

Е. А. Строса

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ



«ВЫСШАЯ ШКОЛА»



Фазы распада питательных веществ

Белки

Углеводы

Липиды
(триацилглицерины)

Амино-
кислоты

Моно-
сахариды

Глицерин

Жирные
кислоты

Пируват

Ацетил-КоА

Оксалоацетат

Цитрат

Малат

Изоцитрат

Сукцинат

2-Оксоглутарат

**ЦИКЛ
КРЕБСА**

$\text{H}_2, \text{H}, \text{H}_2$

H_2

H_2, H_2

Дыхательная цепь

$1/2 \text{O}_2$

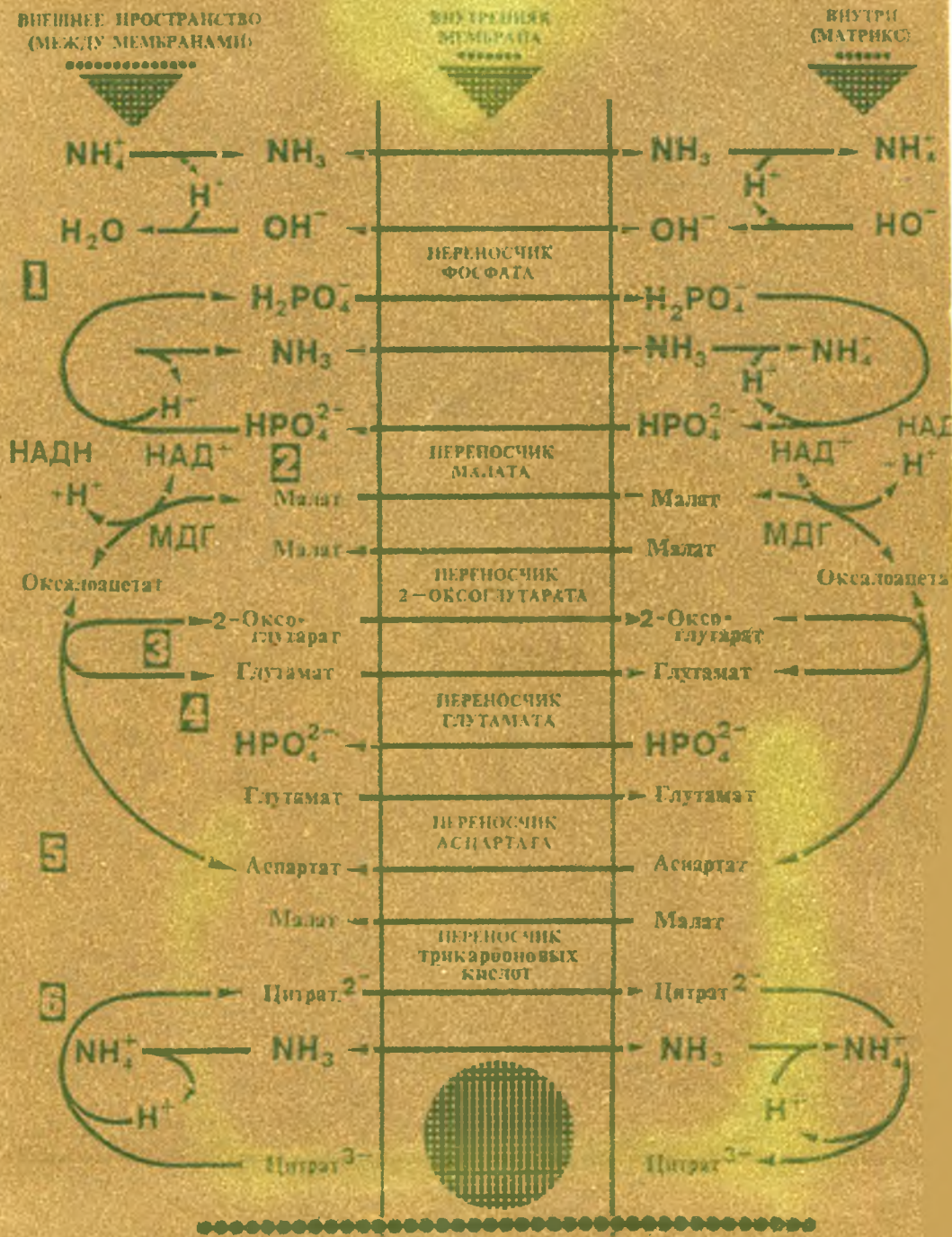
H_2O

фаза
●●●●●

I фаза
●●●●●

II фаза
●●●●●

Схема транспорта аннионов через мембрану митохондрий



Е. А. Строев

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Допущено

*Министерством высшего и среднего
специального образования СССР
в качестве учебника для студентов
фармацевтических институтов
и факультетов высших медицинских
учебных заведений*



МОСКВА * ВЫСШАЯ ШКОЛА * 1986

ББК 28.072

С86

УДК 577.1

Рецензенты: кафедра биохимии Запорожского
медицинского института (зав. кафедрой проф.
В. С. Якушев); проф. Д. М. Зубаиров (кафедра
биохимии Казанского медицинского института)

Строев Е. А.

С86 Биологическая химия: Учебник для
фармац. ин-тов и фармац. фак. мед.
ин-тов. — М.: Высш. шк., 1986. — 479 с.,
ил.

В пер: 1 р. 80 к.

Учебник состоит из четырех частей, в которых рассмотрены молекулярные основы структурной организации клеток, их жизнедеятельности и патологии, функциональная биохимия тканей и органов и прикладная биохимия. В книге отражены современные достижения в области биологической химии.

Автор большое внимание уделяет медико-биологической и фармацевтической направленности учебника. Впервые в издании подобного рода рассматриваются общие вопросы патобиохимии, клинической и фармацевтической биохимии, необходимые для изучения некоторых разделов практической фармации и медицины.

С $\frac{2007020000-020}{001(01)-86}$ 106—86

ББК 28.072
57.04

ПРЕДИСЛОВИЕ

Современные достижения биохимии в раскрытии тайн живой природы приблизили нас к пониманию физико-химических основ жизнедеятельности, прояснив многие молекулярные механизмы наследственности, биоэнергетики, обмена веществ, регуляции и адаптации биохимических процессов в организме. Эти фундаментальные исследования биохимии имеют широкое практическое применение в различных областях научных знаний и народном хозяйстве.

В директивных документах партии и правительства, в постановлении ЦК КПСС и Совета Министров СССР «О дальнейшем развитии физико-химической биологии и биотехнологии и использовании их достижений в медицине, сельском хозяйстве и промышленности» перед биохимической наукой ставятся задачи первостепенной важности — познание биохимических механизмов жизнедеятельности человека, совершенствование методов диагностики, профилактики и лечения наиболее распространенных заболеваний, получение новых эффективных лекарств и препаратов, химических и биологических средств защиты растений, разработка и внедрение в производство биотехнологических процессов, приемов и методов и т. д.

Ориентация фундаментальных знаний в прикладном направлении служит основой профилизации курса биохимии в вузах. Она должна проводиться с учетом особенностей подготовки и практической деятельности будущего специалиста.

Учебник предназначен для студентов фармацевтических специальностей высших учебных заведений и соответствует программе курса биохимии, утвержденной Министерством здравоохранения СССР, но отдельные разделы его могут быть использованы студентами при изучении биохимии в других вузах.

Материал книги систематизирован по функциональному принципу, чтобы отчетливее прослеживалась взаимосвязь между функциями живого организма и структурой биомолекул, химическими и физико-химическими процессами, которые их определяют.

При изложении курса биохимии рассматривается обмен веществ и энергии, молекулярные основы переноса генетической информации, регуляции биохимических процессов и функций организма, а также биохимические функции отдельных тканей и органов. Вместе с тем в книге отражены вопросы патобиохимии и практическое значение биохимической науки в тех или иных областях медицины и народного хозяйства. С учетом специфики фармацевтического образования в вузах в учебнике рассматриваются прикладные вопросы биохимии, имеющие значение для практической деятельности будущих специалистов, а именно: элементы клинической биохимии, значение биохимической науки в биотехнологии лекарств, анализе, контроле качества и стандартизации лекарств. Значительное внимание уделено изложению метаболизма лекарств, позволяющему понять роль ферментативных превращений в проявлении лекарственной активности и токсичности веществ и в разработке новых препаратов.

Глава 32 «Фармацевтическая биохимия» написана автором учебника совместно с доц. В. Г. Макаровой.

Автор приносит благодарность профессору Д. М. Зубаирову и коллективу кафедры биохимии (зав. кафедрой профессор В. С. Якушев) Запорожского медицинского института, сделавшим ценные замечания и предложения при рецензировании учебника, а также сотрудникам кафедры биохимии (зав. кафедрой профессор В. П. Комов) Ленинградского химико-фармацевтического института, высказавшим ряд пожеланий и замечаний при обсуждении рукописи книги. Он считает своим долгом выразить благодарность С. А. Покровскому, В. Г. Макаровой, В. В. Строителю, Б. А. Егорову, А. В. Дмитриеву и А. А. Ефремову, помогавшим в оформлении рукописи учебника.

Автор будет признателен за все критические замечания, советы и предложения по содержанию учебника.

Е. А. Строев

ВВЕДЕНИЕ

Предмет и задачи биохимии

Биологическая химия — наука о структуре химических веществ, входящих в состав живой материи, их превращении и физико-химических процессах, лежащих в основе жизнедеятельности. Биохимия является частью биологии, охватывая те ее области, которые требуют для изучения процессов жизнедеятельности физико-химических и химических подходов, приемов и методов. Особенность биохимии вытекает из ее названия, которое указывает на химическую сущность этой науки, а также на значимость для нее функциональных (биологических) исследований химических процессов.

Исторически биохимия связана родственными узами с органической химией, изучающей химические свойства веществ, входящих в состав живой материи, и физиологией, изучающей функции живых организмов. Со временем определение органической химии как химии природных соединений утратило первоначальное значение. Ее правильнее называть химией соединений углерода, разнообразие которых, благодаря успехам синтеза, не ограничивается веществами, содержащимися в живых организмах.

Поскольку химические вещества и химические процессы живой материи определяют многие функции организма, то первоначально органическая химия представляла собой как бы химический раздел физиологии. Физиология клетки, простейшей живой системы, занимается, по существу, описанием клеточных функций с позиций физической химии и сближается с биохимией. Не случайно термины «физиологическая химия» и «биохимия» употреблялись как равнозначные понятия.

Возникнув на стыке смежных дисциплин, биохимия в то же время не стала неким механическим объединением химии и физиологии. Несомненно, у нее много общего с химическими дисциплинами, такими, как органическая и физическая химия, особенно это относится к методам, применяемым для изучения природных веществ; однако перед биохимией и хими-

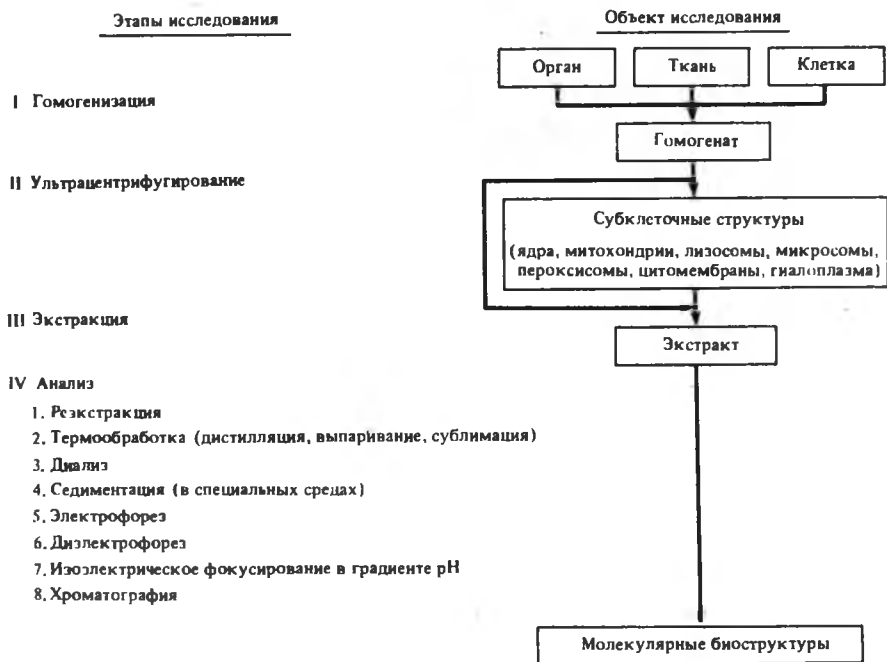
ческими науками стоят разные задачи. Для органической и физической химии представляют интерес прежде всего строение и свойства химических соединений, например их электронная структура, порядок связи и механизм ее образования, изомерия, конформация и т. д., информацию о которых эти науки черпают с помощью специальных методов химии и физической химии (структурный и стереохимический анализы, методы молекулярных орбиталей, встречного синтеза, химической модификации, получения химических аналогов и т. п.). Тогда как главным для биохимии является выяснение функционального (биологического) назначения всех химических веществ и физико-химических процессов в живом организме, а также механизм нарушения этих функций при разных заболеваниях.

Биохимия обязана своему становлению многим смежным наукам и по-прежнему сохраняет с ними тесную связь в изучении живой природы, но вместе с тем она остается оригинальной и самостоятельной наукой, задачей которой является исследование взаимосвязи строения веществ и их функций, превращения химических соединений в живом организме, способа преобразования энергии в живых системах, механизмов регуляции химических превращений и физико-химических процессов в клетках, тканях и органах, молекулярных механизмов переноса генетической информации в живых организмах и т. д.

Методы биохимии

Биохимик, имея дело с живым объектом, применяет максимально щадящие способы выделения какого-либо вещества, выполняет ряд дополнительных операций, чтобы свести исследование биологических молекул к обычному физико-

Схема 1. Последовательность этапов при биохимических исследованиях



химическому анализу. Примерная последовательность операций при выделении веществ из биологического материала приведена в схеме 1. Выбор методов выделения и анализа биологических веществ зависит от их свойств.

Для количественного изучения, определения структуры и физико-химических свойств выделенных веществ используют различные физические, физико-химические, химические методы анализа, а также квантово-механические расчеты электронной структуры выделенных соединений. Применение этих методов должно сочетаться с приемами, позволяющими сохранить нативную структуру биологических веществ.

Наряду с методами химии, физико-химии (включая применение меченых атомов), математики, физиологии, используемых для изучения структуры, превращения и функции биологических соединений, биохимия имеет свой собственный метод исследования — *метод ферментативного анализа*. Он также широко применяется в практической медицине, фармации и различных отраслях науки и народного хозяйства.

Краткая история развития биохимии

Исторически сложилось два этапа исследований в биохимии: статический и динамический. *Статическая, или описательная, биохимия* изучает состав живой материи, структуру и свойства выделяемых биологических соединений. *Динамическая биохимия* исследует химические превращения веществ в организме и значение этих превращений для процессов жизнедеятельности. Безусловно, статическая биохимия является более ранним этапом, но впоследствии оба направления развивались параллельно.

Биохимия — сравнительно молодая наука, возникшая на рубеже XIX в. Однако корни ее уходят в глубокую древность. Естественное стремление людей понять причину болезни и найти лекарство против недуга пробудило интерес к процессам, протекающим в живых организмах.

Крупнейший ученый и врач средневековья Абу Али-ибн-Сина (Авиценна) (980—1037) приводит в своем труде «Канон врачебной науки» классификацию химических веществ, применяемых в медицине, называет вещества, содержащиеся в «соках организма» и в моче.

Однако развитие биохимии долгое время сдерживалось засильем *витализма* — идеалистического учения о сущности жизни. По представлениям виталистов живая природа отличается от неживой присутствием особой нематериальной «жизненной силы», поэтому, считали они, вещества живых организмов не могут быть синтезированы в лабораторных условиях.

В XVIII в. был сделан ряд важных открытий. М. В. Ломоносов открыл закон сохранения материи и движения (1748) и указал на его применимость как для живой, так и неживой природы. В этом же веке был открыт кислород (Шееле, Пристли) и показана необходимость его для дыхания человека и животных (Пристли, Лавуазье). Было доказано, что растения поглощают углекислый газ и выделяют кислород, т. е. был открыт фотосинтез (Пристли, Инген-Хуз,

Сенебье). Из живых объектов было выделено большое число органических соединений — органические кислоты и спирты (Шееле), мочеви́на (Руэлль), холестерин (Конради) и др. Заслуживают внимания опыты итальянского аббата Спаланчани, который, исследуя влияние желудочного сока на переваривание мяса у хищных птиц, доказал химическую сущность этого процесса. Начинает развиваться динамическое направление в биохимии.

Развитие методов органической химии в XIX в. существенно ускорило развитие биохимии. В 1828 г. немецкий химик Вёлер синтезировал в лаборатории мочеви́ну из циановой кислоты и аммиака. Синтез мочевины — основного продукта азотистого обмена многих живых организмов, в том числе и организма человека, имел огромное значение: впервые было доказано, что химические вещества живого организма и полученные в лаборатории одинаковы. Тем самым Вёлер нанес серьезный удар по ошибочным представлениям и предрассудкам виталистов и 1828 г. можно считать годом основания биохимии как науки. Официальное признание биологическая, или медицинская, химия как самостоятельная дисциплина получила позднее. Этому в значительной мере способствовали русские биохимики, работы которых получили признание во всем мире. В 1863 г. в России было введено преподавание медицинской химии. Первые кафедры были созданы на медицинских факультетах Московского университета (заведующий кафедрой А. Д. Булыгинский), Казанского (А. Я. Данилевский), Харьковского (Ф. В. Тихонович) и Киевского (А. А. Шефер) университетов. За рубежом первая подобная кафедра была организована в Германии (1866), ее возглавил крупнейший биохимик того времени Хоппе-Зейлер. Были созданы первые учебники и руководства по биологической (физиологической) химии в Германии Зимоном (1842) и в России профессором Харьковского университета А. И. Ходневым (1847).

В XIX в. были заложены главные направления в биохимии, открыты основные классы соединений, содержащихся в живом организме. Особенно далеко продвинулось изучение химии белков, которыми ученые интересовались не только как обычным продуктом питания, но прежде всего как веществами, широко распространенными в живой природе. Были выделены белки из различных продуктов животного и растительного происхождения. Изучение продуктов гидролиза белка привело к открытию аминокислот. Большую роль в развитии этих исследований сыграли отечественные ученые Н. Э. Лясковский, А. Я. Данилевский, С. С. Салазкин, П. Н. Любавин, А. П. Сабанеев, М. В. Ненцкий. Успехи в исследовании белков подготовили почву для важных философских обобщений Ф. Энгельса. В 80-х годах XIX столетия Ф. Энгельс высказал свое знаменитое положение, что «... жизнь есть способ существования белковых тел, и этот способ состоит по своему существу в постоянном самообновлении химических составных частей этих тел»*, которое сохранило значение и до наших дней.

Незамеченным в свое время осталось открытие швейцарским ученым Мишером в 1869 г. ДНК — представителя класса нуклеиновых кислот, являющихся, как оказалось впоследствии, веществами, не менее значимыми для всего живого, чем белки. Были поставлены первые опыты, доказывающие взаимопревращение белков, жиров и углеводов (Либих, Петтенкофер, Фойт, Гофманн).

В XIX в. возникает учение о незаменимых компонентах пищи — витаминах, начало которому положили работы русского ученого Н. И. Лунина

* Энгельс Ф. Анти-Дюринг. М., Госполитиздат, 1977, с. 78.

(1880), продолженные впоследствии К. А. Сосиным, В. В. Пашутиным и зарубежными — Эйкманом, Функом, Гопкинсом.

Усилиями французских ученых — Бернара, Бертольда, Броун-Секара зарождается новое направление — биохимия гормонов, которое сразу дало практические результаты по применению гормонов в качестве лекарств.

Стремление проникнуть в тайны химических превращений в живом организме привело к расцвету исследований по ферментам.

Берцелиус и Шенбейн доказали сходство действия ферментов и неорганических катализаторов. Дальнейшие работы русских ученых А. Я. Данилевского, М. М. Манасеиной, И. П. Павлова и немецких ученых Э. Бухнера и Г. Бухнера, Либиха способствовали становлению нового направления в биохимии — энзимологии, которое дало ключ к пониманию механизма химических превращений в живых объектах.

В XX в. биохимия достигла подлинного расцвета. В 1902 г. Э. Фишер с сотр. впервые осуществил искусственный синтез пептидов. Он же разработал пептидную теорию строения белка. Примерно к середине XX в. были изучены основные цепи химического превращения белков, углеводов, липидов, аминокислот и других соединений. Открытие процессов окисления и синтеза жирных кислот и других липидов связывается с именами Кноопа, Линена, Липмана, Кеннеди, Ленинджера. Создаются схемы различных путей превращения углеводов и образования в ходе их химического носителя энергии — АТФ (Эмбден, Мейергоф, Кребс, Диккенс, Варбург и др.). Важную роль в обосновании механизмов превращения углеводов сыграли работы советских биохимиков В. А. Энгельгардта, Я. О. Парнаса, Л. А. Иванова и др.

Было выделено в кристаллическом виде большое число ферментов, установлено их строение, изучены механизмы ферментативных реакций и их регуляция (А. Е. Браунштейн, С. Е. Северин, В. Н. Орехович, С. С. Дебов, Б. Ф. Коровкин, Самнер, Кунитц, Михаэлис, Кошленд, Линен и др.). Благодаря внедрению метода рентгеноструктурного анализа и созданию аминокислотных анализаторов была расшифрована линейная структура инсулина (Сенджер, 1953), пептидов вазопрессина и окситоцина (Виньо, 1953) и трехмерные структуры белков — миоглобина (Кендрю, 1960), гемоглобина (Перутц), лизоцима (Филлипс) и др. Исследования отечественных биохимиков занимают ведущее место в изучении структуры и функции белков системы свертывания крови (А. А. Шмидт, А. А. Белицер, Б. А. Кудряшов, Д. М. Зубаиров). В 1937 г. выдающийся советский биохимик А. Е. Браунштейн совместно с М. Г. Крицман открыли ферменты трансаминирования аминокислот, что положило начало изучению новых путей превращения азотистых соединений в организме. Эти исследования были развиты впоследствии в трудах С. Р. Мардашева, С. Я. Капланского, Т. Т. Березова, А. Я. Николаева и др.

Необходимо особо отметить работы отечественной школы биохимии, основанной акад. В. С. Гулевичем. Его исследования были посвящены необычным азотсодержащим соединениям мышечной ткани — дипептидам карнозину и ансерину, содержащим β -аланин. Эти работы были продолжены акад. С. Е. Севериным, внесшим существенный вклад не только в изучение механизма действия дипептидов, но и в разработку различных проблем энзимологии, регуляции ферментов и мультиферментных комплексов, биоэнергетики.

В начале XX в. формируется новое направление в биохимии — *биоэнергетика*. Механизм освобождения энергии из питательных веществ связывался

с биологическим окислением. Еще в 1897 г. выдающийся русский ученый, впоследствии основатель советской биохимии А. Н. Бах выдвинул теорию перекисного окисления веществ молекулярным кислородом, которая дала толчок к исследованиям в области тканевого дыхания и, по существу, явилась блестящим предвидением нового пути окисления органических веществ в микросомах. В 1921 г. Бах организовал в Москве Научно-исследовательский биохимический институт Народного комиссариата здравоохранения (впоследствии реорганизованный в Институт биохимии Академии наук СССР), который сейчас носит его имя.

Другой выдающийся советский биохимик акад. В. И. Палладин обосновал значение дегидрирования субстратов в тканевом дыхании. В 1931 г. Энгельгардт открыл явление окислительного фосфорилирования.

Значительную роль в формировании представлений о механизмах дыхания и образования энергии сыграли исследования советского биохимика В. А. Беллицера, Энглера, Варбурга, Кейлина, Кребса, Липмана, Ленинджера, Чанса, Рэкера и др. Впоследствии Н. А. Энгельгардт совместно с М. Н. Любимовой (1939—1942) изучили АТФазную активность основного белка мышц актомиозина, т. е. обнаружили возможность механохимического сопряжения.

В 1961 г. английский биохимик Митчелл выдвинул гипотезу химико-осмотического сопряжения в биоэнергетике, в обосновании которой сыграли большую роль работы советского биохимика В. П. Скулачева.

В первой четверти XX в. акад. А. И. Опарин заложил основы эволюционной биохимии, выдвинув теорию происхождения жизни на Земле.

Важное место в раскрытии тайн живой материи заняли исследования по выделению, изучению структуры и механизма действия гормонов — специфических регуляторов обмена веществ. Этим исследованиям посвящены работы Н. А. Юдаева, В. С. Ильина, Я. Х. Туракулова, Ю. А. Панкова и др.

В 40-х годах нашего столетия вновь возрождается интерес к открытым в XIX в. нуклеиновым кислотам в связи с поиском химических веществ — носителей наследственности. В 1953 г. Крик и Уотсон открыли вторичную структуру ДНК, что позволило понять принципы передачи наследственной информации.

Это открытие фактически знаменовало рождение нового направления в биохимии — *молекулярной биологии*, изучающей молекулярную основу фундаментальных свойств живой материи и, в частности, молекулярные основы наследственности. В развитии и становлении этой науки исключительное значение имели работы школы акад. А. Н. Белозерского, который создал советскую школу молекулярных биологов. Его ученик А. С. Спиринов внес существенный вклад в развитие биохимии и в раскрытие механизма синтеза белка на рибосомах. Советский биохимик А. А. Баев установил структуру одной из т-РНК, участвующей в синтезе белка.

В 1961 г. Ниренберг и Маттеи открыли генетический код, а Жакоб и Моно — механизм регуляции синтеза белка у бактерий. В 1967 г. Корнберг впервые осуществил синтез ДНК вируса в пробирке, а в 1970 г. Х. Корана синтезировал искусственный ген. Так в 70-х годах молекулярная биология дала начало *генной инженерии*, занимающейся химическим конструированием генов, пересадкой их в клетки и исправлением генетических дефектов.

Достижения биохимии широко применяются в различных областях народного хозяйства, медицине и фармации. Уже сейчас ведутся, и небезуспешно,

опыты по выведению высокопродуктивных пород животных и получению ценных растений с помощью методов генной инженерии. Предприняты попытки пересадить группу генов «азотфиксации», которые имеются у клубеньковых бактерий, высшим растениям (пшенице, кукурузе), чтобы растения сами могли усваивать азот воздуха. Это позволит существенно уменьшить расход азотных удобрений, которых в мире производится порядка 50 млн. т. Хотя завершение проекта по пересадке генов «азотфиксации» — дело будущего, но уже сейчас получены первые положительные результаты в этом направлении.

Благодатным объектом для биохимика являются микроорганизмы, биохимические процессы которых можно изменить или пересадкой нужных генов, или модификацией их собственных. Новые штаммы микроорганизмов применяют в производстве дешевого кормового белка и незаменимых аминокислот для сельскохозяйственных животных, причем в качестве питательной среды для таких микроорганизмов часто используют дешевые парафины нефти. Получают также прекрасные биологические препараты для защиты растений от вредителей, безвредные для человека и животных. Существенные практические результаты дают биологические способы переработки промышленных и бытовых отходов, очистки морей от нефтяных продуктов и т. д. (с помощью специально выведенных мутантов бактерий). Широко используются биохимические процессы в пищевой промышленности (приготовление хлебопродуктов, сыра, виноделие и т. д.), кожевенной и др.; выпускаются даже стиральные порошки с добавками ферментов.

В фармацевтической практике биохимия завоевывает все новые позиции. Биологические катализаторы — ферменты применяются в промышленности при синтезе лекарственных средств (например, стероидных гормонов). С помощью метода генной инженерии разрабатывают перспективные способы производства природных лекарственных препаратов. Знание биохимии микроорганизмов позволило создать удобные, экономичные способы промышленного синтеза лекарственных препаратов (аминокислот, нуклеотидов, нуклеозидов, витаминов, антибиотиков и т. д.). Разработаны быстрые и специфичные методы анализа лекарств с использованием ферментов в качестве аналитических реагентов.

Немаловажное значение для практики имеет знание механизма действия лекарств. Изучение превращения лекарств ферментными системами клеток позволяет разработать правильный режим дозировки применяемых средств, регулировать превращение их в организме и понять природу действующего начала, т. е. чем обусловлен эффект — исходным веществом или продуктом его обмена.

Проникновение в тайны живого, понимание сложнейших процессов, необычайно легко осуществляемых живой природой, открывает перед человечеством огромные перспективы.

Основные признаки живой материи

Клетка как простейший представитель живого мира и многоклеточные живые организмы состоят из химических веществ, которые по своим свойствам сходны с аналогичными соединениями неживой природы. Вместе с тем живую материю отличают от неживой качественно новые признаки. В известном обобщении Ф. Энгельса о сущности жизни очень точно подмечены два характерных качества живых существ: ведущая роль белков в процессах жизнедеятельности и необходимость постоянного самообновления веществ (обмена с окружающей

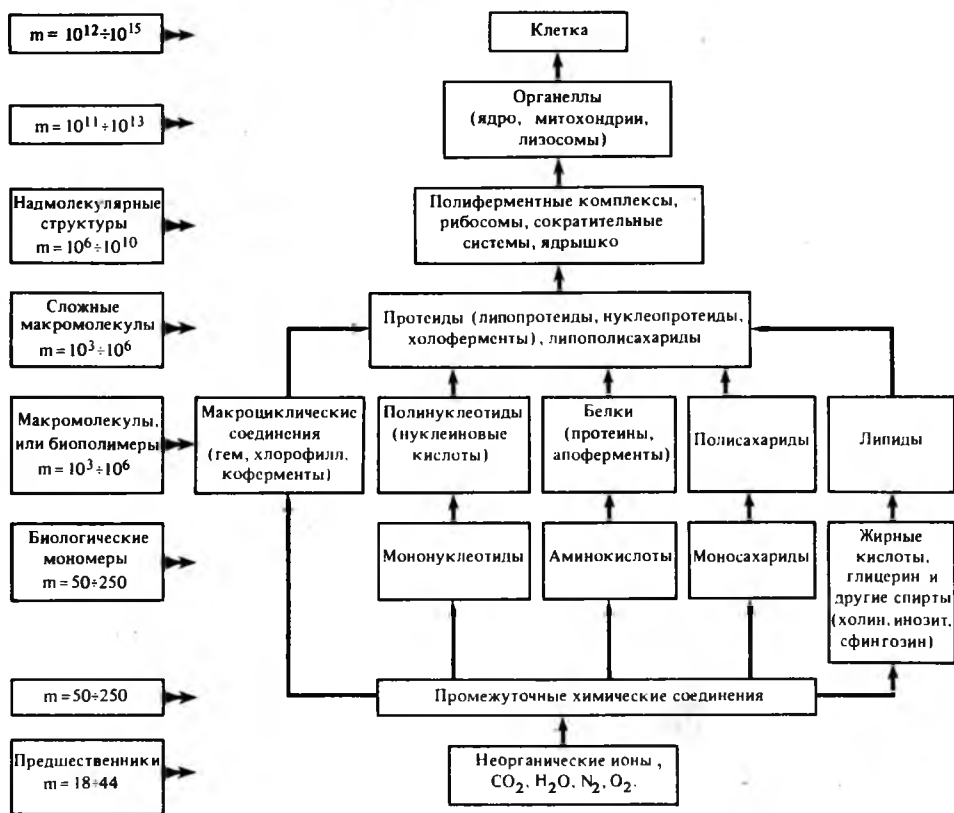
средой). Однако на современном этапе знаний тезис Ф. Энгельса о сущности жизни требует уточнений, ибо в нем, например, не могла быть учтена роль нуклеиновых кислот, о которых в то время было мало известно.

Рассмотрим основные признаки живого организма, отличающие его от неживого, и важнейшие химические вещества и физико-химические процессы, которые их обеспечивают. К этим признакам относятся:

- 1) высокий уровень структурной организации (упорядоченность);
- 2) способность к эффективному преобразованию и использованию энергии;
- 3) обмен с окружающей средой и саморегуляция химических превращений;
- 4) самовоспроизведение, или передача наследственной информации.

Высокий уровень структурной организации (упорядоченность). Если клетку разобрать на отдельные молекулы, а затем расположить их по степени сложности, получится своеобразная шкала уровней организации клетки (сх. 2).

С х е м а 2. Уровни молекулярной организации клетки (m — масса в дальтонах*)



* 1 дальтон равен $1/12$ массы атома изотопа ^{12}C , или $1,661 \cdot 10^{-24}$ г. Масса молекулы, выраженная в дальтонах, численно равна ее молекулярной массе. Дальтоны удобно использовать для обозначения массы таких структур, как рибосомы, хромосомы, митохондрии, вирусы и целые клетки, к которым неприменим термин «молекулярная масса».

У начала шкалы стоят низкомолекулярные *предшественники* клеточных компонентов: N, H₂O, CO₂, O₂, P, S и еще ряд природных элементов, получаемых из окружающей среды (атмосферы и земной коры). Из этих веществ через *промежуточные соединения* (такие, как ацетат, кетокислоты и другие органические кислоты, аммиак, карбамоилфосфат и т. д.) образуются в ходе жизнедеятельности клеток биологические молекулы, называемые *строительными блоками* или *биологическими мономерами*. Эти органические соединения, имеющие среднюю молекулярную массу, являются структурными блоками макромолекул. Биологическими мономерами можно назвать аминокислоты, мононуклеотиды, моносахариды, жирные кислоты, глицерин, в также некоторые органические спирты (холин, инозит и др.). Биологические мономеры, соединяясь друг с другом в разных сочетаниях, дают *макромолекулы*, или *биополимеры*, имеющие большую молекулярную массу и отличающиеся большим разнообразием. Например, из 20 аминокислот образуется до 10¹² разных белков, из 5 мононуклеотидов — до 10¹⁰ разновидностей нуклеиновых кислот и т. д.

Промежуточное положение между мономерами и макромолекулами занимают *макроциклические соединения* (гем, хлорофилл, цианкобаламин), витамины и коферменты, которые по молекулярной массе ближе к мономерам, но не являются, подобно последним, строительными блоками макромолекул.

Макромолекулы способны соединяться друг с другом, образуя *смешанные макромолекулы* (например, липопротейды, нуклеопротейды, гликопротейды, гликолипиды, гемпротейды и т. д.). У макромолекул уже появляется способность к выполнению ряда функций (способность к катализу, самокопированию), которые можно отнести к элементарным проявлениям жизнедеятельности.

Взаимодействие макромолекул (простых и смешанных) формирует *надмолекулярные структуры*, или *комплексы* (например, рибосомы, сократительные структуры, полиферментные комплексы). Следующая ступень организации — *органойды* (митохондрии, ядро, лизосомы и т. д.), которые отличаются относительной автономностью в выполнении специальных функций, определяющих существование клетки (например, митохондрии участвуют в производстве энергии, лизосомы — в переваривании веществ). Наконец, система органойдов образует *клетку*.

Переход от простых биомолекул к сложным биологическим структурам основывается на физико-химических принципах самоорганизации. В основе самоорганизации лежат химические взаимодействия между молекулами, входящими в состав живой материи. К о в а л е н т н ы е связи обеспечивают все многообразие простых биомолекул и макромолекул. Укладка макромолекул в пространстве и организация надмолекулярных структур, органойдов и клетки осуществляется с участием с л а б ы х с в я з е й (водородных, ионных, вандер-ваальсовых). Если ковалентные связи обуславливают прочность и устойчивость биологических молекул, то слабые обеспечивают подвижность (динамичность) биологических структур. Более сложная организация объясняет явления живой природы и отличия живой материи от неживой.

Способность к эффективному преобразованию и использованию энергии. Структурная организация (упорядоченность) в природе тесно связана с законами термодинамики. На первый взгляд упорядоченность структуры живых организмов противоречит второму закону термодинамики, согласно которому процессы, происходящие в любой изолированной системе, направлены в сторо-

ну увеличения ее беспорядка, или *энтропии* (энтропия — мера неупорядоченности системы). Иначе говоря, живые организмы в отличие от неживой природы «антиэнтропийны». Эта уникальность живой материи не исключает ее подчинения законам термодинамики. Живые организмы постоянно обмениваются с окружающей средой энергией и веществом, т. е. являются открытыми системами, поэтому энтропийная закономерность, справедливая для закрытых (изолированных) систем, для них нехарактерна. Для поддержания структурной упорядоченности живые организмы постоянно расходуют энергию. Подчиняясь первому закону термодинамики (согласно которому энергия не возникает из ничего и не уничтожается, она лишь переходит из одного состояния в другое), они потребляют энергию из окружающей среды, преобразуют ее в удобную для использования форму и возвращают эквивалентное количество энергии в окружающую среду в форме, малоприспособленной для применения. Так, клетки, получая из внешней среды энергию в виде квантов света (фотосинтезирующие организмы) или химическую энергию органических и неорганических веществ (прочие организмы), преобразуют ее в электрическую и энергию химических связей аденозинтрифосфата (АТФ). Электрическая энергия и энергия, заключенная в химических связях АТФ, используется клеткой для совершения работы. В окружающую среду живой организм отдает тепловую, бесполезную для него энергию. В результате этого растет энтропия окружающей среды.

Следовательно, живой природе не чужды законы термодинамики; живые организмы поддерживают свою структурную организацию за счет внешней среды, упорядоченность которой из-за этого уменьшается. Обмениваясь с внешней средой энергией и веществом, клетка является открытой неравновесной системой. Если бы эти процессы пришли в состояние равновесия, то упорядоченность клетки не могла бы поддерживаться за счет окружающей среды и она бы погибла.

Живые организмы в отличие от неживых объектов практически функционируют при температуре и давлении, близким к постоянным значениям, поэтому они не способны использовать тепловую энергию для совершения работы. Клетка является изотермической химической машиной, причем эффективность ее выше, чем большинства преобразователей энергии, созданных человеком. Высокая эффективность преобразования энергии живыми организмами и обеспечивает их структурную организацию и функционирование. Повреждение биологических трансформаторов энергии ведет к гибели организма, ибо процессы обмена приходят в состояние равновесия, а равновесные реакции не способны поддержать упорядоченное состояние клетки.

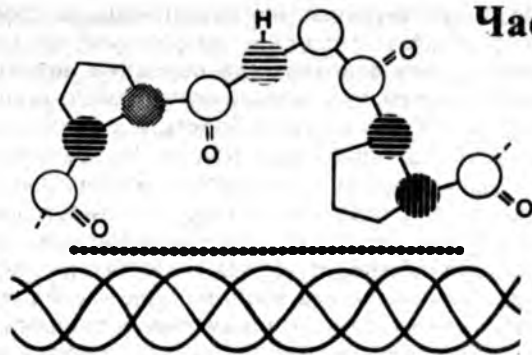
Обмен веществ с окружающей средой и саморегуляция химических превращений. Поступающие в клетку вещества используются как источник энергии и как строительный материал, поскольку в ней происходит постоянное обновление структурных компонентов. Для построения нужных организму биомолекул поступающие из внешней среды вещества подвергаются химическим превращениям. Продукты этих превращений, т. е. продукты обмена, выводятся из клетки во внешнюю среду. Образование необходимых для организма веществ должно протекать не только специфично (без побочных продуктов), но и с достаточной скоростью. В ходе эволюции живая природа «создала» биологические катализаторы белковой природы — *ферменты*, которые обеспечивают высокую скорость катализа, специфичность химических превращений и, самое главное, их саморегуляцию. Отсутствие в неживой природе белков, в том числе

и белков с каталитическими функциями, исключает у них возможность специфического обмена веществ и саморегуляцию химических превращений.

Самовоспроизведение, или передача наследственной информации. Самым уникальным признаком живых организмов, полностью отсутствующим в неживой природе, является способность к самовоспроизведению. С поразительной точностью живые организмы копируют себе подобных. Все многообразие живых объектов определяется наследственной (генетической) программой, заложенной в нуклеиновых кислотах (нет ни одного живого организма, в котором отсутствуют нуклеиновые кислоты). Вся генетическая информация хранится в дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК). Особенностью строения ее является потенциальная возможность самокопирования и, следовательно, передачи наследственных признаков от одного поколения организма к другому. В процессе жизнедеятельности клетки информация, заложенная в ДНК, реализуется через рибонуклеиновые кислоты (РНК) в структуре соответствующего белка. Следует отметить, что процесс передачи наследственной информации не может происходить без белков. Очевидно, с образованием в ходе эволюционного развития белков и нуклеиновых кислот сформировались первичные живые организмы.

Молекулярные основы структурной организации клеток

Часть I



Высокий уровень структурной организации — характерный признак живого организма, отличающий его от неживой природы; он основан на физико-химических принципах и определяет потенциальную возможность той или иной биологической функции.

ГЛАВА 1. ОСНОВНЫЕ ХИМИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ ОРГАНИЗМА

Общая масса всех живых организмов, населяющих Землю, составляет примерно 10^{13} — 10^{15} т. Сравнение химического состава живых организмов и неживой природы (атмосферы и земной коры) свидетельствует о том, что живые организмы приспособили для своей деятельности не все самые распространенные элементы земной коры (литосферы). Например, один из наиболее распространенных элементов литосферы — кремний — лишь в небольших количествах содержится в некоторых видах растений, а в организме человека и высших животных присутствуют лишь его следы (табл. 1).

Почти 99% атомов организма человека и растений приходится на четыре элемента — кислород, водород, углерод и азот, в то время как содержание трех последних в земной коре ничтожно.

В организме человека и животных обнаружено свыше 70 элементов таблицы Д. И. Менделеева. По количественному содержанию в организме их можно разделить на четыре группы. Первая группа — *макробиогенные (главные) элементы*, содержание которых в организме от 1% и выше. К ним относятся: кислород, углерод, азот, водород, кальций и фосфор. Вторая группа — *олигобиогенные*, доля их от 0,1% до 1%. Этих элементов, как и главных, тоже шесть: калий, натрий, хлор, сера, магний, железо. Третья

Таблица 1. Относительное содержание некоторых химических элементов в земной коре растений и организме человека

Организм человека		Растения		Земная кора	
элемент	содержание, % (ат.)	элемент	содержание, % (ат.)	элемент	содержание, % (ат.)
H	60,3	H	10,0	H	<0,0001
O	25,5	O	70,0	O	62,5
C	10,5	C	18,0	C	0,08
N	2,42	N	0,4	N	0,0001
Na	0,73	Na	0,3	Na	2,64
Ca	0,226	Ca	0,3	Ca	1,94
P	0,134	P	0,15	P	0,093
S	0,132	S	0,03	S	0,05
K	0,036	K	0,3	K	2,5
Cl	0,032	Cl	0,003	Cl	0,017
Si	<0,0001	Si	0,15	Si	21,2
Al	<0,0001	Al	<0,0001	Al	6,47

группа — *микробиогенные элементы*, содержание которых в организме ниже 0,01%. Для семи элементов этой группы (цинк, марганец, кобальт, медь, фтор, бром, иод) доказана их большая роль в процессах жизнедеятельности. Четвертая группа — *ультрамикробиогенные элементы*. К ней относятся все остальные элементы; концентрация их в организме составляет ничтожную величину — 10^{-4} — 10^{-6} %. Для двенадцати из них установлена необходимость для жизнедеятельности растений и животных (бор, литий, алюминий, кремний, олово, кадмий, мышьяк, селен, титан, ванадий, хром, никель). Предполагается, что еще шесть элементов (бериллий, рубидий, барий, серебро, свинец, вольфрам) также необходимы для живых организмов. В живой природе присутствуют в чрезвычайно малых количествах (от 10^{-4} до 10^{-12} %) цезий, галлий, индий, таллий, германий, сурьма, висмут, теллур, золото, ртуть, лантан, церий, цирконий, празеодим, ниобий, неодим, инертные и даже радиоактивные элементы (радий, актиний, полоний, торий, уран). Содержание последних — менее одного атома на клетку. По-видимому, загрязнение внешней среды этими элементами приводит к аккумуляции их в организмах, особенно растительных.

Итак, живые организмы содержат чуть ли не все элементы периодической системы. По набору элементов живая и неживая природа отличаются мало. Иного трудно ожидать. Ведь исходный материал для построения живых молекул поставляется неживая природа. Кстати, морская вода по содержанию элементов (в атомном исчислении), за исключением углерода и фосфора, очень близка к средам живых организмов. Более того, химический состав морской воды почти идентичен составу крови человека. Поэтому считают, что возникновение жизни связано с водной средой Мирового океана или прибрежных его районов.

Все элементы входят в состав органических и неорганических соединений живого организма. Пожалуй, единственным исключением является кислород, незначительная доля которого растворена в жидкостях организма в свободном молекулярном состоянии (растворенные в жидких средах организма азот и инертные газы не вовлекаются в биохимические процессы клеток); однако большая часть молекулярного кислорода, используемого в процессах жизне-

деятельности человеческого организма, связана с гемоглобином, миоглобином и другими переносчиками.

Химический состав клетки отражает такой важный признак живой материи, как высокий уровень структурной организации.

Например, из 30% сухого вещества клетки печени человека, масса которой 10^{-15} г, лишь около 3% приходится на долю неорганических ионов и низкомолекулярных органических соединений (метаболитов, биологических мономеров и прочих веществ типа макроциклов, коферментов). Значит, в клетках имеется относительно небольшой запас свободных строительных блоков (глюкоза, аминокислоты, мононуклеотиды, жирные кислоты, глицерин), которые используются на построение макромолекул. Большую часть сухого вещества клетки (около 27%) составляют макромолекулы, среди которых примерно 70% приходится на белки.

В разных клетках может быть неодинаковым содержание белков (например, растительные клетки беднее белком, чем животные), нуклеиновых кислот (в растительных клетках их больше, чем в животных), липидов (особенно богата липидами жировая ткань), полисахаридов (клетки растений, печени, мышц накапливают их в процессе жизнедеятельности в больших количествах, чем другие клетки). Содержание воды в разных клетках и организмах может колебаться от 40% (клетки растений, жировая ткань) до 99% (в организме медузы). Неорганические соединения вместе с водой создают среду, в которой протекают все процессы в клетке. Разнообразие неорганических ионов в клетке относительно невелико, но они определяют многие жизненные функции организма.

ГЛАВА 2. ВОДА И НЕОРГАНИЧЕСКИЕ ИОНЫ

1. Вода. Свойства и биологические функции

Вода — одно из самых замечательных веществ по своим уникальным физико-химическим свойствам и значению для жизнедеятельности организмов. Вода — обязательный спутник жизни: нет ни одного известного нам организма, который мог бы обходиться без нее.

Содержание воды и ее распределение в организме человека. Содержание воды в теле человека колеблется в зависимости от возраста от 45 до 75% от общей массы. Вся вода распределена между тремя пространствами — внутри клеток, вне клеток и в замкнутых полостях. Наибольшее ее количество находится внутри клеток — от 30 до 45%; внеклеточная вода распределяется между межклеточной жидкостью (12—16%), плазмой крови (около 5%) и лимфой (2%). Внутриполостная вода составляет небольшую долю (примерно 1—3%); она входит в состав спинно-мозговой, внутриглазной, перикардальной, синовиальной (в полости суставов) жидкостей и т. д. По составу растворенных веществ она близка к межклеточной жидкости. Распределение воды внутри и вне клеток и в зависимости от возраста человека приведено в табл. 2. Как видно из таблицы, у новорожденных больше общей воды за счет внеклеточной, а с возрастом ее количество уменьшается, т. е. организм становится как бы суше. Потери воды идут за счет внеклеточных жидкостей.

Большое количество воды внутри и вне клеток указывает на необходимость

Таблица 2. Содержание и распределение воды в организме человека в зависимости от возраста (в % от массы тела)

Возраст человека	Общая вода	Внутриклеточная вода	Вне клеток	
			межклеточная	плазма
Новорожденные	75	35	35	5
До 1 года	70	35	30	5
От 1 до 10 лет	60—65	35—40	20—25	5
От 10 до 50 лет	55—60	40—45	15	5
Более 50 лет	50—55	35—40	10	5

ее для процессов жизнедеятельности организма. Необходимое содержание воды поддерживается за счет поступления ее извне с пищей (примерно 2 л в сутки); небольшое количество воды (0,3 л в сутки) образуется в процессе распада веществ.

Однако в клетках различных органов человека содержание воды неодинаково (см. табл. 3), что определяется значением воды для функции той или иной ткани. В большинстве тканей воды 65—70%, а в крови и почках ее содержание превышает 80%. Низкое содержание воды в жировой ткани объясняется неспособностью жира удержать воду.

Почему же вода, простой оксид водорода, играет такую важную роль в жизнедеятельности организма? Причину следует искать в особых физико-химических свойствах воды, которые как нельзя лучше соответствуют биологическим функциям клеток.

Физико-химические свойства воды. Молекула воды H_2O полярна. Валентный угол $H-O-H$ равен примерно 105° , поэтому молекула воды представляет собой диполь. Электрофильный атом кислорода притягивает спаренные электроны от атомов водорода и приобретает два частичных отрицательных заряда, а оба атома водорода имеют частичные положительные заряды. Одной из важнейших особенностей воды является способность ее молекул объединяться в структурные агрегаты благодаря образованию связей между разноименно заряженными полюсами диполей таким образом, что каждая молекула воды оказывается довольно прочно связанной с четырьмя соседними молекулами воды (рис. 1). Образуются ассоциаты, состоящие как минимум из пяти молекул воды. Теоретически все молекулы воды могут объединиться в одну пространственную сетку, как бы в одну гигантскую макромолекулу, однако водо-

Таблица 3. Содержание воды в различных органах и тканях взрослого человека (в % от массы ткани)

Ткань или орган	Вода	Ткань или орган	Вода
Жировая ткань	10,0	Мышца	75,6
Костная ткань	22,0	Селезенка	75,8
Печень	68,3	Легкие	79,0
Кожа	72,0	Сердце	79,2
Кишечник	74,5	Почки	82,7
Мозг	74,8	Кровь	83,0

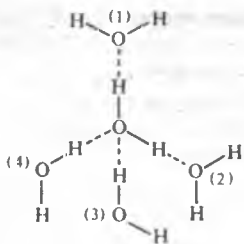


Рис. 1. Схематическое изображение ассоциата из молекул воды

родные связи при движении молекул воды быстро рвутся и так же быстро образуются новые. Поэтому между отдельными молекулами воды и ассоциатами существует равновесие.

Необычная структура воды обуславливает ее уникальные физико-химические свойства. Высокая полярность молекул воды (среди растворителей она обладает одним из самых больших электрических дипольных моментов) объясняет ее высокую диэлектрическую проницаемость (диэлектрическую постоянную) по сравнению с другими веществами. Для воды она равна 80, а, например, для такого хорошего растворителя, как этанол, — 24. Это значит, что силы сцепления в веществе, помещенном в воду, ослабляются в 3,5 раза больше, чем в этаноле. Так полярность молекул воды обуславливает ее свойства прекрасного растворителя.

Вещества, находящиеся в водном растворе, имеют водную, или гидратную, оболочку, которая образуется в результате взаимодействия дипольных молекул воды с заряженными группами макромолекул или ионов. Чем больше гидратная оболочка, тем лучше растворимо вещество.

Все неорганические и органические соединения, диссоциирующие на ионы, все биологические мономеры (аминокислоты, нуклеотиды, моносахариды, глицерин), биополимеры (белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды), имеющие полярные группы, растворимы и диффундируют в водной среде. Молекулы, содержащие неполярные цепи или отдельные группы, плохо растворимы или почти нерастворимы в воде.

По отношению к воде молекулы или отдельные части молекул делят на *гидрофильные*, т. е. водорастворимые, и *гидрофобные*, т. е. водонерастворимые. Все перечисленные выше полярные соединения являются гидрофильными. К гидрофобным группам молекул относятся, например, углеводородные радикалы жирных кислот и алифатических аминокислот, ароматические радикалы аминокислот. Гидрофобными являются молекулы триацилглицеринов, стероидов и т. д.

Молекулы некоторых соединений содержат как полярные (гидрофильные), так и неполярные (гидрофобные) группы. Такие соединения называются *амфифильными* (от греч. amphu — двойкий; pathos — страдание) или *амфифильными*. К ним относятся жирные кислоты, полярные липиды (фосфолипиды), белки, нуклеиновые кислоты. Амфифильные молекулы играют важную роль в организации сложных надмолекулярных структур, особенно биологических мембран.

Особенностями воды как растворителя не исчерпываются ее удивительные свойства. Образованием ассоциатов объясняются аномальные температуры кипения, плавления и высокая теплоемкость воды. Если бы молекулы воды не объединялись в ассоциаты, то температура кипения ее, согласно положению гидрида кислорода в периодической системе, должна быть -80°C , а температура затвердевания -100°C , т. е. нормальное состояние воды в условиях Земли было бы газообразным и жизнь была бы невозможна.

Теплоемкость воды более чем вдвое превышает теплоемкость любого биологического вещества. Благодаря этому качеству вода может долго сохранять

тепло при изменении температуры окружающей среды и переносить его на расстояние, что важно для поддержания температуры организма.

Еще одно важное физико-химическое свойство воды — большое поверхностное натяжение, которое обусловлено взаимодействием между молекулами воды. Именно поверхностным натяжением объясняются капиллярные явления, т. е. поднятие воды вверх по очень тонким каналам. В растениях благодаря капиллярным явлениям вода с растворенными в ней питательными веществами поступает по капиллярным сосудам от корня к побегам и наоборот — от листьев к нижним частям растений (транспирация).

Биологические функции воды. Суммируя сказанное, можно перечислить биологические функции, которые выполняет вода:

1) растворителя и стабилизатора растворенных биологических молекул и ионов;

2) регулятора теплового баланса организма (сохранение, распределение и отдача тепла);

3) транспортную функцию при транспирационном токе питательных веществ в растениях;

4) механическую (гидратационную) функцию, т. е. способствует сохранению внутриклеточного давления и формы клеток (тургор);

5) структурную (входит в виде структурной прослойки между полярными концами белков и липидов в биологических мембранах);

6) синтетическую, или анаболическую (как субстрат в синтезе биологических веществ);

7) гидролитическую, или катаболическую (как субстрат в разрыве связей биологических веществ);

8) электронодонорную, или энергетическую (источник электронов при трансформации энергии в хлоропластах растений).

Нарушение водного баланса организма приводит к тяжелым последствиям, вплоть до гибели клеток. Функции клеток зависят от общего количества внутриклеточной и внеклеточной воды, от гидратационных слоев (обводненности) субклеточных структур, от водного микроокружения макромолекул. Резкое изменение одного из этих факторов приводит к патологии, поэтому необходимы тонкие механизмы приспособления к сдвигам водного баланса как в клетках, так и в организме в целом.

2. Неорганические ионы, их свойства и биологические функции

Неорганические, или минеральные, вещества находятся в клетках в виде ионов.

Распределение неорганических ионов между внутри- и внеклеточной средой. В клетках и внеклеточных жидкостях организма человека основными катионами являются Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} . Содержание других катионов незначительно. Среди анионов преобладают PO_3^{2-} , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- .

Живой организм подчиняется физико-химическому закону электронейтральности, по которому суммы положительных зарядов катионов и отрицательных зарядов анионов должны быть равны, хотя и допускаются колебания в содержании отдельных катионов и анионов.

Концентрация главных неорганических катионов и анионов в межклеточной жидкости и в плазме крови почти не отличается (см. табл. 4). Основным

Таблица 4. Сравнительное содержание основных катионов и анионов внутри клетки и во внеклеточных жидкостях организма человека (заряды, %)

Ионы	Вне клетки		Внутри клетки
	в плазме	в межклеточной жидкости	
Катионы			
Na ⁺	92,7	94,0	7,5
K ⁺	3,0	2,7	75,0
Ca ²⁺	3,0	2,0	2,5
Mg ²⁺	1,3	1,3	15,0
Итого:	100	100	100
Анионы			
Cl ⁻	69,0	76,0	7,5
HCO ₃ ⁻	17,0	19,3	5,0
PO ₃ ²⁻	1,4	1,4	50,0
SO ₄ ²⁻	0,6	0,7	10,0
органических кислот	2,0	2,0	2,5
белков	10,0	0,6	25,0
Итого:	100	100	100

катионом во внеклеточной среде является ион Na⁺ (свыше 90% от общей концентрации всех катионов), а из анионов — ионы Cl⁻ и HCO₃⁻ (соответственно около 70 и 18%). Внутри клетки преобладают катион K⁺ (75%) и анион PO₃²⁻ (50%).

Для соблюдения правила электронейтральности не хватает некоторого количества неорганических анионов. Это компенсируется анионами органических кислот (молочной, лимонной и т. д.) и кислых белков, несущих отрицательные заряды. Вне клетки белки и органические кислоты компенсируют незначительную нехватку отрицательных зарядов, тогда как внутри клетки белки должны нейтрализовать примерно 25% положительных зарядов, создаваемых неорганическими катионами.

Для всех живых организмов характерна разница (градиент) концентраций основных неорганических ионов между внутриклеточным пространством и внеклеточной средой, которые разделены клеточной мембраной. Этот градиент существует только у живых организмов, после их гибели он исчезает.

Контакт между внутриклеточными и внеклеточными средами осуществляется через такую организованную структуру, как клеточная мембрана. Мембрана обладает избирательной проницаемостью по отношению к отдельным ионам и вообще непроницаема для таких крупных макромолекул, как белки, несущих довольно большой суммарный отрицательный заряд. Наличие полупроницаемой мембраны создает особые условия равновесия отдельных ионов по обе стороны мембраны. Этот тип равновесия называется *равновесием Доннана*. Оно возникает при наличии заряженных крупных коллоидных частиц с одной стороны мембраны.

Расчеты показывают, что градиент концентрации ионов по обе стороны мембраны создает в разных клетках потенциал порядка 60—80 мВ (милливольт). Внутренняя сторона клеточной мембраны относительно наружной заряжена отрицательно.

Все биоэлектрические и электрофизиологические явления связаны с разной проницаемостью мембраны для важнейших неорганических ионов — натрия, калия, кальция и хлора. Это позволяет использовать физико-химические свойства ионов в качестве инструмента для управления биоэлектрическими процессами. Биоэлектрический потенциал тем выше, чем больше содержание белка и его ионизация (отрицательный заряд) внутри клетки и концентрация катионов вне клетки (клеточная мембрана обладает низкой проницаемостью для Na^+ и K^+).

Живая клетка подчиняется *закону изоосмолярности*. В соответствии с ним во всех средах организма, между которыми есть свободный обмен водой, устанавливается одинаковое осмотическое давление. Если число ионов в какой-то среде возрастает, то вслед за ними устремляется вода, пока не установится новое равновесие и новый уровень осмотического давления.

Кроме того, в живых организмах широко используется способность неорганических катионов к комплексообразованию с биомолекулами. Ионы металлов взаимодействуют с анионными группами макромолекул (белков, нуклеиновых кислот). Катионы влияют или на конформацию этих молекул, или на их функцию. Иногда эта связь настолько прочна, что невозможно выделить ион металла без разрушения всей органической молекулы. Например, такова связь иона железа в кольце гема или металлов в белках — металлопротеидах.

Биологические функции неорганических ионов. Неорганические ионы в живой клетке выполняют различные биологические функции:

1) *биоэлектрическую*, связанную с возникновением разности потенциалов на клеточных мембранах. Это свойство ионов используется для регуляции функций особенно возбудимых клеток (нервных, мышечных) и для проведения нервных импульсов;

2) *осмотическую*, используемую для регуляции осмотического и гидроосмотического давления;

3) *структурную*, обусловленную комплексообразующими свойствами металлов. Ионы металлов входят в состав макромолекул (белков, нуклеиновых кислот, гема, хлорофилла и т. д.).

4) *регуляторную*, проявляющуюся в том, что ионы металлов, соединяясь с ферментами, оказывают влияние на их активность и регулируют скорость химических превращений в клетке. Это прямое регуляторное действие катионов. Косвенная регуляторная функция состоит в том, что ионы металлов необходимы для проявления действия другого регулятора, например гормона;

5) *транспортную*, основанную на участии некоторых металлов (в составе металлопротеидов) в переносе электронов или простых молекул. Например, катионы железа и меди входят в состав цитохромов, являющихся переносчиками электронов, а железо в составе гемоглобина связывает кислород и участвует в его переносе;

6) *энергетическую*, связанную с использованием неорганических фосфатных анионов в образовании АТФ из АДФ (АТФ — основной носитель энергии в живых системах);

7) *механическую*, или *опорную*. Например, катион кальция и анион фосфора входят в состав гидроксилapatита и фосфата кальция костей и определяют их механическую прочность.

8) *синтетическую*, связанную с использованием неорганических анионов для синтеза сложных молекул. Например, I^- участвует в синтезе иодтиронинов

в клетках щитовидной железы; анион SO_4^{2-} в синтезе эфиросерных соединений (при обезвреживании в организме природных и чужеродных веществ).

В биологических процессах возможна взаимозаменяемость некоторых катионов и анионов. Иногда ион какого-либо металла (обычно при его недостатке) может замещаться ионом другого металла, близким по физико-химическим свойствам и ионному радиусу. Например, натрий замещается литием; кальций — стронцием; молибден — ванадием; железо — кобальтом; иногда ионы магния — ионами марганца. Конечно, возможности замены ограничены, но о них следует помнить.

ГЛАВА 3. БЕЛКИ

1. Введение в химию белков

Белки, или протеины (от греч. *protos* — первый, важнейший), являются важнейшей составной частью клеток любого живого организма. Они не встречаются в неживой природе. Белкам принадлежит решающая роль во всех процессах жизнедеятельности.

Развитие представлений о белковых веществах

В 1728 г. Беккари выделил первое белковое вещество из пшеничной муки, названное «клейковинной». Он же показал его сходство с продуктами животного происхождения, например белком куриного яйца. Браконно (1820) открыл в продуктах гидролиза белков аминокислоту глицин. Это первая аминокислота, найденная непосредственно в белковых веществах (ранее открытые аспарагин и цистин были выделены из небелкового материала).

В 1838 г. после систематического изучения элементарного состава разных белков Мульдер предложил *теорию протеина* (универсальный принцип построения белковых веществ).

В 1888 г. А. Я. Данилевский выдвинул гипотезу строения белка, получившую название «теории элементарных рядов». Он первым предположил существование в белках связей — $\text{NH}-\text{CO}-$, как в биурете. В 1890 г. Гофмейстер впервые получил кристаллический белок — яичный альбумин.

В 1902 г. Фишер и Гофмейстер предложили *пептидную теорию строения белка*. В это же время Фишер с сотр. синтезировал в лаборатории первые пептиды.

В 1925—1930 гг. Сведберг сконструировал ультрацентрифугу и использовал ее для определения молекулярной массы выделяемых белков.

В 1951 г. Полинг и Кори разработали модель вторичной структуры белка, названной α -спиралью. В 1952 г. Линдерстрём-Ланг предположил существование трех уровней организации белковой молекулы: первичный, вторичный, третичный.

В 1953 г. Сенгер впервые расшифровал последовательность аминокислот в инсулине. В 1956 г. Мур и Стейн создали первый автоматический анализатор аминокислот. В 1958 г. Кендрью и в 1959 г. Перутц расшифровали трехмерные структуры белков — миоглобина и гемоглобина. В 1963 г. Цан синтезировал природный белок инсулин.

Содержание и распределение белков в организме

Белки составляют значительную часть тканей живого организма: до 25% сырой и до 45—50% сухой массы. В растениях белка значительно меньше, но даже небольшое количество белков в некоторых клетках не говорит о том, что их роль в жизнедеятельности невелика.

Распределение белков между субклеточными структурами неравномерно: больше всего их в клеточном соке (гяллоплазме). Содержание белков в органеллах определяется скорее размерами и количеством органелл в клетке.

**Примерное распределение белка (в % от общего белка клетки)
в субклеточных фракциях клеток печени**

Ядро	12,0
Митохондрии	20,0
Лизосомы	2,0
Микросомы	20,0
Пероксисомы	2,5
Плазматическая мембрана	1,5
Гиалоплазма (внутриклеточный сок)	40
Прочие частицы	2,0

Белок и его характерные признаки

Белками называются высокомолекулярные азотсодержащие органические вещества, состоящие из аминокислот, соединенных в цепи с помощью пептидных связей, и имеющие сложную структурную организацию.

Это определение объединяет характерные признаки белков, среди которых можно выделить следующие:

- 1) довольно постоянная доля азота (в среднем 16% от сухой массы);
- 2) наличие постоянных структурных звеньев — аминокислот;
- 3) пептидные связи между аминокислотами, с помощью которых они соединяются в полипептидные цепи;
- 4) большая молекулярная масса (от 4—5 тысяч до нескольких миллионов дальтонов);
- 5) сложная структурная организация полипептидной цепи, определяющая физико-химические и биологические свойства белков.

Элементный состав белков. Первый признак вытекает из элементного состава белков (в % от сухой массы белка):

Углерод	51—55	Водород	6—7
Кислород	21—23	Сера	0,3—2,5
Азот	15—18	Зола	0—0,5

В среднем для большинства белков растительного, животного и микробного происхождения доля азота в отличие от других элементов довольно постоянна — примерно 16%; на основании этого признака рассчитывают количество белка: массу азота, найденную при анализе, умножают на коэффициент 6,25 ($100 : 16 = 6,25$). Но для некоторых белков этот признак нетипичен. Например, в протаминах содержание азота достигает 30%, поэтому только по элементному составу нельзя точно отличить белок от других азотсодержащих веществ организма.

Структурные звенья, или мономеры, белков можно обнаружить после кислотного гидролиза. Этот прием наиболее часто используют для изучения состава белков. Мономерами белков являются α -аминокислоты L-ряда. Соединяются аминокислоты в цепь ковалентными *пептидными связями*.

Молекулярная масса белков. Важнейшим признаком белков является большая молекулярная масса. В зависимости от длины цепи все полипептиды условно можно разделить на пептиды (содержат от 2 до 10 аминокислот), полипептиды (от 10 до 40 аминокислот) и белки (свыше 40 аминокислот). Если принять среднюю молекулярную массу одной аминокислоты около 100, то молекулярная масса пептидов приближается к 1000, полипептидов — до

4000, а белков — от 4—5 тыс. до нескольких миллионов. Ниже приводится молекулярная масса некоторых белков.

Глюкагон	4000	Церуллоплазмин	160 000
Инсулин	6000	Фибриноген	341 000
Рибонуклеаза	13 700	Глутаматдегидрогеназа	1 000 000
Трипсин	23 800	Гемоцианин улитки	9 000 000

Сложная структурная организация белков. Некоторые природные полипептиды (состоящие, как правило, из одной аминокислоты) и искусственно полученные полипептиды имеют большую молекулярную массу, но отнести их к белкам нельзя. Отличить их от белков помогает такой уникальный признак, как способность белков к денатурации, т. е. потеря характерных физико-химических свойств и, главное, биологических функций, при действии веществ, не разрывающих пептидные связи. Способность к денатурации свидетельствует о сложной пространственной организации белковой молекулы, отсутствующей у обычных полипептидов.

2. Аминокислоты — структурные мономеры белков

Аминокислотами называются органические карбоновые кислоты, у которых как минимум один из атомов водорода углеводородной цепи замещен на аминогруппу. В зависимости от положения группы $-NH_2$ различают α , β , γ и т. д. L-аминокислоты. К настоящему времени в различных объектах живого мира найдено до 200 различных аминокислот. В организме человека содержится около 60 различных аминокислот и их производных, но не все они входят в состав белков.

Аминокислоты делятся на две группы: *протеиногенные* (входящие в состав белков) и *непротеиногенные* (не участвующие в образовании белков).

Среди протеиногенных аминокислот выделяют *главные* (их всего 20) и *редкие*. Редкие белковые аминокислоты (например, гидроксипролин, гидроксизин, аминолимонная кислота и др.) на самом деле являются производными тех же 20 аминокислот.

Остальные аминокислоты не участвуют в построении белков; они находятся в клетке либо в свободном виде (как продукты обмена), либо входят в состав других небелковых соединений. Например, аминокислоты орнитин и цитруллин являются промежуточными продуктами в образовании протеиногенной аминокислоты аргинина и участвуют в цикле синтеза мочевины; γ -аминомасляная кислота тоже находится в свободном виде и играет роль медиатора в передаче нервных импульсов; β -аланин входит в состав витамина — пантотеновой кислоты.

Непротеиногенные аминокислоты в отличие от протеиногенных более разнообразны, особенно те, которые содержатся в грибах, высших растениях. Протеиногенные аминокислоты участвуют в построении множества разных белков независимо от вида организма, а непротеиногенные аминокислоты могут быть даже токсичны для организма другого вида, т. е. ведут себя как обычные чужеродные вещества. Например, канаванин, дъенколевая кислота и β -цианоаланин, выделенные из растений, ядовиты для человека.

R-группа		Название	Обозначение
$\text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{C}-\text{C} \\ \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \text{O} \quad \text{OH} \end{array}$	Метионин (α -амино- γ -метилтио-масляная кислота)	Мет

в. Карбоксиаминокислоты (моноаминодикарбоновые кислоты)

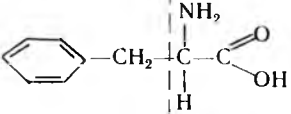
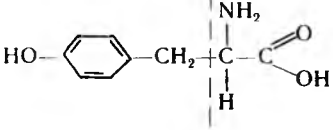
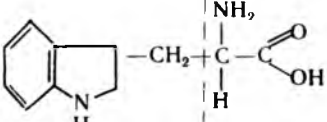
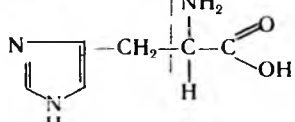
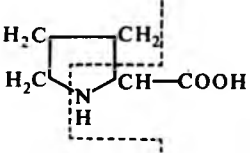
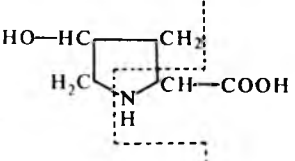
$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{NH}_2 \\ \parallel \quad \\ \text{C}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{HO} \quad \text{H} \quad \text{O} \quad \text{OH} \end{array}$	Аспарагиновая (аминоянтарная) кислота	Асп
$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{NH}_2 \\ \parallel \quad \\ \text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}-\text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{HO} \quad \text{H} \quad \text{O} \quad \text{OH} \end{array}$	Глутаминовая (α -аминоглутаровая) кислота	Глу
$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{NH}_2 \\ \parallel \quad \\ \text{C}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{H}_2\text{N} \quad \text{H} \quad \text{O} \quad \text{OH} \end{array}$	Аспарагин (γ -амид α -аминоянтарной кислоты)	Асп
$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{NH}_2 \\ \parallel \quad \\ \text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}-\text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{H}_2\text{N} \quad \text{H} \quad \text{O} \quad \text{OH} \end{array}$	Глутамин (δ -амид α -аминоглутаровой кислоты)	Глу

г. Диаминокислоты (диаминомонокарбоновые кислоты)

$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}-\text{C} \\ \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \text{O} \quad \text{OH} \end{array}$	Лизин (α, ϵ -диаминокапроновая кислота)	Лиз
---	--	-----

д. Гуанидиоаминокислоты

$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{NH}_2-\text{C}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}-\text{C} \\ \parallel \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{NH} \quad \text{H} \quad \text{O} \quad \text{OH} \end{array}$	Аргинин (α -амино- δ -гуанидиновалериановая кислота)	Арг
---	---	-----

R-группа		Название	Обозначение
II. Циклические аминокислоты			
1. Ароматические аминокислоты			
		Фенилаланин (α -амино- β -фенилпропионовая кислота)	Фен
		Тирозин (α -амино- β -гидроксифенилпропионовая кислота)	Тир
2. Гетероциклические аминокислоты			
		Триптофан (α -амино- β -индолилпропионовая кислота)	Трп или Три
		Гистидин (α -амино- β -имидазолпропионовая кислота)	Гис
3. Циклические иминокислоты			
		Пролин (пирролидин- α -карбоновая кислота)	Про
III. Редкие аминокислоты белков			
		Гидроксипролин (γ -гидрокси-пирролидин- α -карбоновая кислота)	Опр

R-группа	Название	Обозначение
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C} \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \text{OH} \qquad \qquad \qquad \text{NH}_2 \qquad \qquad \qquad \text{C}=\text{O} \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \text{H} \qquad \qquad \qquad \text{OH} \end{array}$	Гидроксилизин (α, ϵ -диамино- β -гидрооксикапроновая кислота)	—
$\begin{array}{c} \text{HO}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C} \\ \qquad \\ \text{O} \qquad \text{HO} \\ \text{HOOC} \qquad \\ \qquad \qquad \text{NH}_2 \\ \qquad \qquad \\ \qquad \qquad \text{H} \end{array}$	Аминолимонная (α -амино- β -гидрокси- β -карбоксиглутаровая) кислота	—

В зависимости от полярности радикала аминокислоты первых двух групп (кислые и основные) относятся к *полярным*, а аминокислоты третьей группы (нейтральные) — к *неполярным*, или *гидрофобным*.

По **биологическому, или физиологическому, значению** аминокислоты также подразделяются на три группы: незаменимые, полузаменимые и заменимые.

Незаменимые аминокислоты не могут синтезироваться организмом из других соединений, поэтому они обязательно должны поступать извне (с пищей). Абсолютно незаменимых аминокислот для человека восемь: из алифатических незамещенных — валин, лейцин, изолейцин; из алифатических замещенных — треонин, лизин, метионин, из ароматических — фенилаланин; из гетероциклических — триптофан.

Полузаменимые аминокислоты образуются в организме, но в недостаточном количестве, поэтому частично должны поступать с пищей. Для организма человека такими аминокислотами являются аргинин, тирозин, гистидин.

Заменимые аминокислоты синтезируются в организме в достаточных количествах из незаменимых аминокислот или других соединений. Организм может обходиться без них долгое время, если, конечно, с пищей поступают вещества, из которых эти аминокислоты могут быть синтезированы. К заменимым аминокислотам относятся остальные аминокислоты.

Приведенная физиологическая классификация аминокислот не универсальна в отличие от первых двух классификаций и до некоторой степени условна, поскольку действительна только для организмов данного вида. Однако абсолютная незаменимость восьми аминокислот универсальна для всех видов организмов (в табл. 6 приведены данные для некоторых представителей позвоночных и насекомых). Для крыс и мышей незаменимых аминокислот уже девять (к восьми известным добавляется гистидин). Нормальный рост и развитие курицы возможны только при наличии одиннадцати незаменимых аминокислот (добавляются гистидин, аргинин, тирозин), т. е. полузаменимые для человека аминокислоты абсолютно незаменимы для курицы. Для москитов глицин является абсолютно незаменимой, а тирозин, наоборот, заменимой аминокислотой.

Значит, для разных видов организмов возможны существенные отклонения в потребности в отдельных аминокислотах, что определяется особенностями их обмена.

Сложившийся для каждого вида организма состав незаменимых амино-

Таблица 6. Незаменимые (+) и заменимые (—) аминокислоты для некоторых позвоночных и насекомых (по Любке и др., 1975)

Аминокислоты	Человек	Крыса	Мышь	Курица	Лосось	Москит	Пчела
Глицин	—	—	—	±	—	+	—
Аланин	—	—	—	—	—	—	—
Валин	+	+	+	+	+	+	+
Лейцин	+	+	+	+	+	+	+
Изолейцин	+	+	+	+	+	+	+
Цистеин	—	—	—	—	—	—	—
Метионин	+	+	+	+	+	+	+
Серин	—	—	—	—	—	—	—
Треонин	+	+	+	+	+	+	+
Аспарагиновая кислота	—	—	—	—	—	—	—
Глутаминовая кислота	—	—	—	—	—	—	—
Лизин	+	+	+	+	+	+	+
Аргинин	±	±	±	+	+	+	+
Фенилаланин	+	+	+	+	+	+	+
Тирозин	±	±	±	+	—	—	—
Гистидин	±	+	+	+	+	+	+
Триптофан	+	+	+	+	+	+	+
Пролин	—	—	—	—	—	—	—

* ± — Полузаменимые аминокислоты.

кислот, или так называемая *ауксотрофность* организма в отношении аминокислот, отражает скорее всего стремление его к минимальным энергетическим затратам на синтез аминокислот. Действительно, выгоднее получать готовый продукт, чем производить его самому. Поэтому организмы, потребляющие незаменимые аминокислоты, тратят примерно на 20% энергии меньше, чем те, которые синтезируют все аминокислоты. С другой стороны, в ходе эволюции не сохранилось таких форм жизни, которые бы полностью зависели от поступления всех аминокислот извне. Им трудно было бы приспособливаться к изменениям внешней среды, учитывая, что аминокислоты являются материалом для синтеза такого вещества, как белок, без которого жизнь невозможна.

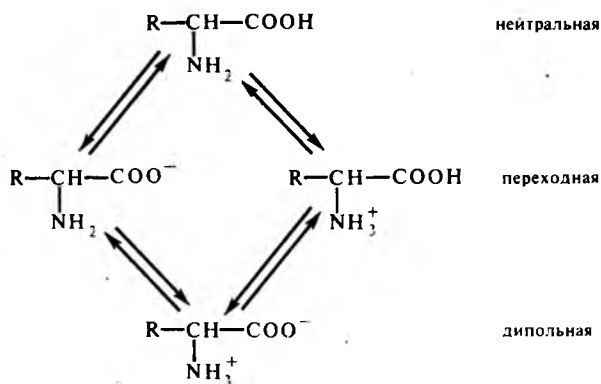
Физико-химические свойства аминокислот

Кислотно-основные свойства аминокислот. По химическим свойствам аминокислоты — амфотерные электролиты, т. е. сочетают свойства и кислот, и оснований. Кислотные группы аминокислот: карбоксильная ($-\text{COOH} \rightarrow -\text{COO}^- + \text{H}^+$), протонированная α -аминогруппа ($-\text{NH}_3^+ \rightarrow -\text{NH}_2 + \text{H}^+$).

Основные группы аминокислот: диссоциированная карбоксильная ($-\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow -\text{COOH}$) и α -аминогруппа ($-\text{NH}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{NH}_3^+$).

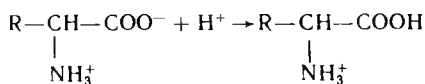
Для каждой аминокислоты $\text{R}-\overset{\text{NH}_2}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{COOH}$ имеется как минимум две константы кислотной диссоциации pK_a — одна для группы $-\text{COOH}$, а вторая для α -аминогруппы.

В водном растворе возможно существование трех форм аминокислот:

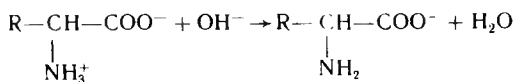


Доказано, что в водных растворах аминокислоты находятся в виде диполя, или *цвиттер-иона*.

Влияние pH среды на ионизацию аминокислот. Изменение pH среды от кислой до щелочной влияет на заряд растворенных аминокислот. В кислой среде (pH < 7) все аминокислоты несут положительный заряд (существуют в виде катиона), так как избыток протонов в среде подавляет диссоциацию карбоксильной группы:



В кислой среде аминокислоты в электрическом поле движутся к катоду. В щелочной среде (pH > 7), где имеется избыток ионов OH⁻, аминокислоты находятся в виде отрицательно заряженных ионов (анионов), так как диссоциирует NH₃⁺ группа:



В этом случае аминокислоты перемещаются в электрическом поле к аноду.

Следовательно, в зависимости от pH среды аминокислоты имеют суммарный нулевой, положительный или отрицательный заряд.

Состояние, в котором заряд аминокислоты равен нулю, называется *изоэлектрическим*. Значение pH, при котором наступает такое состояние и аминокислота не перемещается в электрическом поле ни к аноду, ни к катоду, называется *изоэлектрической точкой* и обозначается pI. Изоэлектрическая точка очень точно отражает кислотно-основные свойства разных групп в аминокислотах и является одной из важных констант, характеризующих аминокислоту.

Изоэлектрическая точка неполярных (гидрофобных) аминокислот приближается к нейтральному значению pH (от 5,5 для фенилаланина до 6,3 для пролина), у кислых она имеет низкие значения (для глутаминовой кислоты 3,2, для аспарагиновой 2,8). Изоэлектрическая точка для цистеина и цистина равна 5,0, что указывает на слабые кислотные свойства этих аминокислот.

У основных аминокислот — гистидина и особенно лизина и аргинина — изоэлектрическая точка значительно выше 7.

В клетках и межклеточной жидкости организма человека и животных рН среды близка к нейтральной, поэтому основные аминокислоты (лизин, аргинин) несут суммарный положительный заряд (катионы), кислые аминокислоты (аспарагиновая и глутаминовая) имеют отрицательный заряд (анионы), а остальные существуют в виде диполя. Кислые и основные аминокислоты больше гидратированы, чем все остальные аминокислоты.

Стереизомерия аминокислот

Все протеиногенные аминокислоты, за исключением глицина, имеют как минимум один асимметрический атом углерода (С*) и обладают оптической активностью; причем бóльшая часть их относится к левовращающим. Они существуют в виде пространственных изомеров, или стереоизомеров. По расположению заместителей вокруг асимметрического атома углерода стереоизомеры относят к L- или D-ряду.

L- и D-изомеры относятся друг к другу как предмет и его зеркальное изображение, поэтому их называют также *зеркальными изомерами* или *энантиомерами*. Аминокислоты треонин и изолейцин имеют по два асимметрических атома углерода, поэтому у них по четыре стереоизомера. Например, у треонина, помимо L- и D-треонина, имеется еще два, которые называют *диастереомерами* или *аллоформами*: L-аллотреонин и D-аллотреонин.

Все аминокислоты, входящие в состав белков, относятся к L-ряду. Считалось, что D-аминокислоты не встречаются в живой природе. Однако были найдены полипептиды в виде полимеров D-глутаминовой кислоты в капсулах спороносных бактерий (палочке сибирской язвы, картофельной и сенной палочке); D-глутаминовая кислота и D-аланин входят в состав мукопептидов клеточной стенки некоторых бактерий. D-Аминокислоты обнаружены также в антибиотиках, продуцируемых микроорганизмами (см. табл. 7).

Таблица 7. Некоторые D-аминокислоты, встречающиеся в природных полипептидах

Аминокислота	Объект
D-Аланин	Пептиды клеточной стенки <i>Lactobacillus arabinosus</i>
D-Глутаминовая кислота	Там же и в пептидах капсулы <i>B. anthracis</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. mesentericus subtilis</i>
D-Валин	Грамицидины, актиномицин С
Г Лейцин	Грамицидин А, полимиксины, этамицин
D Изолейцин	Бацитрацин
D-Фенилаланин	Грамицидин S, тироцидин
D-Серин	Полимиксин D
D-Аллогидроксипролин	Этамицин

Возможно, D-аминокислоты оказались более пригодными для защитных функций организмов (именно этой цели служат и капсула бактерий, и антибиотики), в то время как L-аминокислоты нужны организму для построения белков.

При образовании пептидных связей в клетках сначала активируется карбоксильная группа одной аминокислоты, а затем она соединяется с аминогруппой другой. Примерно так же проводят лабораторный синтез полипептидов.

Пептидная связь является повторяющимся фрагментом полипептидной цепи. Она имеет ряд особенностей, которые влияют не только на форму первичной структуры, но и на высшие уровни организации полипептидной цепи:

1) *копланарность* — все атомы, входящие в пептидную группу, находятся в одной плоскости;

2) способность существовать в двух *резонансных формах* (кето- или энольной форме);

3) *транс-положение* заместителей по отношению к С—N-связи;

4) способность к образованию *водородных связей*, причем каждая из пептидных групп может образовывать две водородные связи с другими группами, в том числе и пептидными.

Исключение составляют пептидные группы с участием аминогруппы пролина или гидроксипролина. Они способны образовывать только одну водородную связь (см. выше). Это сказывается на формировании вторичной структуры белка. Полипептидная цепь на участке, где находится пролин или гидроксипролин, легко изгибается, так как не удерживается, как обычно, второй водородной связью.

Номенклатура пептидов и полипептидов. Название пептидов складывается из названий входящих в них аминокислот. Две аминокислоты дают дипептид, три — трипептид, четыре — тетрапептид и т. д. Каждый пептид или полипептидная цепь любой длины имеет N-концевую аминокислоту, содержащую свободную аминогруппу, и С-концевую аминокислоту, содержащую свободную карбоксильную группу. Называя полипептиды, перечисляют последовательно все аминокислоты, начиная с N-концевой, заменяя в их названиях, кроме С-концевой, суффикс *-ин* на *-ил* (так как аминокислоты в пептидах имеют уже не карбоксильную группу, а карбонильную). Например, название изображенного на рис. 2 трипептида — лейцилфенилаланилтреонин.

Особенности первичной структуры белка. В остоле полипептидной цепи чередуются жесткие структуры (плоские пептидные группы) с относительно подвижными участками (—CHR), которые способны вращаться вокруг связей

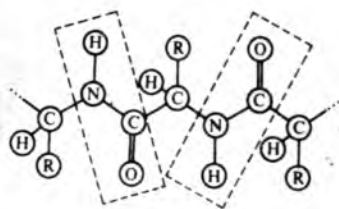
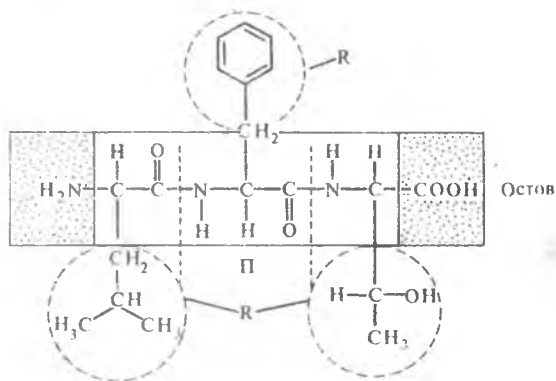


Рис. 2. Схема строения трипептида

Такие особенности строения полипептидной цепи влияют на укладку ее в пространстве.

Вторичная структура белка

Вторичная структура представляет собой способ укладки полипептидной цепи в упорядоченную структуру благодаря образованию водородных связей между пептидными группами одной цепи или смежными полипептидными цепями. По конфигурации вторичные структуры делятся на *спиральные* (α -спираль) и *слоисто-складчатые* (β -структура и кросс- β -форма).

α -Спираль. Это разновидность вторичной структуры белка, имеющая вид регулярной спирали, образующейся благодаря межпептидным водородным связям в пределах одной полипептидной цепи. Модель строения α -спирали (рис. 3), учитывающая все свойства пептидной связи, была предложена Полингом и Кори.

Основные особенности α -спирали:

1) спиральная конфигурация полипептидной цепи, имеющая винтовую симметрию;

2) образование водородных связей между пептидными группами каждого первого и четвертого аминокислотных остатков;

3) регулярность витков спирали;

4) равнозначность всех аминокислотных остатков в α -спирали независимо от строения их боковых радикалов;

5) боковые радикалы аминокислот не участвуют в образовании α -спирали.

Внешне α -спираль похожа на слегка растянутую спираль электрической плитки. Регулярность водородных связей между первой и четвертой пептидными группами определяет и регулярность витков полипептидной цепи. Высота одного витка, или шаг α -спирали, равна 0,54 нм; в него входит 3,6 аминокислотных остатка, т. е. каждый аминокислотный остаток перемещается вдоль оси (высота одного аминокислотного остатка) на 0,15 нм ($0,54 : 3,6 = 0,15$ нм), что и позволяет говорить о равнозначности всех аминокислотных остатков в α -спирали. *Период регулярности* α -спирали равен 5 виткам или 18 аминокислотным остаткам; длина одного периода составляет 2,7 нм.

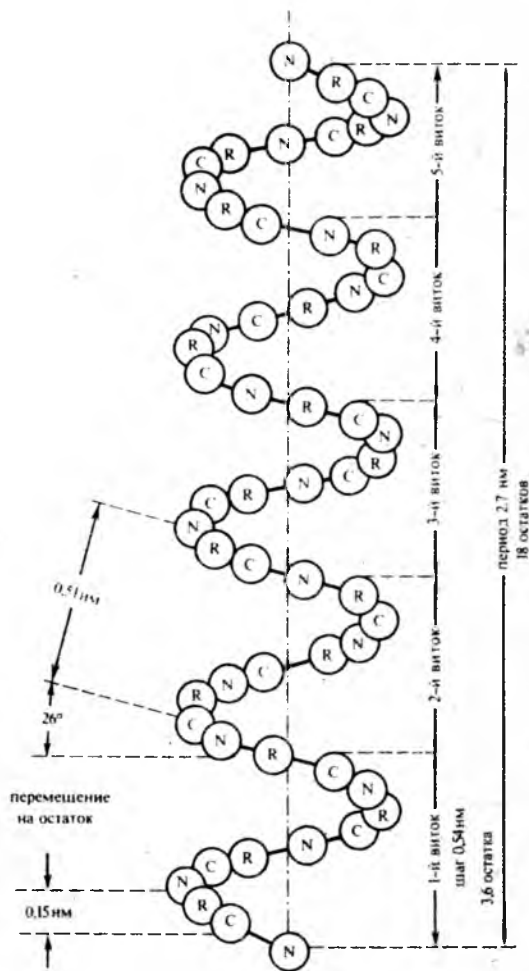


Рис. 3. Модель α -спирали Полинга—Кори

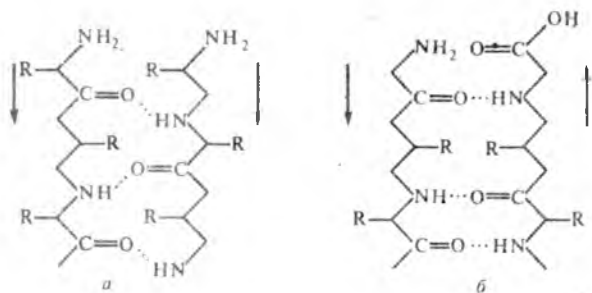


Рис. 4. Схематическое изображение β-структур: а — параллельные цепи; б — антипараллельные цепи

разуемые одной полипептидной цепью белка, называют *кросс-β-формой* (короткая β-структура). Водородные связи в кросс-β-форме образуются между пептидными группами петель полипептидной цепи. Другой тип — *полная β-структура* — характерен для всей полипептидной цепочки, которая имеет вытянутую форму и удерживается межпептидными водородными связями между смежными параллельными полипептидными цепями (рис. 4). Эта структура напоминает меха аккордеона. Причем возможны варианты β-структур: они могут быть образованы параллельными и цепями (N-концы полипептидных цепей направлены в одну и ту же сторону) и антипараллельными (N-концы направлены в разные стороны). Боковые радикалы одного слоя помещаются между боковыми радикалами другого слоя.

В белках возможны переходы от α-структур к β-структурам и обратно вследствие перестройки водородных связей. Вместо регулярных межпептидных водородных связей вдоль цепи (благодаря им полипептидная цепь скручивается в спираль) происходит раскручивание спирализованных участков и замыкание водородных связей между вытянутыми фрагментами полипептидных цепей. Такой переход обнаружен в кератине — белке волос. При мытье волос щелочными моющими средствами легко разрушается спиральная структура β-кератина и он переходит в α-кератин (вьющиеся волосы распрямляются).

Разрушение регулярных вторичных структур белков (α-спирали и β-структур) по аналогии с плавлением кристалла называют «плавлением» полипептидов. При этом водородные связи рвутся, и полипептидные цепи принимают форму беспорядочного клубка. Следовательно, стабильность вторичных структур определяется межпептидными водородными связями. Остальные типы связей почти не принимают в этом участия, за исключением дисульфидных связей вдоль полипептидной цепи в местах расположения остатков цистеина. Короткие пептиды благодаря дисульфидным связям замыкаются в циклы.

Во многих белках одновременно имеются α-спиральные участки и β-структуры. Природных белков, состоящих на 100% из α-спирали, почти не бывает (исключение составляет парамиозин — мышечный белок, на 96—100% представляющий собой α-спираль), тогда как у синтетических полипептидов 100%-ная спирализация.

Другие белки имеют неодинаковую степень спирализации. Высокая частота α-спиральных структур наблюдается у парамиозина, миоглобина, гемогло-

β-Структура. Это разновидность вторичной структуры, которая имеет слабо изогнутую конфигурацию полипептидной цепи и формируется с помощью межпептидных водородных связей в пределах отдельных участков одной полипептидной цепи или смежных полипептидных цепей. Ее называют также *слоисто-складчатой структурой*. Имеются разновидности β-структур. Ограниченные слоистые участки, обра-

бина. Напротив, у трипсина, рибонуклеазы значительная часть полипептидной цепи укладывается в слоистые β -структуры. Белки опорных тканей: кератин (белок волос, шерсти), коллаген (белок сухожилий, кожи), фиброин (белок натурального шелка) имеют β -конфигурацию полипептидных цепей.

Разная степень спирализации полипептидных цепей белков говорит о том, что, очевидно, имеются силы, частично нарушающие спирализацию или «ломающие» регулярную укладку полипептидной цепи. Причиной этого является более компактная укладка полипептидной цепи белка в определенном объеме, т. е. в третичную структуру.

Третичная структура белка

Третичной структурой белка называется способ укладки полипептидной цепи в пространстве. По форме третичной структуры белки делятся в основном на *глобулярные* и *фибриллярные*. Глобулярные белки чаще всего имеют эллипсоидную форму, а фибриллярные (нитевидные) белки — вытянутую (форма палочки, веретена).

Однако конфигурация третичной структуры белков еще не дает основания думать, что фибриллярные белки имеют только β -структуру, а глобулярные α -спиральные. Есть фибриллярные белки, имеющие спиральную, а не слоистоскладчатую вторичную структуру. Например, α -кератин и парамиозин (белок запирательной мышцы моллюсков), тропомиозины (белки скелетных мышц) относятся к фибриллярным белкам (имеют палочковидную форму), а вторичная структура у них — α -спираль; напротив, в глобулярных белках может быть большое количество β -структур.

Спирализация линейной полипептидной цепи уменьшает ее размеры примерно в 4 раза; а укладка в третичную структуру делает ее в десятки раз более компактной, чем исходная цепь.

Связи, стабилизирующие третичную структуру белка. В стабилизации третичной структуры играют роль связи между боковыми радикалами аминокислот. Эти связи можно разделить на сильные (ковалентные) и слабые (полярные, ван-дер-ваальсовы).

К ковалентным связям относятся *дисульфидные связи* ($—S—S—$) между боковыми радикалами цистеинов, находящихся в разных участках полипептидной цепи; *изопептидные*, или *псевдопептидные*, — между аминокислотными группами боковых радикалов лизина, аргинина, а не α -аминогруппами, и $COOH$ -группами боковых радикалов аспарагиновой, глутаминовой и аминокислот, а не α -карбоксыльными группами аминокислот. Отсюда и название этого типа связи — подобная пептидной. Редко встречается *эфирная связь*, образуемая $COOH$ -группой дикарбоновых аминокислот (аспарагиновой, глутаминовой) и OH -группой гидроксиаминокислот (серина, треонина).

