингибиторы калликреинов и киназаз представляют собой белки.



142

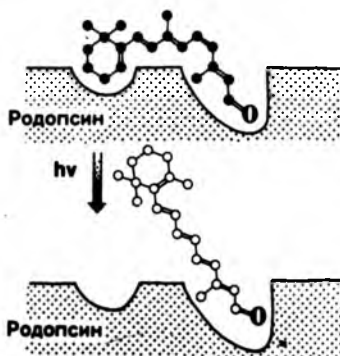
Регуляция образования кининов

Кинины расслабляют гладкие мышцы кровеносных сосудов, т. е. обладают сосудорасширяющим действием. Брадикинин — самое сильное сосудорасширяющее вещество в организме; расширение сосудов приводит к снижению кровяного давления. Кроме того, кинины повышают проницаемость капилляров и вызывают боль. Расширение сосудов, увеличение проницаемости капилляров и боль бывают при воспалении. На этом основании считают, что кинины наряду с гистамином и простагландинами участвуют в развитии воспалительной реакции.

Воспаление — естественная реакция на повреждение тканей; ее можно считать начальным этапом заживления. Однако если нарушена регуляция синтеза или распада гистамина, простагландинов и кининов, то их концентрация в тканях может в течение длительного времени превышать нормальную, и тогда воспаление само становится патологическим процессом, болезнью. Это явление составляет важное звено патогенеза ряда воспалительных болезней, таких, как панкреатиты, артриты, ревмокардиты, аллергические реакции, ожоговая болезнь, бронхиальная астма, инфекционные болезни и др.

Часть 4

Особенности биохимии отдельных органов и систем



Глава XVIII

БИОХИМИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

Отдельные органы и системы, выполняющие в организме специфические функции, различаются также и по химическому составу, химическим реакциям и физико-химическим процессам. Биохимические особенности составляют основу специализированных функций органов.

Межклеточный матрикс — это определенным образом организованное вещество, заполняющее промежутки между клетками. Матрикс построен в основном из соединений четырех классов — коллагена, протеогликанов, неколлагеновых структурных гликопротеинов и эластина.

Базальные мембраны представляют собой пленки, на которых «растут» все клетки организма, кроме клеток соединительной ткани и крови. Базальные мембраны построены из тех же соединений, что и межклеточный матрикс, и, по существу, являются его специализированной частью. Они ограничивают области соединительной ткани от других тканей. Например, эпителиальные клетки образуют слой, основанием которого служит базальная мембрана. Такие клетки отличаются ясно выраженной структурной и функциональной асимметрией; в частности, неодинаковы по строению и функциям участки плазматической мембраны, контактирующие с базальной мембраной, с соседними клет-

ками, и свободная часть; аппарат Гольджи обычно расположен в апикальной части клетки. Друг с другом клетки соединены десмосомами и межклеточным веществом, а основанием (базальным концом) прикреплены к базальной мембране, которая в свою очередь связана с межклеточным веществом соединительной ткани.

Базальные мембраны имеются между эпидермальным и дермальным слоями кожи; под эпителием, выстилающим полости пищеварительного, дыхательного, мочеполового трактов; под эндотелием кровеносных сосудов; вокруг клеток Шванна, адипоцитов, мышечных клеток (в скелетных и сердечной мышцах); в основании паренхиматозных клеток экзокринных и эндокринных желез.

✓ *Соединительная ткань*, подобно любой ткани, наряду с межклеточным веществом содержит клетки, главными из которых являются фибробласты и их разновидности (остеобласты, хондробласты, кератоциты и др.). Соединительную ткань отличают от других тканей большие промежутки между клетками и соответственно большое количество межклеточного вещества: на его долю приходится преобладающая часть массы соединительной ткани. Более 80% всего коллагена тела находится в коже, костях, связках, сухожилиях, хрящах. Поэтому основные компоненты межклеточного матрикса были впервые обнаружены именно в соединительной ткани и долгое время считались характерными только для этой ткани. Клетки соединительной ткани не связаны с базальными мембранами; они покоятся или мигрируют непосредственно в толще межклеточного вещества.

Межклеточный матрикс выполняет многообразные, в том числе специализированные функции в разных дифференцированных органах. Если же говорить о наиболее общих его функциях, то прежде всего следует отметить участие межклеточного матрикса в пролиферации и дифференцировке клеток и в образовании тканей: в этих процессах межклеточный матрикс выполняет роль строительных лесов и каркаса, на котором формируется ткань. Кроме того, в сформированных тканях межклеточный матрикс скрепляет, склеивает клетки друг с другом, поддерживает форму клеток и форму органов, придает тканям механическую прочность.

КОЛЛАГЕН И ЭЛАСТИН

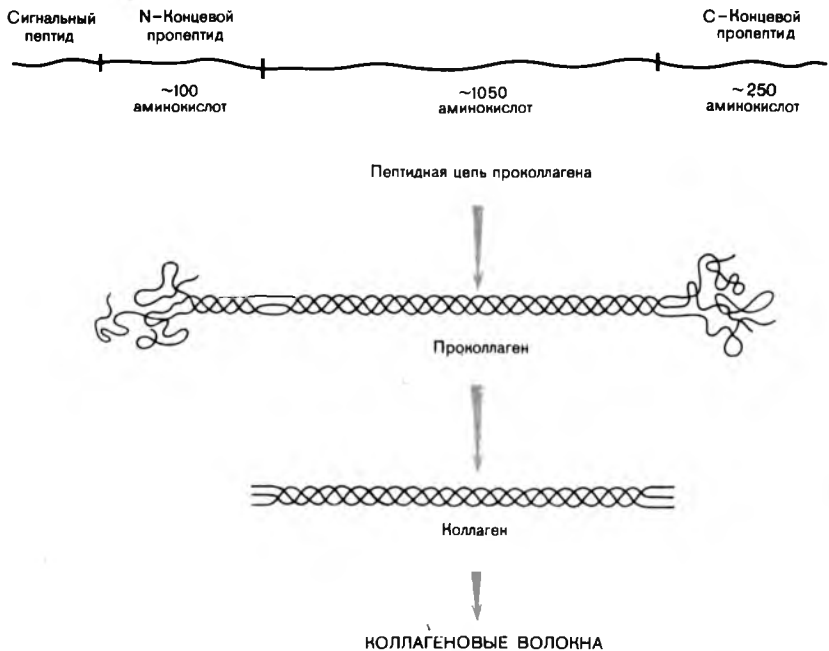
Строение коллагена описано в гл. I. В организме человека имеется по крайней мере пять типов коллагена, несколько различающихся по первичной структуре пептидных цепей, функциям и локализации в организме (табл. 49). Однако во многих органах встречаются коллагены двух-трех типов; кроме того, в процессе онтогенеза, а также при некоторых болезнях происходит изменение состава коллагенов в отдельных органах. Наиболее распространенным является коллаген I.

Таблица 49. Типы коллагена

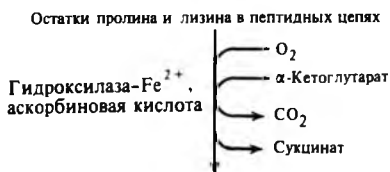
Тип	Преимущественная локализация	Тип	Преимущественная локализация
I	Сухожилия, связки, кости	IV	Базальные мембраны
II	Хрящи	V	»
III	Кровеносные сосуды, кишечник, кожа		»

Коллаген синтезируют и секретируют в межклеточную среду многие клетки (если не все), но в количественном отношении главными продуцентами коллагена являются клетки фибробластного ряда соединительной ткани (в соответствии с большой массой межклеточного вещества в этой ткани). Синтез коллагена включает стадии трансляции, внутриклеточной посттрансляционной модификации пептидных цепей, трансмембранного переноса и внеклеточной модификации, завершающейся образованием коллагеновых волокон (рис. 143).

Пептидные цепи коллагена образуются на полирибосомах, связанных с мембранами эндоплазматического ретикулула. Одновременно с трансляцией происходит гидроксирование пролиновых и лизиновых остатков в растущих пептидных цепях. В этой



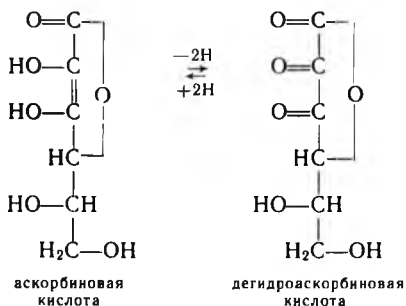
реакции используются кислород и α -кетоглутарат; в качестве кофакторов участвуют ион Fe^{2+} и аскорбиновая кислота (витамин С):



Остатки 4-гидроксипролина и 5-гидроксилизина в пептидных цепях

Один из двух атомов кислорода расходуется на образование гидроксильной группы в аминокислоте, а другой — на образование карбоксильной группы в янтарной кислоте.

Аскорбиновая кислота легко окисляется в дегидроаскорбиновую кислоту:



Обратное превращение происходит в ферментативном процессе за счет восстановленного глутатиона. В качестве кофермента гидроксилаз аскорбиновая кислота, вероятно, выполняет роль восстановителя, способствующего сохранению иона железа в двухвалентном состоянии.

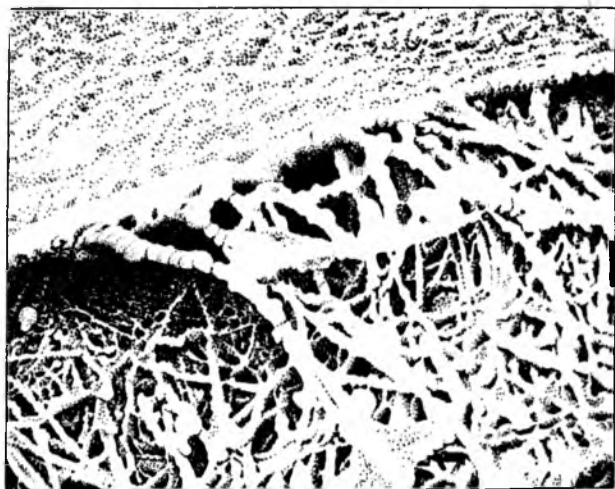
Гидроксилирование пролина необходимо для образования на последующих этапах стабильной трехспиральной структуры коллагена. Гидроксилированные остатки лизина (наряду с негидроксилированными) участвуют в образовании ковалентных связей между молекулами коллагена при сборке коллагеновых фибрилл. При цинге — болезни, вызванной недостатком витамина С, синтез коллагена нарушен на стадии гидроксилирования пролиновых и лизиновых остатков. В результате неполного гидроксилирования пептидных цепей образуются менее стабильные и прочные коллагеновые волокна. С этим связана ломкость кровеносных сосудов при цинге и возникновение множественных точечных кровоизлияний.

По мере роста пептидных цепей они с помощью гидрофобного сигнального участка на N-конце проникают через мембрану в по-

лость эндоплазматического ретикулума, где сразу же отщепляется сигнальный пептид. В полости происходит гликозилирование пептидных цепей и их объединение в трехспиральные молекулы проколлагена: в правильной ориентации цепей участвуют концевые пропептиды. В ходе этих превращений проколлаген перемещается из эндоплазматического ретикулума в аппарат Гольджи, включается в секреторные гранулы и секреторируется. Уже в межклеточном пространстве при действии группы специальных протеолитических ферментов от проколлагена отщепляются концевые пропептиды и образуется коллаген (тропоколлаген). В коллагене базальных мембран концевые пептиды могут и не отщепляться.

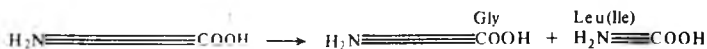
Образование коллагеновых фибрилл — это в основном процесс самосборки, но структуры, получающиеся в результате самосборки, закрепляются путем образования межмолекулярных ковалентных сшивок за счет взаимодействия остатков лизина или гидроксизина. На рис. 144 представлена электронная микрофотография базальной мембраны и коллагеновых волокон. Коллагеновые волокна имеют высокую механическую прочность; разветвленные и переплетающиеся волокна образуют трехмерную сетку, заполненную другими веществами межклеточного матрикса, которая и придает прочность тканям.

Коллаген — медленно обменивающийся белок: время его полужизни измеряется неделями или месяцами (при расчете на тотальный коллаген организма). Большинство протеолитических ферментов тканей, а также пищеварительные ферменты не гид-



144
Электронная микрофотография базальной мембраны и расположенных под ней коллагеновых фибрилл

ролизуют нативный коллаген. √Ключевую роль в катаболизме коллагена играет специфический фермент *коллагеназа*. Этот фермент перерезает все три пептидные цепи молекулы коллагена в одном месте, примерно на $1/4$ расстояния от С-конца, между остатками глицина и лейцина (или изолейцина):



Образующиеся фрагменты растворимы в воде и легко денатурируются, после чего их пептидные связи становятся доступными для гидролиза разными пептидгидролазами. Распад коллагена — единственный источник свободного гидроксипролина в организме. Преобладающая часть гидроксипролина катаболизируется, а часть выделяется с мочой главным образом в составе небольших пептидов (ди- и трипептидов). Поэтому содержание гидроксипролина в крови и моче отражает баланс скорости катаболизма коллагена (источник гидроксипролина) и скорости катаболизма гидроксипролина. У взрослого человека экскретируется 15—50 мг гидроксипролина в сутки; в возрасте 10—20 лет — до 200 мг в сутки. При некоторых болезнях, связанных с поражением соединительной ткани, экскреция гидроксипролина увеличивается вследствие ускоренного распада коллагена, например при гиперпаратирозидизме, болезни Педжета (до 1 г в сутки). Еще больше выделяется гидроксипролина при наследственной гипергидроксипролинемии: в этом случае причиной является нарушение катаболизма гидроксипролина, а именно — дефект фермента гидроксипролинксидазы.

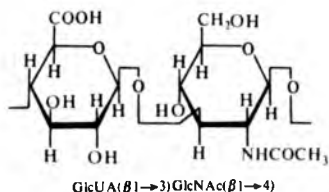
√Синтез коллагена увеличивается в заживающей ране. Главные события заживления — это миграция в область раны фибробластов и синтез ими веществ межклеточного матрикса. На месте раны образуется разновидность соединительной ткани — рубец, основным компонентом которого является коллаген. Сходным образом происходит замещение погибающих клеток соединительной тканью в печени при циррозе, в стенках артерий при атеросклерозе, в мышцах при их дистрофии.

Менее изучен другой фибриллярный белок соединительной ткани — *эластин*. Как и коллаген, эластин содержит много глицина и пролина. Однако в отличие от коллагена в нем мало гидроксипролина, нет гидроксизилина и необычно много валина, даже больше, чем пролина; много также других гидрофобных аминокислот. √Эластин — основной компонент эластических волокон соединительной ткани. Способность коллагена к упругому растяжению невелика, в то время как эластин — резиноподобный полимер. Он содержится в больших количествах в межклеточном веществе тканей, испытывающих периодические растяжения и сокращения, таких, как крупные кровеносные сосуды, связки, легкие; например в аорте эластин составляет 30—60% от массы вещества ткани, в вийной связке — 70—80%.

ГЛИКОЗАМИНГЛИКАНЫ И ПРОТЕОГЛИКАНЫ

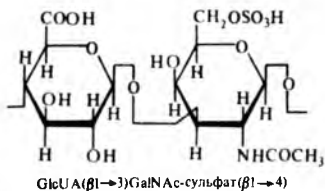
Гликозамингликаны (мукополисахариды) представляют собой линейные гетерополисахариды, построенные из повторяющихся дисахаридных единиц. В состав гликозамингликанов входят гексуриновые кислоты (чаще глюкуроновая кислота) и N-ацетилпроизводные глюкозамина или галактозамина. В табл. 50 приведены основные гликозамингликаны тканей человека.

Гиалурионовая кислота построена из повторяющейся единицы, включающей глюкуроновую кислоту (GlcUA) и N-ацетилглюкозамин:



Молекулярная масса гиалурионовой кислоты достигает нескольких миллионов (20—30 тыс. мономеров в молекуле).

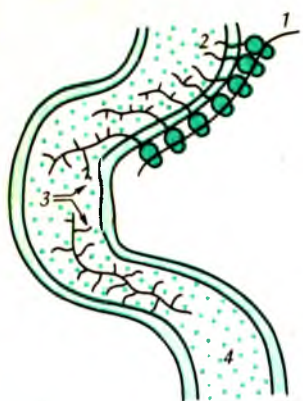
Хондроитинсульфаты содержат повторяющуюся единицу из глюкуроновой кислоты и сульфированного N-ацетилгалактозамина:



Т а б л и ц а 50. Строение гликозамингликанов

Гликозамингликан	Дисахаридная единица		Число сульфатных групп на 1 дисахаридную единицу
	гексуриновая кислота	гексозамин	
Гиалурионовая кислота	Глюкуроновая	N-ацетилглюкозамин	0
Хондроитин-4-сульфаты и хондроитин-6-сульфаты	»	N-ацетилгалактозамин	0,1—1,3
Дерматансульфаты	Идуриновая или глюкуроновая	»	1—3
Кератансульфаты	Галактоза*	N-ацетилглюкозамин	0,9—1,8
Гепарансульфаты	Глюкуроновая или идуриновая	»	0,4—2
Гепарин	То же	»	1,6—3

* Не уроновая кислота.



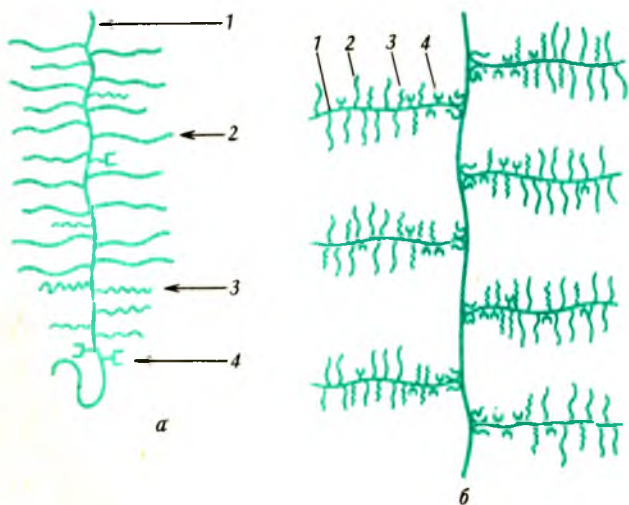
145

Бiosинтез протеогликанов:

1 — мРНК в составе полирибосомы, связанной с мембраной; 2 — растущая пептидная цепь; 3 — полисахаридные цепи; 4 — полость эндоплазматического ретикулума

В хондроитин-4-сульфате остаток серной кислоты находится в четвертом положении. Молекулярная масса хондроитинсульфатов лежит в пределах 10—60 тыс. Хондроитинсульфаты входят в состав соединений, содержащих белок и называемых протеогликанами.

Белковая часть протеогликанов, как и другие секретируемые белки, синтезируется на полирибосомах, связанных с эндоплазматическим ретикулумом. Пептидная цепь пронизывает мембрану и растет в полость эндоплазматического ретикулума (рис. 145). Здесь начинается синтез гликозамингликановой части протеогликана. К гидроксильным группам серина при участии гликозилтрансферазы присоединяется первый моносахаридный остаток, затем цепь удлиняется путем присоединения очередных моносахаридов. Здесь же происходит сульфирование углеводной части. Одновременно с синтезом полисахаридных цепей молекула протеогликана про-



146

Строение протеогликана из хряща (а) и фрагмент комплекса гиалуроновой кислоты с протеогликанами (б):

1 — белок; 2 — хондроитинсульфаты; 3 — кератансульфаты; 4 — олигосахариды

двигается по направлению к аппарату Гольджи, где включается в секреторные гранулы и экзоцитируется. На одной пептидной цепи образуется большое число цепей гликозамингликана, так что получается молекула протеогликана, напоминающая ершик (рис. 146, а). Молекула протеогликана из хряща содержит около 100 цепей хондроитинсульфата и около 60 цепей кератансульфата. На долю белка приходится около 5—10% всей массы молекулы. Разные протеогликаны различаются набором гликозамингликанов, размером молекулы, относительным содержанием белка.

В межклеточном веществе гликозамингликаны содержатся главным образом в составе комплексов, содержащих гиалуроновую кислоту и протеогликаны. Строение этих комплексов представлено на рис. 146 («ершик из ершиков»). На одном из концов пептидной цепи протеогликана есть центр связывания, взаимодействующий с моносахаридами гиалуроновой кислоты. Одна молекула гиалуроновой кислоты может присоединить до 150 молекул сульфатированных протеогликанов.

Молекулы протеогликанов в растворе «распушены» вследствие отталкивания одноименно заряженных сульфатированных цепей гликозамингликанов, а также вследствие гидратации. Кроме того, по тем же причинам отдельные молекулы располагаются не вплотную друг к другу. Таким образом объемом, занимаемый молекулами, значительно больше, чем объем самих полисахаридных и пептидных цепей. При увеличении давления объем, занимаемый молекулами, обратно уменьшается: жидкость выжимается из промежутков между гликозамингликановыми цепями, и они сближаются друг с другом. Поскольку цепи одноименно заряжены, сопротивление давлению нарастает по мере сжатия молекул. Если давление снять, молекулы вновь принимают «распушенную» форму. Это свойство протеогликанов особенно важно для хрящей суставных поверхностей, где протеогликаны смягчают переменные нагрузки, выполняя роль рессор. Межклеточный матрикс хряща содержит коллагеновые волокна, которые делают его прочным, а распределенный между волокнами протеогликановый гель, подобно частично сжатой пружине, создает тургор и гасит резкие перемены нагрузки.

Гликозамингликановый гель ограничивает диффузию и проницаемость межклеточного вещества для молекул и частиц. Это наглядно проявляется в таком опыте. Если в кожу ввести на кончике иглы тушь, то образуется небольшое пятнышко (точка). Если же тушь ввести вместе с гиалуронидазой — ферментом, разрушающим гиалуроновую кислоту, получается большое расплывчатое пятно. Некоторые патогенные микроорганизмы (возбудители газовой гангрены, гнойных инфекций) выделяют гиалуронидазу, что способствует распространению патологического процесса на соседние ткани.

Гликозамингликаны представляют собой поливалентные анионы, способные связывать большие количества ионов Na^+ . Это

свойство определяет участие межклеточного вещества в регуляции водно-солевого обмена.

Гиалуроновая кислота в некоторых органах встречается и в свободном виде, например в стекловидном теле глаза, в суставной жидкости, в пупочном канатике. В суставной жидкости она, по-видимому, выполняет роль смазки, уменьшая трение между суставными поверхностями.

Гепарин существует в форме одиночных полисахаридных цепей или в форме протеогликанов — белков, содержащих несколько полисахаридных цепей. Гепарин синтезируется в тучных клетках, располагающихся вдоль стенок кровеносных сосудов. Он участвует в регуляции свертывания крови (гл. XX).

Мукополисахаридозы. Катаболизм гликозамингликанов (мукополисахаридов) происходит в лизосомах при участии набора специфических гликозидаз, каждая из которых гидролизует определенные гликозидные связи. Мукополисахаридозы — это форма гликозидозов, связанная с наследственным дефектом какого-либо из ферментов, гидролизующих гликозамингликаны (табл. 51). Мукополисахаридозы — тяжелые заболевания, проявляющиеся в резком нарушении развития ребенка и уменьшении продолжительности жизни.

Таблица 51. Некоторые мукополисахаридозы

Название болезни	Продукты накопления	Дефектный фермент
Болезнь Гурлер	Дерматансульфат, гепарансульфат	α -L-Идуронидаза
Болезнь Гюнтера	Дерматансульфат	Идуронатсульфатаза
Болезнь Санфилиппо	Гепарансульфат	Гепарансульфатаза, N-ацетил- α -D-глюкозаминидаза или ацетилтрансфераза
Болезнь Моркио	Кератансульфат, хондритин-6-сульфат	Хондроитинсульфат-N-ацетилгалактозамин-6-сульфат-сульфатаза
Болезнь Марото — Лами	Дерматансульфат	Хондроитинсульфат-N-ацетилгалактозамин-4-сульфат-сульфатаза
Болезнь Слая	Хондроитинсульфаты	β -Глюкуронидаза

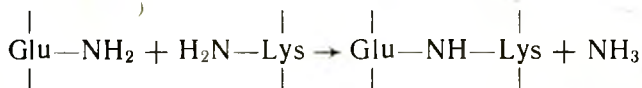
СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

Компоненты межклеточного матрикса, соединяясь между собой и с клетками, образуют единую систему ткани. Значительную роль в объединении компонентов играют специальные белки — неколлагеновые структурные гликопротеины, наиболее изученным из которых является фибронектин. Этот белок построен из двух одинаковых (или почти одинаковых) пептидных цепей, соединенных вблизи карбоксильного конца двумя дисульфидными связями. Каждая цепь содержит 7—8 доменов, между которыми

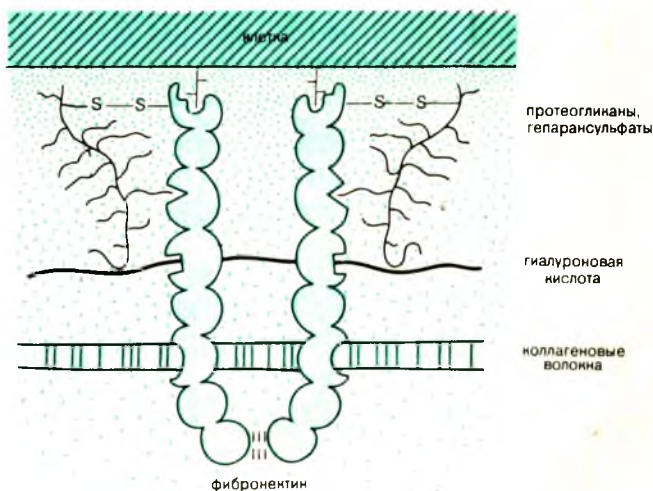
имеются неструктурированные гибкие участки. Молекулы имеют вытянутую форму (примерные размеры 60×2 нм).

Фибронектин синтезируется и секретируется в межклеточное пространство многими клетками. Он имеется на поверхности клеток, в базальных мембранах, в глубине межклеточного вещества соединительной ткани, а также в плазме крови.

Фибронектин присоединяется к углеводным группам сиалогликолипидов (ганглиозидов) или сиалогликопротеинов плазматической мембраны клеток, а также к коллагену, гиалуроновой кислоте и сульфированным гликозамингликанам. Для каждого из этих соединений на молекуле фибронектина имеется специфический центр связывания. Благодаря такой поливалентности фибронектин может выполнять интегрирующую роль в организации межклеточного вещества (рис. 147). Кроме того, на молекуле фибронектина есть центр связывания *трансглутаминазы* — фермента, который катализирует реакцию между остатками глутамина одной белковой молекулы и остатками лизина другой белковой молекулы, сшивая их друг с другом:



Присоединяясь к фибронектину, трансглутаминаза сшивает поперечными связями молекулы фибронектина друг с другом, с



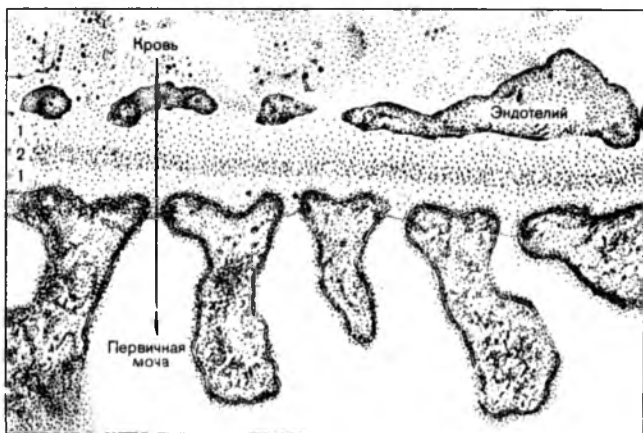
147

Взаимодействия молекул межклеточного вещества и наружной поверхности клетки. Рисунок отражает только возможные связи между молекулами, но не действительное их расположение

коллагеном и другими белками. Таким способом структуры, возникающие путем самосборки, фиксируются прочными ковалентными связями.

Межклеточный матрикс в разных тканях различен по строению и частным функциям; по-видимому, специализированных структур межклеточного матрикса не меньше, чем разных органов. В частности, соединительная ткань в разных органах характеризуется специфической структурой матрикса, которая, например, в роговице глаза обеспечивает ее прозрачность, в коже, сухожилиях, связках — прочность, в хрящах суставных поверхностей — рессорные свойства. В мышцах межклеточный матрикс окружает мышечные волокна, соединяя их вместе в функциональную анатомическую единицу, и служит для передачи силы сокращения мышцы.

Примером специализированной функции базальной мембраны может служить ее роль в образовании первичной мочи в почечных клубочках. Обычно базальные мембраны одной поверхностью контактируют с выстилающими ее клетками, а другой — с межклеточным матриксом соединительной ткани. Базальная мембрана капилляров в почечных клубочках относится к исключениям из этого правила: обе ее поверхности контактируют с клетками (рис. 148). Между клетками эндотелия имеются промежутки (окна, фенестры), в области которых кровь непосредственно контактирует с базальной мембраной. Именно здесь происходит фильтрация, в результате чего в полость Боуеновой капсулы попадают вода и растворенные в ней низкомолекулярные компоненты плазмы крови; белки плазмы не проникают через мембрану.



148

Строение стенки капилляров в почечных клубочках. В базальной мембране слой 1 содержат протеогликаны, углеводная часть которых представлена гепарансульфатом, гиалуроновой кислотой, а также неколлагеновые структурные гликопротеины (ламинины, фибронектин); слой 2 построен из коллагена типа IV

Базальная мембрана имеет три слоя: построенный из коллагена средний слой, по обеим сторонам которого располагаются слои, содержащие протеогликаны, гиалуроновую кислоту, а также неколлагеновые структурные гликопротеины (ламинин, фибронектин). Мембрана непроницаема для белков плазмы по двум причинам. Во-первых, размер промежутков между молекулами в мембране ограничивает возможность проникновения через нее веществ с высокой молекулярной массой (больше 70 000). Во-вторых, белки плазмы крови имеют отрицательный заряд, что создает еще одно препятствие для их проникновения в отрицательно заряженную область сульфатированных гликозамингликанов базальной мембраны. Значение заряда можно обнаружить в простом опыте: если животному ввести в кровь какой-нибудь не слишком крупный белок с положительным суммарным зарядом, то он появляется в моче.