К полярным связям относятся водородные и ионные. *Водородные связи*, как обычно, возникают между группой $—NH_2$, $—OH$ или $—SH$ бокового радикала одной аминокислоты и карбоксильной группой другой. *Ионные*, или *электростатические*, связи образуются при контакте заряженных групп боковых радикалов $—NH_3^+$ (лизина, аргинина, гистидина) и $—COO^-$ (аспарагиновой и глутаминовой кислот).

Неполярные, или ван-дер-ваальсовы, связи образуются между углеводородными радикалами аминокислот. Гидрофобные радикалы

аминокислот аланина, валина, изолейцина, метионина, фенилаланина в водной среде взаимодействуют друг с другом. Слабые ван-дер-ваальсовы связи способствуют формированию гидрофобного ядра из неполярных радикалов внутри белковой глобулы. Чем больше неполярных аминокислот, тем большую роль в укладке полипептидной цепи играют ван-дер-ваальсовы связи.

Многочисленные связи между боковыми радикалами аминокислот определяют пространственную конфигурацию белковой молекулы.

Особенности организации третичной структуры белка. Конформация третичной структуры полипептидной цепи определяется свойствами боковых радикалов входящих в нее аминокислот (которые не оказывают заметного влияния на формирование первичной и вторичной структур) и микроокружением, т. е. средой. При укладке полипептидная цепь белка стремится принять энергетически выгодную форму, характеризующуюся минимумом свободной энергии. Поэтому неполярные R-группы, «избегая» воды, образуют как бы внутреннюю часть третичной структуры белка, где расположена основная часть гидрофобных остатков полипептидной цепи. В центре белковой глобулы почти нет молекул воды. Полярные (гидрофильные) R-группы аминокислоты располагаются снаружи этого гидрофобного ядра и окружены молекулами воды. Полипептидная цепь причудливо изгибается в трехмерном пространстве. При ее изгибах нарушается вторичная спиральная конформация. «Ломается» цепь в слабых точках, где находятся пролин или гидроксипролин, поскольку эти аминокислоты более подвижны в цепи, образуя только одну водородную связь с другими пептидными группами. Другим местом изгиба является глицин, R-группа которого мала (водород). Поэтому R-группы других аминокислот при укладке стремятся занять свободное пространство в месте нахождения глицина. Ряд аминокислот — аланин, лейцин, глутамат, гистидин — способствуют сохранению устойчивых спиральных структур в белке, а такие, как метионин, валин, изолейцин, аспарагиновая кислота, благоприятствуют образованию β -структур. В молекуле белка с третичной конфигурацией встречаются участки в виде α -спиралей (спирализованные), β -структур (слоистые) и беспорядочного клубка. Только правильная пространственная укладка белка делает его активным; нарушение ее приводит к изменению свойств белка и потере биологической активности.

Четвертичная структура белка

Белки, состоящие из одной полипептидной цепи, имеют только третичную структуру. К ним относятся миоглобин — белок мышечной ткани, участвующий в связывании кислорода, ряд ферментов (лизоцим, пепсин, трипсин и т. д.). Однако некоторые белки построены из нескольких полипептидных цепей, каждая из которых имеет третичную структуру. Для таких белков введено понятие *четвертичной структуры*, которая представляет собой организацию нескольких полипептидных цепей с третичной структурой в единую функциональную молекулу белка. Такой белок с четвертичной структурой называется *олигомером*, а его полипептидные цепи с третичной структурой — *протомерами* или *субъединицами* (рис. 5).

При четвертичном уровне организации белки сохраняют основную конфигурацию третичной структуры (глобулярную или фибриллярную). Например, гемоглобин — белок, имеющий четвертичную структуру, состоит из четырех

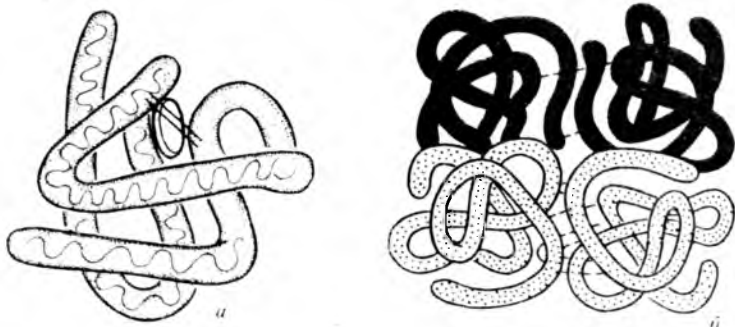


Рис. 5. Схема третичной (а) и четвертичной (б) структуры белка

субъединиц. Каждая из субъединиц — глобулярный белок и в целом гемоглобин тоже имеет глобулярную конфигурацию. Белки волос и шерсти — кератины, относящиеся по третичной структуре к фибриллярным белкам, имеют фибриллярную конформацию и четвертичной структуры.

Стабилизация четвертичной структуры белков. Все белки, у которых обнаружена четвертичная структура, выделены в виде индивидуальных макромолекул, не распадающихся на субъединицы. Контакты между поверхностями субъединиц возможны только за счет полярных групп аминокислотных остатков, поскольку при формировании третичной структуры каждой из полипептидных цепей боковые радикалы неполярных аминокислот (составляющих большую часть всех протеиногенных аминокислот) спрятаны внутри субъединицы. Между их полярными группами образуются многочисленные ионные (солевые), водородные, а в некоторых случаях и дисульфидные связи, которые прочно удерживают субъединицы в виде организованного комплекса. Применение веществ, разрывающих водородные связи, или веществ, восстанавливающих дисульфидные мостики, вызывает дезагрегацию протомеров и разрушение четвертичной структуры белка. В табл. 8 суммированы данные о связях, стабилизирующих разные уровни организации белковой молекулы.

Особенности структурной организации некоторых фибриллярных белков

Структурная организация фибриллярных белков имеет ряд особенностей по сравнению с глобулярными белками. Эти особенности можно проследить на примере кератина, фиброина и коллагена. Кератины существуют в α - и β -конформациях. α -Кератины и фиброин имеют слоисто-складчатую вторичную структуру, однако в кератине цепи параллельны, а в фиброине антипараллельны (см. рис. 4); кроме того, в кератине имеются межцепочечные дисульфидные связи, а у фиброина они отсутствуют. Разрыв дисульфидных связей приводит к разъединению полипептидных цепей в кератинах. Напротив, образование максимального числа дисульфидных связей в кератинах путем воздействия окислителей создает прочную пространственную структуру.

Вообще у фибриллярных белков в отличие от глобулярных порой трудно строго разграничить разные уровни организации. Если принять (как для глобулярного белка), что третичная структура должна образовываться путем укладки в пространстве одной полипептидной цепи, а четвертичная — не-

Таблица 8. Характеристика связей, участвующих в структурной организации белков

Уровень организации	Типы связей (по прочности)	Разновидность связи
Первичная (линейная полипептидная цепь)	Ковалентные (сильные)	Пептидная — между α -амино- и α -карбоксильными группами аминокислот
Вторичная (α -спираль, β -структуры)	Слабые	Водородные — между пептидными группами (каждой первой и четвертой) одной полипептидной цепи или между пептидными группами смежных полипептидных цепей
	Ковалентные (сильные)	Дисульфидные — дисульфидные петли в пределах линейного участка полипептидной цепи
Третичная (глобулярная, фибриллярная)	Ковалентные (сильные)	Дисульфидные, изопептидные, сложноефирные — между боковыми радикалами аминокислот разных участков полипептидной цепи
	Слабые	Водородные — между боковыми радикалами аминокислот разных участков полипептидной цепи Ионные (солевые) — между противоположно заряженными группами боковых радикалов аминокислот полипептидной цепи Ван-дер-ваальсовы — между неполярными боковыми радикалами аминокислот полипептидной цепи
Четвертичная (глобулярная, фибриллярная)	Слабые	Ионные — между противоположно заряженными группами боковых радикалов аминокислот каждой из субъединиц Водородные — между боковыми радикалами аминокислотных остатков, расположенными на поверхности контактирующих участков субъединиц
	Ковалентные (сильные)	Дисульфидные — между остатками цистеина каждой из контактирующих поверхностей разных субъединиц

скольких цепей, то в фибриллярных белках уже при формировании вторичной структуры участвует несколько полипептидных цепей. Типичным примером фибриллярного белка является коллаген, который относится к самым распространенным белкам организма человека (около $1/3$ от массы всех белков). Он содержится в тканях, обладающих высокой прочностью и малой растяжимостью (кости, сухожилия, кожа, зубы и т. д.). В коллагене треть аминокислотных остатков приходится на глицин, а около четверти или чуть более — на пролин или гидроксипролин.

Изолированная полипептидная цепь коллагена (первичная структура) похожа на ломаную линию. Она содержит около 1000 аминокислот и имеет молекулярную массу порядка 10^5 (рис. 6, а, б). Полипептидная цепь построена из повторяющейся тройки аминокислот (триплет) следующего состава: гли—А—В, где А и В — любые, кроме глицина, аминокислоты (чаще всего пролин и гидроксипролин). Полипептидные цепи коллагена (или α -цепи) при формировании вторичной и третичной структур (рис. 6, в и г) не могут давать типичных α -спиралей, имеющих винтовую симметрию. Этому мешают пролин, гидроксипролин и глицин (антиспиральные аминокислоты). Поэтому три α -цепи образуют как бы скрученные спирали подобно трем нитям, обвивающим цилиндр. Три спиральные α -цепи формируют повторяющуюся структуру коллагена, которая называется *тропоколлагеном* (рис. 6, г). Тропоколлаген по своей

организации является третичной структурой коллагена. Плоские кольца пролина и оксипролина, регулярно чередующиеся вдоль цепи, придают ей жесткость, как и межцепочечные связи между α -цепями тропоколлагена (поэтому коллаген устойчив к растяжению). Тропоколлаген является, по существу, субъединицей фибрилл коллагена. Укладка тропоколлагеновых субъединиц в четвертичную структуру коллагена происходит ступенеобразно (рис. 6, *д*).

Стабилизация структур коллагена происходит за счет межцепочечных водородных, ионных и ван-дер-ваальсовых связей и небольшого количества ковалентных связей.

α -Цепи коллагена имеют разное химическое строение. Различают $\alpha 1$ -цепи разных видов (I, II, III, IV) и $\alpha 2$ -цепи. В зависимости от того, какие $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -цепи участвуют в образовании трехцепочечной спирали тропоколлагена, различают четыре типа коллагена: первый тип — две $\alpha 1$ (I) и одна $\alpha 2$ -цепи; второй тип — три $\alpha 1$ (II)-цепи; третий тип — три $\alpha 1$ (III)-цепи; четвертый тип — три $\alpha 1$ (IV)-цепи. Наиболее распространен коллаген первого типа: он содержится в костной ткани, коже, сухожилиях; коллаген второго типа содержится в хрящевой ткани и т. д. В одном виде ткани могут быть разные типы коллагена.

Упорядоченная агрегация коллагеновых структур, их жесткость и инертность обеспечивают высокую прочность коллагеновых волокон. Коллагеновые белки содержат также углеводные компоненты, т. е. являются белок-углеводными комплексами.

Коллаген — внеклеточный белок, который образуется клетками соединительной ткани, входящей во все органы. Поэтому с повреждением коллагена (или нарушением его образования) возникают множественные нарушения опорных функций соединительной ткани органов.

4. Физико-химические свойства белков

Аминокислотный состав и пространственная организация каждого белка определяют его физико-химические свойства. Белки обладают кислотно-основными, буферными, коллоидными и осмотическими свойствами.

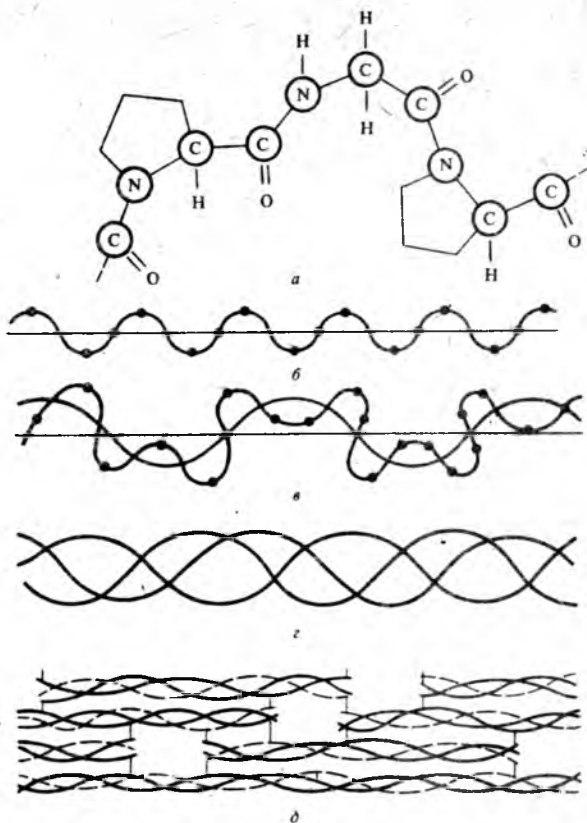


Рис. 6. Схема структурной организации коллагена (по Уайту и др.)

Белки как амфотерные макромолекулы

Белки являются амфотерными полиэлектролитами, т. е. сочетают в себе, подобно аминокислотам, кислотные и основные свойства. Однако природа групп, придающих амфотерные свойства белкам, далеко не та же, что у аминокислот. Кисотно-основные свойства аминокислот обусловлены прежде всего наличием α -амино- и α -карбоксильной групп (кисотно-основная пара). В молекулах белков эти группы участвуют в образовании пептидных связей, а амфотерность белкам придают кислотно-основные группы боковых радикалов аминокислот; входящих в белок. Разумеется, в каждой молекуле нативного белка (полипептидной цепи) имеется как минимум по одной концевой α -амино- и α -карбоксильной группе (если у белка только третичная структура). У белка с четвертичной структурой число концевых групп $-\text{NH}_2$ и $-\text{COOH}$ равно числу субъединиц, или протомеров. Однако столь незначительное число этих групп не может объяснить амфотерность макромолекул белка. Поскольку большая часть полярных групп находится на поверхности глобулярных белков, то именно они определяют кислотно-основные свойства и заряд белковой молекулы. Кислотные свойства белку придают кислые аминокислоты (аспарагиновая, глутаминовая и амилолимонная), а щелочные свойства — основные аминокислоты (лизин, аргинин, гистидин). Чем больше кислых аминокислот содержится в белке, тем ярче выражены его кислотные свойства, и чем больше входит в состав белка основных аминокислот, тем сильнее проявляются его основные свойства. Слабая диссоциация SH-группы цистеина и фенольной группы тирозина (их можно рассматривать как слабые кислоты) почти не влияет на амфотерность белков.

Буферные свойства. Белки хотя и обладают свойствами буфера, но емкость их при физиологических значениях pH ограничена. Исключение составляют белки, содержащие много гистидина, так как только боковая группа гистидина обладает буферными свойствами в интервале значений pH, близких к физиологическим. Таких белков очень мало. Гемоглобин чуть ли не единственный белок, содержащий до 8% гистидина, является мощным внутриклеточным буфером в эритроцитах, поддерживая pH крови на постоянном уровне.

Заряд белковой молекулы зависит от содержания в ней кислых и основных аминокислот, а точнее, от ионизации кислых и основных групп бокового радикала этих аминокислот. Диссоциация COOH-групп кислых аминокислот вызывает появление отрицательного заряда на поверхности белка, а боковые радикалы щелочных аминокислот несут положительный заряд (за счет присоединения H^+ к основным группам). В нативной молекуле белка заряды распределяются асимметрично в зависимости от укладки полипептидной цепи в пространстве. Если в белке кислые аминокислоты преобладают над основными, то в целом молекула белка электроотрицательна, т. е. является полианионом, и наоборот, если преобладают основные аминокислоты, то она заряжена положительно, т. е. ведет себя как поликатион.

Суммарный заряд белковой молекулы, естественно, зависит от pH среды: в кислой среде он положителен, в щелочной отрицателен. То значение pH, при котором белок имеет суммарный нулевой заряд, называется *изоэлектрической точкой* данного белка. В этой точке белок не обладает подвижностью в электрическом поле. Изоэлектрическая точка каждого белка определяется соотношением кислых и основных групп боковых радикалов аминокислот:

чем выше соотношение кислые/основные аминокислоты в белке, тем ниже его изоэлектрическая точка. У кислых белков $pH_i < 7$, у нейтральных pH_i около 7, а у основных $pH_i \gg 7$. При значениях pH среды ниже его изоэлектрической точки белок будет нести положительный заряд, а выше — отрицательный заряд. Усредненная изоэлектрическая точка всех белков цитоплазмы лежит в пределах 5,5. Следовательно, при физиологическом значении pH (около 7,0—7,4) клеточные белки имеют общий отрицательный заряд. Избыток отрицательных зарядов белков внутри клетки уравнивается, как уже говорилось, неорганическими катионами.

Знание изоэлектрической точки очень важно для понимания стабильности белков в растворах, так как в изоэлектрическом состоянии белки наименее устойчивы. Незаряженные частицы белка могут слипаться друг с другом и выпадать в осадок.

Коллоидные и осмотические свойства белков

Поведение белков в растворах имеет некоторые особенности. Обычные коллоидные растворы устойчивы только в присутствии стабилизатора, который препятствует осаждению коллоидов, располагаясь на границе раздела «растворенное вещество — растворитель».

Водные растворы белков являются устойчивыми и равновесными, они со временем не выпадают в осадок (не коагулируют) и не требуют присутствия стабилизаторов. Белковые растворы гомогенны и, в сущности, их можно отнести к истинным растворам. Однако высокая молекулярная масса белков придает их растворам многие свойства коллоидных систем:

- 1) характерные оптические свойства (опалесценция растворов и способность их рассеивать лучи видимого света);
- 2) малая скорость диффузии;
- 3) неспособность проникать через полупроницаемые мембраны;
- 4) высокая вязкость растворов;
- 5) способность к образованию гелей.

Оптические свойства белков. Растворы белков, особенно концентрированные, обладают характерной опалесценцией. При боковом освещении раствора белка лучи света в нем становятся видимыми и образуют светящийся конус или полосу — эффект Тиндаля (в сильно разбавленных растворах белка не видна опалесценция и почти отсутствует светящийся конус Тиндаля). Объясняется этот светорассеивающий эффект дифракцией лучей света частицами белка в растворе. Считается, что в протоплазме клетки белок находится в виде коллоидного раствора — золя. Способность белков и других биологических молекул (нуклеиновых кислот, полисахаридов и т. д.) рассеивать свет используется при микроскопическом изучении клеточных структур: в темном поле микроскопа коллоидные частицы видны как светлые вкрапления в цитоплазме.

Светорассеивающую способность белков и других высокомолекулярных веществ используют для их количественного определения *методом нефелометрии*, сравнивая интенсивность светорассеивания взвешенными частицами исследуемого и стандартного золя.

Малая скорость диффузии. Диффузией называется самопроизвольное перемещение молекул растворенных веществ вследствие градиента concentra-

ций (от зон с высокой концентрацией к зонам с низкой концентрацией). Белки имеют ограниченную скорость диффузии в сравнении с обычными молекулами и ионами, которые перемещаются в сотни и тысячи раз быстрее, чем белки. Скорость диффузии белков больше зависит от формы их молекул, чем от молекулярной массы. Глобулярные белки в водных растворах подвижнее фибриллярных белков.

Диффузия белков имеет важное значение для нормального функционирования клетки. Синтез белков в любом участке клетки (там, где имеются рибосомы) мог бы привести при отсутствии диффузии к скоплению белков в месте их образования. Внутриклеточное распределение белков происходит путем диффузии. Поскольку скорость диффузии белков невысока, она ограничивает скорость процессов, зависящих от функции диффундирующего белка в соответствующем участке клетки.

Осмотические свойства белков. Белки из-за высокой молекулярной массы не могут диффундировать через полупроницаемую мембрану, тогда как низкомолекулярные вещества легко проходят через такие мембраны. Это свойство белков используют в практике для очистки их растворов от низкомолекулярных примесей. Такой процесс называется *диализом*.

Неспособность белков диффундировать через полупроницаемые мембраны вызывает явление *осмоса*, т. е. перемещение молекул воды через полупроницаемую мембрану в раствор белка. Если раствор белка отделить от воды целлофановой мембраной, то, стремясь к достижению равновесия, молекулы воды диффундируют в раствор белка. Однако перемещение воды в пространство, где находится белок, превышает в нем гидростатическое давление (давление столба воды), которое препятствует дальнейшей диффузии молекул воды к белку.

То давление, или сила, которое следует приложить, чтобы остановить осмотический ток воды, называется *осмотическим давлением*. Осмотическое давление в очень разбавленных растворах белка пропорционально молярной концентрации белка и абсолютной температуре.

Биологические мембраны также непроницаемы для белка, поэтому осмотическое давление, создаваемое белком, зависит от концентрации его внутри и вне клетки. Осмотическое давление, обусловленное белком, называют также *онкотическим давлением*.

Высокая вязкость растворов белка. Высокая вязкость характерна не только для растворов белка, но вообще для растворов высокомолекулярных соединений. С увеличением концентрации белка вязкость раствора повышается, поскольку повышаются силы сцепления между молекулами белка. Вязкость зависит от формы молекул. Растворы фибриллярных белков всегда более вязки, чем растворы глобулярных белков. На вязкость растворов сильно влияют температура и присутствие электролитов. С повышением температуры вязкость растворов белка снижается. Добавки некоторых солей, например кальция, повышают вязкость, способствуя сцеплению молекул с помощью кальциевых мостиков. Иногда вязкость белкового раствора увеличивается настолько, что он теряет текучесть и переходит в гелеобразное состояние.

Способность белков к образованию гелей. Взаимодействие между макромолекулами белка в растворе может привести к образованию структурных сеток, внутри которых находятся захваченные молекулы воды. Такие структурированные системы называются *гелями* или *студнями*. Считается, что белок

протоплазмы клетки может переходить в гелеобразное состояние. Характерный пример — тело медузы является как бы живым студнем, содержание воды в котором до 90%.

Гелеобразование легче протекает в растворах фибриллярных белков: их палочковидная форма способствует лучшему контакту концов макромолекул. Это хорошо известно из бытовой практики. Пищевые студни готовят из продуктов (кости, хрящи, мясо), содержащих в большом количестве фибриллярные белки.

В процессе жизнедеятельности организма гелеобразное состояние белковых структур имеет важное физиологическое значение. Коллагеновые белки костей, сухожилий, хрящей, кожи и т. д. обладают высокой прочностью, упругостью и эластичностью, потому что находятся в гелеобразном состоянии. Отложение минеральных солей при старении снижает их упругость и эластичность. В гелеобразном или студнеобразном виде находится в мышечных клетках актомиозин, выполняющий сократительную функцию.

В живой клетке происходят процессы, напоминающие переход золь — гель. Протоплазма клетки представляет собой золеподобную вязкую жидкость, в которой обнаруживаются островки гелеподобных структур.

Гидратация белков и факторы, влияющие на их растворимость

Белки — гидрофильные вещества. Если растворять сухой белок в воде, то сначала он, как всякое гидрофильное высокомолекулярное соединение, набухает, а затем молекулы белка начинают постепенно переходить в раствор. При набухании молекулы воды проникают в белок и связываются с его полярными группами. Плотная упаковка полипептидных цепей разрушается. Набухший белок можно считать как бы обратным раствором, т. е. раствором молекул воды в высокомолекулярном веществе — белке. Дальнейшее поглощение воды приводит к отрыву молекул белка от общей массы и растворению. Но набухание не всегда ведет к растворению; некоторые белки, например коллаген, так и остаются в набухшем виде, поглотив большое количество воды.

Растворение связано с гидратацией белков, т. е. связыванием молекул воды с белками. Гидратная вода так прочно связана с макромолекулой белка, что отделить ее удается с большим трудом. Это говорит не о простой адсорбции, а об электростатическом связывании молекул воды с полярными группами боковых радикалов кислых аминокислот, несущих отрицательный заряд, и основных аминокислот, несущих положительный заряд.

Однако часть гидратной воды связывается пептидными группами, которые образуют с молекулами воды водородные связи. Например, полипептиды с неполярными боковыми группами тоже набухают, т. е. связывают воду. Так, большое количество воды связывает коллаген, хотя этот белок содержит преимущественно неполярные аминокислоты. Вода, связываясь с пептидными группами, раздвигает вытянутые полипептидные цепи. Однако межцепочечные связи (мостики) не дают молекулам белка отрываться друг от друга и переходить в раствор. При нагревании сырья, содержащего коллаген, межцепочечные мостики в коллагеновых волокнах разрываются и освобожденные полипептидные цепи переходят в раствор. Эта фракция частично гидролизованного растворимого коллагена называется *желатиной*. Желатина по химиче-

скому составу близка к коллагену, легко набухает и растворяется в воде, образуя вязкие жидкости. Характерным свойством желатины является способность к гелеобразованию. Водные растворы желатины широко используются в лечебной практике как плазмозамещающее и кровоостанавливающее средство, а способность к гелеобразованию — при изготовлении капсул в фармацевтической практике.

Факторы, влияющие на растворимость белков. Растворимость разных белков колеблется в широких пределах. Она определяется их аминокислотным составом (полярные аминокислоты придают большую растворимость, чем неполярные), особенностями организации (глобулярные белки, как правило, лучше растворимы, чем фибриллярные) и свойствами растворителя. Например, растительные белки — проламины — растворяются в 60—80%-ном спирте, альбумины — в воде и в слабых растворах солей, а коллаген и кератины нерастворимы в большинстве растворителей.

Стабильность растворов белков придает заряд белковой молекулы и гидратная оболочка. Каждая макромолекула индивидуального белка имеет суммарный заряд одного знака, что препятствует их склеиванию в растворе и выпадению в осадок. Все, что способствует сохранению заряда и гидратной оболочки, облегчает растворимость белка и его устойчивость в растворе. Между зарядом белка (или числом полярных аминокислот в нем) и гидратацией существует тесная связь: чем больше полярных аминокислот в белке, тем больше связывается воды (в расчете на 1 г белка). Гидратная оболочка белка иногда достигает больших размеров, и гидратная вода может составлять до $\frac{1}{5}$ его массы.

Правда, некоторые белки гидратируются сильнее, а растворяются хуже. Например, коллаген связывает воды больше, чем многие хорошо растворимые глобулярные белки, но не растворяется. Его растворимости мешают структурные особенности — поперечные связи между полипептидными цепями. Иногда разноименно заряженные группы белка образуют много ионных (солевых) связей внутри молекулы белка или между молекулами белков, что мешает образованию связей между молекулами воды и заряженными группами белков. Наблюдается парадоксальное явление: в белке много анионных или катионных групп, а растворимость его в воде низкая. Межмолекулярные солевые мостики вызывают склеивание молекул белка и их выпадение в осадок.

Какие же факторы среды влияют на растворимость белков и их стабильность в растворах?

Влияние нейтральных солей. Нейтральные соли в небольших концентрациях повышают растворимость даже тех белков, которые нерастворимы в чистой воде (например, эвглобулины). Это объясняется тем, что ионы солей, взаимодействуя с противоположно заряженными группами молекул белков, разрушают солевые мостики между молекулами белков. Повышение концентрации солей (увеличение ионной силы раствора) оказывает обратное действие (см. ниже — высаливание).

Влияние pH среды. pH среды влияет на заряд белка, а следовательно, на его растворимость. Наименее устойчив белок в изoeлектрическом состоянии, т. е. когда его суммарный заряд равен нулю. Снятие заряда позволяет молекулам белка легко сближаться, склеиваться и выпадать в осадок. Значит, растворимость и устойчивость белка будут минимальны при pH, соответствующем изoeлектрической точке белка.

Влияние температуры. Строгой зависимости между температурой и характером растворимости белков не имеется. Одни белки (глобулины, пепсин, фосфорилаза мышц) в водных или солевых растворах с повышением температуры растворяются лучше; другие (альдолаза мышц, гемоглобин и т. д.) хуже.

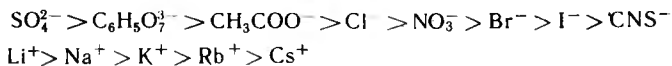
Влияние разнозаряженного белка. Если в раствор белка, являющегося полианионом (кислый белок), добавить белок, являющийся поликатионом (основной белок), то они образуют агрегаты. При этом устойчивость вследствие нейтрализации зарядов теряется и белки выпадают в осадок. Иногда эту особенность используют для выделения нужного белка из смеси белков.

Высаливание

Растворы нейтральных солей широко используются не только для повышения растворимости белка, например при выделении его из биологического материала, но и для избирательного осаждения разных белков, т. е. их фракционирования. Процесс осаждения белков нейтральными солевыми растворами называется *высаливанием*. Характерной особенностью белков, полученных высаливанием, является сохранение ими нативных биологических свойств после удаления соли.

Механизм высаливания состоит в том, что добавляемые анионы и катионы солевого раствора снимают гидратную оболочку белков, являющуюся одним из факторов его устойчивости. Возможно, одновременно происходит и нейтрализация зарядов белка ионами соли, что также способствует осаждению белков.

Способность к высаливанию наиболее выражена у анионов солей. По силе высаливающего действия анионы и катионы располагаются в следующие ряды:



Эти ряды называются *лиотропными*.

Сильным высаливающим эффектом в этом ряду обладают сульфаты. На практике для высаливания белков чаще всего применяют сульфат натрия и аммония. Кроме солей белки осаждают органическими водоотнимающими средствами (этанол, ацетон, метанол и др.). Фактически это то же высаливание.

Высаливание широко используют для разделения и очистки белков, поскольку многие белки различаются по размеру гидратной оболочки и величине зарядов. Для каждого из них имеется своя зона высаливания, т. е. концентрация соли, позволяющая дегидратировать и осадить белок. После удаления высаливающего агента белок сохраняет все свои природные свойства и функции.

Денатурация (денативация) и ренатурация (ренативация)

При действии различных веществ, нарушающих высшие уровни организации белковой молекулы (вторичную, третичную, четвертичную) с сохранением первичной структуры, белок теряет свои нативные физико-химические и, главное, биологические свойства. Это явление называется *денатурацией* (денати-

вацией). Оно характерно только для молекул, имеющих сложную пространственную организацию. Синтетические и природные пептиды не способны к денатурации.

При денатурации разрываются связи, стабилизирующие четвертичную, третичную и даже вторичную структуры. Полипептидная цепь разворачивается и находится в растворе или в развернутом виде, или в виде беспорядочного клубка. При этом теряется гидратная оболочка и белок выпадает в осадок. Однако осажденный денатурированный белок отличается от того же белка, осажденного путем высаливания, так как в первом случае он утрачивает нативные свойства, а во втором сохраняет. Это указывает на то, что механизм действия веществ, вызывающих денатурацию и высаливание, разный. При высаливании сохраняется нативная структура белка, а при денатурации разрушается.

Денатурирующие факторы делятся на физические и химические. К физическим факторам относятся: температура, давление, механическое воздействие, ультразвук и ионизирующее излучение.

Тепловая денатурация белков является наиболее изученным процессом. Она считалась одним из характерных признаков белков. Давно известно, что при нагревании белок свертывается (коагулирует) и выпадает в осадок. Большинство белков термолабильны, однако известны белки, очень устойчивые к нагреванию. Например, трипсин, химотрипсин, лизоцим, некоторые белки биологических мембран. Особой устойчивостью к температуре отличаются белки бактерий, обитающих в горячих источниках. Очевидно, у термостабильных белков тепловое движение полипептидных цепей, вызванное нагреванием, недостаточно для разрыва внутренних связей молекул белка. В изоэлектрической точке белки легче подвергаются тепловой денатурации. Этот прием используется в практической работе. Некоторые белки, наоборот, денатурируют при низкой температуре.

К химическим факторам, вызывающим денатурацию, относятся: кислоты и щелочи, органические растворители (спирт, ацетон), детергенты (моющие средства), некоторые амиды (мочевина, соли гуанидина и т. д.), алкалоиды, тяжелые металлы (соли ртути, меди, бария, цинка, кадмия и т. д.). Механизм денатурирующего действия химических веществ зависит от их физико-химических свойств. Кислоты и щелочи широко используются в качестве осадителей белков. Многие белки денатурируются при крайних значениях pH — ниже 2 или выше 10—11. Но некоторые белки устойчивы к действию кислот и щелочей. Например, гистоны и протамины не денатурируются даже при pH 2 или pH 10. Крепкие растворы этанола, ацетон тоже оказывают денатурирующее влияние на белки, хотя для некоторых белков эти органические растворители используются как высаливающие агенты.

Тяжелые металлы, алкалоиды издавна применяются как осадители; они образуют прочные связи с полярными группами белков и тем самым разрывают систему водородных и ионных связей.

Особо следует остановиться на мочеvine и солях гуанидина, которые в больших концентрациях (для мочевины 8 моль/л, для гуанидина гидрохлорида 2 моль/л) конкурируют пептидными группами за образование водородных связей. В результате происходит досоциация на субъединицы у белков с четвертичной структурой, а затем и разворачивание полипептидных цепей. Это

свойства мочевины настолько ярко, что его широко используют для доказательства наличия четвертичной структуры белка и значения его структурной организации в осуществлении физиологической функции.

Свойства денатурированных белков. Наиболее типичными для денатурированных белков являются следующие признаки.

1. Увеличение числа реактивных или функциональных групп по сравнению с нативной молекулой белка (функциональными группами называются группы боковых радикалов аминокислот: COOH , NH_2 , SH , OH). Часть этих групп обычно находится внутри молекулы белка и не выявляется специальными реагентами. Развертывание полипептидной цепи при денатурации позволяет обнаружить эти дополнительные, или скрытые, группы.

2. Уменьшение растворимости и осаждение белка (связано с потерей гидратной оболочки, развертыванием молекулы белка с «обнажением» гидрофобных радикалов и нейтрализацией зарядов полярных групп).

3. Изменение конфигурации молекулы белка.

4. Потеря биологической активности, вызванная нарушением нативной структурной организации молекулы.

5. Более легкое расщепление протеолитическими ферментами по сравнению с нативным белком — переход компактной нативной структуры в развернутую рыхлую форму облегчает доступ ферментов к пептидным связям белка, которые они разрушают.

Последнее качество денатурированного белка широко известно. Термическая или иная обработка продуктов, содержащих белки (главным образом мясные), способствует лучшему перевариванию их с помощью протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта. В желудке человека и животных вырабатывается природный денатурирующий агент — соляная кислота, которая, денатурируя белки, помогает их расщеплению ферментами. Однако наличие соляной кислоты и протеолитических ферментов не позволяет применять белковые лекарственные препараты через рот, ибо они денатурируются и тут же расщепляются, теряя биологическую активность.

Заметим также, что денатурирующие вещества, осаждающие белки, используются в биохимической практике с иными целями, чем высаливающие. Высаливание как прием применяется для выделения какого-то белка или группы белков, а денатурация для освобождения от белка смеси каких-либо веществ. Удаляя белок, можно получить безбелковый раствор или устранить действие этого белка.

Долго считалось, что денатурация необратима. Однако в некоторых случаях удаление денатурирующего агента (такие опыты были сделаны при использовании мочевины) восстанавливает биологическую активность белка. Процесс восстановления физико-химических и биологических свойств денатурированного белка называется *ренатурацией* или *ренативацией*. Если денатурированный белок (после удаления денатурирующих веществ) вновь самоорганизуется в исходную структуру, то восстанавливается и его биологическая активность.

5. Выделение и искусственный синтез белков

Выбор методов выделения и очистки белка основывается на его свойствах (см. табл. 9). Для грубой очистки белков, как правило, используется несколько

Т а б л и ц а 9. П р и м е р н а я с х е м а в ы д е л е н и я и о ч и с т к и б е л к а

Объект исследования	Признак, используемый для выделения и очистки белка	Приемы и методы	Цель операции и ее эффективность
Орган, ткань, клетка, гомогенат, органоиды	Локализация белка во внутри- или внеклеточных структурах (структурный признак)	Обработка веществами, разделяющими межклеточные контакты (ферменты, комплексоны кальция). Механическое измельчение (гомогенизация), дифференциальное центрифугирование (разделение в центробежном поле)	Целевая подготовка биологического материала для извлечения нужного белка, что позволяет повысить эффективность выделения путем отбора материала с наибольшим содержанием белка (вне клетки он распределен равномерно, внутри клетки локализован преимущественно в одном из органоидов)
То же	Растворимость в воде, органических жидкостях, солевых растворах	Экстракция	Извлечение фракции биологического материала, содержащей интересующий белок. При этом частично происходит очистка выделяемого белка от других плохо экстрагируемых белков
Суммарные белки экстракта	Различия в размерах гидратных оболочек и зарядах белков Различия в термостабильности белков Различия в изоэлектрической точке белков	Высаливание Термофракционирование Кислотно-щелочная обработка (фракционирование)	Грубая очистка белка, позволяющая освободиться от основной массы сопутствующих (загрязняющих) белков
Частично очищенные белки	Неспособность проходить через полупроницаемые мембраны (высокая молекулярная масса) Неспособность проходить через поры (сетку) гранулированного геля	Диализ (электродиализ), ультрафильтрация Фильтрация через мелкопористые гранулированные гели	Освобождение от низкомолекулярных биологических примесей и веществ, использованных при грубой очистке (солей, кислот, щелочей, органических жидкостей), что необходимо для эффективной последующей очистки белка
Частично очищенные белки, освобожденные от низкомолекулярных примесей	Различия в кислотно-основных свойствах белков Различия в сродстве белков к неполярному адсорбенту Различия в молекулярной массе белков Специфичность связывания белков с лигандами	Ионообменная хроматография Адсорбционная хроматография Гельхроматография (проникающая хроматография) Аффинная (лигандная) хроматография	Получение гомогенного белка

Объект исследования	Признак, используемый для выделения и очистки белка	Приемы и методы	Цель операции и ее эффективность
	<p>Различия в знаке и величине заряда белков</p> <p>Различия в изоэлектрических точках белков</p> <p>Различия в знаке, величине заряда и в молекулярной массе белков</p>	<p>Электрофорез в разных поддерживающих средах (гели крахмала, агара, полиакриламида, ацетата целлюлозы, декстрана и т. д.)</p> <p>Изоэлектрическое фокусирование в градиенте pH</p> <p>Изотахорофорез</p>	Получение гомогенного белка

приемов и методов; еще большим разнообразием отличаются методы тонкой очистки белков, позволяющие добиться высокой степени однородности нужного белка.

Методы изучения структуры белка. После выделения гомогенного белка исследуют его структурную организацию (первичную, вторичную, третичную и четвертичную). Основные методы и приемы, используемые для изучения структуры белков, перечислены в табл. 10. Как правило, для получения возможно более полной информации о высших уровнях структурной организации белков используют несколько разных методов.

Таблица 10. Некоторые методы изучения разных уровней структурной организации белка

Структура белка	Метод изучения	Цель метода
Первичная	<p>Гидролиз (кислотный, щелочной, ферментативный)</p> <p>Ионообменная хроматография на анализаторе аминокислот</p> <p>Сиквенация (на приборах сиквенаторах)</p>	<p>Разрыв пептидных связей и получение смеси аминокислот</p> <p>Определение аминокислотного состава путем разделения аминокислот, основанного на различиях в их кислотно-основных свойствах</p> <p>Установление порядка чередования аминокислот путем автоматического последовательного отсечения аминокислот от полипептидной цепи и их идентификации</p>
Вторичная	<p>Спектрополяриметрия (измерение угла вращения плоскополяризованного света на спектрополяриметрах)</p> <p>Метод изотопного обмена</p>	<p>Обнаружение регулярных структур α-спиралей и β-структур. Метод основан на способности аминокислотных остатков полипептидной цепи вращать плоскость поляризованного света влево. Находясь в виде беспорядочного клубка, белок вращает плоскость тоже влево. α-Спирали и β-структуры вращают плоскость поляризации света вправо. Чем больше степень регулярных структур (α- и β-структур) в белке, тем больше выражено правое вращение</p> <p>Установление степени спирализации белка (количества α-спиралей). Метод основан на определении</p>

Структура белка	Метод изучения	Цель метода
Вторичная	<p>УФ спектрофотометрия (измерение степени поглощения белков при 190 нм на спектрофотометрах)</p> <p>ИК спектроскопия (измерение спектра поглощения белков в инфракрасной области на инфракрасных спектрофотометрах)</p>	<p>медленно обменивающегося водорода аминных групп пептидных связей на дейтерий тяжелой воды (D₂O). Медленно обменивается водород пептидных связей в том случае, если он участвует в образовании межпептидных водородных связей. Чем больше медленно обменивающегося водорода белка, тем выше степень спирализации</p> <p>Определение степени спирализации белков (количества α-спиралей). Метод основан на гипохромном эффекте, т. е. пониженном поглощении света при 190 нм белком, находящимся в спирализованном состоянии, по сравнению с аморфным (беспорядочный клубок). (При 190 нм максимум поглощения пептидных групп.) По наличию гипохромного эффекта можно судить о степени спирализации белка: чем он выраженнее, тем выше спирализация</p> <p>Установление наличия регулярных структур в белке по ориентации относительно оси макромолекулы групп —NH— и C=O пептидных связей. Метод основан на измерении разности поглощения ИК света, поляризованного вдоль и перпендикулярно оси ориентации молекулы белка</p>
Третичная	<p>Электронная микроскопия</p> <p>Рентгеноструктурный анализ</p>	<p>Определение конфигурации белков и отдельных частей их молекул, например спиральных участков. Для повышения контрастности (электронной плотности) белков используют специальные покрытия, которые адсорбируются поверхностью белка. При облучении таких белков пучком электронов происходит их поглощение контрастирующими веществами (на пленке они темные), которые окружают белок и его структуры (на пленке они светлые)</p> <p>Установление пространственного расположения всех атомов в молекуле белка. Метод основан на дифракции рентгеновского излучения электронами, окружающими ядра атомов в кристалле белка, поскольку длина волны рентгеновского излучения соизмерима с межатомными расстояниями в кристалле белка. На фотопластинке, помещенной за кристаллом, рентгеновское излучение дает дифракционную картину, характерную для третичной структуры белка</p>
Четвертичная	<p>Электронная микроскопия</p> <p>Рентгеноструктурный анализ</p> <p>Электрофорез</p>	<p>То же, что и для установления третичной структуры</p> <p>То же</p> <p>Установление наличия разных субъединиц в олигомере. Принцип основан на неодинаковой подвижности в электрическом поле олигомеров, состоящих из разных субъединиц, каждая из которых имеет свой заряд</p>

Искусственный синтез белка. Очень трудоемкий процесс искусственного синтеза белка в настоящее время автоматизирован. Искусственный синтез позволяет получать белки, абсолютно идентичные белкам человека и не

являющиеся чужеродными в отличие от аналогичных белков, выделенных из органов животных. При этом сохраняется дорогое природное сырье — тушки и органы животных.

В настоящее время синтезированы короткие пептиды (окситоцин, вазопрессин, пептиды гипоталамуса), ^{АВТ} некоторые тропные белковые гормоны гипофиза — кортикотропин, соматотропин, инсулин и т. д., которые могут применяться как лекарственные средства. Выпуск некоторых из них осуществляется в промышленных масштабах.

6. Классификация и номенклатура белков

Строгая классификация белков пока не разработана. Сделаны попытки классифицировать их по физико-химическим свойствам, функциональным и структурным признакам.

Физико-химическая классификация предусматривает деление белков по электрохимическим и полярным свойствам.

По электрохимическим признакам белки делятся на *кислые* (преобладают кислые функциональные группы; это полианионные белки), *основные* (преобладают основные функциональные группы; это поликатионные белки) и *нейтральные* (число кислых и основных групп в молекуле белка сбалансировано).

По полярным признакам различают *полярные*, или *гидрофильные*, белки (хорошо растворимы, содержат много полярных групп), *неполярные*, или *гидрофобные* (почти нерастворимы, содержат много неполярных остатков), и *амфипатические*, или *амфифильные* (обладают двойственными признаками — одна часть молекулы неполярна, а другая полярна; как правило, это мембранные белки).

Функциональная классификация, учитывающая биологические свойства белков, наиболее разработана для ферментных белков (см. раздел «Ферменты»), а в общем виде рассмотрена ниже (см. «Биологические функции белков»).

По **структурным признакам** общепринято, как упоминалось ранее, деление белков на две большие группы: *простые белки* (синонимы — протеины, апопротеины), структура которых представлена только полипептидной цепью, и *сложные белки* (синонимы — протеиды, голопротеиды), которые содержат небелковый компонент. Эта классификация учитывает общий принцип строения белков, но ее дальнейшее развитие встречает трудности.

Дело в том, что в чистом виде простые белки встречаются в организме очень редко, так как многочисленные реакционные группы белков способны взаимодействовать с небелковыми соединениями, образуя комплексы. Проще дать классификацию сложных белков по особенностям строения небелкового компонента (например, нуклеопротеиды, гликопротеиды, липопротеиды и т. д.), но и в этом случае возникают затруднения, так как, например, гликопротеиды можно называть и сложными белками, и сложными углеводами. Удобнее эти макромолекулы называть *белок-небелковыми комплексами*, которые являются разновидностью смешанных макромолекул.

Систематизации в номенклатуре белков, за исключением ферментных, тоже не существует. Название белкам дают по случайным признакам, учитывая преимущественно источник выделения или какие-то особенности растворимости, конфигурацию молекул и т. д.

Простые белки

К простым белкам относят гистоны, протамины, альбумины, глобулины, проламины, глютелины и протеиноиды (или склеропротеины).

Гистоны (от греч. *histos* — ткань) — тканевые белки многоклеточных организмов, связанных с ДНК хроматина. Это белки небольшой молекулярной массы (11 000—24 000); по электрохимическим свойствам относятся к белкам с резко выраженными основными признаками (изоэлектрическая точка у разных гистонов колеблется в пределах 9,5—12,0). Гистоны имеют только третичную структуру. Выделяют 5 главных типов или фракций гистонов: H_1 , H_{2a} , H_{2b} , H_3 , H_4 . Деление основано на ряде признаков, главным из которых является соотношение лизина и аргинина во фракциях (табл. 11).

Выделен дополнительный тип гистонов — гистон H_5 , содержащийся в ядерных эритроцитах птиц, амфибий и рыб. Имеются и некоторые другие модификации гистонов, но доля их невелика.

Отношение гистон/ДНК приближается к единице в тканях многоклеточных организмов. В естественных условиях гистоны прочно связаны с ДНК и выделяются в составе нуклеопротеида. Связь гистон — ДНК электростатическая, так как гистоны имеют большой положительный заряд, а цепь ДНК — отрицательный. Гистоноподобные белки встречаются в составе рибосом цитоплазмы клеток. У одноклеточных организмов некоторые из фракций гистонов отсутствуют. У бактерий нет типичных гистонов, а у вирусов есть гистоноподобные белки.

Основные функции гистонов — структурная и регуляторная. Структурная функция состоит в том, что гистоны участвуют в стабилизации пространственной структуры ДНК, а следовательно, хроматина и хромосом. Четыре фракции гистонов, за исключением H_1 , составляют основу нуклеосом, являющихся структурными единицами хроматина; фракция H_1 заполняет фрагменты ДНК между нуклеосомами. Регуляторная функция заключается в способности блокировать передачу генетической информации от ДНК к РНК.

Т а б л и ц а 11. Характеристика отдельных фракций гистонов

Фракция	Номенклатура по соотношению лизин/аргинин	Молекулярная масса ($\times 10^3$)	Молярная доля, %		Соотношение лизин/аргинин
			лизин	аргинин	
H_1	Очень богатая лизином	19,5—22,0	27—29	1,5	19
H_{2b}	Умеренно богатая лизином	14,0	14—18	7—8	2
H_{2a}	Умеренно богатая аргинином	15,0	11	10	1,1
H_3	Очень богатая аргинином	15,3	9	14	0,7
H_4	Богатая аргинином и глицином	11,3	10	13	0,7

Протамины — своеобразные биологические заменители гистонов, но качественно отличающиеся от них аминокислотным составом и структурой. Это самые низкомолекулярные белки (M 4000—12 000), они обладают резко выраженными основными свойствами из-за большого содержания аргинина (до 80%). Как и гистоны, протамины — поликатионные белки; они связываются с ДНК в хроматине спермиев. Замена гистонов на протамины в хроматине

спермиев наблюдается не у всех животных. Наиболее типично присутствие протаминов в составе нуклеопротамина в сперматозоидах рыб (в молоках). Отдельные протамины получили свое название по источнику получения.

Сальмин — протамин из молока лосося; *клупейн* — из икры сельди; *труггин* — из молока форели; *скупбрин* — из молока скумбрии.

Протамины делают компактной ДНК сперматозоидов, т. е. выполняют, как и гистоны, структурную функцию. Однако они, по-видимому, не выполняют регуляторных функций, поэтому и присутствуют в клетках, не способных к делению. Возможно, этим и объясняется биологическая замена в некоторых клетках гистонов на протамины.

Проламины — группа растительных белков, содержащаяся в клейковине семян злаковых растений. Для проламинов характерна нерастворимость в воде, солевых растворах, кислотах и щелочах. Выделяют их экстракцией 70°-ным этанолом. Этот крайний случай растворимости связан, очевидно, с наличием у них неполярных аминокислот и пролина. Проламины получили названия по источнику выделения: *глиадины* — из зерна пшеницы и ржи; *гордеины* — из ячменя; *авенины* — из овса; *зеин* — из кукурузы и т. д.

Глютелины — тоже растительные белки, нерастворимые в воде, растворах солей и этаноле. Они растворимы в слабых щелочах, очевидно, потому, что в них значительно больше, чем в проламинах, содержится аргинина и меньше пролина.

Альбумины и глобулины — групповое название белков, высаливающихся при разном насыщении нейтральными солями (сульфатом аммония или натрия). При 50%-ном насыщении раствора соли выпадают в осадок глобулины, а при полном (100%-ном) насыщении — альбумины. Альбумины и глобулины содержатся в плазме крови, в клетках и биологических жидкостях организма. Каждая из этих двух групп белков настолько разнородна, что среди них имеются белки с самыми разнообразными функциями.

Альбумины — белки относительно небольшой молекулярной массы (15—70 тыс.); они имеют избыточный отрицательный заряд и кислые свойства (изоэлектрическая точка 4,7) из-за большого содержания глутаминовой кислоты. Это сильно гидратированные белки, поэтому они осаждаются только при большой концентрации водоотнимающих веществ. Характерным свойством альбуминов является высокая адсорбционная способность. Они адсорбируют полярные и неполярные молекулы. Благодаря высокой неспецифической адсорбции различных веществ альбумины плазмы крови играют физиологически важную транспортную роль.

Глобулины — белки с большей, чем альбумины, молекулярной массой (свыше 100 000). В отличие от альбуминов они нерастворимы в чистой воде; растворимы в слабых солевых растворах. Глобулины — слабокислые или нейтральные белки (изоэлектрическая точка лежит в интервале рН 6 — 7,3); содержат меньше, чем альбумины, кислых аминокислот. Это слабогидратированные белки, поэтому и осаждаются они в менее концентрированных растворах сульфата аммония. Некоторые из глобулинов обладают способностью к специфическому связыванию веществ (специфические переносчики), другие, как и альбумины, к неспецифическому связыванию липидорастворимых веществ.

При электрофорезе происходит разделение альбуминов и глобулинов, поскольку они обладают разной подвижностью в электрическом поле. Альбумины как полианионные белки быстрее движутся к аноду, чем глобулины. Поэтому при электрофорезе, например белков сыворотки крови или других биологических жидкостей, на бумаге или других поддерживающих средах белки в зависимости от их подвижности распределяются на фракции (зоны). Глобулины делятся на три главные электрофоретические фракции: α -, β - и γ -глобулины. Среди α -глобулинов выделяют α_1 - и α_2 -глобулины; среди β -глобулинов — β_1 - и β_2 -глобулины; фракция γ -глобулинов представлена смесью различных иммуноглобулинов.

Электрофорез на бумаге позволяет получить до 5 главных зон белков сыворотки крови (альбумины, α_1 -, α_2 -, β - и γ -глобулины). Высокую степень разрешения имеет электрофорез в полиакриламидном геле, дающий возможность выявить до 17 электрофоретических полос разных белков всех главных зон (альбуминов, α_1 -, α_2 -, β_1 -, β_2 - и γ -глобулинов). При электрофорезе внутриклеточных белков или других жидкостей организма разделение белков происходит по тем же зонам подвижности, что и белков сыворотки крови. Но это не значит, что здесь присутствуют белки с той же функцией, что и в сыворотке крови, хотя электрофоретическая картина их сходна. Поэтому белки сыворотки крови часто используют в качестве стандарта для сравнения с белками, выделенными из разных тканей и жидкостей (при этом говорят, что такой-то неизвестный белок обладает, например, подвижностью α_1 -глобулина или альбумина и т. д.).

Протеиноиды — белки опорных тканей (костей, хрящей, связок и сухожилий, ногтей, волос и т. д.). Все они относятся к фибриллярным белкам (фиброин, коллаген, кератин, эластин). Они растворимы только в специальных растворителях. Строение и физико-химические свойства этих фибриллярных белков рассмотрены ранее.

Все перечисленные простые белки, строго говоря, не являются простыми. Пожалуй, лишь для гистонов и протаминов применимо это название, да и то с известными оговорками, поскольку в природных условиях они образуют прочные комплексы с ДНК. В остальных белках обнаружены неаминокислотные компоненты (углеводы, липиды, металлы и др.). По этой причине их нельзя назвать простыми. Кроме того, есть большая группа белков, которые ведут себя как альбумины (растворимы в воде), а высаливаются как глобулины. Их называют псевдоглобулинами.

Сложные белки, или белок-небелковые комплексы, являющиеся разновидностью смешанных макромолекул, целесообразно рассматривать после знакомства со структурой и свойствами входящих в них небелковых компонентов — углеводов, липидов, полинуклеотидов и т. д.

7. Биологические функции белков

Биологические функции белков столь разнообразны (см. табл. 12), что трудно назвать процессы, в которых белки не принимают участия. Лишь генетическая функция принадлежит не белкам, а нуклеиновым кислотам, структура которых приспособлена для записи и воспроизведения генетической программы.

Таблица 12. Биологические функции белков и их характеристика

Функции белков	Характеристика функций белков	Примеры белков, осуществляющих данную функцию
Ферментативная, или каталитическая	Одна из наиболее распространенных функций белков, которая состоит в ускорении химических превращений (синтез и распад веществ; перенос отдельных групп атомов, электронов от одного вещества к другому)	<i>Фумаратгидратаза</i> — катализирует обратимое превращение фумарат + H ₂ O → малат <i>Цитохромоксидаза</i> — участвует в транспорте электронов на кислород
Гормональная, или регуляторная	Регуляция обмена веществ внутри клеток и интеграция обмена в разных клетках целого организма	<i>Инсулин</i> — участвует в регуляции углеводного, белкового, жирового и других обменов <i>Лютропин</i> — участвует в регуляции синтеза прогестерона в желтом теле яичников
Рецепторная	Избирательное связывание различных регуляторов (гормонов, медиаторов, циклических нуклеотидов) на поверхности клеточных мембран или внутри клетки (цитозольные рецепторы)	<i>Цитозольный рецептор эстрадиола</i> — связывает эстрадиол внутри клеток, например слизистой матки <i>Глюкагоновый рецептор</i> — связывает гормон глюкагон на поверхности клеточной мембраны, например печени <i>Регуляторная субъединица протеинкиназы</i> — связывает цАМФ внутри клеток
Транспортная	Связывание и транспорт веществ между тканями и через мембраны клетки	<i>Липопротеиды</i> — участвуют в переносе липидов между тканями организма <i>Транскортин</i> — переносит кортикостерониды (гормоны коры надпочечников в крови) <i>Миоглобин</i> — переносит кислород в мышечной ткани
Структурная Опорная, или механическая	Участвуют в построении различных мембран Близкая по назначению к структурной. Обеспечивает прочность опорных тканей, участвуя в построении внеклеточных структур	<i>Структурные белки митохондрий, плазматической мембраны и т. д.</i> <i>Коллаген</i> — структурный элемент опорного каркаса костной ткани, сухожилий <i>Фиброин</i> — участвует в построении оболочки кокона шелкопряда <i>β-Кератин</i> — структурная основа шерсти, ногтей, копыт
Резервная, или трофическая	Использование белков как запасного материала для питания развивающихся клеток	<i>Проламины и глютелины</i> — запасной материал семян пшеницы <i>Овальбумин</i> — запасной белок куриного яйца (используется при развитии зародышка)
Субстратно-энергетическая	Близка к резервной. Белок используется как субстрат (при распаде) для образования энергии. При распаде 1 г белка выделяется 17,1 кДж энергии	<i>Все белки</i> (поступающие или с пищей, или внутриклеточные), которые распадаются до конечных продуктов (CO ₂ , H ₂ O, мочевины)
Механохимическая, или сократительная	Сокращение (механический процесс) с использованием химической энергии	<i>Миозин</i> — закрепленные нити в миофибриллах <i>Актин</i> — движущиеся нити в миофибриллах
Электроосмотическая	Участие в образовании разницы электрических зарядов и градиента	<i>Na⁺, K⁺ АТФаза</i> — фермент, участвующий в создании разницы кон-

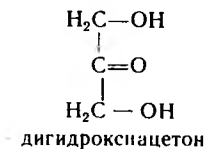
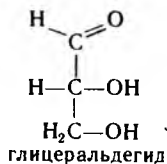
Функции белков	Характеристика функций белков	Примеры белков, осуществляющих данную функцию
Энерготрансформирующая	концентрации ионов на мембране Трансформация электрической и осмотической энергии в химическую энергию (АТФ)	центраций ионов Na^+ и K^+ и электрического заряда на клеточной мембране <i>АТФ-синтетаза</i> — осуществляет синтез АТФ за счет разности электрических потенциалов или градиента осмотической концентрации ионов на сопрягающей мембране
Когенетическая	Вспомогательная генетическая функция белков (приставка «ко» в переводе с латинского означает совместность действия). Сами белки не являются генетическим (наследственным) материалом, но помогают нуклеиновым кислотам реализовывать способность к самовоспроизведению и переносу информации	<i>ДНК-полимераза</i> — фермент, участвующий в репликации ДНК <i>ДНК-зависимая РНК-полимераза</i> — фермент, участвующий в переносе информации от ДНК к РНК
Генно-регуляторная	Способность некоторых белков участвовать в регуляции матричных функций нуклеиновых кислот и переноса генетической информации	<i>Гистоны</i> — белки, участвующие в регуляции репликации и частично транскрипции участков ДНК <i>Кислые белки</i> — участвуют в регуляции процесса транскрипции отдельных участков ДНК
Иммунологическая, или антитоксическая	Антитела участвуют в обезвреживании чужеродных антигенов микроорганизмов (токсинов, выделяемых ими) путем образования комплекса антиген — антитело	<i>Иммуноглобулины А, М, G</i> и др. — выполняют защитную функцию <i>Комплемент</i> — белок, способствующий образованию комплекса антиген — антитело
Токсигенная	Некоторые белки и пептиды, выделяемые организмами (в основном микроорганизмами), являются ядовитыми для других живых организмов	<i>Ботулинический токсин</i> — пептид, выделяемый палочкой ботулизма
Обезвреживающая	Благодаря функциональным группам белки связывают токсические соединения (тяжелые металлы, алкалоиды), обезвреживая их	<i>Альбумины</i> — связывают тяжелые металлы, алкалоиды
Гемостатическая	Участвуют в образовании тромба и остановке кровотечения	<i>Фибриноген</i> — белок сыворотки крови, полимеризуется в виде сетки, составляющей структурную основу тромба

ГЛАВА 4. УГЛЕВОДЫ

Углеводы наряду с белками — наиболее распространенные соединения, участвующие в построении клетки и используемые в процессе ее жизнедеятельности.

Углеводами (сахарами) называют полиоксикарбонильные соединения и их производные. Термин «углеводы» устарел и не отражает ни химической природы, ни состава этих соединений, однако предложенный для них термин «глициды» не получил распространения. Характерным отличительным признаком углеводов является наличие не менее двух гидроксильных групп и карбонильной (альдегидной или кетонной) группы. Следова-

тельно, самыми простыми углеводами можно назвать глицеральдегид и диоксиацетон:



Углеводы, имеющие альдегидную группу, называют *альдозами*, а кетонную — *кетозами*.

Классификация углеводов основана на их структуре (схема 3) и физико-химических свойствах.

Схема 3. Структурная классификация углеводов



По физико-химическим свойствам углеводы делят на *нейтральные*, содержащие только гидроксильные и карбонильные группы; *основные*, включающие кроме названных аминогруппу (аминосакхара); *кислые*, содержащие кроме гидроксильных и карбонильных групп карбоксильные группы.

1. Моносахариды

Моносахариды, или монозы, — это простейшие углеводы. В названии всех моносахаридов имеется окончание *-оза*. Групповое наименование моносахаридов складывается из числа углеродных атомов и наличия соответствующей карбонильной группы — альдегидной или кетонной. Например, моносахариды, имеющие пять углеродных атомов, называют *пентозами*, а с учетом альдегидной группы — *альдопентозами*; если же они содержат кето-

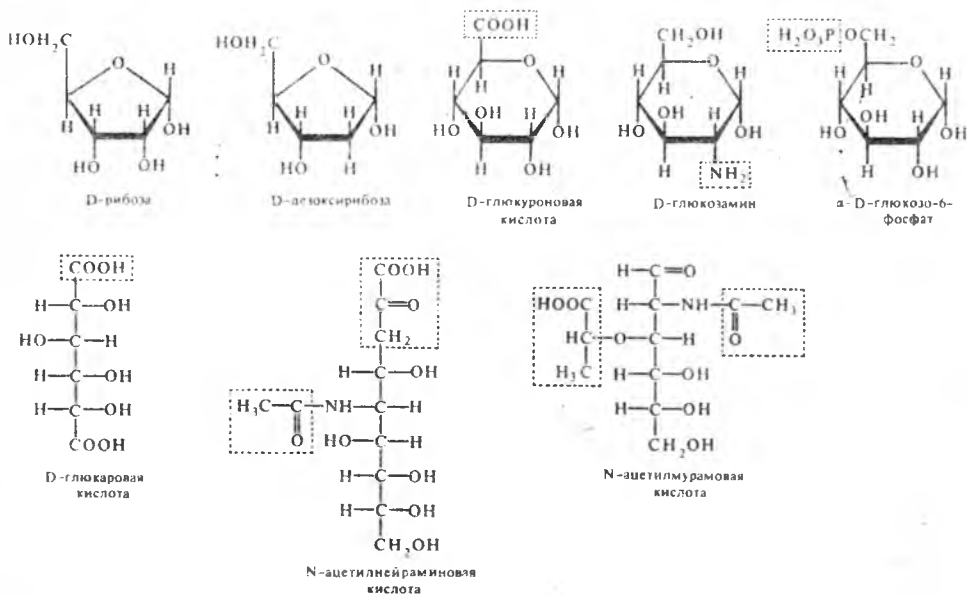
группу, то **кетопентозами**. Углеводы с шестью углеродными атомами называют соответственно **альдогексозами** и **кетогексозами**.

Разные моносахариды принадлежат к соединениям L- или D-ряда в зависимости от L- или D-конфигурации заместителей у асимметрического атома углерода данного моносахарида, который дальше всего отстоит от карбонильной группы. Например, у гексоз это C-5.

В водном растворе моносахариды существуют в виде или развернутой цепи, или циклической структуры. Циклические моносахариды отсутствуют у триоз и тетроз, но, начиная с пентоз, происходит самопроизвольная реакция между одной из гидроксильных групп и карбонильной группой с образованием цикла. Так образуются, например, пятичленные (фуранозные) и шестичленные (пиранозные) циклы. Гидроксил у первого углеродного атома циклического моносахарида называют **полуацетальным**. От него зависят восстанавливающие свойства углеводов.

Производные моносахаридов. Модификация имеющихся групп или введение новых заместителей в молекулу дает различные производные моносахаридов. Они используются для построения разнообразных полимерных углеводов. Некоторые из производных являются промежуточными продуктами обмена.

Ниже приведены некоторые представители производных моносахаридов:



2-Дезокси-D-рибоза (или просто дезоксирибоза) входит в состав дезоксирибонуклеозидов и дезоксирибонуклеотидов, являющихся структурными мономерами ДНК.

Многие моносахариды участвуют в синтезе важной группы соединений — **гликозидов**. В частности, рибоза и дезоксирибоза входят в состав

упомянутых нуклеозидов и нуклеотидов, являющихся *N-гликозидами* (см. «Нуклеиновые кислоты»).

Окисление спиртовой группы до карбоксильной приводит к образованию *уроновых кислот*. Среди них важную роль играют глюконовая, галактуроновая, маннуровая, идуроновая и другие кислоты, которые входят в состав кислых полисахаридов, или так называемых *пектиновых веществ*. Окисление двух концевых групп до карбоксильной дает *аровые кислоты* — глюконовую, галактаровую и т. д., которые не имеют точно установленного биологического значения.

Важную роль играют *аминосахара*, или *аминодезоксисахара*. D-Глюкозамин используется для построения важных структурных полисахаридов — гиалуриновой кислоты, хитина и др., а D-галактозамин участвует в синтезе полисахаридов хрящевой ткани — хондроитинсульфатов и некоторых гликолипидов. Производное D-глюкозамина N-ацетилмурамовая кислота входит в состав полисахаридов клеточных мембран бактерий, а производное D-маннозамина N-ацетилнейраминавая, или сиаловая, кислота является необходимым звеном клеточных гликопротеидов и гликолипидов тканей человека и животных.

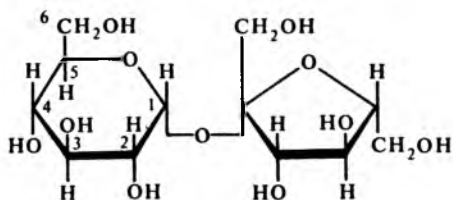
Обширную группу производных моносахаридов составляют *фосфорные эфиры*, которые образуются в ходе превращений углеводов в тканях.

Биологическое значение моносахаридов. В клетке моносахариды используются как источник энергии, причем моносахариды (как, впрочем, и полисахариды) в отличие от других соединений являются энергетическим субстратом клеток организма человека и животных как в присутствии кислорода, так и в его отсутствие. Кроме того, моносахариды и их производные участвуют в построении самых разнообразных биологических молекул, т. е. выполняют пластическую функцию.

2. Олигосахариды

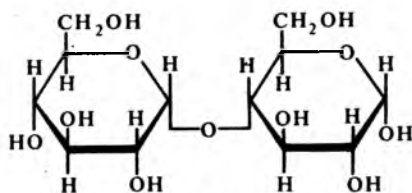
Олигосахаридами называют углеводы, имеющие от двух до десяти звеньев моносахаридов, соединенных гликозидными связями. Они отличаются друг от друга составом моносахаридов и типом гликозидной связи.

Среди наиболее распространенных олигосахаридов можно отметить *лактозу*, содержащуюся в молоке; *сахарозу*, чрезвычайно распространенную в растительном мире; *мальтозу*, являющуюся продуктом частичного гидролиза крахмала в растениях; *трегалозу*, присутствующую в грибах:



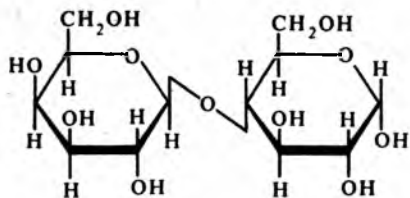
сахароза

(α -D-глюкопиранозил- β -D-фруктофуранозил)



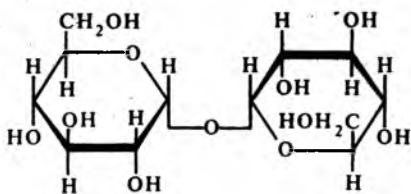
мальтоза

(4- α -D-глюкопиранозил- β -D-глюкопираноза)



лактоза

(4-β-D-галактозил-α-D-глюкопираноза)



трегалоза

(α-D-глюкопиранозил-α-D-глюкопиранозид)

В клетках и биологических жидкостях олигосахариды находятся как в свободном виде, так и в составе смешанных углевод-белковых комплексов (гликопротеидах), соединяясь с белком ковалентными связями.

Биологическое значение олигосахаридов еще подробно не изучено. Как ценные пищевые вещества, используемые клетками для получения энергии после разложения их на моносахариды, они известны давно. Возможно, что олигосахариды, входящие в состав гликопротеидов клеточной мембраны, являются своеобразными «локаторами», с помощью которых клетки «узнают» друг друга.

3. Полисахариды

Полисахаридами, или *гликанами*, называют высокомолекулярные углеводы содержащие более десяти моносахаридных звеньев, соединенных гликозидными связями. Разные полисахариды отличаются природой моносахаридов, молекулярной массой и типом гликозидных связей в цепях моносахаридов. Чаще всего мономером их является D-глюкоза. Но встречаются и другие моносахариды: галактоза, манноза, фруктоза, а также производные моносахаридов.

Различают *гомополисахариды* (гомогликаны), образованные моносахаридом одного типа, и *гетерополисахариды* (гетерогликаны), состоящие из разных моносахаридов. Например, крахмал — гомополисахарид (в него входит только D-глюкоза); гиалуроновая кислота — гетерополисахарид (в нее входят чередующиеся звенья D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина).

По типу строения цепей полисахариды делят на *линейные* и *разветвленные*.

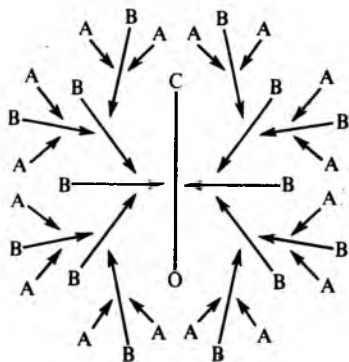
Общие свойства полисахаридов

Полисахаридам присущи свойства типичных высокомолекулярных соединений, имеющих полярные группы. Поэтому полисахариды гидрофильны; при растворении в воде они набухают (подобно фибриллярным белкам), а затем, частично растворяясь, дают коллоидные растворы. В зависимости от состава полисахариды обладают разной гидрофильностью, растворимостью и зарядом. Например, крахмал или гликоген, состоящие только из D-глюкозы, образуют в растворах типичные мицеллы, несущие отрицательный заряд, так как гидроксильные группы обладают свойствами слабой кислоты и диссоциируют. Полисахариды, содержащие уроновые кислоты, характери-

Крахмал — гомополисахарид растений. Он состоит из α -амилозы и амилопектина. **α -Амилоза** — линейный полисахарид, где D-глюкоза соединена α -(1→4)-гликозидными связями. Она имеет молекулярную массу от нескольких тысяч до сотен тысяч. В водной среде α -амилоза образует двухспиральные структуры. Ее коллоидные частицы (мицеллы) дают с иодом характерное синее окрашивание.

Амилопектин — разветвленный полисахарид с молекулярной массой около 1 млн. Примерно через 12 моносахаридных звеньев у него имеются точки ветвления, образованные α -(1→6)-гликозидными связями. Коллоидные растворы амилопектина дают с иодом красно-фиолетовое окрашивание. Компоненты крахмала прочно связываются в клетке с белком, образуя смешанные макромолекулы. Возможно, что синтез крахмала, т. е. удлинение полисахаридных цепей, происходит на белковой основе. Очевидно, белковая часть придает полисахариду некоторую способность к диффузии внутри клетки.

Гликоген — главный резервный полисахарид всех тканей человека и животных. Встречается гликоген в небольших количествах у бактерий и растений. Он имеет высокую молекулярную массу — $1-20 \cdot 10^7$, отличается большей разветвленностью цепей по сравнению с амилопектином. В точках ветвления находятся α -(1→6)-гликозидные связи. В молекуле гликогена выделяют внутренние и наружные ветви, а также цепи А, В и С:



Цепь А — наружная, не несет других ветвей; она присоединяется к цепям В, образующим внутренние ветви. Наконец, цепь С — стержневая, содержащая единственный восстанавливающий остаток глюкозы.

В клетке гликоген, как и крахмал, связан с белком цитоплазмы и частично внутриклеточных мембран. Возможно, эта ковалентная связь с белковой основой возникает при построении гликогена (депонировании углеводов).

Целлюлоза — структурный гомополисахарид растений. Молекулярная масса его колеблется в пределах $5 \cdot 10^4-5 \cdot 10^5$. Он имеет линейное строение, но отличается от α -амилозы типом гликозидной связи: β -(1→4). Целлюлоза образует вторичную стенку растительных клеток в виде микрофибрилл, которые цементируются другими полисахаридами или лигнином (аморфный ароматический полимер). Это позволяет растительной стенке выдерживать внутреннее давление воды $2 \cdot 10^3$ кПа (20 атм). Целлюлоза в таком

виде нерастворима в воде. Замена α -связи на β -(1→4) придает целлюлозе абсолютную инертность к амилазам. Расщепляет целлюлозу специальный фермент *целлюлаза*, который отсутствует в пищеварительном тракте человека, и поэтому целлюлоза им не усваивается.

Кислые гетерополисахариды, или мукополисахариды (от лат. *mucos* — слизь). Последнее название связано с их слизеподобной консистенцией. Эта группа полисахаридов представляет собой сильно гидратированные, желеподобные, липкие вещества, имеющие значительный отрицательный заряд. Все они находятся в межклеточном веществе, но не в свободном виде, а связаны с белками. Такие смешанные макромолекулы называются *протеогликанами* или *глюкозаминпротеогликанами*, поскольку основные свойства этих макромолекул определяются углеводной, а не белковой частью (кстати, в комплексах гликогена и крахмала с белком функция тоже определяется углеводной частью).

В зависимости от структуры цепей кислые гетерополисахариды делятся на семь основных типов. Шесть из них — гиалуриновая кислота, хондроитин-4-сульфат, хондроитин-6-сульфат, дерматансульфат, гепарин и гепарансульфат имеют похожие повторяющиеся звенья дисахаридов. У гиалуриновой кислоты это D-глюкуроновая кислота и N-ацетил-D-глюкозамин, а у остальных пяти — сульфатированные аминсахара и D-глюкуроновая или L-идуриновая кислоты. В седьмом — кератансульфате — вместо гексуроновых кислот содержится D-галактоза. Встречаются и некоторые другие типы кислых мукополисахаридов: хондроитинсульфаты D и E, хондроитин, дерматансульфат H, отличающиеся разной степенью сульфатирования повторяющихся звеньев. Кроме перечисленных моносахаридов редко встречаются в мукополисахаридах L-фукоза, D-манноза, D-ксилоза и сиаловые кислоты. Молекулярная масса разных мукополисахаридов колеблется от 10^5 до 4×10^6 .

Гиалуриновая кислота — несульфатированный гетерополисахарид с линейной структурой и самой большой молекулярной массой из всех гетерополисахаридов. Она служит биологическим цементом, заполняя пространства между клетками. Сетка гиалуриновой кислоты в виде геля является своеобразным биологическим фильтром, задерживая микробные и иные крупные молекулы, попадающие в организм. Разрыв гликозидных связей в цепях гиалуриновой кислоты вызывает ее деполимеризацию. В результате фильтрующая система нарушается, между клетками проникают различные молекулы, в том числе и крупные, скапливается межклеточная вода (наступает отек), которая удерживается неразрушенным полимером. В клетках организма имеется специальный фермент — *гиалуронидаза*, который, выделяясь в межклеточное пространство, может повышать межклеточную проницаемость. Поэтому гиалуронидазу называют *фактором проницаемости*. При оплодотворении яйцеклетки выделяемая сперматозоидом гиалуронидаза способствует проникновению его внутрь яйцеклетки.

Некоторые бактерии содержат ферменты типа гиалуронидазы, что позволяет им проникать из кровеносного русла в межклеточное пространство.

Содержание гиалуриновой кислоты в разных органах неодинаково. Много ее содержится в коже, стекловидном теле глаза, пуповине новорожденных, хрящах и синовиальной жидкости суставов. В тканях и жидкостях гиалуриновая кислота образует комплекс с белком. Однако доля белка

в таком комплексе сильно колеблется: от 2% в суставной жидкости до 20 — 30% в коже.

Хондроитинсульфаты — наиболее распространенные кислые гетерополисахариды в тканях человека и животных. Выделяют хондроитинсульфаты А (хондроитин-4-сульфат), В (дерматансульфат) и С (хондроитин-6-сульфат), которые различаются тем, что у них сульфатированы разные гидроксильные группы в моносахаридных звеньях, или числом сульфатных групп, а также изомерами моносахаридов. Они очень разнообразны по молекулярной массе, т. е. полидисперсны. Молекулярная масса их колеблется от $1 \cdot 10^4$ до $6 \cdot 10^4$. Близки к хондроитинсульфатам по строению хондроитин, хондроитинсульфаты Д и Е, дерматансульфат Н, которые можно рассматривать как фракции главных хондроитинсульфатов. При гидролизе хондроитинсульфатов образуется дисахарид *хондрозин*.

Хондроитинсульфаты содержатся в коже, костной ткани, хрящах, тканях трахеи, аорты, артерий и др. В тканях они связаны с белковой основой, или белковым кором, который составляет около 17—22% от массы смешанной макромолекулы.

Дерматансульфат содержится в аорте и в отличие от других хондроитинсульфатов обладает антикоагулирующими свойствами.

Кератансульфат находится в роговице, где он ковалентно связан с белком. Кератансульфат вместе с хондроитином составляют основное вещество роговицы, оптическая прозрачность которой и состояние зависят от этих кислых мукополисахаридов.

Гепарин и гепарансульфат близки по строению. В отличие от остальных кислых гетерополисахаридов не являются структурными компонентами межклеточного вещества. Они вырабатываются тучными клетками соединительной ткани и выделяются при их распаде (цитоллизе) в межклеточную среду и кровеносное русло. В крови гепарин нековалентно соединяется со специфическими белками. Комплекс гепарина с гликопротеидом плазмы проявляет противосвертывающую активность, а комплекс с ферментом липопроотеидлипазой расщепляет липиды, находящиеся в крови в виде хиломикрон (см. липопротеиды).

Биологические функции полисахаридов

Поскольку полисахариды в тканях и биологических жидкостях находятся только в связанном состоянии с белком, то правильнее рассматривать биологическое значение преимущественно углеводного компонента в тех углевод-белковых комплексах, в которых на его долю приходится большая часть. Такие углевод-белковые комплексы называют *протеогликанами* в отличие от *гликопротеидов*, у которых углеводный фрагмент меньше, чем белковый, или имеет некоторые особенности (см. гл. «Смешанные макромолекулы»). К наиболее важным функциям полисахаридов относятся: энергетическая, опорная, защитно-механическая, связующая (структурная), гидросмотическая и ионрегулирующая, кофакторная.

Энергетическую функцию выполняют резервные полисахариды — крахмал и гликоген. Они являются депо углеводов в клетке и при необходимости быст-

ро расщепляются на легко усвояемый источник энергии — глюкозу. Гликоген и крахмал пищи выполняют ту же функцию после обработки их ферментами пищеварительного тракта.

Опорную функцию выполняют структурный полисахарид целлюлоза в растительных организмах и хондроитинсульфаты в костной ткани.

Защитно-механическая — типичная функция кислых гетерополисахаридов. Высокая вязкость и слизеподобная консистенция кислых гетерополисахаридов объясняет их роль биологического смазочного материала, защищающего поверхность клеток. Выстилающая трущиеся поверхности сосудов, мочеполовых путей, пищеварительного тракта, слизистой носа, трахеи, бронхов, суставов (синовиальная жидкость) и т. д., они предохраняют их от механического повреждения. Механическую устойчивость внутренним органам при сжатии и вибрации придают межклеточные гелеподобные мукополисахариды; у водных растений они обуславливают упругость и прочность при ударах воды.

Связующая, или структурная, функция — кислые гетерополисахариды являются структурным межклеточным веществом, одновременно выполняющим функцию биологического цемента (например, гиалуроновая кислота).

Гидроосмотическая и ионрегулирующая функции. Кислые гетерополисахариды благодаря высокой гидрофильности и отрицательному заряду способны удерживать большие количества воды и катионов. Например, гиалуроновая кислота — чрезвычайно гидрофильный полисахарид. Она связывает межклеточную воду и катионы, регулируя межклеточное осмотическое давление. Подобно осмометру эта кислота препятствует излишнему скоплению свободной воды в межклеточном пространстве. Избыточное связывание некоторых ионов может привести к нарушениям, например, к кальцификации сосудистой стенки.

Кофакторная функция. Некоторые гетерополисахариды, такие как гепарин и гепарансульфат, действуют как кофакторы ферментов. При соединении с белком они образуют активный белок — полисахаридный комплекс. Гепарин проявляет свойства тех ферментных белков, у которых он играет роль кофактора. Поэтому у него проявляется антисвертывающая функция (задерживает свертывание крови) и антилипемическая (снижает уровень липидов в крови, активируя их расщепление). Антикоагулирующими свойствами обладает и дерматансульфат, который содержится в аорте.

На практике гепарин и сульфатированные синтетические полисахариды (гепариноиды) широко применяют как антикоагулянты и противотромботические (препятствующие отложению липидов в сосудах) препараты.

ГЛАВА 5. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

Нуклеиновые кислоты были впервые выделены швейцарским ученым Ф. Мишером (1868) из ядер клеток гноя. Он показал, что это соединение содержит фосфор, и назвал его *нуклеином* (от лат. *nucleus* — ядро). По современным понятиям это был нуклеопротеид. В 1872 г. Мишер использовал другой материал, богатый ядрами, — сперму лососей — для выделения нуклеиновых кислот. И вновь им была получена нуклеиновая кислота в соединении с веществом основного характера, получившим название *протамин*. Впоследствии из объектов животного, растительного мира и микроорганизмов были

выделены разные нуклеиновые кислоты. Наилучшим источником нуклеиновых кислот оказались клетки, имеющие большое ядро, поэтому широко использовалась вилочковая железа (тимус). Гидролиз нуклеиновой кислоты из тимуса показал, что в ней содержатся пуриновые и пиримидиновые основания (аденин, гуанин, цитозин, тимин), 2-дезоксид-Д-рибоза и фосфорная кислота. Эту кислоту называли *дезоксирибонуклеиновой* (ДНК). Из дрожжей была получена другая нуклеиновая кислота, содержащая вместо тимина урацил и вместо дезоксирибозы рибозу. Ее называли рибонуклеиновой кислотой (РНК). Лишь в начале 40-х годов нашего столетия было доказано, что РНК тоже является обязательным компонентом всех животных, растительных и бактериальных клеток.

1. Общая характеристика нуклеиновых кислот

Нуклеиновыми кислотами или *полинуклеотидами* называются высокомолекулярные вещества, состоящие из моонуклеотидов, соединенных в цепь 3',5'-фосфодиэфирными связями.

Общее содержание ДНК и РНК в клетках зависит от их функционального состояния. В сперматозоидах количество ДНК достигает 60% (в пересчете на сухую массу клеток), в большинстве клеток 1—10, а в мышцах около 0,2%. Содержание РНК, как правило, в 5—10 раз больше, чем ДНК. Соотношение РНК/ДНК в печени, поджелудочной железе, эмбриональных тканях и вообще в тканях, активно синтезирующих белок, составляет от 4 до 10. В тканях с умеренным синтезом белка соотношение колеблется от 0,3 до 2,5. Особое место занимают вирусы. У них в качестве генетического материала может быть либо ДНК (ДНК-овые вирусы), либо РНК (РНК-овые вирусы).

В клетках бактерий, не имеющих ядра (прокариоты), молекула ДНК (хромосома) находится в специальной зоне цитоплазмы — *нуклеоиде*. Если она связана с клеточной мембраной бактерии, то ее называют *мезосомой*. Фрагмент ДНК меньших размеров локализуется вне этой хромосомной зоны. Такие участки ДНК в бактериях называются *плазмидами* или *эписомами*. В клетках, имеющих ядро (эукариоты), ДНК распределена между ядром, где она входит в состав хромосом и ядрышка, и внеядерными органоидами (митохондриями и хлоропластами). Имеются наблюдения, что в очень малых количествах ДНК присутствует в микросомах. Однако это еще требует доказательств.

Примерно 1—3% ДНК клетки приходится на внеядерную ДНК, а остальное сосредоточено в ядре. Значит, наследственные свойства характерны не только для ядра, но и для митохондрий и хлоропластов клеток. Необычно высоким содержанием внеядерной ДНК отличаются зрелые яйцеклетки, у которых она присутствует в многочисленных митохондриях и желточных пластинках, причем в последних является не генетическим материалом, а резервом нуклеотидов.

РНК в отличие от ДНК распределена по клетке более равномерно. Уже одно это обстоятельство говорит о том, что функция РНК более динамична и многообразна. В клетках высших организмов около 11% всей РНК находится в ядре, около 15% — в митохондриях, 50% — в рибосомах и 24% — в гиалоплазме.

Молекулярная масса ДНК зависит от степени сложности живого объекта: у бактерий она составляет $2 \cdot 10^9$, у человека и животных достигает 10^{11} . У бактерий ДНК находится в виде единичной гигантской молекулы, слабо связанной с белками. В других объектах ДНК окружена белками или простейшими аминами. У вирусов это простейшие основные белки или полиамины (*путресцин* и *спермидин*), которые нейтрализуют отрицательный заряд молекулы ДНК, связываясь с ее фосфатными группами. В сперматозоидах некоторых животных и рыб ДНК образует комплексы с протаминами и гистоноподобными белками. В хромосомах клеток человека и других высших организмов ДНК связана с *гистонами* и *негистоновыми белками*. Такие комплексы белка с ДНК называют *дезоксирибонуклеопротеидами* (ДНП).

РНК имеет значительно меньшую молекулярную массу, чем ДНК. В зависимости от выполняемой функции, молекулярной массы и состава нуклеотидов выделяют следующие главные типы РНК: информационная, или матричная (мРНК), транспортная (тРНК) и рибосомальная (рРНК). Разные рРНК различаются по молекулярной массе (табл. 13). Кроме трех

Таблица 13. Краткая характеристика нуклеиновых кислот клеток высших организмов

Тип нуклеиновой кислоты	Молекулярная масса	Константа седиментации (в единицах Сведберга — S)	Содержание в клетке, %	Локализация в клетке	Функция
ДНК	10^{11}	—	97—99% от всей ДНК 1—3% от всей ДНК	Ядро Митохондрии	Хранение генетической информации и участие в передаче ее родительской ДНК при делении клетки или в передаче РНК в процессе жизнедеятельности
мРНК	$4 \cdot 10^4$ — $1,2 \cdot 10^6$	6—25	25% от всей РНК	Ядро, цитоплазма	Является копией участка ДНК, содержащего информацию о структуре полипептидной цепи белка. Переносит информацию от ДНК к месту синтеза белка — к рибосомам
тРНК	$2,5 \cdot 10^4$	~4	15% от всей РНК	Гиалоплазма, рибосомы, митохондрии	Участвует в активировании аминокислот, их транспорте к рибосомам и сборке из аминокислот полипептидов на рибосомах
рРНК	$0,7 \cdot 10^6$ 1,5— $1,75 \cdot 10^6$ $0,6 \cdot 10^6$ $1,1 \cdot 10^6$ $\sim 4 \cdot 10^4$	18 } 28 } 16 } 23 } 5 } 3 }	80% от всей РНК	Рибосомы цитоплазмы Рибосомы митохондрий Все рибосомы Хромосомы ядер	Образует скелет рибосом цитоплазмы (или митохондрий), который окутывается белками рибосом. Играет вспомогательную роль при сборке белка на рибосомах
Хромосомная векторная РНК Низкомолекулярные ядерные РНК	$2,5 \cdot 10^4$ — $5 \cdot 10^4$	4—8	Следы Доли процента	Ядра, РНП частицы цитоплазмы	Узнавание и активирование генов ДНК Активирование генов ДНК, формирование скелета белковых частиц, переносащих тРНК из ядра в цитоплазму

главных типов есть минорные, или редкие, РНК, содержание которых в клетке незначительно, и функции их только изучаются.

Большинство типов РНК связано в клетке с различными белками. Такие комплексы называются *рибонуклеопротеидами* (РНП). Характеристика нуклеиновых кислот суммирована в табл. 13.

2. Компоненты нуклеиновых кислот

Выделенные и очищенные ДНК и РНК гидролизуют в специальном режиме кислотами (ДНК) или щелочами (РНК); чаще гидролиз проводят специаль-

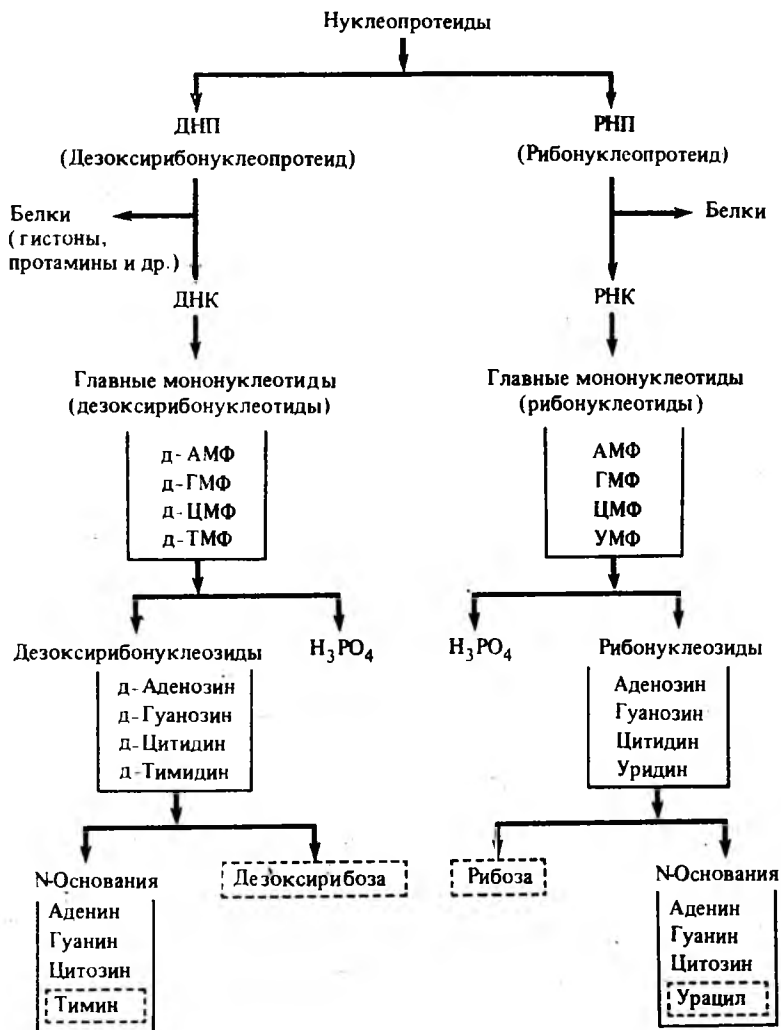
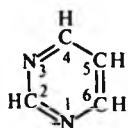


Рис. 7. Схема разделения нуклеиновых кислот

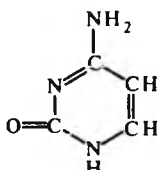
ными ферментами — нуклеазами, которые разрывают фосфодиэфирные связи в полинуклеотидах. При гидролизе фосфодиэфирных связей нуклеиновых кислот освобождаются их структурные мономеры — мононуклеотиды, которые состоят из азотистого основания, пентозы и фосфорной кислоты (рис. 7).

Азотистые основания

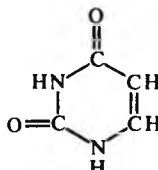
Азотистые основания нуклеиновых кислот делятся по химическому строению на две группы — *пуриновые* и *пиримидиновые*. Среди них имеются главные и редкие (минорные) пуриновые и пиримидиновые основания. К главным пуриновым относятся аденин и гуанин; к пиримидиновым — цитозин, урацил и тимин. В ДНК входят аденин, гуанин, цитозин и тимин, а в РНК — все те же основания, за исключением тимина, который заменен урацилом. Главные основания имеют следующее строение:



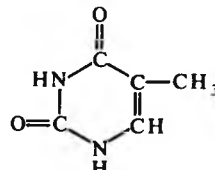
пиримидин



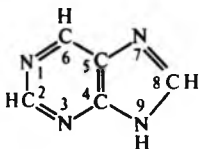
цитозин (Ц)
(2-оксо-4-амино-пиримидин)



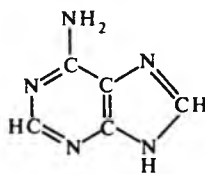
урацил (У)
(2,4-диоксопиримидин)



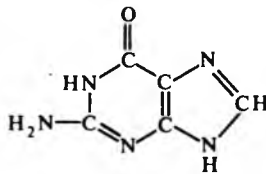
тимин (Т)
(5-метилурацил)



пурин

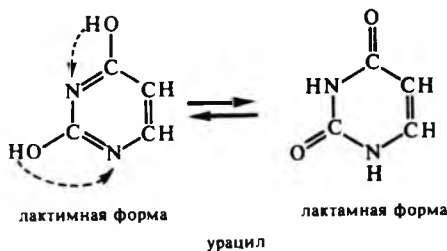


аденин (А)
(6-аминопурин)



гуанин (Г)
(2-амино-6-оксопурин)

Важной особенностью их является способность к лактам-лактимной таутомерии. Например:



лактимная форма

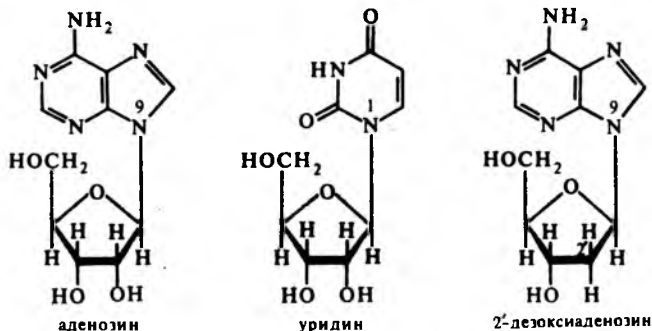
лактимная форма

урацил

Минорные основания встречаются главным образом в тРНК и в следовых количествах в рРНК. К ним относятся дополнительно метилированные пуриновые и пиримидиновые основания (например, 2-метиладенин, 1-метилгуанин, 5-метилцитозин, 5-оксиметилцитозин и др.)