Проницаемость базальных мембран имеет значение не только при образовании мочи. Все эпителиальные и мышечные клетки питаются веществами межклеточной жидкости, которая просачивается из капилляров. Чтобы достигнуть клеток, транспортируемые молекулы должны последовательно пересечь эндотелий капилляра, базальную мембрану эндотелия, матрикс соединительной ткани, базальную мембрану питаемых клеток. Таким образом, способность молекул достигать клеток зависит от проницаемости всех слоев между ними и кровью; в числе этих слоев есть обычно две базальные мембраны.

Глава XIX

ПЕЧЕНЬ. ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ МЕТАБОЛИТОВ И ОБМЕН ЧУЖЕРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Печень как никакой другой орган отличается разнообразием ферментов, а соответственно и метаболических превращений веществ. Важнейшие функции печени в организме заключаются в следующем.

1. Биосинтез веществ «на экспорт», т. е. таких, которые функционируют или используются в других органах. К ним относятся белки плазмы крови, глюкоза, жиры, кетоновые тела и множество других, образующихся в малых количествах, но тоже имеющих жизненно важное значение (укажем в качестве примера на синтез кальцидиола).

2. Биосинтез мочевины как конечного продукта обмена азота в организме.

3. Пищеварительная функция, связанная с синтезом желчных кислот, образованием и секрецией желчи.

4. Обезвреживание токсических веществ, образующихся в организме или поступающих извне.

5. Выделительная функция — выделение некоторых продуктов метаболизма с желчью в кишечник. Напомним, что единственный способ удаления избытка холестерина из организма — это выведение холестерина и образующихся из него желчных кислот с калом. С желчью выводятся также продукты распада гема (желчные пигменты) и многие продукты, образующиеся в результате обезвреживания веществ в печени.

Примерно 80% клеток печени приходится на гепатоциты; около 15% составляют эндотелиальные клетки, из которых 40% — клетки Купфера. Основная масса гепатоцитов находится в пластинках, образуемых двумя слоями клеток. Между слоями имеются желчные канальцы, а наружные поверхности пластинок, неплотно покрытые эндотелиальными клетками, выходят в синусоиды. Синусоиды представляют собой видоизмененные капилляры. По ним циркулирует смешанная артериально-венозная кровь: венозная поступает в печень из воротной вены, артериальная — из печеночной артерии. Таким образом, гепатоцит одной частью поверхности контактирует с кровью синусоидов, а другой частью — с желчью желчных канальцев. Из синусоидов кровь собирается в ветви печеночной вены, которая впадает в нижнюю полую вену.

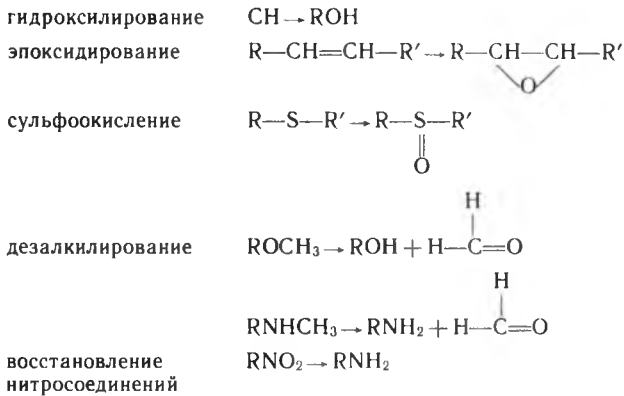
Через печень протекает около 1,2 л крови в минуту, причем 70% ее поступает через воротную вену, собирающую кровь от пищеварительного тракта. Такое положение печени обеспечивает ее важную роль в превращениях веществ, всасывающихся из кишечника, и в регуляции их концентрации в крови. Напомним, что значительная часть глюкозы, приносимой кровью воротной вены, депонируется в печени в форме гликогена или превращается в жиры; жирные кислоты также превращаются в жиры. Многие из функций печени описаны в предыдущих разделах. В этой главе мы рассмотрим роль печени в обезвреживании метаболитов и обмене чужеродных соединений.

Число разных соединений в организме человека велико, но в окружающей среде, включая организмы других видов, оно несравненно больше. Вещества среды, не используемые организмом для пластических целей или как источники энергии, называют *чужеродными веществами* (ксенобиотиками). Они могут попадать в организм с пищей или путем вдыхания, или через кожу; многие из них могут быть токсичными. В процессе эволюции животные и человек постоянно встречались с этими веществами, поэтому выработались механизмы их детоксикации и выведения из организма. Кроме чужеродных соединений детоксикации (инактивации) и выведению подвергаются некоторые собственные метаболиты, например продукты распада гема, стероидные гормоны, катехоламины и др. Главным органом, где происходит детоксикация веществ, является печень, хотя и некоторые другие органы тоже участвуют в этом процессе.

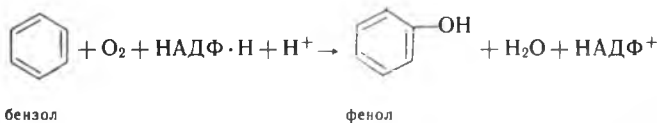
МИКРОСОМАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ И РЕАКЦИИ КОНЪЮГАЦИИ В ПЕЧЕНИ

Обезвреживание веществ заключается в их химической модификации, которая обычно включает две фазы. В первой фазе вещество подвергается окислению, восстановлению или гидролизу, в результате чего образуются группы —ОН, —СООН, —SH, —NH₂ и некоторые другие. Во второй фазе к этим группам присоединяется какое-либо вещество — глюкуроновая кислота, серная кислота, глицин, глутамин, ацильный остаток (*реакции конъюгации*). В некоторых случаях обезвреживание включает только одну фазу — первую или вторую. Многие вещества частично или полностью выводятся вообще без всяких изменений.

Главная роль в реакциях первой фазы обезвреживания принадлежит микросомальным гидроксилазам (монооксигеназам). Основным компонентом микросомальной системы окисления является цитохром Р450. В эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов имеется много изоформ цитохрома Р450; все они характеризуются широкой субстратной специфичностью, но все же различаются по специфичности. Они могут катализировать не только гидроксилирование, но и реакции других типов (некоторые из них указаны ниже). В реакциях используются НАДФ·Н и молекулярный кислород:

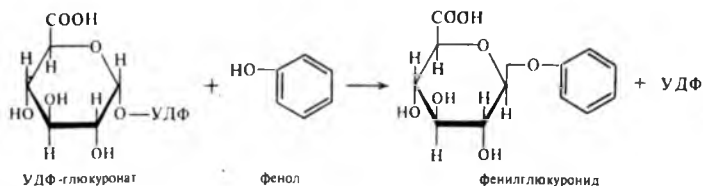


Примером реакций первой фазы обезвреживания является гидроксилирование бензола:

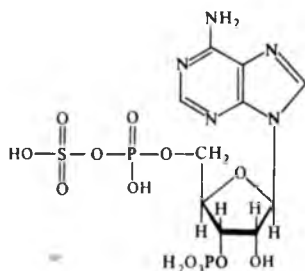


Наиболее распространенная реакция конъюгации — присоединение глюкуроновой кислоты с образованием глюкуронида. Донором глюкуроновой кислоты служит УДФ-глюкуронат; реакция катализируется глюкуронилтрансферазой — интеграль-

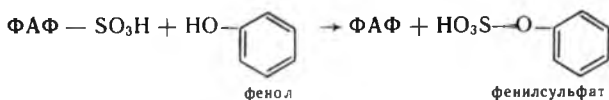
ным белком эндоплазматического ретикулаума. Конъюгация фенола с глюкуроновой кислотой происходит следующим образом:



В реакции конъюгации с серной кислотой донором остатка серной кислоты служит 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат (ФАФС, ФАФ—SO₃H):



Образование конъюгата с фенолом (фенилсульфата) происходит следующим образом:



В табл. 52 приведены и некоторые другие реакции конъюгации; наиболее активными акцепторами являются обычно ароматические или алициклические соединения.

Т а б л и ц а 52. Некоторые реакции конъюгации

Присоединяемое вещество	Активная форма	Акцепторы
Глюкуроновая кислота	УДФ-Глюкуронат	R—OH, R—COOH, R—NH ₂ , R—SH
Серная кислота	Фосфоаденозинфос- фосульфат	R—OH, R—NH ₂
Метильная группа	S-Аденозилметионин	R—OH, R—NH ₂ , (R) ₂ NH, (R) ₃ N, R—SH
Ацетильная группа	Ацетил-КоА	RNH ₂
Глутамин	Глутамин	КоА—COR*
Глицин	Глицин	КоА—COR*

* Глутамин и глицин замещают КоА в его соединениях с ароматическими кислотами, присоединяясь к ним аминогруппой (образуется амидная связь).

При реакциях окисления и конъюгации на молекулах обезвреживаемых веществ образуются гидрофильные группы, вещество в целом становится более растворимым в воде, что облегчает его выведение из организма. Кроме того, химическая модификация токсичных веществ, как правило, снижает их токсичность.

ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ НОРМАЛЬНЫХ МЕТАБОЛИТОВ

Катаболизм гема

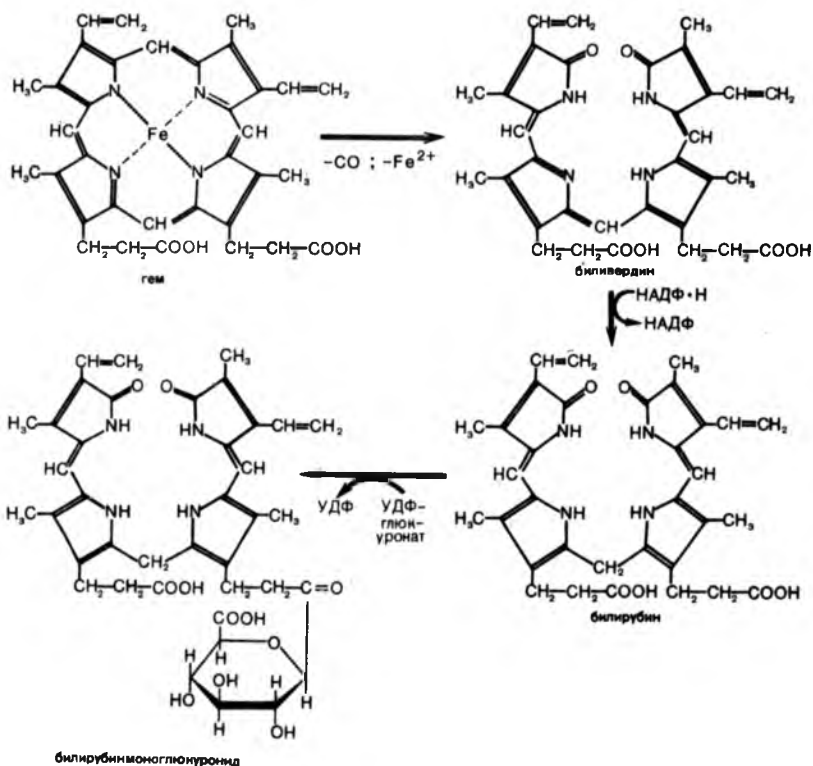
Гем является простетической группой гемоглобина и геминных ферментов; около 80% всего гема организма находится в гемоглобине, поэтому обмен гема прежде всего отражает состояние обмена гемоглобина.

Время жизни эритроцитов составляет 110—120 дней; состарившиеся эритроциты фагоцитируются макрофагами, главным образом в селезенке, а также в печени и костном мозге. Освобождающийся из гемоглобина гем повторно не используется: он распадается с образованием железа и желчных пигментов; железо реутилизируется, а желчные пигменты выводятся из организма.

Первая реакция распада гема катализируется гем-оксигеназой — ферментом эндоплазматического ретикулула. В реакции используются НАДФ·Н и O_2 ; один из метеновых мостиков тетрапиррольной структуры гема окисляется, углерод метеновой группы превращается в оксид углерода СО (рис. 149). При этом от гема отщепляется железо и образуется биливердин — пигмент зеленого цвета. Биливердин затем восстанавливается до билирубина биливердинредуктазой; билирубин имеет красновато-коричневый цвет.

Основная часть билирубина образуется в клетках ретикуло-эндотелиальной системы селезенки и костного мозга. Из этих органов билирубин в соединении с альбумином транспортируется кровью в печень, где происходит его конъюгация с глюкуроновой кислотой. Глюкуроновая кислота присоединяется к карбоксильным группам пропионильных остатков, образуя *глюкурониды билирубина*. Конъюгация с глюкуроновой кислотой существенно изменяет свойства билирубина. Билирубин нерастворим в воде; именно поэтому он транспортируется кровью в соединении с альбумином. Билирубинглюкуронид растворим в воде и легко выводится с желчью в кишечник. Билирубин токсичен, особенно для мозга; глюкурониды билирубина не токсичны. Таким образом в результате конъюгации билирубина происходит его детоксикация и облегчается выведение из организма.

В кишечнике от билирубинглюкуронидов под действием бактериальных ферментов гидролитически отщепляется глюкуроновая кислота, а вновь образовавшийся билирубин восстанавливается по некоторым двойным связям, образуя две группы продук-



149
Катаболизм гема

тов: *уробилиногены* и *стеркобилиногены*. Основная часть этих веществ (примерно 95%) выводится с калом. Остальная часть уробилиногенов и стеркобилиногенов всасывается из кишечника в кровь и затем вновь попадает в желчь, а частично выводится через почки. Уробилиногены и стеркобилиногены — бесцветные вещества; в кале и выпущенной моче они окисляются кислородом воздуха и превращаются в уробилины и стеркобилины, имеющие желтую окраску.

Часто продукты превращений билирубина называют желчными пигментами независимо от того, имеют они окраску или нет; все они в тех или иных количествах обнаруживаются в желчи. Здоровый взрослый человек ежедневно выделяет 200—300 мг желчных пигментов с калом и 1—2 мг — с мочой. Желчные пигменты практически всегда содержатся в желчных камнях, а примерно в $\frac{1}{4}$ случаев являются их основным компонентом. Определение концентрации желчных пигментов в крови и моче применяют при выяснении происхождения желтух.

Желтуха

Концентрация билирубина в крови здорового человека равна 0,1—1 мг/дл (1,7—17 мкмоль/л). В крови содержится как неконъюгированный билирубин (примерно $\frac{3}{4}$), так и глюкурониды. При этом неконъюгированный билирубин, поскольку он нерастворим в воде, находится в соединении с альбумином крови. Билирубин с диазохлорсульфоновой кислотой образует азосоединение розово-фиолетового цвета; эта реакция используется для определения билирубина в крови и моче. Неконъюгированный билирубин, связанный с альбумином, реагирует лишь после добавления спирта, который освобождает его из соединения с альбумином (*непрямой билирубин*); глюкурониды билирубина определяются и без добавления спирта (*прямой билирубин*).

При усилении распада эритроцитов, закупорке желчного протока или нарушении функций печени концентрация билирубина в крови увеличивается, в результате кожа, слизистые оболочки, склера глаз окрашиваются в желтый цвет (желтуха). Желтое окрашивание кожи становится заметным, когда концентрация билирубина в крови достигает 2—3 мг/дл. Определение концентрации разных желчных пигментов в крови и моче позволяет выяснить причину желтухи.

Гемолитическая желтуха. При усиленном распаде эритроцитов билирубина образуется больше и скорость его глюкуронирования в печени, а также скорость экскреции в кишечник увеличиваются. Однако скорость образования билирубина может превысить способность печени удалять его из крови. Следовательно, при гемолитической желтухе повышается концентрация непрямого билирубина в крови; кроме того, увеличивается выделение стеркобилиногенов и уробилиногенов с мочой, поскольку печень выделяет в кишечник большие количества глюкуронидов билирубина, из которых образуются стеркобилиногены и уробилиногены.

Обтурационная желтуха. При закупорке желчных протоков (желчный камень, опухоль, рубец) желчь перестает поступать в кишечник, но гепатоциты продолжают ее вырабатывать. В этих условиях желчные пигменты попадают в кровеносное русло, поэтому в крови повышается концентрация как прямого, так и непрямого билирубина. Прямой билирубин как вещество водорастворимое и низкомолекулярное фильтруется в боуменову капсулу и выводится с мочой. Поскольку билирубин в кишечник не поступает, уробилиногенов и стеркобилиногенов в моче нет.

Печеночно-клеточная желтуха. При гепатитах повреждаются клетки печени и вследствие этого снижается продукция желчи; кроме того, в результате повреждения паренхимы печени желчь поступает не только в желчные каналы, но и в кровь. Отсюда по аналогии с двумя предыдущими формами желтухи легко заключить, что при печеночной желтухе в крови увеличивается концентрация непрямого билирубина (нарушено глюкуронирова-

ние) и прямого билирубина (желчь поступает в кровь). В моче обнаруживается прямой билирубин.

Желтуха новорожденных. У плода и у новорожденного количество эритроцитов в расчете на единицу массы тела больше, чем у взрослых, больше также и концентрация гемоглобина в эритроцитах. В течение нескольких недель после рождения количество гемоглобина в крови новорожденного приближается к величине, характерной для взрослых; в этот период относительная скорость распада эритроцитов больше, чем в последующее время. С другой стороны, способность печени удалять из крови билирубин у плода развита слабо (во внутриутробном периоде билирубин удаляется, по-видимому, через плаценту). Однако скорость удаления билирубина из крови увеличивается в 3—4 раза в первые часы или дни после рождения.

В первые дни в крови новорожденных концентрация билирубина увеличена, причем у части новорожденных (примерно у 20%) увеличение значительно. Желтуха новорожденных может быть связана с запаздыванием включения генов, кодирующих глюкуронилтрансферазу. Другими причинами могут быть низкая способность печени извлекать билирубин из крови и реабсорбция билирубина из кишечника. В тяжелых случаях желтухи новорожденных, когда концентрация билирубина в крови превышает 30 мг/дл, повреждаются функции мозга; в этих условиях для удаления билирубина из организма прибегают к массивному переливанию крови.

Наследственные желтухи. Известны наследственные дефекты глюкуронилтрансферазы. При полном отсутствии активности фермента желчные пигменты в желчи не обнаруживаются, а в крови отмечается высокая концентрация неконъюгированного билирубина (до 40 мг/дл).

Инактивация гормонов

Необходимое условие гормональной регуляции — инактивация гормона, когда в нем отпала надобность. В инактивации участвуют многие органы; различны и механизмы инактивации, а кроме того, гормоны частично выводятся с мочой в неизменном виде. Значительная роль в инактивации гормонов принадлежит печени.

Многие пептидные гормоны гидролизуются в печени при участии протеолитических ферментов. Два фермента инактивируют инсулин: один из них восстанавливает дисульфидные связи в молекуле инсулина, и образуются разделенные пептидные цепи А и В, затем пептидгидролаза, получившая специальное название *инсулиназа*, гидролизует эти цепи. При однократном прохождении крови через печень разрушается около 80% инсулина.

Катаболизм адреналина и норадреналина про-

исходит путем дезаминирования моноаминоксидазой, метилирования по гидроксильным группам и конъюгации с серной или глюкуроновой кислотами. Главное место этих превращений — печень; продукты катаболизма выводятся в основном с мочой.

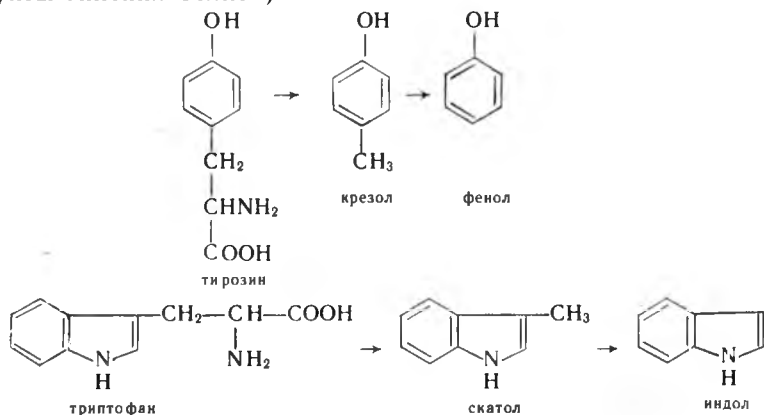
Значительная часть стероидных гормонов инактивируется при участии микросомальных гидроксилаз в печени и выводится в форме конъюгатов с глюкуроновой или серной кислотами. Катаболизм большей части тироксина происходит в печени: здесь тироксин путем трансаминирования превращается в кетопроизводное, а также конъюгируется с глюкуроновой или серной кислотами (конъюгация происходит по фенольной группе тироксина).

ОБМЕН ЧУЖЕРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

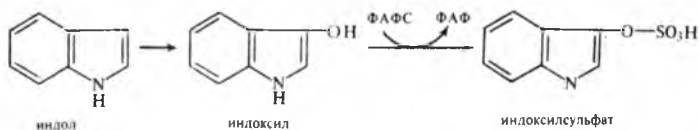
Каждое чужеродное соединение выводится частично в неизменном виде, частично — в форме метаболитов, образующихся из него в организме. Как правило, доля вещества, экскретируемого в форме метаболитов, больше, если оно плохо растворимо в воде. Это связано с тем, что водорастворимые вещества сразу попадают в циркулирующие жидкости и фильтруются из плазмы крови в мочу, в то время как циркуляция гидрофобных веществ затруднена, и они склонны задерживаться в тканях либо в соединении с белками, либо в липидных структурах — в клеточных мембранах, в депонированных жирах. В результате метаболических превращений гидрофобные соединения превращаются в гидрофильные и таким способом ускоряется их выведение.

Обезвреживание продуктов гниения белков (аминокислот) в кишечнике

В результате жизнедеятельности кишечной микрофлоры образуется ряд соединений, не свойственных метаболизму человека, а порой и токсичных. Например, из тирозина получают крезол и фенол, из триптофана — скатол и индол (так называемые продукты гниения белков):



Эти соединения всасываются из кишечника, но не попадают в общий кровоток, а в основном задерживаются в печени, где происходит их обезвреживание — гидроксилирование (если вещество не содержит гидроксильных групп) и конъюгация с глюкуроновой и серной кислотами. В качестве примера приводим реакции обезвреживания индола:



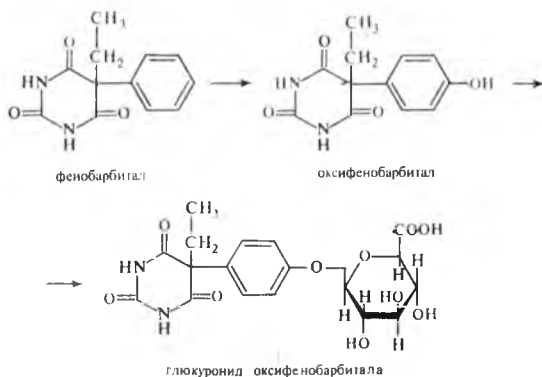
Нетоксичные водорастворимые конъюгаты выводятся с мочой.

Калиевую соль индоксилсерной кислоты называют *животным индиканом*. Количество выделяемого индикана пропорционально интенсивности гнилостных процессов в кишечнике и скорости реакций обезвреживания в печени; индикан в моче определяют для оценки функционального состояния печени.

Метаболизм лекарственных веществ

Лекарством может быть только такое вещество, действие которого через определенное время прекращается. Прекращение действия может происходить или потому, что лекарство выводится из организма, или потому, что оно инактивируется путем химической модификации. Рассмотрим некоторые примеры метаболитических превращений лекарств.

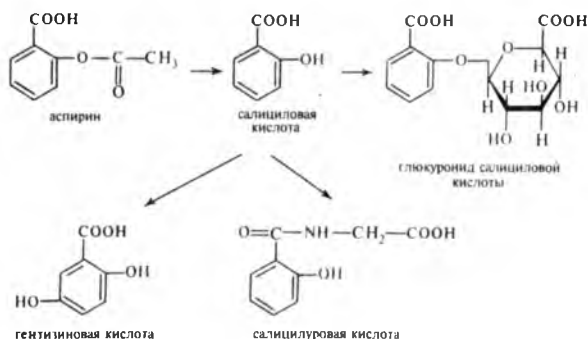
Фенобарбитал (люминал) применяется в качестве снотворного и обезболивающего средства. Примерно 10% введенного фенобарбитала экскретируется в неизменном виде, остальная часть подвергается гидроксилированию по фенилу и последующей конъюгации с глюкуроновой кислотой; оксифенобарбитал и глюкуронид — основные экскретируемые продукты:



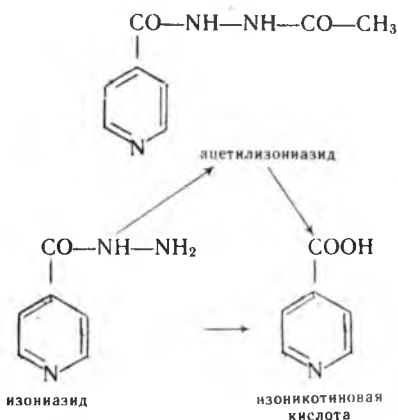
В целом за сутки выводится половина введенной лечебной дозы фенобарбитала. Фенобарбитал плохо растворяется в воде; без

метаболических превращений для его выведения из организма понадобилось бы в несколько раз больше времени.

Аспирин (ацетилсалициловая кислота) широко применяется как жаропонижающее и обезболивающее средство; выводится после конъюгации с глюкуроновой кислотой или глицином, а также в форме гентизиновой кислоты:

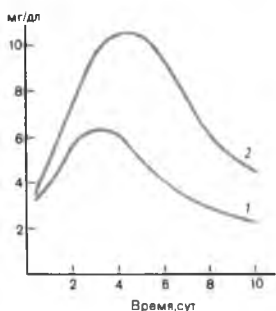


Главные продукты метаболизма изониазида, применяемого при лечении туберкулеза, — ацетилизониазид и изоникотиновая кислота:



Лекарства, которые медленно метаболизируются и выводятся, могут накапливаться в организме (кумуляция). С учетом этого при лечении такими лекарствами постепенно уменьшают его дозу или увеличивают интервалы между приемами.

Метаболизм лекарств у детей раннего возраста. Механизмы метаболизма и детоксикации чужеродных соединений у новорожденных не вполне развиты. Так, активность глюкуронилтрансферазы у детей в возрасте одного месяца примерно в четыре раза меньше, чем у взрослых. Соответственно у них снижена скорость метаболизма и выведения лекарств. Зависимость действия лекарств от возраста наглядно проявляется в следующем эксперименте: фенобарбитал в дозе 0,5 мг на 10 г массы тела для ново-



150

Концентрация билирубина в крови новорожденных, которым вводили фенобарбитал (10 инъекций по 5 мг в первые три дня) (кривая 1) и без введения фенобарбитала (кривая 2)

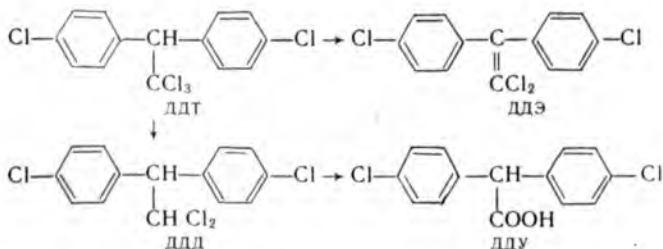
рожденных мышей летален, у семидневных вызывает сон продолжительностью 4 ч, у двадцатидневных — сон 1 ч, у взрослых — 20 мин. Действие фенобарбитала обратно пропорционально скорости, с какой фенобарбитал метаболизируется гомогенатами печени мышей разного возраста. Низкая активность процессов детоксикации — одна из причин того, что дозы лекарств, рассчитанные на единицу массы тела, для детей раннего возраста обычно меньше, чем для взрослых.

Индукция синтеза ферментов, участвующих в метаболизме лекарств. При систематическом приеме многих лекарств их действие на организм ослабляется, и для продолжения лечения приходится увеличивать дозу. Снижение эффективности лекарства может происходить вследствие увеличения скорости микросомального

окисления и реакций конъюгации. В экспериментах на животных обнаружено, что некоторые лекарства и другие чужеродные соединения индуцируют синтез цитохрома P450 и ферментов, катализирующих реакции конъюгации. В частности, хорошим индуктором оказался фенобарбитал. По этой причине он нашел применение для предупреждения и лечения желтухи новорожденных. При угрозе желтухи матери перед родами и ребенку сразу после рождения начинают вводить небольшие дозы фенобарбитала; вследствие индукции синтеза ферментов обезвреживающая способность печени увеличивается быстрее и концентрация билирубина в крови не достигает высоких величин (рис. 150).

ДДТ в биосфере

В 40—70-е годы ДДТ был наиболее широко применяемым инсектицидом. Он представляет собой производное трихлорэтана — 2,2-бис(парахлорфенил)-1,1,1-трихлорэтан. В организме он может очень медленно превращаться в производные дихлорэтилена (ДДЭ), дихлорэтана (ДДД) и уксусной кислоты (ДДУ):



Все эти вещества, как и сам ДДТ, токсичны. В частности, они ингибируют синтез и секрецию кортикостероидов и вызывают атрофию надпочечников. На этом основано применение некоторых производных ДДТ для лечения гиперкортицизма.

Выделение ДДТ и продуктов его метаболизма из организма человека и животных происходит очень медленно; главными экскретируемыми продуктами у млекопитающих являются ДДТ и его конъюгаты. ДДТ, ДДД и ДДЭ как вещества липофильные накапливаются в жировой ткани, что приводит к его концентрированию в живых организмах: чем более высокое место занимает организм в экологической цепи питания, тем больше относительная концентрация ДДТ в его тканях. Если концентрацию ДДТ в воде принять за единицу, то его концентрация в планктоне будет равна примерно 800, в рыбах — 25 000, в теле бакланов (птиц, питающихся рыбой) — 500 000. Начиная с 40-х годов ДДТ обнаруживают во всех исследуемых в этом отношении трупах людей. Абсолютная концентрация ДДТ в теле человека невелика — порядка $10^{-6}\%$.