Нуклеозиды

Вещества, в которых азотистые основания соединены с пентозой, называются *нуклеозидами*. Нуклеозиды относятся к N-гликозидам. У них атом С-1 пентозы связан с N-3 пурина или N-1 пиримидина. В зависимости от типа пентозы различают два вида нуклеозидов — *дезоксирибонуклеозиды*, содержащие 2-дезоксирибозу, и *рибонуклеозиды*, содержащие рибозу:



Дезоксирибонуклеозиды входят только в ДНК, а рибонуклеозиды — только в РНК. Пиримидиновые и пуриновые нуклеозиды содержат соответствующие азотистые основания:

Рибонуклеозиды

Аденин + рибоза — аденозин
 Гуанин + рибоза — гуанозин
 Цитозин + рибоза — цитидин
 Урацил + рибоза — уридин

Дезоксирибонуклеозиды

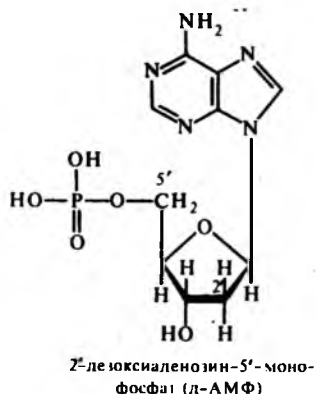
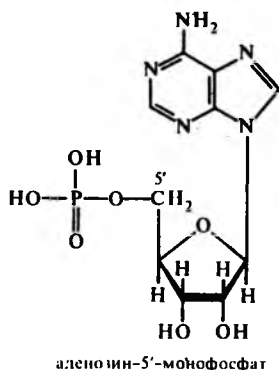
Аденин + дезоксирибоза — дезоксиаденозин
 Гуанин + дезоксирибоза — дезоксигуанозин
 Цитозин + дезоксирибоза — дезоксцитидин
 Тимин + дезоксирибоза — дезокситимидин

Кроме главных встречаются минорные нуклеозиды, в которые входят минорные азотистые основания. Больше всего минорных нуклеозидов содержится в тРНК. Наиболее распространенными минорными нуклеозидами, входящими во все тРНК, являются дигидроуридин, псевдоуридин (обозначаемый сокращенно значком ψ) и риботимидин. В псевдоуридине отсутствует обычная N-гликозидная связь. В нем атом С-1 рибозы соединен с атомом С-5 урацила.

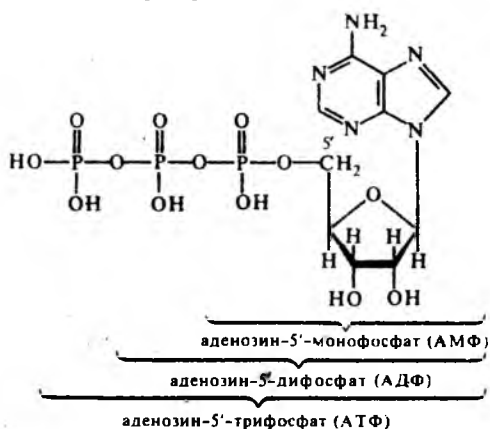
Нуклеотиды

Нуклеотиды представляют собой соединения соответствующего типа нуклеозида с фосфорной кислотой. Они также делятся на *рибонуклеотиды*, содержащие рибозу, и *дезоксирибонуклеотиды*, содержащие 2'-дезоксирибозу. Ниже приведено строение адениловых нуклеотидов.

Фосфат может присоединяться в разные положения кольца пентоза (в рибонуклеотидах — в положениях 2', 3', 5', в дезоксирибонуклеотидах — в положения 3', 5'). Имеющиеся в клетке свободные нуклеотиды содержат фосфатную группу в положении 5'. Нуклеозид-5'-фосфаты участвуют в биологическом синтезе нуклеиновых кислот и образуются при их распаде. Поскольку нуклеозид-5'-фосфаты, или мононуклеотиды, являются производными соответствующих нуклеозидов, то различают те же главные и редкие рибомоно-



нуклеотиды и дезоксирибонуклеотиды. Удлинение фосфатного конца мо-
нонуклеотида за счет присоединения дополнительных фосфатов приводит к
образованию нуклеозидполифосфатов:



Чаще всего в клетках встречаются нуклеозиддифосфаты и нуклеозидтрифос-
фаты. Ниже приводятся названия и сокращенные обозначения нуклеозид-
фосфатов:

Название	Сокращенные обозначения
<i>Рибонуклеозидфосфаты</i>	
Аденозин	моно-, ди-, трифосфат
Гуанозин	моно-, ди-, трифосфат
Цитидин	моно-, ди-, трифосфат
Уридин	моно-, ди-, трифосфат
<i>Дезоксирибонуклеозидфосфаты</i>	
Дезоксиаденозин	моно-, ди-, трифосфат
Дезоксигуанозин	моно-, ди-, трифосфат
Дезоксцитидин	моно-, ди-, трифосфат
Дезокситимидин	моно-, ди-, трифосфат
	АМФ, АДФ, АТФ ГМФ, ГДФ, ГТФ ЦМФ, ЦДФ, ЦТФ УМФ, УДФ, УТФ
	дАМФ, дАДФ, дАТФ дГМФ, дГДФ, дГТФ дЦМФ, дЦДФ, дЦТФ дТМФ, дТДФ, дТТФ

Все нуклеозидфосфаты находятся в клетке в виде анионов, поэтому аденозинфосфаты правильнее обозначать $АМФ^{2-}$, $АДФ^{3-}$, $АТФ^{4-}$. АДФ и АТФ являются макроэргическими, т. е. богатыми энергией, соединениями, химическая энергия которых используется организмом для различных функций. Остальные нуклеозидди- и трифосфаты также участвуют в реакциях синтеза биологических веществ.

Производные нуклеотидов. Среди производных нуклеотидов можно выделить *циклические нуклеотиды* (например, 3',5'-АМФ и 3', 5'-ГМФ), которые являются универсальными регуляторами обмена вещества внутри клетки. Большая группа производных нуклеотидов служит *коферментами* различных ферментов, участвуя в реакциях превращения веществ. Имеются коферменты — производные мононуклеотидов и динуклеотидов (см. гл. 10 «Ферменты»).

3. Структура и уровни организации нуклеиновых кислот

Нуклеиновые кислоты имеют первичную, вторичную и третичную структуру.

Первичная структура нуклеиновых кислот

Первичной структурой ДНК и РНК называют линейную полинуклеотидную цепь, в которой мононуклеотиды соединены 3', 5'-фосфодиэфирными связями. Принцип построения первичных структур ДНК и РНК одинаков (рис. 8): каждая 3'-гидроксильная группа пентозы одного мононуклеотида соединена ковалентной связью с 5'-гидроксильной группой пентозы другого мононуклеотида. Отсюда и название: 3', 5'-фосфодиэфирные связи. Линейные цепи ДНК и РНК, длина которых зависит от числа входящих в цепь нуклеотидов, имеют два конца: один называется 3'-концом, а другой — 5'-концом.

Поскольку исходным материалом при сборке цепей нуклеиновых кислот в клетке являются нуклеозид 5'-трифосфаты, то 5'-конец цепи содержит трифосфат, а 3'-конец — свободный гидроксил. Следовательно, цепи нуклеиновых кислот полярны. Они могут иметь направление 5'→3' и 3'→5'. Исключением являются кольцевые ДНК и РНК некоторых вирусов и бактерий.

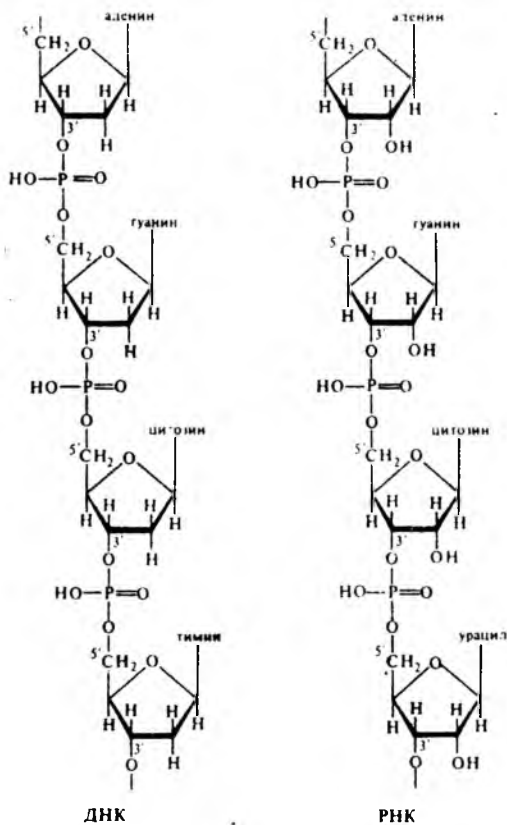


Рис. 8. Фрагмент первичной структуры нуклеиновых кислот

Генетический «текст» ДНК составлен с помощью кодовых «слов» — триплетов нуклеотидов, называемых *кодогенами*. Участки ДНК, содержащие информацию о первичной структуре всех типов РНК, называют *структурными генами*.

Порядок чередования нуклеотидов в РНК тот же, что и в копируемом участке ДНК, с той лишь разницей, что РНК состоит из рибонуклеотидов и место тимина в РНК занимает урацил.

Первичная структура мРНК скопирована с участка ДНК, содержащего информацию о первичной структуре полипептидной цепи. Первичная структура остальных типов РНК (тРНК, рРНК, редкие РНК) является окончательной копией генетической программы соответствующих генов ДНК.

Первичная структура нуклеиновых кислот определяет высшие уровни их организации — вторичный и третичный.

Вторичная и третичная структуры ДНК

Вторичная структура ДНК. Изучая состав ДНК, Чаргафф (1949) установил важные закономерности, касающиеся содержания отдельных оснований ДНК. Они помогли раскрыть вторичную структуру ДНК. Эти закономерности называют *правилами Чаргаффа*:

1) сумма пуриновых нуклеотидов равна сумме пиримидиновых нуклеотидов, т. е. $\frac{A+G}{C+T} = 1$;

2) содержание аденина равно содержанию тимина ($A=T$, или $A/T=1$);

3) содержание гуанина равно содержанию цитозина ($G=C$, или $G/C=1$);

4) количество 6-аминогрупп равно количеству 6-кетогрупп оснований, содержащихся в ДНК: $G+T=A+C$;

5) изменчива только сумма $A+T$ и $G+C$. Если $A+T > G+C$, то это АТ-тип ДНК; если $G+C > A+T$, то это ГЦ-тип ДНК.

Эти правила говорят о том, что при построении ДНК должно соблюдаться довольно строгое соответствие (спаривание) не пуриновых и пиримидиновых оснований вообще, а конкретно тимина с аденином и цитозина с гуанином. В 1953 г. Уотсон и Крик предложили модель вторичной структуры ДНК, получившую название *двойной спирали*.

Характеристика двойной спирали ДНК. Двойная спираль ДНК образуется путем специфического спаривания основания одной полинуклеотидной цепи с основанием другой: при взаимодействии аденина с тимином образуются две водородные связи, а гуанина с цитозином — три (рис. 9). Такое взаимное соответствие пар оснований называется *комплементарностью*. Итак, последовательность оснований (а значит, и нуклеотидов) одной цепи комплементарна последовательности оснований другой цепи ДНК. Направление цепей в ДНК *антипараллельно* (одна из них имеет направление $5' \rightarrow 3'$, другая — $3' \rightarrow 5'$). Сахарофосфатные остовы обеих цепей обращены наружу, а основания внутрь, навстречу друг другу. Спираль ДНК регулярна: один виток спирали состоит из 10 нуклеотидов, размер витка 3,4 нм, а высота каждого нуклеотида 0,34 нм. Такая форма двойной спирали Уотсона—Крика называется формой В.

Конфигурация ДНК может несколько меняться, что связано с ее обезвоживанием. Имеются более «рыхлые» формы ДНК — А и С, которые, воз-

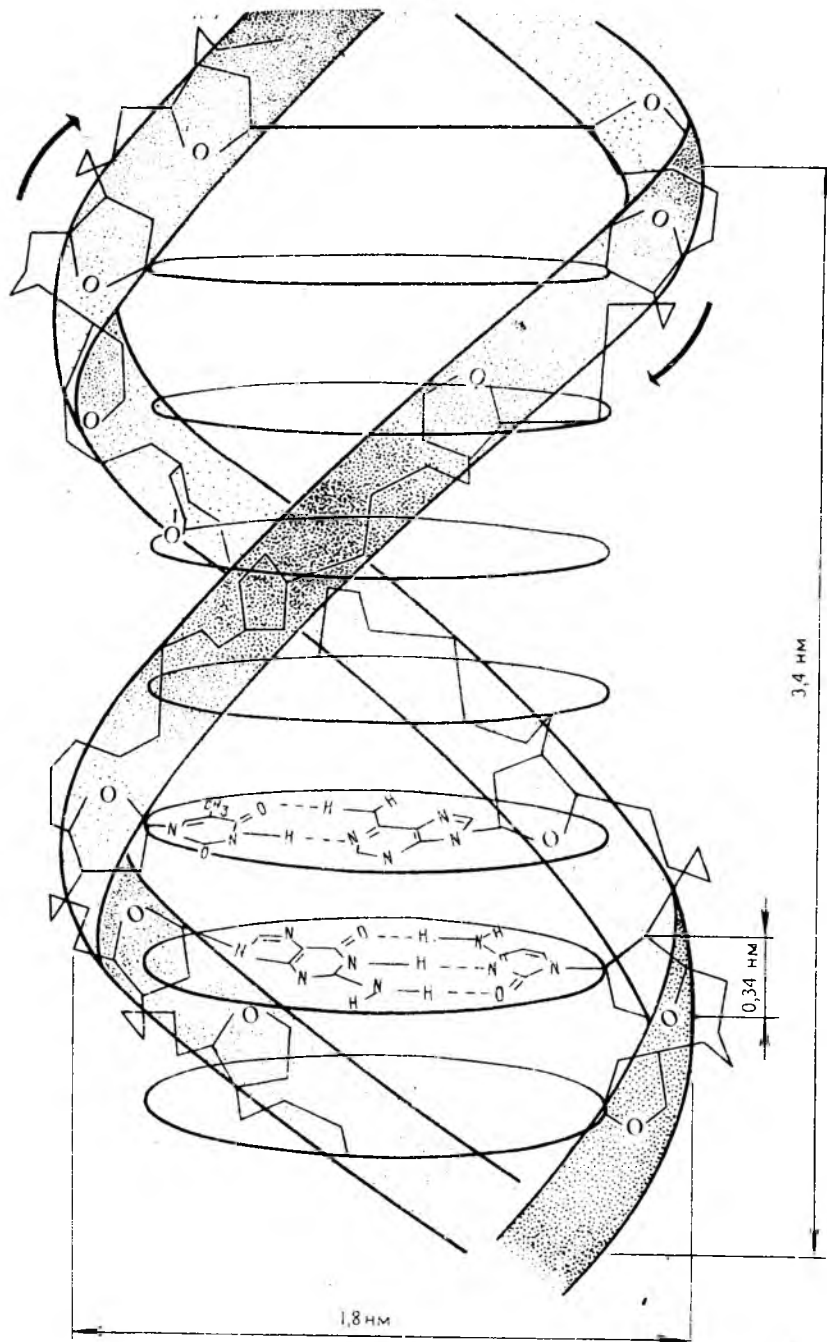


Рис. 9. Схема двойной спирали ДНК (по Уотсону—Крику)

можно, принимает ДНК в активном хроматине. Водное окружение фосфатов и особенно нейтрализация их зарядов придает стабильность вторичной структуре. Отрицательные заряды стремятся оттолкнуться друг от друга и вытягивают цепь ДНК. Только при связывании с фосфатами основных белков или катионов возможно образование двойной спирали ДНК. Но стабильность структуры ДНК обусловлена не только водородными связями между комплементарными основаниями нуклеотидов. Основания в молекуле ДНК уложены в виде стопки монет (см. рис. 9), между плоскостями оснований возникают ван-дер-ваальсовы взаимодействия. В природной ДНК хромосомом строгая двуспиральность нарушается в тех участках цепи, которые называются *палиндромами* (перевороты). В этих фрагментах ДНК порядок чередования нуклеотидов вдоль цепи одинаков справа налево и слева направо (подобно буквам в слове «шалаш»). Комплементарные основания, входящие в состав палиндромов, спариваются и образуют структуры в форме «крестов» или «шпильки». Шпильки помогают регуляторным белкам узнавать место связывания генетического текста ДНК хромосом.

Третичная структура ДНК образуется в результате дополнительного скручивания в пространстве двуспиральной молекулы. Она имеет вид суперспирали или изогнутой (сломанной) двойной спирали.

Структурная организация ДНК в хромосомах

У высших организмов ДНК находится в хромосомах. Хромосомы имеют разную форму, которая зависит от центрической перетяжки, и обладают сложной структурной организацией. В каждой хромосоме, а их количество является видовым признаком, имеется одна гигантская молекула ДНК (молекулярная масса примерно 10^{11} ; линейная длина несколько сантиметров), которая составляет основу хроматина.

Хроматин представляет собой надмолекулярную структуру, где двухцепочечная ДНК образует сложный комплекс с белками, небольшим количеством РНК и неорганическими веществами. Соотношение компонентов хроматина (%): ДНК 30—45, гистоны 30—50, негистоновые белки 4—33 и РНК 1,5—10. Структурная организация хроматина такова, что позволяет использовать одну и ту же генетическую информацию ДНК, присущую данному виду организма, по-разному в специализированных клетках.

Основная часть хроматина неактивна. Она содержит плотно упакованную ДНК. Активный хроматин составляет в разных клетках от 2 до 11%. В клетках головного мозга его больше всего — 10—11%, в клетках печени — 3—4 и почек — 2—3%.

В электронном микроскопе изображение хроматина напоминает бусы: шаровидные утолщения размером около 10 нм, разделенные нитевидными перемычками (рис. 10, а). Эти шаровидные утолщения названы *нуклеосомами*. Каждая нуклеосома содержит отрезок двуспиральной ДНК, равный по протяженности 140 парам оснований, и восемь молекул (октет) гистонов (рис. 10, б). В каждой нуклеосоме по две молекулы гистона каждого типа — H_{2a} , H_{2b} , H_3 и H_4 (рис. 10, в). В местах нитевидных перемычек двуспиральная ДНК, состоящая из 30—60 пар оснований, связана с гистоном H_1 , причем длина перемычек в разных клетках неодинакова.

Степень упаковки ДНК в нуклеосоме равна пяти, т. е. в пять раз умень-

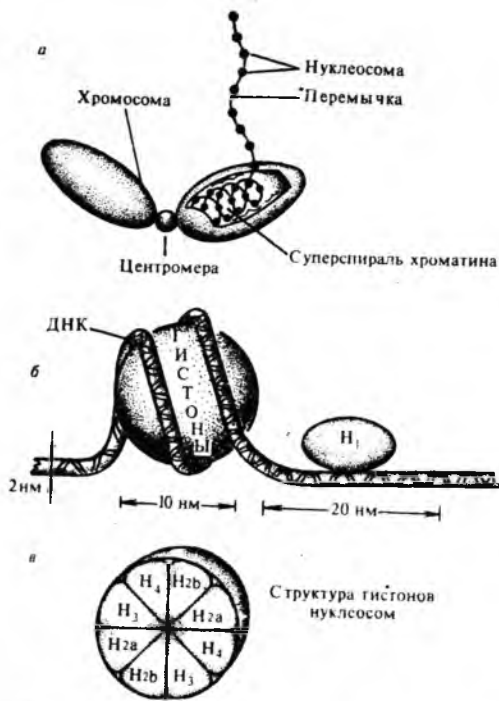


Рис. 10. Схема структурной организации ДНК в хроматине хромосом

ках неодинаковая доля покоящегося хроматина связана с количеством таких нуклеосом. Активный же хроматин находится в области перемычек и при разворачивании нуклеосом. Негистоновые белки в отличие от гистонов очень разнообразны. Выделено до 590 разных фракций негистоновых белков. Их еще называют кислыми белками, так как в их структуре преобладают кислые аминокислоты (они являются полианионами). С ними связывают специфическую регуляцию активности хроматина, поскольку они очень разнообразны.

Вся нуклеосомная цепь, содержащая негистоновые белки и РНК, многократно спирализуется и укладывается в хромосомах в виде соленоида.

Вторичная и третичная структуры РНК

РНК — однонитевые молекулы, поэтому их вторичная и третичная структуры нерегулярны. Поскольку все виды РНК являются копиями одной из цепей ДНК, то копирование участков, содержащих палиндромы, приводит к образованию шпилек в молекулах РНК.

мРНК образуется в клетке из предшественника — *пре-мРНК*, открытой советским биохимиком Г. П. Георгиевым. Пре-мРНК имеет копии палиндромов ДНК, поэтому ее вторичная структура содержит шпильки и линейные

шаются ее линейные размеры. Как же ДНК связана в нуклеосомах? Выяснилось, что двойная спираль ДНК снаружи обвивает белковое ядро нуклеосомы, образуя третичную структуру. В местах сгиба двойная спираль имеет изломы, т. е. нарушается классическая спираль ДНК. Отрицательные фосфатные группы ДНК «прилипают» к положительным зарядам белковой бусины из гистонов. То же наблюдается и в перемычках с гистонем H_1 . Примерно 90% ДНК входит в состав нуклеосом, остальная часть ее приходится на перемычки. Считается, что нуклеосомы — это фрагменты «молчащего» хроматина, а перемычки — активного.

Однако нуклеосомы могут разворачиваться и переходить в линейную форму. Развернутые нуклеосомы являются уже активным хроматином. Так наглядно проявляется зависимость функции от структуры. Можно считать, что чем больше хроматина находится в составе глобулярных нуклеосом, тем менее он активен. Очевидно, в разных клетках

участки. При созревании пре-мРНК шпильки отсекаются ферментами и образуется мРНК (см. гл. 23 «Перенос генетической информации и биосинтез белка в клетках»). Кодовым элементом мРНК является триплет нуклеотидов, называемый *кодоном*. Каждый кодон соответствует определенной аминокислоте. Вторичная структура мРНК — изогнутая цепь, а третичная подобна нити, намотанной на катушку, роль которой играет особый транспортный белок — *информофер*.

тРНК. Вторичная структура тРНК имеет вид «клеверного листа» (рис. 11). Она образуется вследствие внутрицепочечного спаривания комплементарных нуклеотидов отдельных участков тРНК. Участки тРНК, не вовлекаемые в образование водородных связей между нуклеотидами, образуют петли или линейные звенья. В тРНК выделяют следующие структурные участки.

1. *Акцепторный участок (конец)*, состоящий из четырех линейно расположенных нуклеотидов, три из которых имеют во всех типах тРНК одинаковую последовательность — ЦЦА. Гидроксил 3'-ОН аденозина свободен. К нему присоединяется карбоксильной группой аминокислота, отсюда и название этого участка тРНК — акцепторный. Связанную с 3'-гидроксильной группой аденозина аминокислоту тРНК доставляет к рибосомам, где происходит синтез белка.

2. *Антикодоновая петля*, обычно образуемая семью нуклеотидами. Она содержит специфический для каждой тРНК триплет нуклеотидов, называемый *антикодоном*. Антикодон тРНК по принципу комплементарности спаривается с кодоном мРНК. Кодон-антикодоновое взаимодействие определяет порядок расположения аминокислот в полипептидной цепи во время сборки ее в рибосомах.

3. *Псевдоуридиловая петля (или ТψС-петля)*, состоящая из семи нуклеотидов и обязательно содержащая остаток псевдоуридиловой кислоты. Пред-

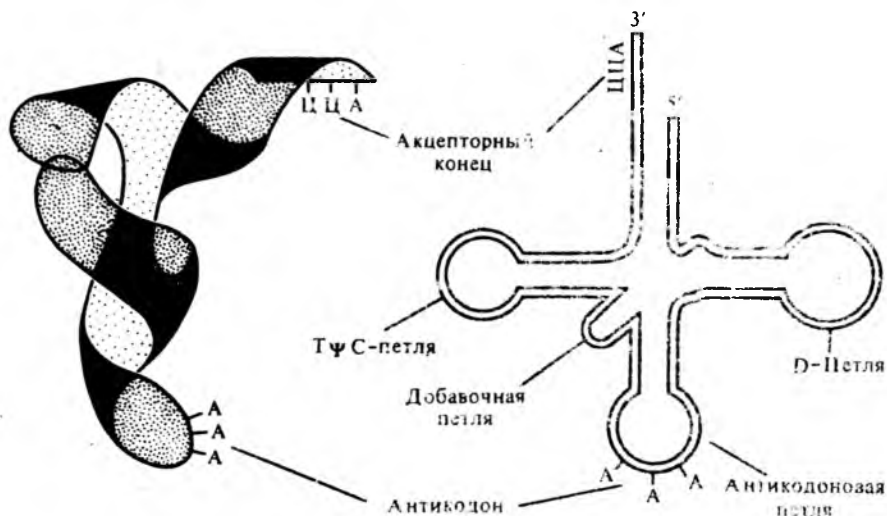


Рис. 11. Вторичная (справа) и третичная (слева) структура тРНК

полагают, что псевдоуридиловая петля участвует в связывании тРНК с рибосомой.

4. *Дигидроуридиновая*, или *D-петля*, состоящая обычно из 8—12 нуклеотидных остатков, среди которых обязательно имеется несколько остатков дигидроуридина. Считают, что D-петля необходима для связывания с аминоацил-тРНК-синтетазой, которая участвует в узнавании аминокислотой своей тРНК (см. «Биосинтез белка»).

5. *Добавочная петля*, которая варьирует по размерам и составу нуклеотидов у разных тРНК.

Третичная структура тРНК имеет уже форму не клеверного листа, а локтевого сгиба (см. рис. 14), так как лепестки петель клеверного листа заворачиваются на тело молекулы, удерживаясь дополнительными ван-дер-ваальсовыми связями.

рРНК имеет форму вторичной структуры в виде спиральных участков, соединенных изогнутой одиночной цепью. Третичная структура рРНК является скелетом рибосомы. Она имеет форму или палочки, или клубка. Снаружи на нее нанизываются белки рибосомы.

4. Физико-химические свойства нуклеиновых кислот

Физико-химические свойства нуклеиновых кислот определяются высокой молекулярной массой и уровнем структурной организации. Для нуклеиновых кислот характерны: коллоидные и осмотические свойства, высокая вязкость и плотность растворов, оптические свойства, способность к денатурации.

Коллоидные свойства типичны для всех высокомолекулярных соединений. При растворении нуклеиновые кислоты набухают и образуют вязкие растворы типа коллоидов. Гидрофильность их зависит в основном от фосфатов. В растворе молекулы нуклеиновых кислот имеют вид полианиона с резко выраженными кислотными свойствами. При физиологических значениях pH все нуклеиновые кислоты являются полианионами и окружены противоионами из белков и неорганических катионов. Растворимость двуспиральных нуклеиновых кислот хуже, чем односпиральных.

Денатурация и ренатурация. Денатурация — свойство, присущее тем макромолекулам, которые имеют пространственную организацию. Денатурация вызывается нагреванием, воздействием химических веществ, которые разрывают водородные и ван-дер-ваальсовы связи, стабилизирующие вторичную и третичную структуру нуклеиновых кислот. Например, нагревание ДНК приводит к разделению двойной спирали на одиночные цепи, т. е. наблюдается переход «спираль—клубок». При медленном охлаждении цепи вновь воссоединяются по принципу комплементарности. Образуется нативная двойная спираль ДНК. Это явление называется ренатурацией. При быстром охлаждении ренатурация не происходит.

Характерно изменение оптической активности нуклеиновых кислот, сопровождающее их денатурацию и ренатурацию. Спиральные (организованные) участки нуклеиновых кислот вращают плоскость поляризованного света, т. е. оптически активны, а разрушение спиральных участков сводит на нет оптическую активность нуклеиновых кислот.

Все нуклеиновые кислоты имеют максимум оптической плотности при дли-

не волны около 260 нм, что соответствует максимуму поглощения азотистых оснований. Однако интенсивность поглощения природной нуклеиновой кислоты значительно ниже, чем смеси ее же нуклеотидов, полученных, например, при гидролизе этой нуклеиновой кислоты, или одиночных цепей. Причиной является структурная организация ДНК и РНК, которая вызывает классический эффект — снижение оптической плотности. Это явление получило название *гипохромного эффекта*. Он максимально выражен у нуклеиновых кислот, имеющих спиральные структуры (например, у ДНК) и содержащих много ГЦ-пар (ГЦ-пары имеют три водородные связи, и поэтому их труднее разорвать).

Молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот. На способности нуклеиновых кислот ренатурировать после денатурации основан чрезвычайно важный метод определения степени *гомологичности*, или родственности, нуклеиновых кислот. Его называют *молекулярной гибридизацией*. В его основе лежит комплементарное спаривание одноцепочечных участков нуклеиновых кислот.

Этот метод позволил обнаружить особенности первичной структуры ДНК. Оказывается, в ДНК животных имеются многократно (до 100 000 раз) повторяющиеся участки с одинаковой последовательностью нуклеотидов. Они составляют до 10—20% всей ДНК. Их гибридизация идет очень быстро. Остальная часть ДНК представлена уникальными последовательностями, которые не дублируются. Эти участки ДНК гибридизуются очень медленно. Вероятность их совпадения у разных организмов невелика. С помощью метода молекулярной гибридизации можно установить гомологичность ДНК организма одного вида ДНК другого вида или гомологичность РНК участкам ДНК.

5. Нуклеиновые кислоты и систематика организмов

Нуклеиновые кислоты, прежде всего ДНК, являются материальным носителем наследственной информации и определяют видоспецифичность организма, сложившуюся в ходе эволюции. Изучение особенностей нуклеотидного состава ДНК разных организмов позволило перейти от систематики по внешним признакам к систематике генетической. Это направление в молекулярной биологии получило название *геносистематики*. Основателем его был выдающийся советский биохимик А. Н. Белозерский.

Сравнение нуклеотидного состава ДНК разных организмов привело к интересным выводам. Оказалось, что коэффициент специфичности ДНК, т. е. отношение Г+Ц к А+Т, сильно варьирует у микроорганизмов и довольно постоянен у высших растений и животных. У микроорганизмов наблюдаются колебания изменчивости от крайнего ГЦ-типа до выраженного АТ-типа. ДНК высших организмов стойко сохраняет АТ-тип. Может создаться впечатление, что у высших организмов теряется специфичность ДНК. На самом деле у них она так же специфична, как и у бактерий, но ее специфичность определяется не столько изменчивостью состава нуклеотидов, сколько последовательностью чередования их вдоль цепи. Интересные выводы на основании нуклеотидного состава ДНК были сделаны А. Н. Белозерским и его учениками относительно происхождения многоклеточных животных и высших

растений. Их ДНК АТ-типа ближе всего к ДНК грибов, поэтому свою родословную животные и грибы, очевидно, ведут от общего предка — крайне примитивных грибообразных организмов.

Еще большую информацию о родстве организмов дает метод молекулярной гибридизации. С помощью этого метода была установлена высокая гомологичность ДНК человека и обезьяны. Причем по составу ДНК человека всего на 2—3% отличается от ДНК шимпанзе, чуть больше — от ДНК гориллы, более чем на 10% — от ДНК остальных обезьян, а от ДНК бактерии — почти на 100%. Особенности первичной структуры ДНК тоже можно использовать в систематике. Гомология по участкам повторяющихся последовательностей (быстрая гибридизация) используется для макросистематики, а для уникальных фрагментов ДНК (медленная гибридизация) — для микросистематики (на уровне видов и родов). Ученые считают, что постепенно по ДНК можно будет построить все родословное древо живого мира.

ГЛАВА 6. ЛИПИДЫ

1. Общая характеристика и классификация липидов

Липидами называются органические вещества биологической природы, нерастворимые в воде и растворимые в неполярных растворителях, в таких, как хлороформ, эфир или бензол.

Под это определение попадает большая группа соединений и их классификация очень трудна. Главными признаками, которые позволяют отнести какое-либо вещество к классу липидов, являются: 1) биологическое происхождение; 2) гидрофобность, а отсюда растворимость в неполярных жидкостях и нерастворимость в воде; 3) наличие высших алкильных радикалов или карбоциклов.

Классификация липидов. Имеются разные классификации липидов: структурная, физико-химическая и биологическая, или физиологическая. Наиболее сложна первая, учитывающая строение этого класса соединений:

I. Липидные мономеры

1. Высшие углеводороды
2. Высшие алифатические спирты, альдегиды, кетоны
3. Изопrenoиды и их производные
4. Высшие аминспирты (сфингозины)
5. Высшие полиолы
6. Жирные кислоты

II. Многокомпонентные липиды

1. Простые липиды (эфиры, состоящие из липидных мономеров)
 - 1.1. Воски (эфиры высших одноатомных спиртов)
 - 1.2. Простые диольные липиды, или ацилдиолы (эфиры двухатомных спиртов)
 - 1.3. Глицериды, или ацилглицерины (эфиры трехатомного спирта глицерина)
 - 1.4. Стериды (эфиры стеринов)
2. Смешанные, или сложные, липиды
 - 2.1. Фосфолипиды (фосфорные эфиры липидов)
 - 2.1.1. Фосфоглицериды (фосфорные эфиры глицеридов)
 - 2.1.2. Диольные фосфатиды (фосфоэфиры диольных липидов)
 - 2.1.3. Сфингофосфатиды, или сфингофосфолипиды (фосфоэфиры N-ацилсфингозина)
 - 2.2. Гликолипиды

Простые молекулы — липидные мономеры — находятся в клетках в свободном виде, хотя и в небольших количествах. Основная часть липидов в клетках представлена в виде эфиروпроизводных различных спиртов.

Разделение липидов по физико-химическим свойствам учитывает степень их полярности. По этому признаку липиды делятся на *нейтральные*, или неполярные, и *полярные*. К первому типу относятся липиды, не имеющие заряда. Ко второму — липиды, несущие заряд и обладающие отчетливыми полярными свойствами (например, фосфолипиды, жирные кислоты).

По физиологическому значению липиды делят на *резервные* и *структурные*. Резервные липиды депонируются в больших количествах и затем расходуются для энергетических нужд организма. К резервным липидам относятся ацилглицерины. Все остальные липиды можно отнести к структурным липидам. Структурные липиды не имеют такой энергетической ценности, как резервные липиды. Они участвуют в построении биологических мембран, защитных покровов растений, насекомых и кожи позвоночных.

Липиды составляют примерно 10—20% от массы тела человеческого организма. В среднем в теле взрослого человека содержится 10—12 кг липидов, из них 2—3 кг приходится на структурные липиды (входящие в основном в состав биологических мембран), а остальное — на резервные липиды. Около 98% последних сосредоточены в жировой ткани.

По тканям структурные липиды распределены неодинаково. Особенно богата ими нервная ткань (до 20—25%). В биологических мембранах клетки липиды составляют около 40% от сухой массы.

2. Однокомпонентные липиды, или липидные мономеры

Высшие углеводороды

Эта группа соединений включает липиды простейшего типа. В природе встречается больше нормальных, разветвленных и ненасыщенных высших углеводородов. Для высших организмов они не имеют существенного значения.

Высшие алифатические спирты, альдегиды, кетоны

Встречаются в свободном виде, а чаще в составе многокомпонентных липидов. Являются оксипроизводными углеводородов. Высшие алифатические спирты входят в состав восков. Ненасыщенные алифатические альдегиды участвуют в образовании ацетальфосфатидов. Высшие кетоны чаще встречаются в свободном виде у бактерий, а разветвленные ненасыщенные кетоны — в составе феромонов насекомых.

Изопrenoиды и их производные

Обширная группа биологически важных липидов. Называют их так потому, что или в основе их строения лежит изопреновая единица ($\text{CH}_2=\text{C}-\text{CH}=\text{CH}_2$),



или эта единица является исходным веществом при их биосинтезе. Среди изопреноидов следует выделить терпены и стероиды.

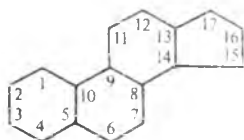
Терпены. Терпены различают по количеству входящих в их структуру изопреновых единиц. Терпены, имеющие две изопреновые единицы, — *монотерпены*, три — *сесквитерпены*, а 4, 6 и 8 единиц — соответственно *дитерпены*, *тритерпены* и *тетратерпены*.

Тритерпены *скавален* и *ланостерин* являются предшественниками при синтезе холестерина в тканях. Важную роль в процессах жизнедеятельности играют *каротиноиды*, относящиеся к тетратерпенам. Наиболее распространенные среди них фитин, ликопин, α -, β -, γ -каротины. β -*Каротин* является про-витамином А.

Большой интерес представляет группа кислородсодержащих терпенов. Среди них можно отметить группу изопреноидных спиртов, широко распространенных пахучих веществ, придающих характерный аромат растениям. Например, сесквитерпеновый спирт фарнезол имеет запах ландыша, а монотерпены гераниол, нерол, линалоол имеют запах герани и роз. Их много в розовом масле, и они применяются как составная часть духов. Монотерпентол используется в кондитерской промышленности.

К дитерпеновым спиртам относятся *фитол* и *ретинол*. Первый участвует в построении фотосинтетического пигмента хлорофилла и филлохинона (витамина K_1), а второй является жирорастворимым витамином (витамином А). Монотерпеновый кетон *камфора* широко используется как лекарственное средство. *Абсцизовая кислота*, являющаяся моноциклическим производным сесквитерпенов, выполняет функцию регулятора роста растений.

Стероиды. Стероиды можно отнести к производным циклических тритерпенов, при биосинтезе которых используются изопреновые единицы. Стероиды называют обычно соединения, содержащие углеродный скелет циклопентанпергидрофантана, или стерана:

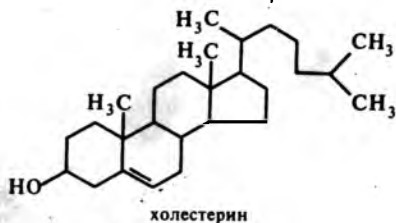


стеран

Большинство стероидов являются спиртами, которые именуются *стеринами* или *стеролами*.

Стерины животного происхождения называют зоостеринами, а растительного — *фитостеринами*. У бактерий стерины отсутствуют.

Родоначалником большой группы биологически важных соединений можно назвать *холестерин*:



холестерин



холестерид

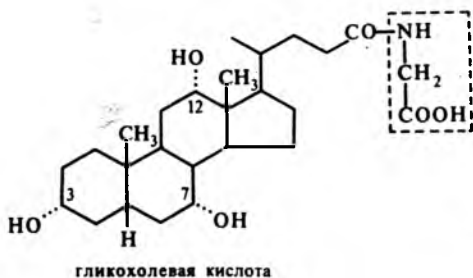
В тканях он находится в свободном виде или в виде эфиров (стериды). Холестерином богаты ткани животных; он в больших количествах содержится в нервной ткани, надпочечниках, печени. Холестерин относят к структурным липидам. Он входит в состав биологических мембран клеток, причем больше его в плазматической (клеточной) мембране, чем в других мембранах — митохондрий, микросом, ядра и т. д.

Среди стероидных соединений животного и растительного происхождения можно отметить следующие биологически активные производные холестерина: желчные спирты и желчные кислоты, гормоны, витамины, стероидные гликозиды, стероидные алкалоиды.

При окислении боковой цепи холестерина в печени образуются *желчные спирты* и *желчные кислоты*, которые выделяются с желчью в кишечник. У амфибий образуются желчные спирты, у человека — только желчные кислоты. Имеется видовая особенность образования желчных кислот. В желчи человека самыми распространенными кислотами являются *холевая* и *хенодезоксихолевая*:



Эти кислоты легко соединяются в печени с глицином и таурином, образуя парные соединения, или конъюгаты, например гликохолевую и тауродезоксихолевую кислоты:



В кишечнике и желчи желчные кислоты находятся в виде анионов (желчные соли). По структуре желчные кислоты — амфипатические молекулы, так как имеют гидрофобное кольцо и гидрофильные группы — гидроксильную и карбоксильную. Поэтому они обладают выраженными поверхностно-активными свойствами, способствуя эмульгированию липидов в кишечнике. Желчные кислоты необходимы для нормального переваривания и всасывания липидов в кишечнике. Они помогают также всасыванию в пищеварительном тракте жирорастворимых витаминов. Относительно плохая растворимость

желчных кислот является причиной образования камней (у человека до 1% желчных кислот входит в состав камней желчного пузыря).

Стероидные гормоны — наиболее обширная группа среди всех гормонов, являющихся регуляторами обмена веществ в клетках и контролирующими их рост и развитие. Стероидные гормоны образуются из холестерина путем предварительного окисления боковой цепи холестерина. В результате получают такие соединения, как *прегненолон* и *прогестерон*, которые служат материалом для синтеза всех стероидных гормонов. Стероидные гормоны обнаружены у высших животных, насекомых и растений. В растениях превращение холестерина в прегненолон и прогестерон осуществляется многими тканями, тогда как у животных преимущественно в специальных органах — эндокринных железах (надпочечниках, семенниках, яичниках, плаценте).

У насекомых и других членистоногих обнаружены гормоны стероидной структуры, регулирующие линьку. Несмотря на то что стероидное кольцо у них не синтезируется, они используют растительные или другие источники холестерина.

В растениях также найдены половые гормоны — эстрогены и прогестерон и выделены продукты их обмена, подобные тем, которые содержатся в моче человека. Эти гормоны регулируют цветение высших растений и необходимы для полового размножения у некоторых видов грибов. Возможно, стероидные соединения, или, как их называют, продукты вторичного синтеза, являются регуляторами роста, размножения клеток растений. Единство растительного и животного мира подчеркивает образование у них стероидных гормонов.

Стероидные витамины. К ним относятся витамины D (кальциферолы). Растительные предшественники кальциферолов и 7-дегидрохолестерин, содержащийся в коже животных и человека, называются *провитаминами D*. Все они стероидной структуры. При облучении ультрафиолетовым светом они превращаются в витамины D.

Стероидные гликозиды образуются как продукт вторичного синтеза в растениях и известны под названием сердечных гликозидов. Они широко применяются в практике как эффективные сердечные лекарственные препараты.

Стероидные алкалоиды встречаются у растений семейства нутровых и самшитовых. Они являются производными прегнана. Используются как лекарственные средства. У животных также встречаются стероидные алкалоиды, например в выделениях кожных желез саламандры. Они повышают кровяное давление и, действуя на центральную нервную систему позвоночных, вызывают паралич дыхания. В коже колумбийской ядовитой лягушки обнаружен стероидный алкалоид батрахотоксин, который парализует сердечную деятельность.

Жирорастворимые витамины

Витамины относятся к незаменимым факторам пищи, необходимым для нормальной жизнедеятельности организма. По отношению к растворителям они делятся на *водорастворимые* и *жирорастворимые*. Последние можно назвать липидами.

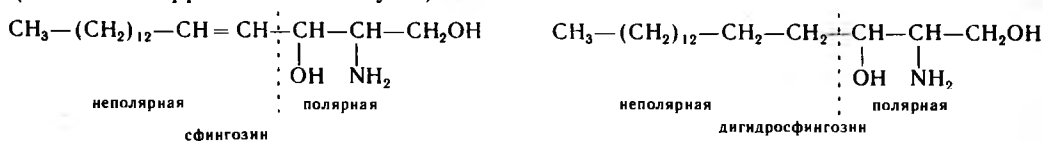
К жирорастворимым витаминам и витаминоподобным веществам отно-

сятся витамины А (ретинол), D (кальциферолы), Е (токоферолы), К (нафтохиноны), убихинон (кофермент Q) и витамин F (незаменимые ненасыщенные жирные кислоты).

Ретинол, токоферол, кальциферолы легко образуют эфиры, например с пальмитиновой кислотой. Возможно, эфиры жирорастворимых витаминов являются их латентной формой, позволяющей им накапливаться в тканях, а затем освобождаться путем гидролиза эфира.

Высшие аминокспирты

Представители этой группы веществ являются производными сфингозина. Они входят главным образом в состав многокомпонентных липидов — *сфинголипидов*. В сфинголипидах присутствуют сфингозин (ненасыщенный высший аминокспирт) и дигидросфингозин (насыщенный высший аминокспирт). Оба соединения имеют неполярную часть (углеводородную цепь) и полярную (остальной фрагмент молекулы):



Высшие полиолы

Сравнительно немногочисленная группа липидных мономеров. Они встречаются у микроорганизмов, участвуют в образовании простых и сложных диольных липидов тканей животных.

Жирные кислоты

Жирными кислотами называются производные алифатических углеводородов, содержащие карбоксильную группу. Высшие жирные кислоты являются основными гидрофобными компонентами простых и сложных липидов. Из различных липидов выделено свыше 200 жирных кислот. Отличаются они друг от друга длиной цепи, числом и положением двойных связей, а также заместителями (окси-, кето-, эпоксигруппы, циклические структуры). По наличию двойных связей они делятся на насыщенные и ненасыщенные.

У насыщенных жирных кислот конфигурация углеводородной цепи имеет вид зигзагообразной линии. Чаще всего в животных тканях встречаются жирные кислоты с четным числом атомов углерода, имеющие в цепи от 12 до 18 атомов углерода. Особенно распространены пальмитиновая и стеариновая кислоты, имеющие соответственно 16 и 18 атомов углерода. В животных тканях в небольших количествах обнаружены жирные кислоты с нечетным числом углеродных атомов. В бактериальных и растительных липидах жирные кислоты более разнообразны по строению.

Ненасыщенные жирные кислоты разделяются по числу присутствующих в них двойных связей на моноеновые, диеновые, триеновые, тетраеновые и т. д. Они объединяются общим названием — полиеновые жирные кислоты. Особенности положения двойной связи по отношению к метильному концу углеводородной цепи позволяет разделить их на три типа: тип олеиновой, линолевой и линоленовой кислот. Самой распространенной

является олеиновая кислота. Ее много в растительных маслах (оливковом, подсолнечном и др.) и в липидах животных тканей. Линолевая кислота содержится преимущественно в растительных липидах (в соевом, сафлоровом, хлопковом маслах). В липидах животных тканей ее мало. Линолевою кислоту находят в виде следов в липидах животных и человека, но в ряде растительных масел (льняное, конопляное) ее очень много. Арахидоновая кислота часто встречается в животных липидах, хотя в организме не синтезируется. Источником ее синтеза служит линолевая кислота, поступающая с растительной пищей.

Строение и краткая характеристика наиболее распространенных насыщенных и ненасыщенных жирных кислот липидов приведены в табл. 14.

Таблица 14. Наиболее распространенные жирные кислоты природных липидов

Название	Структурная формула	Число углеродных атомов	Природный источник	Содержание кислоты, %
Лауриновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{10}-\text{COOH}$	12	Липиды молока	0,1—1,7
Пальмитиновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{COOH}$	16	Липиды всех животных тканей	21—25
Стеариновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}$	18	Липиды всех животных тканей	2—8,5
Лигноцериновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{22}-\text{COOH}$	24	Липиды мозга	0,1
Цереброновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{21}-\text{CH}(\text{OH})-\text{COOH}$	24	Липиды мозга	—
Олеиновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	18	Липиды тканей и природных масел	39—47
Линолевая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2-(\text{CH}_2)_6-\text{COOH}$	18	Фосфолипиды тканей и природных масел	0,05—0,4
Арахидоновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4-(\text{CH}_2)_2-\text{COOH}$	20	Фосфолипиды тканей	0,2—22
Линоленовая	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3-(\text{CH}_2)_6-\text{COOH}$	18	Фосфолипиды тканей	4—24
Нервоновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_{13}-\text{COOH}$	24	Цереброзиды спинного мозга	—
Гидроксинервоновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}(\text{OH})-\text{COOH}$	24	Липиды мозга	—

В организме высшие жирные кислоты в свободном виде имеются в незначительном количестве.

Все жирные кислоты являются амфипатическими соединениями, имея неполярный «хвост» (углеводородная цепь) и полярную «голову» (карбоксильная группа). Высшие жирные кислоты, как все вещества, относящиеся к липидам, практически нерастворимы в воде и растворимы в неполярных жидкостях. Короткоцепочечные жирные кислоты (например, масляная, капроновая), хотя и встречаются в составе липидов в эфирсвязанном состоянии, не могут быть отнесены к липидам, так как растворимы в воде.

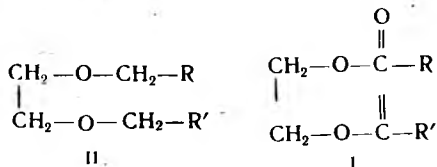
3. Многокомпонентные липиды

Простые липиды

Среди многокомпонентных липидов выделяется большая группа простых липидов, состоящих из липидных мономеров, соединенных эфирными или амидными связями со спиртами.

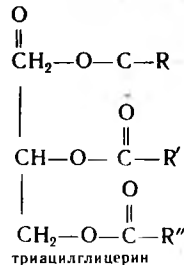
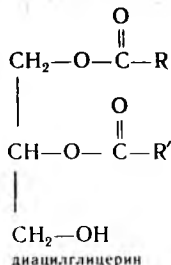
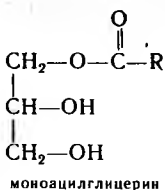
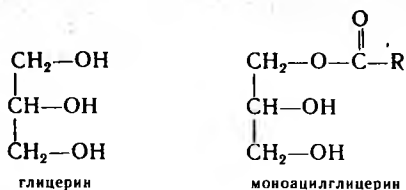
Воски представляют собой смеси простых и сложных эфиров высших одноатомных спиртов и высших жирных кислот. Такое строение определяет их высокую гидрофобность. Поэтому воски образуют водоотталкивающее защитное покрытие (смазка) у листьев и плодов растений, кожи, шерсти животных, перьев у птиц, наружного скелета насекомых. Входят они и в состав пчелиного воска.

Простые диольные липиды — относительно недавно обнаруженная группа липидов, являющихся по строению жирнокислотными эфирами двухатомных спиртов (этиленгликоля или C_3 -алкандиолов). Существуют разные диольные липиды: моно- и диацилдиолы, причем жирнокислотный радикал соединяется или простой (I), или сложной (II) эфирной связью со спиртовыми группами:



В тканях млекопитающих и семенах растений была выделена смесь диольных липидов, но содержание их оказалось незначительным. Оно увеличивается при возрастании функциональной активности, например, в фазу регенерации клеток или созревания семян растений.

Глицериды, или ацилглицерины, — наиболее распространенная группа простых липидов. По химической структуре они являются эфирами жирных кислот и трехатомного спирта глицерина. Глицериды (ацилглицерины) называют также *нейтральными липидами* (из-за их нейтрального характера). Глицериды делятся на моно-, ди- и триацилглицерины, содержащие соответственно один, два и три эфирсвязанных ацила (RCO—):



Названия нейтральных липидов складываются из названий жирной кислоты и глицерина. Например: пальмитоилглицерин — моноацилглицерин, содержащий пальмитиновую кислоту, трипальмитоилглицерин — триацилглицерин, содержащий три одинаковых ацильных остатка. Различают простые ацилглицерины, содержащие остатки одной жирной кислоты (как в приведенном выше случае), и смешанные, в состав которых входят остатки двух или трех разных жирных кислот.

Природные нейтральные липиды представляют собой смесь простых и смешанных типов глицеридов с преобладанием ненасыщенных триглицеридов.

Физико-химические свойства нейтральных липидов определяются их составом. Температура плавления выше у ацилглицеринов, содержащих высшие насыщенные ацилы. В твердых жирах, как правило, присутствуют насыщенные жирные кислоты (например, тристеарин), а в жидких — ненасыщенные (например, триолеин). Все ацилглицерины легче воды. Они растворимы в неполярных жидкостях (хлороформе, бензоле, эфире и горячем этиловом спирте). В воде растворимы только моно- и диацилглицерины, имеющие свободные полярные гидроксильные группы. Они образуют в воде мицеллы. Триацилглицерины не обладают способностью к образованию мицелл и растворимостью в воде. При щелочном гидролизе или омылении ацилглицеринов образуется глицерин и свободные жирные кислоты. В организме эту функцию выполняют специальные ферменты *липазы*.

Стериды — это эфиры стерinov и жирных кислот. Чаще встречаются *эфиры холестерина*. Они содержатся в продуктах животного происхождения (сливочном масле, желтках яиц). В организме человека и животных большая часть холестерина тканей (примерно на 60—70%) находится в виде эфиров холестерина. В крови эфиры холестерина составляют основную часть общего холестерина, входя в состав транспортных липопротеидов. Возможно, эфиры холестерина — это своеобразная форма создания запасов холестерина в тканях. *Ланолин* (жир овечьей шерсти) также является стеридом (смесь жирнокислотных эфиров ланостерина и агностерина) и применяется в фармации в качестве мазевой основы для приготовления лекарственных мазей.

Растительные стериды типа жирнокислотных эфиров стигмастерина, эргостерина, β -ситостерина составляют значительную часть общих стерinov растений.

Сложные, или смешанные, липиды

В отличие от простых липидов смешанные липиды содержат нелипидный компонент, например фосфат или углевод и т. д. По химическому строению представители смешанных липидов — фосфолипиды и гликолипиды — отно-

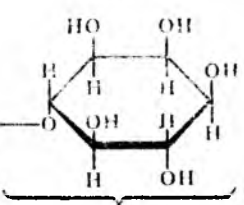
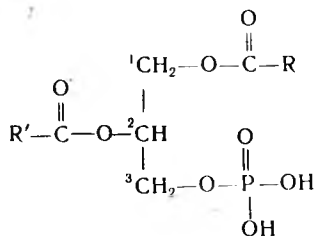
Фосфатидил	Заместитель	Название фосфолиперида	
$ \begin{array}{c} \text{O} & & \text{O} \\ \parallel & & \parallel \\ \text{R}'-\text{C}-\text{O}-\text{CH} & - & \text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{R} \\ & & \\ \text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{P} & - & \text{OH} \\ & & \\ \text{HO} & & \end{array} $		Фосфатидная кислота	
$ \begin{array}{c} \text{O} & & \text{O} \\ \parallel & & \parallel \\ \text{R}'-\text{C}-\text{O}-\text{CH} & - & \text{H}_2\text{C}-\text{C}-\text{O}-\text{R} \\ & & \\ \text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{P} & - & \text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2 \\ & & \\ \text{HO} & & \end{array} $	этаноламин	Фосфатидилэтаноламин	
Фосфатидил	$ \text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}'(\text{CH}_3)_3 $	холин	Фосфатидилхолин
Фосфатидил	$ \text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 $	серин	Фосфатидилсерин
Фосфатидил		инозит	Фосфатидилинозит
Фосфатидил	$ \text{O}-\text{CH}_2-\text{CHON}-\text{CH}_2\text{OH} $	глицерин	Фосфатидилглицерин
Фосфатидил	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O}-\text{CH}_2 & & \text{CH}_2-\text{O}-\text{C}-\text{R}''' \\ & & \\ \text{HC}-\text{OH} & & \text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{R}'' \\ & & \\ \text{CH}_2-\text{O}-\text{P} & - & \text{O}-\text{CH}_2 \\ & & \\ \text{OH} & & \text{OH} \end{array} $	фосфатидилдиглицерин	Кардиолипин
$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}'-\text{C}-\text{O}-\text{CH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{O}-\text{P} \\ \\ \text{OH} \end{array} $	$ \text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}'' $		Ацетальфосфатиды (плазмалогены)

Рис. 12. Структура фосфолипидов

сятся к более сложным по организации молекулам и их правильнее рассматривать в главе «Смешанные макромолекулы». Но чтобы получить целостное представление о разновидностях липидов, в этой главе удобнее остановиться на смешанных липидах.

Фосфолипиды — сложные липиды, представляющие собой фосфатзамещенные эфиры различных органических спиртов (глицерина, сфингозинов, диолов). Все фосфолипиды являются полярными липидами и содержатся преимущественно в клеточных мембранах. В жировых депо их немного.

Фосфоглицериды. В них одна из гидроксильных групп образует эфирную связь не с жирной кислотой, а с фосфатом. Простейший представитель природных фосфоглицеридов — *фосфатидная кислота*:



Радикалы жирных кислот находятся в *транс*-конфигурации. Как правило, гидроксил глицерина в положении 1 этерифицирован насыщенной жирной кислотой, в положении 2 — ненасыщенной, а в положении 3 образуется фосфоэфирная связь с фосфорной кислотой. Все фосфоглицериды содержат остаток фосфатидной кислоты (фосфатидил), соединенный с каким-либо спиртовым остатком. На рис. 12 приведены наиболее распространенные фосфоглицериды.

Разнообразие фосфолипидов определяется природой не только спиртовых компонентов, но и остатков жирных кислот.

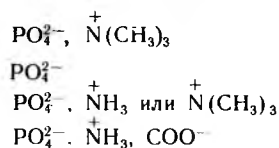
При отщеплении одной из жирных кислот образуются производные фосфоглицеридов, названные *лизофосфатидами*. В физиологических условиях лизофосфатиды не встречаются. Они очень токсичны — вызывают повреждение и даже разрушение мембран клеток.

Физико-химические свойства фосфоглицеридов определяются амфипатическим строением их молекул. Они имеют неполярную часть, т. е. остаток диацилглицерина, и полярную, представленную фосфатом и спиртовыми остатками. Благодаря полярному гидрофильному концу фосфоглицериды не только хорошо растворяются в неполярных жидкостях и их смесях со спиртами, но обладают и некоторой растворимостью в воде, образуя в водной среде мицеллы. В мицеллах гидрофобные радикалы жирных кислот группируются, образуя внутреннюю гидрофобную зону мицеллы. Гидрофильные участки располагаются на внешней поверхности мицеллы, обращенной в водную фазу.

Заряд фосфоглицерида зависит от его типа. В их молекулах имеются следующие ионные группы:

Фосфоглицерид	Ионная группа
Фосфатидная кислота	PO_4^{3-}
Фосфатидилэтаноламины (этаноламинфосфатиды)	$\text{PO}_4^{2-} + \text{NH}_3$

Фосфатидилхолины (холинфосфатиды)
 Фосфатидилинозиты (инозитфосфатиды) и
 кардиолипин
 Плазмалогены
 Серинфосфатиды



Отдельные представители фосфоглицеридов. *Фосфатидные кислоты* присутствуют в незначительных количествах в животных и растительных тканях. Они являются важными промежуточными продуктами обмена фосфоглицеридов.

Этаноламинфосфатиды относятся к одной из часто встречающихся групп фосфоглицеридов всех внутриклеточных мембран животных и растительных клеток. Составляют примерно 20% от общих липидов мембран. Содержатся во всех тканях и клетках человеческого организма, в составе липопротеидов крови.

Холинфосфатиды — очень распространенные фосфоглицериды мембран всех типов. Составляют около 50% липидов клеточных мембран. В организме они образуются, как правило, из этаноламинфосфатидов. Холинфосфатиды входят в состав липопротеидов крови.

Серинфосфатиды впервые были выделены из головного мозга быка, а затем найдены в большинстве других тканей животных, растений и бактерий. Появились сообщения, что вместо серина в фосфоглицеридах могут присутствовать другие аминокислоты (треонин, тирозин, гидроксипролин). Однако необходимо доказать, что эти аминокислотные фосфоглицериды действительно имеются в свободном виде, а не являются составным компонентом смешанных макромолекул — фосфоглицеридпептидов мембран.

Инозитфосфатиды впервые выделены из туберкулезных палочек, а затем найдены в растениях и животных тканях. Они делятся на три основные группы: монофосфоинозитфосфатиды (где имеется один остаток фосфата, соединенный с инозитом), полифосфоинозитфосфатиды (имеется несколько фосфатов, присоединенных к гидроксильным группам инозита) и сложные инозитфосфатиды (в которых к инозиту присоединяются другие вещества — аминокислоты, фитосфингозин, моносахариды). Полифосфорные инозитфосфатиды обнаружены преимущественно в голодном мозге человека и животных, где, как считают, они играют важную роль в нервной деятельности. В растительном мире этими ценными веществами богата соя.

Сложные инозитфосфатиды распространены в бактериях. Они были также получены из семян подсолнечника, арахиса, сои и других культур.

Кардиолипин впервые выделен из сердца быка, отчего и получил свое название. Впоследствии обнаружен во многих тканях животных и человека, в зеленых листьях высших растений, дрожжах. Содержание его в клетках 2—5% от массы липидов. Однако в митохондриальных мембранах он является главным компонентом фосфолипидов.

Ацетальфосфатиды, или плазмалогены (их называют также фосфаталями). Плазмалогены содержатся во всех тканях организма человека и составляют примерно 20% от всех фосфолипидов. Особенно много их содержится в головном и спинном мозге, где 50—90% от всех фосфолипидов приходится на плазмалогены. Особенностью их структуры является образование простой эфирной связи с высшим алифатическим альдегидом.

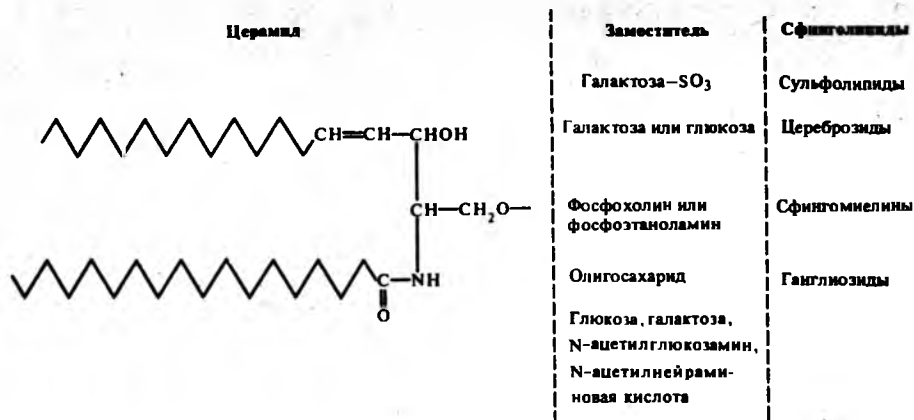


Рис. 13. Схема строения некоторых сфинголипидов, производных церамида (N-ацил-сфингозина)

Диольные фосфатиды (фосфолипиды) — новая, недавно открытая группа соединений. Они являются производными двухатомных спиртов, у которых одна спиртовая группа этерифицирована жирнокислотным остатком, а другая связана с фосфатом и каким-либо остаточным спиртом (например, с холином). В организме диольные фосфолипиды могут связываться с клеточными мембранами, изменяя их функцию. Они обладают выраженными поверхностно-активными свойствами. Большие концентрации их вызывают гемолиз эритроцитов. Диольные фосфолипиды влияют на иммунные реакции и снимают влияние медиатора ацетилхолина на клетки (это действие называют холинотическим).

Сфингофосфатиды (сфинголипиды). В качестве спирта в группе сфинголипидов выступает сфингозин. Его N-ацильное производное *церамид* является родоначальником всех сфинголипидов. Сфинголипиды делятся на *сфингомиелины*, или *сфингофосфатиды*, и *гликосфинголипиды*. Их строение показано на рис. 13. Различие между ними состоит в том, что у сфингомиелинов, как у всех фосфолипидов, заместителем спиртовой группы являются фосфат и остаточный спирт (чаще холин), а гликолипиды не содержат фосфата. Вместо него заместителями являются или один из моносахаридов (в цереброзидах), или олигосахарид (в ганглиозидах), содержащий галактозу и ряд аминокислот.

Сфингомиелины в больших количествах содержатся в нервной ткани, входя в состав миелина, который является оболочкой нервных волокон (отсюда и произошло их название). Однако сфингомиелины встречаются не только в элементах нервной системы. Они обнаружены в легких, печени, почках, селезенке, крови и других органах. Характерно, что появление и накопление сфингомиелина в нервной ткани связано с эволюционным развитием головного мозга. Например, у низших представителей животного мира (мухи, мидии) типичный сфингомиелин позвоночных, содержащий холин, отсутствует. Его заменяет этаноламин. У брюхоногих моллюсков и дождевого червя в нервной системе сфингомиелины отсутствуют, у низших позвоночных их количество не более 4% от всех липидов, а у высших позвоночных достигает 10—12%. Та же картина наблюдается в ходе индивидуального развития организма.

В развитии мозга человека и животных даже специально выделяют период, когда образуется миелин, — *период миелинизации*. У человека период миелинизации, т. е. образование сфингомиелина в оболочках нервов и нервной системы, начинается сразу после рождения и продолжается примерно первые четыре месяца. Дальнейшая миелинизация и накопление сфингомиелина и других сфинголипидов происходит по мере роста массы мозга и развития высшей нервной деятельности.

Много сфингомиелинов в плазме крови и оболочке эритроцитов: соответственно 8—15 и 30—40% от общей массы липидов. Очевидно, это связано с функцией мембран эритроцитов.

Таблица 15. Основные биологические функции липидов

Функция	Характеристика функции	Липиды, осуществляющие функцию
Субстратно-энергетическая	При окислении липидов в организме выделяется энергии больше, чем на 1 г всех остальных энергетических субстратов (белков, углеводов). При сгорании 1 г липидов выделяется 39,1 кДж	Ацилглицерины, свободные жирные кислоты
Структурная	Липиды входят в состав клеточных мембран, образуя их липидную основу	Фосфолипиды (фосфоглицериды, сфингомиелины), холестерин и его эфиры
Транспортная	Участвуют в транспорте веществ (например катионов) через липидный слой биомембран	Фосфолипиды
Электроизолирующая	Является своеобразным электроизолирующим материалом в миелиновых оболочках нервов	Сфингомиелины, гликофинголипиды
Эмульгирующая	Амфипатические липиды являются эмульгаторами. Располагаясь на поверхности раздела фаз масло—вода, стабилизируют эмульсии и препятствуют их расслоению	Фосфоглицериды, желчные кислоты (стерины) являются эмульгаторами для ацилглицеридов в кишечнике. Фосфоглицериды стабилизируют растворимость холестерина в крови
Механическая	Липиды соединительной ткани, окутывающей внутренние органы, и подкожного жирового слоя. Предохраняют органы от повреждений при механических внешних воздействиях	Триацилглицерины
Теплоизолирующая	Липиды подкожно-жирового слоя сохраняют теплоту благодаря их низкой теплопроводности	»
Растворяющая	Одни липиды в физиологических условиях являются растворителями для других липидных веществ	Желчные кислоты (стерины) являются растворителями для жирорастворимых витаминов в кишечнике
Гормональная	Все стероидные гормоны, выполняющие самые разнообразные регуляторные функции, являются липидами. Простагландины — гормоноподобные липиды	Стероиды (половые гормоны, кортикостероиды). Производные ненасыщенных жирных кислот
Витаминная	Все жирорастворимые витамины, выполняющие специальные функции, являются липидами	Изопреноиды, ненасыщенные жирные кислоты

Гликолипиды — смешанные липиды, содержащие углеводный компонент. К ним можно отнести простейшие гликолипиды — *гликозилдиацилглицерины*, где моносахарид замещает одну из спиртовых групп глицерина. В животных тканях гликозилглицериды содержатся в большом количестве. Особенно много их в нервных клетках, где они, видимо, необходимы для нормальной электрической активности и передачи нервных импульсов. К этим липидам относятся цереброзиды, ганглиозиды, сульфолипиды.

Цереброзиды были впервые обнаружены в головном мозге, от которого они и получили свое название. Углеводная часть их представлена чаще всего галактозой, очень редко глюкозой. Разнообразны жирные кислоты, входящие в цереброзиды: это лигноцериновая, цереброновая, нервоновая и гидроксинервоновая жирные кислоты.

Сульфолипиды — сульфатные производные цереброзидов. Сульфат присоединяется к третьему гидроксилу галактозы. Они обладают резко выраженными кислотными свойствами и легко связывают катионы. Считают, что они участвуют в транспорте катионов через мембраны нервных клеток и волокон. Поэтому сульфолипиды нужны для нормальной электрической деятельности нервной системы.

Ганглиозиды в отличие от других гликозилглицеридов содержат олигосахарид, состоящий из разных моносахаридов (см. рис. 13). Компоненты и молекулярная масса их сильно варьируют. Богаты ганглиозидами клетки коры головного мозга.

4. Основные биологические функции липидов

Биологические функции липидов определяются их строением и физико-химическими свойствами. Основные функции липидов суммированы в табл. 15.

ГЛАВА 7. СМЕШАННЫЕ МАКРОМОЛЕКУЛЫ (ГЕТЕРОМАКРОМОЛЕКУЛЫ)

Смешанные макромолекулы представляют собой макромолекулярный комплекс двух веществ, относящихся к разным химическим классам. Эти вещества прочно соединены ковалентными или нековалентными связями, поэтому смешанные макромолекулы выделяются и функционируют как единое целое.

Гетеромакромолекулы можно разделить на две группы: сложные белки, или белок-небелковые комплексы, и прочие (небелковые) смешанные макромолекулы. Первая группа особенно обширна. В ней можно выделить нуклеопротеиды, или нуклеиново-белковые комплексы (они рассматривались ранее), углевод-белковые комплексы, липид-белковые комплексы, фосфопротеиды, кофактор-протеиды, металлопротеиды. Ко второй группе относятся углевод-липидные комплексы и металлопроизводные небелковых макромолекул.

1. Углевод-белковые комплексы

Смешанные макромолекулы этого типа делятся, как указывалось в гл. «Углеводы», на *гликопротеиды* и *протеогликаны*, или полисахарид-белковые комплексы. Углеводная часть гликопротеидов представлена небольшими гетерополисахара-

ридами нерегулярного строения. Белок составляет 80—90% массы макромолекулы. В качестве исключения к группе гликопротеидов, а не протеогликанов, относятся вещества группы крови, у которых полисахарид составляет до 80% массы макромолекулы, но нерегулярное строение отличает его от протеогликанов.

Для гликопротеидов типична ковалентная углевод-пептидная связь. Существуют следующие разновидности такой связи: гликозиламидная, когда моносахарид связан с амидной группой аспарагина (в иммуноглобулинах, гликопротеидных ферментах и гормонах), O-гликозидная — моносахарид связан с OH-группой серина или треонина (в мушкетере слюны, групповых веществах крови), а иногда с OH-группой гидроксисилина или гидроксипролина (в коллагеновых белках).

Углеводный компонент, даже небольшой по массе, сообщает качественно новые свойства молекуле белка гликопротеидов. Для гликопротеидов характерна термостабильность в отличие от протеинов. Гликопротеиды выдерживают высокие и низкие температуры без изменения физико-химических свойств. Если какой-либо белок устойчив к температурной денатурации, то есть основания считать, что он является гликопротеидом. Гликопротеиды в отличие от других белков с трудом перевариваются протеолитическими ферментами (трипсином, пепсином).

Углеводная часть придает белку большую специфичность. Это своего рода векторные группы протеидов, «узнающие» участки других структур (макромолекул, поверхности клеток). Гликопротеиды быстрее выводятся из клетки и находятся, как правило, вне клетки (в биологических жидкостях, на внешней поверхности клеток).

Биологические функции некоторых гликопротеидов. Особенно много гликопротеидов находится в крови; имеются они также на клеточной мембране и внутри клеток. Гликопротеиды осуществляют такие важные функции, как транспорт гидрофобных веществ и ионов металлов (транскортин, церуллоплазмин, гаптоглобин, трансферрин), свертываемость (протромбин, фибриноген) и иммунитет (иммуноглобулины). К гликопротеидам относится ряд ферментов (холинэстераза, рибонуклеаза В), гормонов (гонадотропины, кортикотропин).

Клеточные гликопротеиды, находящиеся на поверхности мембран, обеспечивают специфичность межклеточных контактов, влияют на дифференцировку тканей. Антигенная функция принадлежит так называемым веществам групп крови, которые имеются на поверхности эритроцитов и в растворимом виде содержатся в некоторых жидкостях и секретах. Антигенность этих гликопротеидов определяется строением полисахаридных цепей. Замена одного моносахаридного звена молекулы существенно влияет на специфичность всего гликопротеида, определяющего группу крови.

Гликопротеиды обладают термостабильностью. Например, у микроорганизмов, обитающих в водах горячих источников, клеточная мембрана содержит гликопротеиды. В капсулах спорозоносных бактерий, устойчивых к внешним химическим и термическим воздействиям, имеются гликопептиды и гликолипопротеиды. У антарктических рыб гликопротеиды играют роль антифризов, препятствуя образованию кристаллов льда во внутренних средах их организма.

2. Липид-белковые комплексы

Липид-белковые комплексы условно делятся на *свободные липопроотеиды* (липопроотеиды плазмы крови, молока и др.), растворимые в воде, и *структурные протеолипиды* (входят в биомембраны), являющиеся жирорастворимыми.

Классификация и свойства. Липопроотеиды имеют низкую плотность (от 0,92 до 1,21 кг/л) благодаря липидному компоненту. Поэтому при ультрацентрифугировании они флотируют (всплывают). Скорость флотации S_f зависит от размера липидной части молекулы*. По скорости флотации различают четыре класса липопроотеидов, характеристика которых приводится в табл. 16. Чем выше молекулярная масса липопроотеида, тем больше содержание в нем липидного компонента и меньше белкового.

К липопроотеидам можно отнести комплекс незтерифицированных жирных кислот с альбумином.

Белковые компоненты липопроотеидов — *аполипроотеины* — отличаются друг от друга по структуре и аминокислотному составу. Различают аполипроотеины А, В, С, которые тоже неоднородны по составу. Тип А имеет два вида белков, обозначаемых А-I, А-II; тип В представлен только одним видом белка, а тип С — тремя: С-I, С-II, С-III. В табл. 17 приведены примерные соотношения разных аполипроотеинов, составляющих белковую часть молекулы липопроотеида. Недавно обнаружены и другие аполипроотеины: Е (богатый аргинином), D и Р.

Лишь у β -липопроотеида белковая часть относительно гомогенна, остальные аполипроотеины весьма гетерогенны. Структура молекулы липопроотеида еще полностью не ясна, но, исходя из состава этих частиц и среды, в которой

Таблица 16. Характеристика липопроотеидов плазмы крови

Тип липопроотеида	Плотность, кг/л	S_f	Размер частиц, нм	Молекулярная масса	Состав (сухой массы), %				
					белки	триглицериды	фосфолипиды	холестерин и его эфиры	отношение холестерин/фосфолипиды
α -Липопроотеиды (липопроотеиды высокой плотности)	1,210—1,063		7—15	$0,25 \cdot 10^6$	49	7	27	17	0,6
β -Липопроотеиды (липопроотеиды низкой плотности)	1,063—1,006	0—20	21—25	$2,5 \cdot 10^6$	32	7	25	35	1,4
Пре- β -липопроотеиды (липопроотеиды очень низкой плотности)	1,006	20—400	30—100	$2 \cdot 10^7$	2—13	64—80	6—15	8—13	1,4
Хиломикроны	1,006	400	120	$5 \cdot 10^8$	0,5	90	4	6	1,5

* S — единица Сведберга; f — флотация.

Таблица 17. Распределение аполиipoproteinов среди липопroteinов

Липопrotein	Типы аполиipoproteinов					
	A-I	A-II	B	C-I	C-II	C-III
Хиломикроны				(сумма всех типов C)		
Пре-β-лиipoproteinиды	+	+	++	+++		
β-Липопroteinиды	±		++	+	+	++
α-Липопroteinиды	+++	++	+++	+	+	+

Условные обозначения: ± — следы; + — до 20; ++ — от 20 до 45; +++ — от 45 до 100%.

они находятся, предложено два варианта ее строения. Липопroteinиды, содержащие менее 30% белка, т. е. хиломикроны, пре-β-лиipoproteinиды и β-лиipoproteinиды, должны иметь строение типа мицеллы, ядро которой состоит из липидов (преимущественно триглицеридов и эфиров холестерина, не обладающих гидрофильными полярными группами), а наружный слой состоит из белка, фосфолипидов и холестерина (имеющих полярные группы). Такое строение обеспечивает растворимость в водной среде плазмы крови, в которой циркулируют липопroteinиды. α-Липопroteinиды, содержащие около 50% белка, могут иметь субъединичное строение, липиды каждой из субъединиц связаны с гидрофобной частью молекулы белка. Предполагается, что в α-лиipoproteinидах белок имеет спиральную, а в β-лиipoproteinидах складчатую конфигурацию.

Структурные липопroteinиды входят в состав биологических мембран. Ввиду особенностей их физико-химических свойств их называют *протеолипидами*, поскольку они растворяются в неполярных растворителях (смеси хлороформ — метанол 1:1). Причина такого поведения протеолипидов в том, что белок составляет сердцевину их молекулы, а оболочку образует липидный компонент. Содержание белка в протеолипидах 65 — 85%. Они обнаружены в сердце, почках, легких, скелетных мышцах, в клетках растений, но больше всего их в миелиновых оболочках нервов. В клетках перечисленных органов они погружены в липидную фазу мембран организмов. Состав протеолипидов из различных органов неодинаков. Предполагается, что они обеспечивают физиологическую функцию нервного волокна и участвуют в переносе веществ.

Некоторые функции свободных (плазменных) липопroteinидов. Свободные липопroteinиды играют транспортную роль, поэтому все четыре типа липопroteinидов называют транспортными формами липидов. Благодаря своей растворимости в водной среде они могут переносить липиды, поступающие в кровь при всасывании из кишечника, а также распределять липиды между тканями, одни из которых их синтезируют, а другие используют. К транспортным формам липидов иногда относят комплекс альбумин — свободные жирные кислоты, хотя если подойти строго, то комплекс любого белка крови, который адсорбирует липофильную молекулу, можно отнести к транспортным формам липидов. Поэтому правильнее говорить о специфической транспортной функции липидов только четырех пока известных липопroteinидов.

Липопroteinиды переносят глицериды, фосфолипиды, стероиды, а также небольшое количество жирорастворимых витаминов, β-каротина, ациклических спиртов. Разное содержание отдельных липидов в липопroteinидах указыва-

ет на преимущественный перенос ими соответствующих липидов. В хиломикронах и пре- β -липопротеидах основная часть молекулы содержит триглицериды, которые они и транспортируют. β -Липопротеиды переносят главным образом холестерин и в меньшей степени фосфолипиды, а α -липопротеиды переносят преимущественно фосфолипиды и в меньшей степени холестерин.

3. Фосфопротеиды

Фосфопротеиды представляют собой белки, у которых остаток фосфата соединен эфирной связью с гидроксильной группой серина. К фосфопротеидам относятся казеины — белки молока. Фосфопротеиды клеток весьма распространены. Фосфорилирование белка меняет его функцию. С помощью специальных ферментов акт фосфорилирования и дефосфорилирования белков (например, фосфорилирование и дефосфорилирование гликогенфосфорилазы, липазы) регулирует их функцию в клетке. Фосфорилирование гистонов снижает их способность связываться с ДНК и регулировать матричную активность ДНК.

4. Кофакторпротеиды

Смешанные макромолекулы этого типа состоят из белка и функциональной небелковой части — кофактора. В качестве кофактора могут выступать витамины и их производные коферменты, порфиринсодержащие макроциклы, а в простейшем случае — биометаллы.

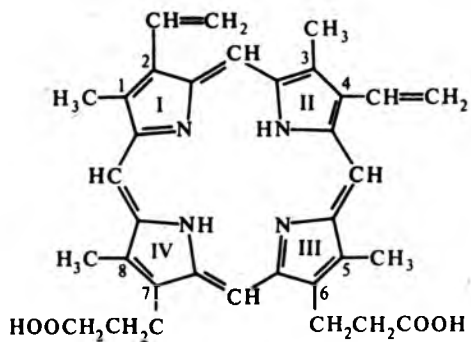
Кофакторпротеиды могут быть окрашены или бесцветны. Окрашенные сложные белки называются *хромопротеидами* (от греч. *chromos* — краска). К ним относятся: *гемпротеиды* (небелковая часть — гем), *хлорофиллпротеиды* (небелковая часть — хлорофилл), *кобамидпротеиды* (небелковая часть — витамин B_{12}), *ретиальпротеиды* (небелковая часть — витамин А альдегид), *флавопротеиды* (небелковая часть — флавины).

Большую часть всех кофакторпротеидов составляют *ферменты*. Строение их небелковых компонентов изложено ниже в гл. «Ферменты».

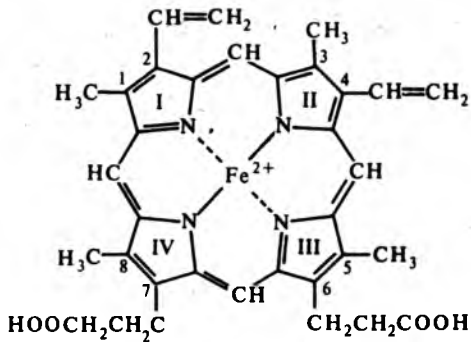
К порфиринсодержащим протеидам относятся *гемпротеиды*, *хлорофиллпротеиды* и *кобамидпротеиды*. В основе химической структуры порфиринов лежит макроцикл — *порфин*, состоящий из четырех пиррольных колец, соединенных метиленовыми мостиками (строение кольца витамина B_{12} тоже напоминает этот макроцикл).

Гемпротеиды

По биохимическим функциям гемпротеиды делятся на *неферментные* (гемоглобин, миоглобин и др.) и *ферментные* (цитохромы, каталаза, пероксидаза и др.). Небелковая часть гемпротеидов — *гем* является металлопорфириновым комплексом. Порфин имеет много изомеров в зависимости от положения заместителей в макроцикле. Один из его изомеров — *протопорфин IX* — имеет в положениях 1, 3, 5, 8 метильные группы, в положениях 2 и 4 — винильные и в положениях 6 и 7 — пропионильные:



протопорфирин IX



гем IX

Комплекс протопорфирина IX с Fe^{2+} называется *протогем* или просто *гем*, а с Fe^{3+} — *гемин*. Координационное число для железа равно шести. В геме железо связано двумя ковалентными связями с атомами азота двух пиррольных колец и двумя координационными связями с атомами азота остальных пиррольных колец. Из двух неиспользованных координационных связей одна идет на соединение с белком, а вторая — на соединение с различными лигандами (физиологическими — кислород, вода и чужеродными — диоксид углерода, цианид и т. д.).

Кроме наиболее распространенного гема IX имеются и другие разновидности гемов: гем *a*, имеющий формильную группу в положении 8, гидроксиалкильную в положении 2 и алкилвинильную в положении 4; гем *c*, в котором с винильными группами в положениях 2 и 4 связаны остатки цистеина. Гем *d* представляет собой железодигидропорфирин. Один из вариантов гема входит в разные гемпротеиды, которым он придает красную окраску.

Рассмотрим строение и функции отдельных представителей гемпротеидов.

Гемоглобин. Гемоглобин имеет четвертичную структуру. Молекулярная масса его 66 000—68 000. Как следует из названия, гемоглобин представляет собой соединение гема с белком глобином. Глобин имеет четыре субъединицы, или полипептидные цепи. Каждая из полипептидных цепей, или субъединиц, обозначается буквами. У гемоглобина взрослого человека (HbA) эти цепи называются альфа (α) и бета (β). Каждая молекула HbA содержит по две α - и β -цепи. Они различаются первичной структурой и длиной полипептидной цепи: α -цепи содержат по 141 аминокислотному остатку, β -цепи — по 146. Вторичные структуры их представлены в виде спиральных сегментов различной длины, соединенных неспиральными участками. В α -цепях семь спиральных сегментов; в β -цепях восемь. Спиральные сегменты обозначаются латинскими буквами (A, B, C, D, E, F, G, H). Третичные структуры α - и β -цепей очень сходны. Внутри каждой субъединицы имеется гидрофобный «карман», в котором располагается гем. Гем прочно удерживается в этом «кармане» благодаря ван-дер-ваальсовым связям между неполярными участками гема и гидрофобными радикалами аминокислот (этих связей около 60). Остатки пропионовой кислоты гема образуют одну-две дополнительные ионные связи с белком. Однако глобин связан не только с порфириновым кольцом гема, но и с атомом железа. Железо связывается с имидазольным радикалом гистидина. Это пятая координационная связь Fe с азотом бокового радикала гистидина (четыре связи Fe затрачиваются на

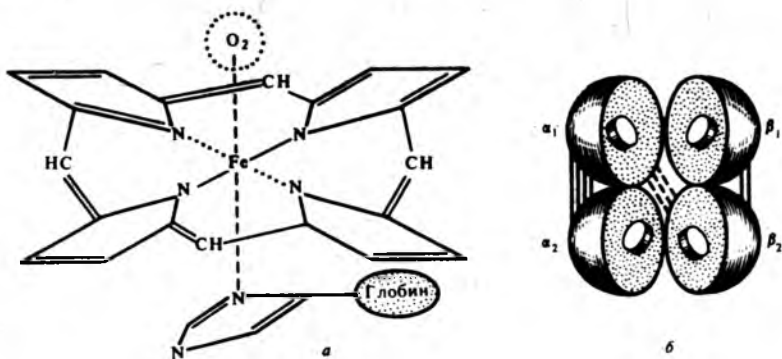


Рис. 14. Схема связи гема с глобином (а) в молекуле гемоглобина и расположение субъединиц в четвертичной структуре (б) гемоглобина.

Субъединицы условно изображены в виде полусфер, а гем — в виде дисков. Сплошными линиями показаны ионные, а пунктирными — ван-дер-ваальсовы связи

соединение с пиррольными кольцами протопорфирина IX). Шестая координационная связь Fe свободна и используется для связывания кислорода или других лигандов (рис. 14).

Белковая часть молекулы гемоглобина влияет на свойства гема и наоборот. В частности, пространственное расположение валина в гемовом кармане α - и β -цепей глобина неодинаково. В β -цепях он занимает положение молекулы кислорода. Поэтому присоединение кислорода к гему начинается с α -цепей.

Четвертичная структура гемоглобина похожа на тетраэдр. Субъединицы располагаются попарно (см. рис. 14).

Между разнородными субъединицами, т. е. между α_1 -субъединицей, с одной стороны, и β_1 -, β_2 -субъединицами — с другой очень много ван-дер-ваальсовых связей. Такие же связи удерживают вместе α_2 - и β_2 -субъединицы. Связи между субъединицами одного типа имеют ионный или солевой характер. Но число их непостоянно и зависит от числа присоединившихся к гему молекул кислорода. В бескислородном гемоглобине (он называется дезоксигемоглобин) имеется четыре ионные связи: две α_1 — α_2 и две β_1 — β_2 (см. рис. 14).

Ф у н к ц и я г е м о г л о б и н а. Основная функция гемоглобина состоит в связывании кислорода и переносе его от легких к тканям. В каждом эритроците около 400 млн. молекул гемоглобина, каждая из которых способна связать четыре молекулы O_2 , т. е. по одной на субъединицу. Гемоглобин, связанный с кислородом, называется *оксигемоглобин*.

Рассмотрим дыхательный цикл «молекулярного легкого», как назвал гемоглобин известный английский ученый М. Перутц, установивший его пространственную структуру.

В дезоксигемоглобине у атома железа одна связь вакантна. Она-то и «ловит» молекулу кислорода. В оксигемоглобине атом железа помещается в плоскости порфиринового кольца, а в дезоксигемоглобине он имеет большие размеры (так как изменяется спиновое состояние атома железа) и выступает из плоскости порфиринового кольца. Нужно отметить, что в оксигемоглобине железо остается двухвалентным.

В молекуле гемоглобина четыре гема работают согласованно. Такое поведение гемов называется *кооперативным*. В дезоксигемоглобине атомы железа,

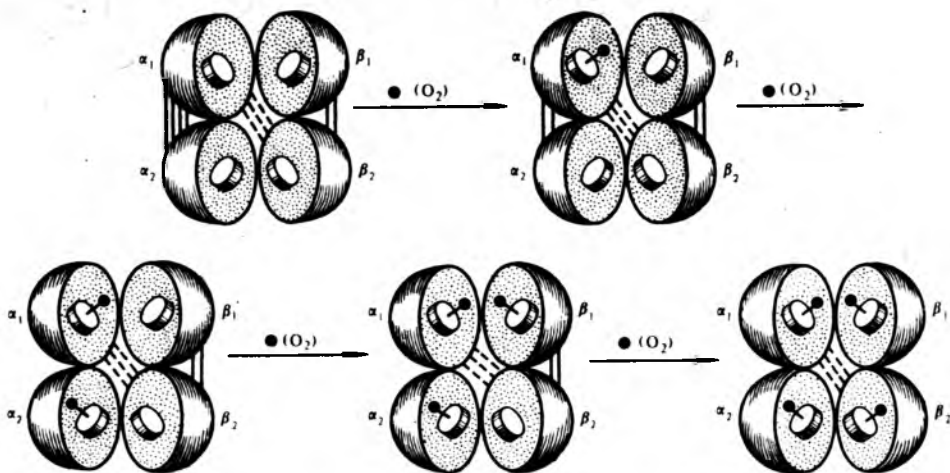


Рис. 15. Схема связывания кислорода с гемоглобином. Показан порядок присоединения к гемам кислорода и разрыв ионных связей между одинаковыми субъединицами

связав кислород, втягиваются в плоскость порфиринового кольца. Труднее всего присоединяется первая молекула кислорода, а каждая последующая все легче. Например, последняя (четвертая) молекула кислорода связывается в 500 раз быстрее, чем первая. На рис. 15 показана последовательность присоединения O_2 к субъединицам гемоглобина. Первая молекула O_2 соединяется с гемом α_1 -субъединицы. При этом две ионные связи α_1 — α_2 рвутся. Субъединицы становятся более подвижными, что облегчает присоединение второй молекулы кислорода к гему α_2 -субъединицы. Оставшиеся две α_1 — α_2 ионные связи также разрываются, что дает возможность остальным гемам принять выгодное положение для присоединения кислорода. Третья молекула O_2 соединяется с β_1 -субъединицей. Одна из ионных β_1 — β_2 -связей разрывается, облегчая доступ кислороду к последнему атому железа гема β_2 -субъединицы. При этом разрывается последняя ионная связь β_1 — β_2 . Загруженный кислородом гемоглобин отдает его сначала с трудом, а затем все легче и легче. Такое кооперативное поведение гемов имеет физиологическое значение.

Оксигемоглобин освобождается от кислорода на 80% всего при четырехкратном перепаде парциального давления кислорода (от 10,6 до 2,6 кПа, или от 80 до 20 мм рт. ст.). Если бы гемы действовали автономно, то такая разгрузка потребовала бы 90-кратного перепада давления. Так как это невозможно, то основная часть кислорода не могла бы оторваться от гемоглобина и использоваться тканями. Человек задохнулся бы даже в атмосфере чистого кислорода.

Производные гемоглобина. Молекула гемоглобина взаимодействует с различными лигандами. На рис. 16 показано образование производных гемоглобина. Очень высоко сродство гемоглобина к оксиду углерода (II) CO — примерно в 300 раз выше, чем к кислороду. Это говорит о высокой токсичности угарного газа, который выводит из строя гемоглобин, не давая ему участвовать в переносе кислорода. В карбоксигемоглобине железо двухвалентно. При дей-

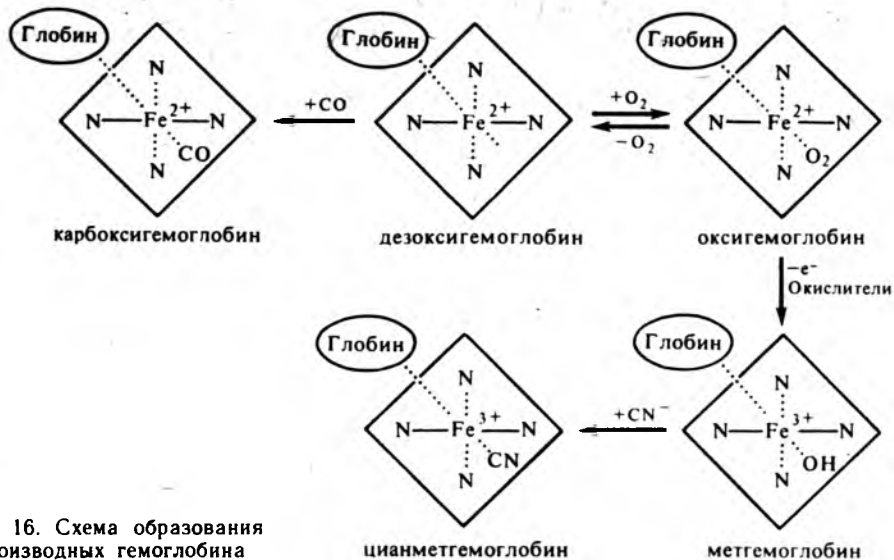


Рис. 16. Схема образования производных гемоглобина

ствии окислителей (например, нитрита натрия) образуется метгемоглобин, в котором железо трехвалентно, он не способен связывать кислород. Появление метгемоглобина в больших количествах вызывает кислородное голодание тканей. Однако метгемоглобин обнаруживает и другие свойства. Он легко связывает CN⁻ с образованием *цианметгемоглобина* и спасает организм от смертельного действия цианидов. Поэтому для лечения отравлений цианидами применяют метгемоглобинообразователи (тот же нитрит натрия).

Возможно образование еще одного производного гемоглобина — *карбгемоглобина*, когда гемоглобин связывается с CO₂. Однако CO₂ присоединяется не к гему, а к NH₂-группам глобина: $\text{HbNH}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{HbNHCOO}^- + \text{H}^+$. При чем дезоксигемоглобин связывает больше CO₂, чем оксигемоглобин. Образование карбгемоглобина используется для выведения CO₂ из тканей к легким. Этим путем выводится 10–15% CO₂.

Типы гемоглобина. Гемоглобины могут различаться по белковой части. Различают *физиологические* и *аномальные* типы гемоглобинов: Физиологические образуются на разных этапах нормального развития организма, а аномальные — вследствие нарушений последовательности аминокислот в глобине физиологических типов гемоглобина.

Физиологические типы гемоглобина отличаются друг от друга набором полипептидных цепей, или субъединиц, образующихся на разных этапах развития организма человека — от эмбрионального до взрослого состояния. Различают следующие физиологические типы гемоглобинов: примитивный гемоглобин HbP (к нему относятся гемоглобины, называемые Говер 1 и Говер 2), фетальный гемоглобин HbF (от лат. fetus — плод), гемоглобин взрослых HbA, HbA₂, HbA₃ (от лат. adultus — взрослый).

HbP появляется на самых ранних стадиях развития эмбриона. В первые недели развития, когда в желточном мешке возникают очаги кроветворения, начина-

ется синтез первых цепей глобина, которые называются ϵ -цепи. Первый гемоглобин формируется из четырех ϵ -цепей. Он называется Говер 1. Затем у эмбриона, длина которого не превышает 2,5 см, начинается синтез α -цепей. Поэтому образуется более зрелый тип примитивного гемоглобина Говер 2, который состоит из двух ϵ - и двух α -цепей. Эти гемоглобины полностью исчезают примерно у трехмесячного эмбриона. Если они остаются у новорожденного, то это признак врожденных аномалий развития. Примитивные гемоглобины заменяются на HbF, так как вместо ϵ -цепей синтезируются γ -цепи. HbF состоит из двух α - и двух γ -цепей. HbF является главным типом гемоглобина плода и составляет к моменту рождения примерно 70% всего гемоглобина. На поздних стадиях развития плода появляется гемоглобин взрослых HbA и HbA₂. HbA состоит из двух α - и двух β -цепей; HbA₂ — из двух α - и двух δ -цепей.