Высокая стабильность ДДТ в условиях земной поверхности, его устойчивость к действию ферментов разных организмов, способность концентрироваться в организмах и токсичность создали ДДТ печальную известность, и в последние десятилетия его производство и применение во многих странах было ограничено или совсем прекращено. Но, с другой стороны, высказываются мнения, что ДДТ спас больше жизней и предотвратил больше болезней, чем любое другое вещество, изобретенное человеком. Эта противоречивость оценок отражает противоречивость реальной ситуации. Например, в Шри-Ланке в 60-х годах отказались от применения ДДТ для борьбы с малярией после того, как в течение более 10 лет практически не было заболеваний. Но в 1968 г. вновь увеличилась частота заболеваний — свыше 1 млн. на 10 млн. населения, и правительство было вынуждено закупить 2500 т ДДТ для применения против малярийного комара. ДДТ дает нам пример проблем, характерных для современной гигиены и экологии человека.

ПЕЧЕНОЧНО-КЛЕТОЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ

Повреждение печени при гепатитах, острых отравлениях или в результате развития цирроза приводит к нарушению ее метаболических функций, в том числе реакций обезвреживания. Хорошо известна повышенная чувствительность к лекарствам у людей с больной печенью; у них снижено образование продуктов обезвреживания, что можно установить, например, по количеству индикана, выделяемого с мочой. Нарушение инактивации гормонов приводит к изменению их концентрации в организме. В частности, при хронической недостаточности печени, вызванной циррозом, изменяются относительные концентрации андрогенов и эстрогенов, в результате чего наблюдается атрофия гонад,

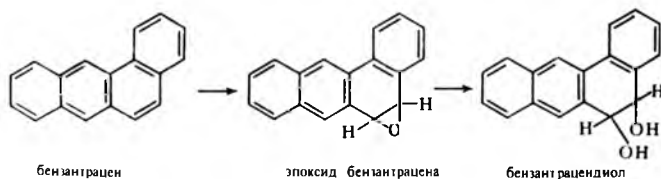
бесплодие, появление характерных для другого пола вторичных половых признаков. Цирроз печени — распространенная болезнь; частой причиной цирроза является алкоголизм. Финальные стадии цирроза печени характеризуются накоплением токсичных веществ — аммиака, билирубина, чужеродных соединений, что является одной из причин наступления печеночной комы.

ХИМИЧЕСКИЙ КАНЦЕРОГЕНЕЗ

Механизмы метаболизма чужеродных соединений, снижающие их токсичность и ускоряющие выведение, имеют безусловное значение для выживания в среде, из которой в организм поступает множество потенциально опасных веществ. Однако в некоторых случаях метаболическая модификация чужеродного соединения повышает его токсичность. В частности, таким путем в организме образуются соединения, вызывающие рак. Химический канцерогенез считают самой частой причиной рака (другие причины — онкогенные вирусы, ультрафиолетовые и космические лучи, врожденные генетические дефекты).

Историю изучения химического канцерогенеза принято отсчитывать с 1775 г., когда английский врач П. Потт отметил, что рак мошонки встречается особенно часто у трубочистов, и объяснил это их постоянным контактом с каменноугольной смолой и сажей. Почти полтора века спустя это объяснение было подтверждено экспериментально: смазыванием в течение многих месяцев кожи кроликов каменноугольной смолой удалось вызвать рак. В 30-х годах XX в. из смолы были выделены индивидуальные вещества — бензантрацен и другие полициклические углеводороды, которые вызывали рак кожи. В последние два десятилетия обнаружены канцерогенные вещества в разных классах химических соединений, и биохимики приближаются к выяснению молекулярных механизмов канцерогенеза.

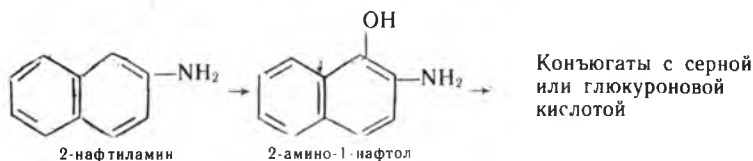
Бензантрацен в организме подвергается гидроксилированию с участием микросомальной системы окисления; в качестве промежуточного продукта образуется эпоксид:



На схеме представлен основной путь «обезвреживания» бензантрацена. Слово «обезвреживание» взято здесь в кавычки потому, что промежуточный продукт — эпоксид — является канцерогеном. Он обладает высокой химической активностью и алкилирует ДНК, РНК, белки. Это первые звенья канцерогенеза, однако дальнейшие молекулярные события, ведущие к перерождению нормальной клетки в раковую, пока неизвестны.

✓Канцерогенные вещества весьма разнообразны по химической структуре и происхождению. Среди них есть как природные, так и антропогенные соединения. Приведем некоторые примеры из числа наиболее известных канцерогенов.

Ароматические амины. Вещества этой группы используются в больших количествах в производстве анилиновых красителей. У людей, занятых на этих работах, отмечалась повышенная частота рака мочевого пузыря; изучение причин болезни и привело к открытию канцерогенных свойств у многих ароматических аминов. Одним из них является 2-нафтиламин. Метаболизм 2-нафтиламина происходит в основном в печени. Канцерогеном является 2-амино-1-нафтол, однако в печени он быстро превращается в безвредные конъюгаты, которые выводятся с мочой:



В мочевом пузыре часть конъюгатов расщепляется гидролазами, имеющимися в моче в небольших количествах, и вновь образуется 2-амино-1-нафтол — канцероген, который при повторяющихся контактах человека с нафтиламином вызывает раковое перерождение клеток мочевого пузыря.

Другой амин — ацетиламинофлуорен — вызывает рак печени. В ходе его метаболизма образуется канцероген ацетиламинофлуоренсульфат, нестабильное вещество с высокой алкилирующей способностью:

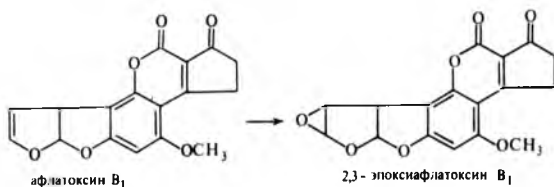


В 1940 г. ацетиламинофлуорен был запатентован как перспективный инсектицид, но не был пущен в производство после проверки на канцерогенную активность.

Для морских свинок в отличие от других животных ацетиламинофлуорен не является канцерогеном. Оказалось, что у них несколько иной путь метаболизма ацетиламинофлуорена — он гидроксилируется не по азоту, а по ароматическим циклам, и канцерогенный N-сульфат не образуется. Это один из примеров видовой специфичности метаболизма чужеродных соединений. Видовые различия значительно осложняют проверку веществ на канцерогенность, поскольку приходится проводить ее на нескольких видах животных.

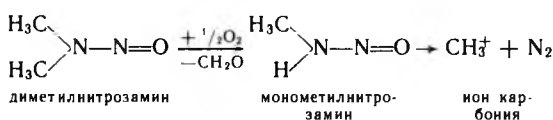
Афлатоксины. Эти вещества являются метаболитами некоторых видов плесеней. Афлатоксин В₁ — наиболее сильный из известных канцерогенов: даже однократное введение его вызывает

рак печени у экспериментальных животных. Канцерогеном является образующийся в печени эпоксид афлатоксина:



Плесени рода *Aspergillus flavus*, продуцирующие афлатоксины, весьма распространены и, в частности, заводятся на зерне и других пищевых продуктах при плохом хранении.

Нитрозамины. Метаболизм нитрозаминов при действии микросомальной системы окисления приводит к образованию высокоактивного иона карбония:



Ион карбония может метилировать нуклеиновые кислоты и белки.

Нитрозамины индуцируют злокачественные опухоли в печени, почках, легких, желудке, пищевод. Источником нитрозаминов в организме могут быть вторичные алифатические амины, которые при взаимодействии с нитритами образуют нитрозамины. И вторичные амины, и нитриты являются постоянными компонентами пищи: первые содержатся в рыбных продуктах, в ароматических добавках к пище; вторые применяются как консерванты мяса, рыбы и содержатся в зеленых растениях.

Канцерогенные метаболиты, образующиеся в организме из прекарциногенов, отличаются высокой реакционной способностью, которая объясняет и их нестабильность. Именно поэтому канцерогенные вещества редко имеются в среде в готовом виде, хотя известны и такие канцерогены, которые не нуждаются в предварительных метаболических превращениях. Индукция развития опухоли требует, как правило, длительных и неоднократных контактов с канцерогеном. Проверка веществ на канцерогенность обычно занимает многие месяцы или годы и проводится с использованием лабораторных животных разных видов, за которыми после их обработки исследуемым веществом наблюдают в течение всей их жизни.

Глава XX

КРОВЬ

Главные функции крови связаны с тем, что это жидкая подвижная ткань, перемещающаяся по кровеносным сосудам. Эритроцит проходит по кровеносному руслу около двух километров в день. Кровь выполняет роль транспортного и коммуникативного средства в интеграции обмена веществ разных органов. Среди функций крови, обусловленных ее движением по сосудам, отметим следующие.

1. *Дыхательная функция*: перенос кислорода из легких в ткани и диоксида углерода из тканей в легкие.

2. *Трофическая функция*: перенос продуктов пищеварения от кишечника к разным органам: перенос глюкозы и кетонных тел из печени в мышцы, жиров из печени в жировую ткань, молочной кислоты из мышц в печень, жирных кислот из жировой ткани в разные органы и т. д.

3. *Выделительная функция*: перенос мочевины из печени в почки, билирубина из разных тканей в печень и т. д.

4. *Коммуникативная (регуляторная) функция*: перенос химических сигналов — гормонов и других регуляторных веществ — к органам-мишеням.

С движением крови связаны также и другие ее функции: защитная, выполняемая антителами и фагоцитирующими лейкоцитами крови; участие в регуляции водно-солевого и кислотно-щелочного баланса; регуляция температуры тела путем теплообмена между тканями и движущейся кровью.

Общее количество крови в организме взрослого человека составляет около 5 л (примерно 7% от массы тела). Если кровь центрифугировать, то форменные элементы (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты) осаждаются, а над осадком остается светло-желтая прозрачная жидкость — плазма крови. В плазме содержится примерно 7% белков, а также разнообразные низкомолекулярные вещества. При стоянии в течение нескольких минут плазма свертывается — образуется сгусток, который затем сокращается, и из него выжимается жидкость — сыворотка крови. Сыворотка отличается от плазмы только тем, что в ней не содержится белок фибриноген: при свертывании плазмы он превращается в нерастворимый фибрин, который и образует сгусток.

Состав плазмы крови является своего рода зеркалом метаболизма, поскольку изменения концентрации метаболитов в клетках, даже если они происходят в отдельных органах, отражаются на концентрации этих метаболитов в крови. Состав плазмы крови изменяется также при нарушении проницаемости клеточных мембран. По этой причине, а также потому, что пробы крови для анализа получать просто, анализ крови широко применяется для диагностики болезней и контроля эффективности лечения. Наиболее частые нарушения функций крови связаны с повреждением эритропоэза или ускорением распада эритроцитов (раз-

ные формы анемий), с повреждениями печени (поскольку почти все белки плазмы крови образуются в печени), а также с повреждениями кровеносных сосудов (атеросклероз, тромбозы, разрывы).

ЭРИТРОЦИТЫ И ГЕМОГЛОБИН

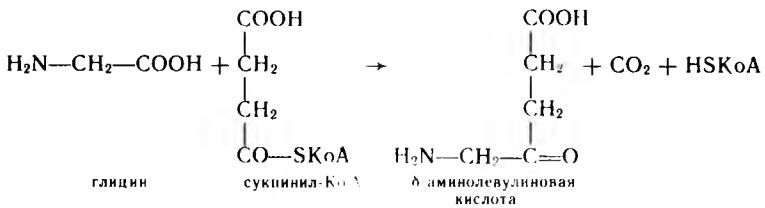
Эритроциты занимают 36—48% объема крови. В 1 мм³ содержится 4—5 млн. эритроцитов; во всей крови взрослого человека — $2,5 \cdot 10^{13}$ эритроцитов. Примерно 95% массы сухого вещества эритроцитов приходится на гемоглобин, благодаря которому эритроцит и выполняет свою функцию транспорта кислорода. Общее содержание гемоглобина в крови составляет 13—16 г/дл; если гемоглобин просто растворить в плазме, то такой раствор будет слишком вязким, чтобы его можно было протолкнуть через сосуды. В процессе развития эритроцитов из стволовых кроветворных клеток на стадии ретикулоцитов утрачиваются ядро и хроматин. Ретикулоцит содержит много глобиновой мРНК и активно синтезирует гемоглобин; затем при превращении ретикулоцита в эритроцит РНК и рибосомы разрушаются; утрачиваются также и митохондрии. В результате зрелый эритроцит отличается упрощенным метаболизмом, предназначенным главным образом для сохранения структуры мембраны и стромы эритроцита и предотвращения окисления гемоглобина.

Продолжительность жизни эритроцита составляет 110—120 дней; в организме взрослого человека ежедневно распадается $2 \cdot 10^{11}$ эритроцитов, и столько же образуется новых. Общая масса эритроцитов, образуемых за 10 лет, примерно равна массе всего тела человека. Эритропоэз стимулируется гликопротеином эритропоэтином. Этот белок образуется, вероятно, в почках из белка-предшественника, имеющегося в циркулирующей крови. Концентрация эритропоэтина в крови увеличивается при гипоксии и потере крови. Анемии, связанные с нарушением эритропоэза при недостаточности витамина В₁₂ и фолиевой кислоты, рассмотрены в гл. VI и XI.

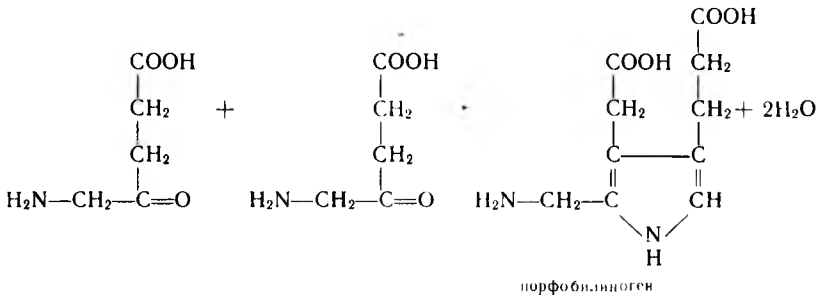
Синтез гемоглобина

Строение гемоглобина описано в гл. I. В ретикулоцитах происходит координированный синтез α и β -пептидных цепей гемоглобина, а также синтез его простетической группы — гема, так, что ни один из этих компонентов не образуется в избыточном или недостаточном количестве.

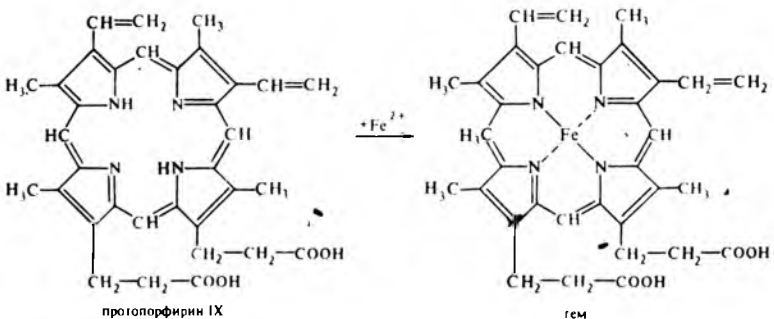
Предшественниками при синтезе гема являются глицин и сукцинил-КоА. При действии δ -аминолевулинатсинтетазы из них образуется δ -аминолевулиновая кислота:



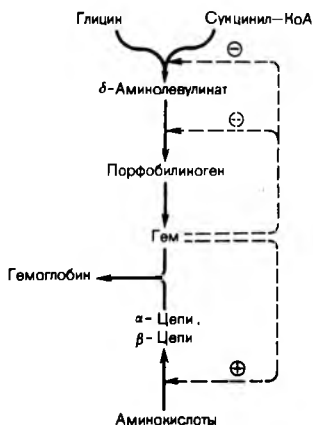
Затем происходит конденсация двух молекул δ -аминолевулиновой кислоты с образованием порфобилиногена; реакцию катализирует δ -аминолевулинатдегидратаза:



Далее путем конденсации четырех молекул порфобилиногена образуется тетрапиррольное соединение уропорфириноген, который затем модифицируется в протопорфирин IX. Последний при действии феррохелатазы присоединяет железо и превращается в гем:



Оба фермента, участвующие в синтезе порфобилиногена из глицина и сукцинил-КоА, являются регулируемыми ферментами; они ингибируются гемом и гемоглобином (рис. 151). С другой стороны, синтез пептидных цепей гемоглобина происходит только в присутствии гема, и образующиеся пептидные цепи тут же соединяются с гемом. При низкой концентрации гема активируется ингибитор инициации белкового синтеза в ретикулоцитах и синтез глобина замедляется.



151
Регуляция синтеза гемоглобина

ным образом в составе миоглобина), 10—15% — в печени и селезенке. Небольшая доля железа (около 1%) входит в состав геминных ферментов, а также белков, содержащих негеминное железо. Таким образом, в количественном отношении обмен железа определяется прежде всего синтезом и распадом гемоглобина эритроцитов, а недостаточное поступление или нарушения утилизации железа проявляются прежде всего как малокровие (*железодефицитные анемии*).

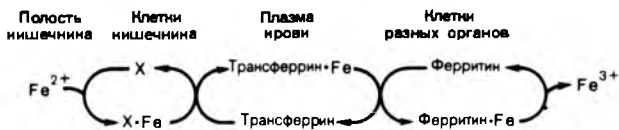
При тех значениях рН и концентрации кислорода, которые характерны для тканей, стабильная форма железа — Fe^{3+} . Трехвалентный ион железа склонен образовывать сложные нерастворимые гидроксиды. В процессе эволюции возникли белки, способные поддерживать железо в форме, удобной для транспортировки и использования при синтезе гема. Этими белками являются *трансферрин* и *ферритин*.

Трансферрин представляет собой гликопротеин плазмы крови. Он имеет два центра связывания железа; железо в составе трансферрина находится в трехвалентном состоянии и присоединяется вместе с анионом гидрокарбоната. Главная функция трансферрина — перенос железа с током крови к местам депонирования и использования. Содержание трансферрина в плазме крови равно примерно 0,4 г/дл.

Ферритин — это крупный белок (молекулярная масса около 450 000), отличающийся своеобразным строением. Он содержит 24 идентичных протомера, образующих полую сферу диаметром около 12 нм; диаметр полости 7,5 нм. В белковой оболочке имеется шесть каналов, ведущих в полость. Через эти каналы в полость проникают ионы железа, образуя железное ядро молекулы. Содержание железа в молекуле ферритина непо-

Известны наследственные анемии, связанные с дефектами ферментов, участвующих в синтезе гема. При этом в организме нередко образуются избыточные количества окрашенных порфиринов — предшественников гема, которые выводятся с мочой (моча имеет красный цвет). Такие формы нарушения обмена гема называют *порфириями*. У больных отмечается чувствительность кожи к солнечному облучению вследствие фотосенсибилизации порфиринами.

Обмен железа



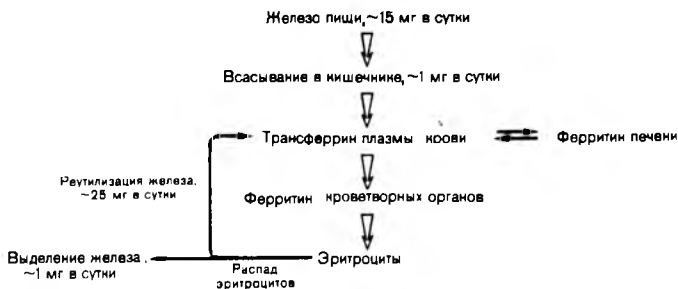
152
Всасывание, транспорт и депонирование железа

стоянно: оно может быть равным нулю (*апоферритин*) и может достигать 2500 атомов железа (или даже больше) на одну молекулу ферритина. Железо в ферритине находится в форме гидроксидфосфата примерного состава $[(FeO \cdot OH)_8 (FeO \cdot OPO_3H_2)]$. VФункция ферритина — депонирование железа; в наибольших количествах он содержится в печени, селезенке и костном мозге, но имеется также и в большинстве других органов.

Железо, освобождающееся из гема при распаде эритроцитов, используется повторно. Однако часть железа — около 1 мг в сутки — теряется организмом, в основном с желчью. Эти потери компенсируются поступлением железа с пищей. Суточное потребление железа должно составлять 10—20 мг, т. е. значительно больше, чем выводится из тканей с желчью. Это связано с тем, что из кишечника всасывается лишь небольшая часть имеющегося в пище железа. У женщин в связи с потерей крови при менструациях потребность в железе в 1,5—2 раза больше, чем у мужчин.

Всасывание железа в кишечнике происходит при участии малоизученного белка, сходного с трансферрином. Затем железо поступает на трансферрин крови, который передает его ферритину в клетках разных органов (рис. 152).

В соединении с белками железо находится в трехвалентном состоянии, но при переходе с одного белка на другой валентность каждый раз дважды меняется: Fe^{3+} , Fe^{2+} и снова Fe^{3+} . Этот процесс, по-видимому, катализируется специальными окислительно-восстановительными ферментами или самими белками-переносчиками, и необходим для освобождения железа из соеди-



153
Обмен железа

нения с белком. На рис. 153 представлена общая схема обмена железа.

Железодефицитные анемии встречаются чаще других форм анемий. Причинами дефицита железа в организме могут быть длительные, повторяющиеся кровопотери, усиленный расход железа при беременности, ухудшение его всасывания после операций на желудочно-кишечном тракте. Сравнительно редко бывает дефицит железа вследствие его недостатка в пище; исключение составляют дети раннего возраста, получающие мало мясной пищи, а следовательно, и геминового железа.

Метаболизм эритроцита

Поскольку в зрелом эритроците нет ядра, хроматина и аппарата трансляции, на протяжении всей примерно четырехмесячной жизни эритроцита в нем функционируют только те белки, которые образовались на стадии ретикулоцита или даже на более ранних стадиях развития эритроцита. С другой стороны, концентрация кислорода в эритроцитах больше, чем в клетках других тканей, и эритроциты в большей мере подвержены его повреждающему действию. Кроме того, эритроциты непосредственно контактируют с окислителями, поступающими из желудочно-кишечного тракта. Окисление сульфгидрильных групп ферментов и других белков, окисление гемоглобина в метгемоглобин инактивирует эти белки. Однако в эритроцитах существуют специальные защитные восстановительные системы, ослабляющие вредное действие кислорода.

✓ Эритроциты не имеют митохондрий; АТФ, необходимая для функционирования транспортных АТФаз и поддержания разности концентраций веществ в плазме и эритроцитах, образуется путем гликолиза. Восстановленные никотинамидные коферменты, участвующие в защитных восстановительных системах, образуются при гликолизе (НАД·Н) и пентозофосфатном пути окисления глюкозы (НАДФ·Н). ✓ Этими двумя метаболическими системами — гликолизом и пентозофосфатным путем — в основном определяется жизнеспособность эритроцитов. Примерно 90% глюкозы в эритроцитах распадается в процессе гликолиза и 10% — в пентозофосфатном пути.

Кислород и другие окислители окисляют гемоглобин в *метгемоглобин*, в котором железо трехвалентно. Метгемоглобин не присоединяет кислород, и поэтому не может обеспечить дыхание тканей. Образование метгемоглобина происходит постоянно: ежедневно около 0,5% всего гемоглобина превращается в метгемоглобин. Метгемоглобин снова восстанавливается в гемоглобин специальным ферментом — *метгемоглобинредуктазой*, использующей НАД·Н, поэтому концентрация метгемоглобина в крови в норме невелика — меньше 1 г/дл. Однако она может значительно повышаться при попадании в организм ряда веществ — наступает *метгемоглобинемия*. К таким веществам относятся ни-

траты, нитриты, анилин, нитробензол, некоторые лекарства или их метаболиты.

• Окисление гемоглобина в метгемоглобин кислородом приводит к образованию супероксидного иона:



При действии супероксиддисмутазы супероксид превращается в пероксид водорода; последний разрушается каталазой, а также глутатионпероксидазой, использующей восстановленный глутатион. Регенерация восстановленного глутатиона происходит при действии глутатионредуктазы, а донором водорода служит НАДФ·Н, поставляемый пентозофосфатным путем. Все перечисленные здесь реакции описаны в гл. VIII. Эти системы функционируют и в других органах, однако для эритроцитов они имеют особое значение, поскольку в эритроцитах не происходит обновления белков путем синтеза.

Если в организм попадает большое количество окисляющих веществ, системы обезвреживания не справляются с устранением активных форм кислорода и может наступить гемолиз в результате повреждения мембран эритроцитов. На решающее значение антиокислительных систем для выживания эритроцитов указывают наблюдения наследственных дефектов метаболизма эритроцитов. Например, при семейной метгемоглобинемии снижена активность метгемоглобинредуктазы в эритроцитах; в результате концентрация метгемоглобина в крови может достигать 40% от всего гемоглобина, что приводит к резкому нарушению снабжения тканей кислородом. Примерно у $1/20$ части людей снижена активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах — первого фермента пентозофосфатного пути окисления глюкозы. Такие люди гораздо более чувствительны к окислителям; в частности, при лечении противомаларийным препаратом примахином у них возникает гемолиз.

Транспорт кислорода

Гемоглобин извлекает из воздуха и передает тканям за сутки около 600 л O_2 (27 моль; 850 г). В тканях за сутки образуется около 500 л CO_2 (22 моль; 1000 г), который удаляется из организма также при существенном участии гемоглобина.

Взаимодействие гемоглобина с кислородом описано в гл. I. Каждый грамм гемоглобина может присоединять 1,34 мл O_2 ; поскольку концентрация гемоглобина в крови составляет около 15 г/дл, 100 мл цельной крови связывают 20 мл O_2 , в то время как в 100 мл плазмы крови растворяется только 0,3 мл O_2 .

Движущими силами переноса кислорода от легких в ткани являются ток крови и градиент концентраций кислорода между альвеолярным воздухом и межклеточной жидкостью. Альвеолярный воздух несколько отличается от атмосферного, поскольку вдыхаемый атмосферный воздух смешивается в легких с остат-

Т а б л и ц а 53. Градиенты концентраций кислорода и диоксида углерода в организме

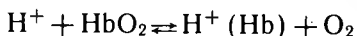
Воздух и жидкости организма	Парциальное давление, мм рт. ст.*		Степень насыщения гемоглобина кислородом, %
	O ₂	CO ₂	
Атмосферный воздух	157	0,3	—
Альвеолярный воздух	100	40	—
Артериальная кровь	93	40	97
Межклеточная жидкость	35	50	—
Венозная кровь	40	46	64

* В СИ давление выражается в паскалях (Па): 1 мм рт. ст. = 133 Па.

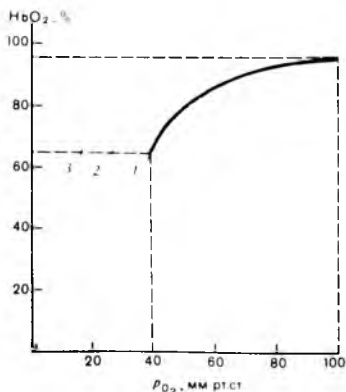
ками воздуха от предыдущего вдоха: парциальное давление O₂ в альвеолярном воздухе равно 100 мм рт. ст. (13 300 Па) (табл. 53).

В межклеточной жидкости, куда кислород поступает из крови, парциальное давление равно 35 мм рт. ст.; разность концентраций в 65 мм рт. ст. и обеспечивает переход кислорода из альвеол в кровь, а из крови — в межклеточную жидкость. В свою очередь этот градиент концентраций кислорода создается его непрерывным использованием митохондриями, где кислород превращается в воду. Максимальная скорость действия цитохромоксидазы достигается уже при давлении O₂ 4—5 мм рт. ст. Митохондрии создают как бы кислородный вакуум в клетках, в который с помощью эритроцитов засасывается кислород из атмосферы.

Гемоглобин крови при том парциальном давлении O₂, которое имеется в альвеолярном воздухе, насыщается кислородом на 97% (рис. 154). При прохождении крови по капиллярам HbO₂ диссоциирует, кислород диффундирует в межклеточную жидкость и далее в клетки, т. е. в область низкого давления O₂. Диссоциации оксигемоглобина в капиллярах способствует поступление дополнительных количеств CO₂ из клеток: диоксид углерода снижает средство гемоглобина к кислороду (рис. 154). Это происходит в результате протонирования некоторых кислотных групп белковой части гемоглобина протонами, образующимися при диссоциации угольной кислоты:



В венозной крови степень насыщения гемоглобина кислородом рав-



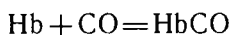
Графики связывания кислорода кровью при pCO₂ 40 мм рт. ст. (1) и гемоглобином в буферном растворе при pCO₂ 40 мм рт. ст. (2) и без CO₂ (3)



на 64%. Таким образом, в дыхательном цикле степень насыщения меняется на 33% (от 97% в артериальной крови до 64% в венозной). Поскольку в 100 мл крови при 100%-ном насыщении содержится 20 мл O_2 (см. выше), легко рассчитать, что при изменении степени насыщения на 33% освобождается 6,6 мл O_2 — такое количество кислорода приносят тканям каждые 100 мл крови.

При мышечной работе в результате усиления расхода O_2 в митохондриях его концентрация в межклеточной жидкости дополнительно снижается, и гемоглобин отдает тканям больше кислорода, чем в покое. Этот механизм вместе с ускорением тока крови обеспечивает доставку работающим мышцам большего количества кислорода. Однако потребность в энергии при переходе к интенсивной работе увеличивается больше, чем может обеспечить аэробный синтез АТФ в митохондриях даже при усиленном снабжении кислородом. Поэтому включается еще и анаэробный распад глюкозы: при работе скелетных мышц аэробный обмен увеличивается в десятки раз, а анаэробный — в сотни раз.

Монооксид углерода CO (угарный газ) связывается с гемоглобином, подобно кислороду, с образованием карбоксигемоглобина ($HbCO$):

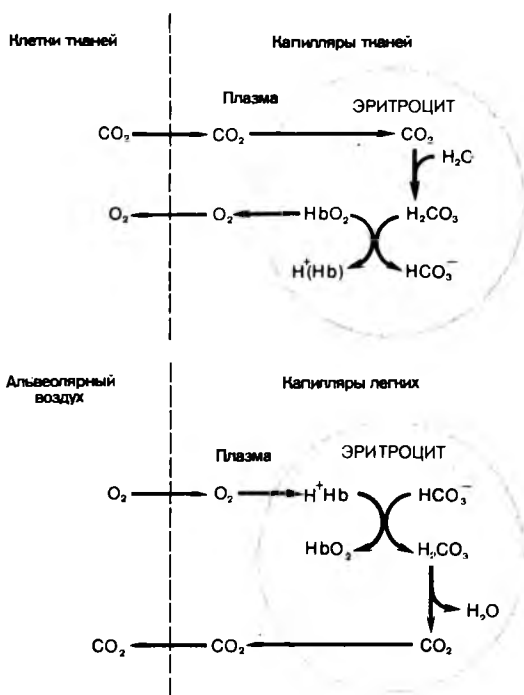


Сродство гемоглобина к CO в 200 с лишним раз больше, чем к O_2 , поэтому даже при низкой концентрации угарного газа значительная часть гемоглобина превращается в карбоксигемоглобин и выключается из транспорта кислорода. Точнее говоря, в тетрамерной молекуле гемоглобина одни протомеры оказываются занятыми монооксидом углерода, другие — кислородом; в таких молекулах кислород удерживается прочнее, чем в молекулах, не содержащих CO , и освобождение кислорода в тканях затруднено. Таким образом, возникновение дефицита кислорода в тканях при отравлении угарным газом обусловлено как блокированием части гемов гемоглобина, так и нарушением функции свободных от CO гемов.

Транспорт диоксида углерода

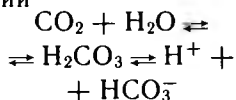
Градиент парциального давления CO_2 между межклеточной жидкостью и артериальной кровью составляет около 10 мм рт. ст., т. е. значительно меньше, чем градиент концентраций O_2 (см. табл. 52). Однако скорость диффузии CO_2 примерно в 30 раз больше, чем O_2 , поэтому переход CO_2 из межклеточной жидкости в кровь происходит быстро. В эритроцитах CO_2 при действии карбангидразы превращается в H_2CO_3 (рис. 155). Далее H_2CO_3 диссоциирует с образованием протона и иона HCO_3^- ; протон присоединяется к гемоглобину и способствует освобождению O_2 (см. выше). После этих изменений в капиллярах тканей эритроцит с венозной кро-





вью попадает в капилляры легких, и здесь происходят процессы, обратные тем, которые протекают в тканях. Гемоглобин насыщается кислородом; присоединение кислорода увеличивает степень диссоциации некоторых кислотных групп белковой части гемоглобина (т. е. повышается кислотность гемоглобина). Освобождающиеся протоны нейтрализуют HCO_3^- , угольная кислота расщепляется карбангидразой, образующийся CO_2 диффундирует в альвеолярный воздух.

Равновесие реакции

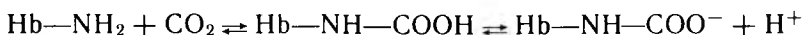


Перенос диоксида углерода кровью

сильно смещено влево. В капиллярах тканей повышение концентрации CO_2 и связывание H^+ гемоглобином смещает его вправо; в капиллярах легких освобождение H^+ из гемоглобина и удаление CO_2 смещает равновесие влево. Реакция $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3$ протекает достаточно медленно; карбангидраза эритроцитов в высокой степени ускоряет достижение равновесия в этой реакции: это один из самых активных ферментов (см. табл. 14). Во время движения крови по артериям и венам скорость прямой и обратной реакций одинакова; в капиллярах тканей скорость образования H_2CO_3 больше, чем скорость ее распада на CO_2 и H_2O , а в капиллярах легких отношение обратное. Каждый эритроцит проходит через капилляры легких меньше, чем за секунду, а при интенсивной физической работе вдвое быстрее, и за это время освобождается от CO_2 и полностью оксигенируется.

Изменение кислотности Hb при его оксигенировании в легких и снижении сродства гемоглобина к O_2 в присутствии CO_2 в тканях обусловлены конформационными перестройками молекулы гемоглобина при связывании лигандов (O_2 или H^+). Можно сказать, что CO_2 вытесняет O_2 из гемоглобина в тканях и, наоборот, в легких O_2 вытесняет CO_2 из крови в альвеолярный воздух.

Это явление известно под именем *эффекта Бора* (К. Бор, датский физиолог, отец знаменитого Н. Бора). Эффект Бора обеспечивает перенос примерно 80% CO_2 из тканей в легкие. Остальная часть транспортируется в форме растворенного в плазме CO_2 , а также в форме карбгемоглобина — соединения CO_2 с N-концевыми аминокетильными группами гемоглобина:



Эта реакция в эритроцитах капилляров тканей протекает слева направо, а в легких — в обратном направлении.

ДЫХАТЕЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ pH ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ЖИДКОСТИ

Кроме того, что эффект Бора важен для снабжения тканей кислородом и удаления CO_2 , он еще участвует и в стабилизации pH крови. Превращение CO_2 в угольную кислоту в капиллярах тканей могло бы изменить pH крови в кислую сторону, если бы протон не связывался с гемоглобином; наоборот, в капиллярах легких освобождение протона гемоглобином предотвращает подщелачивание. Буферные свойства гемоглобина создают примерно $\frac{3}{4}$ всей буферной емкости крови и наряду с буферными свойствами системы $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$, находящейся в равновесии с газообразным CO_2 , поддерживают pH крови с высокой точностью.

В норме отношение $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$ в крови равно 20:1. При гипервентиляции легких (частое, усиленное дыхание) концентрация внеклеточной H_2CO_3 может снижаться, отношение $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$ увеличивается, и возникает дыхательный алкалоз. Наоборот, при гиповентиляции (например, при воспалении легких) отношение $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$ уменьшается, и возникает дыхательный ацидоз.

Дыхательный алкалоз наступает, если гипервентиляция происходит при исходно нормальном значении pH внеклеточной жидкости. Если же имеет место метаболический ацидоз (например, вследствие кетонемии), то возбуждается дыхательный центр, чувствительный к pH, усиливается дыхание, и ацидоз частично компенсируется. Однако главную роль в компенсации ацидоза играют почечные механизмы, которые описаны в гл. XV.

ПЛАЗМА КРОВИ

Плазма крови представляет собой примерно 10%-ный водный раствор органических и минеральных веществ. Концентрация белков составляет около 7%, минеральных солей — около 1%; остальная часть приходится на различные небелковые органические соединения (табл. 54; содержание аминокислот в плазме крови — см. табл. 40; содержание минеральных веществ — табл. 43).

Белки плазмы методом электрофореза в простых его вариантах разделяются на пять фракций: альбумины, α_1 -глобулины,

α_2 -глобулины, β -глобулины и γ -глобулины (см. рис. 21). Каждая из этих фракций представляет собой смесь разных белков; методами с более высокой разрешающей способностью в плазме удастся обнаружить около сотни разных белков. Если же выявлять белки не по окрашиванию разными красителями, как это обычно делается при электрофорезе белков, а по биологической актив-

Таблица 53. Некоторые небелковые органические соединения плазмы крови (диапазон концентраций у здоровых людей, мг/дл)

Вещество	Концентрация	Вещество	Концентрация
Мочевина	20—30	α -Кетоглутаровая кислота	0,2—0,1
Билирубин	0,2—1,4	Аскорбиновая кислота	1—2
Индикан	0,2—0,7	Янтарная кислота	0,1—0,6
Креатин	0,2—0,9	Триацилглицерины	50—200
Креатинин	1—2	Жирные кислоты	8—30
Мочевая кислота	2—6	Холестерин (неэтерифицированный)	40—70
Глюкоза	80—120	Эфиры холестерина	90—190
Фруктоза	6—8	Фосфатидилхолины	100—200
Молочная кислота	8—17	Фосфатидилэтанолламины	0—30
Пировиноградная кислота	0,4—2,0	Холевая кислота	0,5—1,5
Ацетоуксусная кислота	0,8—2,8		
Лимонная кислота	1,4—30		

ности, то разных белков обнаруживается еще больше. Вероятно, очень многие растворимые белки тканей могут в небольших количествах появляться в крови.

Наиболее однородна альбуминовая фракция плазмы крови: она почти целиком представлена одним белком — альбумином крови. Фракция γ -глобулинов содержит главным образом антитела (иммуноглобулины). Другие фракции гетерогенны.

Большинство белков, постоянно содержащихся в плазме, функции которых связаны именно с нахождением в крови, синтезируется в печени.

Альбумин

На долю альбумина приходится больше половины всех белков плазмы крови: его концентрация в плазме равна 40—50 г/л. Важную функцию альбумина составляет участие в регуляции распределения воды между кровью и межклеточным пространством. Молекула альбумина содержит много дикарбоксильных аминокислот; в крови, которая имеет рН 7,4, отрицательный заряд альбумина равен 18. Благодаря этому в плазме крови удерживается много положительно заряженных ионов, главным образом Na^+ , и таким способом создается значительная часть осмотического давления крови.

Альбумин из крови поступает в межклеточную жидкость, из которой по лимфатической системе вновь возвращается в кровь. Несколько больше половины общего количества альбумина находится в межклеточной жидкости, но его концентрация в плазме крови больше, поскольку объем крови примерно в четыре раза

меньше объема межклеточной жидкости. При увеличении проницаемости капилляров альбумин в большем количестве выходит в межклеточную жидкость, и вклад, который он вносит в создание осмотического давления, уменьшается в крови и увеличивается в межклеточной жидкости. Поскольку осмотическое давление не может быть разным в разных частях тела, вместе с альбумином и компенсирующими его заряд ионами Na^+ из крови в межклеточное пространство уходит вода, изменяются относительные количества межклеточной жидкости и крови.

Если увеличение проницаемости капилляров имеет острый характер, т. е. наступает быстро, то объем крови резко уменьшается, кровяное давление падает; клинически это проявляется как шок. Шок — частое следствие тяжелых травм и ожогов.

При нарушениях кровообращения (болезни сердца, тромбозы, расширение вен) также усиливается выход альбумина в межклеточное пространство вследствие замедления тока крови. Поскольку в этих случаях события развиваются медленно, уменьшение объема крови компенсируется действием ренин-ангиотензин-альдостероновой системы восстановления объема крови. В частности, включение этой системы вызывает жажду, однако потребляемая вода вновь уходит из крови в межклеточное пространство, что приводит к возникновению отеков.

Концентрация альбумина в крови может снижаться также вследствие его выделения с мочой при заболевании почек (*альбуминурия*). Печень человека синтезирует и выделяет в кровь 10—15 г альбумина в сутки. При некоторых болезнях печени (например, при циррозе) синтез альбумина нарушается. Для этих состояний тоже характерны отеки.

Другая важная функция альбумина — транспорт веществ. Альбумин способен присоединять многие гидрофобные вещества; в частности, в соединении с альбумином транспортируются жирные кислоты при мобилизации жиров жировой ткани, билирубин, некоторые гормоны.

СВЕРТЫВАНИЕ КРОВИ

Повреждение кровеносного сосуда вызывает каскад молекулярных процессов, в результате которых образуется сгусток крови — тромб, прекращающий вытекание крови. В месте повреждения к открывшемуся межклеточному матриксу прикрепляются тромбоциты; их форма изменяется, они распространяются по поверхности, выделяют ряд растворимых веществ, в том числе таких, которые стимулируют прикрепление новых тромбоцитов, в результате возникает тромбоцитная пробка. Одновременно включается система реакций, ведущих к превращению растворимого белка плазмы фибриногена в нерастворимый фибрин, который откладывается в тромбоцитной пробке и на ее поверхности, образуя тромб. В тромбе содержатся также и эритроциты.

Снижение способности крови свертываться ведет к повыше-

Таблица 55. Факторы, участвующие в свертывании крови

Цифровое обозначение и название фактора	Краткая характеристика
I, фибриноген	Растворимый белок, предшественник фибрина
II, протромбин	Профермент тромбина (фактора IIa)
III, тромбопластин	Фосфолиппротеиновые фрагменты клеточных мембран, добавление которых к плазме крови резко сокращает время свертывания
IV, Ca ²⁺	Участвует во многих реакциях свертывания крови; декальцинированная кровь не свертывается
V, проакцелерин	Предшественник фактора V', активирующего фактор Ха по аллостерическому механизму
VII*, проконвертин	Профермент фактора VIIa
VIII, антигемофилический фактор	Предшественник фактора VIII', активирующего фактор IXa по аллостерическому механизму
IX, фактор Кристмаса	Профермент фактора IXa
X, фактор Стюарта	Профермент фактора Xa
XI, предшественник тромбопластина плазмы	Профермент фактора XIa
XII, фактор Хагемана	Профермент фактора XIIa
XIII, предшественник транслугтаминазы	Профермент фактора XIIIa (транслугтаминазы)
Прекалликреин	Профермент калликреина

* Фактора VI нет; этот номер был когда-то присвоен «новому открытому» фактору свертывания, однако впоследствии выяснилось, что он идентичен фактору V.

нию кровоточивости: опасные кровотечения и внутренние кровоизлияния могут быть даже при небольших ранах и ушибах (геморрагические состояния). Наоборот, при повышенной свертываемости крови могут образоваться внутрисосудистые тромбы, закупоривающие неповрежденные сосуды (тромботические состояния).

В свертывании крови участвует около полутора десятков белков плазмы и по крайней мере один тканевой белок, а также фосфолипиды мембран клеток, в области которых образуется тромб, ионы Ca²⁺ и тромбоциты. Свертываться может не только кровь в области раны, но и кровь в пробирке, и плазма крови, не содержащая форменных элементов. С меньшей скоростью происходит свертывание лимфы.

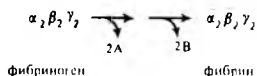
Большинство веществ (факторов), участвующих в свертывании, обозначают римскими цифрами (фактор I, фактор II и т. д.); они имеют также и тривиальные названия (табл. 55). Все белковые факторы свертывания, имеющиеся в плазме, синтезируются в печени. Многие из этих белков представляют собой проферменты; в ходе свертывания они превращаются в активные ферменты, которые обозначают той же римской цифрой с добавлением буквы а (IIa, Xa и т. д.).

Образование и стабилизация тромба

Непосредственно тромбообразовательным процессом является превращение фибриногена в фибрин. Фибриноген — это крупный

белок (молекулярная масса 340 000), построенный из трех пар пептидных цепей ($\alpha_2\beta_2\gamma_2$), которые соединены дисульфидными связями. Молекула фибриногена имеет сигарообразную форму, ее длина 45 нм и толщина 9 нм. Концентрация фибриногена в плазме крови составляет 0,3 г/дл.

Протеолитический фермент тромбин (фактор IIa) отщепляет от каждой из α - и β -цепей фибриногена N-концевую часть (фибринопептиды A и B); в этом и заключается превращение фибриногена в фибрин:



Такое превращение открывает в молекуле центры связывания, к которым присоединяются другие молекулы фибрина; путем самосборки образуются крупные удлинённые агрегаты молекул, нерастворимые в плазме крови. Эти агрегаты соединяются друг с другом, образуя трехмерную решетку, в которую включены тромбоциты, а также и другие форменные элементы крови. Белок фибронектин, имеющийся в плазме крови и в межклеточном матриксе, тоже специфически соединяется с фибрином. Поскольку фибронектин взаимодействует и с другими молекулами межклеточного матрикса (см. рис. 147), фибриновый тромб оказывается прикрепленным к матриксу в области повреждения сосуда.

✓ Свежеобразованный тромб, получающийся в результате самосборки, не отличается прочностью: фибриновый гель легко можно разрушить механическим воздействием. Однако после образования фибрина начинается новый химический процесс — стабилизация геля. Это происходит при действии фермента *трансглутаминазы* (см. гл. XVIII): молекулы фибрина в геле соединяются друг с другом ковалентной связью; трансглутаминаза образует ковалентные связи также между фибрином и фибронектином. В результате увеличивается прочность тромба и прочность его фиксации в месте повреждения. Через час или несколько большее время тромб сжимается (ретракция тромба). Ретракция является следствием сократительной способности тромбоцитов: усилия, создаваемые внутри клетки микрофиламентами, каким-то образом передаются на нити фибрина.

У людей с наследственными дефектами трансглутаминазы кровь свертывается так же, как у здоровых, однако тромб получается хрупкий, поэтому легко возникают вторичные кровотечения.

Включение процесса тромбообразования

Кровотечение из капилляров и мелких сосудов останавливается уже при образовании тромбоцитарной пробки. Для остановки кровотечения из более крупных сосудов необходимо быстрое образование прочного тромба, чтобы свести к минимуму по-

терю крови и чтобы растущий тромб не успевал размываться вытекающей кровью. Это достигается каскадом ферментных реакций с механизмами усиления на многих ступенях.

Различают два пути свертывания крови — внешний и внутренний.

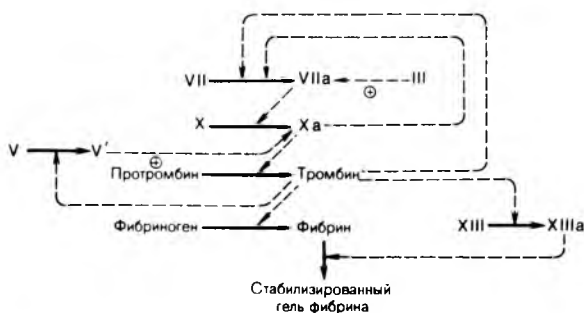
Внешний механизм свертывания. В этом пути участвуют тромбопластин (тканевой фактор, фактор III), проконвертин (фактор VII), фактор Стюарта (фактор X), проакцелерин (фактор V), а также Ca^{2+} и фосфолипиды мембранных поверхностей, на которых образуется тромб (рис. 156).

Тромбопластин недостаточно изучен. Гомогенаты многих тканей ускоряют свертывание крови: это действие называют тромбопластиновой активностью. Вероятно, она связана с наличием в тканях какого-то специального белка.

Факторы VII и X представляют собой проферменты. Они активируются путем частичного протеолиза, превращаясь в протеолитические ферменты — факторы VIIa и Xa соответственно.

Фактор V — это белок, который при действии тромбина превращается в фактор V'; последний не является ферментом, но активирует фермент Xa по аллостерическому механизму; активация значительно усиливается в присутствии фосфолипидов и Ca^{2+} .

Начало и ход свертывания можно представить следующим образом (рис. 156). В плазме крови постоянно содержатся следовые количества фактора VIIa. При повреждении тканей и стенок сосуда освобождается фактор III — мощный активатор фактора VIIa: активность последнего увеличивается более чем в 15 000 раз. Фактор VIIa отщепляет часть пептидной цепи фактора X, превращая его в фермент — фактор Xa. Сходным образом фактор Xa активирует протромбин; получившийся тромбин катализирует превращение фибриногена в фибрин, а также превращение предшественника трансглутаминазы в активный фермент (фактор XIIIa).



Внешний путь свертывания крови:

пунктирные стрелки — активация путем частичного протеолиза; пунктирные стрелки, помеченные знаком плюс, — активация аллостерического типа; сплошные стрелки — химические превращения



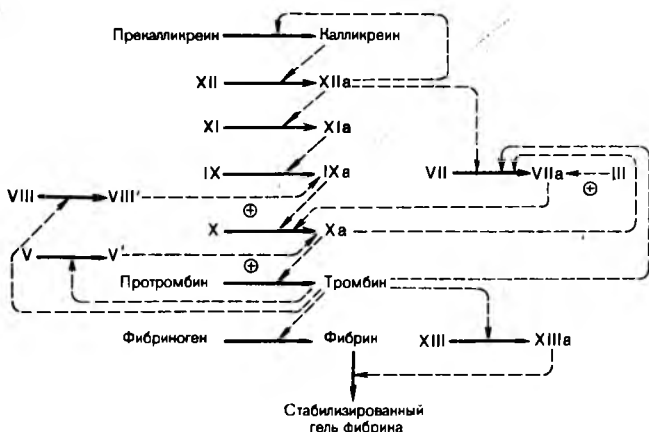
Внутренний путь свертывания крови (условные обозначения — см. рис. 156)

Этот каскад реакций имеет положительные обратные связи, усиливающие конечный результат. Фактор Xa и тромбин катализируют превращение неактивного фактора VII в фермент VIIa; кроме того, тромбин превращает фактор V в фактор V', который вместе с фосфолипидами и Ca^{2+} в 10^4 — 10^5 раз повышает активность фактора Xa. Благодаря положительным обратным связям скорость образования самого тромбина и, следовательно, превращения фибриногена в фибрин нарастают лавинообразно, и в течение 10—12 с кровь свертывается.

Внутренний механизм свертывания. Свертывание крови по внутреннему механизму происходит значительно медленнее и требует 10—15 мин. Этот механизм называют внутренним, потому что для него не требуется тромбопластин (тканевой фактор) и все необходимые факторы содержатся в крови. Однако если из плазмы тщательно удалить тромбоциты (скоростным центрифугированием), то такая плазма может долго сохраняться, не свертываясь; добавление к ней тромбоцитов приводит к быстрому свертыванию. Тромбоциты поставляют ряд недостаточно изученных веществ, необходимых для свертывания.

Внутренний механизм свертывания также представляет собой каскад последовательных активаций проферментов (рис. 157). Начиная со стадии превращения фактора X в Xa, внешний и внутренний пути одинаковы. Как и внешний путь, внутренний путь свертывания имеет положительные обратные связи: тромбин катализирует превращение предшественников V и VIII в активаторы V' и VIII', которые в конечном счете увеличивают скорость образования самого тромбина.

Взаимодействие внешнего и внутреннего механизмов свертывания крови. Фактор VII, специфичный для внешнего пути



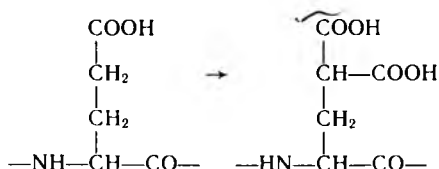
Взаимодействие внешнего и внутреннего путей свертывания крови

свертывания, может быть активирован фактором XIIa, который участвует во внутреннем пути свертывания (рис. 158). Это обстоятельство превращает оба пути в единую систему свертывания крови.

До сих пор остается неясным вопрос о степени, активация которой запускает механизм свертывания крови. Хотя выше мы указали на активацию фактора VIIa тканевым фактором III как на начальное звено каскада, фактически процесс может быть начат с активации любой ступени, начиная с прекалликреина и кончая тромбином: благодаря положительным обратным связям, во всех случаях произойдет лавинообразное нарастание скорости процесса. Не исключено, что *in vivo* свертывание начинается с активации двух или большего числа ступеней.

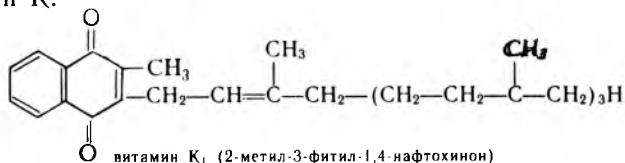
Витамин К

В пептидных цепях факторов II, VII, IX и X содержится необычная аминокислота — γ -карбоксиглутаминовая кислота. Эта аминокислота образуется из глутаминовой кислоты в результате посттрансляционной модификации указанных белков:



Реакции, в которых участвуют факторы II, VII, IX и X, активируются ионами Ca^{2+} и фосфолипидами; радикалы γ -карбоксиглутаминовой кислоты образуют центры связывания Ca^{2+} на этих белках. По-видимому, перечисленные факторы, а также факторы V' и VIII' прикрепляются к бислоиным фосфолипидным мембранам и друг к другу при участии ионов Ca^{2+} , и в таких комплексах происходит активация факторов II, VII, IX и X. Ион Ca^{2+} активирует также и некоторые другие реакции свертывания; декальцинированная кровь не свертывается.

Превращение глутамильного остатка в γ -карбоксиглутамильный катализируется ферментом, коферментом которого служит витамин К:



Недостаточность витамина К возникает редко: он содержится во многих пищевых продуктах, а кроме того, синтезируется кишечной флорой. Поскольку это жирорастворимый витамин, возникновение гиповитаминоза обычно связано с нарушением всасывания жиров, например при закупорке желчных протоков.

Гиповитаминоз, вызванный в эксперименте у животных, проявляется повышенной кровоточивостью, подкожными и внутренними кровоизлияниями. Это связано с тем, что в отсутствие витамина К образуются факторы II, VII, IX и X, не содержащие γ -карбоксиглутамильных остатков: такие проферменты не могут превращаться в активные ферменты.

Структурный аналог витамина К *дикумарол* ингибирует фермент, превращающий глутамильные остатки в γ -карбоксиглутамильные: введение дикумарола вызывает такие же последствия, как недостаточность витамина К.

Белки свертывания крови достаточно быстро обновляются. Для многих из них время полужизни составляет 3—5 дней. После введения дикумарола вновь синтезируемые факторы II, VII, IX и X не содержат γ -карбоксиглутамильных остатков и постепенно нормальные факторы заменяются дефектными, свертываемость крови снижается. Дикумарол применяют для предупреждения тромбозов при повышенной свертываемости крови; его действие начинает проявляться примерно через день после введения.

Гемофилии

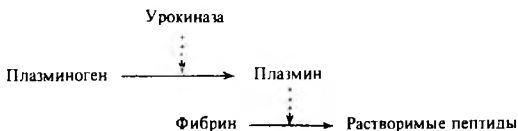
Наследственные дефекты белков, участвующих в свертывании крови, проявляются повышением кровоточивости. Наиболее часто встречается болезнь, вызванная отсутствием фактора VIII — *гемофилия А*. Ген фактора VIII локализован в X-хромосоме;

повреждение этого гена проявляется как рецессивный признак, поэтому у женщин, в геноме которых две X-хромосомы, гемофилии А не бывает. У мужчин, имеющих одну X-хромосому, наследование дефектного гена приводит к гемофилии. Признаки болезни обычно обнаруживаются в раннем детстве: при малейшем порезе, ушибе, выпадении молочных зубов, а то и спонтанно возникают кровотечения и кровоизлияния; характерны для гемофилии внутрисуставные кровоизлияния. Частая потеря крови приводит к развитию железодефицитной анемии. Для остановки кровотечения при гемофилии вводят свежую донорскую кровь, содержащую фактор VIII, или препараты фактора VIII.

✓ Фибринолиз

Тромб в течение нескольких дней после образования рассасывается. Главная роль в его растворении принадлежит протеолитическому ферменту *плазмину*. Плазмин гидролизует в фибрине пептидные связи, образованные остатками аргинина и триптофана, причем образуются растворимые пептиды.

В циркулирующей крови находится предшественник плазмينا — плазминоген. Он активируется ферментом *урокиназой*, который, по-видимому, содержится во многих тканях. В циркулирующей крови время полужизни урокиназы невелико — около 10 мин. Во время образования тромба плазминоген и урокиназа адсорбируются фибрином и фиксируются в тромбе; постепенно происходит активация плазминогена, и образующийся плазмин гидролизует фибрин тромба:



Кроме урокиназы плазминоген может активироваться калликреином, также имеющимся в тромбе.

✓ Плазмин может активироваться и в циркулирующей крови без повреждения сосудов. Есть основания думать, что свертывание крови в какой-то мере происходит постоянно то в одном, то в другом месте кровеносного русла, однако благодаря действию плазмينا тромбы не вырастают. В циркулирующей крови плазмин быстро инактивируется белковым ингибитором α_2 -антиплазмином, в то время как внутри тромба он защищен от действия ингибитора.

✓ Урокиназа — эффективное средство для растворения тромбов или предупреждения их образования при тромбозах, тромбозах легочных сосудов, инфаркте миокарда, массивных хирургических вмешательствах. Однако единственный источник, из которого получают урокиназу, — моча человека, поэтому урокиназа малодоступна. С той же целью применяют *стрептокиназу*.

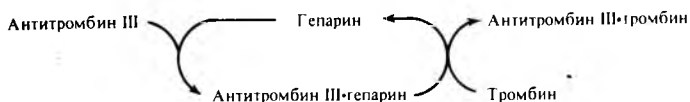
зу — протеолитический фермент, выделяемый из некоторых видов стрептококков, который тоже активирует плазминоген. Но это чужеродный для человека белок, он вызывает образование антител и аллергические реакции.

Противосвертывающая система

При развитии системы свертывания крови в ходе эволюции решались две противоположные задачи: предотвращать вытекание крови при повреждении сосудов, но сохранять кровь в жидком состоянии в неповрежденных сосудах. Вторая задача решается противосвертывающей системой, которая представлена набором белков плазмы, ингибирующих протеолитические ферменты.

Белок плазмы антитромбин III ингибирует все протеиназы, участвующие в свертывании крови, кроме фактора VIIa. Он не действует на факторы, находящиеся в составе комплексов с фосфолипидами, а только на те, которые находятся в плазме в растворенном состоянии. Следовательно, он нужен не для регуляции образования тромба, а для устранения ферментов, попадающих в кровоток из места образования тромба, тем самым он предотвращает распространение свертывания крови на неповрежденные участки кровеносного русла.