В течение трех-четырех месяцев после рождения происходит резкое снижение HbF до 1—2% и замена его на HbA. В крови взрослого человека примерно 95—96% HbA, 2—3% HbA₂ и 0,1—2% HbF. Гемоглобины HbA₂ и HbF обладают большим сродством к кислороду, чем HbA. При старении эритроцитов появляется в небольших количествах HbA₃, у которого имеются изменения в строении β -цепей. Состав цепей у него тот же, что и у HbA.

Аномальных типов гемоглобина обнаружено свыше ста. Они различаются или составом цепей, или, чаще, заменой аминокислот в цепях, например, существуют аномальные гемоглобины, содержащие четыре β -цепи — HbH или четыре γ -цепи — Hb Барта. Из аномальных гемоглобинов часто встречается HbS, или серповидноклеточный гемоглобин. Он обнаруживается у больных серповидноклеточной анемией и называется так потому, что эритроциты, содержащие HbS, принимают форму серпа. У этого гемоглобина в β -цепи глутаминовая кислота заменена на валин.

Миоглобин имеет третичную структуру и представляет собой одну цепь гемоглобина. В отличие от гемоглобина он в пять раз быстрее связывает кислород. Кривая насыщения его кислородом имеет вид гиперболы. В этом кроется большой биологический смысл, поскольку миоглобин находится в глубине мышечной ткани (где низкое парциальное давление кислорода). Жадно связывая кислород, миоглобин создает кислородный резерв, который расходуется по мере необходимости, восполняя временную нехватку кислорода.

Мономерные гемоглобины больше похожи по свойствам на миоглобин, так как имеют одну полипептидную цепь, связанную с гемом. Например, *леггемоглобин*, найденный в корневых клубеньках бобовых растений. Очевидно, функция его состоит в накоплении кислорода, а не в переносе его.

Ферментные гемпротениды. *Цитохромы* делятся на несколько типов в зависимости от гема, входящего в их молекулу. Различают цитохромы *a, b, c, d*. Цитохромы *a, b* и *c* в качестве простетической группы содержат соответственно гемы *a, b* и *c* и различаются между собой аминокислотным составом полипептидной цепи и числом белковых субъединиц. Цитохромы *d* иногда кроме гема *d* содержат и гем *c*.

Цитохромы не способны связывать кислород, за исключением цитохрома *a₃*, в который входит ион меди, связанный с глобином. Цитохромы переносят электроны и входят в состав дыхательной цепи митохондрий и цепи микросом.

Каталаза и пероксидаза имеют тот же гем, что и гемоглобин. Они участвуют в разложении пероксида водорода. Поскольку гем у этих ферментов и гемоглобина одинаков, а укладка его в белковом кармане ферментов

сходна с укладкой в гемоглобине, то неудивительно, что гемоглобин также обладает свойствами каталазы и пероксидазы разлагать пероксид водорода.

Хлорофиллпротеиды

В отличие от железопорфиринов животных в растениях содержатся магнийпорфириновые комплексы, придающие листьям зеленую окраску. Эти пигментные комплексы называются *хлорофиллами*. В листьях растений имеются две разновидности — *a* и *b*, в водорослях — еще *c* и *d*. В некоторых бактериях выделен хлорофилл, сходный с хлорофиллом высших растений и водорослей и названный *бактериохлорофиллом*. Порфириновое ядро хлорофилла (без магния) называется *феофитином*. Оно содержит дигидропорфирин и остаток спирта фитола. В растениях хлорофиллы образуют комплекс с белками и участвуют в фотохимических реакциях.

5. Металлопротеиды

Металлопротеиды составляют обширную группу смешанных макромолекул. Среди них имеются как ферментные, так и неферментные металлопротеиды. Например, в составе металлоферментов — дипептидазы и алкогольдегидрогеназы — имеется цинк, а в такой неферментный металлопротеид, как трансферрин, выполняющий транспортную функцию, входит железо.

Некоторые металлопротеиды выполняют функции гемоглобина, например гемоцианин, гемэритрин, гемованадин. *Гемоцианин* (от греч. *haima* — кровь и *kyanos* — лазурный) придает голубой оттенок крови. Встречается у моллюсков. Акцептором кислорода у него является ион меди, соединенный непосредственно с большим числом субъединиц белковой части. Каждые два иона меди соединяются с одной молекулой O_2 .

Гемэритрин — типичный железопротеид; он обнаружен у червей. Состоит из 8 субъединиц белка, соединенных с железом. Два атома железа гемэритрина связывают одну молекулу кислорода.

Выделен еще один металлопротеид, акцептирующий кислород, — *гемованадин*. Он имеет одну субъединицу. В качестве связывающей группы у него выступает ион ванадия. Каждый атом ванадия присоединяет молекулу O_2 .

6. Небелковые смешанные макромолекулы

Угледод-липидные комплексы. Смешанные макромолекулы угледод-липидных комплексов состоят из угледодного и липидного компонентов. В зависимости от доли каждого из них различают *гликолипиды* и *липополисахариды*. В гликолипидах (их строение и функция излагались ранее в гл. «Липиды») преобладает липидный компонент, поэтому физико-химические свойства их характерны для липидов. В липополисахаридах преобладает угледодный компонент, поэтому в них ярче проявляются свойства угледодов. Липополисахариды входят в состав наружного слоя мембран бактерий, специфических рецепторов бактериофагов. В отличие от гликолипидов липополисахариды растворяются в полярных растворителях, например в водных растворах фенола. Липополисахариды состоят из трех компонентов: особого липида — липида А, к которому ковалентно присоединен короткий гетерополисахарид (он называется кором липополиса-

хариды), и с последним, тоже ковалентно, соединен O-специфичный полисахарид. Липополисахариды обладают токсигенной активностью, антигенной и рецепторной функциями.

Металлополинуклеотиды. Комплекс металла с нуклеиновыми кислотами образуется с фосфатными группами и частично с основаниями. Катионы металлов влияют на стабильность и пространственную укладку нуклеиновых кислот, а следовательно, и на их функцию в клетке. Выше уже упоминалось, что нейтрализация отрицательно заряженных фосфатных групп катионами натрия, калия или двухвалентными катионами (магния, марганца) стабилизирует двойную спираль ДНК, препятствуя ее раскручиванию. Такие металлополинуклеотидные комплексы образуются между Mn^{2+} , Co^{2+} и РНК, между Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} и ДНК. Большое значение в стабилизации рРНК имеют ионы калия.

Металлополисахариды существуют в организме животных и растений. Особенно типичны подобные комплексы для пектинов, содержащих уроновые кислоты. Вероятно, катионы металлов влияют на гелеобразование и гидрофильность полисахаридов и, возможно, изменяют биологическую функцию последних в составе металлополисахаридных комплексов.

ГЛАВА 8. ОРГАНИЗАЦИЯ СУБКЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР КЛЕТКИ

Молекулярные компоненты клетки: вода, неорганические вещества, белки, углеводы, полинуклеотиды, липиды, кофакторы и смешанные макромолекулы, рассмотренные в предыдущих главах, можно рассматривать как детали более сложных конструкций — надмолекулярных структур, органоидов и клетки в целом.

1. Структурная организация биологических мембран

Биологические мембраны отделяют клетку от внешней среды и разделяют ее внутреннее пространство на «отсеки». Каждый из органоидов имеет мембрану, устройство которой определяется функцией субклеточной частицы. Однако принцип строения для всех мембран примерно одинаков.

В 1931 г. Даниелли и Даусон предложили модель строения клеточной мембраны типа сэндвича, которая впоследствии была несколько усовершенствована Робертсоном. Принцип построения такой мембраны относительно несложен. Внутреннюю прослойку ее составляет бимолекулярный слой липидов, полярные головки которых обращены наружу. Белки мембран примыкают с обеих сторон к этим полярным головкам липидов. Такая модель объясняла, почему через клеточную мембрану хорошо проходят соединения, растворимые в липидах, и не проникают гидрофильные вещества. Избирательная проницаемость для отдельных гидрофильных молекул объяснялась тем, что в бимолекулярном слое липидов имеются разрывы или поры, которые выстланы слоем белковых макромолекул. Через них могут проходить разные водорастворимые соединения в зависимости от размеров пор, которые регулируются внешними факторами.

Долго считалось, что все мембраны построены по этому единому принципу.

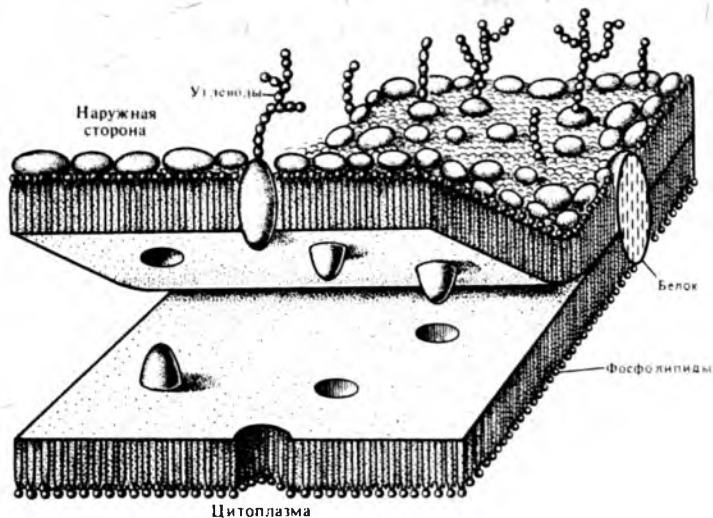


Рис. 17. Схема строения мозаичной модели мембраны (по Сэтиру)

Отсюда и название сэндвичевой модели — «унитарная» мембрана. Были предложены и другие модели мембран — модель *липидно-белкового ковра*, в которой белки и липиды переплетены друг с другом, и *мозаичная модель*, учитывающая неодинаковое расположение белков в липидном слое.

Усовершенствованная мозаичная модель клеточной мембраны пока лучше всего объясняет ее функции (рис. 17). Липиды в ней образуют типичный бимолекулярный слой, состоящий из ненасыщенных фосфолипидов и холестерина. Состояние, в котором находятся липиды мембраны, называется *жидкокристаллическим*, поскольку в целом липидная прослойка жидкая, но в ней есть плотные участки, или участки затвердевания, похожие на кристаллические структуры. Конфигурация молекул фосфолипидов мембраны напоминает трость. Полярные головки фосфолипидов формируют ручку этой «трости», а стержень ее — неполярные хвосты, направленные навстречу друг другу. В мембранах больше фосфолипидов, несущих двойной отрицательный или общий нейтральный заряд (например, холинфосфатиды, сфингофосфатиды).

Молекулы холестерина гидрофильной спиртовой группой примыкают к полярным группам фосфолипидов, а кольцо стерана уходит в толщу липидного двойного слоя между углеводородными цепями фосфолипидов. Благодаря такой компоновке холестерин регулирует образование кристаллических структур. Он мешает излишнему «затвердеванию» жидкой пленки, как бы разъединяя неполярные цепи фосфолипидов. В то же время участки с большим количеством «жидких» ненасыщенных цепей жирных кислот уплотняются холестерином. В норме это участки кристаллических структур липидного слоя.

Молекулы липидов мембраны находятся в постоянном движении. Возможны два типа перемещений молекул — это «кувырок» (в научной литературе он называется «флип-флоп») и латеральная диффузия. В первом случае противостоящие друг другу в бимолекулярном слое молекулы фосфолипидов переворачиваются (или совершают кувырок) навстречу друг другу и меняются

местами в мембране, т. е. наружная становится внутренней и наоборот. Такие перескоки очень редки. Чаще наблюдаются повороты вокруг оси и латеральная диффузия. Последняя состоит в том, что соседние молекулы одного слоя меняются местами. Перемещения липидов в мембране имеют и физиологическое значение, например при замене отслуживших свой срок фосфолипидных молекул. По вязкости липидная прослойка мембраны напоминает оливковое масло. Если же она находится в более жидком состоянии или более плотном, чем в норме, то это вызывает нарушения функции мембран. Например, в клетках опухолей мембрана более жидкая. С другой стороны замена ненасыщенных фосфолипидов на насыщенные при некоторых патологиях приводит к повышенному образованию плотных кристаллических структур, что снижает проницаемость мембран в десятки раз.

Другой важнейший строительный материал мембран — белок — контактирует с липидным бимолекулярным слоем по-разному. Согласно мозаичной модели мембраны имеются следующие варианты расположения белков:

1) по поверхности полярных головок фосфолипидов с обеих сторон бимолекулярного слоя (как в бутербродной модели);

2) белки частично утоплены в липидном слое и образуют комплексы с липидами. Такой вариант расположения возможен для белков и наружной, и внутренней поверхностей мембраны;

3) белки полностью погружены в слой липидов, составляя вместе с ними как бы внутренний остов мембраны. Такие белки образуют с липидами комплекс, похожий на протеолипиды;

4) белки насквозь прошивают мембрану. Средняя часть белковой макромолекулы контактирует с липидами, а ее концы обращены внутрь клетки и во внешнюю среду. Как правило, наружная поверхность некоторых белков, особенно прошивающих насквозь мембрану, модифицируется углеводами. Эти гликопротеиды несут специфические группы, узнающие другие клетки и обладающие антигенными свойствами.

Белки поверхностного слоя прикрепляются к полярным головкам фосфолипидов с помощью электростатических сил или через молекулы структурно связанной воды. Белки, погруженные в липиды, относятся в отличие от поверхностных к амфипатическим. Их погруженная часть образует с липидами мембран гидрофобные связи, а выступающие части взаимодействуют с молекулами воды. Белки, находящиеся в толще мембран, называются структурными. Они содержат большое количество неполярных аминокислот.

Расстояние между проникающими глобулярными белками равно примерно 300 липидным молекулам. В промежутках между ними строение мембраны похоже на унитарную модель, а в местах проникновения белков — на ковровую. Белки как бы плавают в липидном слое и перемещаются по типу латеральной диффузии.

Состав липидов разных мембран неодинаков и определяет особенности их функций. Можно выделить несколько групп белков плазматических мембран:

1) антигенные белки, которые определяют специфику поверхности клетки и ее взаимодействие с антителами. Чаще всего это гликопротеиды или гликопротеолипиды;

2) структурные белки, находящиеся в толще мембраны. Считают, что эти неполярные белки вместе с двойным слоем липидов являются информативной основой для сборки остальных частей природных мембран;

3) рецепторные белки, которые находятся снаружи плазматической мембраны. Они или погружены в липидный слой, или находятся на поверхности липидной пленки. Набор этих белков определяет специфичность ответа биохимических процессов клетки на внешние регуляторы (например, на гормоны, медиаторы и т. д.);

4) ферментные белки, которые находятся и в поверхностных слоях, и погружены в липидный слой. Набор ферментов определяет функции как плазматической, так и внутриклеточных мембран органоидов;

5) транспортные белки, участвующие в переносе веществ через мембрану (часть из этих белков имеет ферментативную природу). Наружная поверхность клеточных мембран имеет отрицательный заряд по отношению к внешней среде. Она окружена слоем противоионов.

Молекулярная архитектура мембран и состав ее компонентов говорят о том, что это очень динамичные структуры. Уже оставлены бытовавшие представления, что мембраны всего лишь перегородки, не дающие вытекать внутриклеточному содержимому и ограничивающие влияние внешних факторов.

Сложная структура мембран позволяет им обеспечивать многие фундаментальные процессы жизнедеятельности, что невозможно для отдельных макромолекул и других надмолекулярных комплексов.

Биологические функции биологических мембран. Можно отметить следующие функции биомембран.

1) *Разделительная*, так как мембраны разделяют внутри- и внеклеточное пространства.

2) *Интегративная, или объединяющая*. Мембраны объединяют отдельные разрозненные биохимические процессы в единое структурное целое, являясь своеобразными коммуникациями между разными участками клетки.

3. *Транспортная* — они участвуют в переносе веществ между различными пространствами клетки и внеклеточной средой.

4. *Осмотическая*. Эта функция по концентрированию веществ (например, катионов Na^+ и K^+) между внутри- и внеклеточным пространствами.

5. *Электрическая*. Благодаря мембранам создаются условия для неравномерного распределения зарядов по обе стороны ее, что приводит к возникновению разности электрических потенциалов.

6. *Энерготрансформирующая*. Мембрана обеспечивает трансформацию электрической и осмотической энергии в химическую энергию АТФ. Без мембран выполнение этой функции невозможно.

7. *Рецепторная*. Мембрана воспринимает сигналы из окружающей среды благодаря наличию на ее внешней поверхности специальных белков-рецепторов. Воспринятый сигнал передается внутрь клетки. Причем воспринимаются через рецепторы не только химические, но и фотосигналы (например, фоторецепторами сетчатки глаза).

8. *Регуляторная*. Мембраны участвуют в образовании внутриклеточных регуляторов обмена веществ — $3'$, $5'$ -АМФ и $3'$, $5'$ -ГМФ.

9. *Метаболическая*. Ферменты мембран участвуют в различных превращениях как природных, так и чужеродных веществ.

10. *Антигенная*. Гликопротеиды клеточных мембран определяют их способность вызывать образование специфических антител.

11. *Адгезивная*. Адгезия, или контакт с другими клетками, зависит от узнающих зон, содержащих углеводные компоненты.

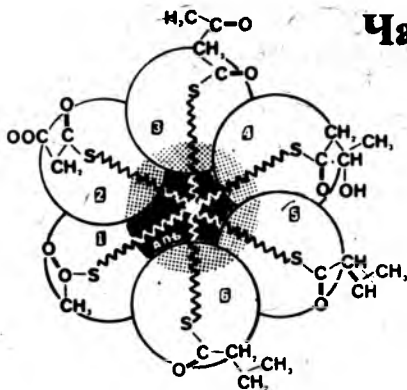
2. Характеристика и функции органоидов клетки

Органоиды — более сложноорганизованные структуры, чем мембраны. Поэтому функции их более разнообразны (табл. 18).

Таблица 18. Характеристика структуры и функций органоидов

Органоиды	Структура	Функция
Ядро	Округлой формы, диаметром 4—6 мкм. Имеет мембрану с крупными порами, но не проходимыми для низкомолекулярных веществ. Во внутреннем содержимом (кариоплазме) локализованы хромосомы. Зоны уплотнения — ядрышки — содержат ДНК и богаты РНК	Хранение и передача наследственной информации при делении клетки и в процессе жизнедеятельности. В ядре образуются все виды РНК, в ядрышке — рРНК.
Митохондрии	В клетке имеется в среднем 500—800 митохондрий. Форма палочковидная, размеры 0,5—2,0 мкм. Имеют наружную и внутреннюю мембраны. Последняя образует гребни—кристы. Пространство между кристами называется матриксом. Митохондрии содержат ДНК	Участвуют в передаче генетической информации в синтезе белка. Основная функция состоит в окислении конечных продуктов белков, липидов и углеводов с помощью кислорода, в переносе электронов и трансформации энергии. За ведущую роль в образовании энергии их называют «энергетическими станциями» клетки
Пероксисомы (микротельца)	Округлой формы, диаметром 0,5 мкм. Окружены одинарной мембраной. Центральная часть имеет кристаллическую плотную массу, возможно, состоящую из ферментов. Содержат пероксидазу, каталазу, оксидазу D-аминокислот, уратоксидазу и некоторые другие ферменты	Выполняют окислительные функции, имея в составе ферменты, окисляющие D-аминокислоты, мочевую кислоту. Участвуют в обезвреживании пероксида водорода и радикалов кислорода, которые очень агрессивны для биологических структур
Лизосомы	Округлой пузырьковидной формы, диаметром 0,25—0,5 мкм. Окружены одинарной мембраной. Содержат гидролитические ферменты. Лизосомами богаты макрофаги, растущие клетки (эмбриональные)	Участвуют в переваривании (гидролизе) внутриклеточных веществ и крупных молекул, захватываемых клеткой. Играют роль в активировании белковых молекул путем отщепления неактивных фрагментов полипептидной цепи, а также в обновлении макромолекул. Имеются данные об участии лизосом в синтезе белков
Эндоплазматическая сеть (при выделении фрагменты ее образуют пузырьковидные частицы — микросомы)	Сеть канальцев и цистерн, пронизывающих цитоплазму клетки; канальцы имеют типичные мембраны, к наружной поверхности которых участками прикреплены рибосомы (отсюда название этих участков — шероховатые мембраны). Рибосомы	Участвуют в переносе веществ по каналам, в синтезе белка в рибосомах, который поступает затем в цистерны и каналы, в обезвреживании лекарств и ядов путем специальной ферментной системы. Окисление природных и чужеродных веществ происходит с

Органонды	Структура	Функция
Комплекс (аппарат) Гольджи	<p>цитоплазмы больше по размеру, чем митохондриальные</p> <p>Имеет вид уплощенных сетевидных структур или серповидных цистерн с вакуолями, расположенных возле ядра. Имеет одинарную мембрану. Комплекс Гольджи развит в клетках, обладающих секреторной функцией</p>	<p>участием кислорода. В эндоплазматической сети идет синтез липидов</p> <p>Служит местом накопления и выделения различных биологических секретов (белков, липидов, полисахаридов и др.). Участвует в синтезе полисахаридов и гликопротеидов</p>
Микротрубочки	<p>Имеют фибриллярную структуру, состоящую из нескольких (7—15) нитей из белков-тубулинов. Между трубочками имеются мостики</p>	<p>Выполняют функции скелета цитоплазмы. Вероятно, участвуют в транспорте внутри клетки различных веществ и воды. Действуют подобно насосу</p>
Гиалоплазма	<p>Бесструктурная жидкая среда клетки, в которой находятся все органонды, включения и метаплазматические образования. В гиалоплазме содержатся свободные рибосомы, большое количество разных белков, в том числе и ферментов</p>	<p>Синтез белков на рибосомах, синтез и распад углеводов, превращение аминокислот, липидов. Гиалоплазма является жидкой средой, связывающей обмен веществ разных органондов</p>



А. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ

ГЛАВА 9. ВВЕДЕНИЕ В ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ

1. Характеристика обмена веществ

Жизнедеятельность организма определяют особенности организации биологических структур, обмена веществ и энергии, передачи генетической информации и механизма регуляции. Повреждение любого из этих звеньев приводит к развитию патологического процесса и заболеванию. Знание молекулярных механизмов жизнедеятельности и их нарушений — основа для поиска и применения в клинике препаратов биологической природы.

В обмене веществ организма выделяют *внешний* обмен, который включает внеклеточное превращение веществ на путях их поступления и выделения, и *промежуточный*, происходящий в клетках. Под промежуточным обменом веществ, или метаболизмом, понимают совокупность всех химических реакций живой клетки.

Назначение метаболизма можно свести к следующим основным функциям:

- 1) аккумуляция энергии, извлекаемой при распаде химических веществ или улавливании света;
- 2) использование энергии для синтеза необходимых молекулярных компонентов (мономеров, макромолекул и т. д.) и совершения работы (осмотической, электрической, механической и др.);
- 3) распад обновляемых структурных компонентов клетки;
- 4) синтез и распад биологических молекул со специальным назначением (гормоны, медиаторы, гормоны, кофакторы и др.).

Цепи химических реакций образуют *метаболические пути*, или *циклы*, каждый из которых выполняет определенную функцию. Принято вы-

делять *центральные* и *специальные* метаболические пути. Центральные являются общими для распада и синтеза основных макромолекул. Они очень сходны у любых представителей живого мира. Специальные циклы характерны для синтеза и распада индивидуальных мономеров, макромолекул, кофакторов и т. д. Разнообразие их столь велико, особенно в растениях, что принято делить метаболизм растений на *первичный* и *вторичный*. К первому относят классические процессы синтеза и распада основных макромолекул (белков, углеводов, липидов, нуклеиновых кислот и т. д.), а ко второму, как бы производному от первого, относят превращение специальных биомолекул (например, алкалоидов, терпенов и т. д.), выполняющих регуляторные или иные функции, или просто являющихся побочными конечными продуктами обмена.

В обмене веществ принято выделять два противоположных процесса или фазы: катаболизм и анаболизм. *Катаболизм* представляет собой расщепление крупных молекул на более мелкие. *Анаболизм* — это синтез сложных молекул из простых.

Катаболизм сопровождается освобождением энергии, которая может аккумулироваться в виде АТФ. При анаболических процессах происходит потребление АТФ с образованием АДФ и H_3PO_4 . Можно сказать, что АТФ является сопрягающим энергетическим звеном обоих путей метаболизма. Однако АТФ не единственный связующий компонент обоих путей. Кроме него при катаболизме макромолекул и мономеров образуются простейшие метаболиты, которые могут использоваться как исходный материал для биосинтеза мономеров и макромолекул, т. е. в процессе анаболизма. Этот связующий путь, или цикл, объединяющий пути распада и синтеза веществ, называют *амфиболическим* (или двойственным). Значит, катаболические и анаболические пути сопряжены не только через энергетическую систему АТФ—АДФ, но и через общие метаболиты, что придает гибкость и экономичность обмену веществ. В случае надобности для биосинтеза используются простейшие промежуточные соединения и отпадает необходимость их поступления извне. Амфиболические пути связаны с терминальной, или окончательной, системой окисления веществ, где они сгорают до конечных продуктов (CO_2 и H_2O) с образованием большого количества энергии. Кроме них конечными продуктами метаболизма являются мочевины и мочевая кислота, образующиеся в специальных реакциях обмена аминокислот и нуклеотидов. Схематически план промежуточного метаболизма показан на рис. 18.

В ходе катаболических и анаболических процессов происходит обновление молекулярных компонентов клетки. Следует отметить самостоятельность путей катаболизма и анаболизма. Если бы эти пути совпадали и различались лишь направлением процесса, то в обмене возникли бы так называемые бесполезные, или футильные, циклы. Такие циклы имеют место при патологии, когда возможен бесполезный круговорот метаболитов. Чтобы этого не происходило, в клетках пути синтеза и распада веществ чаще всего пространственно разделены. Например, окисление жирных кислот происходит в митохондриях, а их синтез вне митохондрий — в микросомах.

2. Энергетические циклы в живой природе

Живые организмы используют разные источники питательных веществ и энергии. По источникам питания они делятся на две большие группы — *автотрофы* (самопитающиеся), использующие CO_2 в качестве исходного питательного

материала для построения других углеродсодержащих веществ, и *гетеротрофы* (питающиеся за счет других), которые используют разнообразные органические соединения, синтезированные в других организмах (автотрофы как бы первичны по отношению к гетеротрофам). Автотрофы синтезируют из CO_2 восстановленные органические вещества (например, глюкозу), содержащие больший запас энергии, чем потребляемый углекислый газ.

По отношению к источникам энергии живые организмы делятся на *фототрофы*, для которых источником энергии служит солнечный свет, и *хемотрофы*, потребляющие энергию окислительно-восстановительных реакций. В окислительно-восстановительных реакциях используется энергия донора электронов, которая извлекается клеткой при переходе электронов к химическому акцептору, т. е. к окислителю. Оба вещества в этих процессах всегда участвуют вместе и образуют пару донор—акцептор, или окислительно-восстановительную пару. Если такую пару составляют органические вещества, то живые организмы называются *хемоорганотрофами*, если неорганические, то *хемолитотрофами*. Разнообразие их дополняет отношение к кислороду как акцептору электронов. Клетки организмов, потребляющих для этих целей кислород, относятся к *аэробным*, а не нуждающихся в нем — к *анаэробным*. Часто клетки высших организмов и бактерий имеют тип энергетики — анаэробный и аэробный. Поэтому такие клетки и организмы называют факультативными анаэробами, хотя степень факультативности, или зависимости от кислорода, у них различна. Например, высшие организмы без него долго обходиться не могут. Имеются и *облигатные* анаэробы, в частности микроорганизмы, для которых кислород вообще не нужен и даже ядовит.

Зеленые растения обладают смешанным типом энергетики — фототрофным и хемоорганотрофным (дыхательным и гликолитическим), что позволяет им в разные периоды жизни потреблять энергию солнечного света, а при отсутствии его — энергию химических веществ. Особым разнообразием типов энергетики и их комбинаций отличаются микроорганизмы. В табл. 19 рассмотрены типы энергетики у представителей живого мира.

Вследствие многообразия форм питания и потребления энергии живые организмы в природе тесно связаны друг с другом. Взаимосвязь в питании и использовании источником энергии можно представить в виде своеобразных энергетических циклов живой природы. Главные партнеры этого цикла — Солнце как источник энергии, автофототрофы, улавливающие солнечную энер-

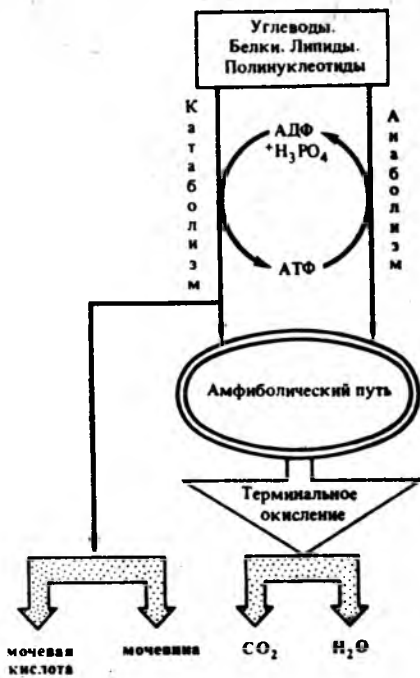


Рис. 18. Схема путей катаболизма и анаболизма. Показана их связь через систему АТФ—АДФ и амфиболический цикл метаболизма

Таблица 19. Типы энергетики организмов

Источник энергии	Тип энергетики организма	Представители
1. Свет	Фототрофный	Фотосинтезирующие органы высших растений, водоросли, бактерий
2. Окислительно-восстановительные реакции химических соединений (донор — акцептор)	Хемотрофный	Клетки животных, бактерий, нефотосинтезирующие клетки растений
Донор — органические вещества; акцептор — O_2	Хемоорганотрофный (аэробный)	То же
Донор и акцептор — органические вещества	Хемоорганотрофный (анаэробный)	»
Донор — неорганические вещества; акцептор — O_2	Хемолитотрофный (аэробный)	Бактерии
Донор и акцептор — неорганические вещества	Хемолитотрофный (анаэробный)	»
Донор — органические вещества; акцептор — смешанный (органические вещества и O_2)	Хемоорганотрофный (факультативно-анаэробный)	Клетки высших животных, бактерии
3. Смешанный: свет и окислительно-восстановительные реакции	Фотохемотрофный	Фотосинтезирующие клетки растений в разные фазы — световую и темновую
Свет и окислительно-восстановительные реакции органических веществ	Фотохемоорганотрофный	То же
Свет и окислительно-восстановительные реакции неорганических веществ	Фотохемолитотрофный	Фотосинтезирующие бактерии

гию и синтезирующие из CO_2 углеводы и прочие органические вещества, и животные, потребляющие органические вещества и кислород, производимые фототрофами. Потери энергии, связанные с жизнедеятельностью всех организмов на Земле, возмещаются энергией солнечных лучей. Следует отметить, что клетки животных и человека используют в качестве энергетического материала сильно восстановленные вещества (углеводы, липиды, белки и др.), т. е. содержащие водород. Водород — энергетически ценное вещество. Его энергия переходит в энергию химических связей АТФ в гетеротрофных организмах.

3. Энергетика биохимических реакций

Чтобы понять сущность процессов обмена веществ и энергии, нужно познакомиться с некоторыми общими положениями энергетики.

Все химические реакции живой клетки, из которых складывается обмен веществ, подчиняются законам энергетики. Первый закон утверждает, что энергия химических реакций не исчезает и не возникает из ничего, она лишь может переходить из одной формы в другую. Знание этого закона позволяет описать энергетический баланс химического процесса.

Самопроизвольно химические процессы могут протекать лишь в одном направлении — в направлении состояния равновесия, по мере достижения которого они прекращаются. Предсказать направление биохимических процессов позволяет второй закон термодинамики (энергетики), согласно которому все самопроизвольные процессы протекают в направлении, соответствующем максимальной при данных условиях энтропии, до тех пор, пока не установится

равновесие реакции. Энтропия — мера разупорядоченности системы. Увеличение энтропии, проявившееся в ходе реакции, препятствует возврату к исходному состоянию, ибо для этого потребовалось бы вновь уменьшить энтропию химической системы. Самопроизвольно разупорядоченная система никогда не превращается в упорядоченную. Поэтому все реакции, которые сопровождаются возрастанием энтропии, необратимы. Для обращения их необходимо затратить дополнительную энергию, которая позволила бы компенсировать затраты на изменение энтропии и перевести систему из неупорядоченного состояния в упорядоченное.

Однако практически проще всего предсказать направление химических реакций с помощью так называемой *свободной энергии*, которую в отличие от энтропии можно измерить в ходе реакции. Свободная энергия — это та часть энергии системы, которую можно использовать для совершения работы при постоянных температуре и давлении. Ее обозначают символом ΔG . Та часть энергии химического процесса, которая не может быть превращена в работу при постоянных давлении и температуре, называется *связанной энергией* и выражается произведением $T\Delta S$, где T — абсолютная температура; ΔS — изменение энтропии системы при данном химическом превращении. Сумма изменений свободной и связанной энергий называется *энтальпией* (внутренней энергией системы) или *теплосодержанием* системы и обозначается ΔH . Энтальпия измеряется опытным путем и равна количеству теплоты, выделяющейся в данном процессе. Изменение ее описывается уравнением

$$\Delta H = \Delta G + T\Delta S.$$

Отсюда

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S.$$

Энергетическое состояние любой системы, в том числе клетки и организма, можно выразить, используя это очень важное уравнение. Выражают свободную энергию в килоджоулях на моль вещества (кДж/моль).

Свободная энергия очень удобна для определения самопроизвольности или несамопроизвольности химического процесса. При самопроизвольных процессах происходит уменьшение свободной энергии, т. е. ΔG имеет отрицательное значение. Такие реакции называют *экзергоническими*, т. е. протекающими с освобождением энергии. Эти реакции поставляют клетке энергию. Процессы, идущие с увеличением свободной энергии (т. е. ΔG имеет положительное значение), не могут протекать самопроизвольно. Они требуют притока энергии извне. Такие процессы называют *эндергоническими*, т. е. идущими с потреблением энергии. В состоянии равновесия $\Delta G = 0$.

Свободная энергия химических реакций оценивается в стандартных условиях и в реальных, или физиологических, условиях. Под стандартной свободной энергией ΔG° биохимических реакций понимается измерение ее в стандартных условиях: при концентрации компонентов реакции 1 моль/л, температуре 25°C (298°K) и рН 7.

Если исходным веществом или продуктом реакции является вода, то ее концентрацию тоже принимают равной 1,0 моль/л, хотя истинная концентрация воды в разбавленных растворах близка к 55 моль/л.

Стандартную свободную энергию находят по разности между суммарными

значениями свободной энергии конечных продуктов и исходных веществ. Величина G_{ϕ} для биохимической реакции, идущей в физиологических условиях, рассчитывается с учетом фактической концентрации компонентов.

Используя свободную энергию для характеристики обмена веществ, можно сказать, что катаболические реакции идут с освобождением энергии, а анаболические — с потреблением. Анаболические могут протекать только в сопряжении с первыми. Роль энергетических посредников между ними выполняют высокоэнергетические, или макроэргические, вещества.

4. Понятие о высокоэнергетических и низкоэнергетических фосфатах

Принято делить все соединения на высокоэнергетические и низкоэнергетические. Условной границей для двух групп соединений является значение свободной энергии гидролиза фосфатной связи около 20 кДж/моль. Не следует путать эту величину, которая используется для характеристики биохимических процессов, с энергией связи, под которой понимается энергия, необходимая для разрыва связи между двумя атомами в любой молекуле. При разрыве же фосфатной связи наряду с освобождением энергии происходит образование неорганических фосфатов.

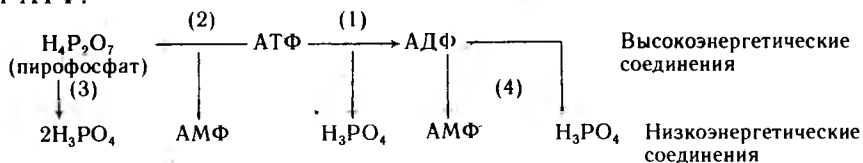
В табл. 20 приведены энергетические характеристики некоторых веществ.

Таблица 20. Стандартная свободная энергия гидролиза (ΔG°) некоторых высокоэнергетических и низкоэнергетических соединений и свободная энергия гидролиза соединений при физиологических концентрациях (ΔG_{ϕ})

Соединение	$-\Delta G^{\circ}$, кДж/моль	$-\Delta G_{\phi}$, кДж/моль
<i>Высокоэнергетические</i>		
Фосфоенолпируват	61,7	66,7
1,3-Дифосфоглицерат	49,2	41,7
Креатинфосфат	42,5	
АТФ	30,4	50,0
Ацетил-КоА	30,4	
АДФ	28,3	50,0
Пирофосфат ($H_4P_2O_7$)	28,3	50,0
УДФ-глюкоза	24,2	
Глюкозо-1-фосфат	20,8	
<i>Низкоэнергетические</i>		
Фруктозо-6-фосфат	15,8	
АМФ	14,1	
Глюкозо-6-фосфат	13,8	23,8
α -Глицеролфосфат	9,2	

Обращает на себя внимание, что АТФ — ключевой энергетический посредник в обмене веществ — не является веществом, наиболее «богатым» энергией. АТФ находится в середине энергетической шкалы.

Возможно несколько вариантов освобождения энергии фосфатных связей АТФ:



Наиболее частый вариант — это отщепление концевого фосфата АТФ:



Концевой фосфат соединяется с водой или переносится на другое вещество, которое при этом фосфорилируется. Другой пример освобождения энергии фосфатной связи — пирофосфатное расщепление АТФ:



Этот тип реакции реже используется в биологических процессах. Особенностью его является образование пирофосфата, который относится к «богатым» энергией веществам. При гидролизе пирофосфата (3) освобождается примерно столько же энергии, сколько при гидролизе концевых фосфатных связей АТФ. В биологических процессах богатые энергией связи пирофосфата мало используются для синтеза других веществ, так как при его гидролизе освобождается тепловая энергия.

Возможно использование АДФ как высокоэнергетического соединения в биохимических процессах. При отщеплении концевой фосфатной связи АДФ (4) высвобождается то же количество энергии, что и при отщеплении концевой фосфатной связи АТФ. На первый взгляд АДФ может заменять в аналогичных реакциях АТФ, в частности при фосфорилировании других веществ. Однако эта возможность не реализуется в биологических процессах. По крайней мере, пока такие реакции неизвестны. Известно, что возможен гидролиз АДФ до низкоэнергетических АМФ и фосфата с выделением теплоты.

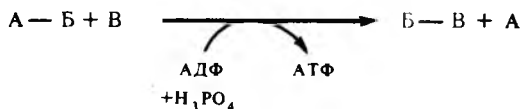
Долгое время существовали трудности при определении свободной энергии фосфатной связи АТФ. Стандартная свободная энергия гидролиза (ΔG°) фосфатной связи АТФ равна примерно — 30,4 кДж/моль. Стандартные условия: 1 М концентрации исходных веществ и конечных продуктов, рН 7,0, температура 37°C и избыток ионов магния. При физиологических условиях в клетке, конечно, не имеется таких высоких концентраций исходных веществ и продуктов, ионов Mg^{2+} ; возможны отклонения и в значениях рН. Поэтому реальная свободная энергия гидролиза концевой фосфатной связи АТФ, АДФ и фосфатных связей пирофосфата приближается к — 50,0 кДж/моль (табл. 20). Обращает внимание то, что ΔG_f и для других соединений отличается от стандартной, но не обязательно в сторону больших значений.

5. Перенос энергии в биохимических процессах

В процессе жизнедеятельности происходит непрерывное перераспределение энергии химических веществ, поступающих в клетку. Накопление энергии в специфических фосфатных связях АТФ лежит в основе механизма переноса энергии в живой клетке. Живая клетка — неравновесная химическая система,

в результате чего и возможно накопление химической энергии в фосфатных связях АТФ за счет освобождения ее в ходе расщепления питательных веществ.

В клетке имеют место три основных типа перехода энергии АТФ: в энергию химических связей, в тепловую энергию и энергию, затрачиваемую на совершение работы. Рассмотрим в общем виде перенос энергии химических связей. Химическая реакция



сопряжена с образованием энергии АТФ. Если реакция будет находиться в состоянии равновесия, то перенос энергии совершается со 100%-ной эффективностью. Однако накопления АТФ не произойдет, так как в состоянии равновесия количество высвобождаемой свободной энергии равно нулю. Значит, для накопления энергии в фосфатных связях АТФ нужно, чтобы реакция была неравновесной. Это достигается тем, что часть энергии химической реакции теряется в виде теплоты. При этом оставшаяся часть энергии вещества переходит в энергию фосфатных связей АТФ. Следовательно, биологические генераторы энергии не могут иметь коэффициент полезного действия, равный 100%.

Третий путь перехода энергии — в работу. Энергия химических связей АТФ может затрачиваться на осмотическую, электрическую, механическую и другие виды работы. При этом не вся энергия АТФ используется на совершение работы. Часть ее рассеивается в виде теплоты. Особенно много теплоты выделяется при сокращении мышц. Это механохимический механизм образования теплоты в живых организмах. Теплота бесполезна для совершения работы живых систем. Лишь у теплокровных она используется для согревания и поддержания постоянной температуры тела, равной примерно 37°C.

Все химические процессы в организме могут протекать только с участием ферментов. Поэтому прежде чем рассматривать механизм извлечения энергии и отдельные пути обмена веществ, обратимся к ферментам.

ГЛАВА 10. ФЕРМЕНТЫ

1. Введение в науку о ферментах

Ферменты — биологические катализаторы белковой природы. Термин «фермент» (от лат. fermentum — закваска) был предложен в начале XVII в. голландским ученым Ван Гельмонтом для веществ, влияющих на спиртовое брожение. Спиртовое брожение представляет собой химический процесс, а в дрожжах или их экстрактах, употреблявшихся в качестве закваски для ускорения брожения, присутствуют природные катализаторы, являющиеся, как оказалось впоследствии, белками (есть данные, что ферментными свойствами, возможно, обладают и нуклеиновые кислоты). Поэтому за биологическими катализаторами, ускоряющими не только брожение, но и любые химические реакции в живом организме, сохранился термин «фермент». В литературе встречается синоним этого термина *энзим*. Ферменты свойственны только

живой природе, которая использует их в качестве своеобразного инструмента обмена веществ. Ни один химический процесс не может протекать в живых организмах без ферментов.

Основные вехи в изучении ферментов. Первые упоминания о ферментах как о неких веществах, влияющих на спиртовое брожение, появились в начале XVII в. в работах немецкого ученого Либавия и голландского Ван Гельмонта. В конце XVIII в. работы Реомюра и Спалланцани о растворяющем влиянии желудочного сока хищных птиц на мясо показали, что растворение мяса есть химический, а не механический процесс. В 1836 г. Шванн обнаружил в желудочном соке фермент пепсин, переваривающий белки мяса. Русский ученый К. С. Кирхгофф впервые показал участие химических веществ (ферментов) солода в превращении крахмала в сахар. Позднее, в 1837 г., Пайен и Персо выделили это активное начало из экстракта солода в виде порошка и доказали его термоллабильность. В 1837 г. Берцелиус сравнил ферменты с неорганическими катализаторами. Позднее серией работ, выполненных в разные годы русским ученым М. М. Манассеиной и немецкими учеными братьями Г. Бухнером и Э. Бухнером, была доказана несостоятельность деления ферментов на организованные и неорганизованные, т. е. на ферменты и энзимы. После их работ термины «фермент» и «энзим» стали синонимами. В 1894 г. Э. Фишер предложил гипотезу, объясняющую специфичность ферментов и получившую название гипотезы «ключа и замка».

В начале XX в. выдающийся русский физиолог И. П. Павлов, работая с ферментами пищеварения, впервые доказал, что ферменты могут существовать в живом организме в неактивной форме — в виде *проферментов*. Он показал превращение профермента трипсиногена в активный фермент трипсин с помощью энтерокиназы. И. П. Павлов предложил новые методы определения активности ферментов. Михаэлис и Ментен (1913) разработали теорию механизма действия ферментов и кинетику ферментативных реакций. В 1926 г. Самнер впервые получил фермент (уреазу) в кристаллическом виде и установил его белковую природу. Виланд и Пфлейдерер (1957) доказали существование ферментов в виде молекулярных форм — *изоферментов*. Филлипс (1960) впервые расшифровал трехмерную структуру фермента лизоцима с помощью рентгеноструктурного анализа.

На современном этапе *ферментология* (энзимология) — важнейшая и стремительно развивающаяся область биохимии, достижения которой широко используются в практической медицине, фармации, пищевой промышленности и других отраслях народного хозяйства.

Общие представления о катализе. Вероятность протекания химической реакции определяется разницей между свободной энергией исходных веществ и продуктов реакции. Если свободная энергия выше у исходных веществ, чем у продуктов (т. е. ΔG отрицательна), то возможно самопроизвольное течение реакции (реакция экзергоническая). Обратное соотношение в показателе свободной энергии говорит об энергетической невозможности реакции (реакция эндергоническая). Однако энергетическая возможность протекания экзергонической реакции абсолютно ничего не говорит о том, какова будет скорость этой реакции. Например, реакция сгорания бензина в присутствии кислорода является резко экзергонической, но при обычной температуре окисление углеводов бензина кислородом идет настолько медленно, что его трудно зарегистрировать. Достаточно же небольшого нагревания, т. е. какого-то

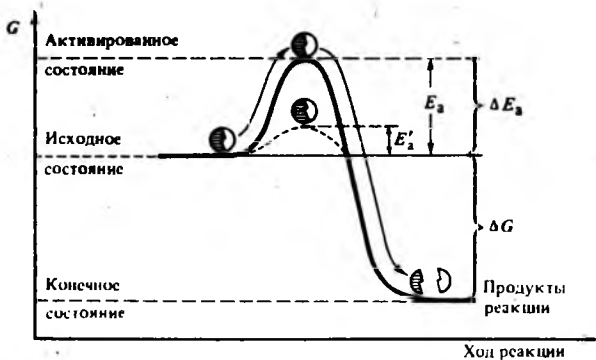


Рис. 19. Диаграмма изменения энергии реакции без фермента E_a (сплошная линия) и с ферментом E'_a (пунктирная линия)

Кул достаточна для преодоления этого барьера. Для характеристики скорости химических реакций Аррениус ввел понятие об *энергии активации*, или свободной энергии активации. *Свободной энергией активации* называется дополнительное количество энергии (например, нагревание в приведенном выше случае с горением бензина), которое необходимо сообщить молекулам вещества, чтобы они преодолели энергетический барьер реакции, т. е. вступили в реакцию. В обычных условиях лишь небольшая доля молекул обладает необходимой кинетической энергией, способной преодолеть энергетический барьер.

Диаграмму изменения свободной энергии в ходе химической реакции можно представить в виде графика, изображенного на рис. 19. Чем выше энергия активации, тем выше барьер и тем медленнее протекает реакция.

Фермент (или катализатор) не влияет на изменение свободной энергии исходных веществ и продуктов реакции, т. е. энергетическая возможность реакции, определяемая ΔG , не зависит от фермента. Фермент понижает энергию активации реакции E_a , т. е. снижает высоту барьера, в результате возрастает доля реакционноспособных молекул, а значит, увеличивается и скорость реакции. Чем больше снижается энергия активации, тем эффективнее действует катализатор и тем больше ускоряется реакция. Каждый фермент, как и любой катализатор, имеет свой предел ускорения реакции.

Сходство и различие между ферментами и неферментными катализаторами. Ферменты и небелковые катализаторы, подчиняясь общим законам катализа, имеют следующие сходные признаки.

1. Они катализируют только энергетически возможные реакции.
2. Они никогда не изменяют направления реакции.
3. Они не изменяют равновесия обратимой реакции, а лишь ускоряют его наступление.
4. Они не расходуются в процессе реакции. Поэтому фермент в клетке работает до тех пор, пока по каким-либо причинам не разрушится.

Однако ферменты обладают и особыми качествами, отличающими их от небелковых катализаторов. Эти отличия связаны с особенностями строения ферментов, являющихся сложными белковыми молекулами.

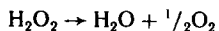
дополнительного количества энергии, как бензин воспламеняется и реакция сгорания (превращения реагентов в продукты) протекает самопроизвольно с большой скоростью.

Скорость экзергонической реакции зависит от энергетического барьера, который необходимо преодолеть реагирующим веществам, причем высота этого барьера неодинакова для разных реакций.

Кинетическая энергия

реакционноспособных молекул

1. Скорость ферментативного катализа намного выше, чем небиологического. Из этого следует, что ферменты сильнее снижают энергию активации реакции, чем небиологические катализаторы. Например, энергия активации реакции разложения пероксида водорода



равна 75,3 кДж/моль, и самопроизвольное разложение H_2O_2 протекает настолько медленно, что кислород, выделяющийся в виде пузырьков, визуально не заметен. При добавлении неорганического катализатора — железа или платины — энергия активации снижается до 54,1 кДж/моль, реакция ускоряется в тысячи раз и становится заметной по выделению пузырьков кислорода. Фермент каталаза, разлагающий H_2O_2 , снижает энергию активации более чем в 4 раза (до 80 кДж/моль) и ускоряет реакцию разложения пероксида в миллиард раз. Реакция протекает настолько бурно, что раствор от выделяющихся пузырьков кислорода буквально «закипает».

Одна-единственная молекула фермента может катализировать при обычной температуре (37°C) от тысячи до миллиона молекул вещества в минуту. Эта скорость катализа недостижима для небиологических катализаторов.

2. Ферменты обладают высокой специфичностью. Есть ферменты, действующие только на один из стереоизомеров вещества, тогда как платина, например, используется в качестве катализатора при самых разнообразных реакциях. Высокая специфичность позволяет ферментам направлять обмен веществ в строгое русло.

3. Ферменты катализируют химические реакции в «мягких» условиях, т. е. при обычном давлении, невысокой температуре (около 37°C) и pH среды, близком к нейтральной. Это отличает их от других катализаторов, действующих при больших давлениях, крайних значениях pH и высокой температуре.

Ферменты из-за белкового строения весьма чувствительны к изменениям температуры, т. е. термолabileны, и к сдвигам pH среды.

4. Ферменты являются катализаторами с регулируемой активностью, чего нельзя сказать о небиологических катализаторах. Это уникальное свойство ферментов позволяет изменять скорость превращения веществ в организме в зависимости от условий среды, т. е. приспосабливаться к действию различных факторов.

5. Скорость ферментативной реакции прямо пропорциональна количеству фермента, тогда как для небиологического катализа не существует строгой зависимости скорости реакции от количества катализатора. Поэтому недостаток фермента в живом организме означает низкую скорость превращения вещества и, наоборот, одним из путей приспособления клеток организма является образование дополнительных количеств фермента.

2. Классификация и номенклатура ферментов

Считается, что в одной клетке находится около 10^4 молекул ферментов, катализирующих свыше 2000 разных реакций. В настоящее время известно 1800 разных ферментов. Из них около 150 выделено в кристаллическом виде. Получение ферментов в очищенном кристаллическом виде необходимо для изуче-

ния структуры тонких механизмов ферментативного катализа, для лабораторных и промышленных целей.

На первых этапах изучения ферментов отсутствовала какая-либо система в классификации и номенклатуре ферментов; названия присваивались по усмотрению ученых, открывших эти ферменты. Первые попытки ввести правило для рабочих (тривиальных) названий ферментов были сделаны в 1898 г. Дюкло. Согласно этому правилу название фермента образуется прибавлением окончания *-аза* к названию субстрата, на который действует фермент *сахароза + аза = сахарозаза*.

В 1961 г. в Москве Международная комиссия по ферментам предложила рекомендации по номенклатуре и классификации ферментов.

Современная номенклатура и классификация ферментов

Действующая в настоящее время классификация и номенклатура ферментов предусматривает следующие основные положения.

Номенклатура ферментов. В настоящее время принято два типа названий ферментов: рабочее, или тривиальное, и систематическое. Рабочее название складывается из названия субстрата, типа катализируемой реакции и окончания *-аза*. Например:

лактат + дегидрогенизация + аза = лактатдегидрогеназа

Оставлены прежние рабочие названия для ряда давно известных ферментов: пепсин, трипсин, химотрипсин и т. д.

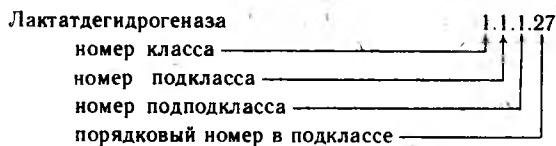
Систематическое название фермента образуется сложнее. Оно складывается из названий субстратов химической реакции, на которую действует фермент, названия типа катализируемого химического превращения и окончания *-аза*. Например, систематическое название фермента лактатдегидрогеназы пишется так:

L-Лактат : НАД⁺ — Оксидоредуктаза
субстрат I субстрат II тип химического превращения

Систематическое название дается только изученным ферментам.

Классификация ферментов. Все ферменты разделены на шесть классов, каждый из которых имеет строго определенный номер: 1) оксидоредуктазы; 2) трансферазы; 3) гидролазы; 4) лиазы; 5) изомеразы; 6) лигазы (синтетазы).

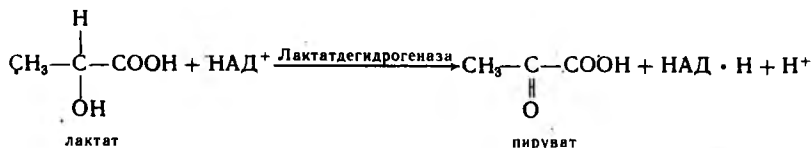
Название класса указывает на тип химической реакции, катализируемой ферментами. Следовательно, имеется шесть основных типов ферментативных реакций. Классы делятся на подклассы, а те, в свою очередь, на подподклассы. Число подклассов в каждом классе так же, как и число подподклассов в подклассе, варьирует. Подкласс уточняет действие фермента, так как указывает в общих чертах на природу химической группы субстрата, атакуемой ферментом. Подподкласс еще более конкретизирует действие фермента, уточняя природу атакуемой связи субстрата или природу акцептора, который участвует в реакции. Система классификации предусматривает для каждого фермента специальный шифр, состоящий из четырех кодовых чисел, разделенных точками:



Всем новым ферментам шифр присваивает только Международный комитет по ферментам.

Характеристика отдельных классов ферментов

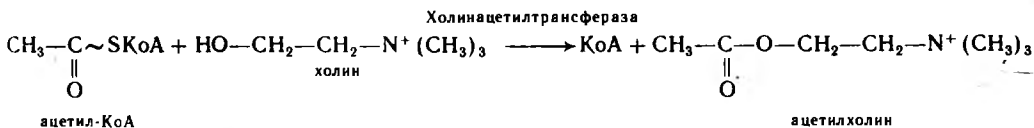
Оксидоредуктазы — ферменты, катализирующие реакции окисления-восстановления. Оксидоредуктазы подразделяются на 17 подклассов. Субстрат, подвергающийся окислению оксидоредуктазами, рассматривается как донор водорода. Поэтому ферменты этого класса называют *дегидрогеназами* или, реже, *редуктазами*. В тех случаях, когда акцептором служит O_2 , употребляется термин *оксидаза*, а если при окислении молекула O_2 включается прямо в субстрат, то *оксигеназа*. Систематическое название ферментов данного класса составляется так: донор : акцептор — оксидоредуктаза, например:



Оксидоредуктазы — очень распространенный класс, насчитывающий около 480 ферментов. Большую роль они играют в энергетических процессах.

Трансферазы — ферменты, катализирующие реакции переноса различных групп от одного субстрата (донор) к другому (акцептор). Трансферазы подразделяются на 8 подклассов в зависимости от строения переносимых ими групп. Ферменты, катализирующие перенос метильных групп, называют метилтрансферазами, аминных — аминотрансферазами и т. д. В принципе к трансферазам можно отнести и оксидоредуктазы, если считать главным не процесс окисления-восстановления, а перенос группы от донора к акцептору, сопровождающийся окислением-восстановлением. Эти ферменты можно назвать протонтрансферазами, электронтрансферазами и т. д.

Систематическое название складывается по типу: акцептор — группа — трансфераза или донор — группа — трансфераза. Чаще всего донором в реакциях, катализируемых трансферазами, является кофактор, содержащий группу, подлежащую переносу, например:



Трансферазы — примерно столь же распространенные ферменты, как и оксидоредуктазы. Они участвуют в реакциях взаимопревращения различных веществ, синтезе мономеров, обезвреживании природных и чужеродных соединений.

Гидролазы — ферменты, катализирующие разрыв связей в субстратах с присоединением воды. Гидролазы подразделяются на 11 подклассов. Тривиальное название гидролаз образуется путем присоединения к названию субстрата окончания *-аза*. Систематическое название обязательно содержит термин *гидролаза*. В принципе их также можно отнести к трансферазам, поскольку гидролиз можно рассматривать как перенос специфической группы субстрата, являющегося донором, на молекулу воды, служащей акцептором. Однако роль воды как акцептора считается главной в действии этих ферментов, поэтому данные ферменты выделены в отдельный класс гидролаз. Например:

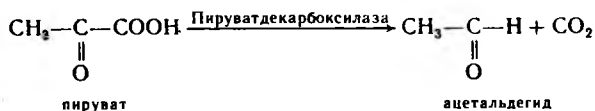


Класс гидролаз насчитывает примерно 460 ферментов. Гидролазами являются пищеварительные ферменты, ферменты, входящие в состав лизосом и других органоидов клетки, где они способствуют распаду более крупных биомолекул на простые.

Лиазы — ферменты, катализирующие реакции разрыва связей в субстрате без присоединения воды или окисления. Лиазы подразделяются на четыре подкласса.

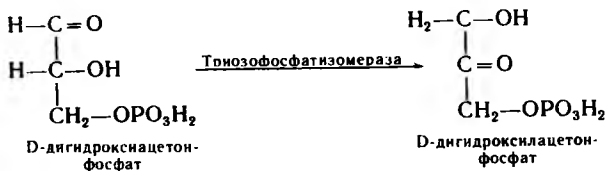
Систематическое название составляется по принципу субстрат — группа — лиаза. В тривиальных названиях лиаз указывается особенность участия групп в реакциях — *карбоксилаза* (присоединение карбоксильной группы), *дегидратаза* (отнятие молекулы воды от субстрата) и т. д. Если необходимо подчеркнуть образование субстрата из двух субстратов более простого строения, то в названии лиаз употребляется термин *синтаза* (но не синтаза), например цитратсинтаза.

Пример реакции, катализируемой лиазой:



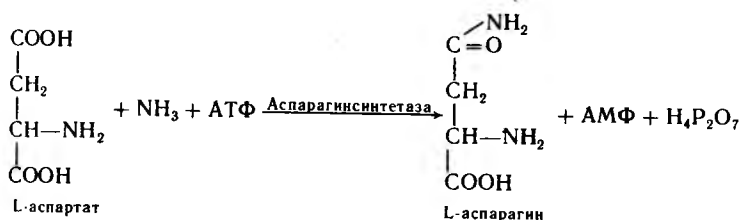
Лиазы — менее распространенная группа ферментов (около 230), участвующих в реакциях синтеза и распада промежуточных продуктов обмена.

Изомеразы — ферменты, катализирующие превращения в пределах одной молекулы. Они вызывают внутримолекулярные перестройки. Изомеразы подразделяются на пять подклассов. Названия ферментов складываются в зависимости от типа реакции изомеризации: мутазы, таутомеразы, рацемазы, эпимеразы, изомеразы и т. д.:



Изомеразы — небольшая группа ферментов (чуть более 80), играющая важную роль в восстановлении биологической активности молекул, в переключении использования метаболитов на разных путях обмена веществ.

Лигазы (синтетазы). Это ферменты, катализирующие соединение двух молекул с использованием энергии фосфатной связи. Источником энергии в реакциях, катализируемых синтетазами, является АТФ или другие нуклеозидтрифосфаты. Например:



Лигазы (всего насчитывается их около 80), подразделяются на пять подклассов.

3. Структурно-функциональная организация ферментов

Ферментам присущи все особенности структурной организации белков. Они имеют четыре уровня организации: первичный, вторичный, третичный и четвертичный. Ферменты с четвертичной структурой, а их большинство, состоят из протомеров (субъединиц). Как и другие функциональные белки, они делятся на простые (ферменты-протеины) и сложные (ферменты-протеиды). Сложные ферменты состоят из белковой части — *апофермента*, и небелковой — *кофактора*. Кофакторы ферментов — ионы металлов и коферменты. Последние являются небольшими органическими молекулами, строение которых рассмотрено ниже. Апофермент и кофакторы порознь мало активны или вообще неактивны как катализаторы; объединение их вместе дает активную молекулу фермента, которая называется полным ферментом или *холоферментом*.

Функциональная организация фермента. В трехмерной структуре простого и сложного фермента различают ряд участков, несущих определенную функцию (рис. 20). В молекуле фермента различают *активный центр А*, т. е. место в пространственной структуре фермента, с которым связывается *субстрат S* (вещество, которое превращается под действием фермента). На рисунке активный центр изображен в виде впадины.

В состав активного центра сложного фермента входят кофакторы. Число активных центров в олигомерных ферментах (имеющих четвертичную структуру) может быть равно числу субъединиц — по одному центру на субъединицу. Иногда две субъединицы фермента участвуют в образовании функционально-способного активного центра.

Кроме активного центра у ферментов имеется *регуляторный*, или *аллостерический*, центр (рис. 20, в), который в молекуле фермента пространственно разделен с активным центром. Аллостерическим (от греч. *allos* — иной, чужой) он называется потому, что молекулы, связывающиеся с этим центром,

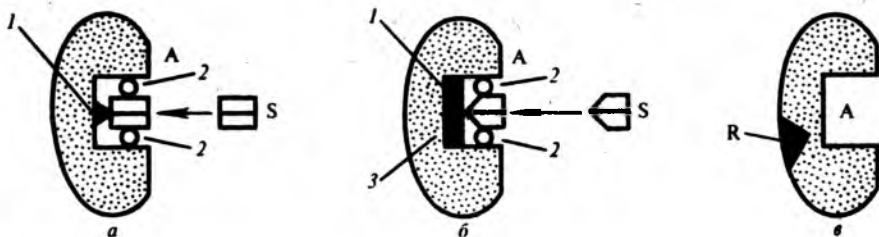


Рис. 20. Схема функциональной организации молекулы фермента: а — простой фермент; б — двухкомпонентный фермент; в — аллостерический фермент (А — активный центр, S — субстрат, R — регуляторный, или аллостерический, центр); 1 — каталитический участок; 2 — контактные участки; 3 — кофактор)

по строению (стерически) не похожи на субстрат, но оказывают влияние на связывание и превращение субстрата в активном центре, изменяя его конфигурацию. Молекула фермента может иметь несколько аллостерических центров. Вещества, связывающиеся с аллостерическим центром, называют *аллостерическими эффекторами*. Они влияют через аллостерический центр на функцию активного центра: или облегчают ее, или затрудняют. Соответственно аллостерические эффекторы называются положительными (активаторы) или отрицательными (ингибиторы).

Структура активного центра. В активном центре различают *контактный*, или *якорный*, участок, связывающий субстрат, и *каталитический участок*, где происходит превращение субстрата после его связывания. Однако это деление весьма условно, поскольку связывание субстрата в контактном участке влияет на специфичность и скорость превращения его в каталитическом участке.

Обычно активный центр фермента образуют 12—16 аминокислотных остатков полипептидной цепи. Иногда их число больше. Аминокислоты, формирующие активный центр, находятся в разных местах полипептидной цепи, нередко на противоположных концах. При пространственной укладке они сближаются и образуют активный центр. Остальные аминокислотные остатки полипептидной цепи фермента обеспечивают правильную пространственную конфигурацию активного центра и влияют на реакционную способность его групп.

Аминокислотные остатки, находящиеся рядом с активным центром и влияющие на реакционную способность его групп, принято называть *вспомогательными группами*. Более отдаленные аминокислотные остатки, влияющие на конформацию всей молекулы фермента, называются *способствующими группами*. Примерно $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$ аминокислот ферментного белка участвуют прямо или косвенно в работе активного центра.

Функциональные группы активного центра ферментов. У простых ферментов роль функциональных групп контактного и каталитического участков активного центра выполняют только боковые радикалы аминокислот. У сложных ферментов главную роль в этих процессах выполняют кофакторы.

В катализе принимают участие следующие функциональные группы ферментов:

- 1) COOH-группы дикарбоновых аминокислот и концевые COOH-группы полипептидной цепи;
- 2) NH₂-группы лизина и концевые NH₂-группы полипептидной цепи;
- 3) гуанидиновые группы аргинина;
- 4) индольные триптофана;
- 5) имидазольные гистидина;
- 6) OH-группы серина и треонина;
- 7) SH-группы цистеина и дисульфидные цистина;
- 8) тиоэфирные группы метионина;
- 9) фенольные группы тирозина;
10. гидрофобные цепи алифатических аминокислот и ароматическое кольцо фенилаланина.

Физико-химические свойства перечисленных аминокислотных остатков полипептидной цепи фермента определяют контакт с соответствующим субстратом и его превращение. Гидрофобные радикалы аминокислот имеют сродство к неполярным участкам субстрата. Полярные группы обладают либо кислотными, либо основными, либо сопряженными кислотно-основными (например, гистидин) свойствами. Сдвиг pH среды вызывает изменение их кислотно-основных свойств и способствует контакту с различными группами субстрата. Вещества, вызывающие блокаду этих функциональных групп, мешают катализу.

Боковые радикалы аминокислот активного центра сложного фермента создают условия для правильной конформации активного центра и помогают кофакторам в связывании, ориентации, а следовательно, и в превращении субстратов.

Кофакторы и их значение для функции ферментов. Кофакторы могут быть или прочно связаны с активным центром фермента, или легко отделяться от него при диализе. Для прочно связанных кофакторов применяют термин *протетическая группа*, подобно тому, как это принято для обозначения небелковой части неферментных белков. Такое деление не имеет достаточных оснований, ибо один и тот же кофактор (обычно кофермент) в активном центре одного фермента бывает прочно связан, а в активном центре другого — нет. Более того, иногда трудно разделить кофермент и субстрат, поскольку связанный с коферментом субстрат служит объектом атаки со стороны фермента. Например, фермент E, имея свой кофермент K, атакует субстрат S, связанный с другим коферментом B:



В этих случаях, когда кофермент является полноправным партнером субстрата, его можно рассматривать как *косубстрат*.

4. Коферменты, химическое строение и функции

Коферменты удобно классифицировать по структурно-физиологическим признакам и функциональным (каталитическим) свойствам. Структурно-физиологическая классификация одновременно учитывает происхождение и химическое строение коферментов:

Коферменты

I. Витаминные коферменты

1. Тиаминовые (ТМФ, ТДФ, ТТФ)
2. Флавиновые (ФМН, ФАД)
3. Пантотеновые (КоА, дефосфо-КоА, 4-фосфопантотенат)
4. Никотинамидные (НАД, НАДФ)
5. Пиридоксинные (ПАЛФ, ПАМФ)
6. Фолиевые, или птеридиновые (ТГФК)
7. Кобамидные (метилкобаламин, дезоксиаденозилкобаламин)
8. Биотиновые (карбоксибиотин)
9. Липоевые (восстановленный и окисленный липоамид)
10. Хиноновые (убихинон, пластохинон)
11. Карнитинные (карнитин)

Исходными веществами для образования коферментов первой группы являются витамины, поэтому недостаточное поступление их с пищей сразу сказывается на синтезе этих коферментов, а как следствие нарушается и функция соответствующих сложных ферментов. Коферменты второй группы образуются из промежуточных продуктов обмена, поэтому недостатка в этих коферментах в физиологических условиях не бывает, и функция ферментов, с которыми они связаны, не нарушается.

Существует и функциональная классификация коферментов, по которой коферменты относят, как и ферменты, к соответствующим шести классам (цифры в скобках указывают номер класса фермента):

Коферменты

Коферменты оксидо-редуктаз (1)

1. Никотинамидные (НАД, НАДФ)
2. Флавиновые (ФМН, ФАД)
3. Металлопорфириновые (гемы *a*, *b*, *c*, *d*), хлорофиллы *a*, *b*
4. Хинонкоферменты (убихинон, пластохинон)
5. Пептидные (глутатион)
6. Липоевая кислота

Коферменты трансфераз (2)

1. Пиридоксинные (ПАЛФ, ПАМФ)
2. Пантотеновые (КоА, дефосфо-КоА, 4-фосфопантотенат)
3. Нуклеотидные коферменты (УДФ-глюкоза, ЦДФ-холин и др.)
4. Птеридиновые, или фолиевые (ТГФК)
5. Кобамидные (метилкобаламин)

II. Невитаминные коферменты

1. Нуклеотидные (УДФ-глюкоза, другие нуклеотидные производные углеводов, спиртов и т. д.)
2. Фосфаты моносахаридов (глюкозо-1,6-дифосфат, 2,3-дифосфоглицерат)
3. Металлопорфириновые (гемы, хлорофиллы)
4. Пептидные (глутатион)

Коферменты лиаз (4)

1. Пиридоксинные (ПАЛФ)
2. Пантотеновые (КоА, дефосфо-КоА)
3. Тиаминные (ТДФ)
4. Кобамидные (дезоксиаденозилкобаламин)

Коферменты изомераз (5)

1. Пиридоксинные (ПАЛФ)
2. Кобамидные (дезоксиаденозилкобаламин)
3. Фосфаты моносахаридов (глюкозо-1,6-дифосфат, 2,3-дифосфоглицерат)
4. Пептидные (глутатион)

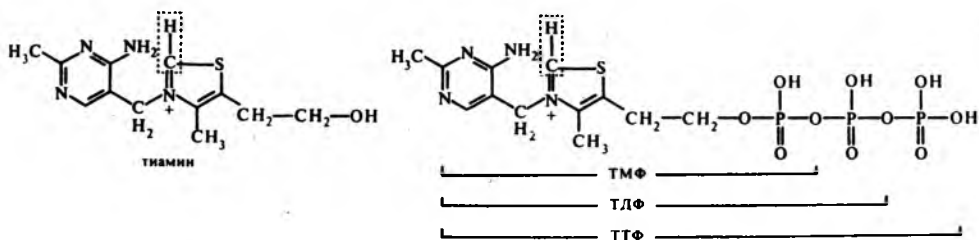
Коферменты лигаз (6)

1. Нуклеотидные (УДФ-глюкоза, ЦДФ-холин и т. д.)
2. Биотиновые (карбоксибиотин)
3. Фолиевые (5,10-метенил ТГФК)

Можно отметить две особенности коферментов. Первая — отсутствие коферментов третьего класса — гидролаз и полифункциональность ряда коферментов (пиридоксинных, кобамидных), т. е. способность одного и того же кофермента катализировать разные реакции, в зависимости от того, в состав активного центра какого фермента он входит. Это служит наглядным примером значения апофермента в проявлении специфического участия кофермента в катализе.

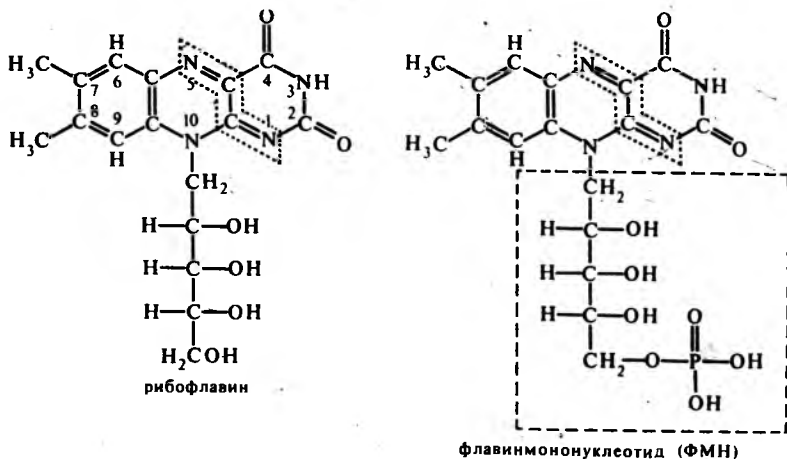
Витаминовые коферменты

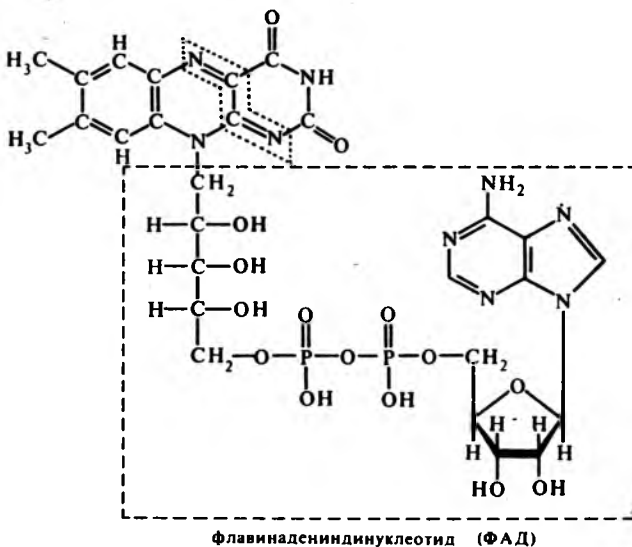
Тиаминовые коферменты. Источник их образования — тиамин (витамин В₁), который по химическому строению относится к пиримидиновым производным тиазола. Наиболее активная коферментная форма его — тиаминдифосфат (ТДФ). Остальные производные тиамина — тиаминмонофосфат (ТМФ), тиамин-



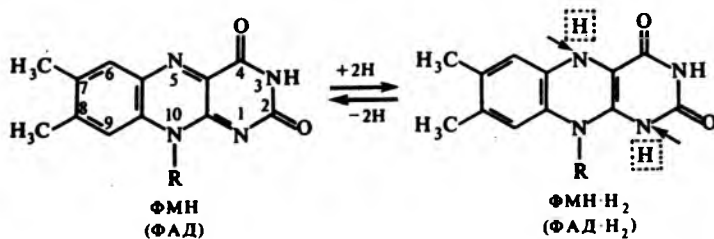
трифосфат (ТТФ) считаются тоже коферментами, но значение их не выяснено. ТДФ входит в состав ферментов, катализирующих окислительное декарбоксилирование α -кетокислот — пирувата и 2-оксoglутарата, а также является коферментом транскетолазы, осуществляющей превращение субстратов пентозофосфатного цикла. Причем «активным» участком в молекуле ТДФ, служащим местом присоединения субстрата, является атом углерода в кольце тиазола (заклучен в рамку).

Флавиновые коферменты. Источник их образования рибофлавин (витамин В₂), который по химическому строению относится к производным изоаллоксазина. Из рибофлавина синтезируются коферменты — флавиномононуклеотид (ФМН) и флавинадениндинуклеотид (ФАД):





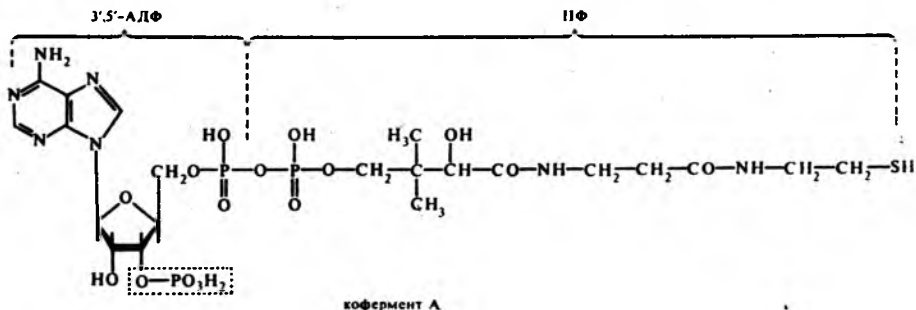
Особенностью рибофлавина и его коферментов является способность к обратимым реакциям окисления — восстановления:



(здесь R — соответствующие радикалы, заключенные в предыдущих формулах в рамки).

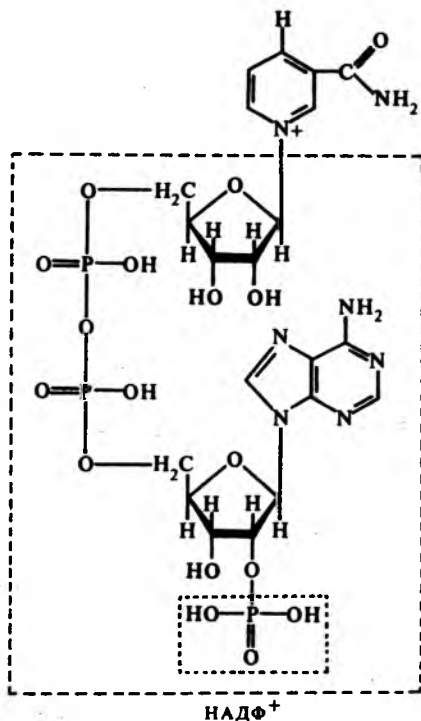
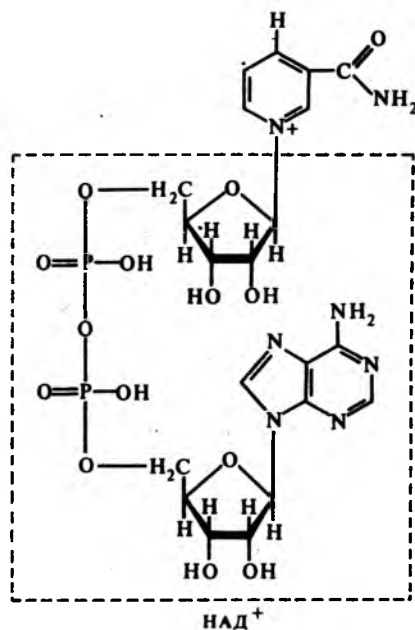
Окисленные рибофлавин и оба кофермента имеют желтую окраску. При восстановлении они переходят в лейкоформу, и окраска раствора исчезает. Восстановленные коферменты FMN · Н₂ и ФАД · Н₂ образуются в результате присоединения атомов водорода к N-1 и N-5 изоаллоксазинового кольца. Способность легко принимать и отдавать протоны и электроны определяет участие этих коферментов в окислительно-восстановительных реакциях.

Пантотеновые коферменты. Пантотеновая кислота (витамин В₃) служит исходным веществом для образования следующих коферментов: кофермента А (КоASH), дефосфокофермента А (дефосфо-КоASH), пантетеин-4-фосфата (ПФ), которые находятся в клетке в свободном виде или связаны с ферментными белками. Коферменты участвуют в реакциях переноса ацильных групп. Отсюда и название — кофермент ацилирования (А). Кофермент А



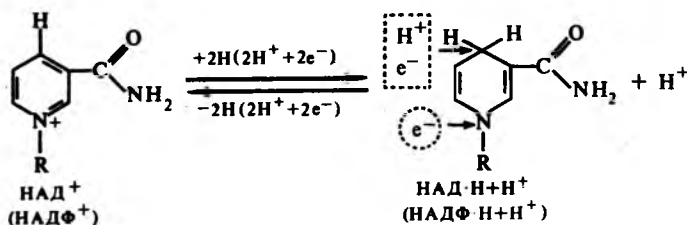
сокращенно обозначается или CoASH , или просто CoA . Группа SH всех коферментов пантотеновой кислоты является рабочей, якорной частью молекулы. К ней присоединяются ацилы, и образуется метаболическая форма CoA — ацил $\sim \text{CoA}$ (тиоэфирная связь — макроэргическая, поэтому обозначается волнистой линией). Дефосфо- CoA и ПФ как коферменты используются меньше, чем CoASH . Считают, что дефосфо- CoA — кофермент, катализирующий расщепление цитрата, а ПФ — кофермент ацилпереносящего белка синтетазы жирных кислот.

Никотинамидные коферменты. Источником образования никотинамидных коферментов является ниацин (витамин B_3 , PP , никотинамид). К никотинамидным коферментам относятся никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ). По структуре оба кофер-



мента — динуклеотиды, в которых мононуклеотиды соединены фосфодиэфирной связью. В один из мононуклеотидов этих коферментов входит никотинамид; другой, представлен адениловой кислотой. В НАДФ имеется дополнительный остаток фосфорной кислоты, соединенный с гидроксилом рибозы.

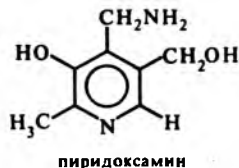
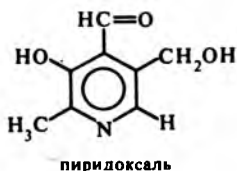
Оба кофермента способны обратимо принимать электроны и протоны, поэтому они входят в состав дегидрогеназ. В реакциях, катализируемых никотинамидными ферментами, происходит отщепление двух атомов водорода от субстрата. Один атом водорода присоединяется к С-4 никотинамидного кольца; электрон второго атома водорода — к четвертичному азоту того же кольца, а оставшийся свободный протон переходит в среду. Окисленные формы коферментов сокращенно в реакциях обозначаются НАД^+ и НАДФ^+ , а восстановленные — $\text{НАД} \cdot \text{H} + \text{H}^+$ и $\text{НАДФ} \cdot \text{H} + \text{H}^+$ (или упрощенно $\text{НАД} \cdot \text{H}_2$ и $\text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$):



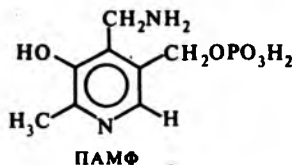
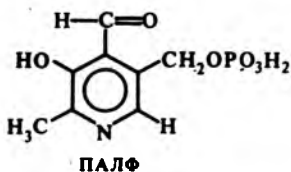
(здесь R — радикал, заключенный в приведенных выше соответствующих формулах в рамку).

Свободный витамин — никотинамид — не способен выполнять функции коферментов.

Пиридоксиновые коферменты. Источником образования пиридоксиновых коферментов является пиридоксин (витамин В₆). Это название объединяет три родственных витамина — пиридоксин, пиридоксаль, пиридоксамин

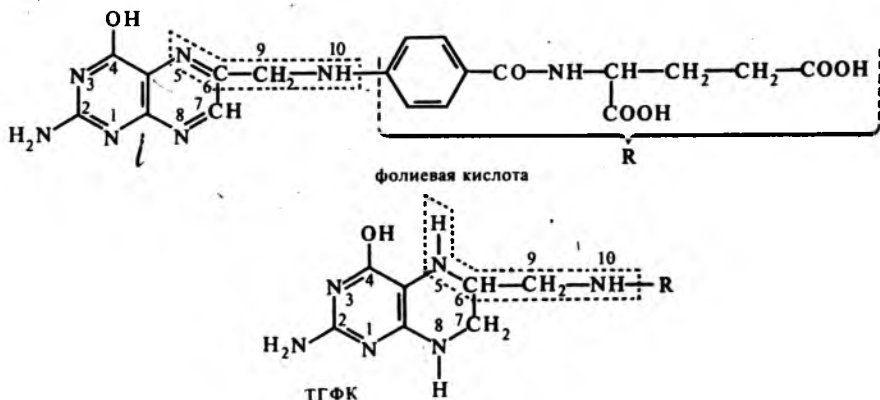


В клетках организма из них образуются биологически активные коферменты пиридоксальфосфат (ПАЛФ) и пиридоксаминфосфат (ПАМФ):



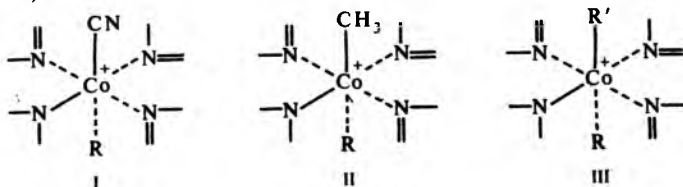
Первый из них является основным коферментом, входящим в состав многочисленных ферментов. Однако в некоторых реакциях ПАМФ выступает как самостоятельный кофермент, например в реакции образования 3,6-дидезоксигексоз, необходимых для синтеза гликопротеидов мембран бактерий.

Фолиевые, или птерициновые, коферменты. Фолацин объединяет группу родственных витаминов, главный представитель которых — фолиевая кислота. В организме из нее образуется кофермент тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК)



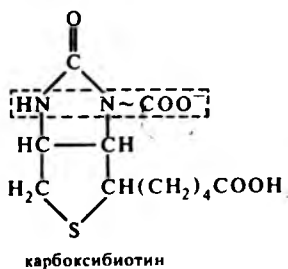
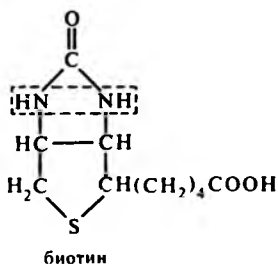
участвующая в реакциях переноса следующих одноуглеродных фрагментов: формила ($-\text{CH}=\text{O}$), формимина ($-\text{CH}=\text{NH}$), метенила ($=\text{CH}$), метила ($-\text{CH}_3$) и метилена ($=\text{CH}_2$) (в рамки заключены активные группы молекулы). ТГФК, связанная с одноуглеродными радикалами, является метаболически активной формой.

Кобамидные коферменты. Источник образования кобамидных коферментов — витамин B_{12} . Основная часть этого витамина — Со-комплекс азотистого макроцикла, называемого *коррин*. Коррин содержит четыре восстановленных пиррольных кольца, несущих различные заместители. Кобальт, находящийся в центре кольца коррина, может иметь различную степень окисления: от Co^{3+} до Co^{6+} . Он связан ковалентной и координационными связями с атомами азота пиррольных колец коррина. В витамине B_{12} остальные связи заняты остатком 5,6-диметилбензимидазолилриботида и группой CN. Поэтому витамин B_{12} называется цианкобаламином. Замена CN-группы на оксигруппу или нитрогруппу приводит к образованию других витаминеров B_{12} — соответственно оксокобаламина и нитриткобаламина. В организме он находится в виде коферментных форм — *метилкобаламина* и *5-дезоксаденозилкобаламина*. Ниже приведено схематическое строение центральной части цианкобаламина (I) и его коферментных форм — метилкобаламина (II) и 5-дезоксаденозилкобаламина (III):



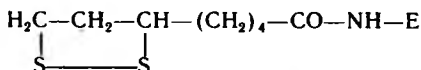
(здесь R — 5,6-диметилбензимидазолилриботид, а R' — 5'-дезоксаденозил). Эти коферменты участвуют в реакциях переноса групп, изомеризации и др.

Биотиновые коферменты. Биотин (витамин H) образует активную коферментную форму — карбоксибиотин:

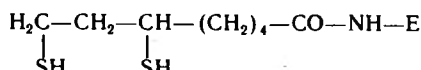


Ключевую роль в молекуле биотина играют атомы азота, к которым присоединяется CO₂. Биотин участвует в переносе карбоксильных групп.

Липоевые коферменты. Исходным соединением для образования коферментов служит липоевая кислота (витамин N). Липоевые коферменты участвуют в окислительно-восстановительных реакциях при превращении α-кетокислот в пируватдегидрогеназом комплексе. Существуют окисленные и восстановленные формы липоевой кислоты, которая связана с ферментом (E) амидной связью.

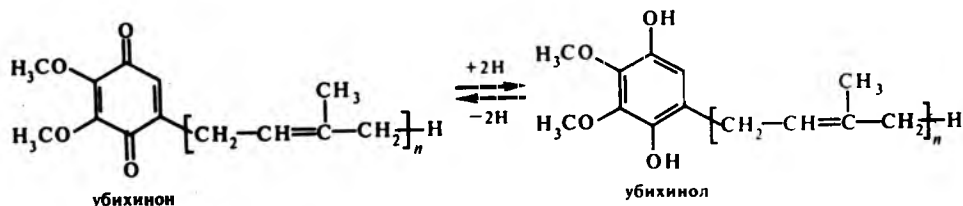


липаид (ЛК $\begin{array}{l} \text{S} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{S} \end{array}$)
(окисленная форма)



липаид (ЛК $\begin{array}{l} \text{SH} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{SH} \end{array}$)
(восстановленная форма)

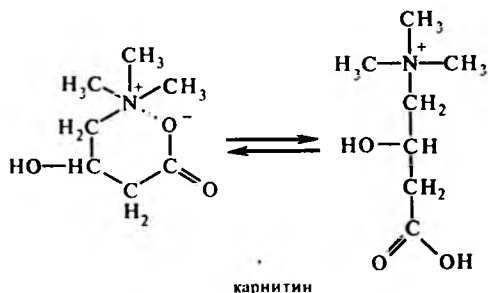
Хиноновые коферменты. Среди природных хиноидных соединений коферментными свойствами обладает *убихинон*, или *кофермент Q* (КоQ), а также его аналог *пластохинон*, содержащийся в растительных организмах. Убихинон относят к липофильным витаминоподобным веществам. По химическому строению он представляет собой хинон с боковой изопреноидной цепью. Число изопреноидных звеньев в боковой цепи природных убихинов разное, поэтому убихиноны обозначают символом Q_n. В природе найдены убихиноны Q₁—Q₁₂. Наиболее часто встречаются коферменты Q₆—Q₁₀. Много убихинона содержится в мембранах митохондрий; имеется он также в мембранах эндоплазматического ретикулума и ядер клеток. Убихинон способен к обратимым окислительно-восстановительным превращениям:



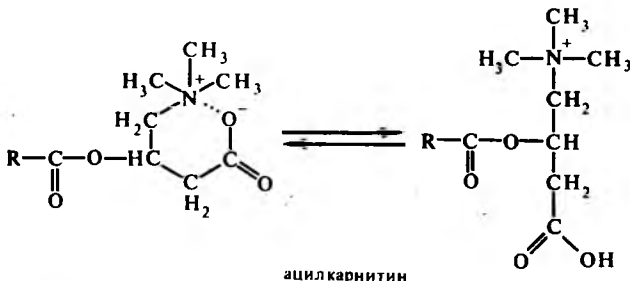
При восстановлении он переходит в убинол, который при окислении вновь превращается в убинон. Благодаря окислительно-восстановительным свойствам убинон участвует в переносе электронов и протонов в дыхательной цепи митохондрий, а его аналог пластохинон выполняет ту же роль в хлоропластах.

Для других природных хиноидных соединений — *нафтохинонов* (витамин К) и *токоферолов* (витамин Е), которые близки по строению и окислительно-восстановительным свойствам к убинону, коферментные функции пока не доказаны.

Карнитиновые коферменты. Витаминоподобное вещество *карнитин* (витамин В₇), являясь коферментом трансфераз, участвует в переносе ацильных групп (остаток уксусной кислоты и высших жирных кислот) через липидный слой митохондриальной, а возможно, и других мембран. Карнитин может находиться в развернутой и циклической формах:



Ацилы присоединяются к ОН-группе карнитина с образованием соответствующего ацилкарнитина:



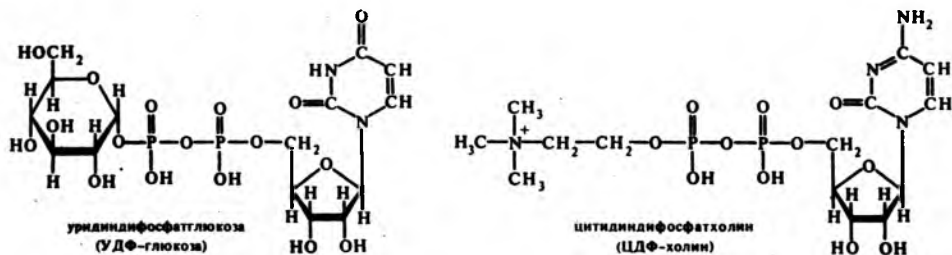
Поскольку циклическая форма более жирорастворима (вследствие экранирования зарядов метильными группами), то именно в такой, циклической, форме, как считают С. Е. Северин и др., карнитин способен диффундировать через липидный слой мембраны и переносить ацилы.

Невитаминные коферменты

Нуклеотидные коферменты. К нуклеотидным коферментам, не являющимся производными витаминов (этим они отличаются от рассмотренных нуклеотидных коферментов — НАД, НАДФ, ~~ФАД~~, КоА, в построении которых участ-

вуют витамины), относятся *нуклеозиддифосфаты* и *нуклеозидмонофосфаты*, соединенные через концевой фосфат с различными субстратами.

Все нуклеотидные коферменты делятся на пять групп в зависимости от типа нуклеозида: уридиновые, цитидиновые, тимидиновые, аденозиновые и гуанозиновые. Индивидуальные нуклеотидные коферменты внутри каждой группы отличаются друг от друга присоединенным к ним субстратом. Уже известно свыше 60 различных нуклеотидных коферментов, содержащих остатки сахаров, спиртов, аминокислот, липидов, неорганических веществ. Наиболее представительна среди них группа нуклеозиддифосфатсахаров. Ниже приведено строение некоторых представителей нуклеотидных коферментов:



Большинство известных нуклеотидных коферментов представлено нуклеозиддифосфатами; но встречаются и нуклеозидмонофосфаты, например ЦМФ-сиаловая кислота. Реакции, в которых участвуют нуклеотидные невитаминные коферменты, можно разделить на два типа. К первому относятся реакции, связанные с превращением субстрата в молекуле кофермента. В этом случае кофермент уподобляется ко субстрату. С субстратом в составе кофермента могут происходить различные превращения: стереоизомеризация (например, УДФ-глюкоза превращается в УДФ-галактозу), окисление или восстановление (например, в печени происходит ферментативное окисление атома C_6 глюкозы и превращение последней в УДФ-глюкуроновую кислоту) и т. д.

Реакции второго типа связаны с участием нуклеотидных коферментов как доноров субстратов в реакциях переноса групп. При этом происходит разрыв фосфоэфирных связей, соединяющих кофермент и субстрат. Этот тип реакций используется в синтезе различных веществ. Так, УДФ-глюкоза является донором глюкозы при биосинтезе гликогена, УДФ-глюкуроновая кислота — донор остатка глюкуроновой кислоты в реакциях конъюгации природных (например, билирубина) и чужеродных веществ, ЦДФ-холин — донор холина при биосинтезе холинфосфатидов и т. д.

Фосфаты углеводов как коферменты. Некоторые фосфаты углеводов выполняют функции коферментов. Так, глюкозо-1,6-дифосфат выступает как кофермент фермента глюкозофосфатизомеразы, катализирующего обратимую изомеризацию глюкозо-6-фосфата и фруктозо-6-фосфата; 2,3-дифосфоглицерат — как кофермент фосфоглицератмутазы, участвующей в превращении 2-фосфоглицерата в 3-фосфоглицерат и обратно. Следует заметить, что 2,3-дифосфоглицерат является также регулятором функций гемоглобина.