Гепарин усиливает ингибирующее действие антитромбина III: присоединение гепарина индуцирует конформационные изменения, которые повышают сродство ингибитора к тромбину и другим факторам. Однако после соединения этого комплекса с тромбином гепарин освобождается и может присоединяться к другим молекулам антитромбина III. Таким образом, каждая молекула гепарина может активировать большое количество молекул антитромбина III; в этом отношении действие гепарина сходно с действием катализаторов:



Гепарин применяют как антикоагулянт при лечении тромботических состояний.

Известен генетический дефект, при котором концентрация антитромбина III в крови вдвое меньше, чем в норме; у таких людей часто наблюдаются тромбозы.

Антитромбин III, по-видимому, — главный компонент противосвертывающей системы. Однако в плазме крови имеются и другие белки — ингибиторы протеиназ, которые также могут уменьшать вероятность внутрисосудистого свертывания крови. Отметим один из них — α_2 -макрोगлобулин. Это крупный белок с молекулярной массой 720 000, построенный из четырех идентич-

ных субъединиц. Он ингибирует многие протеиназы, и не только те, которые участвуют в свертывании крови.

Интересен механизм действия α_2 -макроглобулина. Он содержит участки пептидной цепи, которые являются субстратами для многих протеиназ; протеиназы присоединяются к этой «приманке», гидролизуют в ней некоторые пептидные связи, в результате чего изменяется конформация α_2 -макроглобулина, и он захватывает фермент, подобно капкану. Для этого ингибитор должен иметь большие размеры. Фермент при этом не повреждается: в комплексе с ингибитором он способен гидролизовать низкомолекулярные пептиды, но для крупных молекул активный центр фермента недоступен. Комплекс α_2 -макроглобулина с ферментом быстро удаляется из крови: время его полужизни в крови — около 10 мин.

При массивном поступлении в кровотока активированных факторов свертывания крови мощность противосвертывающей системы может оказаться недостаточной, появляется опасность тромбозов. Такая ситуация возникает, в частности, при обширных травмах и больших хирургических операциях.

Глава XXI

МЫШЦЫ

Мышцы составляют около половины массы всего тела человека. Функция мышц заключается в развитии напряжения и укорочения, в результате чего обеспечивается подвижность организма или сопротивление механической силе (статические нагрузки). В организме человека различают три основных типа мышц: поперечнополосатые скелетные мышцы, сокращающиеся произвольно; поперечнополосатая сердечная мышца, сокращающаяся непроизвольно; гладкие мышцы, сокращающиеся также непроизвольно. Сокращение мышцы происходит за счет энергии АТФ и вызывается нервным импульсом.

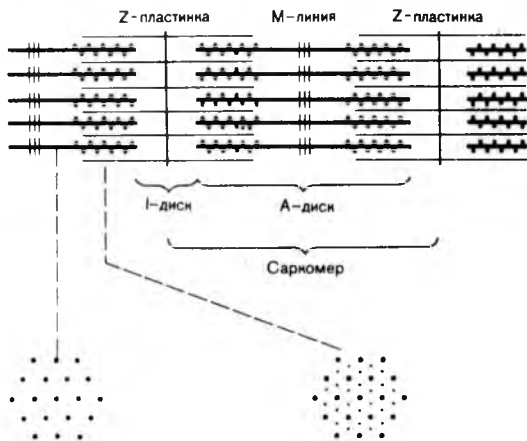
Мышца состоит из отдельных волокон, которые представляют собой мышечные клетки. Толщина мышечной клетки равна 10—100 мкм, а длина может быть равна длине мышцы; клетки портняжной мышцы человека достигают длины 12 см. Клетка окружена плазматической мембраной (сарколеммой); в цитоплазме находятся многочисленные ядра (100—200), примыкающие к сарколемме, митохондрии и другие обычные для клеток органеллы. В эмбриогенезе каждая мышечная клетка образуется путем слияния множества клеток-предшественников. В мышечной клетке имеются *миофибриллы* — особым образом организованные пучки белков, располагающиеся вдоль клетки. Миофибриллы в свою очередь построены из белковых нитей (филаментов) двух типов — толстых и тонких. Основным белком толстых



a

159
Строение мышечного волокна:

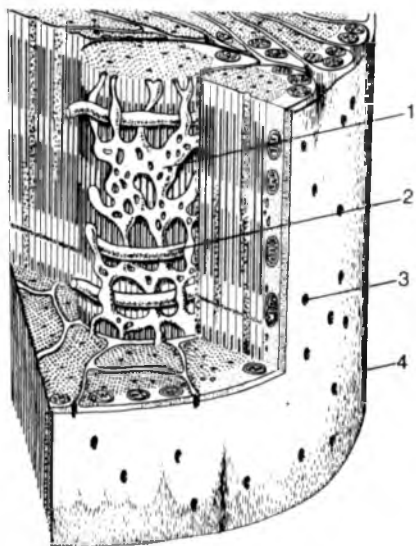
a — электронная микрофотография; б — схема строения саркомера (вверху — продольный срез, внизу — поперечные срезы)



б

нитей является *миозин*, а тонких — *актин*. Миозиновые и актиновые нити — главный компонент всех сократительных систем.

Электронно-микроскопическое изучение поперечных и продольных срезов мышц обнаружило строго упорядоченное расположение миозиновых и актиновых нитей в миофибрилле (рис. 159). Функциональной единицей миофибриллы является *саркомер* — участок миофибриллы (длиной 2,5 мкм) между двумя Z-пластинками. Саркомер включает пучок миозиновых нитей, серединой прикрепленных к M-пластинке (M-линия), и пучки актиновых нитей, прикрепленных к Z-пластинкам. Многие сотни саркомеров образуют миофибриллу.



160

Поперечные трубки и саркоплазматический ретикулум мышечного волокна:

1 — саркоплазматический ретикулум, оплетающий миофибриллу; 2 — Т-трубки; 3 — устье Т-трубки; 4 — сарколема

Чередование в миофибрилле участков, содержащих толстые нити, с участками, содержащими тонкие нити (А-диски и I-диски), создает поперечную полосатость мышц. На электронно-микроскопических фотографиях сокращенной мышцы видно, что диски I почти исчезают, концы толстых нитей приближаются к Z-пластинкам, а тонких нитей — к M-линии. Это значит, что сокращение происходит путем скольжения тонких и толстых нитей навстречу друг другу. При сокращении саркомер укорачивается на 25—50 %.

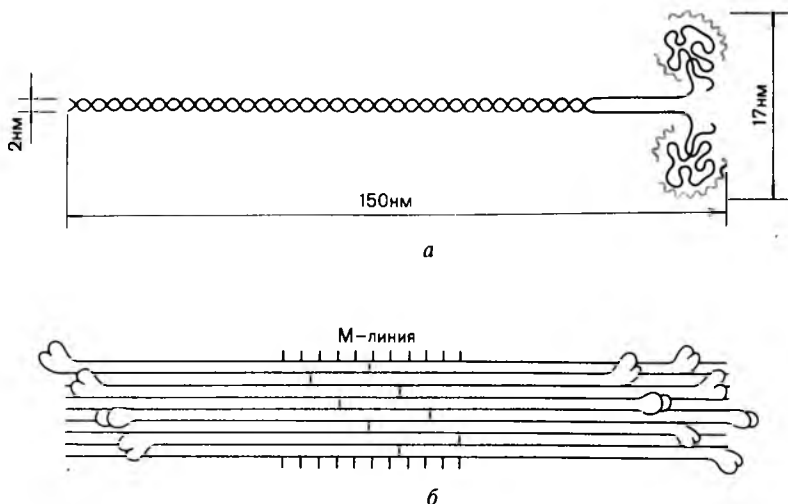
Саркоплазма, вмещающая миофибриллы, пронизана между ними сетью цистерн и трубочек эндоплазматического (саркоплазматического) ретикулума, а также системой поперечных трубочек, которые тесно контактируют с саркоплазматическим ретикулумом, но не сообщаются с ним (рис. 160).

Основные вопросы, на которые биохимики издавна искали ответы, заключаются в следующем: каков молекулярный механизм укорочения мышцы; как энергия АТФ трансформируется в механическую энергию; каким образом нервный импульс, т. е. электрический потенциал мембраны нервного волокна, включает процесс сокращения мышцы.

Изучение биохимии мышц важно для понимания молекулярных механизмов болезней, поражающих мышцы (мышечные дистрофии, изменения при гиподинамии), а также для выбора эффективных методов тренировки спортсменов и людей, профессия которых требует хорошей физической подготовки (например, космонавты).

СТРОЕНИЕ МИОЗИНОВЫХ НИТЕЙ

Миозиновые нити образованы белком миозином, строение которого показано на рис. 161. Миозин составляет почти половину всех белков скелетной мышцы. Молекула миозина содержит две идентичные тяжелые полипептидные цепи (молекулярная масса каждой 200 000) и четыре легкие цепи (молекулярная масса около 20 000). Каждая тяжелая цепь на большей части



161
Строение миозина (а) и миозиновой нити саркомера (б)

длины с С-конца имеет конформацию α -спирали, и обе спирали скручены друг с другом; эта часть молекулы имеет форму палочки. Противоположные концы каждой цепи (N-концы) имеют глобулярную форму, образуя «головки» молекулы. К каждой из головок нековалентно присоединены по две легкие цепи.

Миозин катализирует гидролиз АТФ; это было установлено Энгельгардтом и Любимовой в 1939 г. Энергия гидролиза используется для сокращения мышцы. Значительно позднее выяснилось, что каталитический активный центр локализован в головках молекулы миозина. Открытие АТФазной активности миозина в высокой степени стимулировало исследования мышечного сокращения, поскольку было первым прямым указанием на источник энергии для сокращения и на роль миозина в использовании этой энергии.

Палочкообразные хвосты молекул миозина могут соединяться друг с другом продольно, образуя пучки; головки выступают на поверхности пучка, выстраиваясь вокруг него по спирали. В области М-линии пучки стыкуются «хвост к хвосту» (рис. 161). Так получают миозиновые нити саркомера, каждая из которых содержит около 400 молекул миозина.

СТРОЕНИЕ АКТИНОВЫХ НИТЕЙ

В состав актиновых нитей входят белки *актин*, *тропомиозин* и *тропонин*. Основу нитей составляют молекулы актина. Актин — это глобулярный белок с молекулярной массой 43 000 и

шарообразными молекулами диаметром около 5 нм; такая форма актина называется G-актин (глобулярный актин). G-актин содержится и во многих немышечных клетках.

Молекулы G-актина могут нековалентно соединяться, образуя фибриллярный актин — F-актин. Форма молекул F-актина напоминает две нитки бус, скрученные друг с другом (рис. 162). В мышечных клетках весь актин находится в форме F-актина.

К F-актину могут присоединяться головки миозина, причем на каждой молекуле G-актина в F-актине есть центр связывания миозина. В результате такого взаимодействия в сотни раз увеличивается АТФазная активность миозина. Соединение F-актина с миозином называют *актомиозином*. Образование связей между миозиновыми и актиновыми нитями в саркомере имеет важное значение в процессе сокращения мышцы.

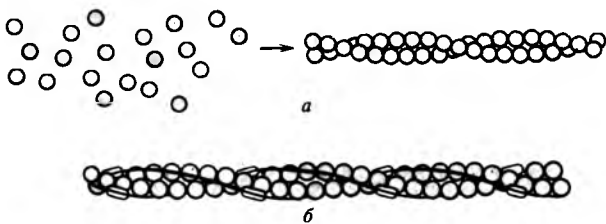
✓ Молекулы другого белка актиновых нитей — тропомиозина — имеют форму палочек длиной 40 нм. Они располагаются вблизи желобков спиральной ленты F-актина, вдоль нее, причем каждая молекула тропомиозина соединена с семью молекулами G-актина, а концами примыкает к соседним молекулам тропомиозина (рис. 162).

✓ Третий белок активных нитей — тропонин — имеет глобулярную форму; он построен из трех разных субъединиц. Тропонин нековалентно связан с тропомиозином и с актином; на каждую молекулу тропомиозина приходится одна молекула тропонина. Одна из субъединиц тропонина содержит Са-связывающие центры: эта субъединица по строению сходна с кальмодулином.

Тонкие нити прикреплены к пластинкам Z, которые тоже представляют собой белковые структуры.

Содержание миозина, актина, тропомиозина и тропонина в миофибриллах равно примерно 55, 25, 15 и 5% соответственно.

Белки миофибрилл можно выделять из мышц и изучать в чистом виде. Из них *in vitro* удастся получать миозиновые и актиновые нити. Миозиновые и актиновые нити можно также выделить из мышечной ткани после осторожного разрушения клеточных мембран и миофибрилл. Можно получать также актомиозиновые комплексы, которые, как мы уже отмечали, образуются в результате присоединения головок миозина к молекулам G-ак-



Строение G-актина и F-актина (а) и актиновой нити саркомера (б)

тина в актиновых нитях (поперечные мостики). Актмиозиновые волокна *in vitro* при определенных условиях могут сокращаться. Использование таких модельных систем оказалось чрезвычайно полезным для изучения механизма мышечного сокращения.

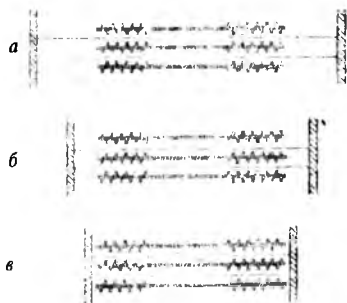
МЕХАНИЗМ СОКРАЩЕНИЯ МЫШЦЫ

Сокращение мышц есть результат укорочения каждого ее саркомера. Укорочение саркомера происходит путем вдвигания актиновых нитей между миозиновыми нитями в направлении М-линии; максимальное укорочение достигается тогда, когда Z-пластинки, к которым прикреплены актиновые нити, приближаются вплотную к концам миозиновых нитей (рис. 163). Движение актиновых нитей, в свою очередь, есть результат взаимодействия четырех основных белков миофибрилл — миозина, актина, тропомиозина и тропонина. Сокращение саркомера сопровождается гидролизом АТФ и регулируется ионами кальция.

Разделение функций между миозиновыми и актиновыми нитями при сокращении можно представить следующим образом. Миозиновые нити содержат активный центр для гидролиза АТФ, устройство для превращения энергии АТФ в механическую тягу, устройство для сцепления с актиновыми нитями и устройство для восприятия регуляторных сигналов со стороны актиновых нитей. Актиновые нити имеют механизм сцепления с миозиновыми нитями и механизмы регуляции сокращения и расслабления.

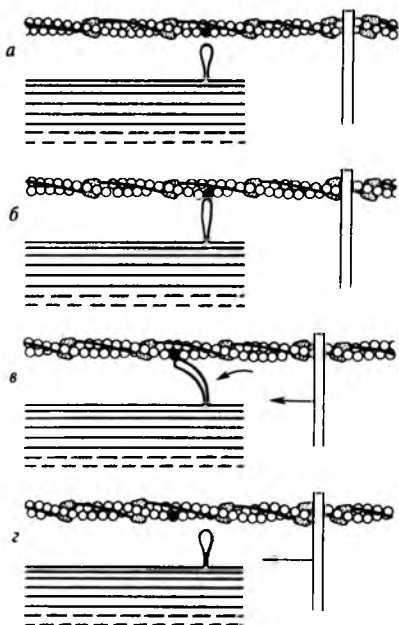
Модель сокращения саркомера, в наибольшей степени отвечающая экспериментальным результатам, представлена на рис. 164. АТФазные центры головок миозина отличаются высоким сродством к АТФ, так что в мышце большинство головок содержит связанный АТФ. В присутствии ионов Ca^{2+} на мономерах актиновой нити открываются центры связывания миозиновых головок. Это происходит в результате присоединения Ca^{2+} к Са-связывающей субъединице тропонина (рис. 164, а).

Ионы Ca^{2+} вызывают конформационные изменения во всей системе тропонин — тропомиозин — актин, включающие по одной молекуле тропонина и тропомиозина и семь молекул G-актина: на всех семи мономерах актина открываются центры связывания с головками миозина. Миозиновая головка присоединяется к одному из мономеров актина (ближайшему) и таким путем происходит сцепление актиновых и миозиновых нитей (состояние б на рис. 164).



Сокращение саркомера:

а — состояние покоя; б — умеренное сокращение; в — предельное сокращение



164
Механизм укорочения саркомера

другому мономеру актина, расположенному ближе к Z-пластинке, поскольку вся актиновая нить переместилась (состояние г на рис. 164).

Сотни миозиновых головок каждой миозиновой нити работают одновременно (но не синхронно), втягивая актиновую нить. Предельное сокращение мышцы развивается в сотые доли секунды (порядка 0,02 с). Сила сокращения зависит от количества миозиновых головок, включенных в работу.

Покоящаяся мышца эластична, она легко растягивается. Сокращенная мышца, наоборот, неэластична, ригидна; растяжению препятствуют связи между актиновыми и миозиновыми нитями.

Ригидность возникает также при сильном снижении концентрации АТФ в мышцах: в этих условиях все большее и большее число миозиновых головок остается связанным с актином в состоянии в (рис. 164), так как для выхода из этого состояния требуется АТФ.

Такая ригидность может возникать, например, при сильной гипоксии. Окоченение трупа также обусловлено образованием связей между актиновыми и миозиновыми нитями вследствие исчезновения АТФ.

Присоединение головки к актину активирует АТФазный центр, АТФ гидролизуется, АДФ и фосфат покидают активный центр, что приводит к изменению конформации миозина: возникает напряжение, стремящееся уменьшить угол α между головкой и хвостом молекулы миозина, т. е. наклонить головку в направлении М-линии. Поскольку головка прикреплена к актиновой нити, она, наклоняясь в сторону М-линии, смещает в этом же направлении и актиновую нить (состояние в на рис. 164). Теперь АТФазный центр может присоединить новую молекулу АТФ; ее присоединение уменьшает сродство миозиновой головки к актину, миозин возвращается в исходное состояние и начинается новый цикл взаимодействия с актином. В новом цикле та же самая головка присоединяется уже к

ВКЛЮЧЕНИЕ СОКРАЩЕНИЯ МЫШЦЫ

Сокращение мышцы включается потенциалом действия нервного волокна, который через нервно-мышечный синапс при посредстве медиатора трансформируется в потенциал действия сарколеммы и трубочек Т-системы. Ответвления трубочек окружают каждую миофибриллу, а также контактируют с цистернами саркоплазматического ретикулула (см. рис. 160). В цистернах в значительной концентрации содержится кальций, часть которого хранится в соединении со специальным Са-связывающим белком секвестрином. Потенциал действия, поступающий по трубочкам, вызывает освобождение ионов Ca^{2+} из цистерн саркоплазматического ретикулула (механизм не изучен). В покоящихся мышцах концентрация кальция в цитозоле клеток несколько меньше 10^{-7} моль/л; при возбуждении она увеличивается примерно до 10^{-5} моль/л. При такой концентрации молекулы тропонина насыщаются ионами Ca^{2+} и включается сокращение.

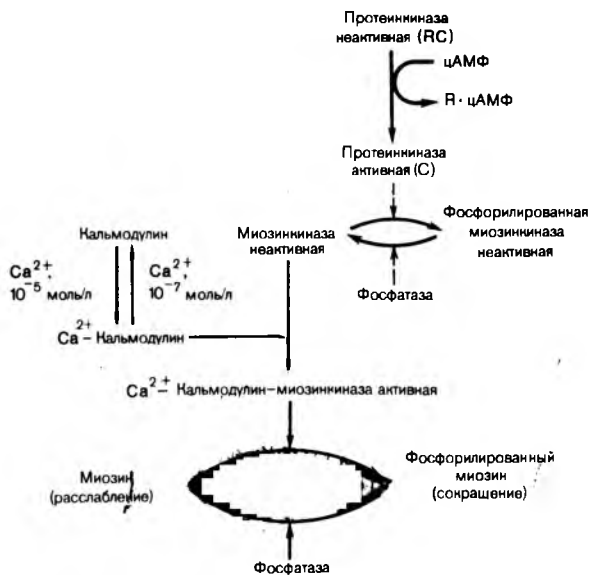
В мембране саркоплазматического ретикулула имеется Са-АТФаза, которая составляет преобладающий интегральный белок этих мембран (около 90% от всех белков). При повышении концентрации Ca^{2+} в цитозоле Са-АТФаза начинает перекачивать его обратно в полость ретикулула. Если с нерва не поступает новый импульс, вызывающий выход Ca^{2+} из цистерн ретикулула, то скоро его концентрация в цитозоле снижается до 10^{-7} моль/л и мышца расслабляется.

СОКРАЩЕНИЕ ГЛАДКИХ МЫШЦ

Гладкие мышцы устроены иначе, чем поперечно-полосатые; они менее изучены, однако известно, что их сокращение происходит также путем зависимого от АТФ взаимодействия актиновых и миозиновых волокон с последующим перемещением их относительно друг друга.

Сигналом для сокращения гладкой мышцы тоже служит повышение концентрации Ca^{2+} в области миофибрилл, однако механизм его влияния не такой, как в поперечно-полосатых мышцах.

В гладкомышечных клетках ионы Ca^{2+} при концентрации порядка 10^{-5} моль/л соединяются с Са-связывающим белком кальмодулином (рис. 165). Комплекс Са-кальмодулин присоединяется к киназе миозина, активируя ее. Активированная киназа фосфорилирует легкие цепи миозина в составе миофибрилл, и эта реакция вызывает сокращение. Расслабление мышцы происходит после снижения концентрации Ca^{2+} до 10^{-7} моль/л: при этом комплекс Са-кальмодулин-киназа диссоциирует и фосфорная кислота отщепляется от миозина при действии фосфатазы. Этот механизм включения и выключения сокращения мышцы срабатывает не столь быстро, как тот, который имеется в поперечно-полосатых мышцах.



Регуляция сокращения гладких мышц

Система регуляции сокращения гладкой мышцы зависит также и от аденилатциклазной системы. Киназа, фосфорилирующая миозин, и сама может быть фосфорилирована при действии другой протеинкиназы, зависимой от цАМФ (рис. 165). Фосфорилированная киназа имеет меньшее сродство к Ca²⁺-кальмодулину, и в значительной части остается неактивированной. Этим объясняется расслабление гладких мышц кровеносных сосудов и внутренних органов при повышении концентрации адреналина в крови, поскольку адреналин активирует аденилатциклазу в клетках гладких мышц и концентрация цАМФ повышается.

НЕМЫШЕЧНЫЕ СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Актин и миозин содержатся во всех клетках и обеспечивают их подвижность — амебоидное движение лейкоцитов, тромбоцитов, фибробластов и других клеток, внутриклеточные движения (например, расхождение хромосом), эндоцитоз и экзоцитоз, движения ресничек и микроворсинок эпителиальных клеток. В противоположность мышечным клеткам, в других клетках относительное содержание миозина меньше, чем актина; некоторые типы клеток содержат только актин. В активно передвигающихся клетках (макрофаги, тромбоциты) актин — это преобладающий белок цитоплазмы: его содержание достигает 20—30% от всех белков; в менее подвижных клетках 1—2%. Во всех случаях эти

белки образуют фибриллярные структуры, способные к сокращению. Организация этих структур, механизмы генерации движения и регуляции сокращения изучены недостаточно. В клеточном движении участвуют также микротрубочки, построенные из белка тубулина.

ИСТОЧНИКИ ЭНЕРГИИ ДЛЯ МЫШЕЧНОЙ РАБОТЫ

Скелетная мышца, работающая с максимальной активностью, потребляет в сотни раз больше энергии, чем покоящаяся, причем переход от состояния покоя к состоянию максимальной работы происходит за доли секунды. В связи с этим для мышцы в отличие от других органов оказались необходимыми механизмы изменения скорости синтеза АТФ в очень широких пределах, а также быстрого переключения с одного режима на другой.

Механизмы увеличения продукции АТФ. Многие процессы, обеспечивающие работу мышц энергией, рассмотрены в предыдущих разделах. К ним относится увеличение снабжения мышц окисляемыми субстратами: мобилизация гликогена печени и мышц, глюконеогенез из молочной кислоты (цикл Кори и глюкозо-аланиновый цикл), мобилизация депонированных жиров и поступление жирных кислот и кетоновых тел в мышцы. Увеличиваются также легочная вентиляция и скорость кровотока, а следовательно, и снабжение мышц кислородом. Эти процессы вместе с механизмами аллостерической регуляции, повышающими активность ключевых ферментов катаболизма, многократно увеличивают скорость синтеза АТФ.

В работающей мышце увеличивается скорость кругооборота цикла АТФ — АДФ. Однако концентрация АТФ изменяется незначительно: она лишь на 10—20% меньше, чем в покоящейся мышце.

Общее содержание АТФ в мышце составляет примерно 5 мкмоль на 1 г ее массы. При прекращении синтеза АТФ этого количества хватает лишь примерно на 1 с работы. Отсюда следует, что каждую секунду должно синтезироваться около 5 мкмоль АТФ на 1 г мышц. Исходя из этого можно подсчитать, что если в работу включена $\frac{1}{3}$ мышц тела (примерно 10 кг) и работа продолжается 10 мин, то за это время синтезируется около 1,5 кг АТФ (и столько же превратится в АДФ). Конечно, эта величина лишь ориентировочна, и сильно зависит от интенсивности работы.

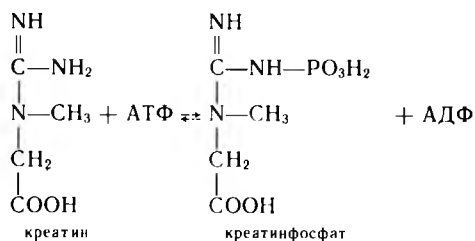
Поскольку снабжение митохондрий кислородом становится лимитирующим звеном в работающей мышце, важное значение имеет активация анаэробного распада глюкозы. Усиление гликолиза связано с действием аденилаткиназы, которая катализирует следующую реакцию:



Концентрация АДФ в работающей мышце несколько увеличена (соответственно снижению концентрации АТФ); поэтому в ре-

зультате действия аденилаткиназы повышается и концентрация АМФ, который является аллостерическим активатором фосфофруктокиназы — ключевого фермента гликолиза. Этот механизм, по-видимому, играет основную роль в ускорении гликолиза при работе мышц.

Механизмы быстрого переключения энергетического обмена мышц В мышцах имеется высокоэнергетическое вещество креатинфосфат, которое образуется из креатина и АТФ при действии креатинкиназы:



Эта реакция легко обратима. Содержание креатинфосфата в покое мышце в 3—8 раз больше, чем содержание АТФ; такое количество обеспечивает интенсивную работу мышц в течение 2—5 с. За это время человек может пробежать 15—50 м. При переходе от покоя к работе мышцы сначала используют АТФ, образующийся из креатинфосфата, — это наиболее быстрый путь генерации АТФ. Тем временем включаются другие механизмы: каскадный механизм мобилизации гликогена в мышечных клетках, а затем и механизмы усиленного транспорта в мышцы субстратов окисления из печени и жировой ткани. Напомним, что при мышечной работе в первую очередь используются запасы углеводов, а при длительной работе постепенно увеличивается использование жиров. Изменяется также относительная интенсивность анаэробного и аэробного путей образования АТФ: кратковременная интенсивная работа (например, бег на 100 м) может совершаться почти целиком за счет гликолиза. При продолжении работы вклад аэробного процесса увеличивается, а анаэробного уменьшается.

Красные и белые мышцы. Скелетные мышцы неоднородны: в них различают несколько разновидностей, основные из которых {красные мышцы (медленные, аэробные) и }белые мышцы (быстрые, анаэробные). Красные мышцы содержат много митохондрий и обладают высокой способностью к аэробному окислению глюкозы, жирных кислот, кетоновых тел. Они хорошо снабжаются кровью и содержат много миоглобина, который и придает им красный цвет. В белых мышцах мало митохондрий, но зато много гликолитических ферментов, и в них с большой скоростью происходит анаэробный распад гликогена. Соответственно различаются и функциональные возможности этих мышц. Красные мышцы более приспособлены к продолжительной

работе, в то время как белые мышцы быстрее переходят от состояния покоя к максимальной активности, сокращаются энергично, но в них скоро наступает утомление: запасы гликогена в мышечных клетках быстро истощаются, а поступление глюкозы из крови и ее использование в клетках белых мышц происходят медленно.

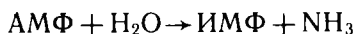
В теле человека нет целиком белых или целиком красных мышц (в отличие от многих животных, например птиц, кроликов). Мышцы человека содержат и красные, и белые мышечные волокна; их относительное количество в разных мышцах неодинаково. Имеются также и индивидуальные различия. Последнее обстоятельство позволяет оценивать спортивные возможности людей: например, более перспективным спринтером можно считать человека, в мышцах которого много белых волокон.

ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ

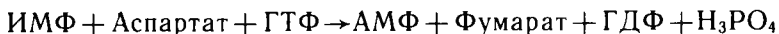
Сердечная мышца за сутки сокращается больше 100 000 раз, перекачивая около 7200 л крови. Миокард по структуре и свойствам сходен с красными скелетными мышцами. Особенностью энергетического обмена сердечной мышцы является его почти полностью аэробный характер. При этом основными субстратами, поставляющими энергию, служат жирные кислоты: около 70% потребляемого сердечной мышцей кислорода расходуется на окисление жирных кислот. Кроме того, используются глюкоза, молочная и пировиноградная кислоты. После приема пищи использование глюкозы увеличивается, а жирных кислот уменьшается: при физической работе возрастает доля молочной кислоты в обеспечении сердца энергией.