Металлпорфириновые коферменты. К ним относятся рассмотренные ранее геммы, которые участвуют как коферменты окислительно-восстановительных реакций, катализируемых оксидо-редуктазами (цитохромы, каталаза, перокси-

Т а б л и ц а 21. Примеры металлоферментов различных классов

Класс ферментов	Название фермента и шифр	Металл	Катализируемая реакция
Оксидоредуктазы	Алкогольдегидрогеназа (1.1.1.1)	Zn	Окисление спиртов и альдегиды и обратная реакция восстановления альдегида в спирт
	Нитратредуктаза (1.7.99.4) Ферредоксингидрогеназа (1.12.7.1)	Mo Fe	Восстановление HNO_3 в HNO_2 Использует молекулярный водород для восстановления различных веществ
Гидролазы	α -Амилаза (3.2.1.1)	Ca (Zn)	Гидролиз α -1,4-гликозидных связей крахмала
	Дипептидаза (3.4.13.11) АТФаза (3.6.1.4)	Zn Mg	Гидролиз дипептидов Гидролиз АТФ
Лиазы	Фосфопируват-гидратаза (4.2.1.11)	Mg, Zn, Mn	Гидратация 2-фосфоглицерата с образованием фосфоенолпирувата

в активном центре или входит в состав более крупной органической молекулы (например, гема), или может быть непосредственно связан с остатками аминокислот апофермента. Поскольку под действием оксидоредуктаз происходит перенос электронов и изменяется степень окисления субстратов, то в роли кофакторов выступают металлы с переменной валентностью: железо, медь, молибден, кобальт.

Если металл непосредственно не участвует в катализе, а служит иным целям, например связывает субстрат, то в оксидоредуктазы входят металлы с постоянной степенью окисления.

Металлоферменты, катализирующие реакции гидролиза субстратов, содержат металлы с постоянной валентностью: цинк, кальций, магний. Редко в составе гидролаз находят металлы с переменной степенью окисления, например марганец (см. табл. 21).

Какова роль металлов в каталитическом действии фермента? Доказано несколько возможных вариантов участия ионов металла в работе фермента. Во-первых, металл, являясь своеобразной электрофильной группой активного центра, способен взаимодействовать с отрицательно заряженными группами субстрата. Такой металло-субстратный комплекс легче атакуется ферментом. Например, ионы Mg^{2+} (или Mn^{2+}) образуют комплекс с АТФ или АДФ в реакциях, катализируемых креатинфосфокиназой и АТФазой. В результате этого активность фермента проявляется в полной мере, а в отсутствие металлов ферменты малоактивны или неактивны.

Во-вторых, металл с переменной валентностью сам может участвовать в транспорте электронов, т. е. выполнять функцию каталитического участка.

В-третьих, металл способствует формированию каталитически активной конформации третичной и четвертичной структуры апофермента. Стабилизация возможна путем образования солевых мостиков между ионом металла и карбоксильными группами кислых аминокислот при формировании третичной структуры белковой молекулы фермента или между субъединицами при образовании четвертичной структуры. Например, ионы кальция стабилизируют α -амилазу, а ионы цинка — алкогольдегидрогеназу. Лишенная цинка алкогольдегидрогеназа диссоциирует на субъединицы и теряет активность.

В-четвертых, металлы иногда служат своеобразным мостиком между апоферментом и коферментом. Например, в алкогольдегидрогеназе ион цинка связывает НАД⁺.

Следует помнить, что так же как и коферменты витаминной природы, металлы поступают в организм с пищей. Поэтому нормальная функция большого семейства металлоферментов зависит от нормального поступления металлов, в большинстве своем относящихся к группе микроэлементов. Отсюда и высокая биологическая активность этих металлов: недостаточное поступление их с пищей может вызвать серьезные нарушения обмена веществ в организме.

6. Механизм действия ферментов

Сложная структурная и функциональная организация ферментов отчасти является ключом к пониманию характерных свойств ферментов — высокой специфичности и скорости катализа, не достижимой для неферментных катализаторов. Одной из первых гипотез, объясняющих действие ферментов, была адсорбционная гипотеза, предложенная в начале XX в. английским физиологом Бейлисом и немецким биохимиком Варбургом. При обосновании основных положений этой гипотезы исходили из механизма действия небиологических катализаторов. Согласно адсорбционной гипотезе поверхность фермента, подобно губчатой платине, является местом адсорбции молекул реагентов. Тем самым облегчается их взаимодействие и реакция ускоряется. Однако эта гипотеза не объясняла специфичность действия ферментов и сейчас имеет лишь историческое значение.

Большую роль в развитии представлений о механизме действия ферментов сыграли классические работы Михаэлиса и Ментен, развивших положение о фермент-субстратных комплексах. Согласно представлениям Михаэлиса — Ментен весь процесс ферментативного катализа описывается простым уравнением (рис. 21).

Процесс ферментативного катализа можно условно разделить на три стадии, каждая из которых имеет свои особенности.

1. Диффузия субстрата к ферменту и стерическое связывание его с активным центром фермента (образование фермент-субстратного комплекса ES).

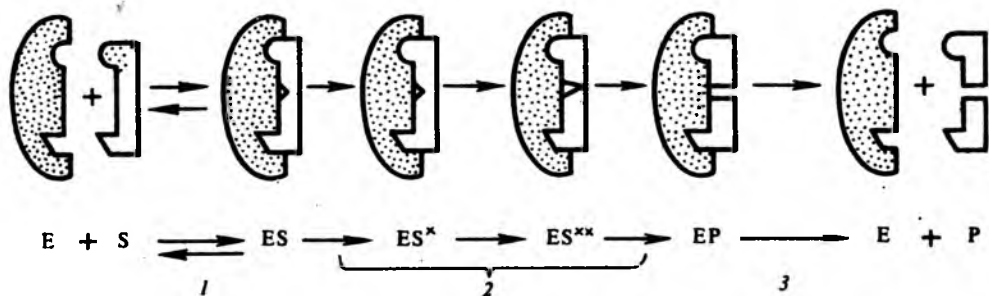


Рис. 21. Схема стадий ферментативного катализа (E — фермент, S — субстрат, P — продукт)

2. Преобразование первичного фермент-субстратного комплекса в один или несколько активированных фермент-субстратных комплексов (обозначенных в уравнении ES^* и ES^{**}).

3. Отделение продуктов реакции от активного центра фермента и диффузия их в окружающую среду (комплекс EP диссоциирует на E и P).

Первая стадия, обычно непродолжительная по времени, зависит от концентрации субстрата в среде и скорости его диффузии к активному центру фермента. Образование комплекса ES происходит практически мгновенно. На этой стадии изменение энергии активации незначительно. Ориентация субстратов в активном центре фермента благоприятствует их сближению и прохождению реакции.

Вторая стадия наиболее медленная, и длительность ее зависит от энергии активации данной химической реакции. На этой стадии происходит расщепление связей субстрата, их разрыв или образование новых связей в результате взаимодействия каталитических групп фермента. Именно благодаря образованию активированных переходных комплексов снижается энергия активации субстрата. Вторая стадия лимитирует скорость всего катализа.

Третья стадия непродолжительна, как и первая. Она определяется скоростью диффузии продуктов реакции в окружающую среду.

Молекулярные механизмы действия ферментов еще во многом неясны. Среди изученных механизмов действия ферментов можно отметить следующие:

- 1) эффект ориентации реагентов (сближения);
- 2) эффект деформации субстрата (напряжения, изгиба, натяжения);
- 3) кислотно-основной катализ;
- 4) ковалентный катализ.

Эффект ориентации реагентов — очень характерное свойство ферментов, позволяющее ускорить превращение (повысить реакционную способность субстратов) в тысячи или десятки тысяч раз. Контактные участки активного центра фермента специфически связывают субстраты и обеспечивают их взаимную ориентацию и сближение так, чтобы это было выгодно для действия каталитических групп. Такая взаимная ориентация двух и более молекул, невозможная при беспорядочных соударениях в водной среде и на поверхности неорганического катализатора, способствует увеличению скорости реакции. Упорядоченное расположение субстратов приводит к снижению энтропии, а значит, способствует снижению энергии активации.

Эффект деформации субстрата (или так называемая теория «дыбы») хорошо объясняет действие гидролаз, лиаз и некоторых трансфераз. До присоединения к ферменту субстрат имеет «расслабленную» конфигурацию. После связывания с активным центром молекула субстрата как бы растягивается («напряженная», или «деформированная», конфигурация). Чем больше длина межатомной связи в субстрате, тем меньше энергия ее разрыва (т. е. снижается энергия активации). Места деформации (растяжения) легче атакуются, например молекулами воды.

Кислотно-основной катализ. Особенность активного центра фермента в отличие от других катализаторов состоит в том, что в нем имеются функциональные группы аминокислотных остатков, которые проявляют свойства как кислоты, так и основания. Поэтому фермент проявляет в ходе каталитического акта кислотно-основные свойства, т. е. играет роль и акцептора, и донора протонов, что невозможно для обычных катализаторов.

Таблица 22. Некоторые ферменты, обладающие способностью к ковалентному катализу

Фермент	Реагирующая группа активного центра	Тип ковалентного фермент-субстратного промежуточного продукта
1. Химотрипсин, трипсин, тромбин, эстераза	Серин $\text{HO}-\text{CH}_2-\underset{ }{\text{CH}}-$	Ацилсерин $\text{R}-\underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{O}-\text{CH}_2-\underset{ }{\text{CH}}-$
2. Фосфоглюкомутаза, щелочная фосфатаза	Серин $\text{HO}-\text{CH}_2-\underset{ }{\text{CH}}-$	Фосфорилсерин $\begin{array}{c} \text{O}^- \\ \\ -\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\underset{ }{\text{CH}}- \\ \\ \text{O} \end{array}$
3. Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, папаин	Цистеин $\text{HS}-\text{CH}_2-\underset{ }{\text{CH}}-$	Ацилцистеин $\text{R}-\underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{S}-\text{CH}_2-\underset{ }{\text{CH}}-$

При закреплении субстрата в активном центре на его молекулу влияют электрофильные и нуклеофильные группы каталитического участка, что вызывает перераспределение электронной плотности на участках субстрата, атакуемого кислотными основными группами. Это облегчает перестройку и разрыв связей в молекуле субстрата. Ярко выраженной способностью к кислотно-основному катализу обладают ферменты, в каталитическом центре которых имеется гистидин. Гистидин обладает отчетливыми кислотными основными свойствами. При блокировании гистидина фермент инактивируется. Кислотно-основной катализ характерен для гидролаз, лиаз, изомераз. Он часто сочетается с ковалентным катализом.

Ковалентный катализ наблюдается у ферментов, которые образуют ковалентные связи между каталитическими группами активного центра и субстратом. Ковалентные фермент-субстратные промежуточные продукты очень неустойчивы и легко распадаются, освобождая продукты реакции. В табл. 22 приведены некоторые ферменты, обладающие способностью к ковалентному катализу. Для большинства ферментов характерно сочетание описанных механизмов, что обеспечивает их высокую каталитическую активность.

7. Специфичность действия ферментов

Ферменты имеют разную специфичность и по отношению к субстратам. По степени специфичности ферменты делятся на следующие основные виды, упоминаемые в порядке снижения специфичности.

1. Стереохимическая субстратная специфичность — фермент катализирует превращение только одного из возможных стереоизомеров субстрата. Это крайний случай специфичности. Например, фумаратгидратаза катализирует превращение только фумаровой кислоты (присоединение к ней молекулы воды), но не ее стереоизомера — маленновой кислоты.

2. Абсолютная субстратная специфичность — фермент катализирует превращение только одного субстрата. Например, уреазы катализируют превращение только мочевины.

3. Абсолютная групповая субстратная специфичность — фермент катализирует превращение сходной группы субстратов. Например, алкогольдегидрогеназа катализирует превращение не только этанола, но и других алифатических спиртов, хотя и с разной скоростью.

4. Относительная групповая субстратная специфичность — фермент специфически действует не на группу молекул субстрата, а на отдельные связи определенной группы субстратов. Например, пищеварительные ферменты — пепсин, трипсин — специфичны по отношению к пептидным связям, образованным определенными аминокислотами в разных белках.

5. Относительная субстратная специфичность — фермент катализирует превращение субстратов, принадлежащих к разным группам химических соединений. Например, фермент цитохром P₄₅₀ участвует в гидроксилировании разных соединений (около 7000 наименований). Это наименее специфичная ферментная система, участвующая в превращении природных веществ, лекарств и ядов.

Чем же объясняется специфичность действия ферментов? На этот счет существует две точки зрения. Одна из них — гипотеза Э. Фишера, или, как ее называют, гипотеза «ключа и замка», или «шаблона», предусматривает, что в основе специфичности лежит строгое стерическое соответствие субстрата и активного центра фермента.

По Фишеру, фермент является жесткой структурой, активный центр которого представляет собой слепок субстрата. Если субстрат подходит к активному центру, как ключ к замку, то реакция произойдет. Если же субстрат («ключ») несколько изменен, то он не соответствует активному центру («замку»), и реакция становится невозможной. Гипотеза Фишера привлекает своей простотой в объяснении специфичности действия ферментов. Однако с позиций гипотезы «шаблона» трудно объяснить, скажем, абсолютная и относительная групповая субстратная специфичность, поскольку слишком разнообразна конфигурация «ключей» (субстратов), которые подходят к одному и тому же «замку».

Объясняет эти внешние противоречия другая гипотеза, предложенная Кошлендом. Она получила название гипотезы «вынужденного соответствия». По мнению Кошленда, молекула фермента не жесткая, а гибкая, эластичная (что подтверждается современными методами исследования); конформация фермента и его активного центра изменяется при присоединении субстрата или других лигандов; и, наконец, активный центр — не жесткий слепок субстрата, а субстрат вынуждает его принять соответствующую форму в момент присоединения (отсюда и название гипотезы «вынужденного соответствия»).

Иными словами, «замочная скважина», по Кошленду, сделана из податливого материала и поэтому принимает окончательную форму «ключа» при их контакте.

Гипотеза «вынужденного соответствия» получила экспериментальное подтверждение после того, как было зарегистрировано изменение расположения функциональных групп активного центра ряда ферментов после присоединения субстрата. Эта гипотеза позволяет также объяснить, почему происходит превращение близких аналогов субстратов. Если «ложный» субстрат (квази-субстрат) слабо отличается от природного и активный центр принимает конформацию, близкую к истинной, то расстановка каталитических групп в

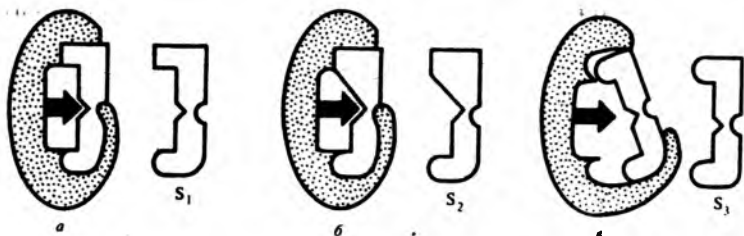


Рис. 22. Схема вынужденного контакта фермента с субстратом:

a — правильная расстановка каталитических групп после контакта с субстратом (истинный субстрат); *б* — расстановка каталитических групп позволяет воздействовать на субстрат, но с меньшей скоростью (квазисубстрат); *в* — расстановка каталитических групп не позволяет превращать субстрат

таким фермент-субстратном комплексе позволит осуществиться реакции (рис. 22). Этот «обман» фермент как бы не замечает. Однако ферментативная реакция пойдет не так быстро, как с истинным субстратом, поскольку нет идеального расположения каталитических групп в активном центре фермента.

Только в том случае, если конфигурация квазисубстрата не позволяет правильно разместиться каталитическим группам, то реакция не пойдет (рис. 22, *в*). Очевидно, неодинаковая степень специфичности разных ферментов отражает как бы диапазон конформационных перестроек активного центра. Если он ограничен вплоть до единственно возможной конформации, фермент высоко специфичен. Если возможности перестройки велики, то фермент срабатывает и на квазисубстраты.

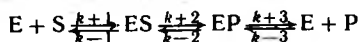
8. Кинетика ферментативных реакций

Кинетика действия ферментов — это раздел ферментологии, изучающий зависимость скорости реакции, катализируемой ферментами, от химической природы и условий взаимодействия субстрата с ферментом, а также от факторов среды. Иначе говоря, кинетика ферментов позволяет понять природу молекулярных механизмов действия факторов, влияющих на скорость ферментативного катализа.

Скорость ферментативной реакции определяется количеством вещества (или веществ), которое превращается в единицу времени. Скорость этих реакций зависит от влияния внешних условий (температуры, pH среды, влияния природных и чужеродных соединений и т. д.).

Основы кинетики ферментативных реакций были заложены в работах Михаэлиса и Ментен. Скорость ферментативной реакции является мерой каталитической активности фермента и обозначается просто *активность фермента*. Измерить активность фермента можно только косвенно: по количеству превращаемого субстрата или нарастанию концентрации продукта в единицу времени.

Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата и фермента. Ферментативная реакция схематически описывается уравнением



где k — константы скорости прямых (+) и обратных реакций (—).

Используя это уравнение, Бриггс и Холдейн вывели математическое выражение зависимости скорости реакции от концентрации субстрата:

$$v = v_{\max} [S] / (K_m + [S]),$$

где v — наблюдаемая скорость реакции; v_{\max} — максимальная скорость реакции; K_m — константа Михаэлиса. Это уравнение называется *уравнением Михаэлиса—Ментен*. При $v = 1/2 v_{\max}$ после соответствующих преобразований уравнения Михаэлиса—Ментен K_m становится равной концентрации субстрата, т. е. $K_m = [S]$. Следовательно, константа Михаэлиса имеет размерность концентрации. Она равна концентрации субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной, и выражается в молях на литр. K_m при $k_{-1} \ll k_{+2}$ представляет собой или константу скорости ферментативной реакции Чем выше K_m , тем ниже скорость каталитического превращения субстрата данным ферментом. По значению K_m ферменты как бы можно условно разделить на «быстрые» (с низкой K_m) и «медленные» (с высокой K_m). Если какой-либо фермент катализирует двухсубстратную реакцию, то для каждого из субстратов есть своя K_m , причем они могут значительно различаться. У ферментов с групповой субстратной специфичностью каждому субстрату соответствует своя K_m .

О сродстве субстрата к ферменту судят по субстратной константе, обозначаемой символом K_s . Она является константой диссоциации комплекса ES. Чем прочней связан субстрат, тем медленнее распадается ES на E и S, а значит, такой субстрат имеет высокое сродство (специфичность связывания) к активному центру фермента и наоборот.

Графически зависимость скорости реакции от концентрации субстрата описывается гиперболой, называемой *кривой Михаэлиса* (рис. 23). Форма кривой показывает, что с увеличением концентрации субстрата все активные центры молекул фермента насыщаются. Это соответствует максимуму образования фермент-субстратных комплексов и максимальной скорости реакции $v_{\max} \cdot K_m$ легко находится на таком графике. Иногда график зависимости скорости реакции от концентрации субстрата строят методом двойных обратных величин (метод Лайнуивера—Берка) (рис. 23, б). Значение константы Михаэлиса находят, как показано на графике.

От того, как изменяется скорость реакции при разных концентрациях субстрата, можно судить о *порядке реакции*, который необходимо знать для работы с ферментами и для правильного определения их активности в клинических лабораториях. Порядок реакции может варьировать от нулевого и выше. При *нулевом порядке* скорость реакции величина постоянная и не зависит от концентрации субстрата. При этом скорость реакции максимальна (v_{\max}). При первом порядке скорость реакции прямо пропорциональна концентрации одного из субстратов и т. д. Для того чтобы правильно определить активность фермента, нужно добиться нулевого порядка реакции, т. е. определять скорость ферментативной реакции при насыщающих концентрациях субстрата. В этом случае все изменения скорости реакции будут зависеть только от количества фермента.

Чтобы оценить условия работы любого фермента в клетках организма, необходимо знать реально имеющиеся в них концентрации субстратов. В физиологических условиях ферменты почти никогда не работают в полную силу, ибо концентрации субстратов для них далеки от насыщающих. Пожалуй, только единственный субстрат, необходимый для гидролаз, — вода присутствует в клетках в насыщающих концентрациях, за исключением случаев, когда структурная локализация фермента ограничивает доступ воды к активному центру.

Зависимость скорости реакции от количества фермента носит линейный характер, что, как уже говорилось, отличает фермент от небиологических катализаторов. Из этого можно извлечь определенный практический вывод, что чем больше число молекул данного фермента в клетке организма по сравнению с остальными, тем выше в ней скорость химических превращений, катализируемых этим ферментом. Если же какого-либо фермента недостаточно (нарушен синтез), то скорость реакции, катализируемая им, ограничивает ход связанных биохимических процессов.

Увеличение числа молекул фермента, достигаемое путем естественной стимуляции их образования или с помощью препаратов, позволяет или восстановить нарушенную скорость реакций, или приспособить необходимые биохимические реакции к новым условиям жизнедеятельности.

Зависимость скорости реакции от pH среды. Обычно кривая зависимости скорости ферментативной реакции от pH среды имеет колоколообразную форму (рис. 24), поскольку для каждого фермента существует свой оптимальный pH, при котором скорость катализируемой им реакции максимальна. Отклонение pH в ту или другую сторону ведет к снижению скорости ферментативной реакции.

Оптимальные значения pH для некоторых ферментов

Фермент	Пепсин	Кислая фосфатаза	Уреаза, панкреатическая амилаза	Трипсин	Аргиназа
Оптимальный pH	1,5—2,5	4,5—5,0	6,4—7,2	7,8	9,5—9,9

Из приведенных данных видно, что оптимальный pH у разных ферментов неодинаков. Однако большая часть ферментов клеток имеет оптимальный pH, близкий к нейтральному, т. е. совпадающий с физиологическими значениями pH.

Зависимость скорости ферментативной реакции от pH главным образом свидетельствует о состоянии функциональных групп активного центра фермента. Изменение pH среды влияет на ионизацию кислотных и основных групп аминокислотных остатков активного центра, которые участвуют или в связывании субстрата (в контактном участке), или в его превращении (в каталитическом участке). Поэтому специфическое влияние pH может быть вызвано

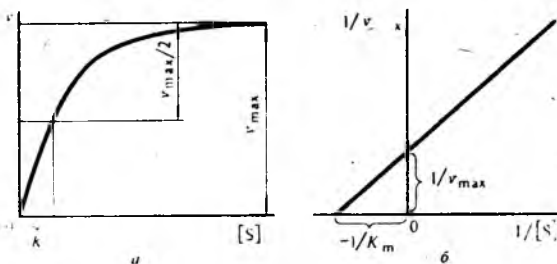


Рис. 23. Графики зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата: а — Михаэлиса — Ментен; б — Лайнуивера — Берка

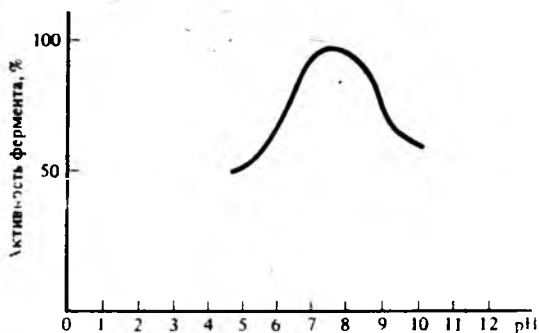


Рис. 24. График зависимости скорости ферментативной реакции от pH среды

состоянии, и субстрат находится в форме, предпочтительной для связывания этими группами фермента.

Зависимость ферментативной реакции от pH среды имеет практическое значение. Прежде всего определение активности ферментов должно проводиться при оптимальном для данного фермента pH. Для этого подбирается нужный буферный раствор с необходимым значением pH.

Диапазон колебаний pH в физиологических условиях незначителен, но изменения pH на ограниченном участке клетки могут быть. Они-то и влияют на деятельность ферментов. Например, при активной мышечной работе накапливается молочная кислота, кратковременно сдвигающая pH среды мышечных клеток в кислую сторону, что изменяет скорость ферментативных реакций.

Знание оптимумов pH для индивидуальных ферментов важно для практической медицины. Например, пепсин для активного гидролиза белков в желудке требует сильнокислой среды, поэтому для восстановления нарушенной активности эндогенного пепсина необходимо принимать кислые вещества. Препарат пепсина принимают с соляной кислотой, создающей нужный pH.

Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры. С повышением температуры среды скорость ферментативной реакции увеличивается, достигая максимума при какой-то оптимальной температуре, а затем па-

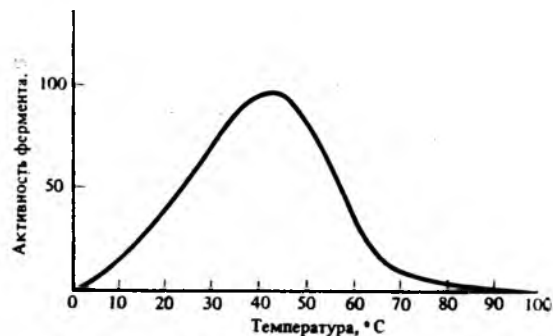


Рис. 25. График зависимости скорости ферментативной реакции от температуры

или изменением сродства субстрата к ферменту, или изменением каталитической активности фермента, или обоими причинами вместе.

Большинство субстратов имеют кислотные или основные группы, поэтому pH влияет на степень ионизации субстрата. Фермент предпочтительно связывается или с ионизированной, или с неионизированной формой субстрата. Очевидно, при оптимальном pH и функциональные группы активного центра находятся в наиболее реакционноспособном

состоянии (рис. 24). При повышении температуры до оптимальной скорость реакции увеличивается, достигая максимума при какой-то оптимальной температуре, а затем падает до нуля (рис. 25). Для химических реакций существует правило, что при повышении температуры на 10°C скорость реакции увеличивается в два-три раза. Для ферментативных реакций этот температурный коэффициент ниже: на каждые 10°C скорость реакции увеличивается в 2 раза и даже меньше. Наступающее вслед за этим снижение скорости реакции до нуля (нисходящая ветвь на рис. 25) свидетельствует о денатурации ферментного блока. Оптимальные значения температуры

для большинства ферментов находятся в пределах 20—40°C. Термолабильность ферментов связана с их белковым строением. Некоторые ферменты денатурируют уже при температуре около 40°C, но основная часть их инактивируется при температурах выше 40—50°C. Отдельные ферменты инактивирует холод, т. е. при температурах, близких к 0°C, наступает денатурация.

Однако некоторые ферменты не подчиняются этим закономерностям. Так, фермент каталаза наиболее активен при температурах, приближающихся к 0°C. Имеются и термостабильные ферменты. Например, аденилаткиназа выдерживает кратковременно температуру 100°C без инактивации. Микроорганизмы, обитающие в горячих источниках, содержат многие белки, в том числе и ферменты, отличающиеся высокой термостабильностью. Как уже упоминалось ранее, такие ферменты являются гликопротеидами, поскольку углеводный компонент придает белку термоустойчивость.

Влияние температуры на активность ферментов важно для понимания процессов жизнедеятельности. При снижении температуры некоторые животные впадают в состояние спячки или анабиоза. Скорость ферментативных реакций в этом состоянии замедляется, что обеспечивает малый расход накопленных организмом питательных веществ и снижение активности клеточных функций. Согревание тела ускоряет ход ферментативных реакций и возвращает организм животных к активной деятельности.

Искусственное охлаждение организма, так называемая *гибернация*, используется в клинике для проведения хирургических операций. Охлаждение тела также замедляет скорость ферментативных реакций, что позволяет снизить расход веществ и длительное время сохранять жизнеспособность клеток организма.

Повышение температуры тела (лихорадочное состояние), например при инфекциях, ускоряет биохимические реакции, катализируемые ферментами. Нетрудно подсчитать, что увеличение температуры тела на каждый градус повышает скорость реакции примерно на 20%. При высоких температурах около 39—40°C расточительное использование эндогенных субстратов в клетках больного организма обязательно требует восполнения их поступлением с пищей. Кроме того, при температуре порядка 40°C часть весьма термолабильных ферментов может денатурироваться, что нарушает естественный ход биохимических процессов. Так что знание термозависимости ферментативных реакций позволяет использовать их в практической деятельности врача.

Для определения активности ферментов в лабораторной практике всегда подбирают определенные стандартные или оптимальные температурные условия с учетом термолабильности конкретного фермента. Сравнить изменения активности фермента, определяемого, скажем, для выявления нарушений в организме, можно только при одинаковых температурных режимах.

Термозависимость ферментов используется в практике для разработки температурных режимов хранения продуктов питания. Сохранность их при низких температурах является результатом низкой активности собственных ферментов, которые «не съедают» свои субстраты (например, в овощах, фруктах и т. д.), или ферментов микроорганизмов, которые могут портить продукты.

9. Методы определения и единицы активности ферментов

Ферменты, содержащиеся в клетках, тканях и органах, предварительно экстрагируют, используя специальные методические приемы. При извлечении добавляют необходимые стабилизаторы ферментов, предохраняющие их от инактивации. Раствор фермента (экстракт из биологического материала) используют для определения ферментов. Сыворотка или плазма крови, другие биологические жидкости являются готовыми растворами ферментов, поэтому их сразу используют для определения. Если в задачу исследования входит получение очищенного или кристаллического фермента, то определение активности ведут после каждой стадии очистки.

Качественные и количественные пробы на фермент проводятся косвенным путем по убыли субстрата или накоплению в среде продуктов реакции. Прямое измерение количества фермента в принципе возможно лишь для гомогенного, кристаллического фермента. Количество белка, измеряемого прямыми химическими методами, должно соответствовать количеству фермента. Практически же и в этом случае пользуются косвенным методом, так как количество белка в растворе гомогенного фермента еще не критерий активности фермента (часть молекул может находиться в неактивном или денатурированном состоянии).

Скорость исчезновения субстрата или нарастания количества продуктов реакции в единицу времени служит мерой *активности фермента*.

Стандартные условия. Для правильного определения активности фермента необходимо проводить его в стандартных условиях, которые устанавливаются для каждого фермента из предварительных кинетических исследований, и точно измерять изменение содержания субстрата или продукта реакции за определенный отрезок времени.

Необходимо соблюдать оптимальное для определяемого фермента значение pH (используют подходящий буфер). Концентрация субстрата должна быть больше насыщающей, при которой поддерживается максимальная скорость реакции (сверхнасыщающие концентрации субстрата специально устанавливаются для ферментов, подверженных субстратному ингибированию). Для сложных ферментов, требующих кофакторов (ионы металла, коферменты), концентрация кофакторов тоже должна превышать насыщающую. Стандартная температура принята 25°C (измерение при других температурах специально оговаривается в опыте). Эти стандартные условия обеспечивают нулевой порядок реакции, при котором изменение концентрации субстрата или продукта реакции зависит только от количества добавленного в среду фермента.

Для правильного измерения активности фермента нужно определить *начальную скорость реакции*, т. е. в начале реакции, когда за равные промежутки времени пропорционально изменяется концентрация субстрата или продукта.

Методы определения содержания субстрата или продукта реакции. Определение проводится любым методом (колориметрическим, спектрофотометрическим, флуориметрическим, полярографическим и т. д.) после остановки реакции через определенный промежуток времени или регистрируется непрерывно в ходе реакции. Последний способ удобнее. Он возможен, если суб-

страт или продукт поглощают в определенной области спектра (регистрируют изменение поглощения их в ходе реакции на спектрофотометре) или флуоресцируют (изменение флуоресценции за определенное время непрерывно регистрируют на спектрофлуориметрах) и т. д. Иначе говоря, выбор метода определения активности фермента ограничивается возможностями определения субстрата или продуктов реакции.

Единицы активности ферментов. За международную единицу активности фермента принимается количество фермента, способное превратить один микроль (мкмоль) субстрата за 1 мин в стандартных условиях. Международные единицы количества фермента обозначаются символом Е или U.

Удельная активность фермента равна массе фермента (в миллиграммах), способной превратить 1 мкмоль субстрата за 1 мин в стандартных условиях, выражается в мкмоль/(мин · мг белка). Рекомендована также новая единица каталитической активности *катал* (символ — *кат*), которая представляет собой количество фермента, способное осуществить превращение 1 моля субстрата в 1 с в стандартных условиях.

10. Регуляция активности ферментов

Ферменты, как уже говорилось, относятся к катализаторам с регулируемой активностью. Поэтому через ферменты можно контролировать скорость протекающих химических реакций в организме. Регуляция активности ферментов может осуществляться путем взаимодействия с ними различных биологических компонентов или чужеродных соединений (например, лекарств и ядов), которые принято называть *модификаторами* или *регуляторами ферментов*. Под действием модификаторов на фермент реакция может ускоряться (в этом случае их называют активаторами) или замедляться (в этом случае их называют ингибиторами).

Активация ферментов

Активация ферментов определяется по ускорению биохимических реакций, наступающему после действия модификатора. Одну группу активаторов составляют вещества, влияющие на область активного центра фермента. К ним относятся кофакторы ферментов и субстраты. Кофакторы (ионы металлов и коферменты) являются не только обязательными структурными элементами сложных ферментов, но и по существу их активаторами.

Ионы металлов бывают довольно специфичными активаторами. Часто для некоторых ферментов требуются ионы не одного, а нескольких металлов. Например, для Na^+K^+ -АТФазы, осуществляющей транспорт одновалентных катионов через клеточную мембрану, необходимы в качестве активаторов ионы магния, натрия и калия.

Активация с помощью ионов металлов осуществляется по разным механизмам. В некоторых ферментах они входят в состав каталитического участка. В ряде случаев ионы металлов облегчают связывание субстрата с активным центром фермента, образуя как бы своеобразный мостик. Нередко металл соединяется не с ферментом, а с субстратом, образуя металлосубстратный комплекс, который предпочтителен для действия фермента.

Специфичностью участия коферментов в связывании и катализе субстрата объясняется активация ими ферментативных реакций. Особенно заметно активирующее влияние кофакторов при действии на фермент, который не насыщен кофакторами.

Субстрат тоже в известных пределах концентраций является активатором. После достижения насыщающих концентраций субстрата активность фермента не возрастает. Субстрат повышает стабильность фермента и облегчает формирование нужной конформации активного центра фермента.

Ионы металлов, коферменты и их предшественники и активные аналоги, субстраты можно использовать на практике как препараты, активирующие ферменты.

Активация некоторых ферментов может осуществляться путем модификации, не затрагивающей активный центр их молекул. Возможно несколько вариантов такой модификации: 1) активация неактивного предшественника — *профермента*, или *зимогена*; 2) активация путем присоединения какой-либо специфической модифицирующей группы к молекуле фермента; 3) активация путем диссоциации неактивного комплекса белок — активный фермент.

Ингибирование ферментов

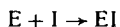
Ингибиторы представляют большой интерес для понимания механизма ферментативного катализа. Применение различных веществ, связывающих функциональные группы контактного и каталитического участков активного центра фермента, может прояснить значение тех или иных групп, участвующих в катализе. Ингибиторы позволяют понять не только суть ферментативного катализа, но и являются своеобразным инструментом для исследования роли отдельных химических реакций, которые с помощью ингибитора данного фермента можно специфически выключать. Изучение ингибирования ферментативных реакций имеет прикладное значение для изыскания и расфировки механизма действия лекарственных средств, ядохимикатов и т. д.

Следует осторожно относиться к термину *ингибитор*, понимая под ним только то вещество, которое вызывает специфическое снижение активности фермента. Просто факт торможения реакции еще не говорит о том, что мы имеем дело с ингибитором. Любые денатурирующие агенты также вызывают угнетение ферментативной реакции. Поэтому в случае действия денатурирующих веществ правильнее говорить не об «ингибировании», а об «инактивации». Нередко вещество в небольших концентрациях является ингибитором, а в больших — инактиватором, так что деление это до некоторой степени условно.

Ингибиторы характеризуются прежде всего таким общим признаком, как прочность связывания с ферментом. По этому признаку ингибиторы делятся на две группы: *обратимые* и *необратимые*. Отнести ингибитор к одной из двух групп позволяет критерий *восстановления активности фермента* после диализа или сильного разведения раствора фермента с ингибитором. Необратимые ингибиторы прочно связываются с ферментом, и после этих процедур активность фермента не восстанавливается. Наоборот, комплекс фермент — обратимый ингибитор непрочен и быстро диссоциирует. Активность фермента при этом восстанавливается.

По механизму действия ингибиторы ферментов делятся на следующие основные типы: 1) конкурентные; 2) неконкурентные; 3) бесконкурентные; 4) субстратные; 5) аллостерические.

✓ **Конкурентным ингибированием** называется торможение ферментативной реакции, вызванное связыванием с активным центром фермента ингибитора, сходного по структуре с субстратом и препятствующего образованию фермент-субстратного комплекса. При конкурентном торможении ингибитор и субстрат, будучи сходными по строению, конкурируют за активный центр фермента. С активным центром связывается то соединение, молекул которого больше. С ферментом связан либо субстрат, либо ингибитор, поэтому для такого типа ингибирования справедливо уравнение



где I — ингибитор; EI — фермент-ингибиторный комплекс. Но никогда при конкурентном ингибировании не образуется тройной комплекс ESI (фермент — субстрат — ингибитор), чем этот тип ингибирования отличается от других.

Ингибирование наступает вследствие того, что субстратоподобный ингибитор связывает часть молекул фермента, которые уже не способны образовать фермент-субстратный комплекс. Снять торможение можно избытком субстрата, вытесняющего ингибитор из активных центров ферментных молекул, тем самым возвращая им способность к катализу.

Вследствие сходства конкурентного ингибитора с субстратом такое ингибирование называют также *изостерическим*. Конкурентными (изостерическими) ингибиторами могут быть метаболиты, накопление которых регулирует активность ферментов, и чужеродные вещества.

В качестве примера конкурентного ингибирования можно привести влияние различных веществ на активность сукцинатдегидрогеназы. Этот фермент входит в состав ферментной циклической системы — цикла Кребса. Его природным субстратом является сукцинат, а сходным с ним конкурентным ингибитором — оксалоацетат, промежуточный продукт того же цикла Кребса:



Аналогичным конкурентным ингибитором сукцинатдегидрогеназы является малоновая кислота, часто используемая в биохимических исследованиях. На рис. 26 схематически показан механизм конкуренции между сукцинатом и малонатом за фермент.

Наглядным примером конкурентного ингибирования может служить действие группы субстратов на ферменты, обладающие групповой субстратной специфичностью. Квазисубстраты являются конкурентными ингибиторами ферментов по отношению к истинным субстратам.

На принципе конкурентного ингибирования основано действие многих фармакологических препаратов, ядохимикатов, используемых для уничтожения сельскохозяйственных вредителей, и боевых отравляющих веществ.

Например, группа антихолинэстеразных препаратов, к которым относятся производные четвертичных аммониевых оснований и фосфорорганические

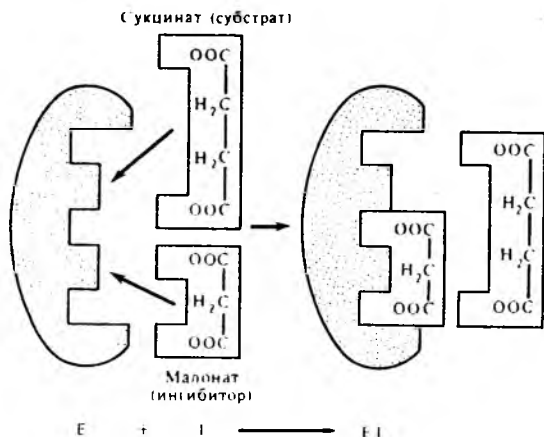


Рис. 26. Схема конкурентного ингибирования сукцинатдегидрогеназы малонатом

форорганические препараты типа армина, нибуфина, хлорофоса, зарина, зомана действуют необратимо, фосфорилируя каталитическую группу фермента. В результате их действия накапливается ацетилхолин в тех синапсах, где он является медиатором нервного возбуждения, т. е. происходит отравление организма накопившимся ацетилхолином. Действие обратимых ингибиторов постепенно проходит, так как чем больше накапливается ацетилхолина, тем быстрее он вытесняет ингибитор из активного центра холинэстеразы. Токсичность необратимых ингибиторов несравненно выше, поэтому их применяют для борьбы с вредителями сельского хозяйства, бытовыми насекомыми и грызунами (например, хлорофос) и как боевые отравляющие вещества (например, зарин, зоман и др.).

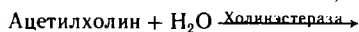
Избирательно выключая тот или иной фермент, можно проводить своеобразный анализ участия конкретного фермента в обмене веществ. Явление конкурентного ингибирования открывает возможности для поиска *антиметаболитов*, которые, обладая сходной конфигурацией с истинным субстратом, могут попадать в категорию конкурентных ингибиторов. Антиметаболиты перспективны как специфические фармакопрепараты.

Однако нельзя забывать, что конкурентные отношения возможны не только между субстратом и ингибитором, но и между ингибитором и коферментом.

Антикоферменты (аналоги коферментов, не способные выполнять их функцию) тоже действуют как конкурентные ингибиторы, выводя «из строя» те молекулы фермента, с которыми они соединяются. Антикоферменты (или их предшественники антивитамины) широко используются и в биохимических исследованиях, и в медицинской практике как эффективные лекарства.

Неконкурентным ингибированием ферментов называется торможение, связанное с влиянием ингибитора на каталитическое превращение, но не на связывание субстрата с ферментом. Неконкурентный ингибитор или связывается непосредственно с каталитическими группами активного центра фермента, или, связываясь с ферментом вне активного центра, изменяет конфор-

соединения, являются конкурентными ингибиторами фермента холинэстеразы по отношению к его субстрату ацетилхолину. Холинэстераза катализирует гидролиз ацетилхолина — медиатора холинэргических систем (нервно-мышечных синапсов, парасимпатической системы и т. д.):

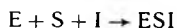


↳ Холин + Ацетат

Антихолинэстеразные вещества конкурируют с ацетилхолином за активный центр фермента, связываются с ним и выключают каталитическую активность фермента.

Такие препараты, как прозерин, физостигмин, себин, угнетают фермент обратимо, а фос-

мацию активного центра таким образом, что затрагивает структуру каталитического участка, мешая взаимодействию с ним субстрата. Поскольку неконкурентный ингибитор не влияет на связывание субстрата, то в отличие от конкурентного ингибирования наблюдается образование тройного комплекса ESI по уравнению



Однако превращения этого комплекса в продукты не происходит.

Неконкурентными ингибиторами являются, например, цианиды, которые прочно соединяются с трехвалентным железом, входящим в каталитический участок геминного фермента — цитохромоксидазы. Блокада этого фермента выключает дыхательную цепь, и клетка погибает. К неконкурентным ингибиторам ферментов относятся ионы тяжелых металлов и их органические соединения. Поэтому ионы тяжелых металлов ртути, свинца, кадмия, мышьяка и других очень токсичны. Они блокируют, например, SH-группы, входящие в каталитический участок фермента (рис. 27, а). Комплекс фермент — ингибитор способен присоединять субстрат, но дальнейшего превращения субстрата не происходит, так как каталитические группы заблокированы. Снять действие неконкурентного ингибитора избытком субстрата (как действие конкурентного) нельзя, а можно лишь веществами, связывающими ингибитор (рис. 27, б). Эти вещества называют *реактиваторами*.

Тяжелые металлы лишь в небольших концентрациях играют роль неконкурентных ингибиторов. В больших концентрациях они выступают как инактиваторы (действуют как денатурирующие агенты).

Неконкурентные ингибиторы применяются как фармакологические сред-

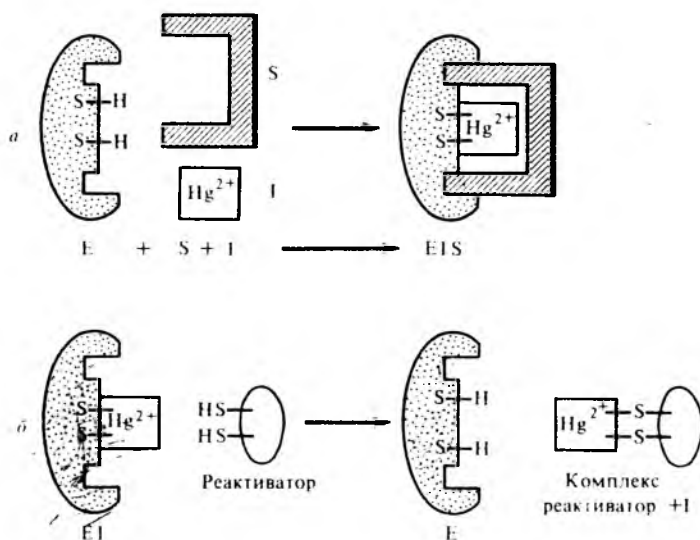


Рис. 27. Схема действия неконкурентного ингибитора (ионы ртути) и механизм реактивирования фермента, заблокированного неконкурентным ингибитором

ства, отравляющие вещества для борьбы с вредителями сельского хозяйства и в военных целях. В медицине применяются препараты, содержащие ртуть, мышьяк, висмут, которые неконкурентно ингибируют ферменты в клетках организма или болезнетворных бактерий, чем и определяется тот или иной их эффект.

При интоксикации связывание яда или его вытеснение из комплекса фермент — ингибитор возможно с помощью реактиваторов, или противоядий. К ним относятся все SH-содержащие комплексоны (цистеин, димеркаптопропанол), лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота и др.

Бесконкурентным ингибированием называется торможение ферментативной реакции, вызванное присоединением ингибитора только к комплексу фермент — субстрат. Бесконкурентный ингибитор не соединяется с ферментом в отсутствие субстрата. Более того, ингибитор облегчает присоединение субстрата, а затем, связываясь сам, ингибирует фермент. Это более редкий пример ингибирования, чем рассмотренные выше.

Субстратным ингибированием называется торможение ферментативной реакции, вызванное избытком субстрата. Такое ингибирование происходит вследствие образования фермент-субстратного комплекса, не способного подвергаться каталитическим превращениям. Схематически пример субстратного торможения показан на рис. 28. Комплекс ES_2 непродуктивный и делает молекулу фермента неактивной. Субстратное торможение вызвано избытком субстрата, поэтому снимается при снижении его концентрации.

Аллостерическая регуляция активности ферментов

Аллостерическая регуляция характерна только для особой группы ферментов с четвертичной структурой, имеющих регуляторные центры для связывания аллостерических эффекторов. Отрицательные эффекторы, которые тормозят превращение субстрата в активном центре фермента, выступают в роли *аллостерических ингибиторов*. Положительные аллостерические эффекторы, напротив, ускоряют ферментативную реакцию, и поэтому их относят к *аллостерическим активаторам*. Аллостерическими эффекторами ферментов наиболее часто выступают различные метаболиты, а также гормоны, ионы металлов, коферменты. В редких случаях роль аллостерического эффектора ферментов выполняют молекулы субстрата. У таких ферментов, очевидно, по конфигурации активный центр сходен с аллостерическим, но последний не имеет каталитического участка

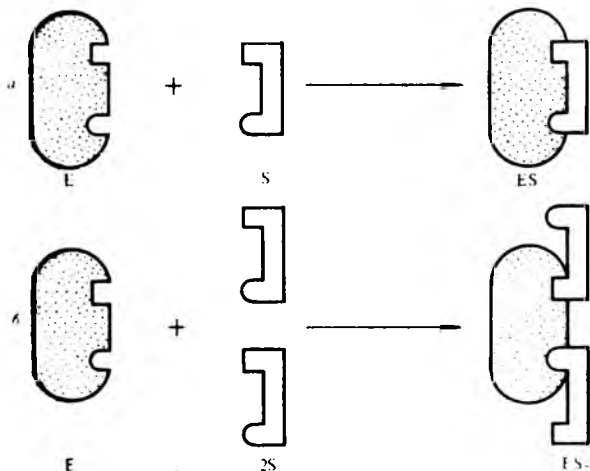


Рис. 28. Схема субстратного ингибирования фермента: а — образование продуктивного ES комплекса; б — образование непродуктивного ES_2 комплекса при субстратном торможении фермента

зят превращение субстрата в активном центре фермента, выступают в роли *аллостерических ингибиторов*. Положительные аллостерические эффекторы, напротив, ускоряют ферментативную реакцию, и поэтому их относят к *аллостерическим активаторам*. Аллостерическими эффекторами ферментов наиболее часто выступают различные метаболиты, а также гормоны, ионы металлов, коферменты. В редких случаях роль аллостерического эффектора ферментов выполняют молекулы субстрата. У таких ферментов, очевидно, по конфигурации активный центр сходен с аллостерическим, но последний не имеет каталитического участка

(допускается, что у них одинаковы лишь контактные участки), чем и отличается от активного центра фермента. Подобные ферменты имеют как бы собственный самоконтроль за скоростью превращения субстрата.

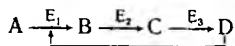
Некоторые ферменты имеют по несколько аллостерических центров; одни из них специфичны к аллостерическим ингибиторам, другие — к активаторам. Причем специфичность связывания активаторов и ингибиторов со своими аллостерическими центрами может быть разной, как и у активных центров: либо абсолютной, т. е. только к одному эффектору, либо групповой, т. е. к группе сходных по строению эффекторов. Это лишний раз доказывает, что аллостерический центр — это своеобразный активный центр. лишенный каталитического участка. Чем больше аллостерических центров и эффекторов, тем чувствительнее реагирует фермент на изменения в обмене веществ.

Механизм действия *аллостерических ингибиторов* на фермент заключается в изменении конформации активного центра. Снижение скорости ферментативной реакции является либо следствием увеличения K_m , либо результатом снижения максимальной скорости v_{max} при тех же насыщающих концентрациях субстрата, т. е. фермент частично работает вхолостую.

Аллостерические активаторы, напротив, облегчают превращение субстрата в активном центре фермента, что сопровождается или уменьшением K_m или повышением максимальной скорости v_{max} .

Аллостерические ферменты отличаются от прочих ферментов особой S-образной кривой зависимости скорости реакции от концентрации субстрата. Эта кривая сходна с кривой насыщения гемоглобина кислородом. Она свидетельствует о том, что активные центры субъединиц функционируют не автономно, а кооперативно, т. е. средство каждого следующего активного центра к субстрату определяется степенью насыщения предыдущих центров. Согласованную работу центров обуславливают аллостерические эффекторы.

Аллостерические ферменты играют важную роль в обмене веществ клетки. Они занимают «ключевое» положение в метаболизме, поскольку тонко реагируют на изменение в обмене веществ и регулируют скорость прохождения веществ по целой системе ферментов. Например, аллостерическая регуляция проявляется в виде ингибирования конечным продуктом первого фермента цепи. Строение конечного продукта после серии превращений исходного вещества (субстрата) не похоже на субстрат, поэтому конечный продукт может действовать на начальный фермент цепи только как аллостерический ингибитор (эффектор). Внешне такая регуляция сходна с регуляцией по механизму обратной связи и позволяет контролировать выход конечного продукта, в случае накопления которого прекращается работа первого фермента цепи:



где A, B, C, D — метаболиты; E_1 , E_2 , E_3 — ферменты.

Например, аспарат-карбамоилтрансфераза (АКТаза) катализирует первую из шести реакций синтеза цитидинтрифосфата (ЦТФ). ЦТФ — аллостерический ингибитор АКТазы. Поэтому, когда накапливается ЦТФ, происходит торможение АКТазы и прекращается дальнейший синтез ЦТФ. Обнаружена аллостерическая регуляция ферментов с помощью гормонов. Например, эстрогены (женские половые гормоны) являются аллостерическим

ингибитором фермента глутаматдегидрогеназы, катализирующего дезаминирование глутаминовой кислоты.

11. Множественные молекулярные формы ферментов

Все ферменты, находящиеся в живых организмах, относятся к определенным классам (независимо от источника их получения) в зависимости от типа катализируемых ими реакций. До 1957 г. считалось, что молекулы фермента, катализирующие одну и ту же реакцию, одинаковы. После того как было обнаружено, что для одного и того же фермента возможно семейство молекул, возник термин «множественные формы ферментов».

Говоря о множественных формах ферментов, имеют в виду ферментные белки, отличающиеся друг от друга по физико-химическим свойствам, но катализирующие одну и ту же химическую реакцию в организме определенного вида.

Природа появления множественных форм ферментов разнообразна и до конца не изучена. В зависимости от причины возникновения их делят на две группы: изоферменты (синонимы — изозимы, изоэнзимы) и просто множественные формы ферментов.

Изоферменты — это молекулярные формы ферментов, возникающие вследствие генетических различий в первичной структуре ферментного белка, т. е. физико-химические различия их имеют генетическое происхождение. Все негенетически возникшие модификации одного и того же фермента называют *множественными формами ферментов* (табл. 23).

Функция изоферментов. Существует мнение, что изоферменты играют регуляторную роль в обмене веществ и позволяют метаболизму в разных

Таблица 23. Множественные формы ферментов

Группы	Причины множественности форм	Примеры ферментов
Изоферменты	<p>Генетические:</p> <p>а) генетически независимые белки</p> <p>б) гибриды двух и более субъединиц, имеющих независимое генетическое происхождение</p> <p>в) генетические (или аллеломорфные) варианты одного белка, вследствие чего возникают перестановки аминокислот в полипептидной цепи, не влияющие на специфическую функцию фермента</p>	<p>Малатдегидрогеназа митохондрий и цитоплазмы</p> <p>Лактатдегидрогеназа</p> <p>?</p>
Остальные множественные формы ферментов	<p>Негенетические:</p> <p>а) белки, сопряженные с другими группами</p> <p>б) белки, образовавшиеся из одной полипептидной цепи (из проферментов)</p> <p>в) полимеры одной и той же субъединицы (разные гомополимеры)</p> <p>г) конформационные формы, т. е. имеющие разную конформацию одного и того же белка</p>	<p>Фосфорилазы А и В</p> <p>Семейство химотрипсина, образующихся из химотрипсина</p> <p>Глутаматдегидрогеназа (мол. масса 10^6 и $2,5 \cdot 10^5$)</p> <p>Все аллостерические модификации ферментов</p>

тканях лучше приспособляться к действию внутренних и внешних факторов. По существу, изоферменты позволяют изменять направление биохимических реакций, так как содержание отдельных изоферментов в разных клетках и тканях и даже в отдельных органоидах внутри клетки неодинаково. Поскольку отдельные изоферменты обладают разным сродством к субстратам и скоростью их превращения, то вариации в наборе индивидуальных молекул изоферментов обеспечивают неодинаковую скорость протекания прямой и обратной реакций. Направление превращений определяет изофермент, преобладающий в данном участке клетки.

12. Полиферментные системы

Каждая клетка организма имеет свой специфический набор ферментов. Некоторые ферменты содержатся во всех клетках, другие присутствуют лишь в немногих. В клетке работа каждого фермента, как правило, не индивидуальна, а тесно связана с другими ферментами. Так из отдельных ферментов (точнее их множественных форм) формируются полиферментные системы, или конвейеры.

Работа полиферментных систем зависит от особенностей их организации в клетках. Можно условно выделить следующие виды организации полиферментных систем: функциональная, структурно-функциональная и смешанная.

Функциональная организация примечательна тем, что отдельные ферменты объединены в полиферментную систему, выполняющую определенную функцию, с помощью метаболитов, которые диффундируют от одного фермента к другому. Причем в функционально организованных полиферментных системах продукт реакции первого фермента в цепи служит субстратом для следующего и т. д.

Часто метаболит может выполнять роль связки между разными полиферментными системами, если он является общим для индивидуальных ферментов разных полиферментных цепей, каждая из которых выполняет свои биохимические функции в клетке. Такие «перемычки» из метаболитов объединяют ферментные системы, даже локализованные в разных органоидах клетки, в единую метаболическую карту клетки.

Примером функциональной организации полиферментных систем служит гликолиз, т. е. распад глюкозы. Все ферменты гликолиза находятся в растворимом состоянии. Каждая реакция катализируется отдельными ферментами. Связующим звеном здесь служат метаболиты. Положение каждого фермента в цепи устанавливается по сродству их к субстратам (начиная с глюкозы), каждый из которых соответственно является продуктом реакции, катализируемой предыдущим ферментом.

Структурно-функциональная организация заключается в том, что ферменты образуют структурные системы с определенной функцией при помощи фермент-ферментных (белок-белковых) взаимодействий. Таким образом формируются структурные полиферментные надмолекулярные комплексы. К ним относятся, например, полиферментный комплекс пируватдегидрогеназа, состоящий из нескольких ферментов, участвующих в окислении пировиноградной кислоты, или синтетаза жирных кислот, состоящая из семи структурно связанных ферментов, в целом выполняющих общую функцию — синтез жирных кислот.

Такие полиферментные комплексы очень прочны и с трудом распадаются на отдельные ферменты. Этим они отличаются от полиферментных систем с функциональной организацией.

Кроме полиферментных комплексов возможен и другой вариант структурно-функциональной организации. Так, ферменты могут закрепляться на биологической мембране и выстраиваться в цепи. Таким образом, например, устроена дыхательная цепь митохондрий, участвующая в транспорте электронов и протонов и образования энергии.

Очевидно структурно-функциональный тип организации важен для тех ферментных систем, биологические функции которых должны выполняться с большой степенью стабильности. Разделение ферментов в таких системах прекращает их деятельность.

Смешанный тип организации полиферментных систем представляет собой комбинацию обоих типов организации, т. е. часть полиферментной системы имеет структурную организацию, часть — функциональную. Примером такой организации служит полиферментная система цикла Кребса, где часть ферментов объединена в структурный комплекс (2-оксоглутаратдегидрогеназный комплекс), а часть соединена друг с другом функционально с помощью связующих метаболитов.

13. Имобилизованные ферменты

Имобилизованные, или нерастворимые, ферменты — это искусственно полученный комплекс фермента с нерастворимым в воде носителем. Имобилизация (от лат. *immobilis* — «неподвижный») осуществляется: путем физической адсорбции фермента на нерастворимом материале; включением фермента в ячейки геля; а также ковалентным связыванием фермента с нерастворимым материалом или молекул фермента между собой с образованием нерастворимых полиферментных комплексов.

В качестве адсорбентов используют стекло, силикагель, гидроксилпатит, целлюлозу и ее производные. Для включения фермента в ячейки геля используют разнообразный гелеобразующий материал, чаще всего полиакриламидный гель. В качестве материала для ковалентного связывания ферментов применяют полипептиды, производные стирола, полиакриламид, нейлон, различные производные целлюлозы, крахмал, агарозу, а также стекло, силикагель и т. д. При ковалентном связывании ферменты находятся на химическом «поводке» у нерастворимого носителя.

При получении иммобилизованных ферментов принимают все меры предосторожности для сохранения активности фермента. Иммобилизованные ферменты обычно менее активны, чем исходные, поскольку связывание с носителем ослабляет контакт с субстратом.

Иммобилизованные ферменты являются как бы моделью структурно-организованных в клетке ферментов (мембрана — это та же нерастворимая основа для соединения с ферментом), поэтому они служат для изучения свойств ферментов, связанных с внутриклеточными структурами. Помимо этого, иммобилизованные ферменты имеют большое преимущество перед обычными ферментами. Нерастворимые ферменты легко удаляются из реакционной среды, их можно промывать от продуктов реакции и вновь использовать.

14. Практическое значение ферментов

Ферменты широко применяются в практической деятельности человека. Они используются в различных областях народного хозяйства, не говоря уже об исключительном значении для медицинской практики. Препараты амилазы (получаемые из плесневых грибов) облегчают гидролиз крахмала и тем самым улучшают созревание теста при выпечке высших сортов хлебо-булочных изделий и спиртовое брожение при получении пива. Другой фермент — пектиназа, гидролизующий пектиновые вещества оболочек растительных клеток, увеличивает выход сока из плодово-ягодной продукции и облегчает извлечение из растительного сырья ценных эфирных масел, используемых в парфюмерии.

Обработка протеолитическими ферментами мяса повышает скорость его созревания, оно становится мягким, нежным и вкусным. В кожевенном производстве те же протеолитические ферменты применяют для обработки шкур и мягчения кожевенного сырья.

Специфические свойства фермента глюкозооксидазы, катализирующего прямое окисление глюкозы кислородом воздуха, применяются в пищевой промышленности для удаления глюкозы из продуктов, подлежащих длительному хранению, и кислорода из консервных банок и бутылок с напитками, что предохраняет продукты от порчи. Ферментные добавки (протеолитические ферменты) применяют в производстве специальных стиральных порошков, которые снимают «белковые пятна» на одежде.

В сельском хозяйстве ферменты применяют как добавки при силосовании кормов, что повышает доступность биологических веществ и улучшает питательную ценность корма. С помощью бактериальных ферментов получают из нефтяных продуктов кормовой белок для животноводства.

✓ В медицине ферменты имеют диагностическое значение — определение отдельных ферментов в клинике помогает распознаванию природы заболевания. Их используют для замещения недостающего фермента в организме или для разложения какого-либо субстрата, с избыточным содержанием которого связывают признаки заболевания. Наиболее часто в клинике применяют пищеварительные ферменты (пепсин, трипсин и т. д.).

С помощью иммобилизованных ферментов осуществляется промышленный синтез ряда гормональных препаратов на фармацевтических предприятиях, разработаны высокочувствительные методы анализа лекарств, экспресс-анализ биологических компонентов и многое другое. Протеолитические ферменты (трипсин, химотрипсин), иммобилизованные на марлевых салфетках, тампонах, применяют в хирургической практике для очищения гнойных ран, омертвевших тканей, основанного на ферментативном разложении белков погибших клеток в гнойных ранах. Иммобилизованные и растворимые ферменты становятся одним из самых распространенных лекарств биологического происхождения.

ГЛАВА 11. ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ

Транспорт, или перемещение веществ из одного участка в другой, — необходимое звено не только обмена веществ, но и вообще процессов жизнедеятельности организма. Чаще всего транспорт играет с в я з у ю щ у ю р о л ь, на-

пример, восполняя «разрыв» между различными участками метаболизма внутри клеток или разными тканями и органами.

Благодаря транспорту возможна биохимическая специализация органов и тканей организма, что экономит энергетические и пластические ресурсы для синтеза всего набора ферментов в каждой ткани и органе. Например, жировая ткань специализирована на образовании триацилглицеринов из различных субстратов и освобождает прочие ткани от необходимости синтезировать их в больших количествах. По мере надобности происходит мобилизация липидов в жировой ткани и снабжение ими других тканей и органов. Таких примеров координации обмена веществ в организме много.

Транспорт веществ возможен с помощью следующих механизмов.

1. Механический транспорт: а) без носителя; б) с носителем.
2. Диффузионный транспорт: а) обычная диффузия (пассивный транспорт); б) облегченная диффузия (облегченный транспорт).
3. Активный транспорт: а) первичный активный транспорт; б) вторичный активный транспорт.
4. Электрофоретический транспорт.
5. Везикулярный транспорт (цитоз): а) пиноцитоз (эндоцитоз); б) экзоцитоз.

Механизмы транспорта отличаются друг от друга природой сил, заставляющих перемещаться вещества из одного участка в другой, и некоторыми другими особенностями.

1. Механический транспорт

Механический транспорт веществ происходит в результате движения (циркуляции) жидкости или гидростатического давления, создаваемого механической работой сердца и других органов. Механический транспорт имеет место при переносе веществ с кровью и лимфой и присущ любым веществам (природным и чужеродным), которые в данный момент находятся в этих циркулирующих жидкостях. Можно выделить две разновидности механического транспорта: *с носителем* и *без носителя*. В первом случае переносимое вещество растворено в водной среде, т. е. является гидрофильным, а во втором — связывается с носителем (с белками или даже с клетками крови). Как правило, во втором случае транспортируются неполярные вещества, которые при отсутствии или недостатке носителя могут «оседать» на эндотелии сосудов.

2. Диффузионный транспорт

Диффузионный транспорт происходит под действием осмотических сил, т. е. связан с градиентом концентрации данного вещества. В бесструктурной среде (например, во внутри- и внеклеточной жидкости) временный градиент концентрации веществ может наблюдаться, например, вследствие проникновения их из других «отсеков» в данный участок или в результате образования их с помощью находящегося в этом участке фермента. С помощью диффузии происходит перемещение веществ из зоны производства в зону потребления. В структурно организованной среде — мембране — диффузия возникает из-за разницы концентрации веществ по обе стороны мембраны, например

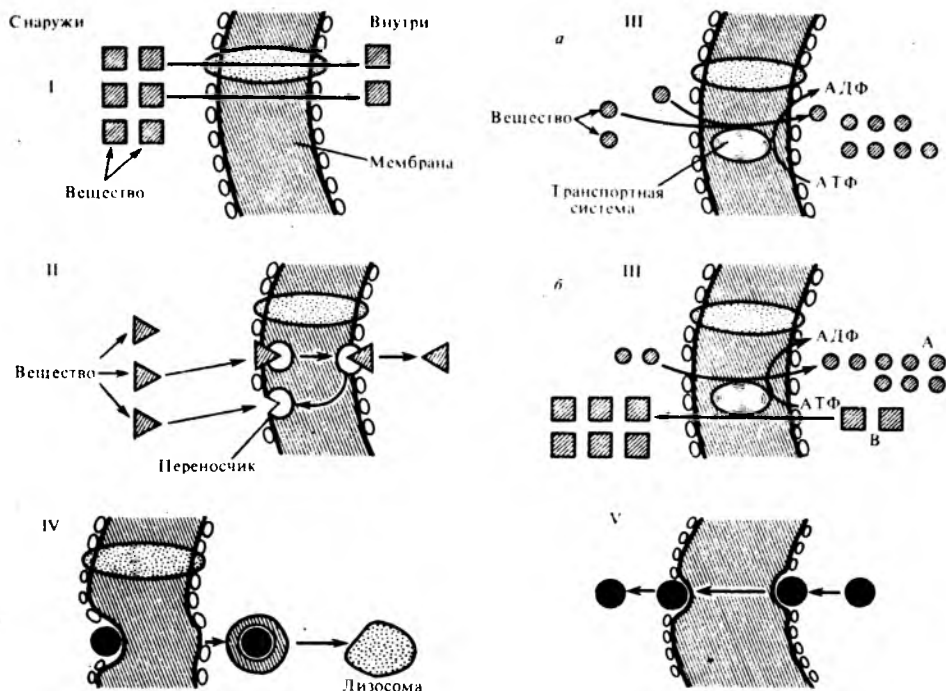


Рис. 29. Схема транспорта веществ через мембрану:

I — простая диффузия; II — облегченная диффузия; III — активный транспорт: а — первичный активный транспорт, б — вторичный активный транспорт; IV — эндоцитоз (пиноцитоз); V — экзоцитоз

между внутри- и внеклеточной средой на плазматической мембране или между внутри- и немитохондриальной средой на митохондриальной мембране и т. д. Диффузия бывает двух типов (рис. 29) — обычная (пассивный транспорт) и облегченная (облегченный транспорт).

Обычная диффузия, или диффузия без переносчика (рис. 29, I), определяется градиентом концентрации и растворимостью транспортируемых веществ в среде или веществе мембран (особенно его липидного слоя). Путем обычной диффузии перемещаются в бесструктурной среде (клеточном соке, межклеточной жидкости) все водорастворимые молекулы, если возникает избыток вещества на одном из участков. Через мембрану путем простой диффузии проникают малые биомолекулы — вода, CO_2 , O_2 , а также некоторые ионы, глюкоза и, возможно, другие вещества. Чужеродные вещества, проникающие в организм, могут проникать через мембрану путем пассивного транспорта внутрь клетки, если они липофильны.

Облегченная диффузия (рис. 29, II) отличается от обычной только тем, что происходит с подвижным переносчиком, облегчающим прохождение вещества по градиенту концентрации. Возможна внеклеточная и мембранная облегченная диффузия вещества. При внеклеточной диффузии вещество связывается со специфическим носителем в биологических жидкостях (внутри-

и межклеточной среде). В качестве переносчиков чаще всего выступают белки, например белки-рецепторы, связывающие гормоны, витамины и т. д. внутри клетки. Для облегченной мембранной диффузии требуется переносчик, находящийся в мембране. В зависимости от направления переноса вещества облегченная диффузия может быть *латеральной* (если белок, связывающий вещество, движется вдоль мембраны) и *поперечной* (если белок движется сквозь мембрану).

В отличие от обычной диффузии при облегченной диффузии имеется предел скорости транспорта, поскольку он зависит не столько от разницы концентрации вещества по обе стороны мембраны, сколько от количества молекул-переносчиков. Поэтому зависимость скорости транспорта вещества от его концентрации графически напоминает кривую Михаэлиса. Она имеет зону насыщения, что отличает облегченный транспорт от пассивного (в последнем случае насыщения не бывает и по мере увеличения концентрации вещества скорость переноса постоянно возрастает). Транспорт путем облегченной диффузии используется для переноса органических кислот, моносахаридов, жирорастворимых витаминов, стероидных гормонов и т. д. Очевидно, чужеродные для организма вещества полярной природы также проникают путем облегченной диффузии, связываясь с подходящими переносчиками, хотя последние на несколько порядков менее специфичны для чужеродных соединений, чем для природных.

3. Активный транспорт

При активном транспорте (рис. 29, III) перенос веществ происходит против градиента концентрации, т. е. из зоны низкой концентрации вещества в зону его высокой концентрации. Такой транспорт обязательно требует затрат энергии, поскольку переносить вещество приходится против действия осмотических (концентрационных) сил. Источником энергии активного транспорта служит АТФ или электрохимический потенциал некоторых ионов (например, ионов водорода, натрия). Активный транспорт (в отличие от механического и диффузионного) является ферментативным процессом. Он осуществляется специальными ферментными транспортными системами, способными использовать химическую энергию АТФ или энергию электрохимического потенциала для транспорта веществ. Другая особенность активного транспорта состоит в том, что он возможен только в организованных структурах — биомембранах, через которые не могут свободно диффундировать вещества по градиенту концентрации. Поэтому мембраны поддерживают градиент, создаваемый ферментной системой активного транспорта.

В зависимости от использования источника энергии активный транспорт может быть *первичным* и *вторичным*. В первичном (рис. 29, III, а) на транспорт данного вещества против его градиента концентрации по обе стороны мембраны затрачивается энергия АТФ. Во вторичном используется электрохимический градиент на мембране какого-либо вещества (например, ионов натрия и водорода), на создание которого была затрачена АТФ, т. е. энергия АТФ расходуется на транспорт косвенно, через градиент другого вещества. Созданный электрохимический градиент того же натрия используется для транспорта другого вещества, например глюкозы. При вторичном активном транспорте одно вещество (А) как бы создает условия для прохожде-

ния другого вещества (В) (рис. 29, III, б). Причем направление перемещения через мембрану двух веществ или совпадает, или не совпадает. Если вещества переносятся в одном направлении, например, Na^+ и глюкоза, то такой совместный транспорт называется *симпорт*. Если вещества пересекают мембрану в противоположных направлениях, то такой транспорт называется *антипорт*.

Путем первичного активного транспорта переносятся ионы натрия, калия, кальция, магния (возможно, и другие) через клеточную мембрану, а ионы водорода — через митохондриальную мембрану. Транспортными системами для них служат специальные ферменты аденозинтрифосфатазы (АТФазы), которые локализованы в толще мембран. Они гидролизуют АТФ на АДФ и неорганический фосфат и используют энергию фосфатных связей на перенос ионов через мембрану. Для каждого иона имеется своя специфическая АТФаза, которая ими активируется. Так обнаружены Na^+ , K^+ -АТФаза, Ca^{2+} -АТФаза, Mg^{2+} -АТФаза, H^+ -АТФаза, которые создают градиент концентрации соответствующих ионов между двумя сторонами мембраны. При этом расходуется АТФ, т. е. фактически химическая форма энергии АТФ трансформируется в осмотическую энергию (выражающуюся в разнице концентраций ионов на мембране) и электрическую, если на одной из ее сторон создается избыток электрических зарядов.

Возможен ли обратный процесс, осуществляемый АТФазами? Считается, что действие АТФаз обратимо. Поэтому энергия, накопленная в виде электрохимического градиента ионов на мембране, может, в принципе, использоваться на синтез АТФ из АДФ и H_3PO_4 , если ионы будут перемещаться по градиенту их концентрации.

Na^+ , K^+ -АТФаза имеется во всех клетках организмов животного и растительного мира, в бактериях. Это говорит об универсальной общебиологической функции ее как транспортной системы. В организме человека наиболее высока активность ее в нервной ткани, в почках и секреторных органах, т. е. там, где наиболее выражены процессы активного транспорта веществ. Na^+ , K^+ -АТФаза локализована главным образом в клеточной мембране (хотя обнаруживается этот фермент и в мембранах эндоплазматического ретикулаума, ядерной мембране). Она обеспечивает первичный активный транспорт ионов Na^+ и K^+ через клеточные (и, возможно, другие) мембраны. Na^+ , K^+ -АТФаза находится в толще мембраны (рис. 30). Такое расположение фермента позволяет асимметрически связываться с ним ионам Na^+ и K^+ , находящимся по обе стороны клеточной мембраны. Для Na^+ , K^+ -АТФазы необходимы ионы Mg^{2+} , которые помогают связываться АТФ с активным центром фермента, обращенным внутрь клетки. Фактически субстратом фермента служит комплекс Mg^{2+} -АТФ. Присоединение Mg^{2+} -АТФ к активному центру фермента изменяет его сродство к ионам натрия и калия. Для проявления активности Na^+ , K^+ -АТФазы, т. е. для гидролиза АТФ, необходимо связывание иона Na^+ на внутренней поверхности мембраны (внутри клетки) с так называемым натриевым участком фермента, а иона K^+ — на внешней поверхности (вне клетки) с калиевым участком. Это вызывает активный транспорт ионов в противоположных направлениях за счет гидролиза АТФ. При этом в ходе гидролиза АТФ образуется промежуточный продукт — фосфорилированный фермент.

Под действием Na^+ , K^+ -АТФазы ионы натрия постоянно откачиваются



Рис. 30. Схема функции Na^+ , K^+ -АТФазы (по Му-силу и др.)

из клетки (поэтому Na^+ , K^+ -АТФазу часто называют натриевым насосом), а ионы калия поступают из внеклеточной среды внутрь клетки, т. е. наблюдается антипорт этих ионов. Для проявления максимальной активности Na^+ , K^+ -АТФазы концентрация ионов Na^+ должна быть около 100 ммоль/л, а калия — 20 ммоль/л. Причем ион Na^+ является обязательным для работы Na^+ , K^+ -АТФазы, а ион K^+ может быть заменен другими одновалентными катионами — аммония, рубидия, цезия, лития и даже таллия.

При гидролизе одной молекулы АТФ Na^+ , K^+ -АТФаза вызывает перенос трех ионов Na^+ из клетки и двух ионов K^+ в клетку (см. рис. 30). Неравнозначный перенос заряженных частиц через мембрану вызывает поляризацию мембраны — появление положительного заряда

на внешней и отрицательного на внутренней ее сторонах. Поэтому натриевый насос называют *электрогенным*. Градиент Na^+ , создаваемый на мембране работой Na^+ , K^+ -АТФазы, используется для вторичного активного транспорта различных веществ, например глюкозы, аминокислот. Он играет роль своеобразной энергетической «пружины», с помощью которой обеспечивается переход других веществ (аминокислот, глюкозы) против градиента их концентрации.

Все природные вещества, лекарства и яды, изменяющие активность Na^+ , K^+ -АТФазы, влияют на натрий-калиевый градиент на мембране, ее электрический заряд (а следовательно, и на функцию возбудимых тканей) и транспорт веществ через мембрану с помощью электрохимического градиента ионов Na^+ . Среди регуляторов Na^+ , K^+ -АТФазы имеются ингибиторы и активаторы. Ее природным регулятором являются ионы кальция. Внешний Ca^{2+} активирует связывание внешнего K^+ специфическим участком фермента и включает работу Na^+ , K^+ -АТФазы по транспорту ионов. Избыток внутриклеточного Ca^{2+} , напротив, блокирует Na^+ , K^+ -АТФазу, и только устранение высоких концентраций внутриклеточного Ca^{2+} другими системами позволяет включить Na^+ / K^+ -насос.

Классическими ингибиторами фермента являются *убаин* (строфантин G) и другие препараты сердечных гликозидов, широко использующиеся в медицинской практике как стимуляторы сердечных сокращений. Торможение сердечными гликозидами фермента вызывает выравнивание натриевого градиента на мембране, ее деполяризацию и угнетение вторичного активного транспорта веществ через мембрану. Гликозиды ингибируют Na^+ , K^+ -АТФазу, связываясь с участком фермента, обращенным на внешнюю сторону клеточной мембраны, т. е. конкурируют за места связывания с ионами K^+ . Если гли-

козидами подействовать на фермент с внутренней стороны, то они никакого влияния на функцию Na^+/K^+ -насоса не оказывают. Поэтому действие сердечных гликозидов можно снять избытком ионов K^+ , что используется в медицинской практике, когда нагружают организм растворами солей калия при отравлении гликозидами.

Ингибиторами фермента являются также тетраэтиламмоний, ионы меди, железа, некоторые гормоны (эстрогены, глюкагон, адреналин). Активируют Na^+ , K^+ -АТФазу многие природные аминокислоты, дипептиды (карнозин и ансерин). Увеличивают количество этого фермента в почках кортикостероиды (особенно альдостерон).

Ca^{2+} -АТФаза. Другой фермент активного транспорта — Ca^{2+} -АТФаза — использует энергию гидролиза АТФ для переноса против градиента ионов кальция. Этот фермент находится как в клеточной, так и во внутриклеточных мембранах — эндоплазматического ретикулума, митохондрий. Высокая активность Ca^{2+} -АТФазы, или кальциевого насоса, отмечается в мышечной ткани, особенно в саркоплазматическом ретикулуме, в нервной ткани, почках, т. е. там, где процессы активного транспорта определяет функцию органов и тканей. Ca^{2+} -АТФаза откачивает ионы Ca^{2+} за счет энергии АТФ в обмен на ионы Na^+ или Mg^{2+} , т. е. происходит антипорт этих катионов. Причем количество обмениваемых катионов одинаково. Поэтому кальциевый насос в отличие от натриевого является электронейтральным. За счет градиента ионов кальция на мембране возможен вторичный активный транспорт других веществ.

Ca^{2+} -АТФаза мембран митохондрий обменивает ионы Ca^{2+} на ионы H^+ , причем Ca^{2+} поступает внутрь митохондрий, а протоны — наружу.

С помощью кальциевых насосов эндоплазматического ретикулума и митохондрий регулируется внутриклеточное содержание Ca^{2+} , а с ним активность многих ферментов, чувствительных к этому иону.

Mg^{2+} -АТФаза — малоизученная транспортная система, находящаяся во внутриклеточной и плазматических мембранах. Активность этого фермента относительно низка. Эта транспортная система обеспечивает антипорт ионов Mg^{2+} на два иона Na^+ или H^+ при гидролизе одной молекулы АТФ, т. е. транспорт электронейтрален.

H^+ -АТФаза участвует в преобразовании энергии во внутренних мембранах митохондрий и тилактоидов хлоропластов (подробно ее функции излагаются в разделе «Биоэнергетика»). Градиент ионов H^+ на мембранах упомянутых органоидов используется для вторичного активного транспорта, например органических кислот через мембрану.

4. Электрофоретический транспорт

Электрофоретический транспорт — это транспорт заряженных частиц в электрическом поле. Движущей силой транспорта служат знак заряда и значение электрического потенциала, например, на мембране. Поскольку все мембраны поляризованы и имеют тот или иной электрический потенциал, то возможно перемещение веществ из одного внутриклеточного пространства в другое или между вне- и внутриклеточной средой путем электрофореза. Таким способом транспортируются, например, органические кислоты, возможно, минеральные вещества и нуклеотиды.

5. Везикулярный транспорт (цитоз)

Везикулярный транспорт обеспечивает перенос крупных молекул и частиц (белки, обломки мембраны, чужеродные тела) через клеточную мембрану. В ходе транспорта образуются везикулы, или пузырьки, состоящие из переносимых молекул вещества, окруженных участком клеточной мембраны. Различают два вида цитоза — *пиноцитоз* (эндоцитоз), когда вещества втягиваются из внешней среды внутрь клетки (т. е. поглощаются из внешней среды), и *экзоцитоз*, когда макромолекулы поступают из клетки во внешнюю среду. Пиноцитоз особенно выражен у лейкоцитов, гистиоцитов, клеток так называемой ретикулоэндотелиальной системы, находящихся в костном мозге, селезенке, печени и т. д. Способность к пиноцитозу, выраженная в разной степени, наблюдается у всех клеток организма. Механизм пиноцитоза во многом неясен. При контакте крупных молекул или частиц с внешней поверхностью клеточной мембраны ее участок становится податливее, и вещество как бы утопает, втягивается внутрь клетки вместе с этим участком мембраны. Предполагают, что в мембране находится особый гликопротеид (кластрин), который помогает втягивать внутрь клетки участок мембраны, контактирующий с поглощаемой частицей. Считают, что для этого процесса используется энергия АТФ.

Поступающие в клетку вещества, как правило, сливаются с лизосомами, где подвергаются действию их гидролитических ферментов. Чужеродный материал, даже бактерии, поглощенные клетками, могут уничтожаться таким способом.

Экзоцитоз типичен для клеток, способных к секреции крупных молекул, например белков. Этот механизм транспорта особенно активен в железистых клетках, секретирующих макромолекулы в окружающую среду. Участвуют в этом процессе компоненты аппарата Гольджи.

6. Локализация переноса веществ в организме

В зависимости от локализации переноса веществ в организме можно условно выделить следующие его разновидности (для каждой из них используются свои механизмы транспорта): 1) межорганный (межтканевой); 2) транскapиллярный; 3) трансцеллюлярный; 4) внутриклеточный; 5) межмолекулярный.

Межорганный (межтканевой) перенос — вещества транспортируются (распределяются) между органами или тканями. Перенос осуществляется механическим способом с кровью и лимфой, т. е. гематогенным и лимфогенным путем. Масса переносимого в единицу времени вещества зависит от растворимости его в крови и лимфе (если для растворения необходим носитель, то от количества связывающих мест носителя) и скорости движения жидкости. Скорость движения крови определяется прежде всего сократительной деятельностью сердца и рядом других факторов. Значит, массовый перенос любого вещества между органами зависит от его концентрации в крови (лимфе) и скорости кровотока (лимфотока). Снижение растворимости веществ (вследствие любых причин)

и снижение кровотока из-за слабости сердечной деятельности или иных причин уменьшает эффективность межорганного транспорта веществ.

Транскапиллярный транспорт. В капиллярах (кровеносных и лимфатических) происходит обмен между химическими компонентами крови и межклеточной жидкостью, а следовательно, клетками тканей. Поскольку функция капилляров состоит в снабжении клеток органов и тканей необходимыми для жизнедеятельности веществами (энергетическими, структурными, минеральными, кислородом и др.) и в удалении продуктов метаболизма, то количество капилляров в тканях с интенсивным окислительным обменом (например, в сердце) выше, чем в тканях с более низким обменом (например, в скелетных мышцах). Капилляры состоят из одного слоя клеток эндотелия, скрепленных гликопротеидами, и базальной мембраны, образующей «подстилку» для эндотелиальных клеток. Базальная мембрана построена из мукополисахаридов (главным образом гиалуроновой кислоты) и двух типов белков — коллагена и гликопротеида, переплетенных между собой в виде решетки.

Строение капилляров позволяет проникать веществам через так называемые «поры» между эндотелиальными клетками, размер которых колеблется в разных типах капилляров от 4 до 200 нм, и непосредственно сквозь эндотелий (трансэндотелиальный перенос). Через капилляры проходят как крупные молекулы типа белков (и даже клетки крови, включая самые крупные эритроциты), так и более мелкие: вода, соли, органические кислоты, моносахариды и т. д.

В основе транскапиллярного обмена лежат различные механизмы транспорта. Движение жидкости, а с ней и растворенных веществ через капиллярную стенку возникает за счет разницы гидростатического давления между кровью и межклеточной жидкостью, а также разницы осмотического давления между ними. Вещества движутся через поры между эндотелиальными клетками, рыхло сцепленными гликопротеидами, и через полисахаридную решетку базальной мембраны по градиенту гидростатического осмотического давления. Транспорт веществ через капилляр напоминает ультрафильтрацию. Значение фильтрационного давления можно вычислить и предсказать направление перемещения веществ между кровью и межклеточной жидкостью. В артериальном конце капилляра гидростатическое давление равно 3,990 кПа, в венозном — 1,995, в межклеточной жидкости — 1,064 кПа. Разница гидростатического давления в артериальном отрезке капилляра составляет 2,926 кПа, а в венозном — 0,931 кПа. Осмотическое давление плазмы крови, обусловленное концентрацией белков (онкотическое давление) и различных солей, равно 3,325 кПа, а тканевой жидкости — около 1,330 кПа. Разница его составляет в обоих концах капилляра 1,995 кПа. Высокое осмотическое давление крови противостоит гидростатическому давлению и способствует поступлению воды и растворенных веществ из межклеточной жидкости. Фильтрационное давление, составляющее разницу между гидростатическим и осмотическим, имеет в артериальном отрезке капилляра положительное значение 0,931 кПа, а в венозном отрицательное — 1,064 кПа. Это благоприятствует фильтрации веществ (механический транспорт) в артериальном отрезке капилляра и всасыванию их в венозном. Всекие изменения гидростатического и осмотического давлений сказываются на транспорте веществ через капилляр.

Кроме механического транспорта через капиллярную стенку происходит

обмен с помощью диффузии, везикулярного транспорта, активного транспорта. Если диффузия веществ между кровью и межклеточной жидкостью возможна как через поры между клетками эндотелия, так и через клетки, то остальные механизмы транспорта возможны только при непосредственном участии эндотелиальных клеток. Интересно, что везикулярный транспорт (или, как его называют, микровезикулярный) веществ происходит сквозь клетки эндотелия из крови в межклеточную жидкость.

Межклеточный транспорт имеет место в межклеточной среде. Вследствие постоянного гидростатического давления в этом участке организма транспорт веществ между клетками возможен путем диффузии или электрофореза, поскольку внешняя поверхность клеток отрицательно заряжена по отношению к окружающей среде.

Трансцеллюлярный транспорт — перенос веществ сквозь клеточную мембрану любых клеток. Необходим для обмена между клеточной и внутриклеточной средой. Транспорт веществ осуществляется с помощью диффузии (простой и облегченной), электрофореза, активного транспорта (первичного и вторичного), везикулярного транспорта.

Внутриклеточный перенос — имеет место при транспорте веществ между различными органоидами и пространствами внутри клетки. Механизмы транспорта те же, что для трансцеллюлярного.

Межмолекулярный перенос заключается в транспорте веществ между активными центрами соседних макромолекул ферментов, входящих в состав надмолекулярного комплекса или полиферментной цепи.

ГЛАВА 12. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ И ПИЩЕВАРЕНИЯ

Пищевые вещества являются незаменимыми факторами внешней среды, которые в отличие от других внешних факторов становятся собственными элементами организма, участвуя в обмене веществ и энергии. Питание обеспечивает нормальную жизнедеятельность организма, его рост, развитие, приспособляемость и активную деятельность человека.

По мнению советского ученого А. А. Покровского, термин «питание» в общебиологическом смысле слова характеризует всю сумму биохимических процессов, связанных с поступлением и превращением пищевых веществ в организме для обеспечения энергией и структурными веществами любой физиологической функции.

1. Основные компоненты пищи и их значение

Продукты питания, которые использует человек, чрезвычайно разнообразны. Основная часть продуктов питания имеет биологическое происхождение (растительные и животные продукты) и меньшая часть небелковая (вода и растворенные в ней минеральные соли). Поскольку в биологических объектах основная часть веществ находится в виде биополимеров то основную массу пищи составляют высокомолекулярные компоненты, а не мономеры. В понятие «питательные вещества» входит группа основных компонентов пищи, которые обеспечивают необходимые энергетические и пластиче-

ские потребности организма. К питательным веществам относятся шесть групп веществ: 1) белки; 2) углеводы; 3) липиды; 4) витамины (включая и витаминоподобные вещества); 5) минеральные вещества; 6) вода.

Кроме питательных веществ в пище содержится большая группа вспомогательных веществ, которые не имеют ни энергетического, ни пластического значения, но определяют вкусовые и другие качества пищи, помогая распаду и всасыванию питательных веществ. Присутствие этих веществ обычно учитывается при разработке рационального питания.

Белки. Биологическая ценность белков животного и растительного происхождения определяется составом аминокислот, особенно незаменимых. Если в пищевых продуктах белки содержат все незаменимые аминокислоты, то эти белки относятся к *полноценным*. Остальные пищевые белки *неполноценные*. Растительные белки в отличие от животных как правило, менее полноценны. Существует международный «условный образец» состава белка, отвечающего потребностям организма. В этом белке 31,4% составляют незаменимые аминокислоты; остальное — заменимые. Чтобы оценить состав любого пищевого белка, важно иметь эталон с необходимым содержанием незаменимых аминокислот и наиболее физиологичным соотношением каждой из незаменимых аминокислот. В качестве эталона был принят белок куриного яйца, наиболее отвечающий физиологическим потребностям организма. Любые пищевые белки сравниваются по составу аминокислот с эталонным.

Общая суточная потребность в белках взрослого человека составляет 80—100 г, из них половина должна быть животного происхождения.

Углеводы. Биологическую ценность среди углеводов пищи имеют полисахариды — крахмал и гликоген; дисахариды — сахароза, лактоза, трегалоза, мальтоза, изомальтоза. Лишь небольшая доля углеводов пищи приходится на моносахариды (глюкоза, фруктоза, пентозы и т. д.). Содержание моносахаридов в пище может возрасти после кулинарной или иной обработки пищевых продуктов. Основная функция углеводов — энергетическая, но они выполняют структурные и ряд других рассмотренных ранее функций, свойственных углеводам (см. «Углеводы»). Углеводы, имеющие β -гликозидные связи (целлюлоза, гемицеллюлозы и др.), не расщепляются, поэтому они играют вспомогательную роль в пищеварении, активизируя механическую деятельность кишечника.

Суточная потребность взрослого человека в углеводах составляет 400—500 г, из них около 400 г приходится на крахмал. Остальная часть — на дисахариды, в основном на сахарозу.

Липиды. Биологическую ценность для организма человека представляют в основном следующие компоненты пищи. Триацилглицерины, составляющие главную (по массе) часть липидов пищи. Они определяют энергетическое значение пищевых липидов, которые составляют от $1/3$ до $1/2$ энергетической ценности пищи. Различные виды фосфолипидов, входящих в состав мембран клеток, поступают преимущественно с продуктами животного происхождения (мясные продукты, желток яиц, масло и т. д.), так же как и холестерин и его эфиры. Фосфолипиды и холестерин определяют пластическую функцию липидов пищи. С липидами пищи поступают незаменимые для организма жирорастворимые витамины и витаминоподобные соединения.

Суточная потребность в пищевых липидах составляет 80—100 г, из них

не менее 20—25 г должно поступать растительных липидов, содержащих ненасыщенные жирные кислоты.

Витамины и витаминоподобные вещества поступают в организм с растительными и животными продуктами. Кроме того, некоторые витамины синтезируются в организме кишечными бактериями (энтерогенные витамины). Однако их доля значительно меньше пищевых. Витамины — абсолютно незаменимые компоненты пищи, поскольку они используются для синтеза в клетках организма коферментов, являющихся обязательной частью сложных ферментов.

Суточная потребность в отдельных витаминах колеблется от нескольких микрограммов до десятков и сотен миллиграммов.

Минеральные вещества. Главным их источником служат небιологические компоненты пищи, т. е. растворенные в питьевой воде минеральные вещества. Частично они поступают в организм с пищевыми продуктами животного и растительного происхождения. Минеральные вещества используются как пластический материал (например, кальций, фосфор и др.) и как кофакторы ферментов.

Минеральные вещества относятся к незаменимым факторам пищи. Хотя возможна относительная взаимозаменяемость некоторых минеральных элементов в биологических процессах, но невозможность их взаимопревращения в организме является причиной незаменимости этих веществ. Кофакторная часть пищевых минеральных веществ сродни витаминам.

Суточная потребность взрослого организма человека в отдельных минеральных веществах сильно колеблется от нескольких граммов (макроэлементы) до нескольких миллиграммов или микрограммов (микроэлементы, ультраэлементы).

Вода относится к незаменимым компонентам пищи, хотя небольшие количества воды образуются из белков, липидов и углеводов при обмене их в тканях. Вода поступает с продуктами биологического и небιологического происхождения. Суточная потребность для взрослого человека составляет 1750—2200 г.

2. Биохимические основы сбалансированного питания

Потребность человека в основных питательных веществах и составление сбалансированных рационов питания основывается на знании энергетических потребностей организма, биохимического состава и особенностей метаболизма тканей.

При расчете энергетических потребностей исходят из того, что организм взрослого человека массой 70 кг расходует для поддержания основного обмена (т. е. обмена в покое) примерно 7500 кДж энергии. Этого достаточно, чтобы поддерживать в покое на исходном уровне массу тела, химический состав биологических структур с учетом их обновления и необходимой потребности в АТФ для осуществления функций организма. Прием пищи вызывает избыточную теплопродукцию. Этот эффект называется *специфическим динамическим действием пищи*. При приеме белка оно составляет 30%, при приеме углеводов — 6% и липидов — 4% от энергетической ценности принятой пищи. Оно зависит от особенностей обмена каждого из этих питательных веществ

Т а б л и ц а 24. Энергетические потребности разных групп трудоспособного населения

Группа	Профессиональная деятельность	Энергетические потребности, кДж/сут
I	Работники преимущественно умственного труда	9 170—11 670
II	Работники физического труда, не требующего значительных энергозатрат	9 800—12 500
III	Работники механизированного труда	10 420—13 340
IV	Работники немеханизированного труда средней тяжести	12 090—15 430
V	Работники, занятые тяжелым ручным трудом	16 260—20 050

и должно учитываться при расчете энергетической ценности пищи. Остальные дополнительные энергетические затраты, которые учитывают при составлении рациона, определяются физиологическим состоянием организма (возраст, беременность, период кормления ребенка и т. д.), родом профессиональной деятельности человека и его физической активностью, условиями внешней среды (холод, жара, влажность и т. д.). Поскольку всю энергетическую ценность пищи составляют углеводы, липиды и белки, то при расчетах учитывается содержание именно этих компонентов в продуктах питания.

В нашей стране принято делить трудоспособное население на пять групп, для которых установлены оптимальные энергетические потребности (табл. 24).

Современное учение о потребности человека в пище учитывает не только необходимые энергетические затраты, но и соотношение между незаменимыми факторами питания (незаменимые аминокислоты, витамины, минеральные вещества). Состав компонентов пищевых продуктов должен соответствовать обмену веществ и определяться специфичностью тех ферментов организма, от которых зависит усвояемость питательных веществ.

Особенности обмена веществ послужили основой для научной разработки А. А. Покровским формулы сбалансированного питания, в которой учтены средние потребности и пропорции пищевых веществ взрослого человека. Отклонения в количественном и качественном составе питательных веществ приводят к нарушениям обмена веществ и заболеваниям. С другой стороны, питание служит эффективным средством лечения различных заболеваний: лечебное и парентеральное питание, при проведении которых состав пищевых веществ восполняет имеющиеся нарушения в метаболизме.

Процесс превращения (усвоения) питательных веществ отличается от распада эндогенных белков, углеводов, липидов организма. Питательные вещества проходят следующие обязательные этапы метаболизма: пищеварение, всасывание (или транспорт через стенки кишечника), транспорт от кишечника к другим органам и тканям, проникновение внутрь клетки (этап транспорта через клеточную мембрану) и превращение ферментативными системами клеток. При обмене внутриклеточных компонентов отсутствует этап обработки их в пищеварительном тракте и всасывание, а в ряде случаев этап межорганного или межтканевого транспорта.

3. Биохимия пищеварения

Пищеварение является этапом метаболизма питательных веществ, в ходе которого происходит гидролиз пищевых компонентов ферментами пищеварительного тракта. Характер гидролиза питательных веществ определяется составом ферментов пищеварительных соков и специфичностью действия этих ферментов. Большинство пищеварительных ферментов обладает относительной субстратной специфичностью, что облегчает гидролиз разнообразных питательных веществ большой молекулярной массы до мономеров и более простых соединений. Распаду в пищеварительном тракте подвергаются углеводы, липиды, белки и некоторые простетические группы сложных белков. Остальные компоненты пищи (витамины, минеральные вещества и вода) всасываются в неизменном виде.

Переваривание происходит в трех отделах пищеварительного тракта: ротовой полости, желудке и тонком кишечнике, куда выделяются секреты желез, содержащие соответствующие гидролитические ферменты. В полость пищеварительного тракта ежесуточно поступает около 8,5 л пищеварительных соков, в которых содержится до 10 г различных ферментов.

В зависимости от расположения ферментов пищеварение может быть трех видов: *полостное* (гидролиз ферментами, находящимися в свободном виде), *мембранное*, или *пристеночное* (гидролиз ферментами, находящимися в составе мембран) и *внутриклеточное* (гидролиз ферментами, находящимися в органоидах клетки). Для пищеварительного тракта характерны первые два вида. Мембранное пищеварение происходит в ворсинках кишечника. Особенность его состоит в том, что гидролиз небольших молекул (например, дипептидов, дисахаридов) происходит на поверхности клеточной мембраны кишечного эпителия и одновременно сочетается с транспортом продуктов гидролиза внутрь клетки. Внутриклеточный гидролиз осуществляется преимущественно ферментами лизосом, являющихся своеобразным пищеварительным аппаратом клеток.

Ферменты пищеварительного тракта можно разделить на четыре группы:

- 1) ферменты, участвующие в переваривании углеводов (амилолитические или глюканолитические ферменты);
- 2) ферменты, участвующие в переваривании белков и пептидов (протеолитические ферменты);
- 3) ферменты, участвующие в переваривании нуклеиновых кислот (нуклеазы, или нуклеолизитические ферменты) и гидролизе нуклеотидов;
- 4) ферменты, участвующие в переваривании липидов (липолитические ферменты).

Рассмотрим механизм переваривания основных компонентов пищи.

Механизм переваривания углеводов

Переваривание углеводов начинается в ротовой полости главным образом с помощью α -амилазы слюны. Некоторые исследователи считают, что в слюне имеется и другой фермент — мальтаза. α -Амилаза состоит из одной полипептидной цепи, стабилизируется кальцием, имеет оптимум pH 7,1 и активируется ионами хлора. Фермент относится к эндоамилазам, действует на внутренние α -1,4-гликозидные связи крахмала и гликогена пищи и не способен гидролизо-

вать α -1,6-гликозидные связи этих полисахаридов. α -Амилаза гидролизует весьма беспорядочно α -1,4-гликозидные связи полисахаридов в отличие от β - и γ -амилаз. β -Амилаза последовательно отщепляет от конца полисахарида дисахарид мальтозу, а γ -амилаза — концевой моносахарид глюкозу. Поэтому обе эти амилазы являются экзоамилазами. γ -Амилаза присутствует в ткани печени и участвует в расщеплении гликогена (β -амилазы в организме человека нет; она находится в бактериях).

После действия α -амилазы слюны полисахариды расщепляются на α -лимитдекстрин (разветвленный полисахарид меньшей молекулярной массы, чем крахмал и гликоген), мальтозу и небольшое количество глюкозы (возможно в результате присутствия мальтазы). Поскольку время нахождения пищи в ротовой полости невелико, доля расщепленных полисахаридов относительно мала, хотя содержание фермента в слюне очень велико. Дисахариды пищи, главными из которых являются сахароза, лактоза (особенно у детей, питающихся молоком и молочными продуктами), трегалоза (дисахарид грибов), не расщепляются в полости рта.

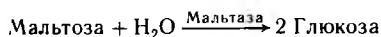
В желудке α -амилаза инактивируется кислым содержимым желудка, и переваривание углеводов прекращается. В кишечнике происходит полный гидролиз полисахаридов, включая и образовавшийся в полости рта α -лимитдекстрин, и всех дисахаридов до моносахаридов. Действию ферментов благоприятствует нейтрализация поступающей в кишечник кислой пищи гидрокарбонатами, растворенными в щелочном содержимом сока поджелудочной железы и желчи.

Гидролиз углеводов в кишечнике осуществляется ферментами поджелудочной железы и кишечника. К первым относятся панкреатическая α -амилаза и олиго-1,6-гликозидаза. Остальные ферменты — олигосахаридазы и дисахаридазы — образуются преимущественно в слизистой кишечника. Панкреатическая α -амилаза сходна по действию с α -амилазой слюны. Она буквально в течение 4—5 мин гидролизует поступающий крахмал и гликоген до α -лимитдекстринов и мальтозы. Гидролиз α -лимитдекстрина происходит с помощью олиго-1,6-гликозидазы, которая специфически разрывает α -1,6-гликозидные связи в точках «ветвления» полисахарида. При этом образуется мальтоза:

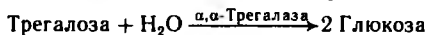


Дисахариды гидролизуются не в полости, а в стенке кишечника, поэтому образующиеся моносахариды сразу всасываются. Существуют α -специфичные и β -специфичные олигосахаридазы, которые расщепляют дисахариды до моносахаридов. К α -олигосахаридазам относятся мальтаза, изомальтаза, сахарара, α , α -трегалаза. Сахарара образует чаще всего комплекс с изомальтазой. Такой ферментативный сахараро-изомальтазный комплекс (сахараро- α -глюкогидролаза) расщепляет сахарозу на глюкозу и фруктозу, а изомальтозу — на две молекулы глюкозы.

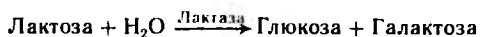
Мальтаза гидролизует мальтозу (иногда мальтаза образует комплекс с сахарарой):



α, α -трегалаза расщепляет трегалозу:



Среди β -олигосахаридаз наибольшее значение имеет специфичная β -галактозидаза, или лактаза, осуществляющая гидролиз лактозы:



Конечными продуктами переваривания углеводов являются моносахариды, преимущественно глюкоза, фруктоза, галактоза. Доля остальных моносахаридов, поступающих с пищей, относительно невелика. Далее в тонком кишечнике происходит всасывание моносахаридов.

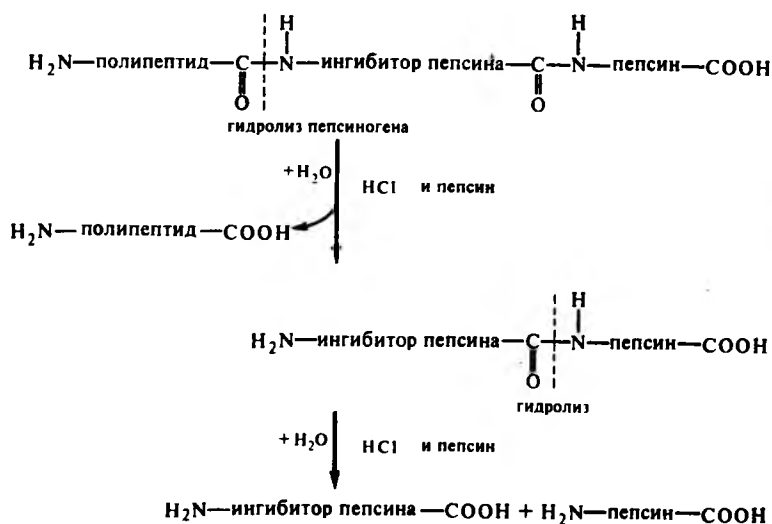
Механизм переваривания белков

Протеолитические ферменты, участвующие в переваривании белков и пептидов, синтезируются и выделяются в полость пищеварительного тракта в виде проферментов, или зимогенов. Зимогены неактивны и не могут переваривать собственные белки клеток. Активируются протеолитические ферменты в просвете кишечника, где действуют на пищевые белки.

В желудочном соке человека имеются два протеолитических фермента — пепсин и гастрин, которые очень близки по строению, что указывает на образование их из общего предшественника.

Пепсин образуется в виде профермента — пепсиногена — в главных клетках слизистой желудка. Выделено несколько близких по строению пепсиногенов, из которых образуется несколько разновидностей пепсина: пепсин I, II (IIa, IIb), III. Пепсиногены активируются с помощью соляной кислоты, выделяющейся обкладочными клетками желудка, и аутокаталитически, т. е. с помощью образовавшихся молекул пепсина.

Пепсиноген имеет молекулярную массу 40 000. Его полипептидная цепь включает пепсин (мол. масса 34 000); фрагмент полипептидной цепи, являю-



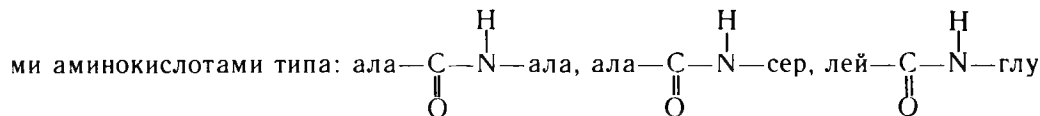
щийся ингибитором пепсина (мол. масса 3100), и остаточный (структурный) полипептид. Ингибитор пепсина обладает резко основными свойствами, так как состоит из 8 остатков лизина и 4 остатков аргинина. Активация заключается в отщеплении от N-конца пепсиногена 42 аминокислотных остатков; сначала отщепляется остаточный полипептид, а затем ингибитор пепсина.

Пепсин относится к карбоксипротеиназам, содержащим остатки дикарбоновых аминокислот в активном центре с оптимумом рН 1,5—2,5.

Субстратом пепсина являются белки — либо нативные, либо денатурированные. Последние легче поддаются гидролизу. Денатурацию белков пищи обеспечивает кулинарная обработка или действие соляной кислоты. Следует отметить следующие биологические функции соляной кислоты: 1) активация пепсиногена; 2) создание оптимума рН для действия пепсина и гастриксина в желудочном соке; 3) денатурация пищевых белков; 4) антимикробное действие.

От денатурирующего влияния соляной кислоты и переваривающего действия пепсина собственные белки стенок желудка предохраняет слизистый секрет, содержащий гликопротеиды.

Пепсин, являясь эндопептидазой, быстро расщепляет в белках внутренние пептидные связи, образованные карбоксильными группами ароматических аминокислот — фенилаланина, тирозина и триптофана. Медленнее гидролизует фермент пептидные связи, образованные алифатическими и дикарбоновыми



в полипептидной цепи.

Гастриксин близок к пепсину по молекулярной массе (31 500). Оптимум рН у него около 3,5. Гастриксин гидролизует пептидные связи, образуемые дикарбоновыми аминокислотами. Соотношение пепсин/гастриксин в желудочном соке 4:1. При язвенной болезни соотношение меняется в пользу гастриксина.

Присутствие в желудке двух протеиназ, из которых пепсин действует в сильнокислой среде, а гастриксин в среднекислой, позволяет организму легче приспосабливаться к особенностям питания. Например, растительно-молочное питание частично нейтрализует кислую среду желудочного сока, и рН благоприятствует переваривающему действию не пепсина, а гастриксина. Последний расщепляет связи в пищевом белке.

Пепсин и гастриксин гидролизуют белки до смеси полипептидов (называемых также альбумозами и пептонами). Глубина переваривания белков в желудке зависит от длительности нахождения в нем пищи. Обычно это небольшой период, поэтому основная масса белков расщепляется в кишечнике.

Протеолитические ферменты кишечника. В кишечник протеолитические ферменты поступают из поджелудочной железы в виде проферментов: *трипсиногена, химотрипсиногена, прокарбоксипептидаз А и В, проэластазы*. Активирование этих ферментов происходит путем частичного протеолиза их полипептидной цепи, т. е. того фрагмента, который маскирует активный центр протеиназ. Ключевым процессом активирования всех проферментов является образование трипсина (рис. 31). Трипсиноген, поступающий из поджелудочной железы, активируется с помощью кишечной *энтерокиназы*, или *энтеропепти-*

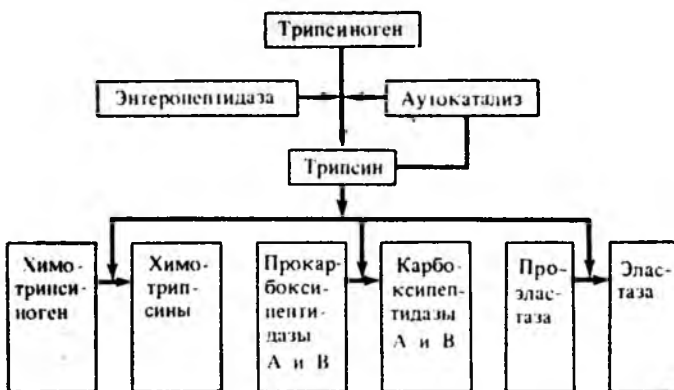


Рис. 31. Активация протеолитических проферментов кишечника

дазы. Кроме того, образующийся трипсин аутокаталитически способствует превращению трипсиногена в трипсин. Механизм активирования трипсиногена заключается в гидролизе одной пептидной связи, в результате чего освобождается N-концевой гексапептид, называемый ингибитором трипсина. Далее трипсин, разрывая пептидные связи в остальных проферментах, вызывает образование активных ферментов. При этом образуются три разновидности химотрипсина, карбоксипептидазы А и В, эластаза.

Кишечные протеиназы гидролизуют пептидные связи пищевых белков и полипептидов, образовавшихся после действия желудочных ферментов, до свободных аминокислот. Трипсин, химотрипсина, эластаза, будучи эндопептидазами, способствуют разрыву внутренних пептидных связей, дробя белки и полипептиды на более мелкие фрагменты. Трипсин гидролизует пептидные связи, образованные главным образом карбоксильными группами лизина и аргинина, менее активен он в отношении пептидных связей, образованных изолейцином.

Химотрипсина наиболее активны в отношении пептидных связей, в образовании которых принимает участие тирозин, фенилаланин, триптофан. По специфичности действия химотрипсин похож на пепсин. Эластаза гидролизует те пептидные связи в полипептидах, где находится пролин.

Карбоксипептидаза А относится к цинксодержащим ферментам. Она отщепляет от полипептидов С-концевые ароматические и алифатические аминокислоты, а карбоксипептидаза В — только С-концевые остатки лизина и аргинина.

N-концевые аминокислоты полипептидов отщепляет аминополипептидаза кишечника, которая активируется цинком или марганцем, а также цистеином. В слизистой кишечника присутствуют дипептидазы, гидролизующие дипептиды на две аминокислоты. Дипептидазы активируются ионами кобальта, марганца и цистеином.

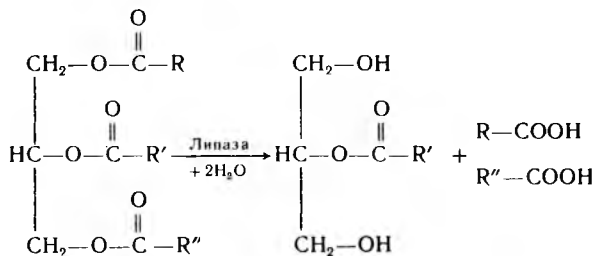
Разнообразие протеолитических ферментов приводит к полному расщеплению белков до свободных аминокислот даже в том случае, если белки предварительно не подвергались действию пепсина в желудке. Поэтому большие

У взрослого человека сильноокислая среда инактивирует желудочную липазу.

В кишечнике нейтрализуется поступающая из желудка пища, а жир подвергается эмульгированию. Эмульгирование липидов происходит под действием желчных кислот, поступающих в кишечник в составе желчи. В желчи находятся преимущественно следующие желчные кислоты — холевая, хенодезоксихолевая и их конъюгаты с глицином и таурином — гликохолевая и тауроходезоксихолевая.

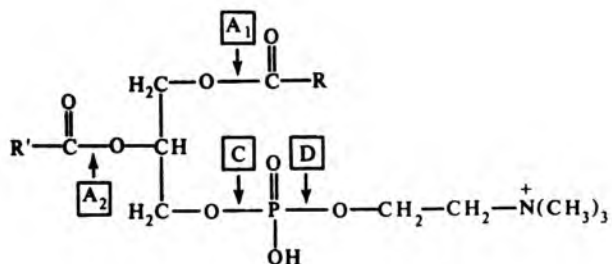
Желчные кислоты выполняют следующие биологические функции: 1) эмульгирующую; 2) функцию активатора липолитических ферментов; 3) транспортную, так как, образуя с высшими жирными кислотами транспортный комплекс, помогают их всасыванию в кишечнике. Все желчные кислоты являются амфифильными соединениями, поэтому обладают свойствами эмульгаторов. Располагаясь на поверхности раздела двух фаз жир — вода, желчные кислоты препятствуют их расслоению. Перистальтика кишечника помогает дроблению крупных капель жира, а желчные кислоты сохраняют их во взвешенном состоянии, мешая слиянию мелких жировых капель. Дополнительными эмульгаторами являются свободные жирные кислоты и моноацилглицерины, образующиеся в ходе переваривания липидов, пищевые фосфолипиды и продукты их частичного переваривания (фосфатидилхолин).

Гидролиз триацилглицеринов, составляющих основную массу липидов пищи, происходит под действием *панкреатической липазы*. Липаза поступает в неактивном виде. Она активируется в кишечнике специальным кофактором — *колипазой* и желчными кислотами. Активная липаза действует на триацилглицерины жировой капли. Сам фермент растворен в водной части, а расщепляет субстрат, находящийся в липидной фазе. У липазы есть специальный гидрофобный участок (головка), с которым контактирует триацилглицерин. Гидролиз жира идет на самой поверхности раздела. Продуктами гидролиза являются чаще всего 2-моноацилглицерин и свободные жирные кислоты:

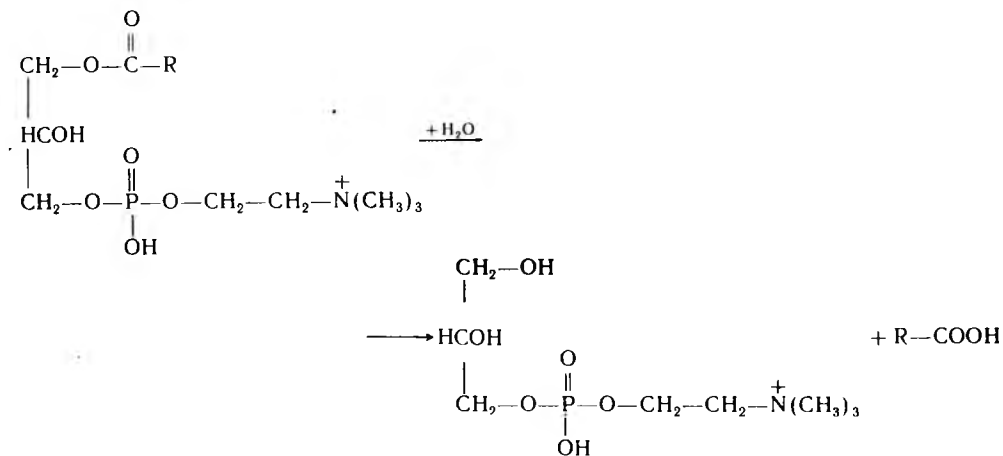


Карбоксиэстеразы кишечника и сока поджелудочной железы расщепляют 2-моноацилглицерин на свободную жирную кислоту и глицерин. Помогают гидролизу триацилглицеринов ионы кальция, которые образуют комплексы со свободными жирными кислотами.

Гидролиз фосфолипидов осуществляется группой липолитических ферментов, называемых *фосфолипазами*. Существует несколько типов фосфолипаз, обозначаемых как A_1 , A_2 , C и D. Они гидролизуют разные связи в молекуле фосфолипида (показано на примере фосфатидилхолина):



В кишечнике имеются фосфолипазы A₂, C и, возможно, D и лизофосфолипаза, участвующие в расщеплении фосфолипидов пищи. В поджелудочной железе образуются преимущественно фосфолипаза A₂ и в небольших количествах фосфолипаза C и лизофосфолипаза. В стенке кишечника также присутствуют фосфолипазы A₂ и C. Кроме того, в кишечнике обнаружена *лизофосфолипаза*, которая отщепляет жирную кислоту не от целой молекулы фосфолипида, а от лизофосфатидов:



Активирование *профосфолипазы* A₂ происходит в кишечном соке, где под действием трипсина отщепляется от профермента гексапептид. Кроме того, для работы фосфолипазы A₂, как, впрочем, и для других фосфолипаз, требуются желчные кислоты и ионы кальция. Желчные кислоты помогают сближению субстрата с активным центром фермента, ионы кальция удаляют из зоны действия фермента свободные жирные кислоты (как и в случае с липазой) и препятствуют инактивации фосфолипазы.

Продуктом действия фосфолипазы A₂, являющейся основной пищеварительной фосфолипазой, являются чрезвычайно токсичные лизофосфатиды, которые тут же гидролизуются лизофосфолипазой.

Фосфолипазы C и D завершают процесс гидролиза фосфоглицеридов. Конечными продуктами их гидролиза являются глицерин, жирные кислоты, неорганический фосфат и один из остаточных спиртов (холин, этаноламин, инозит, серин).

Гидролиз других пищевых фосфолипидов — сфингофосфатидов, а также

Т а б л и ц а 25. Продукты переваривания пищи и их всасывание

Компонент пищи	Конечные продукты гидролиза	Вещества, всасываемые в кишечнике
Белки и пептиды	Аминокислоты	Аминокислоты, дипептиды (?), белки и пептиды (?)
Полинуклеотиды	Азотистые основания, пентозы, H_3PO_4	Азотистые основания, пентозы, H_3PO_4 , нуклеозиды
Углеводы (полисахариды и олигосахариды)	Моносахариды	Моносахариды
Липиды		
а) триацилглицерины	Жирные кислоты, глицерин, 2-моноацилглицерин	Триацилглицерины, жирные кислоты, глицерин, 2-моноацилглицерин, холин и другие спирты фосфолипидов, H_3PO_4 , сфингозин, фосфатидилхолин, холестерин
б) фосфолипиды	Глицерин, жирные кислоты, фосфохолин, холин (и другие спирты), фосфатидилхолин (или другие фосфатидилспирты), H_3PO_4 , сфингозин	
в) эфиры холестерина	Холестерин, жирные кислоты	

гликолипидов менее изучен. Однако в стенке кишечника обнаружены ферменты *сфингомиелиназа* и *церамидаза*. Первый из них гидролизует связь, образованную фосфорной кислотой и сфингозином в сфингомиелинах, а второй — N-ацильную связь в молекуле церамида. Это ведет к освобождению сфингозина, жирной кислоты и фосфохолина.

Гидролиз стеридов. Поступающие с пищей эфиры холестерина, которыми богаты некоторые продукты (желток яиц, сливочное масло, икра и т. д.), расщепляются в эмульсионной капле кишечного содержимого с помощью *панкреатической холестеролэстеразы*. Активируется фермент также желчными кислотами. После действия фермента образуются свободный холестерин и жирные кислоты. Продукты гидролиза всех пищевых липидов всасываются в кишечнике.

4. Всасывание веществ в кишечнике

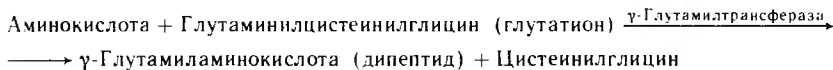
В кишечнике происходит всасывание продуктов переваривания питательных веществ (табл. 25).

Всасывание продуктов гидролиза белков. Основным продуктом гидролиза белков являются аминокислоты. Их всасывание в кишечнике, так же как и транспорт через другие клеточные мембраны, осуществляется с помощью специальных транспортных систем для аминокислот. Транспорт аминокислот является активным и требует необходимого градиента ионов Na^+ , создаваемого Na^+ , K^+ -АТФазой мембраны эпителия кишечника. Аминокислоты всасываются в кишечнике посредством вторичного активного транспорта. Это доказывается тем, что гликозид убаин — ингибитор Na^+ , K^+ -АТФазы — тормозит и транспорт аминокислот.

Существует не менее пяти специальных систем переносчиков для аминокислот: 1) нейтральных алифатических; 2) циклических; 3) основных; 4) кислых; 5) пролина. Аминокислоты этих групп конкурируют за участки связывания с переносчиком соответствующей транспортной системы. При

транспорте аминокислот через мембрану кишечного эпителия ион Na^+ входит вместе с ними внутрь клетки, т. е. имеет место симпорт аминокислот и ионов Na^+ специальной системой переносчиков. Натрий вновь «откачивается» из клетки Na^+, K^+ -АТФазой, а аминокислоты остаются внутри клетки.

Есть и другая разновидность механизма транспорта аминокислот через клеточную мембрану кишечного эпителия и других клеток — γ -глутамильный цикл. Перенос аминокислоты совершается с помощью специального фермента γ -глутамилтрансферазы, который находится в мембране кишечного эпителия и других клеток. Кофактором этого фермента служит трипептид глутатион, которого достаточно много внутри клетки. На первом этапе фермент осуществляет перенос γ -глутамильного остатка глутатиона на транспортируемую аминокислоту:



Дипептид γ -глутаминиламинокислота переходит внутрь клетки. Следовательно, для переноса аминокислоты из внешнего пространства внутрь клетки используется энергия пептидных связей глутатиона. Далее с помощью еще пяти внутриклеточных ферментов γ -глутамильного транспортного цикла происходит освобождение из дипептида (γ -глутамиламинокислота) свободной аминокислоты и ресинтез затраченной на транспорт молекулы глутатиона. Широкое распространение основного фермента этого транспортного цикла в тканях показывает его значение в транспорте аминокислот во многих клетках. В кишечнике возможно всасывание небольших количеств дипептидов и негидролизованых белков. Всасываются они путем пиноцитоза и внутри клетки гидролизуются протеиназами лизосом.

У новорожденных низкая активность протеолитических ферментов и высокая проницаемость слизистой кишечника могут привести к всасыванию нативных белков пищи и вызвать повышенную чувствительность к ним организма. Очевидно, это является причиной пищевой аллергии, т. е. извращенной реакции организма на вещества, что ведет к непереносимости определенных продуктов. Обычно же всасываемые аминокислоты поступают в портальную вену, затем в печень и разносятся в кровь в растворенном виде по тканям и органам. Наиболее активно потребляют аминокислоты печень, почки и менее активно прочие органы, особенно головной мозг. Существует избирательность транспорта для отдельных аминокислот, особенно в клетках нервной системы. У новорожденных и детей раннего возраста клеточные барьеры более проходимы, поэтому даже в головной мозг аминокислоты проходят очень быстро.

Всасывание продуктов гидролиза полинуклеотидов происходит путем пассивного или облегченного транспорта. Наряду с азотистыми основаниями через мембраны хорошо проникают и нуклеозиды. Поэтому в виде нуклеозидов всасывается часть продуктов переваривания нуклеиновых кислот.

Всасывание моносахаридов как продуктов переваривания углеводов происходит посредством вторичного активного транспорта. Транспорт моносахаридов зависит от ионов Na^+ , за счет градиента которого (как и при всасывании аминокислот) осуществляется их перенос с помощью специального переносчика.

Скорость всасывания отдельных моносахаридов — гексоз, пентоз, неодинакова. Наиболее быстро всасывается галактоза, затем глюкоза. Всасывшиеся моносахариды поступают из кишечной стенки в портальную вену, в печень и разносятся с кровью к остальным тканям. В печени остальные гексозы (галактоза, фруктоза, манноза) превращаются в глюкозу или ее метаболиты. Главными потребителями глюкозы помимо печени являются головной мозг, скелетные мышцы, где глюкоза используется в качестве легкого окисляемого источника энергии. В жировой ткани глюкоза используется для синтеза нейтрального жира.

Обычно около 65% глюкозы, поступившей при всасывании из кишечника, расходуется на окисление в клетках (для образования энергии), на синтез жира около 30% и 5% на синтез гликогена. Эти пропорции меняются в зависимости от физиологического состояния организма, возраста и ряда других причин.

Всасывание продуктов гидролиза липидов и их транспорт. Всасывание продуктов переваривания липидов имеет свои особенности. Так, всасывание жирных кислот зависит от длины углеводородной цепи. Короткоцепочечные жирные кислоты (до 10 — 12 углеродных атомов) транспортируются простой диффузией внутрь кишечного эпителия. Длинноцепочечные жирные кислоты (более 14 углеродных атомов) образуют транспортные комплексы с желчными кислотами. Эти комплексы называют *холеиновыми кислотами*. В таком виде жирные кислоты проходят через мембрану кишечного эпителия. Можно считать, что это облегченный транспорт, где роль переносчика выполняют желчные кислоты. Внутри стенки кишечника холеиновый комплекс распадается, и желчные кислоты уходят в кровь портальной вены и в печень. Из печени они вновь возвращаются с желчью в кишечник. Этот кругооборот называют *кишечно-печеночной циркуляцией желчных кислот*.

Частично липиды всасываются в виде триацилглицеринов (около 3 — 6%) путем пиноцитоза и значительная часть (до 50%) — в виде 2-моноацилглицеринов. Последние переходят мембранный барьер простой диффузией.

Кроме того, легко всасываются глицерин, фосфаты в виде натриевых и калиевых солей, холин и другие спирты, сфингозин и холестерин. Часть продуктов неполного гидролиза фосфолипидов, например фосфатидилхолин, тоже всасываются в кишечнике. Особенности транспорта их еще неясны, хотя частично они всасываются путем пассивного транспорта, а для некоторых из них обнаружены переносчики.

Продукты переваривания липидов, поступившие в слизистую кишечника в результате всасывания, транспортируются в кровь и лимфу. Такие продукты гидролиза липидов, как короткоцепочечные жирные кислоты, глицерин, фосфаты, холин и другие спирты глицерофосфатидов, хорошо растворимы и поступают из слизистой кишечника в кровь воротной вены и далее в печень. Некоторая часть продуктов неполного гидролиза фосфолипидов (глицерофосфохолин, глицеролфосфат), всосавшихся из кишечника, также обнаруживается в крови воротной вены.

Длинноцепочечные жирные кислоты, холестерин, некоторая доля всосавшихся триацилглицеринов, моноацилглицерины и большая часть переваренных фосфолипидов обнаруживаются в лимфе. Однако прежде чем поступить в лимфу, в кишечной стенке липиды подвергаются р е с и н т е з у.

В эпителии кишечника наблюдается ресинтез триацилглицеринов, фосфолипидов и эфиров холестерина.

Биологическая роль ресинтеза липидов состоит в том, что в стенке кишечника образуются липиды, более свойственные организму человека, а не пищевому жиру, который может резко отличаться по физико-химическим показателям от липидов человека.

Источником ресинтеза триацилглицеринов служат глицерин, моноацилглицерин, поступившие в клетку в ходе всасывания, и жирные кислоты. Поскольку все отличия в составе триацилглицеринов определяются составом жирных кислот, то при ресинтезе липидов используются собственные жирные кислоты с длинной цепью, образовавшиеся в самом кишечном эпителии из предшественников. Лишь часть всосавшихся жирных кислот пригодна для ресинтеза и тоже используется в этом процессе.

То же самое происходит при ресинтезе фосфолипидов и эфиров холестерина. На их сборку тоже идут жирные кислоты, свойственные данному виду организма. Примерно 70% свободного холестерина, поступившего при всасывании, расходуется на образование эфиров холестерина.

Транспорт ресинтезированных в кишечнике липидов происходит следующим образом. Некоторая часть фосфолипидов, образовавшихся при ресинтезе, поступает в кровь воротной вены благодаря их гидрофильности. Остальные фосфолипиды, все триацилглицерины, эфиры холестерина и свободный холестерин переносятся с лимфой. Ввиду их нерастворимости перенос осуществляется с помощью транспортных форм липидов (см. гл. «Смешанные макромолекулы»).

Ресинтезированные в кишечнике липиды транспортируются в составе *хиломикронов*. Белковая часть их — аполиipoprotein — образуется в эпителии кишечника. Формируются хиломикроны из аполиipoproteида, придающего им растворимость, и ресинтезированных липидов, основную долю которых, около 90%, составляют триацилглицерины. Кроме того, в них входят фосфолипиды, эфиры холестерина и свободный холестерин. Негидролизированные триацилглицерины, которые попадают в кишечник, также входят в хиломикроны вместе с ресинтезированными триацилглицеринами.

Хиломикроны переходят из эпителия кишечника в грудной лимфатический проток. При приеме большого количества жирной пищи лимфа приобретает мутнообразный вид от взвешенных хиломикронов. Из грудного лимфатического протока хиломикроны поступают в кровь, которая становится мутной, резко опалесцирующей (такая плазма крови называется липемической). В крови хиломикроны, а точнее, входящие в них триацилглицерины, расщепляются липопротеидлипазой. Этот фермент образуется в печени, жировой ткани, легких, эндотелии сосудов и т. д. в неактивном виде. Активируется он кофактором — гепарином. В ответ на поступление хиломикронов в кровь из тучных клеток соединительной ткани туда поступает гепарин, активирующий липопротеидлипазу. Последняя гидролизует триацилглицерины в составе хиломикронов на глицерин и жирные кислоты. В результате этого хиломикроны распадаются и плазма крови просветляется.

Жирные кислоты тут же акцептируются альбуминами плазмы и доставляются к тканям и органам. Глицерин находится в растворимом виде и тоже с током крови поступает к органам. Основная часть жирных кислот и глицерина потребляется жировой тканью где происходит депонирование

их в виде триацилглицеринов, а также сердцем, печенью и другими органами, в которых они окисляются для энергетических целей.

5. Регуляция пищеварения

Переваривание компонентов пищи регулируется системой гормоноподобных веществ, образующихся в клетках пищеварительного тракта. Характеристика их дана в табл. 26. Химическое строение большинства из них неизучено. Известно, что гистамин является продуктом декарбоксилирования гистидина, а гастрин, секретин и холецистокинин, выделенные в очищенном виде, относятся к полипептидам. Остальные регуляторы пищеварения, очевидно, тоже пептиды, но они не получены в чистом виде и названы по вызываемому ими эффекту.

Выделение регуляторов происходит под действием пищи и определяется ее составом. При поступлении пищи в желудок выделяются гистамин и гастрин, которые обеспечивают секрецию соляной кислоты и пепсина, переваривающих белки. Переход желудочного содержимого в двенадцатиперстную кишку служит сигналом к выделению энтерогастроны, который, выделяясь в кровь, тормозит секрецию желудочного сока.

Таблица 26. Регуляторы пищеварения и их характеристика

Регулятор	Место образования	Место действия	Эффект
Гистамин	Слизистая желудка	Обкладочные и главные клетки слизистой желудка	Стимулирует выделение соляной кислоты и в меньшей степени пепсиногена в желудке
Гастрин	Слизистая желудка	Обкладочные и главные клетки слизистой желудка	Стимулирует выделение соляной кислоты и пепсиногена в желудке
Энтерогастрон	Слизистая двенадцатиперстной кишки	Клетки слизистой желудка	Тормозит секрецию соляной кислоты и пепсиногена в желудке
Секретин	Слизистая тонкого кишечника	Поджелудочная железа и печень	Стимулирует выделение жидкой части панкреатического сока, богатого водой, гидрокарбонатами, но не ферментами. Кроме того, стимулирует желчеобразование в печени
Холецистокинин—панкреозимин	Слизистая кишечника	Поджелудочная железа и желчный пузырь	Стимулирует выделение панкреатического сока, богатого ферментами, и сокращение желчного пузыря
Химоденин	Слизистая кишечника	Поджелудочная железа	Стимулирует секрецию белков и особенно резко химотрипсиногена поджелудочной железой. В отличие от панкреозимина не стимулирует выделение других, кроме химотрипсиногена, ферментов
Энтерокринин	Слизистая кишечника	Слизистая кишечника	Стимулирует секрецию желез кишечника
Вилликинин	Слизистая кишечника	Ворсинки слизистой кишечника	Стимулирует движение ворсинок кишечника и тем самым продвижение пищи

Поступление пищи в кишечник способствует выделению комплекса регуляторов (секретин, холецистокинин-панкреозимин, химоденин и энтерокринин), которые обеспечивают быстрое выделение панкреатического и кишечного соков для переваривания пищи. Нарушение секреции регуляторов вызывает дисгармонию процессов переваривания пищи.

6. Патология переваривания и всасывания

Нарушение пищеварения вызывается недостатком ферментов и кофакторов переваривания пищи и биохимическими или механическими нарушениями процессов всасывания веществ в кишечнике.

Нарушения переваривания белков. Пониженная секреция соляной кислоты и пепсина (так называемый гипоацидный гастрит) вплоть до полного ее отсутствия (это состояние называется ахилия) существенно не влияет на общую перевариваемость белков пищи. Этот недостаток компенсируется необходимым набором протеолитических ферментов при кишечном пищеварении. Однако отсутствие соляной кислоты приводит к развитию микробной флоры и гнилостным процессам в желудке.

Дефицит протеолитических ферментов поджелудочной железы (врожденное отсутствие или механическое препятствие) приводит к выделению непереваренных белков с калом и относительному белковому голоданию. Непереваренные белки подвергаются перевариванию микроорганизмами толстого кишечника. Этот процесс называется гниением белков в кишечнике. Гниение белков сопровождается образованием ядовитых продуктов — сероводорода, аминов (путресцин, кадаверин, фенилэтиламин, индолэтиламин), фенола, крезола, скатола, индола. Эти вещества могут оказывать отрицательное действие на организм. Некоторые из этих вредных продуктов обезвреживаются здесь же в кишечнике, остальные — при всасывании, главным образом в печени.

Нарушения переваривания липидов наблюдаются при недостатке образования липолитических ферментов в поджелудочной железе или вследствие нарушения оттока панкреатического сока. Почти те же нарушения в переваривании липидов, что и дефицит липолитических ферментов, вызывают нарушение желчеобразования в печени и оттока желчи в кишечник, поскольку желчные кислоты выполняют роль эмульгаторов, активаторов липолитических ферментов и переносчиков жирных кислот. Основным признаком патологии переваривания липидов является *стеаторея*, т. е. выделение непереваренных липидов с калом, который принимает белый цвет из-за большого количества непереваренного жира.

Нарушения переваривания углеводов проявляются при недостатке (врожденном или приобретенном) амилитических ферментов — α -амилазы или олигосахаридаз. Основным признаком этой патологии служит непереносимость отдельных углеводов, например крахмала (при дефиците α -амилазы), лактозы (при дефиците лактазы), реже мальтозы (при дефиците мальтазы) и т. д.

Очень часто наблюдается непереносимость лактозы, сопровождающаяся кишечными расстройствами. Наблюдается она у детей, вскармливаемых в течение длительного времени грудным молоком. Количество лактозы, потребляемой ребенком, может превышать возможности лактазы кишечника,

и оставшаяся непереваренной лактоза вызывает кишечные расстройства и поддерживает развитие микробов кишечника. Переход на молочные смеси с ограниченным содержанием лактозы избавляет ребенка от недуга. У многих взрослых людей, а у аборигенов Австралии в 100% случаев наблюдается возрастная недостаточность лактазы, а с ней и непереносимость молока. Бывает и наследственный дефект лактазы, встречающийся у детей, который сопровождается теми же симптомами.

Нарушения всасывания продуктов переваривания пищи возможны после оперативных вмешательств, т. е. удаления большей части тонкого кишечника или при повреждении транспортных систем тонкого кишечника. Всасывание жирных кислот нарушается при отсутствии или дефиците желчных кислот. Всасывание глюкозы (и других моносахаридов) и аминокислот определяется работой «натриевого насоса» слизистой кишечника и наличием специфических переносчиков. Всякие нарушения в работе Na^+ , K^+ -АТФазы (врожденный дефект, поступление ингибиторов ее и т. п.) препятствует нормальному всасыванию аминокислот и моносахаридов. Возможны признаки слабого всасывания соответствующих аминокислот при дефектах одной из пяти групп специальных переносчиков. Для моносахаридов вероятен аналогичный исход при дефектах переносчиков. При отравлении гликозидом флоридзином, являющимся мощным ингибитором переносчика моносахаридов, прекращается всасывание моносахаридов, хотя градиент иона Na^+ не нарушается.

Б. БИОЭНЕРГЕТИКА

Энергетические ресурсы, имеющиеся в распоряжении клеток, используются для обеспечения их энергетических потребностей. К энергетическим ресурсам можно отнести: моносахариды, аминокислоты, глицерин и жирные кислоты, которые, проходя через плазматическую мембрану клеток, могут или сразу использоваться как источники энергии, или, включаясь в состав биополимеров (полисахариды, липиды, белки), образуют как бы внутриклеточное депо энергетических веществ. По мере надобности внутриклеточные биополимеры расходуются на образование энергии. В целом организме роль отдельных тканей и органов в накоплении энергетических ресурсов, особенно таких ценных, как жиры и углеводы, неодинакова. Жировая ткань обладает наибольшими возможностями для накопления энергетически важных триацилглицеринов по сравнению с другими клетками и тканями. В этом заложен определенный биологический смысл для организма, так как если бы все ткани одинаково аккумулировали жир для своих энергетических целей, то, отягощенные накопившимся жиром, они не могли бы выполнять другие функции. Жировая ткань снабжает другие ткани энергетическими субстратами — глицерином и жирными кислотами, которые поступают в кровь после распада триацилглицерина жировой ткани. Похожую роль, только в ограниченных размерах, выполняет печень, снабжая другие клетки и ткани глюкозой, которая поступает в кровь при распаде гликогена печени. Однако запасы гликогена в печени невелики по сравнению с запасами жира в жировой ткани. Если же при патологии в печени накапливаются излишки гликогена или того же жира, то это мешает выполнению специализированных функций клетками печени.

В целом энергетические потребности животных клеток, клеток растений, пребывающих в темноте, и многих микроорганизмов удовлетворяются за счет освобождения энергии при катаболизме питательных веществ.

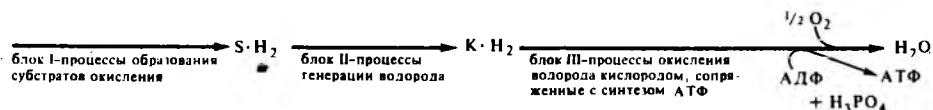
1. Фазы освобождения энергии из питательных веществ

В ходе извлечения энергии из различных субстратов можно условно выделить три фазы. Первая фаза — подготовительная. Она необходима для перевода биополимеров, поступающих с пищей или находящихся внутри клетки, в удобную для извлечения энергии форму — мономеры. Осуществляется эта фаза с помощью гидролаз в кишечнике или внутри клетки. Внутри клетки гидролиз происходит с участием ферментов цитоплазмы и лизосом. Энергетической ценности эта фаза не представляет, так как освобождается лишь до 1% энергии субстратов, но и она рассеивается в форме теплоты.

Вторая фаза — частичный распад мономеров до ключевых промежуточных продуктов, главным образом до ацетил-КоА и нескольких кислот цикла Кребса — оксалоацетата, 2-оксоглутарата. Во второй фазе большое число исходных субстратов сокращается до трех. Для нее характерно частичное (до 20%) освобождение энергии, заключенной в исходных субстратах, происходящее в анаэробных (бескислородных) условиях. Часть этой энергии аккумулируется в фосфатных связях АТФ, а часть рассеивается в виде теплоты. Превращение мономеров протекает в гиалоплазме, а заключительные реакции — в митохондриях.

Третья фаза — окончательный распад веществ до CO_2 и H_2O с участием кислорода. Эта фаза — аэробного биологического окисления веществ протекает с полным освобождением энергии. Особенность превращения веществ на этом этапе состоит в том, что из трех метаболитов предыдущей фазы, после так называемого цикла Кребса, остается только водород, связанный с переносчиками (НАД или ФАД). Водород — универсальное энергетическое топливо, которое используется в дыхательной цепи для образования АТФ и воды. Примерно 80% всей энергии химических связей веществ освобождается в данной фазе. Эта энергия окисления субстратов сосредоточивается в фосфатных связях АТФ и часть ее выделяется в виде теплоты. Все реакции этой фазы локализуются в митохондриях.

Освобождение энергии в живой клетке осуществляется постепенно, благодаря этому на различных этапах ее выделения она может аккумулироваться в удобной для клетки химической форме, в виде АТФ. Весь энергетический аппарат клетки устроен как бы из трех блоков, имеющих разное функциональное назначение (т. е. осуществляющих три группы процессов):



Здесь SH_2 — субстрат окисления; KH_2 — водород, связанный с коферментом. Задача ферментативных процессов первого блока — образование необходимых субстратов окисления, соответствующих имеющемуся в клетке окис-

лительному ферменту. Одновременно происходит частичная аккумуляция энергии расщепляемых субстратов в фосфатных связях АТФ. Дальнейшие превращения субстратов связаны с процессами биологического окисления.

2. Биологическое окисление

Реакции биологического окисления катализируются ферментами. Окисление может быть связано: 1) с отщеплением водорода от окисляемого субстрата (дегидрирование); 2) с потерей электрона; 3) с присоединением кислорода. Все три типа реакций равнозначны и имеют место в живой клетке.

Процесс окисления не протекает изолированно, он сопряжен с реакцией восстановления, т. е. с присоединением водорода или электрона. Оба вещества — окисляемое и восстанавливаемое, образуют окислительно-восстановительную пару, или редокс-пару.

Окислительную или восстановительную способность разных соединений характеризует их сродство к электрону. Чем легче субстрат отдает электроны, тем сильнее его восстанавливающая способность. Наоборот, высокое сродство к электрону характеризует их окисляющую способность. Способность любой окислительно-восстановительной пары к реакциям восстановления характеризуется стандартным *окислительно-восстановительным потенциалом*, или *редокс-потенциалом*. Он выражается значением электродвижущей силы (в вольтах), возникающей в полуэлементе, в котором окислитель и восстановитель присутствуют в концентрации 1,0 моль/л при 25°C и рН 7,0 и находятся в равновесии с электродом, который может обратимо принимать электроны от восстановителя. Стандартный редокс-потенциал отражает восстанавливающую активность редокс-пары и обозначается знаком E_0 . В качестве нулевого стандарта принят редокс-потенциал газообразного водорода при давлении 101,3 кПа (1 атм), концентрации ионов H^+ в растворе 1,0 моль/л, т. е. при рН 0, температуре 25°C. Стандартный редокс-потенциал этой окислительно-восстановительной пары согласно уравнению $H_2 \rightleftharpoons 2H^+ + 2e^-$ условно принят за нуль. При физиологическом значении рН 7,0, при котором измеряются стандартные редокс-потенциалы всех окислительно-восстановительных пар, редокс-потенциал системы $H_2/2H^+ + 2e^-$ равен $-0,42$ В. Отрицательное значение его указывает на выраженные восстановительные свойства. Чем более отрицателен редокс-потенциал, тем сильнее выражена способность данной редокс-пары отдавать электроны, т. е. играть роль восстановителя. Напротив, чем более положителен редокс-потенциал, тем более выражена способность данной редокс-пары принимать электроны, т. е. играть роль окислителя. Например, редокс-потенциал пары НАД · Н + Н⁺/НАД⁺ равен $-0,32$ В, что говорит о высокой способности ее отдавать электроны, а редокс-потенциал пары $1/2O_2/H_2O$ имеет большую положительную величину $+0,81$ В, поэтому у кислорода наивысшая способность принимать электроны.

Значения редокс-потенциалов позволяют предсказать направление потока электронов при биологическом окислении и рассчитать изменение энергии при переносе электронов от одной редокс-пары к другой.

Субстраты окисления, как уже указывалось, образуются в ходе катаболизма белков, углеводов и липидов. Эти субстраты подвергаются дегидрированию как наиболее распространенному типу биологического окисления, происходящего с участием находящихся в клетке дегидрогеназ. Если акцепто-

ром водорода в реакциях дегидрирования служит не кислород, а другой субстрат, то такие реакции называют *анаэробным окислением*; если же акцептором водорода является кислород и образуется вода, то такие реакции биологического окисления называют *тканевым дыханием*.

Анаэробное окисление есть не что иное, как процесс генерации водорода (второй блок в приведенной выше схеме энергетического аппарата клетки). В этих реакциях участвуют *никотинамидзависимые дегидрогеназы*, где акцептором отщепляемого от органического субстрата водорода служат НАД⁺ и НАДФ⁺, и *флавинозависимые дегидрогеназы*, где акцептором водорода служат ФМН и ФАД. Субстраты дегидрирования образуются вне митохондрий, но затем транспортируются внутрь митохондрий, где совершаются окислительные превращения веществ.

ГЛАВА 13. АЭРОБНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ ЭНЕРГИИ В МИТОХОНДРИЯХ

В митохондриях производится основная часть всей энергии клетки, поэтому митохондрии образно называют энергетическими станциями клеток.

1. Структурная организация митохондрий

Митохондрии находятся в животных и растительных клетках. Их форма варьирует от овальной до палочковидной и нитевидной. Недавно было доказано, что митохондрии, тесно примыкая друг к другу, располагаются в ряд, имея вид митохондриальных сетей, а не рассеянных по клетке изолированных органоидов, как представлялось ранее.

Митохондрии имеют размеры порядка $0,5 \times 3,0$ мкм. Они состоят из двух отдельных мембранных мешков: наружного и внутреннего, которые разделены мембранным пространством, заполненным водной средой (рис. 32). Наружная мембрана состоит наполовину из белков и липидов. Внутренняя мембрана примерно на $\frac{3}{4}$ состоит из белков и на $\frac{1}{4}$ из липидов, в основном кардиолипина. Внутренняя мембрана причудливо укладывается, образуя складки — *кристы*. Пространство между кристами заполнено водной фазой — *матриксом*. Внутренняя поверхность крист обращенная к матриксу, усеяна грибовидными частицами, называемыми *элементарными частицами*. При обработке митохондрий в гипотонической среде (например, в дистиллированной воде) наружная мембрана лопается и остается внутренний мембранный мешок. Внутренняя мембрана прочна и не поддается разрушению с помощью осмотического шока. Необходима специальная

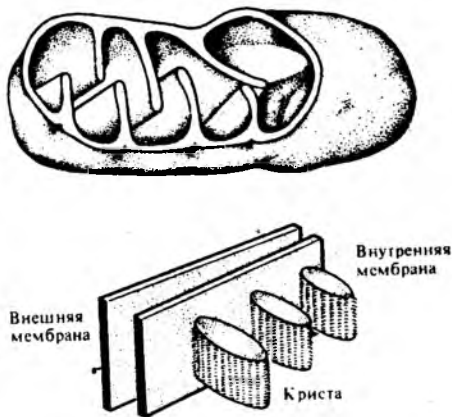


Рис. 32. Структура митохондрий (по Ленинджеру)

химическая обработка детергентами (тритоном X-100, твином, дигитонином и другими), которые разрушают внутреннюю мембрану. Можно разрушить мембрану ультразвуком. При этом фрагменты внутренней мембраны замыкаются и образуются так называемые *субмитохондриальные частицы*, которые представляют собой как бы вывернутый наизнанку участок внутренней мембраны митохондрий.

Операции по выделению основных структур митохондрий позволили выяснить локализацию в них отдельных ферментов и целых биохимических циклов.

2. Ферментные системы митохондрий — генераторы водорода

Одним из важных субстратов окисления является *пируват*, который образуется как промежуточный продукт распада углеводов, белков и аминокислот, глицерина. Окислению пируват подвергается в митохондриях, куда он проникает из цитоплазмы. Кроме пирувата в митохондриях окисляются и другие субстраты. Некоторые из них участвуют в акцептировании водорода цитоплазмы и переносе его внутрь митохондрий к дыхательной цепи. Ценность пирувата как субстрата окисления состоит не только в том, что он является источником водорода, но и ацетил-КоА, который можно отнести к основным продуцентам водорода в митохондриях. Остановимся прежде на ферментативной системе окисления пирувата.

Окисление пирувата до ацетил-КоА

Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты осуществляется полиферментным *пируватдегидрогеназным комплексом*. Этот комплекс находится в матриксе, но не в растворенном виде, а прикрепляется к белкам внутренней мембраны митохондрий, обращенным в матрикс. Пируватдегидрогеназный комплекс является примером структурной организации нескольких разных ферментов и обладает всеми преимуществами такой организации.

Масса пируватдегидрогеназного комплекса $4 \cdot 10^6$ дальтон. Он состоит из трех разных ферментов: *пируватдегидрогеназы*, *дигидролипоилацетилтрансферазы* и *дигидролипоилдегидрогеназы*. На рис. 33 пируватдегидрогеназа изображена в виде внешних больших сфер, дигидролипоилацетилтрансфераза — в центре, в виде мелких сфер, а дигидролипоилдегидрогеназа занимает среднюю часть комплекса и изображена в виде четырех групп сфер среднего размера.

Пируватдегидрогеназа состоит из 24 молекул фермента, каждая из которых содержит один остаток *тиаминдифосфата*, являющегося коферментом пируватдегидрогеназы. Общая масса этого фермента примерно $2,16 \cdot 10^6$

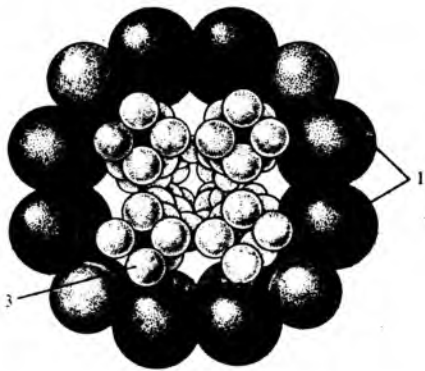


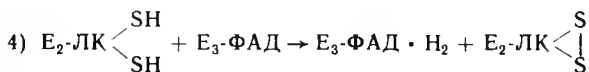
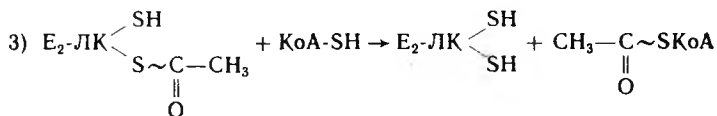
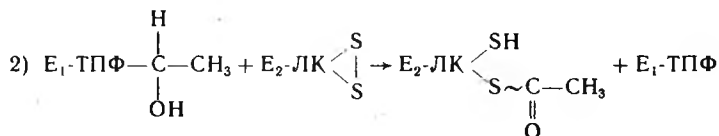
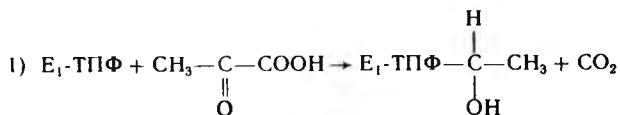
Рис. 33. Структура пируватдегидрогеназного полиферментного комплекса:

1 — пируватдегидрогеназа; 2 — дигидролипоилацетилтрансфераза; 3 — дигидролипоилдегидрогеназа

дальтон. Дигидролипоилацетилтрансфераза имеет массу порядка $0,76 \cdot 10^6$ дальтон; четвертичная структура этого фермента состоит из 24 субъединиц с молекулярной массой 36 000. Каждая субъединица дигидролипоилацетилтрансферазы содержит один остаток липоевой кислоты. В состав комплекса входит 12 молекул дигидролипоилдегидрогеназы, каждая из которых содержит 1 остаток ФАД. Общая масса этого ферментного комплекса $0,66 \cdot 10^6$ дальтон.

Итак, все ферменты пируватдегидрогеназного комплекса двухкомпонентны и содержат прочно связанные коферменты: тиаминпирофосфат (ТПФ), липоевую кислоту ($\text{ЛК} \left\langle \begin{smallmatrix} \text{S} \\ | \\ \text{S} \end{smallmatrix} \right\rangle$) и ФАД. Кроме того, в работе комплекса, т. е. в окислении пирувата, принимают участие два внешних (не связанных с комплексом) коферменты: CoA-SH и НАД^+ , которые играют роль акцепторов продуктов окисления пирувата. Пируват последовательно подвергается действию ферментов пируватдегидрогеназного комплекса.

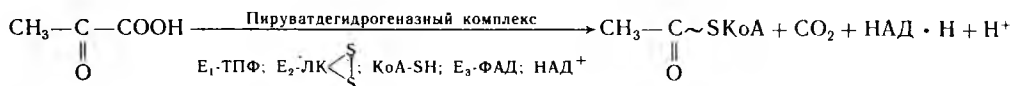
Обозначив ферменты комплекса: E_1 -ТПФ — пируватдегидрогеназа, E_2 - $\text{ЛК} \left\langle \begin{smallmatrix} \text{S} \\ | \\ \text{S} \end{smallmatrix} \right\rangle$ — дигидролипоилацетилтрансфераза, E_3 -ФАД — дигидролипоилдегидрогеназа, можно записать стадии окисления пирувата следующим образом.



На первой стадии действует пируватдегидрогеназа, в результате образуется конечный продукт обмена CO_2 (декарбоксилирование пирувата) и гидроксиэтильное производное, связанное с ТПФ в активном центре пируватдегидрогеназы. Другой фермент — дигидролипоилацетилтрансфераза катализирует две стадии: это восстановление дисульфидной группы липоевой кислоты за счет гидроксиэтила и перенос ацетильной группы на внешний CoA-SH (стадии 2 и 3). В результате образуется восстановленная форма фермента — дигидролипоил- E_2 и конечный продукт окисления пирувата в

пируватдегидрогеназном комплексе — ацетил-КоА. Третий фермент комплекса — дигидролипоилдегидрогеназа окисляет восстановленную форму липоевой кислоты (4 стадия), акцептируя водород собственным коферментом — ФАД. Затем он катализирует реакцию дегидрирования и перенос водорода на внешний НАД⁺. В результате образуется конечный продукт окисления НАД · Н + Н⁺.

В общем виде уравнение окисления пирувата ферментами пируватдегидрогеназного комплекса выглядит так:



Этот процесс сопровождается значительным уменьшением стандартной свободной энергии ($\Delta G = -8,0$ кДж/моль), что говорит о необратимости его в физиологических условиях. Практически весь поступающий в митохондрии пируват быстро окисляется до ацетил-КоА.

Из продуктов окисления пирувата CO_2 — конечный продукт обмена, энергетической ценности не представляет; восстановленный НАД — богатое энергией соединение, водород его поставляется на дыхательную цепь; ацетил-КоА поступает в цикл Кребса, локализованный внутри митохондрий.

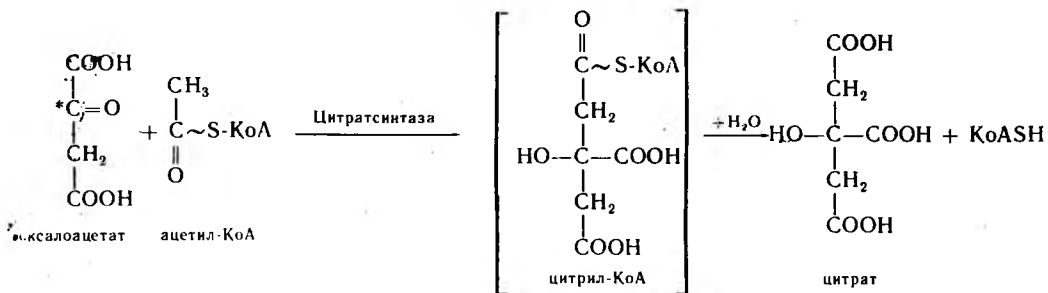
Окислительная ферментативная система цикла Кребса

Главной ферментативной системой, выполняющей роль генератора водорода для дыхательной цепи, является цикл Кребса. Начало изучения реакций этого цикла было положено работами Сент-Дьердьи, который установил каталитическую роль фумарата, малата, сукцината в окислении эндогенных субстратов измельченной мышечной ткани. Английский ученый Кребс на основании собственных экспериментов и данных Сент-Дьердьи предположил, что в клетках имеется окислительная циклическая система реакций, которую он назвал *циклом лимонной кислоты*, так как считал, что первым продуктом цикла является лимонная кислота (цитрат). Этот цикл также называли *циклом трикарбоновых кислот*, поскольку в то время не было точно известно, действительно ли первым субстратом цикла является лимонная кислота. Впоследствии показали, что этот цикл служит главной ферментативной системой окисления остатков уксусной кислоты (ацетил-КоА) и что первой реакцией его является синтез лимонной кислоты. Однако чаще всего этот цикл называют *циклом Кребса*, впервые установившего последовательность реакций в этом процессе.

Отдельные реакции цикла Кребса

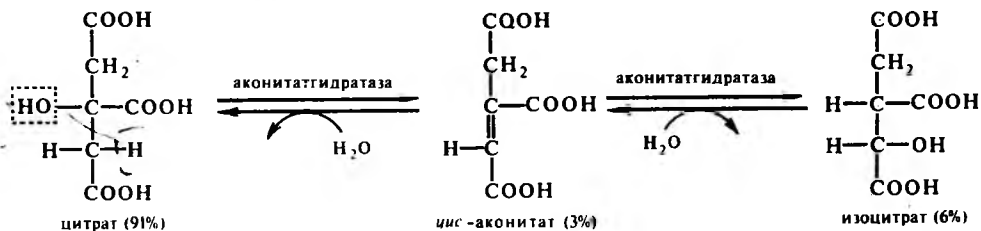
Ацетил-КоА, образующийся при окислении пирувата, жирных кислот и аминокислот, включается в цикл Кребса.

1. На первой стадии происходит синтез лимонной кислоты, или цитрата, при участии фермента *цитратсинтазы*.



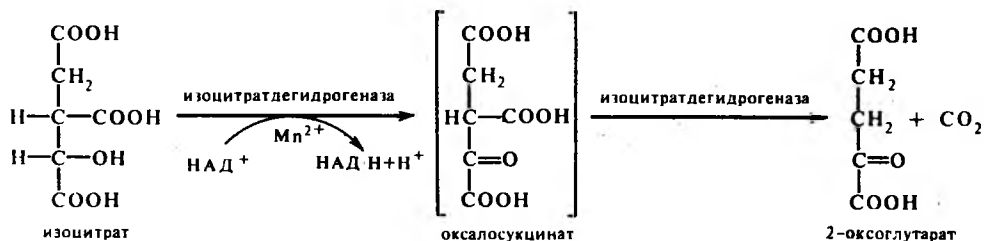
Углерод метильной группы ацетила взаимодействует с атомом углерода оксалоацетата (помечен звездочкой). Промежуточным соединением является, как считают, цитрил-КоА, который гидролизуется с образованием свободного цитрата. Гидролиз богатой энергией тиоэфирной связи сдвигает равновесие реакции в сторону образования цитрата и делает реакцию практически необратимой ($\Delta G = -37,5$ кДж/моль) в физиологических условиях. Потери энергии в ходе гидролиза цитрил-КоА обеспечивают включение ацетильного фрагмента в цикл Кребса с образованием цитрата.

2. Второй фермент цикла Кребса — *аконитатгидратаза* — катализирует обратимые превращения трех трикарбоновых кислот — *цитрата*, *цис-аконитата* и *изоцитрата*:



Равновесие в системе устанавливается при соотношении трех субстратов, указанном в уравнении реакции. Аконитатгидратаза катализирует присоединение протона и гидроксила воды в *транс*-положении по месту двойной связи *цис*-аконитата. При этом образуется либо цитрат, либо изоцитрат. Особенностью этого фермента является необходимость для реакции ионов Fe^{2+} , образующих металлосубстратный комплекс. Чтобы сместить равновесие аконитатной реакции в ту или другую сторону, надо расходовать изоцитрат или цитрат.

3. Ферментов, расщепляющих цитрат внутри митохондрий, нет, а превращение изоцитрата катализируется третьим ферментом цикла Кребса — *изоцитратдегидрогеназой*. Как всякая дегидрогеназа, этот фермент имеет кофермент — акцептор водорода, отщепляемый от субстрата. Истинная изоцитратдегидрогеназа цикла Кребса — НАД-зависимый фермент, который содержится только в матриксе митохондрий и катализирует дегидрирование изоцитрата по уравнению

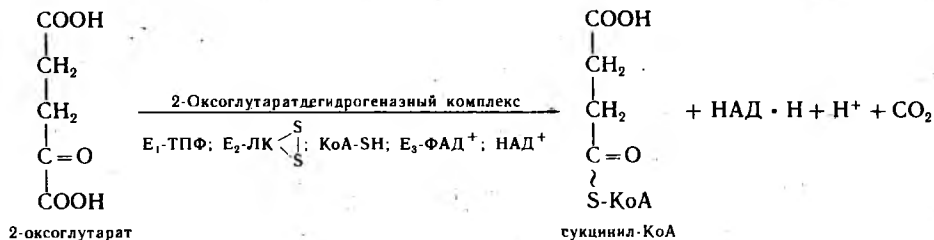


Одновременно идет декарбоксилирование промежуточного продукта реакции (оксалосукцинат) на поверхности фермента.

Другая, НАДФ-зависимая, изоцитратдегидрогеназа находится в основном в цитоплазме клетки (~80%), и лишь небольшие количества ее присутствуют в митохондриях. Эта дегидрогеназа участвует в реакциях синтеза.

Реакция, катализируемая изоцитратдегидрогеназой, требует присутствия ионов Mn^{2+} или Mg^{2+} и является практически необратимой ($\Delta G = -20,8$ кДж/моль). Потери в энергии при декарбоксилировании обеспечивают непрерывность утилизации изоцитрата, что в свою очередь способствует смещению равновесия аконитатгидратазной реакции в сторону образования изоцитрата из *цис*-аконитата.

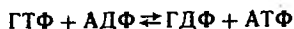
4. 2-Оксоглутарат превращается полиферментным 2-оксоглутаратдегидрогеназным комплексом, который по действию сходен с пируватдегидрогеназным комплексом. Сходство в их механизме действия не случайно, так как оба ферментных комплекса катализируют окисление α -кетокислот. 2-Оксоглутаратдегидрогеназный комплекс (четвертый фермент цикла Кребса) окисляет 2-оксоглутарат по уравнению:



5. Продукт этой реакции сукцинил-КоА относится к числу богатых энергией соединений, поэтому на следующей стадии цикла происходит перенос богатой энергией связи этого субстрата в макроэргические фосфатные связи. Эта реакция называется фосфорилированием на уровне субстрата или *субстратным фосфорилированием*. Благодаря этому процессу сохраняется энергия в макроэргических связях АТФ. Процесс катализируется *сукцинат-тиокиназой* (обозначенной в уравнении «Е»):

- Сукцинил-КоА + H_3PO_4 + $\text{E} \rightleftharpoons \text{E-сукцинил} \sim \text{PO}_3\text{H}_2$
- $\text{E-сукцинил} \sim \text{PO}_3\text{H}_2 \rightleftharpoons \text{E} \sim \text{PO}_3\text{H}_2$ + Сукцинат
- $\text{E} \sim \text{PO}_3\text{H}_2$ + ГДФ \rightleftharpoons E + ГТФ

Акцептором фосфорила в этой реакции является ГДФ, поэтому энергия сначала аккумулируется в фосфатных связях ГТФ. Затем с помощью фермента *нуклеозиддифосфаткиназы*, связанного с внутренней мембраной митохондрий, происходит перенос фосфорила с ГТФ на АДФ с образованием АТФ:

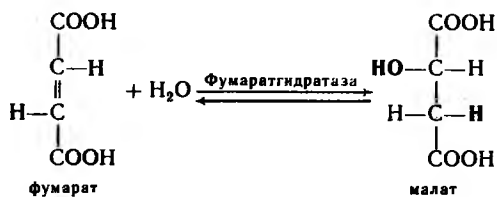


6. Сукцинат подвергается превращению с участием *сукцинатдегидрогеназы*. Особенностью этого фермента является то, что акцепторами электронов и протонов, отщепляемых от сукцината, служат ФАД и железосеропротеид, содержащий негеминовое железо (FeS). Железосеропротеиды связаны с субъединицами сукцинатдегидрогеназы. Кроме того, это единственный фермент цикла Кребса, прочно связанный с внутренней мембраной митохондрий. Он как бы «утоплен» своей гидрофобной частью в липидную часть мембраны, а активный центр фермента обращен в матрикс, где в растворенном виде находится сукцинат. При дегидрировании сукцината электроны переходят через негеминовое железо железосеропротеида к ФАДу, который является конечным акцептором электронов и протонов в этой реакции:



Сукцинатдегидрогеназа катализирует отщепление от сукцината атомов водорода, находящихся в *транс*-положении. Поэтому образуется *транс*-форма дикарбоновой кислоты — *фумарат*, а не *цис*-форма — *малеат*. Сукцинатдегидрогеназная реакция обратима.

7. На следующем этапе происходит стереоспецифическое присоединение протона и гидроксила воды к фумарату, катализируемое *фумаратгидратазой*, по уравнению



Следовательно, этот фермент цикла Кребса обладает стереохимической субстратной специфичностью.

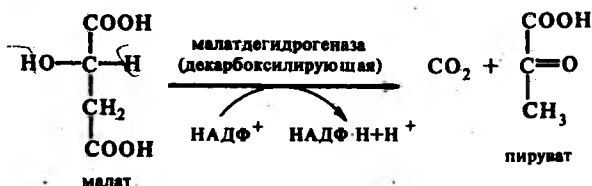
8. Завершающей стадией цикла Кребса является регенерация оксалоацетата. Это происходит путем окисления *малата*, катализируемого *малатдегидрогеназой*.

Малатдегидрогеназа цикла Кребса — НАД-зависимый фермент и имеет несколько изоферментов.

Реакция, катализируемая этим ферментом, обратима и описывается уравнением



Существует и НАДФ-зависимая малатдегидрогеназа, но она сосредоточена преимущественно вне митохондрий (в цитозоле). Этот фермент одновременно с дегидрированием катализирует и декарбоксилирование субстрата:



Сравнив эти два фермента, можно видеть, что НАДФ-зависимый фермент не имеет отношения к циклу Кребса, так как под действием этого фермента не происходит регенерации оксалоацетата, необходимого для замыкания

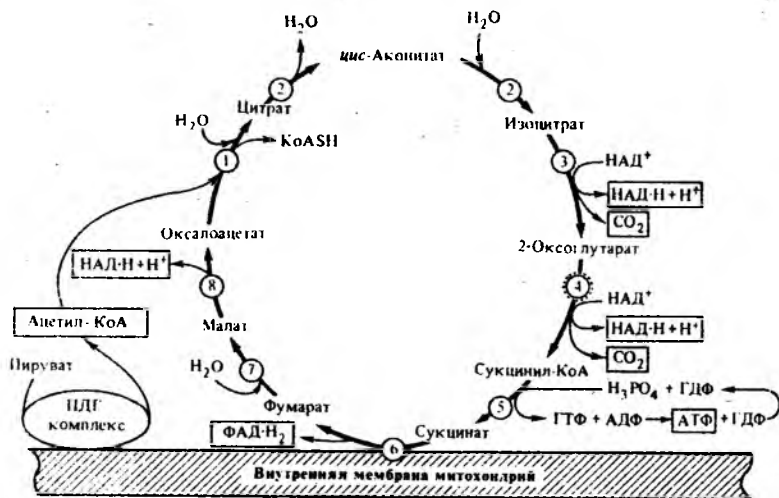


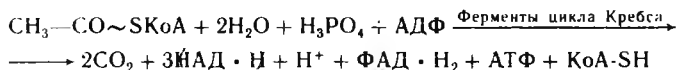
Рис. 34. Цикл Кребса (рамками обведены конечные продукты цикла):
 1 — цитратсинтаза; 2 — аконитатгидратаза; 3 — изоцитратдегидрогеназа; 4 — 2-оксоглутаратдегидрогеназный комплекс; 5 — сукцинилтнкоиназа; 6 — сукцинатдегидрогеназа; 7 — фумаратгидратаза; 8 — малатдегидрогеназа; ПДГ — пируватдегидрогеназный комплекс

цикла. НАДФ-малатдегидрогеназа необходима как генератор НАДФ·Н₂ для синтетических процессов или как фермент, способствующий восполнению малата, расходующегося в других реакциях.

Общая последовательность реакций цикла Кребса представлена на рис. 34. Хотя цикл Кребса изображают в виде замкнутого ферментативного процесса, следует обратить внимание на одну его особенность: обратимость ферментативных реакций на участке от сукцината до оксалоацетата. Поэтому в митохондриях эта ветвь может работать в обратном направлении, т. е. оксалоацетат может превращаться в метаболиты цикла Кребса вплоть до сукцината. Такая возможность представляется, когда нарабатывается оксалоацетат из других субстратов с помощью вспомогательных реакций.

Дополнительное образование молекул оксалоацетата необходимо в ситуациях, при которых в ходе распада веществ образуется много ацетил-КоА (например, при интенсивном окислении жирных кислот, пирувата, некоторых аминокислот). Если количество оксалоацетата недостаточно для синтеза из него и ацетил-КоА цитрата, то цикл Кребса не успевает перерабатывать ацетильные остатки, и они используются в других ферментативных процессах.

Суммарное уравнение превращения ацетил-КоА ферментами цикла Кребса имеет вид



Круговорот веществ в цикле Кребса организован столь целесообразно, что ферменты цикла по ходу его используют молекулы воды, имеющейся в избытке, для производства водорода. Источником избыточных пяти атомов водорода являются две молекулы воды, присоединяющиеся к субстратам на стадиях превращения цитрил-КоА в цитрат и фумарата в малат, а также неорганический фосфат, участвующий в реакции субстратного фосфорилирования — образовании сукцината из сукцинил-КоА. Поскольку молекулы воды служат источником водорода, можно сказать, что вода выполняет энергетическую роль в животных клетках.

Биохимические функции цикла Кребса

1. Интегративная — цикл Кребса является своеобразным метаболическим «коллектором», который объединяет пути катаболизма углеводов, липидов и белков.

2. Амфиболическая — цикл Кребса выполняет двойственную функцию: катаболическую, поскольку в нем происходит распад ацетильных остатков, и анаболическую, поскольку субстраты цикла Кребса используются на синтез других веществ. Так, оксалоацетат идет на синтез аспарагиновой кислоты и глюкозы, 2-оксoglутарат — на синтез глутаминовой кислоты, сукцинат — на синтез гема.

3. Энергетическая — в ходе реакций цикла Кребса образуется одна молекула АТФ на уровне субстрата на 1 моль поступившего ацетил-КоА.

4. Водорододонорная (или водородгенерирующая) — цикл Кребса является основным генератором водорода для дыхательной цепи. В цикле Кребса

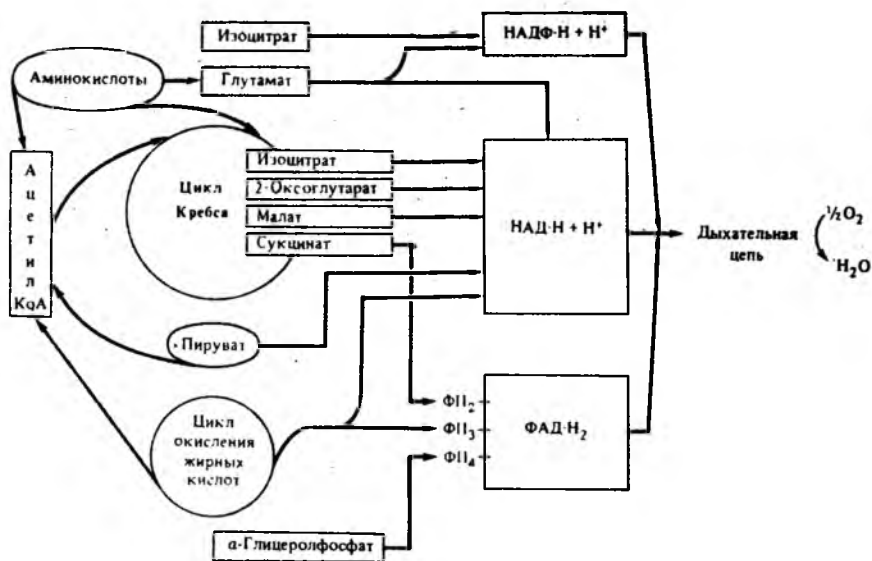


Рис. 35. Схема окислительных процессов в митохондриях — генераторов водорода в форме НАД · Н₂, НАДФ · Н₂ и ФАД · Н₂ для дыхательной цепи (ФП₂, ФП₃, ФП₄ — флавопротеиды)

образуется 4 пары атомов водорода, три из которых соединены с НАД и одна с ФАД.

На последней функции цикла Кребса следует остановиться особо. Прежде всего необходимо напомнить, что все процессы, «питающие» цикл Кребса или остатками уксусной кислоты, т. е. ацетил-КоА, или другими промежуточными продуктами цикла, т. е. ди- и трикарбоновыми кислотами, обеспечивают работу цикла Кребса и его функцию генератора водорода для дыхательной цепи. К этим процессам относятся (рис. 35) цикл окисления жирных кислот и пирувата (источники ацетил-КоА), реакции распада углеродного скелета аминокислот (источники ацетил-КоА и дикарбоновых кислот). Торможение процессов, ведущих к образованию ацетил-КоА или метаболитов цикла Кребса из других веществ, выключает цикл Кребса из работы. Дыхательная цепь лишается главного источника поступления водорода, используемого на образование энергии.

Биохимические функции цикла Кребса указывают на то, что уксусная кислота и любое вещество, являющееся непосредственным компонентом цикла Кребса, должны быть хорошим источником энергии и их можно потреблять с пищей как ценные энергетические вещества, лишь бы они, поступив в клетку, могли достигнуть ферментной системы цикла Кребса, расположенной внутри митохондрий. Ацетат в клетках может активироваться и превращаться в ацетил-КоА, а значит, для уксусной кислоты это предположение справедливо. То же относится к некоторым субстратам цикла, проникающим через митохондриальную мембрану, особенно к субстратам дегидрогеназ: изоцитрату, 2-оксоглутарату, сукцинату и малату. Возможности их использования

как энергетически ценных препаратов для медицинских целей и показания к назначению сейчас изучаются.

Вспомогательные дегидрогеназные реакции — доноры водорода в митохондриях

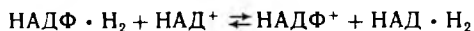
Донорами водорода кроме цикла Кребса являются отдельные реакции окисления жирных кислот, пирувата, глутамата, изоцитрата (катализируемая НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназой), α -глицеролфосфата (см. рис. 35). Эффективность этих реакций значительно ниже, чем цикла Кребса. Более того, в отличие от цикла Кребса отщепление водорода в реакциях дегидрирования этих субстратов сопровождается образованием продуктов обмена, которые необходимо утилизировать. А для этого нужен цикл Кребса. Значит, вспомогательные окислительные ферментные реакции — доноры водорода — самостоятельно не могут долго функционировать и лишь в присутствии цикла Кребса их функция эффективна.

Распределение внутримитохондриального фонда водорода

При дегидрировании субстратов в митохондриях происходит связывание водорода с коферментами-переносчиками, которые специфичны для каждой дегидрогеназы. Весь водород внутри митохондрий поступает в дыхательную цепь по трем каналам. Основная часть водорода связана с НАД в виде $\text{НАД} \cdot \text{H}_2$, так как большинство дегидрогеназ внутри митохондрий являются НАД-зависимыми. Вторую часть внутримитохондриального водорода составляет тот, что связан с НАДФ ($\text{НАДФ} \cdot \text{H} + \text{H}^+$). Он образуется при дегидрировании НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназы или глутаматдегидрогеназы. Третий поток водорода поступает при действии на субстраты флавиновых дегидрогеназ (флавопротеидов), коферментами которых служит ФАД (см. рис. 35).

Распределение водорода, связанного с разными коферментами, различно: $\text{НАД} \cdot \text{H}_2$ и $\text{ФАД} \cdot \text{H}_2$ используются в окислительных процессах, а $\text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$ — преимущественно для восстановительных синтезов. Во внутренней мембране митохондрий имеется фермент *трансгидрогеназа*, регулирующий распределение водорода между НАДФ^+ и НАД^+ .

Трансгидрогеназа катализирует перенос водорода между двумя никотинамиднуклеотидами:



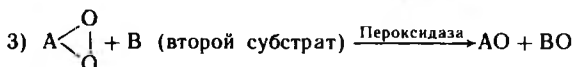
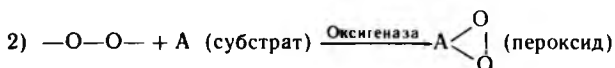
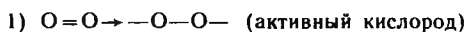
Если необходимо использовать водород $\text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$ не для синтезов, а для окисления, то он перебрасывается к НАД^+ с участием трансгидрогеназы. Однако чаще используется обратная реакция, поскольку в митохондриях активны НАД-зависимые дегидрогеназы и нарабатывается много $\text{НАД} \cdot \text{H}_2$. На перенос водорода от $\text{НАД} \cdot \text{H}_2$ к НАДФ^+ затрачивается энергия. Образовавшийся $\text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$ используется в синтезе различных веществ внутри митохондрий.

3. Тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование

Водород используется как главное топливо для образования энергии. В митохондриях поток электронов от водорода устремляется к их конечному акцептору кислороду. При этом образуются молекулы воды, которая в энергетической шкале биологических веществ занимает низшую ступеньку и является конечным продуктом тканевого дыхания. Следовательно, тканевое дыхание есть окислительно-восстановительный процесс, связанный с образованием воды при переносе электронов от водорода на кислород.

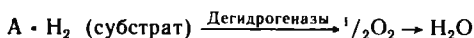
Первые представления о тканевом дыхании связаны с Лавуазье, который один из первых указал на то, что жизнь поддерживается кислородом. Он назвал дыхание процессом биологического «горения», подобным горению угля, только очень медленным.

В 1897 г. была обоснована первая гипотеза тканевого дыхания, названная гипотезой перекисного (пероксидного) окисления. Ее разрабатывали независимо друг от друга А. Н. Бах в России и Энглер в Германии. Суть данной гипотезы состоит в том, что при дыхании, как считали авторы, происходит активирование молекул O_2 за счет энергии самоокисляющихся веществ, образование пероксидов и разложение их с участием другого вещества:



Для указанных целей необходимо последовательное действие двух ферментов — *оксигеназы* и *пероксидазы*. Впоследствии оказалось, что это не главный, а частный случай окисления веществ при дыхании. Сейчас известно, что описанный тип медленного окисления органических веществ имеет место в микросомах печени, а не в митохондриях.

Идея активирования кислорода как основного механизма тканевого дыхания разрабатывалась известным немецким ученым Варбургом, создавшим первые аппараты для изучения тканевого дыхания. Он считал, что активирование кислорода есть ключевой процесс в тканевом дыхании, в результате чего кислород соединяется с водородом и образуется вода. В 1912 г. Варбург открыл гемосодержащий протеид, названный впоследствии цитохромоксидазой, которая активирует кислород. Однако после открытия в том же году Бателли и Штерном дегидрогеназ ученых захватила идея активирования не кислорода, а водорода субстрата как основного звена тканевого дыхания. В. И. Палладин (1912) предложил схему дыхания, по которой дегидрирование является важнейшим звеном дыхания:



Вскоре Виланд и Тунберг доказали, что возможно активирование водорода субстрата с помощью дегидрогеназы. Гипотеза Палладина получила под-

тверждение. Примирить дегидрогеназную концепцию Палладина и оксидазную Варбурга в тканевом дыхании удалось после открытия в 1933 г. Кейлином цитохромов, являющихся промежуточными переносчиками электронов от водорода к кислороду. На самом деле Кейлин переоткрыл цитохромы, которые были впервые описаны Мак-Мунном в 1886 г. и названы им гистогематинами.

Как часто бывает, истина оказалась посередине: и активирование водорода субстрата с участием дегидрогеназ, и активирование кислорода с участием оксидаз являются необходимыми звеньями тканевого дыхания.

На современном этапе знаний тканевое дыхание представляется полиферментной цепью переноса электронов и протонов от субстрата — донора водорода к кислороду. Эта цепь переносчиков называется *дыхательной цепью*.

Структура и функция дыхательной цепи

Дыхательная цепь — это своеобразный конвейер по переносу протонов и электронов от восстановленного НАД ($\text{НАД} \cdot \text{H} + \text{H}^+$), образующегося при действии на субстрат НАД-зависимых дегидрогеназ, или от восстановленного ФАД ($\text{ФАД} \cdot \text{H}_2$), образующегося при действии на субстрат флавинозависимых дегидрогеназ, к кислороду. Дыхательная цепь состоит из следующих переносчиков протонов и электронов: флавопротеида-1 (ФП), содержащего в качестве кофермента ФМН, кофермента Q (или убихинона), двух железосерных белков, содержащих негеминное железо, и цитохромов *b*, *c*₁, *c*₂, *a*, *a*₃ (рис. 36).

Водород в составе НАД · Н подключается к флавопротеиду, где его первым акцептором является ФМН флавопротеида, а водород в составе ФАД · Н₂ подключается на том участке дыхательной цепи, где находится КоQ. Участок дыхательной цепи от НАД · Н до цитохрома *b* представлен переносчиками протонов и электронов. Начиная с цитохрома *b* и до кислорода потоки водорода и электронов разделяются, так как этот участок дыхательной цепи содержит только переносчики электронов (цитохромы и особый железосерный белок).

Организация компонентов дыхательной цепи в митохондриях. Дыхательная цепь имеет структурную организацию, так как ее компоненты находятся не в водорастворимом состоянии, а встроены во внутреннюю мембрану митохондрий. Количество дыхательных цепей в митохондриях разных тканей и органов неодинаково. В печени их число, приходящееся на одну митохондрию, составляет примерно 5000, а в сердце — около 20 000. Митохондрии сердца поэтому отличаются более активным дыханием, чем митохондрии печени.

Переносчики дыхательной цепи находятся в липидном окружении («плавают» в липидном слое мембраны) и прочно связаны с мембраной, за исключением цитохрома *c*, который слабее связан с внешней поверхностью мембраны и относительно легко извлекается водными растворами.

Флавопротеид (ФП) является НАД · Н-дегидрогеназой. Этот сложный

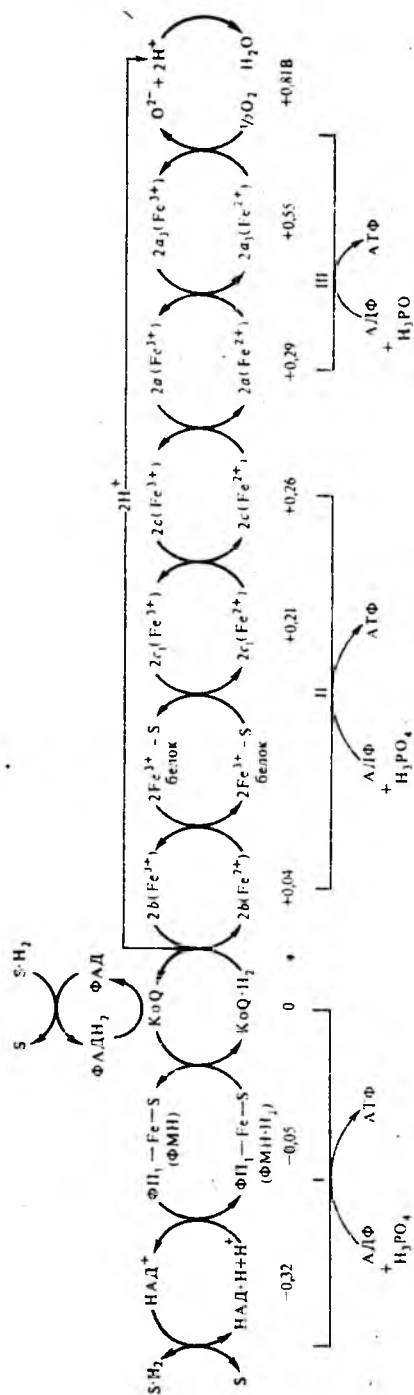


Рис. 36. Схема дыхательной цепи

белок содержит ФМН — акцептор протонов и электронов от НАД · Н. С ним же связан один из железосерных белков, также участвующий в переносе протонов и электронов на КоQ. Активный центр НАД · Н-дегидрогеназы находится на внутренней стороне внутренней мембраны, поэтому дегидрирование НАД · Н происходит с этой стороны.

Характеристика переносчиков дыхательной цепи. НАД · Н-дегидрогеназа, или флавопротеид-1 (ФП₁), содержит ФМН в качестве кофермента, который акцептирует водород, отщепляемый от НАД · Н. Молекулярная масса НАД · Н-дегидрогеназы около 10⁶. Этот флавиновый фермент тесно связан с железосерным белком, участвующим в передаче электронов и протонов на кофермент Q.

НАД · Н-дегидрогеназа пересекает поперек внутреннюю мембрану митохондрий, находясь в окружении липидов. Активный центр ее обращен к внутренней поверхности этой мембраны, т. е. к матриксу.

Железосерные белки участвуют в переносе электронов и протонов в дыхательной цепи на двух участках — между флавопротеидом и КоQ и между цитохромами *b* и *c*₁. Железосерные белки имеют небольшую молекулярную массу порядка 10 000. Они содержат негеминное железо и серу. Семейство этих белков отличается разными окислительными свойствами. Оба железосерных белка, входящих в дыхательную цепь, отличаются друг от друга значением окислительно-восстановительного потенциала. Железосерные белки находятся в липидном слое мембраны.

Кофермент Q, или **убихинон**, растворен в липидной части мембраны. Может диффундировать как поперек, так и вдоль мембраны.

Цитохром *b* имеет различные формы. В дыхательной цепи, очевидно,

имеются цитохромы b_{562} и b_{566} , называемые так по максимуму поглощения света. Они образуют комплекс, пересекающий липидную часть мембраны от внутренней (матричной) к наружной поверхности.

Цитохром c_1 расположен в липидном слое ближе к наружной поверхности внутренней мембраны. Имеет молекулярную массу около 40 000.

Цитохром c относительно легко переходит в водный раствор. Находится на наружной поверхности внутренней мембраны и, очевидно, может выходить в межмембранное пространство. Молекулярная масса его 12 000.

Цитохромы a и a_3 образуют комплекс, называемый цитохромоксидазой. Этот комплекс пересекает мембрану поперек от внешней стороны, где в липидном слое находится цитохром a , до внутренней стороны, где находится цитохром a_3 . Активный центр цитохрома a_3 обращен в матрикс. Молекулярная масса цитохромоксидазы около 450 000. В отличие от других цитохромов цитохромоксидаза содержит также Cu^+ .

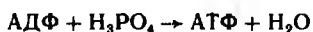
Все цитохромы, будучи гемпротеидами, при переносе электронов подвергаются обратимому окислению — восстановлению путем белок-белковых взаимодействий. При обратимом окислении меняется степень окисления от железа Fe^{3+} до Fe^{2+} .

Направление переноса протонов и электронов определяют окислительно-восстановительные потенциалы, а именно: от НАД $\cdot \text{H}_2$ ($E_0 = -0,32$ В) к кислороду ($E_0 = +0,81$ В). Редокс-потенциалы переносчиков дыхательной цепи указаны на рис. 36.

По существу тканевое дыхание напоминает в упрощенном виде уравнение реакции горения водорода в кислороде: $\text{H}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$, протекающей со взрывом. Разница лишь в том, что при тканевом дыхании используется не молекулярный водород, а водород, отщепляемый от органических веществ и связанный с коферментами. Поэтому при тканевом дыхании происходит не одномоментное, а поэтапное освобождение энергии. Эта энергия аккумулируется в фосфатных связях АТФ и используется для жизнедеятельности клеток.

Окислительное фосфорилирование

В 1931 г. советский биохимик В. А. Энгельгардт сделал сообщение, что эритроциты голубя, которые в отличие от безъядерных эритроцитов человека имеют митохондрии, одновременно с поглощением кислорода (по которому измерялась интенсивность дыхания) используют неорганический фосфат с образованием фосфорных эфиров. Эти опыты знаменовали открытие *окислительного фосфорилирования*, т. е. сопряжения дыхания с фосфорилированием. В 1939 г. советскими учеными В. А. Белицер и Е. Т. Цыбаковой было введено соотношение Р/О как показатель сопряжения дыхания и фосфорилирования. Этот показатель был назван *коэффициентом фосфорилирования*. Окислительное фосфорилирование есть не что иное, как механизм образования энергии при переносе электронов и протонов от субстрата к кислороду. В. А. Белицер (1940) показал, что при поглощении одного атома кислорода (или при переносе пары электронов от субстрата на кислород) поглощается не один атом неорганического фосфата, а примерно три, т. е. коэффициент Р/О, или $\text{P}/2e^-$, равен примерно 3. Иначе говоря, в дыхательной цепи имеется как минимум три пункта сопряжения или фосфорилирования, где неорганический фосфат участвует в образовании АТФ по уравнению



Эти работы стимулировали поиск пунктов сопряжения в дыхательной цепи, которые позже были выявлены работами Чанса, Рэкера, Ленинджера. В современном понимании окислительным фосфорилированием называется процесс образования АТФ при переносе электронов и протонов по дыхательной цепи.

Выход энергии в дыхательной цепи. Зная редокс-потенциалы любых окислительно-восстановительных пар, можно рассчитать изменения свободной энергии при переносе электронов от одной пары к другой по уравнению: $\Delta G = nF\Delta E$, где n — число переносимых электронов (в дыхательной цепи число переносимых электронов равно 2); F — постоянная Фарадея (тепловой эквивалент работы, равный 95 кДж); ΔE — разность редокс-потенциалов для двух реагирующих окислительно-восстановительных пар.

По приведенному уравнению нетрудно подсчитать, что для образования одной макроэргической связи АТФ, затраты на которую составляют не менее 40 кДж/моль, требуется перепад редокс-потенциалов, между участками дыхательной цепи примерно в 0,22 В на пару перенесенных электронов:

$$\Delta E = \frac{\Delta G}{nF} + \frac{40}{2 \cdot 95} = 0,22\text{В.}$$

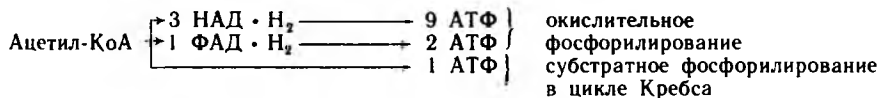
Локализация пунктов фосфорилирования в дыхательной цепи. В дыхательной цепи имеются три пункта сопряжения дыхания и фосфорилирования: I — между флавопротеидом, и КоQ; II — между цитохромами b и c и III — между цитохромами a и a_3 (см. рис. 36).