ОБРАЗОВАНИЕ АММИАКА В МЫШЦАХ

В работающей мышце образуются значительные количества аммиака. Непосредственным источником аммиака служит дезаминирование АМФ:



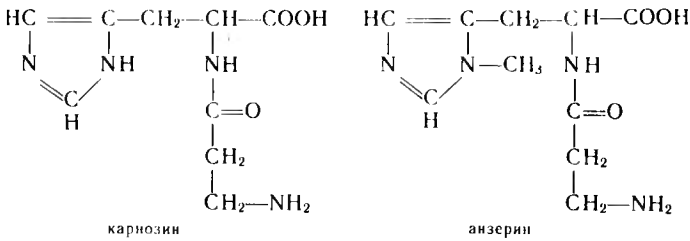
Однако АМФ вновь регенерируется с использованием аминокислотной группы аспарагиновой кислоты:



Фумарат затем превращается в оксалоацетат и далее в аспартат. Таким образом, первичным источником аммиака можно считать аспарагиновую кислоту и другие аминокислоты, которые трансаминируются с оксалоацетатом. Вероятно, эта система реакций служит для непрямого дезаминирования аминокислот, а образующиеся кетокислоты используются как источники энергии. Кроме того, аммиак может предотвращать подкисление среды образующейся при гликолизе молочной кислотой.

КАРНОЗИН И АНЗЕРИН

Характерными компонентами мышечной ткани являются гистидиновые дипептиды карнозин и анзерин:



Эти вещества почти не обнаруживаются в других тканях, кроме мышц и мозга; в мышцах их концентрация достаточно велика — порядка 100—200 мг на 100 г сырой ткани. Функции карнозина и анзерина неизвестны.

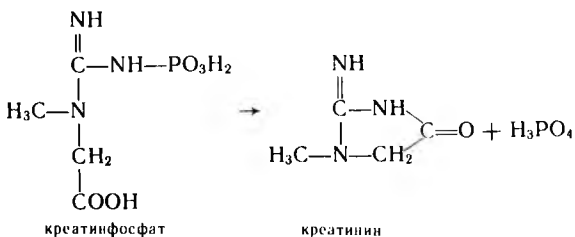
МЫШЕЧНЫЕ ДИСТРОФИИ

Первичные прогрессивные мышечные дистрофии (миопатии) — тяжелые заболевания с выраженной наследственной природой. Болезнь начинается обычно в детском или юношеском возрасте. Она проявляется в постепенной гибели мышечных клеток и замещении их соединительной тканью: мышцы становятся все слабее и слабее, и в конечном счете исчезают вовсе. Больные погибают обычно от инфекций. Исчезновение мышц происходит в результате действия кислых гидролаз, особенно протеиназ, освобождающихся из лизосом. Первичный дефект, ведущий к появлению лизосомных ферментов в цитозоле, неизвестен.

При Е-авитаминозе, денервации мышц, иммобилизации мышц (наложение гипсовой повязки), перерезке сухожилий также происходит усиленный распад мышечных белков (атрофия мышц). Атрофия мышц при Е-авитаминозе связана, по-видимому, с повреждением мембран мышечных лизосом продуктами перекисидного окисления липидов, которое в отсутствие антиоксиданта (витамина Е) происходит более активно.

ЭКСКРЕЦИЯ КРЕАТИНА И КРЕАТИНИНА

При болезнях мышц, особенно сопровождающихся их атрофией, увеличивается концентрация креатина в крови и выделение его с мочой. Концентрация креатина в крови определяется балансом скоростей его синтеза, выведения с мочой (в норме от 0 до 150 мг в сутки) и превращения в креатинин, который тоже выводится с мочой (1—2 г в сутки). Креатинин образуется в результате неферментативного дефосфорилирования креатинфосфата.



При болезнях мышц выделение креатина увеличивается, а креатинина уменьшается. Вероятно, это связано со снижением скорости фосфорилирования креатина в мышцах.

Суточное выделение креатинина в норме — величина постоянная для каждого человека, прямо пропорциональная массе мышц. Концентрация креатинина в крови в норме 1—2 мг/дл. Креатинин не реабсорбируется из первичной мочи в канальцах нефронов, поэтому количество выделяемого креатинина отражает величину клубочковой фильтрации: по выделению креатинина можно рассчитать объем фильтрации и объем реабсорбции в почках. При болезнях почек с нарушением фильтрации выделение креатинина уменьшается, а его концентрация в крови увеличивается: креатинин в крови и моче определяют с целью диагностики.

Глава XXII

НЕРВНАЯ СИСТЕМА

Мозг человека содержит 10^{10} — 10^{11} нейронов. Каждый нейрон связан с большим числом других нейронов с помощью дендритов и аксонов; число межнейрональных контактов (синапсов) в головном мозге человека оценивают величиной 10^{13} — 10^{14} . Больше половины всей поверхности нейрона, включая дендриты и аксоны, занято синапсами. Аксон соединяет нервную клетку также и с эффекторными клетками. Дендриты и аксоны служат для проведения нервного импульса. В мозг поступает поток афферентных импульсов от органов чувств, а также от мышц, сухожилий, сердца, кровеносных сосудов, желез, где есть чувствительные нервные окончания, реагирующие на изменения химического состава, механического давления, растяжения, температуры. В мозге формируется поток эфферентных импульсов, которые регулируют функции органов и поведение. Таким образом работа мозга в значительной мере сводится к расшифровке информирующих афферентных импульсов и созданию управляющих эфферентных импульсов. Эти процессы управляют произвольными движениями (соматическая двигательная система), регулируют функции непроизвольных гладких мышц, сердца, желез (автономная нервная система). Они же лежат в основе высших функций нервной

системы — сознания и мышления, а также эмоций, инстинктов, памяти.

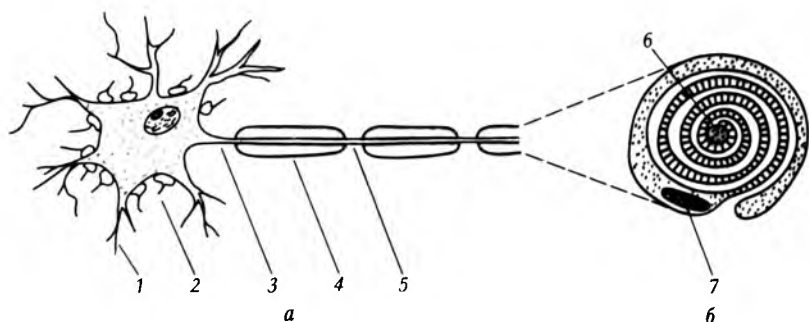
В настоящее время активно изучаются молекулярные механизмы возникновения и проведения нервного импульса и механизмы синаптической передачи импульса. Что касается интегральных функций мозга, то современное состояние нейробиохимических исследований можно охарактеризовать лишь как поиски подходов к этой проблеме.

Множество наблюдений указывает, что ряд болезней нервной системы имеет своим началом или важным этапом патогенеза нарушения молекулярных процессов. Изучение биохимии нервной системы необходимо для эффективной диагностики и лечения таких болезней. Многие результаты нейробиохимических исследований уже и сейчас воплощаются в практические приложения медицины.

СТРОЕНИЕ НЕРВНОГО ВОЛОКНА

Нервные волокна дендритов и аксонов представляют собой трубочку, которая является продолжением плазматической мембраны тела нейрона. В мембране волокна находятся основные молекулярные структуры, формирующие нервный импульс и обеспечивающие его движение по волокну. Полость волокна содержит цитоплазму (аксоплазму); основными органеллами аксоплазмы являются микротрубочки, образованные белком тубулином. Они имеют диаметр около 25 нм и располагаются пучком вдоль волокна. Кроме того, аксоплазма содержит и другие белковые фибриллярные структуры: нейрофиламенты диаметром 10 нм, построенные из мало изученного белка, и микрофиламенты диаметром 5 нм, построенные из актина. Аксоплазматические фибриллярные структуры участвуют в образовании непрерывного движения аксоплазмы в направлении от тела нейрона к синапсам (аксоплазматический ток). Скорость аксоплазматического тока составляет около 20 см в сутки. С этим током переносятся в синаптические окончания нервов метаболиты, белки и субклеточные органеллы (митохондрии, саркоплазматический ретикулум, лизосомы). Существует и менее интенсивный обратный ток — в сторону тела нейрона.

Нервные волокна окружены миелиновой оболочкой, которую в периферической нервной системе образуют клетки Шванна, а в мозге — клетки глии (олигодендроглиальные клетки). Миелиновая оболочка представляет собой производное плазматической мембраны шванновской или глиальной клеток: мембрана сложена вдвое и многократно обернута вокруг аксона (рис. 166). Миелиновая оболочка образует по длине аксона короткие чехольчики, между которыми имеются немиелинизированные участки — *перехваты Ранвье*; они расположены на расстоянии 0,1—1 мм друг от друга. Мембрана миелиновой оболочки построена по тому же типу, что и другие мембраны. В расчете на массу сухого



Строение нервной клетки:

a — нервная клетка с дендритами (1), прилегающими к ней окончаниями других нейронов (2) аксоном (3), окруженным миелиновой оболочкой (4), 5 — перехват Ранвье; *б* — поперечный разрез миелинового волокна; 6 — аксон; 7 — ядро клетки Шванна

вещества миелиновая оболочка содержит 70% липидов и 30% белков. Основные липиды миелина указаны в табл. 56. Около 65% всех липидов мозга находится в миелиновых оболочках.

Т а б л и ц а 56. Липидный состав миелина нервной ткани человека

Липид	Содержание, %	Липид	Содержание, %
Холестерин	27,7	Сфингомиелины	7,9
Цереброзиды	22,7	Фосфатидилсерины	4,8
Фосфатидилэтаноламины	15,6	Плазмалогены	12,3
Фосфатидилхолины	11,2		

Миелиновая оболочка выполняет роль изолятора, предотвращающего «короткое замыкание» между соседними волокнами, а главное — обеспечивает примерно в 6 раз более быстрый перенос нервного импульса, чем в немиелинизированных волокнах (см. ниже).

Белки миелина, как правило, гидрофобны, не растворяются в воде, но образуют нековалентные соединения с липидами мембраны; некоторые из белков содержат ковалентно связанные жирные кислоты (протеолипиды).

Около $\frac{1}{3}$ от всех белков миелина приходится на водорастворимый щелочной белок ($pI = 10,6$), получивший название «энцефалитогенного» белка. Введение этого белка некоторым экспериментальным животным вызывает у них *аллергический энцефалит* — болезнь, которая сопровождается демиелинизацией нервных волокон и параличами. Болезнь связана с образованием антител к энцефалитогенному белку: антитела затем реагируют с собственным щелочным белком нервов, вызывая воспалительный процесс и повреждение миелиновых оболочек. Эксперимен-

тальный аллергический энцефалит в некоторых отношениях напоминает рассеянный склероз человека и используется в качестве модели для изучения этой болезни. Демиелинизация нервов бывает и при других болезнях, например при дифтеритных невритах, наследственных дефектах обмена липидов, углеводов, аминокислот.

НЕРВНЫЙ ИМПУЛЬС

В экспериментальных условиях возникновение и проведение нервного импульса можно наблюдать в аксоне, лишенном тела нейрона. Например, нерв лягушки проводит импульсы более недели после отделения от клеток. Даже если из аксона удалить аксоплазму и заменить солевым раствором, то оставшаяся мембранная трубочка сохраняет способность к возбуждению и проведению импульса. Именно с применением таких трубочек, изготовленных из гигантского аксона кальмара, впервые были изучены электрические характеристики и механизм нервного импульса.

Основными инструментами мембраны аксона, создающими нервный импульс, являются натриевый насос (Na, K-ATФаза) и два типа ионопроводящих каналов — натриевые каналы и калиевые каналы. Каждое из этих трех устройств представляет собой самостоятельную структурную единицу, построенную из специальных белков. Функционально все три устройства связаны друг с другом. Натриевый насос перекачивает ионы Na^+ наружу, а K^+ внутрь, создавая трансмембранный градиент концентраций этих ионов за счет энергии АТФ. Натриевые и калиевые каналы могут открываться и закрываться; они пропускают ионы Na^+ и K^+ по градиентам концентрации этих ионов. Следовательно, будучи открытыми, ионные каналы могут уничтожить градиент, создаваемый Na, K-ATФазой .

Потенциал покоя. В состоянии покоя натриевые и калиевые каналы закрыты. Натриевый насос работает непрерывно, компенсируя утечку ионов по градиентам их концентраций. Разность концентраций ионов Na^+ и K^+ по сторонам мембраны, образуемая натриевым насосом, влияет на распределение и других ионов (табл. 57).

Т а б л и ц а 57. Основные ионы, образующие потенциал покоя (примерные концентрации)

Ион	Концентрация, ммоль/л		Ион	Концентрация, ммоль/л	
	внутри	снаружи		внутри	снаружи
Na^+	10	145	HCO_3^-	10	25
K^+	150	5	A *	155	5
Cl^-	5	120			

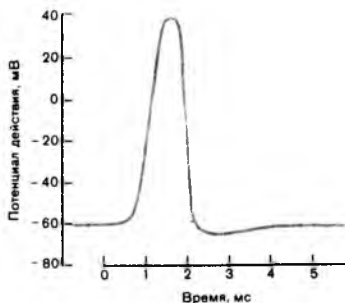
* A — анионные группы макромолекул и фосфатов.

В результате устанавливается динамическое равновесие, при котором электрохимический трансмембранный градиент равен нулю, а распределение зарядов неравномерно: внутри аксона образуется избыток отрицательных зарядов, снаружи — избыток положительных, т. е. возникает трансмембранная разность электрических потенциалов — *потенциал покоя*. Разность потенциалов по сторонам мембраны можно измерить, вводя микроэлектрод внутрь аксона: в состоянии покоя она равна 60—70 мВ, отрицательный заряд внутри аксона. Потенциал покоя, одинаков на всем протяжении волокна и в состоянии покоя изменяется лишь в небольших пределах.

Потенциал покоя не является специфической особенностью нервных клеток. Натриевый насос имеется в плазматической мембране всех клеток и во всех случаях его действие приводит к возникновению трансмембранной разности электрических потенциалов с избытком отрицательных зарядов на внутренней поверхности плазматической мембраны.

Потенциал действия. Раздражение нерва открывает натриевые и калиевые каналы в мембране аксона. Вероятно, это происходит в результате изменения конформации и ионизации белков, из которых построены каналы. Натриевые каналы открываются несколько раньше, чем калиевые, и их пропускная способность больше. В результате потока ионов Na^+ внутрь аксона быстро изменяется величина трансмембранного электрического потенциала: сначала он становится равным нулю (деполяризация мембраны), а затем вновь происходит поляризация, но теперь внутри аксона больше положительных зарядов, чем снаружи (инверсия полярности). В этом состоянии разность потенциалов достигает 40 мВ, положительный заряд внутри аксона. Таким образом, общая амплитуда изменения от потенциала покоя (от -60 до -70 мВ) до максимального значения потенциала при раздражении нерва (+40 мВ) составляет примерно 100 мВ (рис. 167). Затем натриевые каналы закрываются, а калиевые открываются, начинается выход ионов K^+ из клетки, и потенциал изменяется от +40 до -70 мВ, т. е. до уровня потенциала покоя. Количество ионов Na^+ и K^+ , которые необходимо переместить для такого изменения потенциала, настолько малы, что концентрации ионов внутри и снаружи аксона изменяются незначительно (примерно на одну миллионную часть).

Ионные каналы остаются открытыми непродолжительное время; после их закрытия натриевый насос восстанавливает исходное распределение ионов по сторонам мембраны. Эту последовательность событий на-



167
Потенциал действия

зывают *потенциалом действия*; она продолжается менее 1 мс. В отличие от потенциала покоя, значение которого одинаково на всем протяжении аксона, потенциал действия охватывает лишь очень небольшой участок аксона (в миелинизированных волокнах — от одного перехвата Ранвье до соседнего).

Потенциал действия возникает всякий раз, когда какая-либо причина уменьшает потенциал покоя примерно до -50 мВ (пороговая величина). В эксперименте это может быть электрический ток или добавление растворов, изменяющих относительные концентрации ионов снаружи и внутри аксона. Механизм включения потенциала действия функционирует по принципу «все или ничего»: если действие раздражителя изменило потенциал покоя, но это изменение не достигло 50 мВ, потенциал действия не возникает; если же пороговое значение достигнуто или превышено, то каждый раз развивается одинаковый потенциал действия.

Не совсем ясен молекулярный механизм открывания и закрывания ионных каналов. Можно думать, что белки этих структур чувствительны к степени поляризации мембраны и изменяют конформацию, открывая каналы, когда потенциал снижается до 50 мВ. Изменения конформации, однажды начавшись, далее происходят независимо от концентрации ионов, и в конечном счете белки возвращаются в исходное состояние: каналы закрываются подобно тому, как закрывается открытая толчком дверь на пружине. Продолжительность потенциала действия определяется временем, в течение которого каналы открыты. Во время закрывания каналов они не чувствительны к поляризации и раздражение в этот период не вызывает потенциала действия (рефрактерный период, продолжающийся около 1 мс).

Движение потенциала действия по аксону. Потенциал действия, возникнув в одном участке аксона, вследствие диффузии ионов из этого участка вдоль волокна снижает потенциал покоя в соседнем участке и вызывает здесь тоже развитие потенциала действия. Благодаря этому механизму потенциал действия, возникнув в одном месте, проходит весь аксон и достигает воспринимающей клетки. В таком качестве потенциал действия называют нервным импульсом.

В миелинизированном нервном волокне млекопитающих натриевые и калиевые ионные каналы расположены в немиелинизированных участках перехватов Ранвье, где мембрана аксона контактирует с межклеточной жидкостью. Вследствие этого нервный импульс перемещается «скачками»: ионы Na^+ , поступающие внутрь аксона при открытии каналов в одном перехвате, диффундируют вдоль аксона до следующего перехвата, снижают здесь потенциал до 50 мВ и тем самым индуцируют потенциал действия. Диффузия происходит быстро, поскольку между перехватом Ранвье, находящимся в максимуме потенциала действия, и соседним покоящимся перехватом возникает разность потенциалов, близкая к 100 мВ; по существу, это не диффузия, а ион-

ный электрический ток, или электрофорез. Благодаря такому устройству скорость проведения импульса в миелинизированном волокне равна 30—50 м/с; это в 5—6 раз больше, чем в немиелинизированных волокнах, где ионные каналы расположены равномерно по всей длине волокна и потенциал действия перемещается не скачками, а плавно.

Пороговая величина поляризации, вызывающая нервный импульс, зависит от концентрации ионов Ca^{2+} . Внутриклеточная концентрация Ca^{2+} в норме равна примерно 0,3 мкмоль/л; при гипокальциемии она уменьшается, вследствие этого снижается пороговая величина возбуждения нервов и могут возникать судороги.

Аналогичный механизм возникновения и распространения потенциала действия функционирует в плазматической мембране мышечной клетки (сарколемме). В мышцах потенциал действия вызывает освобождение ионов Ca^{2+} из цистерн саркоплазматического ретикулула, которые включают процесс сокращения.

ИНГИБИТОРЫ РАЗВИТИЯ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ

Натриевый насос непосредственно в проведении нервного импульса не участвует, но он обеспечивает необходимую для этого разность концентраций ионов натрия и калия по сторонам мембраны аксона. Хотя одиночный потенциал действия незначительно изменяет концентрации натрия и калия в аксоне, при генерации большого количества импульсов распределение этих ионов могло бы существенно измениться. Этому препятствует работа Na, K-ATФазы . Убаин (строфантин G) избирательно соединяется с Na, K-ATФазой и ингибирует ее активность. Аксон нервной клетки в присутствии убаина способен провести несколько тысяч импульсов, после чего концентрации натрия и калия изменяются настолько, что возникновение потенциала действия становится невозможным.

Тетродотоксин (выделен из рыб семейства *Tetraodontidae*) и *сакситоксин* (из морского фитопланктона ряда *Gonyaulax*) — полициклические соединения, содержащие гуанидиновую группу. Оба они могут присоединяться к белкам натриевого канала в области его наружного входа, блокируя прохождение ионов натрия, а следовательно, и развитие потенциала действия. Если тетродотоксин и сакситоксин вводить внутрь аксона, то они не ингибируют проведение импульса. Оба вещества отличаются очень высоким сродством к своим рецепторам на аксоне и поэтому относятся к наиболее сильным токсинам: 1 мг сакситоксина вызывает паралич с летальным исходом.

Калиевые каналы можно блокировать тетраметиламмонием и ионами цезия; они действуют со стороны внутреннего входа этих каналов.

Растительный алкалоид кокаин и его синтетические аналоги (новокаин и др.) применяются для местного обезболивания (анестезии). Их анестезирующее действие связано с блокированием ионных каналов аксонов.

Ингибиторы позволяют изучать локализацию белков, участвующих в проведении нервного импульса, определять их количество (титрование лигандом), выключать то одно, то другое звено и таким путем выяснять функции отдельных частей аппарата и последовательность событий при возникновении и проведении нервного импульса.

СИНАПТИЧЕСКАЯ ПЕРЕДАЧА НЕРВНОГО ИМПУЛЬСА

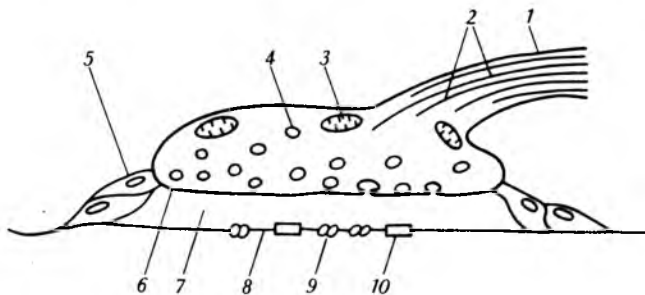
В синапсе аксон прерывается и передача импульса на другую клетку происходит путем диффузии определенного вещества — медиатора. Лучше других изучены медиаторные функции ацетилхолина и норадреналина. В синапсах одного нейрона используется в качестве медиатора какое-либо одно вещество — ацетилхолин (холинэргические нейроны, или синапсы), норадреналин (адренэргические нейроны) и т. д.

В процессе синаптической передачи импульса можно выделить следующие этапы:

а) нервный импульс, дошедший до окончания аксона, вызывает освобождение медиатора из нервного окончания в синаптическую щель (рис. 168).

б) медиатор диффундирует к мембране другой клетки (постсинаптической мембране);

в) в постсинаптической мембране медиатор присоединяется к рецептору медиатора — белку, и в результате изменения конформации рецептора генерируется возбуждающий постсинаптический



Строение синапса:

1 — аксон; 2 — микротрубочки; 3 — митохондрии; 4 — синаптические пузырьки; 5 — клетки Шванна; 6 — пресинаптическая мембрана; 7 — синаптическая щель; 8 — постсинаптическая мембрана; 9 — рецептор ацетилхолина; 10 — ацетилхолинэстераза

потенциал, который при достижении порогового уровня может вызвать потенциал действия. Если постсинаптическая мембрана принадлежит аксону другой нервной клетки, потенциал действия начинает движение по этому аксону (нервный импульс); если синапс соединяет аксон с эффекторной клеткой, возникает характерная для клетки реакция, например секреция железы или сокращение мышечного волокна;

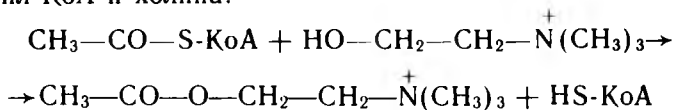
г) медиатор в синаптической щели инактивируется или удаляется из нее, после чего синапс готов к передаче следующего импульса.

Многие исследования биохимии синаптической передачи выполнены с препаратами синапсов, которые получают из ткани головного или спинного мозга. При гомогенизации ткани нервные окончания отрываются, мембрана в месте разрыва смыкается и получают замкнутые пузырьки — синаптосомы; их отделяют от других компонентов гомогената методом дифференциального центрифугирования. Синаптосомы секретируют медиатор при воздействиях, изменяющих их трансмембранный потенциал в сторону положительного знака.

Холинэргические синапсы

К этой группе относятся нервно-мышечные соединения, образуемые моторными нейронами, синапсы преганглионарных нейронов автономной нервной системы и постганглионарных нейронов парасимпатической нервной системы. Области, содержащие холинэргические синапсы, имеются и в головном мозге.

В окончаниях холинэргических нервов содержится фермент холинацетилтрансфераза, катализирующий синтез ацетилхолина из ацетил-КоА и холина:

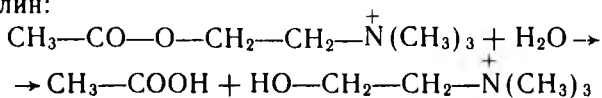


Ацетил-КоА образуется в самих нервных окончаниях, а холин поступает из крови. Ацетилхолин накапливается в синаптических пузырьках, окруженных мембраной. В пузырьках имеется кислый белок везикулин, с которым ацетилхолин образует солеобразные соединения. Каждый пузырек содержит 10^4 — 10^5 молекул ацетилхолина.

При поступлении потенциала действия в нервное окончание некоторая часть пузырьков (200—300) сливается с пресинаптической мембраной и содержимое пузырьков освобождается в синаптическую щель (экзоцитоз); здесь солеобразное соединение ацетилхолина и везикулина диссоциирует. В экзоцитозе участвуют сократимые волокна цитоплазмы нервного окончания: потенциал действия вызывает увеличение концентрации Ca^{2+} в нервном окончании, а Ca^{2+} включает механизм сокращения.

Ацетилхолин диффундирует к постсинаптической мембране, и здесь соединяется с рецептором ацетилхолина. Рецептор представляет собой интегральный белок постсинаптической мембраны. Присоединение ацетилхолина к рецептору — процесс обратимый; чем больше концентрация ацетилхолина в синаптической щели, тем большее число молекул рецептора соединено с ним. Ацетилхолин индуцирует конформационные изменения рецептора, которые передаются на белки натриевых и калиевых каналов в постсинаптической мембране, в результате каналы открываются. Освобождение ацетилхолина из 200—300 пузырьков создает такую его концентрацию в синаптической щели, при которой связывается с ацетилхолином большое число рецепторов и открывается достаточное число ионных каналов, чтобы на постсинаптической мембране возник возбуждающий потенциал, способный вызвать потенциал действия. Затем потенциал действия начинает свой путь по аксону постсинаптической клетки, если это межнейрональный синапс, или по сарколемме, если это нервно-мышечный синапс.

В постсинаптической мембране наряду с рецепторами ацетилхолина имеется фермент ацетилхолинэстераза, гидролизующий ацетилхолин:



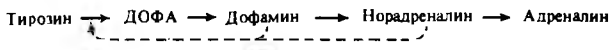
После выделения ацетилхолина в синаптическую щель сразу же начинается его гидролиз. По мере гидролиза и снижения концентрации ацетилхолина происходит диссоциация комплекса ацетилхолин-рецептор и в конечном счете все молекулы рецептора освобождаются от ацетилхолина, конформация рецепторов и ионных каналов возвращается в исходное состояние, а Na, K-АТФаза постсинаптической мембраны восстанавливает характерное для покоя распределение ионов и электрического заряда (потенциал покоя).

Холин и ацетат, образующиеся в результате действия ацетилхолинэстеразы, транспортируются через пресинаптическую мембрану в нервное окончание и вновь используются для синтеза ацетилхолина. Количество заполненных ацетилхолином пузырьков в нервном окончании достаточно для проведения 2000—5000 импульсов; этого хватает на несколько минут работы при сильной стимуляции.

Адренэргические синапсы

К адренэргическим синапсам относятся такие, в которых медиаторами служат катехоламины — норадреналин, дофамин и, возможно, адреналин. Синтез катехоламинов описан в гл. XI. Ферменты, участвующие в синтезе катехоламинов, образуются в теле нейронов и с аксоплазматическим током транспортируются в окончания нервов. Скорость синтеза катехоламинов регулиру-

ется по механизму отрицательной обратной связи концентрацией медиатора в нервном окончании: дофамин и норадреналин ингибируют первый фермент цепи реакций — тирозингидроксилазу:



Медиатор накапливается в синаптических пузырьках и освобождается в синаптическую щель при поступлении нервного импульса. Величина освобождающейся порции также регулируется по механизму отрицательной обратной связи: в пресинаптической мембране имеется регуляторный белок, который связывает медиатор при повышении его концентрации в синаптической щели и выключает дальнейший экзоцитоз медиатора.

Адренэргические синапсы в отличие от холинэргических не содержат фермента, разрушающего медиатор в синаптической щели. Вместо этого передача импульса завершается перекачкой медиатора обратно через пресинаптическую мембрану, в которой имеется специальная транспортная система. Здесь медиатор включается в синаптические пузырьки или инактивируется путем дезаминирования моноаминоксидазой, а также путем метилирования катехол-О-метилтрансферазой.

Норадреналин функционирует в синапсах постганглионарных волокон симпатической нервной системы и в разных отделах головного мозга (подбугорная область, зрительный бугор, лимбические отделы).

Дофамин служит медиатором в синапсах, образуемых нейронами черной субстанции ствола мозга; аксоны этих нейронов заканчиваются в полосатом теле. Эти отделы мозга контролируют произвольные движения. С нарушением дофаминэргической передачи импульсов связана *болезнь Паркинсона*. При этой болезни наблюдаются ригидность мышц, скованность движений, характерные непроизвольные движения (особый вид дрожания). В полосатом теле мозга людей, умерших от болезни Паркинсона, резко снижено содержание дофамина. Введение ДОФА в кровь больным снимает симптомы болезни: ДОФА в отличие от дофамина легко проникает из крови в мозг, где превращается в дофамин.

Другие медиаторы

В наибольшем числе нейронов мозга — примерно в половине всех синапсов — функционируют в качестве медиаторов 4-аминомасляная кислота и глицин. Оба эти медиатора вызывают процессы торможения в нейронах, в то время как другие медиаторы могут функционировать и как возбуждающие, и как тормозные. Развитие возбуждения или торможения в этих случаях зависит не от природы медиатора, а от его рецептора на постсинаптической мембране.

К числу медиаторов относят также серотонин, адреналин,

гистамин, некоторые пептиды. Не для всех этих веществ имеются достаточно надежные доказательства их медиаторной функции. С другой стороны, есть основания предполагать, что сейчас известны далеко не все медиаторы.