Значит, субстраты, окисляющиеся НАД-зависимыми дегидрогеназами, являются энергетически более ценными, чем окисляющиеся флавинозависимыми дегидрогеназами, поскольку протоны и электроны, переносимые от НАД·Н₂ к кислороду, проходят три пункта фосфорилирования (коэффициент Р/О=3), а протоны и электроны, поступающие на дыхательную цепь от ФАД·Н₂, — только два пункта фосфорилирования. В последнем случае пропускается одно фосфорилирование между флавопротеидом и КоQ. Отсюда легко подсчитать энергетическую ценность, эффективность окисления любого субстрата (как это показано в табл. 27 на примере некоторых субстратов).

Таблица 27. Образование АТФ на 1 моль окисляемых субстратов

Субстрат	Продукты окисления субстрата	Коэффициент Р/О	Число молекул АТФ на 1 моль окисленного субстрата
Малат	НАД · Н + Н ⁺	3	3
Сукцинат	ФАД · Н ₂	2	2
Изоцитрат	НАД · Н + Н ⁺	3	3
2-Оксоглутарат	(НАД · Н + Н ⁺) (Сукцинил-КоА)	4 (три фосфорилирования при окислении НАД · Н ₂ и одно на уровне субстрата)	4

Расчеты показывают, что при расщеплении ацетил-КоА до CO_2 и H_2O образуется 12 молекул АТФ:



Механизм сопряжения дыхания и фосфорилирования в митохондриях

Среди множества гипотез, пытавшихся объяснить механизм сопряжения окисления и фосфорилирования, заслуживают внимания химическая, механохимическая и хемиосмотическая.

Химическая гипотеза объясняла образование АТФ в ходе окислительных реакций в дыхательной цепи подобно тому, как это имеет место при субстратном фосфорилировании (при брожении и в цикле Кребса). По этой гипотезе энергия переноса электронов первоначально аккумулируется в виде нефосфорилированного богатого энергией интермедиата типа $\text{X} \sim \text{Y}$. Затем происходит фосфоролитическое расщепление этого интермедиата с образованием $\text{X} \sim \text{PO}_3\text{H}_2$ и, наконец, перенос фосфатной группы на АДФ, т. е. синтез АТФ. Эта гипотеза не могла объяснить многих фактов. В частности, почему без мембраны, т. е. в водной среде, перенос электронов по дыхательной цепи не сопровождается фосфорилированием. Не были обнаружены и гипотетические интермедиаты, богатые энергией.

Механохимическая, или конформационная, гипотеза объясняла механизм сопряжения переходом конформационной энергии от дыхательного переносчика, принимающего при переносе электронов напряженную конформацию («сокращение»), к особому белку АТФ-синтетазе, расслабление которого ведет к образованию АТФ. Такие циклы «сокращение — расслабление» в механизме окислительного фосфорилирования напоминают работу мышцы. Поиск сократительных элементов, трансформирующих энергию в митохондриях, также не увенчался успехом.

Химическая и конформационная гипотезы сейчас имеют лишь исторический интерес. Принципиально новый механизм сопряжения дыхания и фосфорилирования был разработан английским биохимиком Митчелом (1961), гипотеза которого получила название *хемиосмотической* или *протондвижущей*.

По мнению Митчела, энергия переноса электронов и протонов вдоль дыхательной цепи первоначально сосредоточивается в виде *протонного потенциала*, или *электрохимического градиента ионов H^+* , создающегося движением через мембрану заряженных протонов. Диффузия протонов обратно через мембрану сопряжена с фосфорилированием, которое осуществляется H^+ -АТФ-синтетазой. Дыхание совершает осмотическую работу (концентрирует протоны во внешней среде митохондрий) и электрическую (создает разность электрических потенциалов), которая используется АТФ-синтетазой на химическую работу, т. е. синтез АТФ. Сочетание этих двух функций дыхания и фосфорилирования дало основание назвать гипотезу хемиосмотической или протондвижущей, поскольку движущей силой фосфорилирования является протонный потенциал.

Протонный потенциал, или электрохимический градиент ионов H^+ , обозначается $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ (дельта мю H^+) и состоит, как уже было сказано, из двух компонентов: осмотического — разности концентраций ионов H^+ , и электрического — разности электрических потенциалов. Разность концентраций ионов H^+ , измеряемая в единицах рН, обозначается ΔpH . Разность электри-

ческих потенциалов обозначается символом $\Delta\psi$ (дельта пси). Следовательно,

$$\Delta\mu_{H^+} = \Delta\psi + \Delta pH.$$

Синтез одной молекулы АТФ из АДФ и фосфата сопровождается проникновением двух протонов из внешней среды внутрь митохондрий. Разность концентраций ионов H^+ выравнивается, и происходит разрядка мембраны (исчезает электрический потенциал).

Хемиосмотическая схема Митчела не требует каких-либо высокоэнергетических посредников между дыханием и фосфорилированием. Общим продуктом для двух процессов является протонный потенциал $\Delta\mu_{H^+}$. Нарушение структурной целостности мембраны или повышение ее проницаемости для протонов делает невозможным образование протонного потенциала, что вызывает разобщение между дыханием и фосфорилированием.

Механизм образования протонного потенциала ($\Delta\mu_{H^+}$) в дыхательной цепи митохондрий. Перенос протонов и электронов от НАД \cdot Н₂ (или ФАД \cdot Н₂) к кислороду должен, согласно хемиосмотической концепции, сопровождаться образованием протонного потенциала. Расчеты показывают, что дыхательная цепь митохондрий создает протонный потенциал в 0,25 В (из которого примерно 0,2 — 0,22 В падает на $\Delta\psi$ и 0,03 — 0,05 В на ΔpH). Этого вполне достаточно для образования одной молекулы АТФ при условии, что для ее синтеза требуется перенос двух протонов из внешней среды внутрь митохондрий. Следовательно, перенос каждой пары электронов от НАД \cdot Н₂ к кислороду при дыхании должен повлечь за собой переход на внешнюю сторону митохондриальной мембраны не менее трех пар протонов, а при окислении ФАД \cdot Н₂ кислородом — не менее двух пар протонов, т. е. по два протона на каждое звено сопряжения.

Разделение водорода на протоны и электроны напоминает работу переправы с помощью двух разных типов транспортных средств. С помощью одного вида транспорта перевозятся оба груза (т. е. протоны и электроны), а обратно возвращается другим видом транспорта только один из грузов (электроны). В результате на разных сторонах переправы скапливаются разные грузы (на одной протоны, на другой электроны). Поэтому в дыхательной цепи переносчики водорода чередуются с переносчиками только электронов. В трех местах дыхательной цепи переправляется водород с внутренней стороны мембраны на внешнюю, где остается каждый раз по паре протонов, и возвращается пара электронов обратно к внутренней стороне. Следовательно, дыхательная цепь имеет три обратные электронные петли (рис. 37).

Первый перекрест наблюдается на участке от НАД \cdot Н₂ до КоQ. На внутренней поверхности мембраны окисление НАД \cdot Н₂ с участием флавинзависимой дегидрогеназы (ФП₁) приводит к образованию ФМН \cdot Н₂, который переносит водород на внешнюю сторону мембраны. Здесь высвобождается первая пара протонов, а два электрона от ФМН \cdot Н₂ пересекают мембрану в обратном направлении (к внутренней стороне), как бы образуя первую электронную петлю. Эти два электрона транспортируются через железосерный белок-1 (FeS-ПП₁) и один из цитохромов *b* (*b*₅₆₂) к КоQ. Восстановление КоQ сопровождается последовательным связыванием двух протонов из матрикса и образованием КоQ \cdot Н₂.

Второй перекрест происходит на участке от КоQ \cdot Н₂ до цитохро-

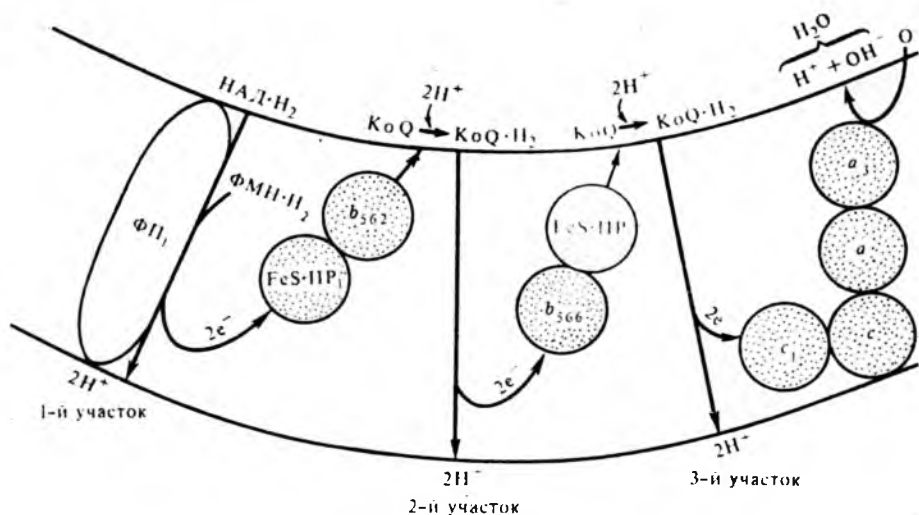


Рис. 37. Схема образования протонного потенциала в ходе дыхания (показаны предполагаемые участки перекреста мембраны)

ма c_1 . Транспорт водорода на внешнюю сторону мембраны и окисление $\text{CoQ} \cdot \text{H}_2$ на этом участке осуществляется в ходе так называемого Q-цикла, детали которого еще не ясны. Водород в составе $\text{CoQ} \cdot \text{H}_2$ переносится с внутренней стороны на внешнюю с помощью специальных Q-белков. На внешней поверхности окисление $\text{CoQ} \cdot \text{H}_2$ сопровождается переходом второй пары протонов в среду и возвращением (вторая электронная петля) двух электронов через цитохром b_{566} и железосерный белок-2 (FeS-PP_2) к другой молекуле CoQ , которая при восстановлении захватывает еще два протона из матрикса.

Третий перекрест начинается, когда $\text{CoQ} \cdot \text{H}_2$ вновь переносит водород наружу, где окисляется, освобождая третью пару протонов. Два электрона от $\text{CoQ} \cdot \text{H}_2$ через цитохромы c_1 и c передаются с внешней стороны на цитохромы a и a_3 (цитохромоксидазу), которые расположены поперек мембраны, — третья электронная петля.

Цитохромоксидаза — единственный из переносчиков дыхательной цепи, связывающий O_2 . На цитохроме a_3 , обращенном к матриксу, происходит восстановление кислорода по уравнению



Ионы H^+ для образования гидроксильных ионов и молекулы воды берутся из матрикса митохондрий.

Окисление $\text{НАД} \cdot \text{H}_2$, начавшись на внутренней поверхности, заканчивается после трехкратного пересечения мембраны протонами и электронами восстановлением кислорода и образованием воды тоже на внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрий. Источником шести H^+ , освобождающихся снаружи митохондрий, служат два H^+ от субстратов окисления (находящихся в составе $\text{НАД} \cdot \text{H}_2$) и четыре H^+ из среды матрикса. Источниками электронов, использующимися для восстановления кислорода, являются

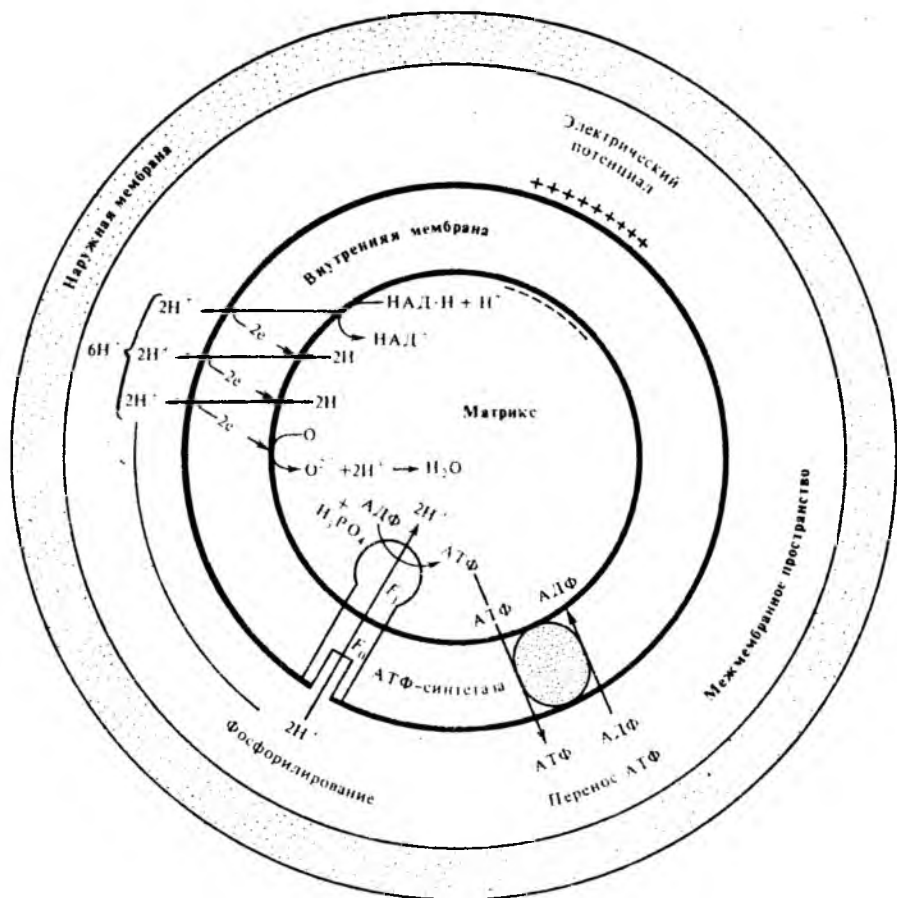


Рис. 38. Схема окислительного фосфорилирования в митохондриях

только НАД · Н₂ или ФАД · Н₂, образующиеся при дегидрировании субстратов.

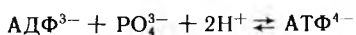
Соотношение протоны/электроны при дыхании равно $2H^+/e^-$, т. е. на два освобождающихся протона в среду переносится один электрон. В последнее время получены данные, что это соотношение, возможно, выше, например $4H^+/e^-$. В частности, выявлено необычное свойство цитохромоксидазы не только восстанавливать кислород, но и «откачивать» во внешнюю среду протоны (цитохромоксидазный генератор протонов). Возникающий протонный потенциал используется в процессе фосфорилирования.

Механизм фосфорилирования. Синтез АТФ, сопряженный с обратной диффузией протонов через мембрану, осуществляется H^+ -АТФ-синтетазой (рис. 38). Внешне она имеет грибовидную форму и состоит из двух структурных частей. «Ножка гриба» в виде белкового цилиндра пронизывает всю толщину внутренней мембраны митохондрий. Один торец цилиндра сообщается с

внешней средой, а второй на границе внутренней поверхности мембраны прикреплен к шаровидной головке. Эти головки выступают в матрикс митохондрий. Цилиндрическая часть обозначается «F₀», а шаровидная («грибовидные выросты») — «F₁». Значит, H⁺-АТФ-синтетазу можно представить как «F₀+F₁». Многочисленные «грибовидные выросты», которыми усеяна внутренняя мембрана на электронограммах митохондрий, являются F₁-субчастицами АТФ-синтетазы.

Строение, свойства и функция этих двух частей фермента совершенно разные. Общая масса F₀+F₁ примерно 500 тыс. дальтон, из них на F₁ приходится около 340 тыс., а на F₀ — остальная масса. F₀ — сильно гидрофобный белок, состоящий из четырех полипептидных цепей. F₁ состоит из десяти полипептидных цепей пяти разных типов (по две каждого типа). Они обозначаются как α, β, γ и δ. Соединяется F₁ с F₀ через δ-цепи. F₀ выполняет функцию канала в мембране, через который просачиваются протоны, а F₁ — фосфорилирующую функцию. Если «срезать» головки (F₁), то прекращается синтез АТФ из АДФ и фосфата и через канал легко проходят протоны по градиенту. Добавление F₁ «запечатывает» протонный канал и восстанавливает способность к синтезу АТФ, сопряженному с дыханием. Следовательно, через F₀ доставляются протоны к активному центру F₁, где происходит синтез АТФ.

В каталитическом центре фермента электрическое поле, создаваемое дыханием, смещает равновесие системы



в сторону синтеза АТФ. Синтезированная АТФ переходит в матрикс. Перенос АТФ наружу осуществляется специальным транспортным белком мембраны митохондрий, который обменивает АТФ на внешний АДФ, нужный для фосфорилирования (см. рис. 38).

Катализируя обратную реакцию, H⁺-АТФ-синтетаза работает как H⁺-АТФаза (протонная аденозинтрифосфатаза), откачивая протоны из внутреннего пространства наружу за счет энергии гидролиза АТФ. АТФазный генератор протонного потенциала может работать до тех пор, пока значение потенциала не уравнивается со значением энергии, освобождаемой при гидролизе АТФ. В естественных условиях, когда роль генератора протонного потенциала выполняет дыхание, АТФ-синтетазе труднее работать против электрического поля, расщепляя АТФ, чем синтезировать АТФ, используя энергию протонного потенциала. Наблюдается дыхательное фосфорилирование. Торможение дыхания вынуждает АТФ-синтетазу растратчивать энергию АТФ на откачивание протонов из внутреннего отсека наружу. Возможно и обращение окислительно-восстановительных реакций (потока электронов и протонов) в дыхательной цепи за счет энергии протонного потенциала. В этом случае происходит восстановление переносчиков дыхательной цепи.

Все известные биологические трансформаторы энергии: внутренняя мембрана митохондрий, мембрана тилактоидов хлоропластов растений, хроматофоров фотосинтезирующих бактерий и клеточная мембрана аэробных бактерий — работают по типу протонного цикла. Их работа напоминает работу молекулярных электростанций, источником энергии для которых служат органические субстраты или кванты света.

Нефосфорилирующее окисление в дыхательной цепи как механизм образования теплоты в митохондриях

В митохондриях не всегда дыхание сопряжено с фосфорилированием. Такой путь окисления субстратов в дыхательной цепи был назван Ленинджером *нефосфорилирующим* или *свободным окислением*. При нефосфорилирующем окислении дыхание отключено от фосфорилирования и дыхательная цепь работает как бы на «холостом» ходу, так как вся энергия окисляемых веществ превращается в теплоту, не используемую для выполнения клеточных функций. Митохондрии, в которых идет нефосфорилирующее окисление, становятся своеобразной клеточной «печкой», производящей теплоту. Это необходимо в тех ситуациях, когда потребность в теплоте для тканей организма больше, чем в АТФ. Например, для поддержания температуры тела при охлаждении теплокровных организмов.

Теплообразующая функция митохондрий была впервые продемонстрирована В. П. Скулачевым в экспериментах на голубях, подвергавшихся многократному охлаждению при минусовой температуре. Холод у них вызывал разобщение дыхания и фосфорилирования в митохондриях мышечной ткани. Избыточное образование теплоты в митохондриях препятствовало замерзанию организма. Впоследствии терморегулирующая функция мышечных митохондрий была обнаружена у морских котиков при естественных колебаниях температуры окружающей среды.

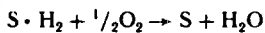
Для мышечных митохондрий производство теплоты — не основная функция. В организме имеется ткань — бурый жир, митохондрии которого специализированы на выработке теплоты. Бурого жира много у новорожденных; с возрастом у человека его количество убывает. Особенно много бурого жира у зимоспящих животных, чутко реагирующих на температуру окружающей среды. Необычная для жира коричневатая окраска его объясняется большим содержанием митохондрий. Эти митохондрии отличаются от остальных тем, что в них примерно в 10 раз больше ферментов дыхания, чем фосфорилирования, т. е. они в меньшей степени настроены на производство АТФ, чем на свободное дыхание. Разобщение дыхания и фосфорилирования в митохондриях бурого жира ведет к образованию большого количества теплоты, согревающей протекающую кровь.

Разобщителями в митохондриях мышц, бурого жира и других тканей являются свободные жирные кислоты, которые повышают проницаемость мембран для протонов и тем самым способствуют переходу энергии протонного потенциала в теплоту. В буром жире легче создается высокая концентрация свободных жирных кислот, чем в других тканях (где триацилглицеринов сосредоточено значительно меньше), что вызывает более сильное разобщение дыхания и фосфорилирования в митохондриях бурого жира и образование в них теплоты.

4. Пути потребления кислорода в реакциях биологического окисления

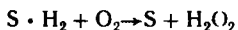
Кислород, поступающий в клетки организма человека, расходуется не только на окисление субстратов в дыхательной цепи митохондрий, но и в других биологических реакциях. Все многообразие реакций, идущих с потреблением кислорода, можно свести к четырем основным типам.

Первый тип можно назвать *оксидазным*. Схематически его можно записать:



Продуктами реакции данного типа являются окисленный субстрат S и вода. Эти реакции локализованы во внутренней мембране митохондрий (дыхательная цепь), и кислород в них расходуется в конечном счете на образование энергии. Активатором молекулярного кислорода выступает цитохромоксидаза.

Второй тип реакций — *пероксидазный*, протекает по схеме



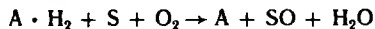
Продуктами реакции являются окисленный субстрат и пероксид водорода. Этот тип реакции катализируется главным образом аутооксидабельными (самоокисляющимися) флавопротеидами. Водород, отнимаемый от субстрата в этих реакциях, сначала принимается флавиновыми коферментами данного фермента, а затем на поверхности этого же фермента происходит окисление молекулярного кислорода с образованием H_2O_2 . Однако некоторые ферменты, использующие кислород на образование H_2O_2 , не являются флавиновыми, а содержат ионы металлов.

Реакции этого типа более широко распространены в растительных клетках, чем в клетках животных и человека.

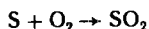
Наибольшее количество пероксидобразующих ферментов сосредоточено в специальных органоидах клетки — пероксисомах, где образуется до 80% всего пероксида водорода клетки. Такими ферментами в пероксисомах являются *оксидазы D- и L-аминокислот, полиаминоксидаза, оксидаза L-α-аминокислот*.

Кислород в реакциях второго типа используется на окисление ряда природных соединений (аминокислот, полиаминов, оксикислот, сульфитов, пуринов, альдегидов, биогенных аминов и т. д.). К своеобразным «издержкам» этого пути окислительного распада веществ относится образование токсического для клеток организма пероксида водорода. Однако у этого пути потребления кислорода есть и другая биологическая функция. В лейкоцитах (нейтрофилах, лимфоцитах, моноцитах), гистиоцитах и других клетках, способных к фагоцитозу, т. е. поглощению микроорганизмов и инородных тел, такой путь синтеза H_2O_2 очень активен, а образующийся пероксид используется для обезвреживания болезнетворных бактерий и распада неинфекционного материала, поглощенного клетками.

Третий тип реакций — *оксигеназный*. Эти реакции катализируются *монооксигеназами* по схеме



(где $A \cdot H_2$ — донор водорода; S — окисляемый субстрат) или диоксигеназами по схеме

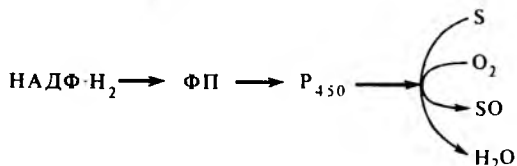


Монооксигеназный механизм реакций предусматривает включение одного атома кислорода в окисляемый субстрат, а другого — в молекулу воды. Диоксигеназный приводит к внедрению обоих атомов молекулярного кислорода в окисляемое вещество.

Монооксигеназы существуют или в виде растворимых ферментов, находя-

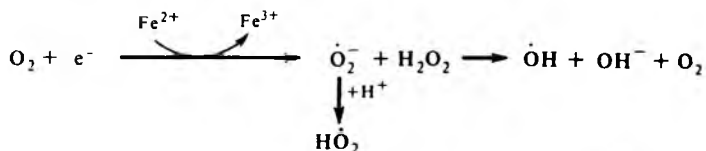
щихся в клеточном соке, или в виде специальных цепей окисления, расположенных в мембранах эндоплазматического ретикулаума печеночных клеток, митохондрий клеток коры надпочечников и т. д. К растворимым монооксигеназам относятся *медьсодержащие монооксигеназы*, например *дофамин-β-монооксигеназа*, участвующая в окислении промежуточных продуктов синтеза норадреналина и адреналина в хромаффинной ткани; *тирозиназа*, принимающая участие в окислительном образовании пигмента меланина из тирозина в коже, радужке и сетчатке глаза.

Монооксигеназные цепи окисления представляют собой короткие цепи переноса электронов и протонов, источником которых служит преимущественно НАДФ · Н₂ (реже НАД · Н₂), а активатором О₂ — специальный тип цитохрома — цитохром Р₄₅₀ (S — окисляемое вещество):



Монооксигеназные цепи используются для окисления природных органических веществ в ходе синтеза желчных кислот, стероидных гормонов из холестерина, а также для обезвреживания лекарств и ядов.

Четвертый тип реакций — *пероксидное окисление ненасыщенных жирных кислот*, протекающее по схеме $\text{RH} + \text{O}_2 \rightarrow \text{ROOH}$. Продуктами пероксидного окисления ненасыщенных липидов служат гидропероксиды липидов, спирты, альдегиды, кетоны, малоновый диальдегид и другие диальдегиды, эпоксиды. Эти реакции потребления кислорода протекают в мембранах митохондрий, эндоплазматического ретикулаума, лизосом и т. д., т. е. там, где имеются ненасыщенные липиды (главным образом фосфолипиды). Очевидно, что физиологическая роль реакций этого типа состоит в регуляции обновления и проницаемости липидов биологических мембран. Активатором пероксидного окисления липидов служат свободнорадикальные формы кислорода, образующиеся при одноэлектронном восстановлении его по схеме



Кислородные радикалы: $\overset{\cdot}{\text{O}}_2^-$ — супероксидный; $\overset{\cdot}{\text{O}}\text{H}$ — гидроксильный; HO_2^{\cdot} — пероксидный — очень реакционноспособные молекулы, которые спонтанно ускоряют цепные реакции пероксидного окисления ненасыщенных липидов и реагируют с различными биомолекулами (белки, нуклеиновые кислоты и многие другие), вызывая нарушение их функции. Если создаются условия для образования свободных радикалов кислорода, то самоускоряющийся процесс пероксидного окисления может полностью разрушить ненасыщенные липиды биомембран, что вызывает неминуемую гибель клеток. Однако в фагоцитирующих клетках для уничтожения поглощенных микробов и неинфекционного материала используется наряду с H_2O_2 *супероксидный радикал*.

Схему основных путей потребления кислорода в клетках можно выразить следующим образом:

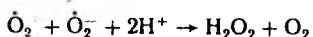
	Продукты	Функция
O ₂	(1) — H ₂ O	Энергетическая
	(2) — H ₂ O ₂	Окислительное превращение ряда водорастворимых веществ
	(3) — ROH + H ₂ O	Окислительное превращение главным образом липофильных соединений
	(4) — ROOH	Обновление и распад ненасыщенных структурных липидов

Поступление кислорода по каждому из этих путей неравноценно и зависит от ряда обстоятельств. Подавляющая часть клеточного фонда кислорода, от 80 до 90%, используется по первому пути в митохондриях, где функционирует система окислительного фосфорилирования. Большая доля оставшегося кислорода расходуется по монооксигеназному пути (третий путь на схеме), причем главным образом в окислительных цепях эндоплазматической сети клеток печени и других органов и в митохондриях клеток коры надпочечников.

Основной продукт реакций биологического окисления, использующих кислород, — вода. Однако в ходе этих процессов образуются также пероксид водорода, кислородные радикалы и пероксиды липидов, которые в повышенных концентрациях токсичны для клеток организма. Поэтому имеются системы обезвреживания этих продуктов биологического окисления.

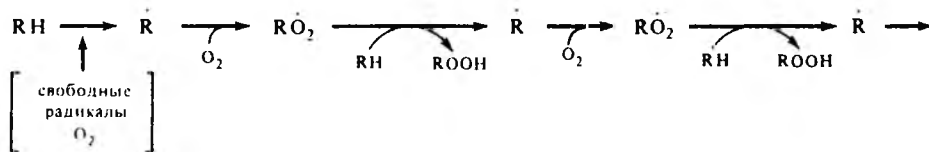
Регуляторы свободнорадикального окисления в клетках

Для сдерживания процессов свободнорадикального окисления в клетке существуют защитные механизмы. Инактивация радикалов кислорода, которые могут возникнуть в ходе биологических реакций переноса электронов или под влиянием внешних воздействий (ионизирующее, ультрафиолетовое излучение, ультразвук и т. д.), осуществляется с помощью фермента супероксиддисмутазы, имеющегося у всех аэробных организмов и защищающего их от токсического действия кислорода. Супероксиддисмутаза осуществляет реакцию диспропорционирования свободных радикалов кислорода, которая спонтанно протекает относительно медленно по схеме



Издержками этого ферментативного процесса является образование токсичного пероксида водорода. Активна супероксиддисмутаза в фагоцитирующих клетках, чтобы в них образование супероксидных радикалов для осуществления биологических функций не превысило порог безопасности.

Регуляция пероксидного окисления липидов не менее важна, чем инактивация свободных радикалов кислорода. Схема цепной реакции пероксидного окисления липидов имеет вид



С возрастом накопление пероксидов липидов ускоряет старение организма. Пероксиды липидов задерживают деление клеток и тем самым снижают процессы заживления поврежденных тканей.

Внешние факторы (ионизирующее и ультрафиолетовое излучение, металлы с переменной валентностью и т. д.) вызывают образование радикалов жирной кислоты (R) и пероксидного радикала (RO₂) и нарушение функции мембран. Вещества, активизирующие пероксидное окисление, называются *прооксидантами*, а обрывающие этот процесс — антиоксидантами. Ниже приведены регуляторы пероксидного окисления липидов в клетках организма (по Ю. А. Владимирову и А. И. Арчакову).

Прооксиданты

1. Легко самоокисляющиеся соединения, образующие свободные радикалы — витамины А, Д, нафтохиноны
2. Восстановители — НАДФ · Н, липоевая кислота
3. Свободнорадикальные метаболиты, образующиеся действием других прооксидантов

Антилипопероксиданты Антиоксиданты

1. Истинные антиоксиданты токоферольного типа: α-токоферол, тироксин, стероидные гормоны, селен
2. SH-соединения
3. Антиоксиданты — комплексоны, связывающие железо

Инактиваторы гидропероксидов

1. Ферментативные системы
2. Вещества, восстанавливающие гидропероксиды

В настоящее время синтезированы высокоактивные антиоксиданты (например, дибунол), во много раз превышающие эффект классического антиоксиданта α-токоферола.

α-Токоферол, присутствующий в мембранах, является своеобразной химической системой защиты мембран от пероксидного окисления липидов. Ферментативный механизм, освобождающийся от избытка пероксидов в клетке, осуществляется с помощью *глутатионпероксидазы*. Схема реакции



Восстановленный глутатион (Г-SH) используется как восстановитель гидропероксидов липидов (ROOH) в этой реакции. Глутатионпероксидаза содержит в качестве кофактора селен. Возможно, с этим связано антиоксидантное действие селена.

Распад пероксида водорода в клетках

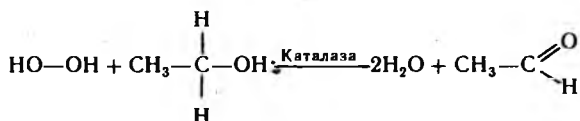
Обезвреживание H₂O₂ осуществляется с помощью двух гемсодержащих ферментов — каталазы и пероксидазы. Каталаза присутствует во всех клетках и тканях организма; особенно богаты ею печень, эритроциты, почки. Она

состоит из четырех субъединиц, каждая из которых связана с гемом. Каталаза — наиболее «скоростной» фермент. Одна молекула ее разлагает до 40 тыс. молекул H_2O_2 в 1 с. Пероксидаза в животных тканях — малоактивный фермент по сравнению с каталазой. Растительные клетки, напротив, богаты пероксидазой.

Реакции, катализируемые каталазой и пероксидазой, различны, но в то же время имеют общие черты:



В каталазной реакции субстратом и донором водорода служат молекулы пероксида водорода, а в пероксидазной донором водорода является органический субстрат ($\text{HO}-\text{S}-\text{OH}$). При низких концентрациях H_2O_2 в клетках и достаточном количестве других органических субстратов (что типично для физиологических условий) каталаза действует как пероксидаза. В частности в пероксисомах клеток, которые богаты каталазой, возможно окисление этанола, пропанола этим ферментом, т. е. каталаза действует как пероксидаза:



Возможно, что в животных тканях вообще отсутствует пероксидаза, подобная той, что имеется в растительных тканях, и обезвреживание H_2O_2 осуществляется только каталазой.

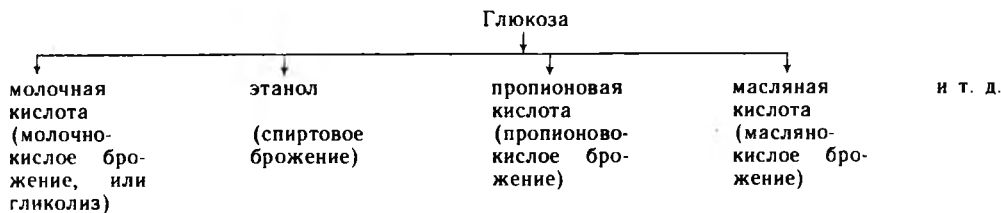
ГЛАВА 14. АНАЭРОБНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ ЭНЕРГИИ ИЗ УГЛЕВОДОВ

Образование энергии в клетках происходит не только в процессе окислительного фосфорилирования (аэробным путем), но в ходе распада питательных веществ без участия молекулярного кислорода. Такой бескислородный, или анаэробный, путь образования энергии называется *брожением*. Брожение — более древний и более примитивный способ извлечения энергии, чем аэробный. Он сформировался в примитивных организмах в те времена, когда атмосфера Земли не содержала кислорода. Постепенно доля его в энергетическом обеспечении организмов уменьшалась за счет развития более эффективного аэробного пути образования энергии. Образование энергии путем брожения используется организмами, способными существовать в анаэробных условиях.

К ним относятся *облигатные анаэробы* (клубридии, метанобразующие и денитрифицирующие бактерии, некоторые низшие беспозвоночные, обитающие глубоко в почве или иле); для них брожение — единственный источник энергии. *Факультативные анаэробы* (большинство бактерий, дрожжей, червей и т. д.) получают энергию за счет брожения в бескислородной среде; в присутствии молекулярного кислорода они расщепляют питательные вещества анаэробным путем, а продукты брожения окисляются в дыхательной цепи с участием кислорода.

У всех высших растений и животных, в том числе у человека, сохранилось брожение, которое играет как бы двойную роль. Оно является обязательной начальной стадией расщепления энергетических ресурсов, завершающейся аэробным окислением образовавшихся промежуточных продуктов, и вспомогательным путем производства энергии.

Главным источником получения энергии анаэробным путем в клетках служат гексозы, прежде всего D-глюкоза (некоторые микроорганизмы способны сбраживать пентозы, аминокислоты, жирные кислоты, извлекая при этом энергию). Имеются различные варианты брожения углеводов, отличающиеся друг от друга, главным образом, конечными продуктами:



1. Распад глюкозы (гликолиз)

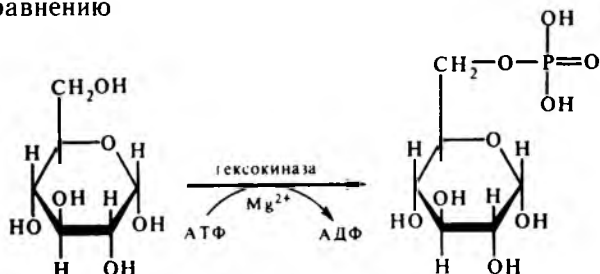
В клетках человека и других высших организмов (животных, растений) происходит молочнокислое брожение, которое обычно называют *гликолизом* (от греч. «гликис» — сладкий и «лизис» — распад, разложение). Следовательно, гликолиз — это анаэробный распад глюкозы до двух молекул молочной кислоты.

Отдельные стадии гликолиза катализируются 11 ферментами. Они образуют цепь функционально связанных ферментов (полиферментная функциональная система), в которой продукт реакции предшествующего фермента является субстратом для последующего. Ферменты гликолиза локализованы вне митохондрий, в клеточном соке, где находятся в растворенном виде или лабильно соединены с мембранами эндоплазматической сети.

Распад глюкозы до молочной кислоты — экзергонический процесс. Освобождающаяся при этом энергия аккумулируется в фосфатных связях АТФ. Ферментативные реакции гликолиза в основном были изучены до 1940 г. В выяснении последовательности этих реакций большую роль сыграли работы немецких биохимиков Эмбдена и Мейергофа и советского биохимика Я. О. Парнаса, поэтому гликолиз называется иногда путем Эмбдена—Мейергофа—Парнаса.

Отдельные реакции гликолиза

1. Фосфорилирование D-глюкозы. Это первая реакция, которая запускает гликолиз. В ходе этой реакции глюкоза превращается в глюкозо-6-фосфат по уравнению



Реакция катализируется ферментом *гексокиназой* и требует АТФ (донор фосфорильных групп) и ионов магния. Гексокиназная реакция практически необратима в физиологических условиях. Гексокиназа присутствует в клетках организма в виде четырех типов изоферментов (I, II, III и IV), которые обладают разной специфичностью к субстратам и скоростными возможностями. Гексокиназа IV (*глюкокиназа*) отличается высокой специфичностью к глюкозе (K_m для глюкозы равна $2 \cdot 10^{-2}$ М). Поэтому гексокиназа IV не превращает другие гексозы и работает при высоком содержании глюкозы. Этот фермент имеется только в клетках печени и включается в работу по фосфорилированию свободной глюкозы, когда в крови воротной вены большая концентрация глюкозы (например, при обильном всасывании ее из кишечника).

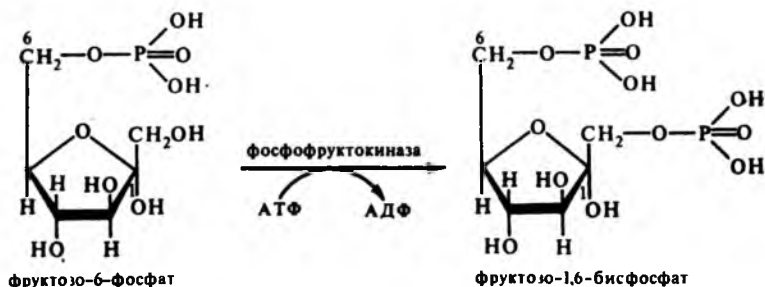
Остальные гексокиназы фосфорилируют не только глюкозу, но и другие гексозы (D-фруктозу, D-маннозу, D-глюкозамин). Поскольку K_m гексокиназы для глюкозы низка ($K_m = 10^{-5} - 10^{-6}$ М), то они фосфорилируют глюкозу и другие гексозы при обычных их концентрациях в клетках. Гексокиназа I особенно активна в почках, печени; гексокиназа II — в мышечной и жировой тканях, гексокиназа III — в печени, селезенке. Гексокиназы II и IV реагируют на действие гормонов (например, инсулина), что позволяет считать их приспособительными ферментами. Характерно, что в печени имеется весь набор изоферментов гексокиназы, что говорит о разнообразии возможностей печеночных клеток в «улавливании» глюкозы.

2. Изомеризация глюкозо-6-фосфата во фруктозо-6-фосфат. Эта реакция катализируется ферментом *глюкозофосфатизомеразой*. Она обратима и протекает по уравнению



Равновесие устанавливается при соотношении глюкозо-6-фосфат/фруктозо-6-фосфат — 70/30. Глюкозофосфатизомераза — очень специфичный фермент. Он действует только на глюкозо-6-фосфат (прямая реакция) и фруктозо-6-фосфат (обратная реакция).

3. Фосфорилирование фруктозо-6-фосфата с образованием фруктозо-1,6-бисфосфата. На эту реакцию гликолиза затрачивается еще одна молекула АТФ (для реакции необходимы ионы Mg^{2+}). Она катализируется ферментом *фосфофруктокиназой* по уравнению

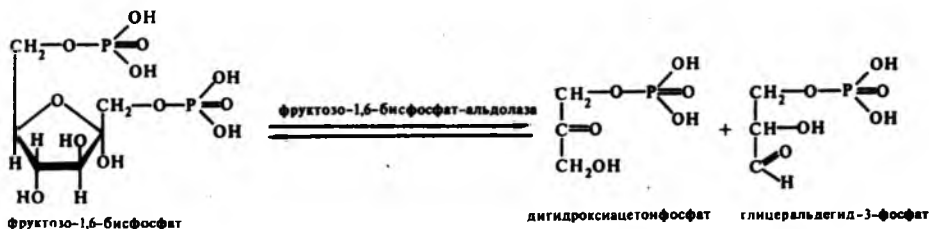


В реакции, катализируемой фосфофруктокиназой, происходит значительное падение свободной энергии, поэтому она практически необратима. Это вторая необратимая реакция гликолиза. Фосфофруктокиназа принадлежит к аллостерическим, или регуляторным, ферментам и имеет свойственную таким ферментам сложную четвертичную структуру (мол. масса 360 000).

Фосфофруктокиназа — «ключевой» фермент гликолиза, который не только лимитирует скорость всего процесса (из-за необратимости реакции), но и управляется различными изо- и аллостерическими регуляторами. Фермент активируется своим субстратом (фруктозо-6-фосфат) и продуктами реакции — фруктозо-1,6-бисфосфатом и АДФ, а также АМФ, F_n и цАМФ. Ингибируют фермент повышенные концентрации АТФ, т. е. свой субстрат, и цитрат. Интересно, что АМФ, присутствующий в клетке, облегчает связывание АТФ с активным центром фермента. Поэтому АТФ сначала используется как субстрат, а затем, связываясь с аллостерическим центром, прекращает фосфофруктокиназную реакцию.

4. Расщепление фруктозо-1,6-бисфосфата на глицеральдегид-3-фосфат и дигидроксиацетонфосфат. На следующем этапе фруктозо-1,6-бисфосфат расщепляется на две фосфотриозы, из-за чего раньше гликолиз называли дихотомическим путем превращения глюкозы.

Реакция катализируется ферментом *фруктозобисфосфат-альдозазой* по уравнению



Изменение свободной энергии этой реакции в физиологических условиях незначительно, поэтому она обратима.

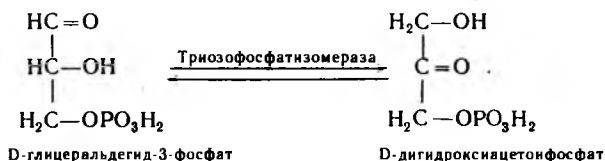
Альдолаза состоит из четырех субъединиц. Молекулярная масса фермента около 150 000. У человека и животных имеется три типа изоферментов альдолаз: мышечный (А), печеночный (В) и мозговой (С), которые отличаются по аминокислотному составу полипептидных цепей и свойствам. Каждый из трех типов альдолаз состоит из одинаковых типов субъединиц (например, А₄, В₄, С₄). Они встречаются преимущественно в тех органах, по которым получили свое название. Однако в печени, мозгу, мышцах встречаются гибридные изоферменты: АС₃, А₂С₂, А₂В₂, АВ₃ и др.

Кроме фруктозобисфосфат-альдолазы в клетках печени (но не в других органах) встречается другая специфическая альдолаза: фруктозо-1-фосфат-альдолаза. Она катализирует обратимую реакцию:



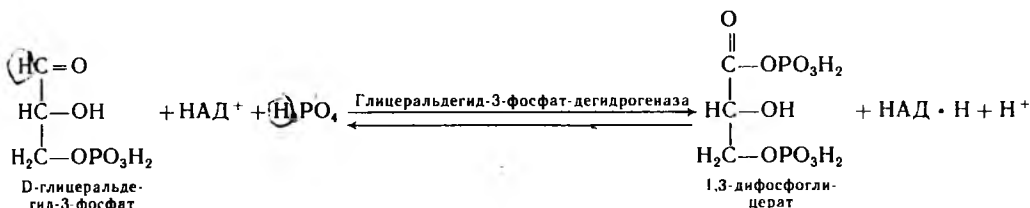
Этот фермент участвует в усвоении фруктозы.

5. Взаимопревращение триозофосфатов. Поскольку в дальнейших реакциях гликолиза используется только один из двух триозофосфатов — глицеральдегид-3-фосфат, то необходим фермент, осуществляющий превращение другого триозофосфата (дигидроксиацетонфосфата) в глицеральдегид-3-фосфат. Эту функцию в гликолизе выполняет *триозофосфатизомераза*, катализирующая реакцию



Реакция обратима, но равновесие в ней достигается, если доля дигидроксиацетонфосфата составляет 94% от суммы триозофосфатов. Чтобы сдвинуть равновесие в сторону глицеральдегид-3-фосфата, необходимо, чтобы он непрерывно расходовался. Эту функцию выполняет следующий фермент гликолиза.

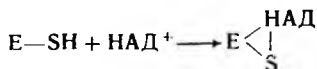
6. Окисление глицеральдегид-3-фосфата до 1,3-дифосфоглицерата. Эта реакция называется гликолитической оксидоредукцией и выполняет важную роль, так как в ней происходит не только окисление субстрата, но и образование богатого энергией продукта. Реакция катализируется *глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназой* по уравнению



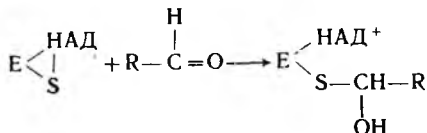
Реакция обратима, равновесие ее сдвинуто влево.

Глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа состоит из четырех одинаковых субъединиц (молекулярная масса фермента 140 000). В составе фермента имеется НАД. Важную роль в катализе играет SH-группа активного центра. Механизм действия этого фермента протекает в несколько стадий:

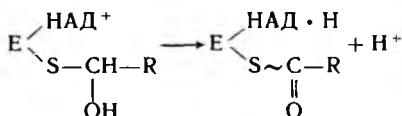
а) связывание НАД⁺ с активным центром фермента (E—SH)



б) связывание глицеральдегид-3-фосфата (R—CH=O) с SH-группой фермента



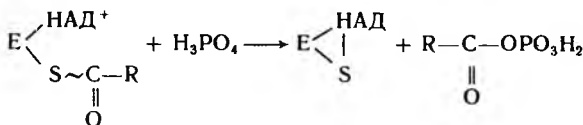
в) восстановление НАД за счет дегидрирования субстрата внутри активного центра фермента



г) восстановление внешнего НАД⁺



д) фосфорилиз фермент-субстратного комплекса с образованием 1,3-дифосфоглицерата



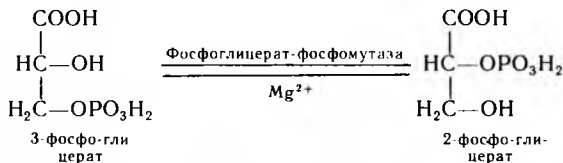
Продукты этой реакции НАД·Н₂ и 1,3-дифосфоглицерат блокируют фермент, поэтому необходимо в ходе реакции непрерывно их использовать.

7. Перенос фосфатной группы с 1,3-дифосфоглицерата на АДФ. 1,3-дифосфоглицерат — богатое энергией соединение, оно используется для образования АТФ (первое гликолитическое фосфорилирование) на уровне субстрата. Реакция катализируется *фосфоглицераткиназой* по уравнению



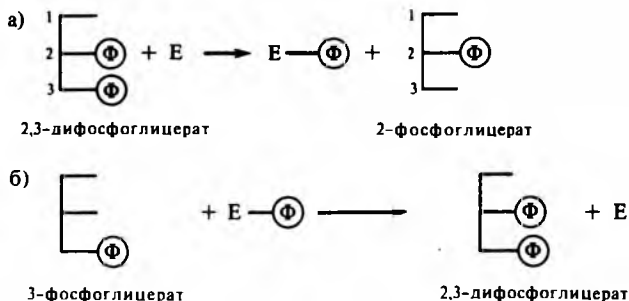
Реакция экзергоническая, сопровождается значительным падением свободной энергии, и поэтому равновесие ее сдвинуто вправо. Благодаря фосфоглицераткиназе быстро используется 1,3-дифосфоглицерат, что благоприятствует течению предыдущей реакции — окисления глицеральдегид-3-фосфата. При избытке продукта 3-фосфоглицерата фосфоглицераткиназная реакция обратима.

8. Изомеризация 3-фосфоглицерата в 2-фосфоглицерат. Эта реакция, при которой фосфатная группа из положения 3 переносится в положение 2, катализируется *фосфоглицерат-фосфомутазой*:

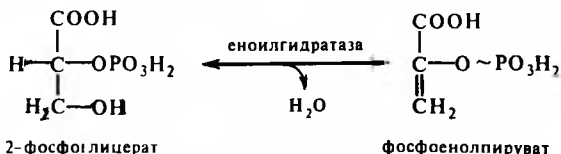


Реакция обратима, протекает с небольшим падением свободной энергии и требует ионов Mg^{2+} .

Кофактором этого фермента является 2,3-дифосфоглицерат, который сначала дефосфорилируется, превращаясь в 2-фосфоглицерат, а затем восполняется за счет фосфорилирования 3-фосфоглицерата:



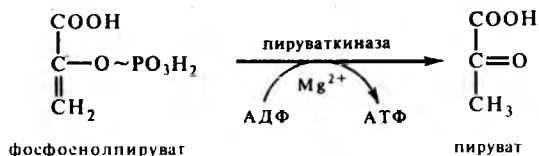
9. Дегидратация 2-фосфоглицерата с образованием фосфоенолпирувата. Эта реакция, в ходе которой образуется богатая энергией связь, катализируется *енолазой* (еноилгидратазой) по уравнению



Реакция протекает с небольшим изменением свободной энергии и потому обратима.

10. Перенос фосфатной группы с фосфоенолпирувата на АДФ (второе гликолитическое фосфорилирование). Высокоэнергетическое соединение — фосфоенолпируват используется на этой стадии для образования АТФ на уровне

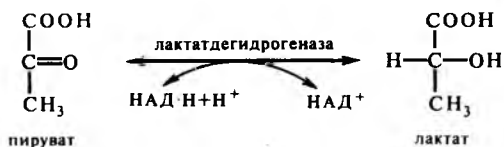
субстрата. Реакция катализируется *пируваткиназой* и протекает с участием ионов Mg^{2+} по уравнению



Реакция необратима в физиологических условиях, так как протекает с большим падением свободной энергии. Пируваткиназа угнетается продуктами реакции — АТФ и пируватом — по механизму обратной связи. Кроме того, фермент инактивируется при связывании с ионами Ca^{2+} . Активируется фермент фруктозо-1,6-бисфосфатом, неорганическим фосфатом и одновалентными катионами K^+ , Na^+ , Rb^+ , Cs^+ , NH_4^+ . Особенно сильным физиологическим активатором реакции являются ионы K^+ .

Пируваткиназа состоит из четырех субъединиц (молекулярная масса фермента около 240 000). Были выделены два изофермента пируваткиназы: М (мышечная форма) и L (печеночная форма), различающиеся по чувствительности к регуляторам — АТФ и фруктозо-1,6-бисфосфату. В печени эмбриона присутствует М-форма изофермента, которая заменяется на взрослую L-форму.

11. Восстановление пирувата до лактата. Эта реакция катализируется заключительным ферментом гликолиза — *лактатдегидрогеназой* по уравнению

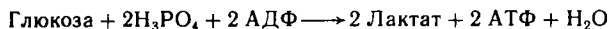


Лактатдегидрогеназная реакция обратима; равновесие ее смещено в сторону образования лактата из-за большого отрицательного значения свободной энергии. В тканях человека и животных имеется пять изоферментов лактатдегидрогеназы, состав которых определяется особенностями окислительного метаболизма тканей. Изоферменты ЛДГ₄, ЛДГ₅ (М-типы ЛДГ) работают эффективно в анаэробных условиях; ЛДГ₁, ЛДГ₂ (Н-типы ЛДГ) — в аэробных, когда пируват быстро окисляется, а не восстанавливается в лактат.

В результате гликолитического процесса из глюкозы образуется лактат. Лактат является «тупиком» в обмене веществ, поскольку не вступает ни в один биохимический процесс, кроме обратного превращения в пируват. При накоплении лактата в клетках может нарушаться рН внутриклеточной среды и останавливаться гликолиз, поэтому лактат удаляется из клеток как метаболический «шлак». Однако в некоторых органах, например в сердце, он окисляется и используется как энергетическое вещество.

Энергетический баланс и биологическая функция гликолиза

Гликолиз можно рассматривать как внутренний окислительно-восстановительный процесс, в котором происходит образование двух молекул НАД·Н₂ на стадии дегидрирования глицеральдегид-3-фосфата, а акцептируется водород двумя молекулами пирувата с образованием лактата. Суммарное уравнение гликолиза выглядит следующим образом:



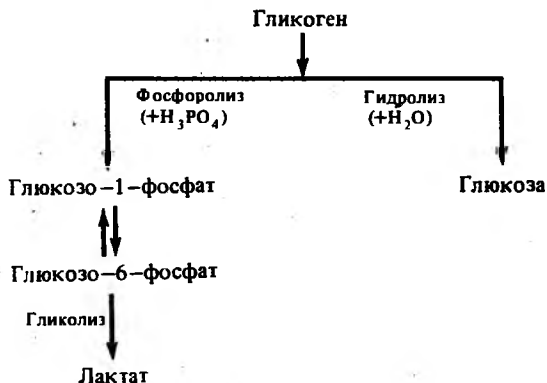
На стадиях фосфорилирования глюкозы и фруктозы (стадии 1 и 3) расходуется две молекулы АТФ. Если принять во внимание, что весь дигидроксиацетонфосфат (на 5-й стадии) переходит в глицеральдегид-3-фосфат, т. е. дает наряду с имеющейся вторую молекулу глицеральдегид-3-фосфата, то далее фактически происходит последовательное превращение двух молекул этой фосфотриозы. Поэтому на двух стадиях гликолитического фосфорилирования, катализируемых фосфоглицераткиназой и пируваткиназой, образуется по две молекулы АТФ. Итого, чистый выход АТФ составляет две молекулы на молекулу расщепленной глюкозы. Такова энергетическая ценность гликолиза.

Из данных по изменению свободной энергии можно рассчитать примерную эффективность гликолиза. Расщепление глюкозы до двух молекул лактата сопровождается освобождением примерно 195 кДж/моль, а для образования двух молекул АТФ из АДФ и H₃PO₄ требуется затрата в физиологических условиях около 90 — 100 кДж/моль. Следовательно, эффективность гликолиза составляет около 50%.

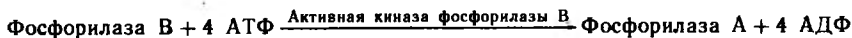
Таким образом, гликолиз представляет собой практически необратимый процесс, который полностью смещен в сторону образования лактата. «Узкими» местами гликолиза, лимитирующими скорость всего процесса распада глюкозы, служат три ферментных звена: гексокиназа, фосфофруктокиназа и пируваткиназа, катализирующих необратимые реакции. Эти ферменты являются своеобразными водителями ритма гликолиза. Воздействуя на них, можно регулировать скорость всего полиферментного процесса. Кстати, эти ферменты активируются неорганическим фосфатом или АДФ и тормозятся продуктом гликолиза — АТФ. Очевидно, чем больше расход АТФ в клетке, тем активнее гликолиз и наоборот. Несмотря на то что гликолиз дает малый валовый выход энергии (всего 2 АТФ на 1 моль глюкозы), это единственный процесс в клетках организма, продуцирующий энергию в отсутствие кислорода. Этим и обусловлена его биологическая роль. При кризисных ситуациях в организме, когда по тем или иным причинам нарушено поступление или потребление кислорода, гликолиз является единственным средством скорой энергетической помощи для сохранения жизнедеятельности клеток. Поэтому при гипоксии (кислородное голодание тканей) гликолиз играет важную энергетическую роль. Он протекает во всех клетках и тканях; его возможности таковы, что они обычно превышают потребности в расщеплении углеводов, т. е. ферменты гликолиза в клетках находятся в избытке. В эритроцитах, где отсутствуют митохондрии, гликолиз вообще единственный процесс, продуцирующий АТФ и поддерживающий их целостность и функции.

2. Распад гликогена (гликогенолиз)

Другие углеводы (полисахариды и моносахариды) в ходе распада подключаются к одному из этапов гликолиза и далее превращаются до лактата уже известными ферментами. Запасным углеводом в тканях млекопитающих является гликоген, при распаде которого извлекается энергия. Процесс его распада называется *гликогенолизом*. Распад гликогена происходит путем *фосфоролиза* и *гидролиза*:



Для каждого из этих процессов имеются свои ферменты. Фосфоролиз гликогена осуществляется с помощью *гликогенфосфорилаз* и вспомогательного фермента этого процесса *олиго-1,6-гликозидазы*. Гликогенфосфорилаза, или просто фосфорилаза, существует в двух формах — А и В. Фосфорилаза А более активна, чем фосфорилаза В. Отличаются они друг от друга тем, что фосфорилаза А — тетрамер (молекулярная масса 360 000), а фосфорилаза В — димер (молекулярная масса 180 000). В состав фосфорилаз входит пиродоксальфосфат, стабилизирующий молекулы ферментов. Для фосфорилаз обязательен сложный процесс активирования, который состоит в присоединении фосфатных групп к субъединицам фосфорилазы по схеме



Этот процесс протекает необратимо и катализируется *активной киназой фосфорилазы В*. Последняя активируется цАМФ-зависимой протенинкиназой. В целом имеет место каскадный механизм активирования (рис. 39).

Активная фосфорилаза А, содержащаяся в гиалоплазме вместе с гранулами гликогена, отщепляет от полисахарида остатки глюкозы, вызывая фосфоролиз α -1,4-гликозидных связей в линейных цепях гликогена. Поскольку фосфорилаза не действует на α -1,6-гликозидные связи (участки разветвления) гликогена, то образуются остаточный декстрин и глюкозо-1-фосфат. Помогает расщеплять гликоген *олиго-1,6-гликозидаза*, которая «устраняет» участки ветвления полисахарида, разрывая 1,6-связи, и облегчает дальнейшее действие гликогенфосфорилазы.

Гидролиз гликогена, его называют также *амилолизом*, происходит с участием α -амилазы и γ -амилазы (α -гликозидаза). Действие α -амилазы такое же,

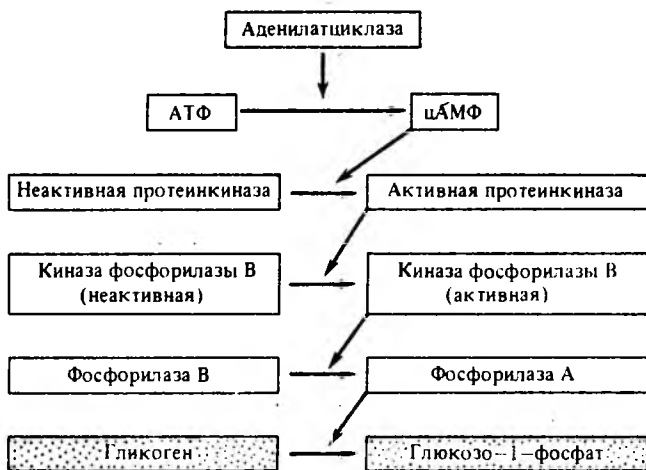


Рис. 39. Механизм активирования фосфорилазы В (по Сазерленду)

как и пищеварительных амилаз. γ -Амилазы бывают кислые (локализованы в лизосомах) и нейтральные (локализованы в гиалоплазме и микросомах). Гликоген расщепляется α -амилазой на олигосахариды (преимущественно мальтозу); γ -амилазы отщепляют концевые остатки глюкозы, связанные в полисахариде как α -1,4-, так и α -1,6-гликозидными связями. В результате гликоген может полностью гидролизываться до свободной глюкозы.

Вовлечение продуктов гликолиза в гликолиз происходит следующим образом. Глюкозо-1-фосфат превращается с помощью фосфоглюкомутазы в глюкозо-6-фосфат, который распадается далее до лактата обычным путем. Кофактором фосфоглюкомутазы является глюкозо-1,6-дифосфат, который выполняет те же функции, что 2,3-дифосфоглицерат в реакции, катализируемой фосфоглицератмутазой.

Гидролитический распад гликогена обычно происходит в печени. Он используется для быстрой мобилизации гликогена с целью поступления глюкозы в кровь и вовлечения ее в гликолиз внепеченочных тканей.

3. Распад других моносахаридов

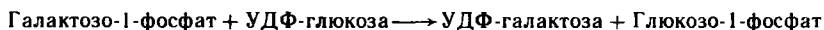
Фруктоза, манноза, галактоза вовлекаются в гликолиз следующим образом. D-фруктоза и D-манноза фосфорилируются с помощью неспецифической гексокиназы с образованием соответственно фруктозо-6-фосфата и маннозо-6-фосфата. Фруктозо-6-фосфат является метаболитом гликолиза. Маннозо-6-фосфат изомеризуется *фосфоманнозоизомеразой* во фруктозо-6-фосфат.

Имеется и другой путь включения фруктозы в гликолиз. Она фосфорилируется с помощью *фруктокиназы* печени с образованием фруктозо-1-фосфата, который далее расщепляется фруктозо-1-фосфат-альдозазой на дигидроксиацетонфосфат и глицеральдегид.

Галактоза сначала также фосфорилируется в печени с помощью *галактокиназы*:



Далее галактозо-1-фосфат превращается в глюкозо-1-фосфат. Для этой реакции изомеризации необходимы *уридиндифосфатглюкоза* (УДФ-глюкоза) и фермент *галактозо-1-фосфат-уридилтрансфераза*:



Глюкозо-1-фосфат подключается к гликолизу уже известным путем, а УДФ-галактоза превращается в УДФ-глюкозу с помощью *УДФ-глюкозоэпимеразы*.

4. Спиртовое брожение

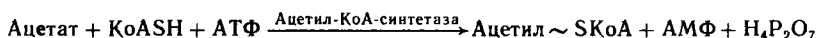
Этот путь сбраживания углеводов отличается от гликолиза на стадии дальнейшего превращения пирувата:



Спиртовое брожение характерно для дрожжей и некоторых микроорганизмов. В тканях человека вместо пируватдекарбоксилазы имеется пируватдегидрогеназный комплекс, окисляющий пируват до ацетил-КоА, а не декарбоксилирующий его до ацетальдегида, как пируватдекарбоксилаза дрожжей. Поэтому в тканях животных и человека этанол может образоваться только как побочный продукт (эндогенный этанол). *Алкогольдегидрогеназа*, имеющаяся в тканях человека (особенно в печени), окисляет этанол до ацетальдегида (другие спирты с меньшей скоростью тоже окисляются до альдегидов), который вовлекается в обмен с помощью *альдегиддегидрогеназы*:



Ацетат включается в цикл Кребса после активирования:



5. Переключение анаэробного гликолиза на аэробный

В физиологических условиях ткани организма снабжаются кислородом, поэтому гликолиз является лишь необходимым начальным звеном превращения углеводов. Только в так называемых быстрых («белых») скелетных мышцах, способных к кратковременной интенсивной работе, например при беге на спринтерские дистанции, гликолиз является главным источником энергии для их сокращения. Возможны две ситуации, при которых гликолиз переключается на аэробный путь превращения. Первая связана с предварительным анаэробным распадом углеводов и накоплением лактата. Такая ситуация возникает при кратковременном кислородном голодании отдельных органов или всего организма или при интенсивной работе тех же скелетных мышц, после чего возобновляется нормальное снабжение кислородом и продукт брожения — лактат — сгорает до CO_2 и H_2O . Превращение лактата в пируват возможно, если происходит одновременное окисление НАД · H_2 .

Второй вариант переключения наблюдается в тканях с активным снабжением их кислородом. В этом случае образующийся в гликолизе пируват почти не восстанавливается в лактат, а сразу поступает в митохондрии, где окисляется с участием кислорода. Наиболее важным при аэробном пути превращения углеводов является окисление гликолитического НАД · H_2 кислородом, а не использование его в реакции восстановления пирувата.

Окисление внемитохондриального НАД · H_2

НАД · H_2 , образующийся в цитоплазме, например при распаде углеводов, не проникает через мембрану митохондрий и поэтому не может непосредственно использоваться для окисления кислородом и образования энергии. Транспорт водорода между внемитохондриальным и внутримитохондриальным пространствами осуществляется с помощью так называемых *челночных систем*. Схема их работы показана на рис. 40. Существует несколько таких систем «сбирания» водорода цитоплазмы и переноса его в виде метаболитов через внутреннюю мембрану митохондрий. Наиболее важным из них является *малатаспартатный челночный цикл* (рис. 40, I). Он функционирует следующим образом. Водород НАД · H_2 цитоплазмы «собирается» оксалоацетатом, который восстанавливается в малат с помощью изоферментов малатдегидрогеназы цитоплазмы. Малат является восстановительным эквивалентом НАД · H_2 .

Малат проникает через митохондриальную мембрану с помощью переносчика, обмениваясь с 2-оксоглутаратом, который выходит из митохондрий в цитоплазму, т. е. наблюдается антипорт малата и 2-оксоглутарата. В митохондриях малат отдает водород внутримитохондриальному НАД⁺ с помощью малатдегидрогеназы. Образовавшийся оксалоацетат не проникает через мембрану митохондрий. Его транспортной формой является аспартат, который образуется в митохондриях при переаминировании оксалоацетата с глутаматом. Аспартат путем антипорта с глутаматом переходит в цитоплазму, где превращается в оксалоацетат, и цикл замыкается. В результате челночных перемещений метаболитов этого цикла за один такт переносится пара атомов водорода из цитоплазмы в митохондрии. В принципе возможен и обратный

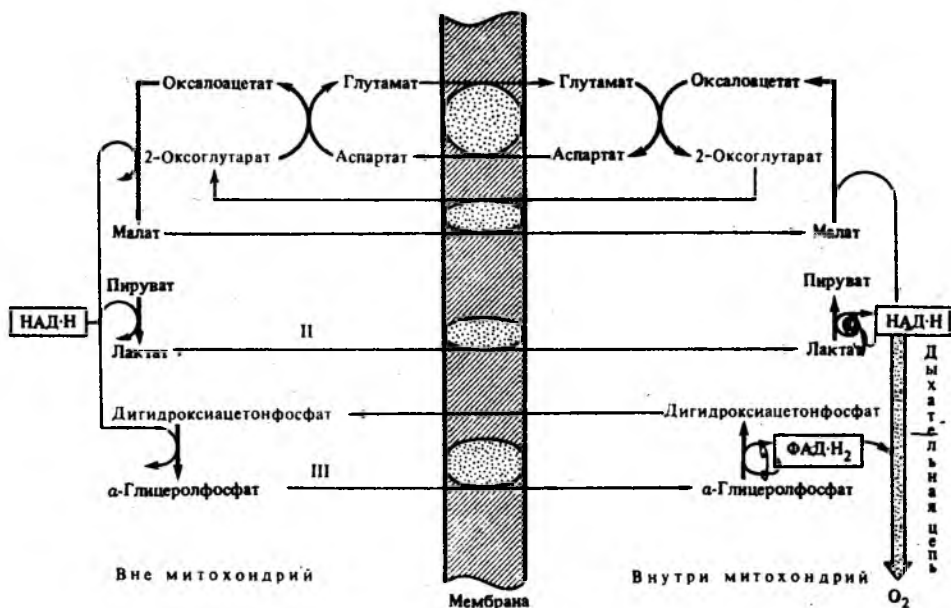


Рис. 40. Схема окисления внемитохондриального НАД · Н с помощью «челночных» систем

ход этого челночного цикла — с переносом водорода из митохондрий в цитоплазму.

Возможен перенос водорода НАД · Н₂ цитоплазмы в митохондрии в составе лактата — *лактатный челночный цикл* (рис. 40, II). Этот путь окисления внемитохондриального НАД · Н₂ активен в сердце. Малат-аспаратный и лактатный механизмы транспорта водорода позволяют использовать цитоплазматический НАД · Н₂ для образования энергии в дыхательной цепи.

Третий путь транспорта водорода назван *глицерофосфатным челночным циклом* (рис. 40, III). Он активно функционирует в летательных мышцах насекомых. В клетках человека и животных этот цикл доставки внемитохондриального водорода внутрь митохондрий мало активен. К тому же ФАД · Н₂, образующийся в митохондриях при дегидрировании α-глицеролфосфата с помощью ФАД-зависимой α-глицеролфосфатдегидрогеназы, используется не для образования энергии в дыхательной цепи, а окисляется путем свободного окисления. Освобождающаяся тепловая энергия позволяет избежать наступления равновесия реакций α-глицерофосфатного челночного цикла и создает тем самым условия для его непрерывной работы.

Глицерофосфатный цикл является невыгодным каналом поступления внемитохондриального водорода, так как не ведет к образованию АТФ в дыхательной цепи. Он оказывается полезным, если требуется теплота, например, для терморегуляции организма. Поэтому глицерофосфатный цикл называют «калоригенным», т. е. продуцирующим теплоту.

Энергетическая ценность аэробного превращения углеводов

Выход энергии при аэробном превращении составляет 38 молекул АТФ на одну молекулу расщепленной глюкозы (рис. 41) в том случае, если водород НАД · Н₂ цитоплазмы доставляется к дыхательной цепи с помощью малат-аспаратного цикла (или, возможно, лактатного). Если водород НАД · Н₂ переносится глицерофосфатным циклом, то энергия шести молекул АТФ теряется в виде теплоты, и чистый выход энергии составляет 32 молекулы АТФ на 1 молекулу расщепленной глюкозы.

Гликолиз даёт две молекулы АТФ, а аэробный распад 38 (или 32) молекул. Это доказывает, насколько ценнее для энергетики клетки аэробный гликолиз. Чтобы произвести столько же энергии анаэробным путем, нужно потратить в 19 (или 16) раз больше глюкозы, чем в присутствии кислорода. Да к тому же образуется метаболический «шлак» — лактат.

Эффективность аэробного распада глюкозы можно рассчитать так. При полном окислении глюкозы до СО₂ и Н₂О освобождается 2861 кДж/моль. В физиологических условиях для образования АТФ требуется 45—50 кДж/моль. Следовательно, для образования 38 (32) молей АТФ при аэробном распаде глюкозы требуется 19 000 (16 000) кДж энергии, т. е. энергетическая эффективность аэробного гликолиза составляет

$$\frac{19\,000(16\,000) \cdot 100\%}{2861} \approx 65(55)\%.$$

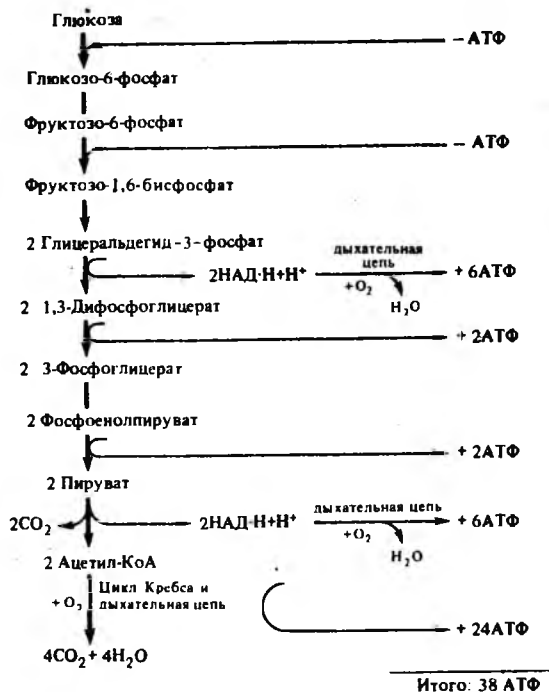


Рис. 41. Энергетический баланс аэробного превращения глюкозы

ГЛАВА 15. ВЗАИМОотношение и РЕГУЛЯЦИЯ РАЗЛИЧНЫХ ПУТЕЙ ОБРАЗОВАНИЯ ЭНЕРГИИ

1. Взаимоотношение аэробных и анаэробных путей образования энергии

Между обоими процессами — гликолизом и окислительным фосфорилированием — существует тесная взаимосвязь несмотря на то, что они локализованы в разных участках клетки. На связь дыхания и гликолиза указывают два явления: эффекты Пастера и Кребтри. Эффект Пастера состоит в подавлении

дыханием гликолиза, т. е. в присутствии кислорода прекращается брожение углеводов. Механизм пастеровского эффекта (несмотря на открытие его в 1876 г.) еще неясен. Его объясняют наличием конкуренции между дыханием и гликолизом за неорганический фосфат (Φ_n) и АДФ. Дыхание приводит к снижению Φ_n и АДФ — необходимых субстратов и активаторов ферментов гликолиза, и повышает содержание АТФ. АТФ как аллостерический эффектор фосфофруктокиназы угнетает ее, что приводит к накоплению глюкозо-6-фосфата из фруктозо-6-фосфата.

Глюкозо-6-фосфат инактивирует гексокиназу, что прекращает усвоение глюкозы в клетках.

Эффект Кребтри, или обратный пастеровский эффект, состоит в торможении дыхания избытком глюкозы. Правда, сначала он был показан для опухолевых клеток, а затем и для некоторых нормальных клеток. Механизм эффекта Кребтри, очевидно, тоже связан с конкуренцией за Φ_n и АДФ. Избыток глюкозы, которая является своего рода «ловушкой» для фосфата, приводит к повышению АДФ в цитоплазме и позволяет гликолитическим ферментам более эффективно конкурировать за АДФ с дыханием.

В опухолях координация дыхания и гликолиза нарушена. В них оба процесса разобщены: активен и гликолиз, ведущий к образованию лактата, и дыхание.

Активный аэробный гликолиз считался даже характерным именно для опухолей, но впоследствии был обнаружен в некоторых нормальных тканях (например, в сетчатке глаза).

Обычно же оба процесса, производящих энергию, — гликолиз и дыхание — работают согласованно. Клетки млекопитающих способны производить энергии больше, чем это необходимо для жизнедеятельности. Однако производство энергии не самоцель, поэтому образование АТФ путем гликолиза и окислительного фосфорилирования в клетках организма подчинено простому принципу: спрос диктует предложение. Энергии производится столько, сколько требуется для потребляющих ее процессов. Как только уровень АТФ в митохондриях и цитоплазме достигает определенного значения, дальнейшее его производство в дыхательной цепи и гликолизе прекращается, т. е. продукт (АТФ) регулирует свое образование. Снижение содержания АТФ, сопровождающееся обычно увеличением концентрации АДФ, АМФ и Φ_n , активирует гликолиз и окислительное фосфорилирование и уровень АТФ восстанавливается.

Энергетические посредники в клетках. Прежде всего необходимо остановиться на энергетических посредниках, которые являются связующим звеном между процессами, поставляющими и потребляющими энергию. Таким универсальным энергетическим посредником в живых организмах всегда считался АТФ, в фосфатных связях которого аккумулируется энергия, освобождающаяся при распаде веществ, и затем расходуется на различные процессы. Другие нуклеозидтрифосфаты (УТФ, ГТФ, ЦТФ, ТТФ) — всего лишь родственные соединения, к тому же образующиеся из АТФ.

Представление об АТФ как единственной энергетической «валюте», было нарушено в связи с открытием протонного потенциала, возникающего на мембране митохондрий. Оказалось, что протонный потенциал используется не только для синтеза АТФ, т. е. химической работы, но и способен заменить АТФ во многих процессах.

Как уже говорилось, за счет протонного потенциала возможно образование теплоты и обратный транспорт электронов, в результате чего становятся возможными восстановительные синтезы в матриксе митохондрий. Транспорт всех веществ, необходимых для дыхания (органические кислоты) и фосфорилирования (АТФ, Φ_n), и даже откачивание АТФ из матрикса во внемитохондриальное пространство протекают за счет энергии протонного потенциала. Кроме того, транспорт некоторых других веществ и ионов кальция также определяется протонным потенциалом. У жгутиковых бактерий энергия $\Delta\mu_{H^+}$ способна использоваться на совершение механической работы. Значит, протонный потенциал может потребляться на совершение химической, осмотической, механической работы и образование теплоты.

Все это позволяет говорить, что в живой клетке два вида энергетических посредников — АТФ и протонный потенциал, которые способны превращаться в другие формы энергии. Располагая обоими посредниками, клетка может использовать как источник энергии в водной среде АТФ (хорошо растворимое в воде вещество), а в гидрофобном слое биологических мембран — протонный потенциал (как электрохимический источник энергии). Не исключено, что калий-натриевый градиент и, возможно, другие ионные градиенты, создающиеся на клеточной мембране за счет энергии АТФ, можно рассматривать как третий вид энергетических посредников. Например, энергия калий-натриевого градиента, создаваемого на клеточной мембране K^+ , Na^+ -АТФазы, способна использоваться на синтез АТФ (ионное фосфорилирование), т. е. химическую работу. Активный транспорт аминокислот, глюкозы и некоторых других веществ также обеспечивается энергией калий-натриевого градиента на клеточной мембране.

Перенос энергии внутри клеток. В митохондриях образуются оба энергетических посредника — АТФ и протонный потенциал, а в гиалоплазме (в гликолизе) — только АТФ. Митохондриальный АТФ преодолевает мембранный барьер за счет специальных транспортных белков, обменивающих его на внешний АДФ. В водной среде АТФ переносится путем диффузии к местам потребления. Есть и другой способ переноса энергии АТФ внутри клеток, который имеет место в мышечных органах (в сердце, в скелетных и гладких мышцах). В этом процессе участвуют креатин и изоферменты креатинкиназы. В митохондриях концевая фосфатная группа от АТФ переносится на креатин (Кр) с помощью митохондриального изофермента креатинкиназы. Образующийся креатинфосфат (КрФ) диффундирует к сократительным элементам цитоплазмы — миофибриллам, где передает свой фосфат на АДФ с помощью цитоплазматической креатинкиназы. АТФ расходуется на месте на сокращение миофибрилл (рис. 42).

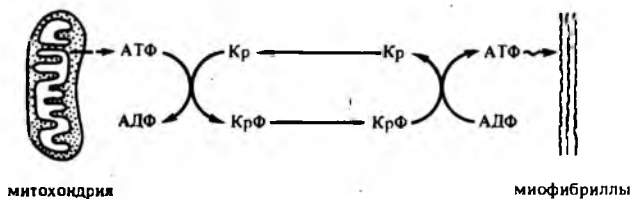


Рис. 42. Схема креатинкиназного механизма переноса энергии внутри клетки (по В. А. Саксу и др.)



Рис. 43. Пути потребления протонного потенциала и АТФ в клетке

и АТФ представлены на рис. 43. АТФ, помимо общих с $\Delta\psi_{H+}$ путей потребления энергии, может расходоваться на образование электрических импульсов в нервных волокнах и на синтез различных химических веществ. Протонный потенциал расходуется иногда на обратный перенос электронов и образование, например, восстановленного НАД или НАДФ.

2. Вещества, влияющие на энергетический обмен в клетках

Многие вещества, среди которых имеются яды и препараты, применяющиеся в лечебных целях, могут изменять энергетику клеток, влияя на образование энергии в ходе гликолиза и окислительного фосфорилирования.

Среди веществ, влияющих на гликолиз, можно выделить активаторы и ингибиторы. Глюкоза и ее фосфорилированные производные — глюкозо-6-фосфат и фруктозо-1,6-биофосфат, применяемые в медицинской практике, улучшают энергетический обмен в тканях организма, вовлекаясь в гликолиз, а затем в окислительные реакции митохондрий. Ингибиторами гликолиза являются моноацетат, фторид натрия или калия, арсенат. Фториды блокируют еноилгидратазу, а моноацетат — глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу, связывая ее SH-группу. Арсенат действует как разобщитель окисления и фосфорилирования на стадии превращения глицеральдегид-3-фосфата специфической дегидрогеназой, тем самым ингибируя дальнейший ход гликолиза.

Обширную группу веществ, влияющих на окислительное фосфорилирование, можно по механизму действия разделить на четыре группы: 1) ингибиторы дегидрогеназ; 2) ингибиторы дыхания; 3) разобщители окислительного фосфорилирования; 4) ингибиторы фосфорилирования.

Возможно, что в клетке имеет место кабельный механизм передачи протонного потенциала, подобно тому, как в технике передается на расстоянии электрическая энергия. Митохондриальные сети, существующие в клетках, можно сравнить с клеточной электропроводкой, по которой передается электрическая энергия, образующаяся при дыхании. Возможность подобного механизма передачи электричества была показана на цианобактериях. Не исключена его вероятность и в клетках млекопитающих.

Пути потребления энергии. Схематически пути потребления энергии в виде протонного потенциала, образуемого в митохондриях животных клеток при окислении веществ или в хлоропластах растительных клеток при поглощении световой энергии,

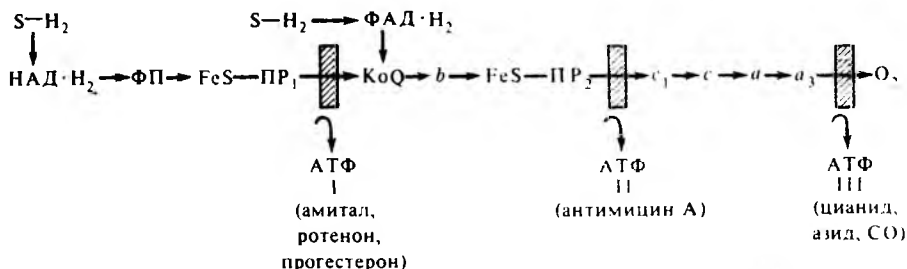


Рис. 44. Схема действия ингибиторов дыхания (по Метцлеру)

Ингибиторы дегидрогеназ препятствуют окислению субстратов и снижают поступление водорода в дыхательную цепь. Среди них можно назвать различные производные НАД, гидразиды изоникотиновой кислоты (противотуберкулезные препараты ГИНК, фтивазид и др.), являющиеся конкурентными ингибиторами НАД-зависимых дегидрогеназ. Арсенаты и ионы тяжелых металлов блокируют тиоловые группы дегидрогеназ, окисляющих субстраты (например, пируватдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы и т. д.). Малонат — конкурентный ингибитор сукцинатдегидрогеназы. Смесь ингибиторов НАД- и ФАД-зависимых дегидрогеназ может значительно угнетать дыхание, не влияя на образование протонного потенциала.

Ингибиторы дыхания блокируют одно из трех звеньев образования протонного потенциала, прерывая поток электронов на участках дыхательной цепи (рис. 44). Первая группа препаратов блокирует первое звено сопряжения на участке между железосерным белком-1 и КоQ. К этим препаратам относятся амитал, или барбамил (снотворный препарат барбитурового ряда), ротенон (рыбный яд), прогестерон (женский половой гормон). Эти вещества прерывают поступление водорода на дыхательную цепь от субстратов, окисляющихся через НАД-зависимые дегидрогеназы, но не мешают использованию субстратов, окисляющихся через ФАД (например, сукцината). Выключается также первое из трех звеньев фосфорилирования.

Вторая группа ингибиторов дыхания, к которым относится антимицин А (антибиотик, выделенный из стрептомицетов), блокирует дыхательную цепь на уровне второго звена сопряжения (образования протонного потенциала) и выводит из строя участок цепи до блока. Дыхание возможно только при поступлении электронов и протонов на участок цепи после блока, т. е. на цитохромы c_1 , c . Например, аскорбиновая кислота является тем веществом, которое окисляется цитохромом c . Поэтому в ее присутствии дыхание в митохондриях продолжается даже несмотря на то, что дыхательная цепь «отравлена» антимицином А.

Третья группа ингибиторов дыхания, к которым относятся цианиды (например, NaCN , KCN), азиды (NaN_3), оксид углерода (II), блокирует цитохромоксидазу и делает невозможным сам процесс дыхания. Эти вещества вызывают ситуацию кислородного голода для дыхательной цепи митохондрий, хотя кислород находится в избытке. Полное прекращение дыхания, вызванное этой группой препаратов, выключает образование протонного потенциала и связанного с ним фосфорилирования. Наступает энергетический «голод», а с ним и прекращение жизнедеятельности клеток. Поэтому ингибиторы цито-

хромоксидазы являются сильнейшими ядами, отравление которыми вызывает быструю гибель организма.

Разобшители окислительного фосфорилирования — обширная группа веществ, влияющих на сопрягающее звено между дыханием и фосфорилированием, т. е. на протонный потенциал. Однако разобшители никоим образом не влияют на создание протонного потенциала. Они лишь способствуют его расходованию в обход АТФ-синтетазы — основного потребителя энергии протонов для образования АТФ.

Механизм действия разобшителей заключается в том, что они являются переносчиками катионов (протонов или других ионов) через мембрану. Этим они вызывают своеобразное «короткое замыкание» между разнозаряженными поверхностями митохондриальной мембраны, переводя энергию мембранного потенциала ($\Delta\psi$) или разности концентраций ионов H^+ (ΔpH) в теплоту. Иначе говоря, разобшители в той или иной степени отключают фосфорилирование от дыхания. При их действии дыхание усиливается, а фосфорилирование подавляется. Все разобшители относятся к мембранотропным веществам. Они делятся на протонофоры и прочие ионофоры.

Протонофоры способствуют переносу через мембрану протонов, выравнивая их концентрацию и разность зарядов по обе стороны мембраны. Протонофоры в соответствующих концентрациях могут полностью разобщать дыхание и фосфорилирование, так как ликвидируют оба компонента протонного потенциала ($\Delta\psi$ и ΔpH), созданного дыханием. Фосфорилирующее окисление полностью переходит на свободное, и митохондрии начинают выполнять роль «нагревательного прибора» в клетках.

К разобшителям этого типа относятся природные вещества — свободные жирные кислоты, которые в форме аниона ($R-COO^-$) связывают протоны на внешней стороне мембраны, переносят их в недиссоциированной форме ($R-COOH$) и затем, диссоциируя, отдают протон на внутренней стороне мембраны ($R-COOH \rightarrow R-COO^- + H^+$). Разобщают дыхание и синтез АТФ такие вещества-протонофоры, как 2,4-динитрофенол, перфторпинакол, производные бензимидазола и фенилгидразона, а также ряд лекарственных препаратов — салицилаты (противовоспалительные средства), дикумарол и фенилин (оба препарата относятся к противосвертывающим средствам прямого действия) и т. д. Разобщающие свойства проявляют гормоны щитовидной железы — тироксин и трийодтиронин, которые применяются и как препараты.

Все протонофоры-разобшители липофильны и содержат в молекуле легко отщепляемый протон. Протонофоры, как и другие ионофоры, понижают сопротивление искусственных липидных мембран, помещенных в водную среду, за счет увеличения их проводимости для протонов. Чем сильнее понижается сопротивление, тем сильнее разобшитель.

Ионофоры увеличивают проводимость мембран или одновременно для протонов и других катионов, или только для какого-нибудь одного катиона (например, Na^+ или K^+). Механизм действия ионофоров на окислительное фосфорилирование можно рассмотреть на примере действия полипептидных антибиотиков — валиномицина, нигерицина, грамицидина А. Валиномицин представляет собой циклическую молекулу (состоит из неполярных аминокислот), растворимую в липидах. Его связывающие группы как бы смотрят наружу, а молекула напоминает форму раскрытого тюльпана. Валиномицин

избирательно связывает K^+ , при этом молекула принимает форму «бутона», в центре которого спрятан ион K^+ . В таком виде K^+ легко пересекает любую мембрану. Перенос K^+ валиномицином из внешней среды внутрь митохондрий полностью компенсирует разность зарядов (электрический потенциал) на мембране, но не ликвидирует избыток H^+ во внешней среде, т. е. ΔpH , так как переносит не H^+ , а K^+ . Поэтому валиномицин вызывает сильное (на величину $\Delta\psi$), но не полное разобщение дыхания и фосфорилирования.

Другой антибиотик — нигерицин — устроен таким образом, что переносит также ион K^+ , но только в обмен на протоны. Он устраняет, выравнивает разницу концентраций ионов H^+ между внутренней средой митохондрий, где их недостаток, и внешней, где их избыток, т. е. устраняет ΔpH , не влияя на электрический потенциал. Разобщающий эффект нигерицина слабее, чем валиномицина, так как ΔpH составляет лишь $1/5$ протонного потенциала. Полностью разобщить дыхание и фосфорилирование можно с помощью одновременного применения обоих ионофоров: валиномицина и нигерицина.

Грамицидин А, полипептидный скелет которого состоит из неполярных аминокислот, образует в мембране канал, состоящий из двух спиральных молекул антибиотика. По этому каналу проникают положительно заряженные ионы H^+ , K^+ , Na^+ . Грамицидин А снимает протонный потенциал и разобщает дыхание и фосфорилирование.

Антибиотики-ионофоры выравнивают естественные ионные градиенты на любой, а не только на митохондриальной мембране. В частности, они могут снижать разность концентраций ионов K^+ и Na^+ на клеточной мембране и нарушать жизнедеятельность клеток. У аэробных микроорганизмов ферменты дыхательной цепи и фосфорилирования находятся в клеточной мембране, поэтому антибиотики-ионофоры, прекращая выработку энергии и выравнивая ионные градиенты между внутри- и внеклеточной средой, вызывают быструю гибель микроорганизмов.

Ингибиторы фосфорилирования действуют на АТФ-синтетазу, препятствуя использованию протонного потенциала для синтеза АТФ. К этим веществам относятся, например, *дициклокарбодимид* (ДЦКД) и *олигомицин*. ДЦКД блокирует просачивание протонов по F_0 , т. е. как бы «запечатывает» протонный канал H^+ -АТФ-синтетазы. Поэтому фосфорилирование становится невозможным. Поскольку в физиологических условиях оно сопряжено с дыханием, то постепенно дыхание затухает, так как протонный потенциал, созданный дыханием, не используется на фосфорилирование, а расходуется на обращение потока электронов в дыхательной цепи.

Антибиотик олигомицин связывается с белковой субъединицей H^+ -АТФ-синтетазы в месте соединения F_0 с F_1 . Тем самым он запечатывает выход канала и прекращает поступление протонов к F_1 , одновременно ингибируя синтез АТФ в активном центре F_1 . Олигомицин полностью останавливает фосфорилирование, что ведет, как в случае с ДЦКД, к остановке дыхания. Нетрудно догадаться, что протонофоры снимают угнетающее действие ингибиторов фосфорилирования на дыхание, хотя фосфорилирование остается подавленным.

ГЛАВА 16. ОБРАЗОВАНИЕ ЭНЕРГИИ В ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ ОРГАНИЗМАХ

Фотосинтезирующие организмы (фотоавтотрофы) преобразуют световую энергию в химическую и используют ее для синтеза углеводов и других веществ. Фотосинтезирующие клетки имеют аппарат для улавливания и трансформации энергии и ферментные системы усвоения CO_2 . Фотосинтезирующие организмы многообразны. К ним относятся многоклеточные организмы (высшие зеленые растения и низшие их формы — зеленые, бурые и красные водоросли) и одноклеточные (эвгленовые, динофлагелляты и диатомовые водоросли). Большую группу фотосинтезирующих организмов составляют *прокариоты* — сине-зеленые водоросли, зеленые и пурпурные бактерии. Примерно половина работы по фотосинтезу на Земле осуществляется высшими зелеными растениями, а остальная половина — главным образом одноклеточными водорослями.

1. Фотосинтезирующие структуры

У бактерий фотосинтезирующие структуры представлены в виде впячивания клеточной мембраны, образуя пластинчатые органоиды *мезосомы*. Изолированные мезосомы, получаемые при разрушении бактерий, называются *хроматофорами*, в них сосредоточен светочувствительный аппарат. У эукариотов фотосинтетический аппарат расположен в специальных внутриклеточных органоидах — *хлоропластах*. Хлоропласты, подобно митохондриям, содержат также ДНК, РНК и аппарат для синтеза белка, т. е. обладают потенциальной способностью к самовоспроизведению. По размерам хлоропласты в несколько раз больше митохондрий. Число хлоропластов колеблется от одного у водорослей до 40 на клетку у высших растений. В клетках зеленых растений помимо хлоропластов имеются и митохондрии, которые используются для образования энергии в ночное время за счет дыхания, как в гетеротрофных клетках.

Хлоропласты имеют шаровидную или уплощенную форму. Они окружены двумя мембранами — наружной и внутренней (рис. 45). Внутренняя мембрана укладывается в виде стопок уплощенных пузырьковидных дисков. Эта стопка называется *граной*. В водорослях находится не более одной грани в каждом хлоропласте, а в высших растениях — до 50 гран, которые соединены между собой мембранными перемычками. Водная среда между гранами — это *строма* хлоропласта. Пузырьковидные структуры, из которых состоит грана, называются *тилактоидами*. В гране от 10 до 20 тилактоидов.

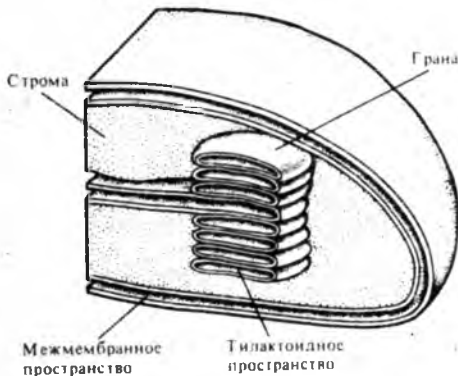


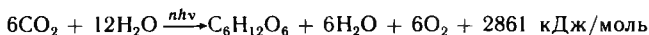
Рис. 45. Схема ультраструктуры хлоропласта (по Уайту и др.)

Элементарная структурная и функциональная фотосинтетическая единица мембран тилактоидов, содержащая необходимые светоулавливающие пигменты и

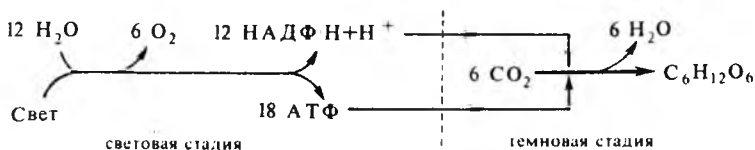
компоненты аппарата трансформации энергии, называется *квантосомой*. Эта частица имеет массу порядка $2 \cdot 10^6$ дальтон и размеры около 17,5 нм.