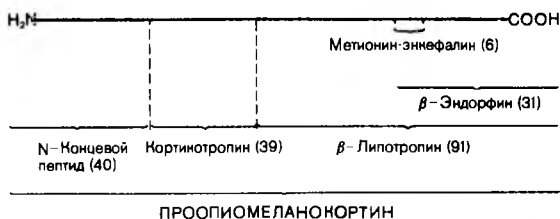
ПЕПТИДЫ НЕРВНОЙ ТКАНИ

В последние годы обнаружилось, что медиаторные функции в синапсах ряда нейронов могут выполнять специальные пептиды. Они обычно имеют небольшой размер (трипептиды, тетрапептиды), но есть и такие, которые построены из десятков аминокислот. В настоящее время имеются экспериментальные данные о медиаторной функции примерно полутора десятков разных пептидов; некоторые из них указаны в табл. 58. Многие из этих пептидов, подобно норадреналину и адреналину, функционируют не только как медиаторы, но и как гормоны, т. е. передают информацию через циркулирующие жидкости организма. Нейропептиды синтезируются в нейронах мозга и в некоторых клетках кишечника, вероятно в тех, которые образуются из общих для них и нейронов эмбриональных клеток.

Энкефалины и эндорфины имеются в спинном мозге — в сенсорных нейронах, воспринимающих чувство боли, и в нейронах лимбической системы, регулирующих эмоции. Эти пептиды образуются путем частичного гидролиза белка, который получил название проопиомеланокортин: белок служит предшественником кортикотропина, β -липотропина, β -эндорфина и метионин-энкефалина (рис. 169). Пептид β -липотропин был известен давно и своим названием обязан тем, что в небольшой мере активи-

Т а б л и ц а 58. Некоторые пептиды нервной системы

Название	Строение
Метионин-энкефалин	Arg—Tyr—Gly—Gly—Phe—Met
Холецистокинин-8	Asp—Tyr—Met—Gly—Trp—Met—Asn—Phe
Вещество P	Arg—Pro—Lys—Pro—Gln—Gln—Phe—Phe—Gly—Leu—Met
Нейротензин	пиро—Glu—Leu—Tyr—Glu—Asn—Lys—Pro—Arg—Arg—Pro—Tyr—Ile—Leu
Вазоактивный кишечный пептид	His—...— ²⁶ Asn
Брадикинин	Arg—Pro—Pro—Glu—Phe—Ser—Pro—Phe—Arg
Ангиотензин II	Asp—Arg—Val—Tyr—Val—His—Pro—Phe
Тиролиберин	пиро—Glu—His—Pro
Соматостатин	Ala—Gly—Cys—Lys—Asn—Phe—Phe—Trp—Lys—Thr—Phe—Thr—Cys



Образование энкефалина и эндорфина из белка-предшественника. В скобках указано число аминокислотных остатков в пептидах

рует липолиз в жировой ткани, однако его физиологическая функция, вероятно, не связана с этим свойством. Сходные механизмы образования из единого предшественника обнаружены и для других нейропептидов и пептидных гормонов.

Известны две формы холецистокинина — одна из них построена из 33 аминокислотных остатков, другая из 8. Холецистокинин-8 образуется из холецистокинина-33 в результате частичного протеолиза. Холецистокинин содержится в мозге, в том числе в коре мозга, и в ткани кишечника. В кишечнике он функционирует как местный гормон, стимулируя сокращение желчного пузыря и секрецию сока поджелудочной железы. Функции холецистокинина в мозге неясны. Содержание холецистокинина во всей коре мозга человека составляет 1—2 мг, в то время как другие нейропептиды измеряются в мкг. И в мозге, и в кишечнике преобладающей формой является холецистокинин-8.

Вещество P обнаружено в сенсорных нейронах спинного мозга, где оно функционирует как медиатор, в тканях кишечника, где выполняет функции местного гормона. Оно вызывает сокращение гладких мышц кишечника, стимулирует слюноотделение, снижает кровяное давление (расширяет сосуды).

Ангиотензин II участвует в регуляции водно-солевого обмена и объема циркулирующей жидкости. Все компоненты ренин-ангиотензиновой системы есть в мозге. Область мозга вокруг третьего желудочка ответственна за появление жажды. Введение в желудочек ангиотензина II вызывает жажду, а также стимулирует секрецию антидиуретического гормона. Кроме того, ангиотензин II оказывает прямое центральное вазопрессорное действие. С нарушением центральной регуляции кровяного давления ангиотензином II, возможно, связано возникновение эссенциальной гипертонии, поскольку у таких больных обнаружена повышенная концентрация ангиотензина II в спинно-мозговой жидкости.

Соматостатин обнаружен в разных отделах мозга и в кишечнике. Он ингибирует секрецию гипофизарных гормонов — соматотропина, тиротропина и пролактина. Функции соматостатина в других отделах мозга неизвестны. В пищеварительном тракте

соматостатин действует как местный гормон, ингибируя секрецию глюкагона, инсулина и гастрина.

Медиаторные функции нейропептидов и регулируемые ими физиологические процессы изучены недостаточно. Возможно, что некоторые из нейропептидов не являются сами медиаторами, но влияют на медиаторные функции других веществ.

Обратим внимание на расплывчатость границ между понятиями медиаторы и гормоны. Либерины и статины, секреция которых в гипоталамусе стимулируется нервным импульсом, проходят небольшой путь до гипофиза, и, действуя через специфические рецепторы мембран, стимулируют или ингибируют секрецию гормонов гипофизарными клетками. Либерины и статины можно рассматривать как местные гормоны. С другой стороны, каналы, соединяющие клетки гипоталамуса с клетками гипофиза, можно рассматривать как «растянутые синапсы», а либерины и статины — как медиаторы в этих синапсах.

Клетки мозгового вещества надпочечников (хромаффинные клетки), синтезирующие адреналин и норадреналин, имеют общего эмбрионального предшественника с адренэргическими нейронами. Хромаффинные клетки модифицировались таким образом, что в ответ на нервный импульс выделяют медиатор не в синаптическую щель, а в межклеточную жидкость, откуда она попадает в кровь. Вероятно, такие же отношения существуют между медиаторной функцией пептидов в мозге и гормональной функцией тех же пептидов в кишечнике.

Отметим, что медиаторы из типичных синапсов частично тоже диффундируют в межклеточную жидкость и попадают в кровь, и наоборот — из крови могут проникать в синапсы. Последнее свойство позволяет выяснить, какие физиологические функции регулируются данным медиатором. Например, введение в кровь экспериментальному животному ацетилхолина вызывает такие же реакции органов, как и раздражение электрическим током холинэргических нервов. На этом же свойстве — способности проникать из крови в синапсы — основано применение медиаторов и их аналогов в качестве лекарственных средств.

СОЕДИНЕНИЯ, ВЛИЯЮЩИЕ НА СИНАПТИЧЕСКУЮ ПЕРЕДАЧУ НЕРВНОГО ИМПУЛЬСА

Большое значение для изучения биохимии синапсов и физиологических функций разных отделов нервной системы имеют поиски и использование в экспериментах *in vitro* и *in vivo* веществ, изменяющих синаптическую передачу нервных импульсов. Многие соединения такого рода влияют на психические функции, эмоциональное состояние и поведение. Эти исследования позволили понять механизм действия ряда лекарств и токсинов и, главное, наметить пути целенаправленного создания новых лекарств

для лечения нарушений функции нервной системы, в том числе для лечения психических заболеваний (психотропные средства).

Все вещества, которые ингибируют развитие потенциала действия, могут ингибировать не только проведение нервного импульса по аксону, но и синаптическую передачу, поскольку она связана с образованием потенциала действия на постсинаптической мембране. Кроме того, в синапсе протекают и другие процессы, на которые может быть направлено действие разных веществ. Основные из этих процессов следующие: 1) синтез медиатора; 2) освобождение медиатора в синаптическую щель; 3) взаимодействие медиатора с рецептором; 4) устранение медиатора (инактивация или удаление из синаптической щели).

Известно много веществ, влияющих на передачу в синапсах с разными медиаторами. Сведения о некоторых из этих веществ приведены в табл. 59.

Т а б л и ц а 59. Соединения, влияющие на синаптическую передачу нервного импульса

Название соединения	Характеристика соединения и его действия
<i>Холинэргические синапсы</i>	
Ботулотоксин	Белок анаэробных микроорганизмов клостридий. Ингибирует освобождение ацетилхолина из синаптических пузырьков. Может быть причиной отравлений при потреблении плохо хранившихся мясных, рыбных и грибных продуктов
Никотин	Алкалоид табака. Имитирует действие ацетилхолина на «никотиновые» рецепторы
Мускарин	Алкалоид гриба-мухомора <i>Amanita muscaria</i> . Имитирует действие ацетилхолина на «мускариновые» рецепторы
Тубокурарин	Основной компонент яда кураре, получаемого из некоторых южно-американских растений. Блокирует рецепторы в нервно-мышечных синапсах скелетной мускулатуры. Применяется в качестве миорелаксанта
Дитилин	Синтетическое соединение с высокой курареподобной активностью. Применяется как миорелаксант
α-Бунгаротоксин	Пептид яда змей бунгаров (крайтов) из семейства аспидов. Блокирует никотиновые рецепторы
Атропин	Алкалоид растений семейства пасленовых. Блокирует мускариновые рецепторы. Применяется при лечении болезней, связанных со спазмами гладкой мускулатуры, а также для расширения зрачка при обследовании глазного дна
Физостигмин	Алкалоид калабарских бобов. Ингибирует ацетилхолинэстеразу; применяется при лечении глаукомы
<i>Адренэргические синапсы</i>	
Дигидроэрготамин	Продукт восстановления эрготамина, алкалоида спорыньи. Блокирует α-адренорецепторы. Применяется при лечении мигрени
Анаприлин (пропранолол)	Синтетическое вещество. Блокирует β-адренорецепторы. Применяется при лечении стенокардии, нарушений сердечного ритма, некоторых форм гипертензии

Название соединения	Характеристика соединения и его действия
Имизин	Синтетическое вещество. Ингибирует обратный перенос катехоламинов из синаптической щели в нервное окончание. Применяется при лечении депрессивных психозов
Ипразид	Синтетическое вещество. Ингибирует моноаминоксидазу, и тем самым повышает концентрацию катехоламинов в синапсах. Применяется при лечении депрессивных психозов
Резерпин	Алкалоид раувольфии. Ингибирует депонирование катехоламинов в синаптических пузырьках. Применяется как лекарство, снижающее кровяное давление, и при лечении шизофрении
<i>Глициновые синапсы</i>	
Стрихнин	Алкалоид семян чилибухи. Связывается с глициновыми рецепторами, ингибируя присоединение к ним глицина. Применяется как тонизирующее средство; при передозировке возникают судороги
<i>Пептидные синапсы</i>	
Морфин	Алкалоид опия, наркотик. Соединяется с энкефалиновыми рецепторами, имитируя их действие. Применяется как болеутоляющее средство
Налоксон	Синтетический препарат, структурный аналог морфина. Антагонист энкефалинов. Применяется как противоядие при отравлении морфином

Действие веществ, взаимодействующих с рецептором медиатора, может быть двояким. Одни из них вызывают деполяризацию постсинаптической мембраны, подобно медиатору, т. е. они имитируют действие медиатора. Такие лиганды называют *агонистами* или *миметиками*. Другие, присоединяясь к рецептору, не вызывают в нем изменений, обеспечивающих проведение импульса; с другой стороны, они блокируют присоединение медиатора — это *антагонисты*, или *литики*.

По действию такого рода лигандов различают два типа холинэргических нейронов: *никотиновые* и *мускариновые* (никотин и мускарин — агонисты). Никотиновые рецепторы содержатся в нервно-мышечных синапсах скелетных мышц и в вегетативных ганглиях; мускариновые — в гладких мышцах и мозге. Эти два типа холинэргических синапсов различаются также по действию на них антагонистов. Никотиновые синапсы блокируются курареподобными ядами и ядами змей семейства аспидов (например, кобры); мускариновые синапсы блокируются атропином. Некоторые антагонисты образуют очень прочные соединения с рецепторами, и используются при выделении этих белков из гоменатов синаптосом.

Ингибиторы ацетилхолинэстеразы прерывают проведение импульса, поскольку ацетилхолин не устраняется из синаптической

щели и синапс оказывается не готовым к проведению следующего импульса. Ацетилхолинэстеразу ингибируют растительный алкалоид *физостигмин* и его синтетические аналоги (прозерин и др.).

Диалкилфосфаты, в частности диизопропилфторфосфат, ингибируют ацетилхолинэстеразу в очень низких концентрациях и поэтому исключительно токсичны: доза 0,5 мкг на 1 кг массы тела смертельна для животных. Диизопропилфторфосфат присоединяется к остатку серина в активном центре фермента; он ингибирует не только ацетилхолинэстеразу, но и протеолитические ферменты, имеющие серин в активном центре.

Норадреналиновые синапсы также существуют по меньшей мере в двух вариантах (α и β), различающихся по действию агонистов и антагонистов; α -рецепторы содержатся в синапсах гладких мышц желудочно-кишечного тракта, β -рецепторы — в сердце и скелетных мышцах.

Многие вещества, применяемые при лечении **депрессивных состояний**, — *антидепрессанты* (имизин, ингибиторы моноаминоксидазы) — разными путями увеличивают концентрацию катехоламинов в синаптической щели, так что стимуляция постсинаптической мембраны облегчается. Наоборот, резерпин уменьшает концентрацию катехоламинов в синаптической щели; с другой стороны, введение резерпина в кровь может вызвать психическую депрессию. Эти наблюдения привели к катехоламиновой гипотезе происхождения депрессии, согласно которой она связана с недостатком катехоламинов в мозге и снимается лекарственными, повышающими содержание катехоламинов в синаптической щели.

Начиная с 60-х годов для лечения **шизофрении** широко применяются препараты *аминазин* и *галоперидол*. Они оказались настолько эффективнее всех прежних средств, что почти полностью вытеснили их. Теперь выяснено, что аминазин и галоперидол блокируют дофаминовые рецепторы, с чем и связывают их лечебное действие. Вероятно, при шизофрении усилена дофаминэргическая импульсация. Такие выводы подкрепляются наблюдениями другого рода. *Фенамин* повышает концентрацию дофамина в синаптической щели. Он применяется как средство, стимулирующее центральную нервную систему. С другой стороны, при многократном приеме больших доз фенамина развивается психоз с галлюцинациями и таким же поведением, как при параноидной шизофрении (разные формы психического и двигательного возбуждения). Аминазин и галоперидол снимают симптомы психоза, вызванного фенамином. Конечно, изложенные здесь представления о депрессии и психомоторном возбуждении при шизофрении, а также о действии лекарств являются лишь первым приближением к пониманию молекулярных механизмов этих крайне сложных явлений. Но значение их в том, что они указывают, в каком направлении сделать последующие шаги.

Издавна известно, что алкалоиды опиума — морфин и другие опиаты — снимают боль (аналгетическое действие) и вызывают

эйфорию. Поиски молекул-мишеней, на которые первично действует морфин, привели к открытию белков — «опиатных» рецепторов. А затем были найдены и естественные лиганды этих рецепторов — энкефалины. Энкефалиновые рецепторы и сейчас часто называют опиатными рецепторами. Опиаты являются агонистами энкефалинов.

Алкалоиды опия — наиболее эффективные болеутоляющие лекарства. Однако они обладают существенным недостатком — их употребление приводит к возникновению патологического прироста (наркомания). Открытие энкефалинов — естественных лигандов тех белков, с которыми соединяются опиаты, ставит поиски болеутоляющих средств на рациональную основу: изучив пространственную структуру энкефалинов и структуру активного центра их рецептора, можно рассчитывать, что удастся синтезировать аналоги энкефалинов, обладающие столь же сильным обезболивающим действием, как морфин, но не являющиеся наркотиками.

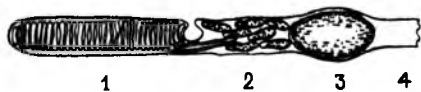
ЗРЕНИЕ

Первичное образование нервных импульсов, циркулирующих в нервной системе, происходит в сенсорных окончаниях афферентных нервов в органах чувств и во внутренних органах. Именно здесь находится первое звено длинной и разветвленной цепи событий, в результате которых энергия внешнего воздействия превращается в факт сознания, а также в неосознаваемые реакции органов. В большинстве случаев неизвестно, какие молекулы в сенсорных окончаниях воспринимают химические, механические, термические воздействия и трансформируют их энергию в потенциал действия. Лучше других изучено восприятие света.

Сетчатка глаза человека содержит рецепторные клетки двух типов — палочки и колбочки. Палочки отличаются большей светочувствительностью — всего пяти квантов света достаточно, чтобы вызвать нервный импульс. Они предназначены для зрения при малой освещенности, и дают черно-белую картину. Колбочки обеспечивают цветное зрение. Существует три вида колбочек — чувствительные к синей, зеленой и красной частям спектра.

Родопсин. Молекулой, воспринимающей свет в палочках сетчатки, является *родопсин*, или *зрительный пурпур*. Родопсин находится в мембранных структурах — дисках, заполняющих наружный сегмент палочки

(рис. 170). Каждый диск представляет собой замкнутый уплощенный мембранный пузырек; палочка содержит около тысячи дисков, уложенных в стопку. Диски синтезируются в прилегающем сегменте палочки и отсюда поступают в наруж-



Строение зрительной палочки:

1 — наружный сегмент, содержащий диски; 2 — прилегающий сегмент с митохондриями; 3 — тело клетки и ядро; 4 — аксон

Затем *транс*-ретинол изомеризуется в *цис*-ретинол. Изомеризоваться в *цис*-форму может также и ретиналь (альдегид). Предполагается, что изомеризация происходит при участии специального фермента — *ретинолизомеразы*. Изомеризация в *цис*-форму происходит частично в сетчатке, но главным образом в печени. В крови в норме постоянно содержится ретинол в соединении с ретинолсвязывающим белком плазмы; этот комплекс улавливается пигментным эпителием сетчатки, и ретинол поступает в зрительные клетки. Соединение 11-*цис*-ретиналя с опсином, т. е. образование родопсина, происходит без участия ферментов.

В колбочках, обеспечивающих цветное зрение, обнаружено три пигментных белка, поглощающих свет разных областей спектра — синей, зеленой и красной (максимумы поглощения при длинах волн 430, 540 и 575 нм соответственно). По-видимому, частью, улавливающей свет, во всех трех белках является также 11-*цис*-ретиноль, а чувствительность к свету с различной длиной волны определяется белками (опсинами), с которыми он соединен. Наследственные нарушения цветового зрения (дальтонизм) связаны с дефектами того или иного опсина колбочек.

Витамин А. Ретинол не синтезируется в организме человека и является жирорастворимым витамином (витамин А). Он поступает с пищей, в особенности с такими продуктами, как печень, а также жирная рыба. Рыбий жир — один из самых богатых витамином А продуктов. Однако главным источником витамина А для человека являются зеленые овощи, фрукты и некоторые корнеплоды (морковь, свекла). Эти растительные продукты содержат *каротины* — вещества, родственные по структуре ретинолу (ретинол — один из каротиноидов). В организме человека каротины превращаются в витамин А.

При недостатке в пище витамина А развивается куриная слепота — самый ранний признак гиповитаминоза. При куриной слепоте увеличивается зрительный порог, т. е. минимальная интенсивность света, которая еще вызывает зрительное ощущение. У страдающих куриной слепотой зрительный порог может быть в сотни раз больше, чем в норме, и они не видят в сумерках.

Недостаточность витамина влияет на развитие и функции практически всех органов. На этом основании предполагают, что витамин А участвует не только в восприятии света, но и других, еще не выясненных процессах.

МЕТАБОЛИЗМ МОЗГА

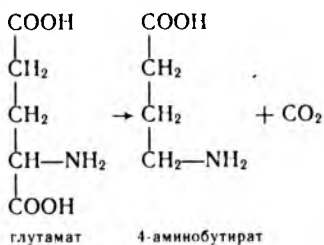
Мозг обеспечивается энергией почти полностью за счет аэробного распада глюкозы. В покое примерно 20% потребляемого человеком кислорода используется в мозге, в то время как масса мозга составляет только 2% массы тела. За сутки в мозге окисляется 100—120 г глюкозы. Лишь при голодании и длительной мышечной работе начинают использоваться кетоновые тела, окисление которых может обеспечивать в этих условиях до поло-

вины потребности мозга в энергии. В ткани мозга имеется лактатдегидрогеназа, однако мозг не выделяет в кровь молочную кислоту. Более того, при мышечной работе мозг поглощает молочную кислоту из крови. По-видимому, лактатдегидрогеназа и система лактат — пируват играет роль своего рода буфера, регулирующего концентрацию пирувата.

Основным потребителем энергии в мозге является Na, K-АТФаза, поддерживающая потенциал покоя и восстанавливающая его после прохождения нервного импульса. Преимущественное потребление глюкозы делает мозг в высокой степени чувствительным к гипогликемии, а аэробный характер катаболизма глюкозы делает его чувствительным к гипоксии.

Мозг отличается характерным набором свободных аминокислот: примерно 75% аминокислот составляют аспарат, глутамат и их производные — глутамин, 4-аминомасляная кислота, N-ацетиласпартат.

Предшественником 4-аминомасляной кислоты служит глутаминовая кислота:



Реакция катализируется глутаматдекарбоксилазой. Напомним, что 4-аминомасляная кислота является медиатором.

В ткани мозга постоянно образуется аммиак; его непосредственным источником служит дезаминирование АМФ. Вероятно, дезаминирование АМФ, как в мышцах, является частью какого-то регуляторного механизма. Образующийся аммиак связывается с глутаматом и в форме глутамина покидает мозг. Регенерация АМФ из ИМФ происходит по пути, описанному в гл. XI; при этом первичным источником аминогруппы служат разные аминокислоты, а промежуточными переносчиками — глутамат и аспарат. Таким образом, первичным источником аммиака в мозге являются аминокислоты.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

- Ашмарин И. П.** Молекулярная биология. Л., 1977.
- Болдырев А. А.** Биологические мембраны и транспорт ионов. М., 1985.
- Видершайн Г. Я.** Биохимические основы гликозидозов. М., 1980.
- Вилкинсон Д.** Принципы и методы диагностической энзимологии. М., 1981.
- Образование антител / Под ред. Глинна Л., Стьюарда М. М., 1983.**
- Ичас М.** Биологический код. М., 1971.
- Климов А. Н., Никульчева Н. Г.** Липопротеиды, дислиппротеидемии и атеросклероз. Л., 1984.
- Ленинджер А.** Основы биохимии. М., 1985.
- Лопухин Ю. М., Арчаков А. И., Владимиров Ю. А., Коган Э. М.** Холестериноз. М., 1983.
- Ньюсхолм Э., Старт К.** Регуляция метаболизма. М., 1977.
- Поглазов Б. Ф., Левицкий Д. И.** Миозин и биологическая подвижность. М., 1982.
- Розенфельд Е. Л., Попова И. А.** Гликогеновая болезнь. М., 1979.
- Спирин А. С.** Молекулярная биология. Структура рибосомы и биосинтез белка. М., 1986.
- Страйер Л.** Биохимия. М., 1984 (в трех томах).
- Врожденные и приобретенные энзимопатии / Под ред. Ташева Т. М., 1980.**
- Ткачук В. А.** Введение в молекулярную эндокринологию. М., 1983.
- Уайт А. и др.** Основы биохимии. М., 1981.
- Хашен Р, Шейх Д.** Очерки по патологической биохимии. М., 1982.
- Хорст А.** Молекулярные основы патогенеза болезней. М., 1982.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Авитаминозы 167, 276
Агликогенозы 254
Аденилатдезаминаза 311, 459
Аденилаткиназа 252, 457
Аденилатциклаза 86, 88, 250, 456
Адениловая кислота см. Аденозин-5'-
монофосфат
Аденин 94, 341
Аденозилметнионин 300, 325, 414
Аденозин 95
Аденозин-5'-монофосфат 59, 341, 342
Аденозинтрифосфат 59, 202, 209, 211
Аденозинтрифосфатазы транспортные
190
Аденозинтрифосфатсинтаза (H^+ -АТФ-
синтаза) 209
Адиipoциты 286
Адреналин 287, 251, 334
Адренокортикотропный гормон см. Кор-
тикотропин
Азотистый баланс 304
Аконитаза 215
Активный транспорт 190
Активный центр 43, 81
Актин 449
Актиномицин 124
Актомиозин 452
Аланин 12, 39, 244, 314
Алкалоз 366, 437
Алкаптонурия 111, 333
Аллеломорфизм белков 145
Аллостерические ферменты 84
Альбинизм 333
Альбумин 39, 286, 438
Альбуминурия 439
Альдолаза 238
Альдостерон 357, 362
Амилаза 232
Аминоацил-тРНК 118
Аминоацил-тРНК-синтетазы 118
л-Аминобензойная кислота 323, 330
Аминокислоты 12, 17, 303
— полярность 26
— гликогенные 313
— незаменимые 166
Аминокислотный код см. Биологиче-
ский код
δ-Аминолевулиновая кислота 429
4-Аминомасляная кислота 471, 481
Аминопептидаза 307
Аминоптерин 350
Аминотрансферазы 63, 309
Аммиак 316, 319, 459
Аммониемия 321
Аммонийные соли 321
Анаболизм 173
Анаболические стероиды 391
Анаприлин 475
Анаэробный гликолиз 241
Ангиотензин 362, 472
Андрогены 357, 390
Анзерин 460
Антибиотики 123
Антигены 130, 134
Антидепрессанты 477
Антидиуретический гормон 361
Антикодон 120
Антипорт 193
Антитела см. Иммуноглобулины
Антитромбин 447
Апопротейн 29
Апофермент 62
Арахидоновая кислота 167, 279, 397
Аргиназа 61, 316
Аргинин 12, 316
Аргининосукцинат 317
Аскорбиновая кислота 402
Аспарагин 12, 314, 315

- Аспарагиназа 92
 Аспарагиновая кислота 12, 241, 314, 346
 Аспарагинсинтетаза 315
 Аспирин 397, 421
 Атеросклероз 297
 Атропин 475
 Афлатоксины 425
 Ацетальдегид 255
 N-Ацетилгалактозамин 264, 405
 N-Ацетилглюкозамин 264, 405
 Ацетил-КоА 69, 213, 215, 273, 276
 Ацетил-КоА-карбоксилаза 276
 N-Ацетилнейраминовая кислота см.
 Сиаловая кислота
 Ацетилхолин 47, 469
 Ацетилхолинэстераза 470
 Ацетоацетат 275, 376, 380
 Ацетон 378, 380
 Ацидоз 366, 380, 381, 437
 Ацилирование 69
 Ацил-КоА-синтетаза 69, 272
 Аэробный гликолиз 237
- Бактериальные токсины** 124, 365
 Бактериофаги 107, 136
 Белковая недостаточность 166
 Белые мышцы 458
 Бензантрацен 244
 Бери-бери 231
 Биливердин 415
 Билирубин 415, 422
 Билирубинглюкуронидазы 416
 Биологический код 116
 Биологическое окисление 230
 Биотин 165, 220, 231
 1,3-Бисфосфоглицерат 238
 Ботулотоксин 475
 Брадикинин 397, 472
 Брожение 342
- Вазопрессин** см. Антидиуретический гормон
 Валин 12, 166
 Векторная РНК 157
 Вирусы 135
 Витамины 165, 167, 169
 Водородные связи 22, 28, 97
 Вторичная структура белков 18
 Высокоэнергетические соединения 59, 202
- Галактоза 237, 254, 264
 Галактоземия 255
 β-Галактозидаза 128
 Ганглиозиды 182, 300
 Гаптен 132
 Гексозомонофосфатный путь см. Пентозофосфатный путь
 Гексокиназа 31, 61, 236
 Гексуроновые кислоты 405
- Гем 33, 416, 428
 Гемоглобин 30, 31, 39, 143, 428
 — варианты 45, 146
 — плода 46
 — функции 33, 433, 435
 Гемоксигеназа 415
 Гемопротейны 30
 Гемофилия 445
 Генетический код см. Биологический код
 Генная инженерия 156
 Гены 106, 112, 117
 — антител 150
 — вирусов 136
 — клонирование 158
 — мутации 138
 — регуляция действия 127, 129
 — транспозиция 150
 — эволюция 141, 142
 Гепарансульфаты 405
 Гепарин 405, 447
 Гиалуронидаза 407
 Гиалуроновая кислота 405, 407
 Гибридизация нуклеиновых кислот 103
 Гилроксияпатит 385
 Гидроксилазы 222, 413
 Гидроксимасляная кислота 275, 376, 380
 Гидроксиметилглутарил-КоА 275, 290
 Гидроксипролин 11, 41, 402
 Гидроксифенилпириват 331
 Гидролазы 71, 165, 196
 Гидрофильные группы 25, 183
 Гидрофобные взаимодействия 24, 99, 183
 Гиперальдостеронизм 362
 Гипераммониемия 321
 Гипертоническая болезнь 371, 373, 379, 382
 Гипертензия почечная 363
 Гипоксантин 340, 342
 Гипоксия 230
 Гипохлорит 228
 Гистамин 335
 Гистидаза 57, 77, 90, 312
 Гистидин 13, 312, 335
 Гистидиндекарбоксилаза 57, 335
 Гистидинемия 91
 Гистоны 40, 104
 Гликоген 233
 — депонирование 246
 — мобилизация 248
 Гликогенные аминокислоты 313
 Гликогеновые болезни 253
 Гликогенсинтаза 247
 Гликогенфосфорилаза 248
 Гликозамингликаны 405
 Гликозидазы 269
 Гликозидозы 269
 Гликозилтрансферазы 265
 Гликокаликс 186
 Гликолиз 237, 241

Гликолипиды 182, 264, 300
Гликопротеины 30, 185, 264
Гликофорин 185
Гликохолевая кислота 280
Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа 238
Глицерин 281
α-Глицерофосфат 282
Глицерофосфолипиды 180, 299
Глицин 12, 323, 414, 471
Глутаминовая кислота 12, 309, 310
Глутаматдегидрогеназа 31, 310
Глутамин 12, 60, 85, 320, 414
Глутаминаза 60
Глутаминсинтетаза 60
Глутатион 226, 433
Глутатионпероксидаза 226
Глутатионредуктаза 227
Глюкагон 375
Глюкоза 232, 376
— в крови 369
— катаболизм 239
— синтез 243, 313, 371
Глюкозоаланиновый цикл 244, 309
Глюкозолактатный цикл 243
Глюкозо-1-фосфат 237
Глюкозо-6-фосфат 235
Глюкозо-6-фосфатаза 236, 249
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа 236, 249
Глюкозурия 371, 373, 379
Глюкокиназа 236, 238
Глюкокортикостероиды 357, 371
Глюконеогенез 243, 313, 371
Глюконолактон-6-фосфат 257
Глюкуронилтрансфераза 413, 418
Голодание 166, 377
Гомогентизиновая кислота 111, 331
Гомоцистеин 327
Гомоцистинурия 327
Гормоны 353, 395
Группы крови 147
Гуанидинуксусная кислота 325
Гуанин 94, 341
Гуанозин 95

ДДТ 422

Дегидроаскорбиновая кислота 402
Дегидрогеназы 65, 67, 204
Деаминарование аминокислот 310
Дезоксиаденозилкобаламин 168, 274
Дезоксирибоза 94
Дезоксирибонуклеазы 138, 339
Дезоксирибонуклеиновая кислота 92, 97
— гибридизация 102
— рекомбинантная 157
— репарация 138
— репликация 106, 136
Дезоксирибонуклеозиды 95
Дезоксирибонуклеопротеины 104

Дезоксирибонуклеотиды 95, 348
Дезоксихолевая кислота 293
Декарбоксилирование α-кетокислот 213, 216
Делении 140
Денатурация белков 28, 48, 308
Денатурация нуклеиновых кислот 101
Дермагансульфат 105
Диабет 379, 382
Диарея 235, 364
Диацилглицерин 281
Дигидроксиацетонфосфат 238
Дигидроксифенилаланин см. ДОФА
Дигидроксифенилэтиламин см. Дофамин
Дигидролипосевая кислота 214
Дигидрооротовая кислота 346
Дигидрофолат 350
Дигидрофолатредуктаза 350
Диизопропилфторфосфат 80
Дикумарол 445
2,4-Динитрофенол 211
Диоксид углерода 173, 366
— — образование при тканевом дыхании 217
— — транспорт кровью 435
— — фиксация при фотосинтезе 262
Дипептилазы 305
Лисахариды 234
Дисульфидная связь 24
Дитилин 47, 155
Лифтерийный токсин 124
ДНК-Лигаза 110
ДНК-Полимераза 110, 137
Долихолфосфат 266
Доменные белки 35, 131
ДОФА 334, 471
Дофамин 334, 471
Дыхательная цепь 204, 206
Дыхательный контроль 211

Единицы активности ферментов 76

Железо 430
Железодефицитная анемия 432
Желтуха 417, 492
Желчнокаменная болезнь 295
Желчные кислоты 280, 292
Жирные кислоты 270, 283, 287, 376
— — биосинтез 276, 279
— — катаболизм 273
— — транспорт 286
Жиры 279
— биосинтез 281
— депонирование 286, 288
— мобилизация 286
— переваривание 280
— транспорт 285, 287

Заменимые аминокислоты 166, 314
Замены нуклеотидов 140

- Злокачественная анемия 167
 Зрительный пурпур см. Родопсин
- И**
 Изобелки 45
 Изолейцин 12
 Изомеразы 72
 Изониазид 421
 Изоферменты 89
 Изоцитрат 215
 Изоцитратдегидрогеназа 215, 221
 Изозлектрическая точка 39
 Иммуноглобулины 130, 149, 150
 Иммунный ответ 135
 Индикан 420
 Индукция синтеза белков 127
 Инициация трансляции 120
 Иницирующий кодон 120
 Инозиновая кислота 340
 Инозит 302
 Инсулин 25, 374
 Интерфероны 126
 Интроны 115
 Информационная РНК см. Матричная РНК
 Иодтиреоглобулин 392
 Иодтиронины 392
 Ионные связи 24
 Иценко — Кушинга болезнь 373
- К**
 Каллидин 15, 397
 Калликреин 398
 Кальмодулин 384, 455
 Кальциевый насос 192
 Кальций 384
 — в мышечном сокращении 455
 — в свертывании крови 440, 445
 — регуляция обмена 386, 388
 Кальцийсвязывающие белки 385
 Кальцитонин 387
 Кальцитриол 169, 386
 Кальцификация 389
 Канцерогены 424
 Карбамоилфосфат 316, 346
 Карбгемоглобин 436
 Карбоангидраза 77
 Карбоксибиотин 220
 Карбоксигемоглобин 435
 Карбоксиглутаминовая кислота 444
 Карбоксидипептидилпептидаза 363
 Карбоксилазы 220, 276
 Карбоксипептидаза 81, 307
 Кардиолипиды 303
 Карнитин 274
 Карнозин 460
 Каротины 480
 Каскадные механизмы 250, 442, 443
 Катаболизм 173, 212
 Каталаза 71, 77, 226
 Катализ 54, 82
 Катехоламины 334, 470
 Квашиноркор 166
- Кератансульфат 105
 Кератин 42
 Кетогенные аминокислоты 314
 α -Кетоглутарат 64, 216, 310
 α -Кетоглутаратдегидрогеназный комп-
 лекс 216
 Кетоновые тела 275, 376, 380
 17-Кетостероиды 358
 Киназа фосфорилазы 250
 Киназы 71
 Кинины 397
 Кислород 263
 — в тканевом дыхании 200, 205
 — при фотосинтезе 260, 261
 — токсичность 223
 — транспорт 432
 Клеточный цикл 110
 Клонирование генов 158
 Кобаламины 168
 Кодон 117
 Кокаин 468
 Коллаген 41, 400
 Коллагеназа 403
 Комплементарность 31, 97, 98
 Кортизол 357, 371
 Кортикотропин 17, 372
 Кофакторы ферментов 61
 Кофермент А (КоА) 69
 Кофермент Q см. Убихинон
 Крахмал 233
 Креатин 325, 458
 Креатинин 461
 Креатинкиназа 458
 Креатинфосфат 458
 Кребса цикл см. Цитратный цикл
 Ксантин 342
 Ксантиноксидаза 61
 Ксилулозо-1-фосфат 258
 Кураре 47
- Л**
 Лактаза 128, 156, 234
 Лактатдегидрогеназа 90, 241, 243
 Лактоза 156, 234
 Ланостерин 291
 Левометицин 124
 Лейкоциты фагоцитирующие 227
 Лейцин 12, 314
 Леша — Нихана синдром 344
 Лиазы 72
 Либерины 355
 Лигазы 72
 Лизилгидроксилаза 402
 Лизин 12
 Лизосомные болезни 198
 Лизосомы 193, 196
 Лимфоциты 130, 135, 149
 Линолевая кислота 167
 Линоленовая кислота 167
 Липаза 58, 88
 Липидный бислой 183
 Липоевая кислота 213

- Липопротейнлипаза 286
 Липопротейны 284, 293, 296
 Липосомы 188
 Литохолевая кислота 293
 Лютеинизирующий гормон 17, 390
 Макроэргические связи см. Высоко-
 энергетические связи
 α_2 -Макроглобулин 447
 Малат 58, 216, 221
 Малат-аспартатный челнок 241
 Малатдегидрогеназа 221
 Малонил-КоА 276
 Мальтаза 234
 Матрикс митохондрий 207, 208
 Матричная РНК 100, 120
 Мевалоновая кислота 290
 Мегалобластическая анемия 329
 Меланины 333
 Мембраны 179
 — митохондрий 207, 208
 Метаболизм 83, 172
 Метгемоглобин 432
 Метилирование 325
 Метилкобаламин 168
 Метилмалоновая кислота 169
 Метионил-тРНК 121
 Метионин 13, 325
 Метотрексат 350
 Миелин 463
 Микросомальное окисление 222, 413
 Микросомы 222
 Микросфероцитарная гемолитическая
 анемия 192
 Микротрубочки 32
 Микседема 395
 Минералокортикостероиды 357
 Минеральные вещества 165, 172
 Миоглобин 17, 33, 458
 Миозин 449
 Миофибриллы 448
 Митоминин 124
 Митотический цикл см. Клеточный
 цикл
 Митохондрии 207
 Мицеллы 184, 293
 Молочная кислота 241, 244
 Моноаминоксидаза 334
 Моноксигеназы 222
 Морфин 477
 Моча 360, 367
 Мукополисахариды см. Гликозамингли-
 каны
 Мускарин 475, 476
 Мутагенез 139, 140
 Мутации 141
 Мышечное сокращение 453, 455
 Мышечные белки 450, 451
 Наркотики 478
 Наследственные болезни 153
 Натриевые каналы 464
 Натриевый насос 190, 464
 Незаменимые пищевые вещества 164,
 167
 Нейраминовые кислоты 182
 Нейромедиаторы 334, 468
 Нейропептиды 472
 Ненасыщенные жирные кислоты 271,
 279
 Нервный импульс 464
 Никотин 475
 Никотинамидадениндинуклеотид
 (НАД) 65, 204
 Никотинамидадениндинуклеотидфос-
 фат (НАДФ) 65, 221
 Никотиновая кислота 65, 165, 231
 Нингидрин 16
 Нитрозамины 426
 Новокаин 468
 Норэпинефрин 334, 470
 Нуклеиновые кислоты 92, 106, 113,
 135
 Нуклеозидфосфаты 95
 Нуклеозиды 95
 Нуклеопротеины 30
 Нуклеосомы 104
 Нуклеотидный код см. Биологический
 код
 Нуклеотиды 94, 95, 339 сл.
 Одноуглеродные фрагменты 323, 329
 Оказачи фрагменты 109
 β -Окисление 273
 Окислительно-восстановительный
 потенциал 206
 Окислительное дезаминирование 310
 Окислительное фосфорилирование 202,
 209, 212, 218
 Оксалоацетат 241, 215
 Оксидазы 70, 312
 Оксид углерода 46, 415, 435
 Оксидоредуктазы 70
 Окситоцин 355
 2-Оксоглутарат см. α -Кетоглутарат
 Оленовая кислота 270, 279
 Оперон 128
 Опиаты 477
 Опсин 479
 Орнитиновый цикл 316
 Оротовая кислота 346, 347
 Пальмитилсинтаза 276
 Пангамовая кислота 170
 Пантотеновая кислота 69, 165, 231, 276
 Паратгормон 386
 Пеллагра 231
 Пентозофосфатный путь 256
 Пентозофосфатный цикл 259
 Пепсин 305
 Пептидгидролазы 305
 Пептидная связь 13, 22
 Пернициозная анемия см. Злокачест-
 венная анемия

- Пероксид водорода 71, 224, 228
 Пероксидное окисление липидов 225
 Пиноцитоз 195
 Пиридоксальфосфат 63
 Пиридоксин 63
 Пиримидиновые нуклеотиды 85, 95, 345
 Пировиноградная кислота 213, 220, 313, 314
 Пируватдегидрогеназный комплекс 213
 Пируваткарбоксилаза 220, 245
 Пируваткиназа 61, 238
 Пищевые вещества 164
 Плазма крови 436
 Плазмиды 157
 Плазмин 446
 Плазминоген 51, 446
 Подагра 343
 Полирибосомы 122
 Половые гормоны 357, 389
 Порфирия 430
 Порфобилиноген 429
 Прегненолон 357
 Прогестерон 391
 Проинсулин 123
 Проколлаген 401
 Проллилгидроксилаза 402
 Пролин 13, 315, 402
 Проопиомеланокортин 473
 Пропранолол см. Анаприлин
 Простагландины 396
 Простетическая группа 29
 Протеинкиназы 87
 Протеогликаны 30, 406
 Протеолипосомы 188
 Протомеры белков 30
 Протонный потенциал 193, 209
 Протопорфирин 429
 Протромбин 440, 442
 Проферменты 88, 123, 305, 308, 440
 Пуриновые нуклеотиды 95, 339
 Путресцин 328
- Рахит** 387
 Рекомбинантная ДНК 157
 Ренин 362
 Реннин 306
 Репарация ДНК 138
 Репликация ДНК 106, 136
 Репрессия синтеза белков 127
 Рестриктазы 158
 Ретикулоциты 428
 Ретиналь 479
 Ретинол 479, 480
 Рибоза 94
 Рибозо-5-фосфат 257
 Рибонуклеиновые кислоты 93, 99, 113, 136
 Рибонуклеозидфосфаты 95
 Рибонуклеотидредуктаза 345
 Рибонуклеотиды 95
 Рибосомные РНК 99
- Рибосомы 39, 105
 Рибофлавин 67, 165, 231
 Рибулозо-1,5-бисфосфат 262
 Рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза 262
 Рибулозо-5-фосфат 257
 Рилизинг-гормоны см. Либерины
 Родопсин 478
 Рубомицин 124
- Сакситоксин 467
 Саркомер 449
 Саркоплазматический ретикулум 450
 Сахароза 234
 Сахарный диабет 379
 Свертывание крови 439
 Седогептулозо-7-фосфат 258
 Селен 227
 Серин 12, 81, 312, 323, 327
 Серин-треонин-дегидратаза 312
 Серповидноклеточная анемия 20, 153
 Сиаловая кислота 264
 Симпорт 193
 Синапс 468
 Синтетаза жирных кислот 276
 Синтетазы 72
 Скاتол 419
 Сквален 290
 Складчатый слой 22
 Соединительная ткань 400
 Соляная кислота 305
 Соматические мутации 141
 Соматомедины 379
 Соматостатин 379, 472
 Соматотропин 355, 379
 Сопряженные реакции 59, 203, 209
 Сорбитол 383
 Спермидин 328
 Спермин 328
 Сплайнинг 115
 Статины 355
 Стеариновая кислота 270, 279
 Стеаторрея 281
 Стерины 289
 Стероиды 289
 Стеркобилины 416
 Стеркобилиногены 416
 Стероидные гормоны 356
 Стрептомицин 124
 Строфантин см. Убаин
 Структурные гены 128
 Субстратное фосфорилирование 203, 216
 Субъединицы белков 30
 Сукцинат см. Янтарная кислота
 Сукцинатдегидрогеназа 68, 77, 79, 216
 Сукцинил-КоА 216, 427
 Сульфаниламиды 330
 Сульфгидрильные группы 24, 80
 Супероксиддисмутаза 61, 77, 226
 Супероксидный анион 224

- Сфингозин 181
Сфингофосфолипиды 181, 299
Таурин 293
Таурохолевая кислота 280
Теплопродукция 228
Терминирующие кодоны 122
Тестостерон 357, 390
Тетрагидрофолиевая кислота 323
Тетродотоксин 467
Тиамин 165, 231
Тиаминдифосфат 213
Тимин 94
Тимидилатсинтетаза 349
Тимидиловая кислота 95, 349
Тимидин 95
Тиоредоксин 348
Тиреоглобулин 392
Тиреотоксикоз 394
Тиреотропин 355, 393
Тирозин 13, 331, 419
Тирозиназа 333
Тироксин 392
Тканевое дыхание 201, 230
Токоферол 227
Трансаминирование 64, 309
Трансглутаминаза 409, 441
Транскрипция 106, 113
Транслоказы 189
Трансляция 106, 116
Трансмембранный электрохимический потенциал 191
Трансметилирование 325
Транспозиция генов 150
Транспортные АТФазы 190
Транспортные белки 42, 189
Транспортные РНК 100
Трансферазы 71
Трансферрин 430
Треонин 12, 312
Третичная структура белков 23
Триацилглицерины 279, 286
Триозофосфатизомераза 238
Трипсин 89, 307
Трипсиноген 89, 307
Триптофан 13, 419
Тромбин 17, 441, 447
Тромбоксаны 396
Тромбопластин 440, 442
Тропоколлаген 41, 401
Тропомозин 451
Тропонин 451
Тубокуарин 475
Тубулин 32
Убаин 467
Убихинон 68, 205
Углекислый газ см. Диоксид углерода
УДФ-Глюкоза 247
УДФ-Глюкуронилтрансфераза 413, 418
УДФ-Глюкуроновая кислота 413
Урацил 94, 345
Уридиловая кислота 94, 345
Урикемия 343
Уробилиногены 416
Уробилины 416
Уроканиновая кислота 335
Урокиназа 446
Фагоцитоз 195, 227
Фактор Касла 168, 267, 306
Факторы свертывания крови 440
Фенамин 477
Фенилаланин 13, 331
Фенилаланингидроксилаза 332
Фенилкетонурия 333
Фенилмолочная кислота 333
Фенилпировиноградная кислота 333
Фенилтиогидантоины аминокислот 18
Фенобарбитал 420, 422
Ферритин 430
Феррохелатаза 429
Фетальный гемоглобин 46
Фибриллярные белки 41
Фибрин 440
Фибриноген 39, 440
Фибробласты 400
Фибронектин 408
Флавинадениндинуклеотид (ФАД) 67
Флавинмононуклеотид (ФМН) 67
Флавиевая кислота 165, 323, 328
Фолликулостимулирующий гормон 390
Фосфатидилинозит 302
Фосфатидилсерины 181, 300
Фосфатидилхолины 180, 300
Фосфатидилэтаноламины 181, 300
Фосфатидная кислота 180, 282
3'-Фосфоаденозин-5'-фосфосульфат 414
2-Фосфоглицерат 239
3-Фосфоглицерат 239
Фосфоглицераткиназа 238
6-Фосфоглюконатдегидрогеназа 257
Фосфодиэстераза 251
3'-5'-Фосфодиэфирная связь 96
Фосфоенолпируват 239, 244
Фосфоенолпируваткарбоксикиназа 127
Фосфолипиды 180, 299
Фосфопротеины 30
Фосфопротеинфосфатазы 88, 251
Фосфорибозилдифосфат 340
Фосфоорилаза гликогена 248
Фосфорилирование 71
— белков 33, 251
— моносахаридов 235
— окислительное 209, 218
— субстратное 203, 216
Фосфосерин 324
Фосфофруктокиназа 238
Фотосинтез 260
Фруктоза 237
Фруктоземия 255
Фруктозо-1,6-бисфосфат 238

Фтордезоксиуридин 350
Фумараза 58, 77
Фумарилацетоацетат 332
Фумаровая кислота 58, 216, 317

Хенодезоксихолевая кислота 293
Хиломикроны 285
Химотрипсин 79, 307
Хлодитан 374
Хлорамфеникол см. Левомецетин
Хлорофилл 261
Холевая кислота 293
Холекальциферол 165, 386
Холерный токсин 365
Холестерин 176, 182, 185, 289
Холин 170, 300
Холинэстераза 155
Холопротейн 29
Холофермент 62
Хондроитинсульфаты 405
Хроматин 104
Хромосомы 104

Цветовое зрение 480
ЦДФ-Холин 301
ЦДФ-Этаноламин 300
Церамид 181, 301
Цереброзиды 300
3',5'-Циклоаденозинмонофосфат
(цАМФ) 86, 88, 250, 456
Цинга 402
Цистатионин 327
Цистеин 13, 24, 80
Цистин 24
Цистрон 128
Цитидиловая кислота 347
Цитозин 94
Цитохром P450 140, 222, 413

Цитохромы 17, 141, 205
Цитохромоксидаза 205
Цитрат 215
Цитратлиаза 278
Цитратный цикл 215, 314
Цитратсинтаза 215
Цитруллин 317

Челночные механизмы 240
Четвертичная структура белков 30
Число оборотов 77

Экзонуклеазы 138
Экзопептидазы 307
Экзоцитоз 197, 198
Эластин 42, 404
Эластаза 307
Электрохимический потенциал 191
Элонгация 121
Эндонуклеазы 138
Эндопептидазы 305
Эндорфины 472
Эндоцитоз 195
Энергетический заряд 219
Энкефалины 472
Энтеропептидаза 307
Эритрозофосфат 258
Эритромицин 124
Эритроцит 39, 185
Эстрадиол 357, 391
Эстрогены 357, 391
Этаноламин 300, 302
Этиловый алкоголь 255

Юкстагломерулярные клетки 362

Янтарная кислота 68, 216

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Предисловие	3
	Введение	5
	Место биохимии среди других биологических наук	5
	Основные этапы развития биохимии	6
Часть I	Глава I → Строение, свойства и функции белков	9
СТРОЕНИЕ	Пептидный остов белков	11
ИНФОРМАЦИОН-	Аминокислотный состав белков	15
НЫХ МОЛЕКУЛ	Первичная структура белков	18
И МАТРИЧНЫЕ	Конформация пептидных цепей в белках	20
БИОСИНТЕЗЫ	Простые и сложные белки	29
	Четвертичная структура белков	30
	Молекулярная масса, размеры и форма белковых молекул	36
	Ионизация, гидратация и растворимость белков	38
	Фибриллярные белки	41
	Функции белков	42
	Выделение индивидуальных белков	48
	Изменения белкового состава организма	52
	Глава II → Ферменты	53
	Специфичность действия ферментов	57
	Энергетически сопряженные ферментативные реакции	59
	Кофакторы ферментов	61
	Классификация и номенклатура ферментов	70
	Кинетика ферментативных реакций	73
	Ингибиторы ферментов	78
	Механизмы действия ферментов	81
	Ферменты и метаболизм	83
	Регуляция действия ферментов	84
	Изоферменты	89
	Распределение ферментов в организме	90
	Применение ферментов в медицине	92

	Глава III-- Строение нуклеиновых кислот	92
	Наиболее распространенные нуклеотиды клетки	94
	Первичная структура нуклеиновых кислот	96
	Вторичная структура ДНК	97
	Особенности строения РНК	99
	Гибридизация нуклеиновых кислот	101
	Строение хроматина	104
	Строение рибосом	105
	Глава IV-- Биосинтез нуклеиновых кислот и белков (матричные биосинтезы)	105
	Биосинтез ДНК (репликация)	106
	Путь информации от генотипа к фенотипу	111
	Биосинтез РНК (транскрипция)	113
	Биосинтез белков (трансляция)	116
	Посттрансляционная достройка белков	123
	Ингибиторы матричных биосинтезов	123
	Ингибирование синтеза белков дифтерийным токсином	124
	Интерфероны	125
	Регуляция биосинтеза белков	126
	Особенности строения, функций и регуляции биосинтеза антител	130
	Особенности репликации вирусного генома	135
	Глава V-- Молекулярные механизмы генетической изменчивости	137
	Повреждения и репарация ДНК	138
	Мутагенез	139
	Удвоение и дивергенция генов в филогенезе	142
	Полиморфизм белков	145
	Происхождение разнообразия антител	149
	Наследственные болезни	153
	Генная инженерия	156
Часть II	Глава VI-- Введение в обмен веществ	160
ОБМЕН	Биохимия питания	164
Веществ	Метаболизм	172
в ЗИРКИ	Методы изучения обмена веществ	175
	Глава VII-- Биологические мембраны	178
	Строение мембран	179
	Трансмембранный перенос веществ	189
	Глава VIII-- Энергетический обмен	199
	? Тканевое дыхание	201
	Фосфорилирование АДФ	202
	Дыхательная цепь	204
	Окислительно-восстановительные потенциалы переносчиков электронов	206
	? Строение митохондрий	207
	? Механизм сопряжения окисления с фосфорилированием	209
	Коэффициент фосфорилирования	210
	Дыхательный контроль	211

Разобщение окисления и фосфорилирования	211
Общий путь катаболизма	212
Образование восстановительных эквивалентов для анаболических реакций	221
Микросомальное окисление	222
Токсичность кислорода	223
Механизмы защиты от токсического действия кислорода	226
Бактерицидное действие фагоцитирующих лейкоцитов	227
Энергетический обмен и теплопродукция	228
Гипоэнергетические состояния	230
Глава IX— Обмен и функции углеводов	232
Переваривание углеводов	232
Временная недостаточность лактазы	234
Транспорт углеводов в клетки	235
Фосфорилирование моносахаридов	235
Катаболизм глюкозы	237
Биосинтез глюкозы (глюконеогенез)	243
Регуляция гликолиза и глюконеогенеза	245
Биосинтез гликогена	246
Мобилизация гликогена	248
Регуляция депонирования и мобилизации гликогена	249
Гликогеновые болезни	253
Обмен фруктозы и галактозы	254
Влияние этилового алкоголя на обмен углеводов	255
Пентозофосфатный путь превращений глюкозы	256
Фотосинтез углеводов в растениях	260
Углеводы структурно-функциональных компонентов клетки	263
Глава X— Обмен и функции липидов	270
Обмен жирных кислот	271
Обмен жиров	279
Обмен и функции стероидов	289
Гиперлиппротеинемии	296
Атеросклероз	297
Обмен сложных липидов	299
Глава XI— Обмен и функции аминокислот	303
Азотистый баланс	304
Переваривание белков	305
Распад тканевых белков	308
Трансаминирование аминокислот	309
Дезаминирование аминокислот	310
Катаболизм аминокислот и глюконеогенез из аминокислот	313
Синтез аминокислот	314
Биосинтез мочевины	315
Обмен аммиака	319
Обмен серина и глицина. Образование одноуглеродных групп	323
Метинин и реакции трансметилирования	325

	Синтез полиаминов	328
	Недостаточность фолиевой кислоты	328
	Механизм бактериостатического действия сульфаниламидных препаратов	330
	Обмен фенилаланина и тирозина	331
	Обмен гистидина	335
	Наследственные нарушения обмена аминокислот	337
	Глава XII→ Обмен и функции нуклеотидов	339
	Биосинтез пуриновых нуклеотидов	339
	Катаболизм пуриновых нуклеотидов	342
	Гиперурикемия и подагра	343
	Обмен пиримидиновых нуклеотидов	345
	Биосинтез дезоксирибонуклеотидов	348
<hr/>		
Часть III	Глава XIII→ Общие аспекты регуляции	351
ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ФУНКЦИЙ	Иерархия регуляторных систем	352
	Классификация гормонов	353
	Биосинтез и катаболизм стероидных гормонов	356
	Глава XIV→ Регуляция водно-солевого обмена	358
	Выделение воды и солей почками	360
	Регуляция осмотического давления и объема внеклеточной жидкости	361
	Водно-солевой обмен и секреция пищеварительных соков	364
	Роль почек в регуляции кислотно-щелочного равновесия	365
	Изменения состава мочи	367
	Камни мочевых путей	367
	Глава XV→ Регуляция обмена углеводов, жиров и аминокислот	368
	Концентрация глюкозы в крови	369
	Глюкокортикостероиды и регуляция глюконеогенеза	371
	Болезнь Иценко—Кушинга	373
	Инсулин и глюкагон	374
	Изменения обмена веществ при голодании	377
	Влияние других гормонов на обмен углеводов, жиров и аминокислот	379
	Сахарный диабет	379
	Глава XVI→ Регуляция обмена кальция и фосфатов	384
	Паратгормон	386
	Витамин D ₃	386
	Кальцитонин	387
	Концентрация кальция во внеклеточной жидкости	388

Глава XVII-- Половые гормоны. Гормоны щитовидной железы. Гормоны местного действия	389
Половые гормоны	389
Гормоны щитовидной железы	392
Гормоны местного действия	395

Часть IV

**ОСОБЕННОСТИ
БИОХИМИИ
ОТДЕЛЬНЫХ
ОРГАНОВ
И СИСТЕМ**

Глава XVIII-- Биохимия межклеточного матрикса	399
Коллаген и эластин	400
Гликозамингликаны и протеогликаны	405
Структурная организация межклеточного матрикса	408
Глава XIX-- Печень. Обезвреживание метаболитов и обмен чужеродных соединений	411
Микросомальное окисление и реакции конъюгации в печени	413
Обезвреживание нормальных метаболитов	415
Обмен чужеродных соединений	419
Печеночно-клеточная недостаточность	423
Химический канцерогенез	424
Глава XX-- Кровь	427
Эритроциты и гемоглобин	428
Дыхательная регуляция рН внеклеточной жидкости	437
Плазма крови	437
Свертывание крови	439
Глава XXI-- Мышцы	448
Строение миофибрилл	450
Строение актиновых нитей	451
Механизм сокращения мышцы	453
Включение сокращения мышцы	455
Сокращение гладких мышц	455
Немышечные сократительные белки	456
Источники энергии для мышечной работы	457
Особенности обмена сердечной мышцы	459
Образование аммиака в мышцах	459
Карнозин и анзерин	460
Мышечные дистрофии	460
Экскреция креатина и креатинина	460
Глава XXII-- Нервная система	461
Строение нервного волокна	462
Нервный импульс	464
Ингибиторы развития потенциала действия	467
Синаптическая передача нервного импульса	468
Пептиды нервной ткани	472
Соединения, влияющие на синаптическую передачу нервного импульса	474
Зрение	478
Метаболизм мозга	480
Рекомендуемая литература	482
Предметный указатель	483

Учебное издание

Николаев Александр Яковлевич

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Зав. ред. С. Ф. Кондрашкова. Редактор А. В. Бородина. Мл. редакторы С. М. Ерохина, Л. С. Макарина. Художественный редактор Е. Д. Косырева. Технический редактор Е. И. Герасимова. Корректор С. К. Завылова

ИБ № 6826

Изд. № Хим-774. Сдано в набор 21.08.87. Подп. в печать 05.11.88. Формат 60×90^{1/16}. Бум. офс. № 1. Гарнитура литературная. Печать офсетная. Объем 31 усл. печ. л. + 0,25 усл. печ. л. форзацы. 62,5 усл. кр.-отт. 32,10. уч.-изд. л. + 0,34 уч.-изд. л. форзацы. Тираж 50 000 экз. Зак. № 862. Цена 1 р. 50 к.

Издательство «Высшая школа», 101430, Москва, ГСП-4, Неглинная ул., д. 29/14.

Ярославский полиграфкомбинат Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательства, полиграфии и книжной торговли. 150014, Ярославль, ул. Свободы, 97.

Биохимический анализ крови

Ф.И.О. пациента _____

Дата _____