2. Стадии фотосинтеза

Фотосинтез — это процесс преобразования лучистой энергии в химическую с использованием последней в синтезе углеводов из углекислого газа. Суммарное уравнение фотосинтеза:



Процесс этот эндергонический и требует значительного количества энергии. Поэтому суммарный процесс фотосинтеза складывается из двух стадий, которые принято называть *световой* (или энергетической) и *темновой* (или метаболической). В хлоропласте эти стадии пространственно разобщены — световая осуществляется в квантосомах мембран тилактоидов, а темновая — вне тилактоидов, в водной среде стромы. Взаимосвязь между световой и темновой стадиями можно выразить схемой



Световая стадия протекает на свету. Энергия света трансформируется на этой стадии в химическую энергию АТФ, а бедные энергией электроны воды переходят в богатые энергией электроны НАДФ · Н₂. Побочным веществом, образующимся в ходе световой стадии, является кислород. Богатые энергией продукты световой стадии АТФ и НАДФ · Н₂ используются в следующей стадии, которая может проходить в темноте. В темновой стадии наблюдается восстановительный синтез глюкозы из CO₂. Без световой стадии темновая невозможна.

Механизм световой (фотохимической) стадии фотосинтеза

В мембранах тилактоидов имеются два фотохимических центра, или фотосистемы, которые обозначаются как фотосистемы I и II (рис. 46). Каждая из фотосистем не может заменить друг друга, ибо функции их различны. В состав фотосистем входят различные пигменты: зеленые — *хлорофиллы a* и *b*, желтые — *каротиноиды* и красные или синие — *фикобилины*. Фотохимически активен среди этого комплекса пигментов только хлорофилл *a*. Остальные пигменты играют вспомогательную роль, являясь лишь собирателями световых квантов (своеобразные светособирающие линзы) и проводниками их к фотохимическому центру. Функцию фотохимических центров выполняют особые формы хлорофилла *a*, а именно: в фотосистеме I — пигмент 700 (P₇₀₀), поглощающий свет с длиной волны около 700 нм, в фотосистеме II — пигмент 680 (P₆₈₀), поглощающий свет с длиной волны 680 нм. На 300—400 молекул светособирающих пигментов в фотосистемах I и II приходится только одна молекула фотохимически активного пигмента — хлорофилла *a*. Поглощение световых квантов фотосистемой I переводит пигмент P₇₀₀ из основного состоя-

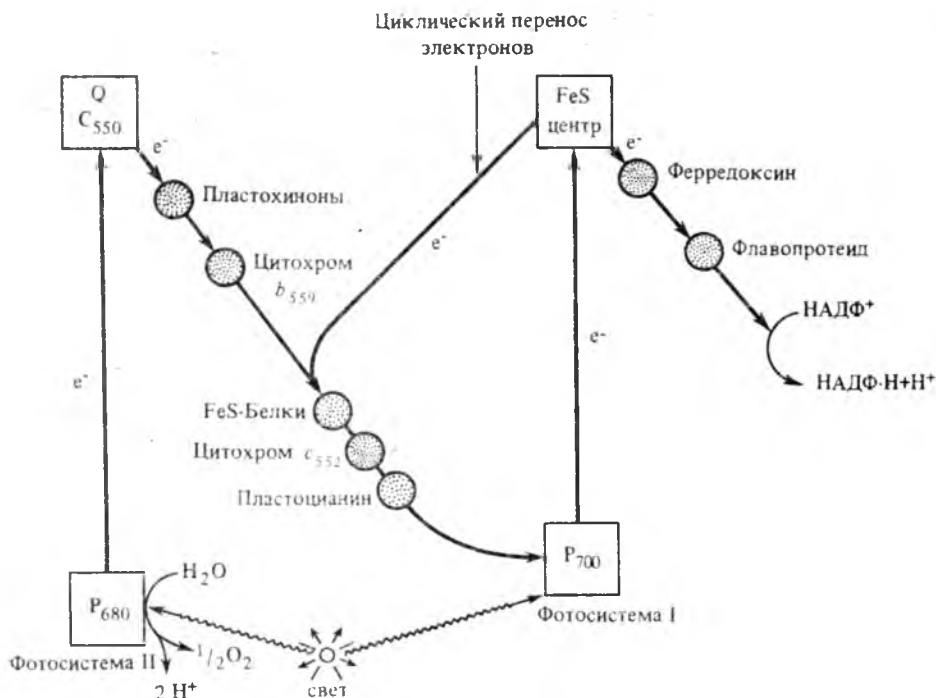
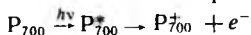


Рис. 46. Схема циклического и нециклического переноса электронов между фотосистемами I и II (по Уайту и др.)

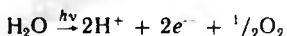
ния в возбужденное — P_{700}^* , в котором он легко теряет электрон. Потеря электрона вызывает образование электронной дырки в виде P_{700}^+ по схеме



Электронная дырка способна легко заполняться электроном.

Итак, поглощение световых квантов фотосистемой I приводит к разделению зарядов: положительного в виде электронной дырки (P_{700}^+) и отрицательно заряженного электрона, который сначала акцептируется специальными железосерными белками (FeS-центр), а затем или транспортируется по одной из цепей переносчиков обратно к P_{700}^+ , заполняя электронную дырку, или по другой цепи переносчиков через ферредоксин и флавопротеид к постоянному акцептору — НАДФ · Н₂. В первом случае происходит замкнутый *циклический* транспорт электрона, а во втором — *нециклический*. Возвращение возбужденных электронов на P_{700} связано с освобождением энергии (при переходе с высокого на низкий энергетический уровень), которая аккумулируется в фосфатных связях АТФ. Этот процесс называется *фотофосфорилированием*; при циклическом переносе происходит *циклическое фотофосфорилирование*, при нециклическом — соответственно *нециклическое*. В тилактоидах идут оба процесса, хотя второй более сложный. Он сопряжен с работой фотосистемы II.

Поглощение световых квантов фотосистемой II вызывает разложение (фотоокисление) воды в фотохимическом центре P_{680} по схеме



Фотолиз воды называется *реакцией Хилла*. Электроны, образующиеся при разложении воды, первоначально акцептируются веществом, обозначаемым Q (иногда его называют цитохромом C_{550} по максимуму поглощения, хотя оно не является цитохромом). Затем от вещества Q через цепь переносчиков, похожую по составу на митохондриальную, электроны направляются к P_{700}^+ , заполняя электронную дырку.

Следовательно, утраченные P_{700} электроны восполняются за счет электронов воды, разлагаемой под действием света в фотосистеме II. Нециклический поток электронов от H_2O к $НАДФ \cdot H_2$, происходящий при взаимодействии двух фотосистем и связывающих их электронно-транспортных цепей, наблюдается вопреки значениям редокс-потенциалов: E° для $1/2 O_2/H_2O = +0,81$ В, а E° для $НАДФ/НАДФ \cdot H = -0,32$ В. Энергия света обращает поток электронов «вспять». Существенно то, что при переносе от фотосистемы II к фотосистеме I часть энергии электронов аккумулируется в виде протонного потенциала на мембране тилактоидов, а затем в энергию АТФ.

Механизм образования протонного потенциала в цепи переноса электронов и его использование на образование АТФ в хлоропластах сходен с таковым в митохондриях. Однако в механизме фотофосфорилирования имеются некоторые особенности. Тилактоиды представляют собой как бы вывернутые наизнанку митохондрии, поэтому направление переноса электронов и протонов через мембрану противоположно направлению его в митохондриальной мембране (рис. 47). Электроны движутся к внешней стороне, а протоны концентрируются внутри тилактоидного матрикса. Матрикс заряжается положительно, а внешняя мембрана тилактоида — отрицательно, т. е. направление

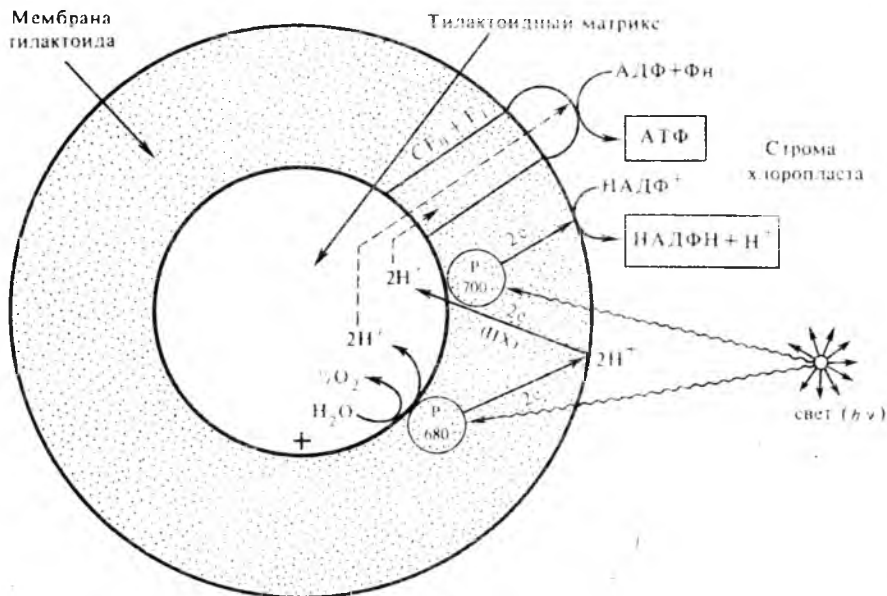


Рис. 47. Схема фотофосфорилирования в тилактоидах хлоропластов (ПХ — пластокинон)

протонного градиента противоположно направлению его в митохондриях. Другой особенностью является значительно большая доля рН в протонном потенциале по сравнению с митохондриями. Тилактоидный матрикс сильно закисляется, поэтому ΔpH может достигать 0,1—0,2 В, в то время как $\Delta\psi$ составляет около 0,1 В. Общее значение $\Delta\bar{\mu}_{H^+} > 0,25$ В.

H^+ -АТФ-синтетаза, обозначаемая в хлоропластах как комплекс « $CF_1 + F_0$ », ориентирована тоже в противоположном направлении. Головка ее (F_1) смотрит наружу, в сторону стромы хлоропласта. Протоны выталкиваются через $CF_0 + F_1$ из матрикса наружу, и в активном центре F_1 образуется АТФ за счет энергии протонного потенциала.

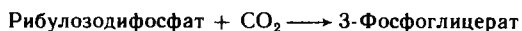
В отличие от митохондриальной цепи в тилактоидной имеется, по-видимому, только два участка сопряжения, поэтому на синтез одной молекулы АТФ требуется вместо двух три протона, т. е. соотношение $3 H^+ / 1$ моль АТФ.

Механизм темновой стадии фотосинтеза

Продукты световой стадии АТФ и НАДФ · H_2 , находящиеся в строме хлоропласта, используются здесь же для синтеза глюкозы из CO_2 . Ассимиляция диоксида углерода (фотохимическое карбоксилирование) представляет собой циклический процесс, который называется также пентозофосфатным фотосинтетическим циклом или циклом Кальвина (рис. 48). В нем можно выделить три основные фазы:

- 1) фиксация CO_2 рибулозодифосфатом;
- 2) образование триозофосфатов при восстановлении 3-фосфоглицерата;
- 3) регенерация рибулозодифосфата.

Фиксация CO_2 рибулозодифосфатом катализируется ферментом *рибулозодифосфаткарбоксилазой*:



Далее 3-фосфоглицерат восстанавливается с помощью НАДФ · H_2 и АТФ до глицеральдегид-3-фосфата. Эта реакция катализируется ферментом — глице-

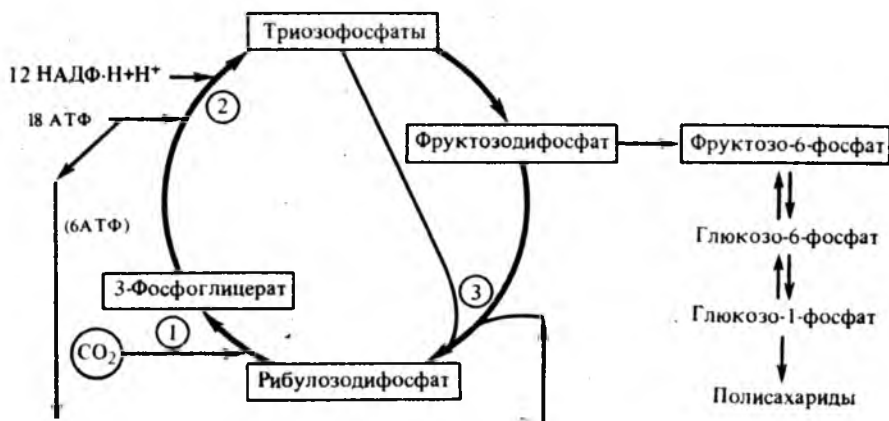
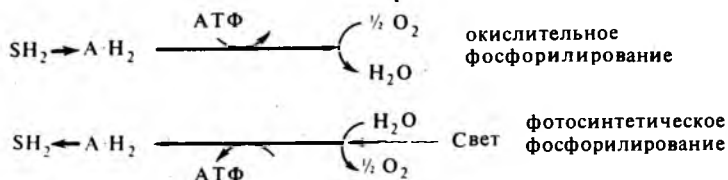


Рис. 48. Схема фотосинтетического цикла образования углеводов (цикл Кальвина)

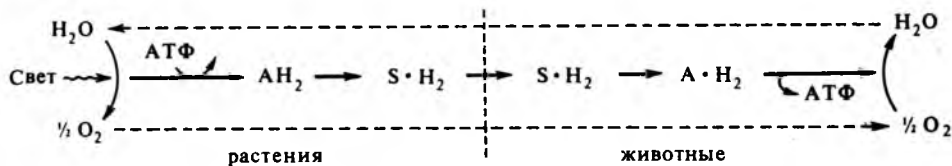
ральдегид-3-фосфат-дегидрогеназой. Глицеральдегид-3-фосфат легко изомеризуется в дигидроксиацетонфосфат. Оба триозофосфата используются в образовании фруктозобисфосфата (обратная реакция, катализируемая фруктозобисфосфат-альдолазой). Часть молекул образовавшегося фруктозобисфосфата участвует вместе с триозофосфатами в регенерации рибулозодифосфата (замыкают цикл), а другая часть используется для запасаания углеводов в фотосинтезирующих клетках, как показано на схеме.

Подсчитано, что для синтеза одной молекулы глюкозы из CO_2 в цикле Кальвина требуется 12 НАДФ · Н + Н⁺ и 18 АТФ (12 молекул АТФ расходуется на восстановление 3-фосфоглицерата, а 6 молекул — в реакциях регенерации рибулозодифосфата). Минимальное соотношение — 3 АТФ : 2 НАДФ · Н₂.

Можно заметить общность принципов, лежащих в основе фотосинтетического и окислительного фосфорилирования, причем фотофосфорилирование представляет собой как бы обращенное окислительное фосфорилирование:



Энергия света является движущей силой фосфорилирования и синтеза органических веществ ($\text{S} \cdot \text{H}_2$) при фотосинтезе и, наоборот, энергия окисления органических веществ — при окислительном фосфорилировании. Поэтому именно растения обеспечивают жизнь животным и другим гетеротрофным организмам:



Углеводы, образующиеся при фотосинтезе, служат для построения углеродных скелетов многочисленных органических веществ растений. Азоторганические вещества усваиваются фотосинтезирующими организмами путем восстановления неорганических нитратов или атмосферного азота, а сера — восстановлением сульфатов до сульфгидрильных групп аминокислот. Фотосинтез в конечном итоге обеспечивает построение не только обязательных для жизни белков, нуклеиновых кислот, углеводов, липидов, кофакторов, но и многочисленных продуктов вторичного синтеза, являющихся ценными лекарственными веществами (алкалоиды, флавоноиды, полифенолы, терпены, стероиды, органические кислоты и т. д.).

3. Бесхлорофильный фотосинтез

Бесхлорофильный фотосинтез обнаружен у соелюбивых бактерий, имеющих фиолетовый светочувствительный пигмент. Этим пигментом оказался белок *бактериородопсин*, содержащий, подобно зрительному пурпуру сетчатки —

родопсину, производное витамина А — *ретиаль*. Бактериородопсин, встроенный в мембрану соелюбивных бактерий, образует на этой мембране в ответ на поглощение ретиалем света протонный потенциал, преобразующийся в АТФ. Таким образом, бактериородопсин является бесхлорофильным преобразователем энергии света.

4. Фотосинтез и внешняя среда

Фотосинтез возможен только при наличии света, воды и диоксида углерода. КПД фотосинтеза не более 20% у культурных видов растений, а обычно он не превышает 6—7%. В атмосфере примерно 0,03% (об.) CO_2 , при повышении его содержания до 0,1% интенсивность фотосинтеза и продуктивность растений возрастают, поэтому целесообразно подкармливать растения гидрокарбонатами. Однако содержание CO_2 в воздухе выше 1,0% оказывает вредное действие на фотосинтез. За год только наземные растения усваивают 3% всего CO_2 атмосферы Земли, т. е. около 20 млрд. т. В составе синтезируемых из CO_2 углеводов аккумулируется до $4 \cdot 10^{18}$ кДж энергии света. Это соответствует мощности электростанции в 40 млрд. кВт. Побочный продукт фотосинтеза — кислород — жизненно необходим для высших организмов и аэробных микроорганизмов. Сохранить растительный покров — значит сохранить жизнь на Земле.

В. ОБМЕН ВЕЩЕСТВ

ГЛАВА 17. ОБМЕН УГЛЕВОДОВ

Превращение углеводов в тканях организма складывается из ферментативных процессов, ведущих к распаду углеводов (катаболические пути) или их синтезу (анаболические). В ходе распада углеводов освобождается энергия или образуются необходимые для других биохимических процессов промежуточные продукты. Синтез углеводов служит для восполнения запасов резервных полисахаридов или обновления структурных углеводов. Мощность различных путей обмена углеводов в тканях и органах определяется наличием в них соответствующих ферментов.

1. Распад углеводов в тканях

Известно несколько путей распада углеводов в тканях. Это *гликолиз* и его вариант *гликогенолиз*, которые являются вспомогательными путями образования энергии соответственно из глюкозы (или других моносахаридов) и гликогена при распаде их до лактата (в анаэробных условиях) или до CO_2 и H_2O (в аэробных условиях). Гликолиз и гликогенолиз, несущие энергетическую функцию, подробно рассматривались ранее в разделе «Биоэнергетика».

Существует еще один путь распада углеводов в тканях, получивший название *пентозофосфатного пути* (гексозомонофосфатный или фосфоглюконатный шунт). По имени ученых, сыгравших основную роль в его описании,

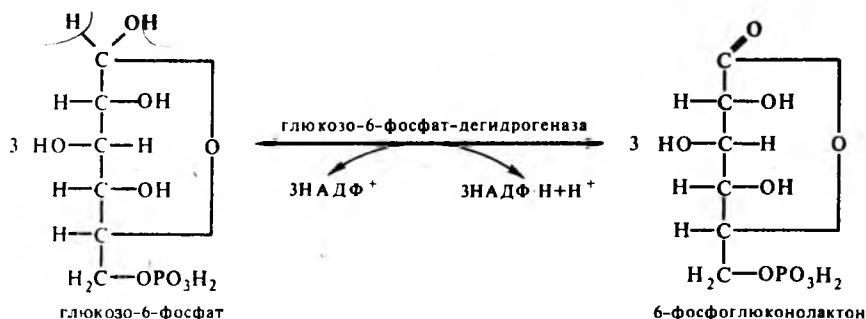
пентозофосфатный цикл называют циклом Варбурга—Диккенса—Хорекера—Энгельгардта.

Пентозофосфатный цикл представляет собой полиферментную систему, где важным промежуточным продуктом, судя по названию, служат пентозофосфаты. Этот цикл является как бы ответвлением, или шунтом, гликолиза на стадии глюкозо-6-фосфата.

Пентозофосфатный цикл

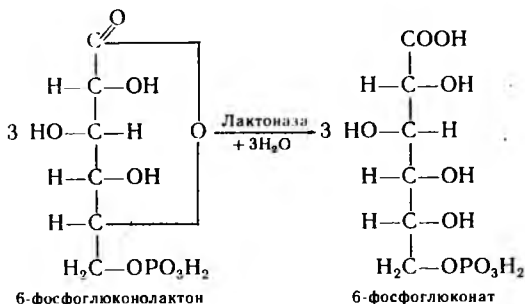
Для протекания всех стадий пентозофосфатного цикла требуется не менее трех молекул глюкозо-6-фосфата. Рассмотрим отдельные реакции этого цикла.

1. Дегидрирование глюкозо-6-фосфата — реакция, направляющая глюкозо-6-фосфат по пентозофосфатному пути, катализируется *глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназой* по уравнению (для полного описания циклического процесса в уравнении реакций сразу используем три молекулы глюкозо-6-фосфата)

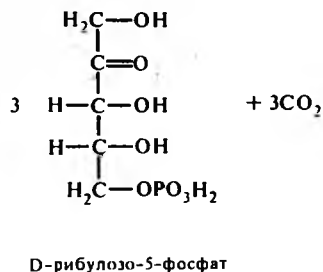
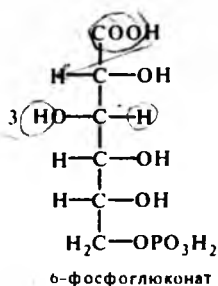


Дегидрогеназа глюкозо-6-фосфата — димер с молекулярной массой около 135 000. Имеется 7—8 изоферментов этого фермента, разделяющихся при электрофорезе. Особенностью этой реакции является образование НАДФ · Н₂. Равновесие реакции сильно сдвинуто вправо, потому что образующийся лактон или спонтанно, или с участием *лактоназы* гидролизуется.

2. Гидролиз 6-фосфоглюконолактона с образованием 6-фосфоглюконата:

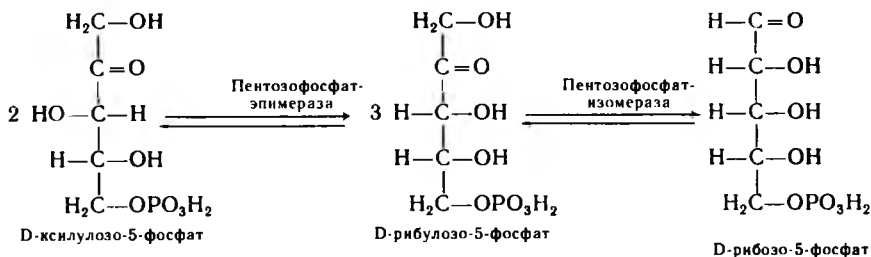


3. Дегидрирование 6-фосфоглюконата с образованием рибулозо-5-фосфата. Эта реакция катализируется *6-фосфоглюконат-дегидрогеназой* по уравнению



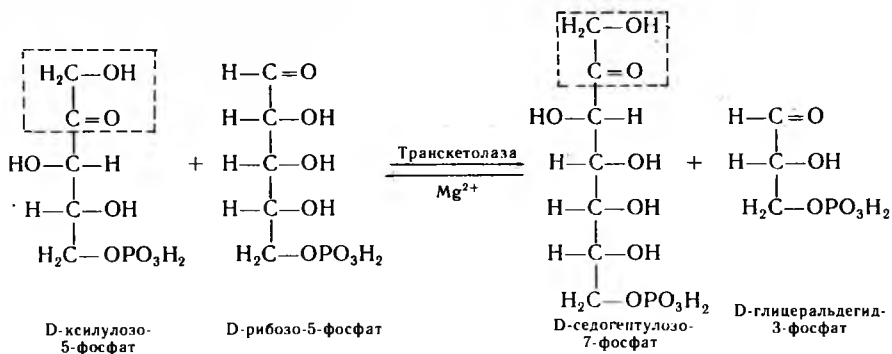
Равновесие реакции сдвинуто вправо. 6-Фосфоглюконат-дегидрогеназа— димер с молекулярной массой около 100 000. Имеется несколько изоферментов этой дегидрогеназы. Особенность реакции состоит в том, что при дегидрировании образуется нестойкое промежуточное соединение, которое на поверхности этого же фермента декарбоксилируется. Это вторая реакция окисления в пентозофосфатном цикле, приводящая к образованию НАДФ·Н₂, поэтому превращение глюкозо-6-фосфата до рибулозо-5-фосфата принято называть *окислительной фазой пентозофосфатного цикла*. Фаза от рибулозо-5-фосфата до образования вновь глюкозо-6-фосфата называется *неокислительной* или *анаэробной фазой* этого цикла.

4. Взаимопревращение, или изомеризация, пентозофосфатов. Рибулозо-5-фосфат может обратимо изомеризоваться в другие пентозофосфаты — ксилулозо-5-фосфат и рибозо-5-фосфат. Катализируют эти реакции два разных фермента — пентозофосфат-эпимераза и пентозофосфат-изомераза по уравнениям:



Образование из рибулозо-5-фосфата двух других пентозофосфатов — рибозо-5-фосфата и ксилулозо-5-фосфата необходимо для последующих реакций цикла. Причем требуется две молекулы ксилулозо-5-фосфата и одна молекула рибозо-5-фосфата.

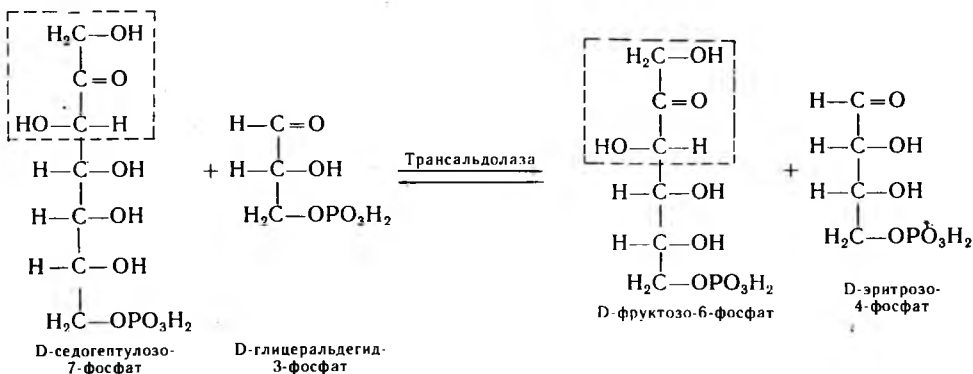
5. Перенос гликолевого альдегида с ксилулозо-5-фосфата на рибозо-5-фосфат, или первая транскетолазная реакция. В следующей реакции, катализируемой *транскетолазой*, используются образовавшиеся в предыдущей реакции пентозофосфаты (в рамку взят переносимый фрагмент):



В транскетолазной реакции расходуются молекулы рибозо-5-фосфата и одна из двух молекул ксилулозо-5-фосфата. Другая молекула используется позднее, во второй транскетолазной реакции.

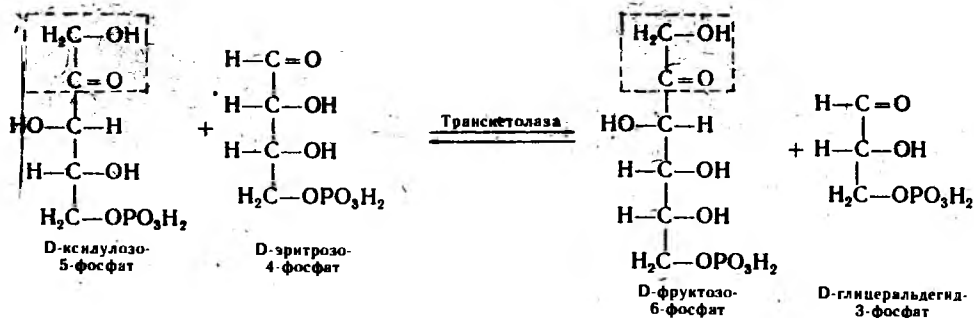
Транскетолаза — димер с молекулярной массой 140 000. Коферментом ее является *тиаминдифосфат*. Реакция требует ионов Mg^{2+} . Оба продукта транскетолазной реакции используются на следующей стадии цикла в качестве субстратов.

6. Перенос дигидроксиацетонового фрагмента с седогептулозо-7-фосфата на глицеральдегид-3-фосфат. Эта обратимая реакция катализируется *трансальдолазой* по уравнению



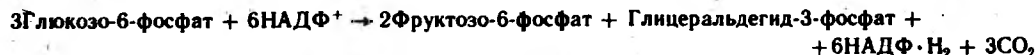
Трансальдолаза — димер с молекулярной массой около 70 000. Молекула фруктозо-6-фосфата, образующаяся в этой реакции, подключается к гликолизу, а эритрозо-4-фосфат используется как субстрат для последующих стадий цикла.

7. Перенос гликолевого альдегида с ксилулозо-5-фосфата на эритрозо-4-фосфат, или вторая транскетолазная реакция. Эта реакция сродни первой транскетолазной реакции и катализируется тем же ферментом. Отличие ее в том, что акцептором гликолевого альдегида служит эритрозо-4-фосфат:



Фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат подключаются к гликолизу.

Следовательно, в ходе реакций, катализируемых собственно ферментами пентозофосфатного цикла, из трех молекул глюкозо-6-фосфата образуется две молекулы фруктозо-6-фосфата, одна молекула глицеральдегид-3-фосфата и три молекулы диоксида углерода. Кроме того, образуется шесть молекул НАДФ · Н₂. Суммарное уравнение пентозофосфатного цикла:



Взаимосвязь пентозофосфатного цикла и гликолиза

Оба пути превращения углеводов тесно связаны (рис. 49). Продукты пентозофосфатного пути — фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат — являются также метаболитами гликолиза, поэтому они вовлекаются в гликолиз и превращаются его ферментами. Две молекулы фруктозо-6-фосфата могут регенерироваться в две молекулы глюкозо-6-фосфата с помощью глюкозофосфатизомеразы — фермента гликолиза. В этом случае пентозофосфатный

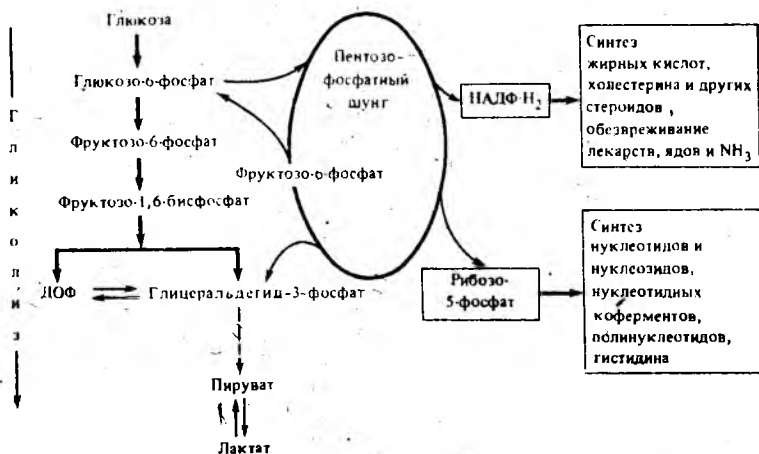
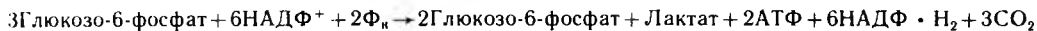
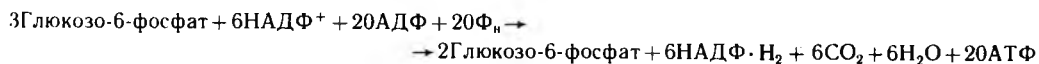


Рис. 49. Схема интеграции пентозофосфатного шунта с гликолизом

путь выглядит как цикл. Другой продукт — глицеральдегид-3-фосфат, включившись в гликолиз, превращается в анаэробных условиях в лактат, а в аэробных сгорает до CO_2 и H_2O . Нетрудно подсчитать, что при превращении глицеральдегид-3-фосфата до лактата образуется две молекулы АТФ, а при сгорании до CO_2 и H_2O — 20 молекул АТФ. Следовательно, в физиологических условиях, когда пентозофосфатный путь превращения углеводов подключен к гликолизу, можно выразить суммарные уравнения превращения глюкозо-6-фосфата через пентозофосфатный цикл. В анаэробных условиях:



В аэробных условиях:



Казалось бы, энергетическая ценность такого превращения глюкозо-6-фосфата через пентозофосфатный цикл ниже, чем по пути аэробного гликолиза (ведь последний дает максимум 38 молекул АТФ). Однако нужно учесть, что большая доля энергии аккумулируется в $\text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$. Энергетически 6 молекул $\text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$ равнозначны 18 молекулам АТФ. Следовательно, энергетический эффект тот же.

Биологическая функция пентозофосфатного цикла

Биологическая функция пентозофосфатного цикла связана с производством двух веществ — $\text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$, являющегося «восстановительной силой» при синтезе различных веществ, и метаболита — рибозо-5-фосфата, используемого как строительный материал в синтезе различных веществ (см. рис. 52). Перечислим его основные функции:

1) амфиболическая — он является путем распада углеводов и одновременно веществ, используемых в синтетических реакциях ($\text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$ и рибозо-5-фосфат);

2) энергетическая, так как при подключении его продуктов (глицеральдегид-3-фосфат) к гликолизу образуется энергия;

3) синтетическая — основная функция, связанная с использованием $\text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$ и рибозо-5-фосфата.

НАДФ · H₂ используется: 1) в обезвреживании лекарств и ядов в монооксигеназной цепи окисления эндоплазматической сети печени;

2) в синтезе жирных кислот и других структурных и резервных липидов;

3) в синтезе холестерина и его производных — желчных кислот, стероидных гормонов (кортикостероиды, женские и мужские половые гормоны), витаминов D;

4) в обезвреживании аммиака при восстановительном аминировании.

Рибозо-5-фосфат используется в синтезе гистидина, нуклеозидов и нуклеотидов (нуклеотидмоно-, ди- и трифосфатов), нуклеотидных коферментов (НАД , НАДФ , ФАД , КоА) и полимерных производных нуклеотидов — полинуклеотидов (ДНК, РНК, коротких олигонуклеотидов).

Пентозофосфатный путь превращения углеводов активен прежде всего в тех органах и тканях, в которых требуется интенсивное использование $\text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$ в реакциях восстановительных синтезов и рибозо-5-фосфата в

синтезе нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Поэтому высокая активность этого пути отмечается в жировой ткани, печени, ткани молочной железы, особенно в период лактации (так как необходимо синтезировать жир молока), надпочечниках, половых железах, костном мозге, лимфоидной ткани. Относительно активны дегидрогеназы пентозофосфатного шунта в эритроцитах. Низкая активность его наблюдается в мышечной ткани (сердце, скелетная мышца).

2. Биосинтез углеводов в тканях

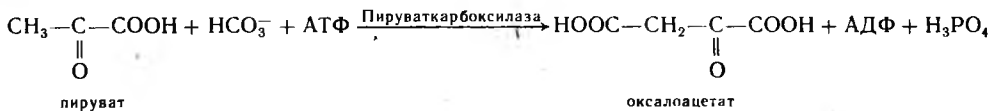
В тканях и органах человека и животных происходит синтез углеводов. Поскольку исходной структурной единицей для образования других моносахаридов и для сборки полисахаридов является глюкоза, рассмотрим возможные пути синтеза глюкозы в тканях и органах. На образование глюкозы из веществ неуглеводной природы указывает тот факт, что при длительном голодании (в лечебных целях или крайних жизненных ситуациях) углеводные запасы резервных полисахаридов быстро расходуются, а глюкоза в крови циркулирует, снабжая ткани, особенно мозг, энергией.

Глюконеогенез

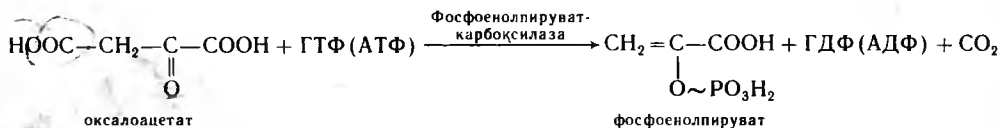
Синтез глюкозы из неуглеводных источников называется *глюконеогенезом* или *новообразованием глюкозы*. Он возможен не во всех тканях организма. Главным местом глюконеогенеза является печень. В меньшей степени он протекает в почках, слизистой кишечника.

Механизм глюконеогенеза. Поскольку в гликолизе имеются три энергетически необратимые стадии на уровне пируваткиназы, фосфофруктокиназы и гексокиназы, то образование глюкозы из простых неуглеводных веществ, например пирувата или лактата, путем обратного гликолиза («снизу вверх») невозможно. Необходимы обратные реакции.

Первый обратный путь при синтезе глюкозы связан с образованием фосфоенолпирувата из пирувата в обход пируваткиназы. Он катализируется двумя ферментами. Сначала пируват превращается в оксалоацетат. Реакция происходит в митохондриях, куда проникает пируват, и катализируется *пируваткарбоксилазой* по уравнению



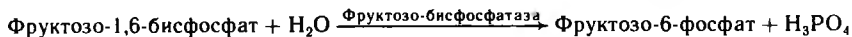
Этот фермент в качестве кофактора, как и все ферменты, усваивающие CO_2 , содержит биотин. Оксалоацетат поступает из митохондрий в цитоплазму, где протекает глюконеогенез. В цитоплазме оксалоацетат превращается в фосфоенолпируват в реакции, катализируемой фосфоенолпируват-карбоксилазой:



Равновесие реакции сдвинуто вправо. Источником фосфатных групп служит главным образом ГТФ, но может быть и АТФ.

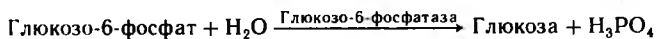
От фосфоенолпирувата до фруктозо-1,6-бисфосфата все реакции гликолиза обратимы, поэтому образовавшиеся молекулы фосфоенолпирувата используются для образования фруктозо-1,6-бисфосфата теми же ферментами гликолиза.

Второй обходный путь связан с образованием из фруктозо-1,6-бисфосфата фруктозо-6-фосфата в обход фосфофруктокиназной реакции. Реакция катализируется *фруктозо-бисфосфатазой*:



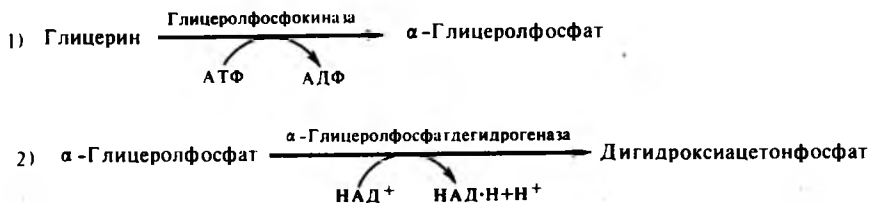
Реакция необратимо сдвинута вправо. Фруктозо-6-фосфат изомеризуется в глюкозо-6-фосфат с помощью глюкозофосфатизомеразы.

Третий обходный путь связан с образованием из глюкозо-6-фосфата свободной глюкозы в обход гексокиназной реакции. Эта реакция катализируется *глюкозо-6-фосфатазой*:



Свободная глюкоза, образующаяся в этой реакции, поступает из ткани в кровь. Общая схема глюконеогенеза из пирувата представлена на рис. 50. На примере глюконеогенеза можно видеть экономичность организации путей обмена, поскольку помимо четырех специальных ферментов глюконеогенеза: пируваткарбоксилазы, фосфопируваткарбоксилазы, фруктозо-бисфосфатазы и глюкозо-6-фосфатазы для новообразования глюкозы используются отдельные ферменты гликолиза.

Неуглеводные источники для глюконеогенеза. Субстратами для синтеза глюкозы служат не только пируват или лактат, поступающие в печень и почки, но и другие неуглеводные соединения. Согласно схеме глюконеогенеза (см. рис. 50), можно предсказать, что все вещества неуглеводной природы, которые превращаются или в один из метаболитов гликолиза (первая группа веществ), или в пируват (вторая группа), или в оксалоацетат (третья группа), являются потенциальными источниками новообразования глюкозы. К веществам первой группы можно отнести глицерин, который превращается в дигидроксиацетонфосфат, а далее в зависимости от условий идет по пути глюконеогенеза или по пути гликолиза. Вовлечение глицерина в глюконеогенез происходит по схеме



Далее дигидроксиацетонфосфат используется в синтезе глюкозы.

К субстратам глюконеогенеза можно отнести и кислоты цикла Кребса, которые превращаются в оксалоацетат (вещества третьей группы). Однако главными источниками глюконеогенеза являются аминокислоты, превращаю-

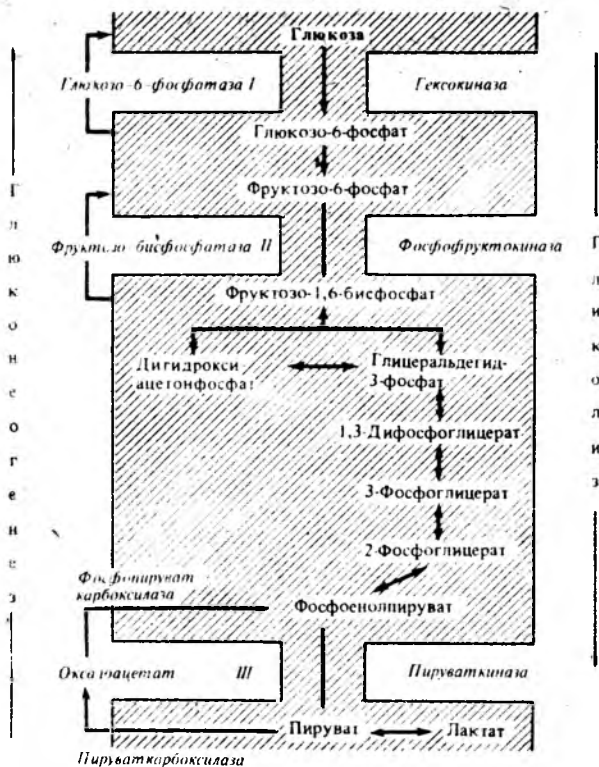
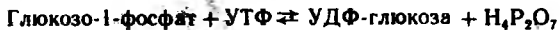


Рис. 50. Схема глюконеогенеза

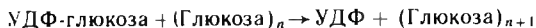
щиеся и в пируват, и в оксалоацетат, а следовательно, и в глюкозу. Аминокислоты, участвующие в новообразовании глюкозы, называются *глюкогенными*. К ним относятся все белковые аминокислоты, кроме лейцина.

Биосинтез гликогена (гликогеногенез)

Синтез гликогена осуществляется во всех клетках организма (может быть, исключение составляют эритроциты), но особенно активно он протекает в скелетных мышцах и печени. Реакция распада гликогена, катализируемая гликогенфосфорилазой, почти необратима, поэтому она не участвует в синтезе гликогена. Возможно два варианта его синтеза. Один заключается в наращивании глюкозных единиц на существующий фрагмент гликогена (затравка гликогена), а другой начинается с молекул глюкозы. Источником остатков глюкозы при синтезе гликогена служит активная форма ее — уридиндифосфатглюкоза (УДФ-глюкоза), которая образуется из глюкозо-1-фосфата и УТФ с участием фермента *глюкозо-1-фосфат-уридилтрансферазы* по уравнению



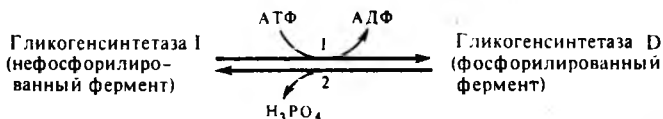
На следующей стадии происходит перенос остатка глюкозы с УДФ-глюкозы на затравку гликогена с помощью фермента *гликогенсинтетазы*:



Причем гликогенсинтетаза катализирует образование только α -1 \rightarrow 4-гликозидных связей. «Ветвящий» фермент — амило-(α -1,4 \rightarrow α -1,6)-трансгликозилаза переносит короткие фрагменты (по 2—3 глюкозных остатка) с одного участка гликогена на другой и образует α -1 \rightarrow 6-гликозидные связи (точки ветвления). Путем чередования действия этих двух ферментов наращивается молекула гликогена.

Если синтез начинается с молекул глюкозы, то сначала происходит перенос остатков глюкозы с УДФ-глюкозы на промежуточный акцептор — *долихолфосфат (полипренолфосфат)*. На долихолфосфате синтезируется олигосахарид, который затем переносится на белок. Достраивание олигосахаридных цепей до молекулы гликогена происходит так же, как и в первом варианте. О приемлемости второго варианта синтеза гликогена говорит то, что гликоген всегда связан с небольшим количеством белка.

Взаимоотношение процессов синтеза и распада гликогена. Гликогенсинтетаза существует в двух формах, переходящих одна в другую. *Фосфорилированная, или неактивная, форма* ее называется *гликогенсинтетаза D, нефосфорилированная, или активная, форма* — *гликогенсинтетаза I*. Переход из одной формы в другую осуществляется с помощью двух ферментов — киназы гликогенсинтетазы (1) и фосфатазы гликогенсинтетазы (2) по уравнениям:

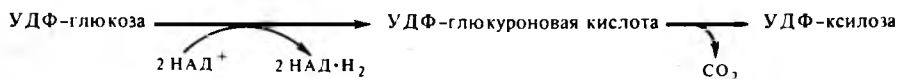


Процессы синтеза и распада гликогена в клетках регулируются благодаря включению механизмов фосфорилирования ключевых ферментов обмена гликогена — гликогенсинтетазы и гликогенфосфорилазы. Активация аденилатциклазы (например, под действием адреналина или глюкагона) приводит к образованию цАМФ, запускающего «каскадный» механизм фосфорилирования гликогенсинтетазы и гликогенфосфорилазы, что приводит к образованию неактивной (фосфорилированной) гликогенсинтетазы D и активной (фосфорилированной) гликогенфосфорилазы А. Эта ситуация благоприятствует распаду гликогена. Напротив, включение механизма дефосфорилирования указанных ферментов с помощью фосфопротеидфосфатазы приводит к образованию неактивной гликогенфосфорилазы В и активной гликогенсинтетазы I, что способствует синтезу, а не распаду гликогена.

Биосинтез других олигосахаридов и полисахаридов

Гомо- и гетерополисахариды входят в качестве углеводного компонента в плазменные и структурные гликопротеиды млекопитающих. Эти углеводы образуются из небольшого ассортимента моносахаридов: галактозы, маннозы, N-ацетилглюкозамина, N-ацетилгалактозамина, фукозы, сиаловой кислоты. Полисахариды соединительной ткани содержат глюкуроновую кислоту, идуроновую кислоту, ксилозу и сульфатированные производные N-ацетилглюкоза-

мина или N-ацетилгалактозамина. Для сборки этих гомо- и гетерогликанов необходимы активированные формы моносахаридов в виде нуклеозидфосфат-производных моносахаридов. Для синтеза используются УДФ-производные глюкозы, галактозы, N-ацетилглюкозамина, N-ацетилгалактозамина, глюкуроновой кислоты и ксилозы; ГДФ-производные маннозы и фукозы; ЦМФ-производные сиаловой кислоты. Образование большинства нуклеозидфосфатсахаров происходит путем взаимодействия моносахаридов или их производных с соответствующими нуклеозидтрифосфатами. В некоторых случаях образование одних моносахаридов из других происходит в составе нуклеозиддифосфатсахаров. Например, из УДФ-глюкозы образуется УДФ-глюкуроновая кислота и УДФ-ксилоза:



Из ГДФ-маннозы образуется ГДФ-фукоза:

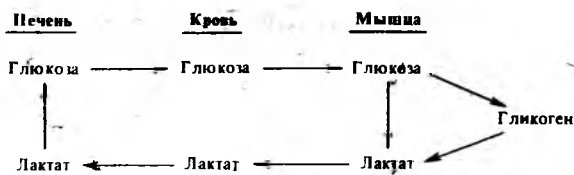


Следует отметить, что, например, УДФ-глюкуроновая кислота образуется в тканях не только для синтеза полисахаридов, но и для обезвреживания и выведения токсических или бесполезных для организма веществ и чужеродных соединений, попадающих в организм.

Синтез олигосахаридов происходит с участием специфических *гликозилтрансфераз*, от разнообразия и специфичности действия которых в каждой клетке зависит образование того или иного типа гомо- или гетерогликана. Гликозилтрансферазы связаны в клетках с мембранами эндоплазматической сети или аппарата Гольджи, где и происходит наиболее активно сборка олигосахаридов. Первоначально сборка, очевидно, идет на молекуле полипре-нолфосфата, на который гликозилтрансферазы последовательно переносят моносахаридные остатки от нуклеозидфосфатсахаров. Затем синтезированный олигосахарид переносится на белок с образованием гликопротеидов. Возможно сразу перенос гликозильных остатков и сборка олиго- и полисахаридов на белковой основе.

3. Регуляция обмена углеводов в организме

Интенсивность рассмотренных путей превращения углеводов в разных тканях организма неодинакова и определяется особенностями обмена каждой ткани и органа. Однако в условиях целого организма некоторая специализация путей превращения углеводов в отдельных тканях удачно дополняет друг друга. Например, при активной мышечной работе требуется энергия, которая первоначально извлекается в ходе распада гликогена до молочной кислоты. Последняя вымывается в кровь, с которой поступает в печеночную ткань, где из нее образуется глюкоза в ходе глюконеогенеза. Глюкоза из печени с кровью достигает скелетных мышц, где расходуется на образование энергии и откладывается в виде гликогена. Этот межтканевый (или межорганый) цикл в обмене углеводов получил название цикла Кори:



Наиболее важное значение для организма имеет поддержание на постоянном уровне глюкозы в крови, поскольку глюкоза является основным энергетическим субстратом для нервной ткани. В норме содержание глюкозы в крови составляет 3,3—4,0 ммоль/л. Повышение ее в крови называется *гипергликемией*. Если гипергликемия достигает 9—10 ммоль/л, то глюкоза выделяется с мочой, т. е. наступает *глюкозурия*. Снижение содержания глюкозы в крови называется *гипогликемией*. Если гипогликемия достигает порядка 1,5 ммоль/л, то возникает обморочное состояние, а если еще ниже, то повышается возбудимость нервной системы вплоть до судорог.

Для понимания механизма регуляции уровня глюкозы в крови необходимо рассмотреть процессы, которые способствуют его повышению или понижению (рис. 54).

Процессы, ведущие к гипергликемии:

- 1) всасывание глюкозы из кишечника (пищевая гипергликемия);
- 2) распад гликогена до глюкозы (как правило, в печени);
- 3) глюконеогенез (в печени и почках).

Процессы, ведущие к гипогликемии:

1) транспорт глюкозы из крови в ткани и окисление ее до конечных продуктов;

2) синтез из глюкозы гликогена в печени и скелетных мышцах;

3) образование из глюкозы триацилглицерина в жировой ткани.

Прием углеводов с пищей вызывает скоропроходящую (через 1—2 ч) гипергликемию, а иногда и глюкозурию. Голодание приводит к мобилизации запасов гликогена в печени и скелетной мышце, что препятствует развитию гипогликемии, но лишь в течение нескольких часов. Затем при продолжительном голодании уровень глюкозы поддерживается только благодаря новообразованию глюкозы, главным образом за счет аминокислот белков, распадающихся в тканях. По существу, резервами белков, расходующихся на образование глюкозы, определяется потенциальная возможность выдержать срок голодания.

Уровень глюкозы в крови находится под контролем нервно-гормональных механизмов. Возбуждение симпатического отдела вегетативной нервной системы повышает уровень глюкозы в крови, а парасимпатического — снижает. Единственным гормоном снижающим содержание глюкозы, является *инсулин*. Он стимулирует все три процесса усвоения глюкозы (транспорт внутрь клеток и ее

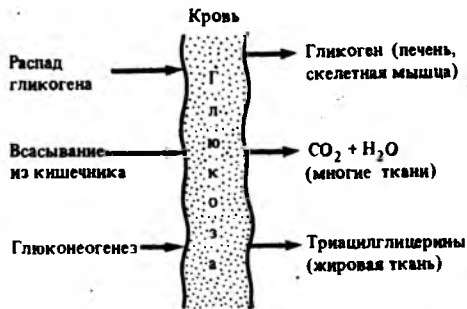


Рис. 51. Схема процессов, повышающих (слева) и понижающих (справа) уровень глюкозы в крови

распад, синтез гликогена, синтез триацилглицерина из глюкозы в жировой ткани). Все остальные гормоны повышают уровень глюкозы, поэтому их иногда называют *контринсулярными*. К ним относятся адреналин, глюкагон, тироксин и триодтиронин, соматотропин (стимулируют распад гликогена), глюкокортикоиды (стимулируют глюконеогенез).

ГЛАВА 18. ОБМЕН ЛИПИДОВ

В тканях организма происходит непрерывное обновление липидов. Основную массу липидов тела человека составляют триацилглицерины, которые имеются в виде включений в большинстве тканей, но особенно ими богата жировая ткань, почти полностью состоящая из триацилглицеринов. Поскольку они играют энергетическую роль, то процессы обновления триглицеридов (период полупревращения их в разных органах колеблется от 2 до 18 сут) связаны с мобилизацией и депонированием их в процессе образования энергии.

Сложные липиды (фосфолипиды, сфинголипиды, гликолипиды, холестерин и его эфиры), входящие в состав биологических мембран, обновляются менее интенсивно, чем триацилглицерины. Их обновление связано или с восстановлением поврежденного участка мембраны, или с заменой «дефектной» молекулы на новую.

Обновление липидов тканей требует предварительного внутриклеточного гидролиза их ферментами.

1. Распад липидов в тканях

Внутриклеточный гидролиз липидов

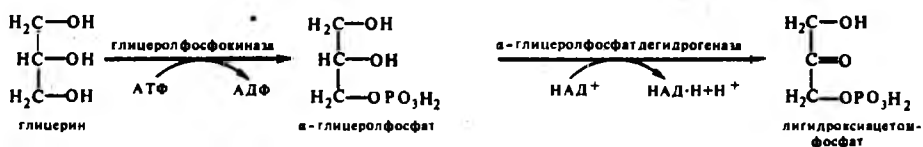
Гидролиз триацилглицеринов в тканях осуществляется тканевой *триацилглицеринлипазой*, которая гидролизует их на глицерин и свободные жирные кислоты. Имеется несколько разновидностей тканевых липаз, отличающихся прежде всего оптимумом pH и локализацией в клетке. Кислая липаза содержится в лизосомах, щелочная — в микросомах, нейтральная — в цитоплазме. Характерным свойством тканевой липазы является чувствительность к гормонам, которые, активируя аденилатциклазу, вызывают переход неактивной липазы тканей в активную путем фосфорилирования с помощью протеинкиназы. Механизм этот сходен с активированием фосфоорилазы В. Под действием липазы происходит мобилизация триацилглицеринов. Этот процесс называется также тканевым *липолизом*.

Фосфоглицериды клеточных мембран гидролизуются с помощью *фосфолипаз* A₁, A₂, C и D, локализованных преимущественно в лизосомах. Но отдельные фосфолипазы имеются и в других органоидах клетки. Продуктами гидролиза фосфоглицеридов являются глицерин, жирные кислоты, азотистые спирты, неорганический фосфат. Имеются специфические ферменты гидролиза сфинголипидов и гликолипидов, которые участвуют в их обновлении.

Известно, что гидролиз внутриклеточных липидов не приводит к накоплению глицерина и жирных кислот. Это говорит о том, что скорость гидролиза сбалансирована со скоростью их окисления внутри клетки. В жировой ткани образующиеся в результате гидролиза триацилглицеринов глицерин и жирные кислоты не подвергаются окислению, а поступают в кровь, из которой потребляются другими органами.

Окисление глицерина

Обмен глицерина тесно связан с гликолизом, в который вовлекаются метаболиты глицерина по следующей схеме:

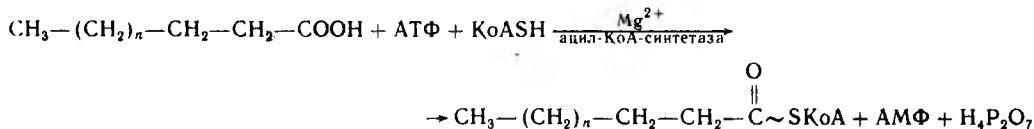


Сначала глицерин при участии *глицеролфосфокиназы* превращается в α -глицеролфосфат. Последний под действием НАД-зависимой α -глицеролфосфат-дегидрогеназы превращается в дигидроксиацетонфосфат, который, являясь обычным метаболитом гликолиза, включается в гликолиз и превращается его ферментами до лактата в анаэробных условиях или до CO_2 и H_2O в аэробных. Превращение одной молекулы глицерина дает одну молекулу АТФ в анаэробных условиях и 19 молекул АТФ в аэробных. Глицерин — хороший энергетический субстрат и используется в этих целях практически всеми органами и тканями.

Окисление жирных кислот

Окисление высших жирных кислот было впервые изучено в 1904 г. Кноопом, который, вводя животным фенилзамещенные жирные кислоты, показал, что в ходе их окисления происходит постепенный отрыв двух углеродных фрагментов с карбоксильного конца. Кнооп назвал механизм окисления жирных кислот β -окислением. В 1948—1949 гг. Кеннеди и Ленинджер установили, что окисление жирных кислот происходит только в митохондриях. Линен с сотр. (1954—1958) описал основные ферментативные процессы окисления жирных кислот. В настоящее время β -окисление жирных кислот называют циклом Кноопа—Линена.

Жирные кислоты, образовавшиеся в клетке путем гидролиза триацилглицеринов или поступившие в нее из крови, должны быть активированы. Активирование их происходит в цитоплазме с участием *ацил-КоА-синтетазы* по схеме



Поскольку этот процесс идет вне митохондрий, то далее необходим транспорт ацила через мембрану внутрь митохондрий.

Транспорт происходит с участием *карнитина*, на который перебрасывается ацил с ацил-КоА на внешней стороне. Ацилкарнитин диффундирует к внутренней стороне мембраны, где отдает свой ацил КоА, находящемуся в матриксе. Процесс обратимого переноса ацила между КоА и карнитином на внешней и внутренней стороне мембраны осуществляется ферментом *ацил-КоА-карнитин-трансферазой* (рис. 52).

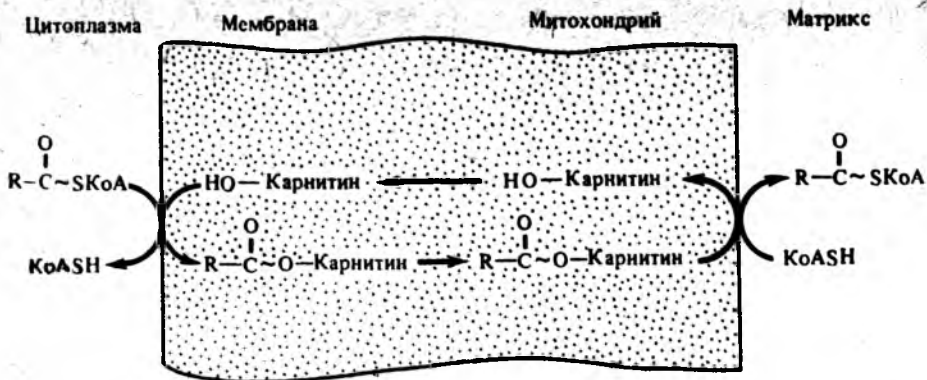


Рис. 52. Схема транспорта жирных кислот через митохондриальную мембрану.

В матриксе происходит окисление жирной кислоты в цикле Кноопа—Линена. В состав этого цикла входят четыре фермента, которые последовательно действуют на ацил-КоА. К ним относятся: *ацил-КоА-дегидрогеназа* (ФАД-зависимый фермент), *эноил-КоА-гидратаза*, *3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа* (НАД-зависимый фермент) и *ацетил-КоА-ацилтрансфераза*. За один виток или оборот цикла от жирной кислоты отрывается остаток уксусной кислоты в виде ацетил-КоА и образуется одна молекула ФАД·Н₂ и одна молекула НАД·Н₂ (рис. 53). Затем циклы повторяются до тех пор, пока жирная кислота не укоротится до четырехуглеродного фрагмента → бутирил-КоА. На последнем витке бутирил-КоА разрывается пополам, поэтому образуется не одна, а две молекулы ацетил-КоА.

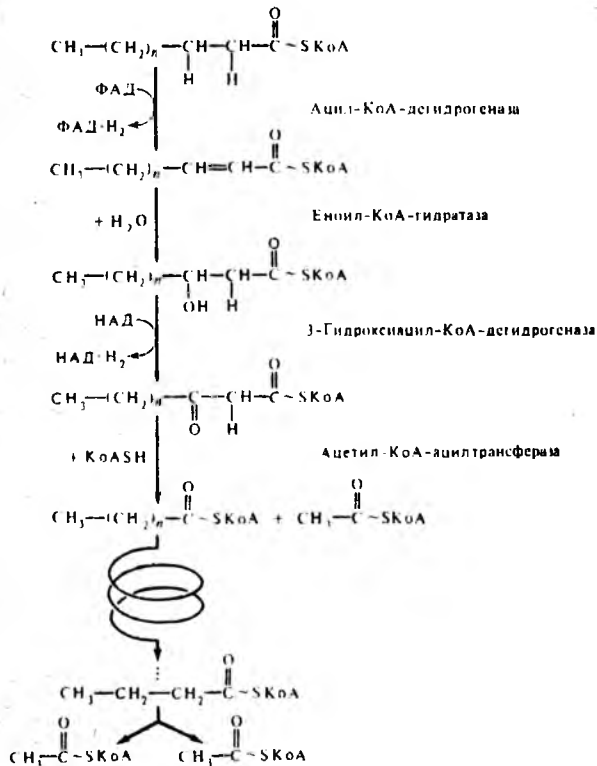
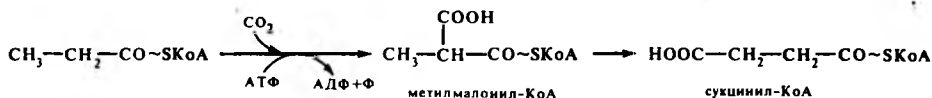


Рис. 53. Схема окисления жирных кислот в цикле Кноопа—Линена

Продуктами окисления жирной кислоты с четным числом углеродных атомов являются ацетил-КоА, ФАД·Н₂ и НАД·Н₂. Далее ацетил-КоА вступает в цикл Кребса, а ФАД·Н₂ и НАД·Н₂ — прямо в дыхательную цепь.

Особенности окисления жирных кислот с нечетным

числом углеродных атомов состоит в том, что наряду с обычными продуктами окисления (как у четных) — ацетил-КоА, ФАД·Н₂ и НАД·Н₂, образуется одна молекула пропионил-КоА (СН₃—СН₂—СО~SKoA) на молекулу —окисленной жирной кислоты. Пропионил-КоА превращается в сукцинил-КоА:



Карбоксилирование пропионил-КоА осуществляется под действием *пропионил-КоА-карбоксилазы* (коферментом этого фермента служит биотин—переносчик карбоксигрупп; реакция требует также АТФ). Образовавшийся метилмалонил-КоА превращается *метилмалонил-КоА-мутазой* (кофермент которой дезоксиаденозилкобаламин является производным витамина В₁₂) в сукцинил-КоА, который вступает в цикл Кребса.

Особенности окисления ненасыщенных жирных кислот определяются положением и числом двойных связей в их молекулах. До места двойной связи ненасыщенные жирные кислоты окисляются так же, как насыщенные. Если двойная связь имеет ту же конфигурацию (*транс*-конфигурацию) и расположение ($\Delta^{2,3}$), что и в еноил-КоА, образующемся при окислении насыщенных жирных кислот, то далее окисление идет обычным путем. В противном случае в реакциях участвует дополнительный фермент $\Delta^{3,4}$ -*цис*- $\Delta^{2,3}$ -*транс-еноил-КоА-изомераза*, который способствует перемещению двойной связи в нужное положение и изменяет конфигурацию ее из *цис*- в *транс*-.

Скорость окисления ненасыщенных жирных кислот выше, чем насыщенных. Например, если взять за эталон скорость окисления насыщенной стеариновой кислоты, то скорость окисления олеиновой в 11, линолевой в 114, линоленовой в 170, а арахидоновой почти в 200 раз выше, чем стеариновой.

Кроме β -окисления встречаются еще два пути окисления жирных кислот, получившие название α - и ω -окисления. Они малоактивны и связаны с образованием сначала α - и ω -гидроксикислот, а затем с их дальнейшими превращениями. Эти пути окисления не имеют такого энергетического значения, как β -окисление, и, возможно, связаны с какими-то специальными функциями клетки.

Энергетический баланс окисления жирных кислот. Энергетическая ценность жирной кислоты с четным числом углеродных атомов рассчитывается следующим образом. Если жирная кислота содержит $2n$ атомов углерода, то при полном ее окислении образуется n молекул ацетил-КоА (каждый ацетил имеет два атома углерода) и $n-1$ молекул ФАД·Н₂ и НАД·Н₂ (поскольку в ходе последнего цикла окисления образуется 2 молекулы ацетил-КоА, но по одной молекуле ФАД·Н₂ и НАД·Н₂). Окисление ФАД·Н₂ дает 2 АТФ, а НАД·Н₂ — 3 АТФ; вместе они дают 5 АТФ или в общем виде $5(n-1)$ АТФ. Полное сгорание одной молекулы ацетил-КоА, как уже говорилось, приводит к образованию 12 молекул АТФ, а n молекул ацетил-КоА дают $12n$ молекул АТФ. Одна молекула АТФ затрачивается на активирование жирной кислоты, следовательно, остается $12n-1$ молекул АТФ. В итоге баланс АТФ при полном окислении жирной кислоты с четным числом атомов углерода можно выразить формулой

$$5(n-1) + 12n - 1 = 17n - 6 \text{ молекул АТФ.}$$

где n равно половине числа атомов углерода, содержащихся в конкретной жирной кислоте. Например, молекула пальмитиновой кислоты, содержащая 16 атомов углерода, дает 130 молекул АТФ.

Энергетическая ценность жирных кислот выше, чем, например, глюкозы. Так, полное сгорание капроновой кислоты, имеющей то же число атомов углерода, что и глюкоза, дает 45 молекул АТФ (глюкоза дает 38 молекул АТФ). Однако для сгорания в цикле Кребса молекул ацетил-КоА, образующихся при β -окислении, требуется достаточное количество оксалоацетата. В этом отношении углеводы имеют преимущество перед жирными кислотами, ибо при их распаде образуется пируват, являющийся источником образования не только ацетил-КоА, но и оксалоацетата (пируваткарбоксилазная реакция), т. е. облегчается превращение ацетил-КоА в цикле Кребса. Не случайно в биохимической литературе бытовало выражение, что «жиры сгорают в пламени углеводов», поскольку образующийся уже в гликолизе АТФ может использоваться для активирования жирных кислот в цитоплазме, а образующийся из пирувата оксалоацетат облегчает включение ацетильных остатков жирной кислоты в цикл Кребса.

Значение жирных кислот как энергетических субстратов для разных органов и тканей. Не все ткани с одинаковой интенсивностью используют жирные кислоты и промежуточные продукты их окисления — кетоновые тела — как энергетические субстраты. Активно используют жирные кислоты сердце, а также почки, скелетные мышцы (при длительной работе). В этих же органах сгорают кетоновые тела, которые служат источником энергии. В нервной ткани доля использования жирных кислот и кетоновых тел для обеспечения энергетических нужд незначительна.

2. Биосинтез липидов в тканях

Синтез жирных кислот

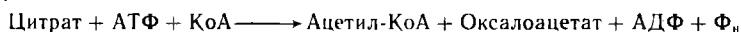
В тканях организма происходит непрерывное возобновление жирных кислот, которые расходуются не только на энергетические нужды, но и на синтез многокомпонентных липидов (триацилглицеринов, фосфолипидов и т. д.). В клетках организма жирные кислоты заново синтезируются из простых фрагментов с участием полиферментного надмолекулярного комплекса, называемого *синтезазой жирных кислот*. В лаборатории Линена была выделена синтетаза сначала из дрожжей, а затем из печени птиц и млекопитающих. Поскольку у млекопитающих синтезируется в основном пальмитиновая кислота, то этот полиферментный комплекс называют *пальмитатсинтезазой*.

Синтез жирных кислот имеет ряд особенностей:

- 1) в отличие от окисления синтез локализован в эндоплазматической сети;
- 2) источником синтеза является малонил-КоА, образующийся из ацетил-КоА;
- 3) ацетил-КоА непосредственно в реакциях синтеза используется только как затравка;
- 4) для восстановления промежуточных продуктов синтеза жирных кислот используется НАДФ·Н₂;
- 5) все стадии синтеза жирной кислоты из малонил-КоА представляют

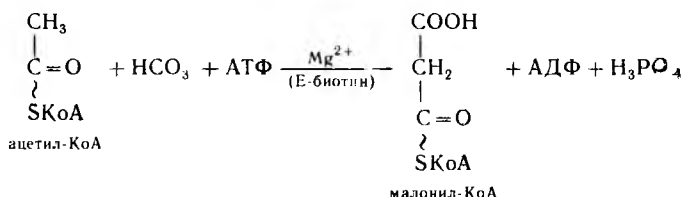
собой циклический процесс, который протекает на поверхности пальмитатсинтетазы.

Образование малонил-КоА для синтеза жирных кислот. Субстратом для образования малонил-КоА служит ацетил-КоА. Имеется несколько путей поступления ацетил-КоА в цитоплазму. Один из них — перенос ацетильных остатков из матрикса митохондрий через митохондриальную мембрану в цитоплазму. Этот процесс сходен с переносом жирных кислот и осуществляется также с участием карнитина и фермента *ацетил-КоА-карнитинтрансферазы*. Другой путь — это образование ацетил-КоА из цитрата. Цитрат поступает из митохондрий и в цитоплазме расщепляется с помощью фермента *АТФ-цитратлиазы*:



Реакция практически необратима и сдвинута вправо.

Из ацетил-КоА, поступающего этими путями в цитоплазму, образуется малонил-КоА:



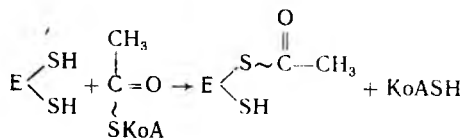
Реакция катализируется биотиновым ферментом *ацетил-КоА-карбоксилазой* (E-биотин) с участием ионов Mg^{2+} . Этот фермент является тетрамером с молекулярной массой 400 000—500 000.

Стадии синтеза жирной кислоты на поверхности пальмитатсинтетазы.

Пальмитат-синтетаза состоит из семи ферментов, каждый из которых выполняет определенные функции. В центре полиферментного комплекса находится *ацил-переносящий белок* (АПБ), а по периметру шесть остальных ферментов. АПБ выполняет роль акцептора и распределителя ацильных остатков. В его составе имеется ковалентно связанный *4-фосфоантетеин*, содержащий свободную SH-группу, с которой и связываются ацилы. Кроме этой центральной SH-группы у пальмитатсинтетазы имеется и периферическая. Обе SH-группы как акцепторы ацилов участвуют в процессе синтеза жирных кислот на поверхности полиферментного комплекса.

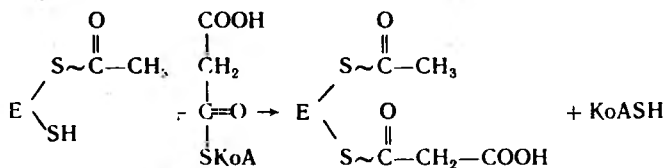
Если пальмитатсинтетазу обозначить символом $\text{E} \begin{array}{l} \text{SH} \\ \text{SH} \end{array}$, то циклический процесс синтеза жирной кислоты можно описать рядом последовательно протекающих реакций.

1. Перенос ацетила с ацетил-КоА на синтетазу:



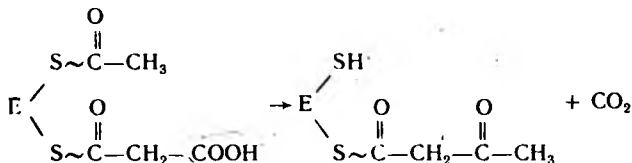
Эта реакция осуществляется первым ферментом пальмитатсинтетазы — *ацетилтрансацилазой*, имеющей SH-группу. Ацетил здесь выполняет роль заправки в синтезе.

2. Перенос малонила с малонил-КоА на синтетазу:



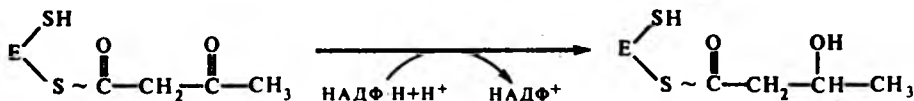
Реакция осуществляется вторым ферментом синтетазы — *малонилтрансацилазой*.

3. Конденсация ацетила с малонилом и декарбоксилирование образовавшегося продукта:



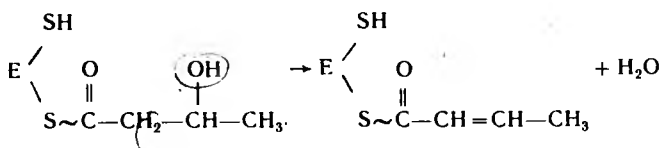
Реакция катализируется третьим ферментом синтетазы — *β-кетоацил-синтетазой*. При этом образуется ацетоацетил, связанный с синтетазой.

4. Первое восстановление промежуточного продукта с участием НАДФ · Н₂



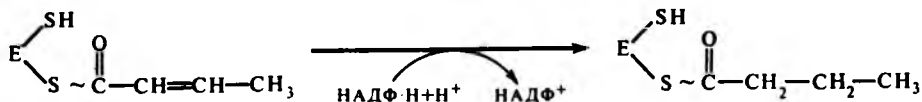
Реакция катализируется четвертым ферментом синтетазы — *β-кетоацил-редуктазой* с образованием гидроксипутирила.

5. Дегидратация промежуточного продукта:

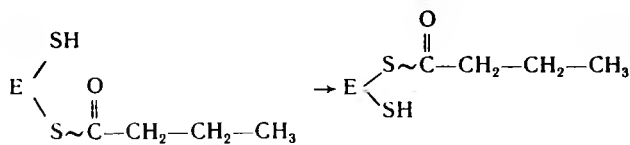


Реакция катализируется пятым ферментом синтетазы — *гидроксиацил-гидратазой* с образованием кротоныла.

6. Второе восстановление промежуточного продукта с участием НАДФ · Н₂



Реакция катализируется шестым ферментом синтетазы — *еноилредуктазой* с образованием путирила, связанного с ферментом. Синтезированный путирил переносится с участием первого фермента синтетазы — ацетилтрансацилазы — на ту SH-группу (на схеме верхняя), с которой вначале был связан затраточный ацетил. На освободившуюся SH-группу (нижнюю) поступает новый малонильный остаток:



Цикл синтеза повторяется.

Для синтеза пальмитиновой кислоты нужно семь таких циклов, соответственно требуется семь остатков малонила и один ацетил. Последний является конечным фрагментом жирной кислоты. Синтезированная пальмитиновая кислота или переносится на внешний КоА с образованием ацил-КоА, или, чаще, гидролизуется с помощью специфической *пальмитатдеацетилазы* с образованием свободной жирной кислоты.

Удлинение жирных кислот. В митохондриях и эндоплазматической сети возможно удлинение синтезированных или поступивших с пищей жирных кислот. Этот процесс отличается от синтеза жирных кислот заново. В митохондриях удлинение осуществляется с помощью комплекса ферментов путем добавления ацетильных остатков от ацетил-КоА. В эндоплазматической сети удлинение осуществляется комплексом ферментов путем использования малонил-КоА.

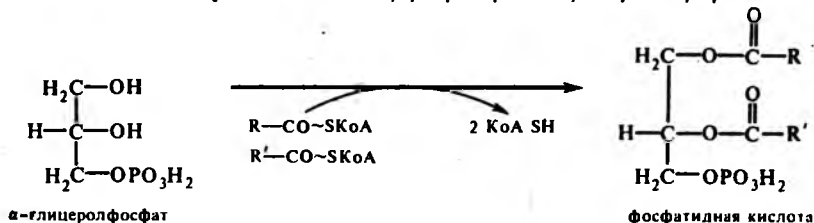
Биосинтез ненасыщенных жирных кислот. В тканях млекопитающих возможно образование только моноеновых жирных кислот. Из стеариновой образуется олеиновая, из пальмитиновой — пальмитоолеиновая. Этот синтез происходит в эндоплазматической сети клеток печени с помощью монооксигеназной цепи окисления. Остальные ненасыщенные жирные кислоты не образуются в организме человека и должны поступать с растительной пищей (в растениях образуются полиненасыщенные жирные кислоты). Полиненасыщенные жирные кислоты для млекопитающих являются незаменимыми факторами пищи.

Биосинтез триацилглицеринов

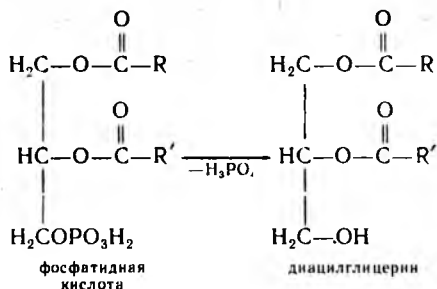
Синтез триацилглицеринов происходит при депонировании липидов в жировой ткани или в других тканях организма. Этот процесс локализуется в гиалоплазме клеток.

Непосредственно для синтеза триацилглицеринов используется α -глицеролфосфат, а не свободный глицерин, и ацил-КоА, а не свободная жирная кислота. α -Глицеролфосфат образуется путем фосфорилирования поступающего в ткани глицерина или при восстановлении промежуточного продукта гликолиза дигидроксиацетонфосфата.

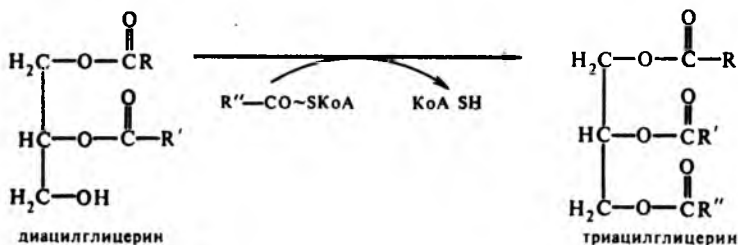
Первой стадией синтеза триацилглицеринов служит образование фосфатидной кислоты с участием *глицерофосфат-ацилтрансферазы*:



Далее фосфатидная кислота подвергается действию фосфатидат-фосфатазы с образованием диацилглицерина:



На диацилглицерин с помощью *диацилглицерол-ацилтрансферазы* переносится третий ацильный остаток:



Синтезируемый триацилглицерин накапливается в виде жировых включений в цитоплазме клеток.

Биосинтез фосфолипидов

Синтез фосфолипидов связан с обновлением мембран. Этот процесс протекает в гиалоплазме тканей. Первые стадии синтеза фосфолипидов и триацилглицеринов совпадают. Эти пути расходятся на уровне фосфатидной кислоты и диацилглицерина (рис. 54).

Существует два пути синтеза фосфолипидов, причем для обоих необходим ЦТФ. Первый путь связан с вовлечением фосфатидной кислоты в синтез фосфоглицеридов. Взаимодействие ее с ЦТФ приводит к образованию ЦДФ-диацилглицерина, который как кофермент способен участвовать в переносе диацилглицерина на серин (или инозит). При этом образуется фосфатидилсерин (или фосфатидинозит). Серинфосфатиды декарбоксилируются (коферментом служит пиридоксальфосфат) и образуются этаноламинфосфатиды. Последние метилируются с участием S-аденозилметионина (донор трех метильных групп), а переносчиками метильных групп служат тетрагидрофолиевая кислота и метилкобаламин.

Второй путь синтеза связан с активированием спирта, например холина, с образованием ЦДФ-холина. Последний участвует в переносе холина на диацилглицерин с образованием фосфатидилхолина.

Синтезированные фосфолипиды переносятся с помощью липидпереносящих белков цитоплазмы к мембранам (клеточным, внутриклеточным) и встраиваются на место старых молекул.

**Биосинтез фосфолипидов
(2-й путь)**

Биосинтез триацилглицеринов

**Биосинтез фосфолипидов
(1-й путь)**

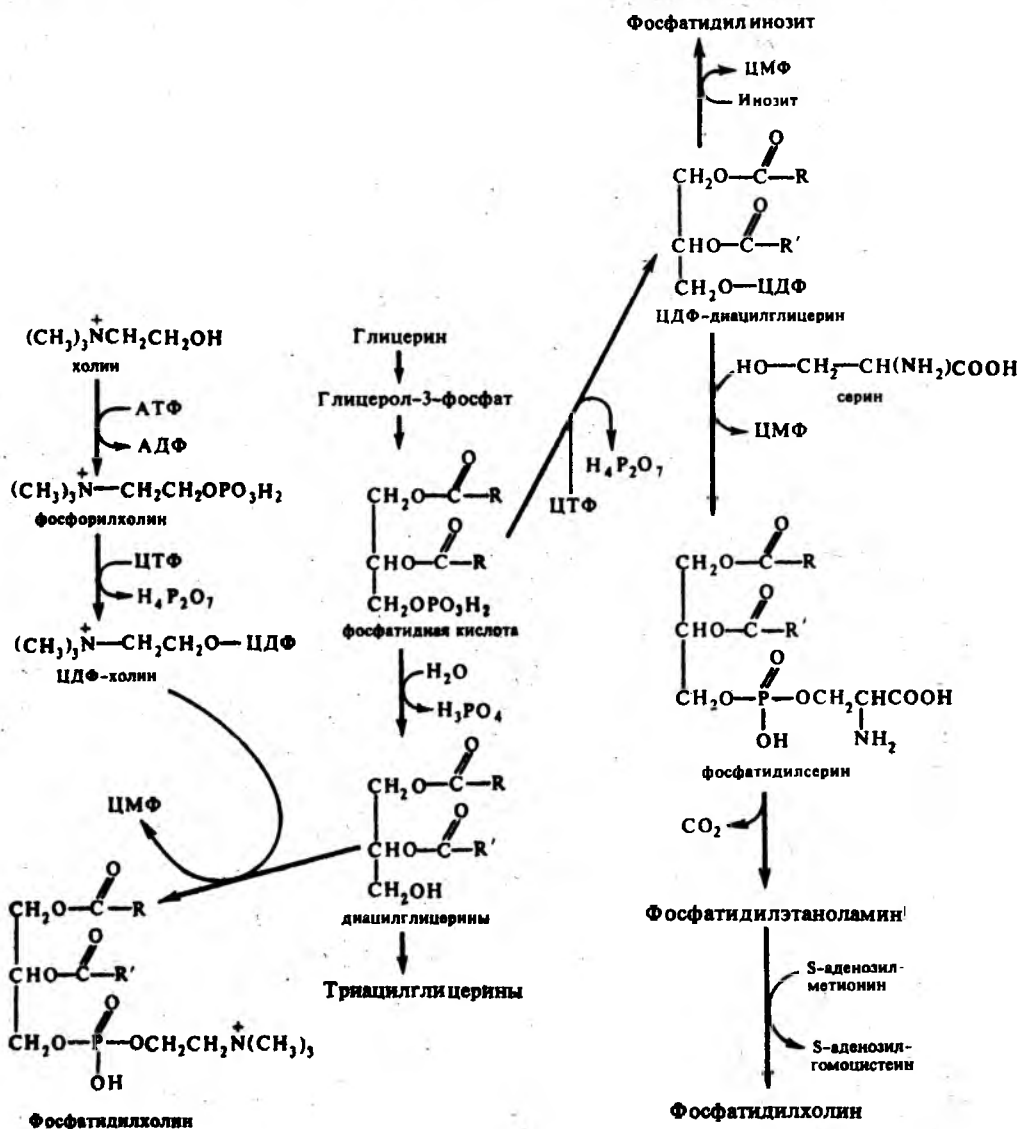


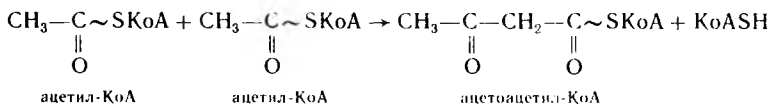
Рис. 54. Схема двух путей синтеза некоторых фосфолипидов (по Т. Т. Березову и Б. Ф. Коровкину)

Вследствие конкуренции между путями синтеза фосфолипидов и триацилглицеринов за общие субстраты все вещества, способствующие синтезу фосфолипидов, препятствуют отложению триацилглицеринов в тканях. Эти вещества называются *липотропными факторами*. К ним можно отнести структурные компоненты фосфолипидов — холин, инозит, серин; вещество, облегчающее декарбоксилирование серинфосфатидов — пиридоксальфосфат; донор метильных групп — метионин; фолиевую кислоту и цианкобаламин, участвующих в образовании коферментов переноса метильных групп (ТГФК и метилкобаламин). Их можно использовать как лекарственные препараты, препятствующие избыточному отложению триацилглицерина в тканях (жировая инфильтрация).

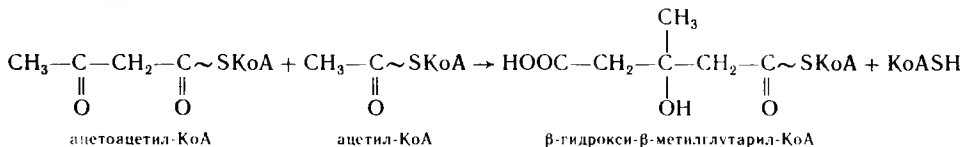
Биосинтез кетоновых тел

Кетоновыми, или ацетоновыми, телами называются три вещества: ацетоацетат, β -гидроксibuтират и ацетон. Они являются недоокисленными, промежуточными продуктами распада, главным образом жирных кислот и углеродных скелетов так называемых кетогенных аминокислот (лейцин, изолейцин, лизин, фенилаланин, тирозин и триптофан). Образование кетоновых тел, или кетогенез, происходит в митохондриях печени (в других органах кетогенез отсутствует). Возможны два пути кетогенеза. Наиболее активный из них — это *гидроксиметилглутаратный цикл*, названный так по ключевому соединению, образующемуся в данном цикле. Другой — *деацетилазный*. Он малоактивен. Исходным веществом для биосинтеза кетоновых тел служит ацетил-КоА.

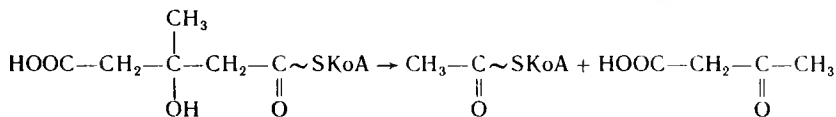
Гидроксиметилглутаратный цикл. На первой стадии происходит конденсация двух молекул ацетил-КоА с участием *ацетил-КоА-ацетилтрансферазы*:



Далее ацетоацетил-КоА конденсируется еще с одной молекулой ацетил-КоА с участием *гидроксиметилглутарил-КоА-синтазы*:

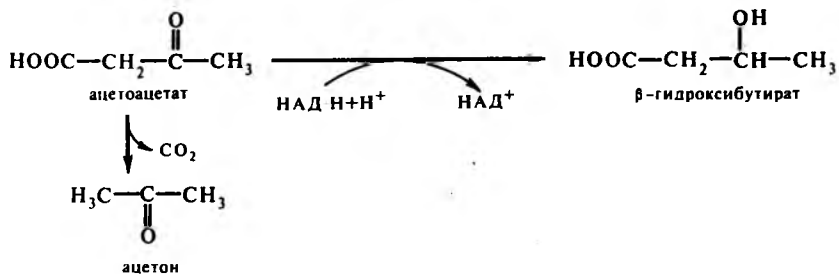


β -Гидрокси- β -метилглутарил-КоА расщепляется под действием *гидроксиметилглутарил-КоА-лиазы* на ацетил-КоА и ацетоацетат:



Ацетил-КоА вновь используется на первой стадии и тем самым замыкает процесс в цикл. Ацетоацетат — представитель семейства кетоновых тел, является конечным продуктом гидроксиметилглутаратного цикла.

Остальные кетоновые тела образуются из ацетоацетата: β -гидроксибутират — путем восстановления его с участием НАД-зависимой *гидроксибутират-дегидрогеназы*, а ацетон — в результате декарбоксилирования ацетоацетата



с участием *ацетоацетат-декарбоксилазы*.

Деацетилазный путь кетогенеза возможен после образования ацетоацетил-КоА, который в печени с участием *ацетоацетил-КоА-гидролазы*, или *деацетилазы*, гидролизуется до ацетоацетата.

В печени кетоновые тела далее не превращаются, а поступают в кровь. В норме содержание кетоновых тел (в виде ацетоацетата и β -гидроксибутирата) составляет всего 0,1—0,6 ммоль/л. Остальные ткани и органы (сердце, легкие, почки, мышцы и даже нервная ткань) в отличие от печени используют их как энергетические субстраты. В клетках этих тканей ацетоацетат и β -гидроксибутират в конечном счете включаются в цикл Кребса и «сгорают» до CO_2 и H_2O с выделением энергии.

Биосинтез холестерина

В опытах с радиоактивно меченой уксусной кислотой, которая скормливалась животным, было установлено, что углеродный скелет холестерина целиком состоит из углерода уксусной кислоты.

Биосинтез холестерина из ацетил-КоА происходит с участием ферментов эндоплазматической сети и гиалоплазмы многих тканей и органов. Наиболее активен этот процесс в печени взрослого человека.

Биосинтез холестерина — многостадийный процесс, который можно разбить на три этапа:

1) образование мевалоновой кислоты из ацетил-КоА;

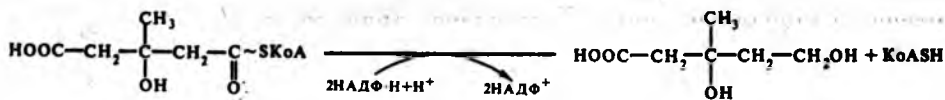
2) синтез из мевалоновой кислоты «активного изопрена» с конденсацией последнего в сквален;

3) превращение сквалена в холестерин.

Начальные реакции первого этапа до образования β -гидрокси- β -метил-глутарил-КоА из ацетил-КоА сходны с начальными реакциями кетогенеза с той лишь разницей, что кетогенез протекает в митохондриях, а биосинтез холестерина — вне митохондрий:



Далее β -гидрокси- β метилглутарил-КоА под действием *гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазы* превращается в мевалоновую кислоту:



Эта реакция необратима и лимитирует скорость биосинтеза холестерина в целом.

Возможен и второй путь образования мевалоновой кислоты, отличающийся от описанного тем, что образование β-гидрокси-β-метилглутарильного остатка происходит на поверхности ацилпереносящего белка (как при биосинтезе жирных кислот). Промежуточный продукт этого пути β-гидрокси-β-метилглутарил-S-АПБ восстанавливается другим ферментом до мевалоновой кислоты.

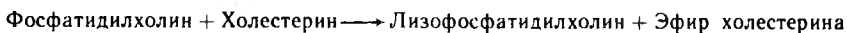
На втором этапе мевалоновая кислота в ходе нескольких ферментных реакций, в которых расходуется АТФ, превращается в изопентилпирофосфат и его изомер 3,3-диметилаллилпирофосфат. Оба эти вещества и есть «активный изопрен», который используется на образование сквалена.

На третьем этапе из сквалена образуется холестерин:



Гидроксилирование стероидного кольца протекает с участием монооксигеназной цепи мембран эндоплазматической сети.

Эфиры холестерина образуются путем переноса ацила с ацил-КоА или с фосфатидилхолина на гидроксильную группу холестерина. Последний процесс катализируется *фосфатидилхолин-холестерин-ацилтрансферазой*:



Эфиры холестерина особенно активно образуются в слизистой кишечника и печени.

Таким образом, холестерин в тканях может синтезироваться из любых веществ, при распаде которых образуется ацетил-КоА. К ним относятся углеводы, аминокислоты, жирные кислоты, глицерин.

Печень играет главную роль в обмене холестерина. В ней синтезируется до 90% всего эндогенного холестерина и его эфиров; она же участвует в распределении его по другим органам (так как в печени происходит синтез апопротеинов пре-β-липопротеидов, α-липопротеидов и β-липопротеидов, транспортирующих с кровью холестерин) и в выделении холестерина с желчью. Кишечной микрофлорой некоторая часть холестерина разрушается, большая часть восстанавливается до копростанола и холестанола, которые вместе с небольшим количеством неизмененного холестерина выделяются с калом.

Холестерин, преимущественно в этерифицированном виде, используется на построение биомембран в клетках. Кроме того, из холестерина образуются важные в биологическом отношении стероидные соединения: желчные кислоты (в печени), стероидные гормоны (в коре надпочечников, женских и мужских половых железах, плаценте) и витамин D₃, или холекальциферол (в коже).

3. Регуляция обмена липидов в организме

Интенсивность превращения липидов в тканях организма зависит от поступления липидов с пищей и нервно-гормональной регуляции. Избыточное по-

требление калорийной пищи — углеводов, триацилглицеринов, препятствует расходу эндогенных запасов триацилглицеринов в жировой ткани. Более того, углеводы служат прекрасным источником новообразования различных липидов, поэтому прием большого количества только углеводистой пищи оказывает существенное влияние на образование триацилглицеринов и холестерина.

Синтез эндогенного холестерина также регулируется поступающим с пищей экзогенным холестерином: чем больше потребляется с пищей холестерина, тем меньше его образуется в печени. Экзогенный холестерин тормозит активность гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазы и циклизацию сквалена в ланостерин.

Существенную роль в превращении липидов в организме играет соотношение в пище различных липидов. От количества полиненасыщенных жирных кислот и фосфолипидов зависит не только всасывание жирорастворимых витаминов, растворителями которых они являются, но и растворимость и стабильность холестерина в жидкостях организма (плазме крови, лимфе) и желчевыводящих путях. Растительные масла, содержащие много фосфолипидов и полиеновых кислот, препятствуют избыточному накоплению холестерина, его отложению в сосудах и других тканях и способствуют выведению его из организма. Наиболее сильное влияние на эти процессы оказывают кукурузное, сафлоровое, хлопковое и подсолнечное масла. Потребление ненасыщенных жирных кислот, имеющих в растительных маслах, оказывает благоприятное воздействие на синтез эндогенных фосфолипидов, субстратами которых они являются, и на образование других веществ, для которых требуются полиеновые жирные кислоты, например простагландинов. Являясь разобшителями окислительного фосфорилирования, ненасыщенные жирные кислоты ускоряют процессы окисления в митохондриях тканей и тем самым регулируют избыточное отложение триацилглицеринов.

Существенное влияние на биосинтез фосфолипидов и триацилглицеринов оказывают липотропные факторы. Как уже говорилось, они облегчают биосинтез фосфолипидов. Отсутствие их в пище способствует образованию триацилглицеринов.

Голодание вызывает мобилизацию триацилглицеринов из жировой ткани и угнетает эндогенный биосинтез холестерина из-за малой активности гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазы. Последнее открывает путь для активного производства кетоновых тел в печени.

Нервно-гормональная регуляция липидного обмена сказывается в основном на мобилизации и синтезе триацилглицеринов в жировой ткани. Липолиз в тканях зависит от активности триацилглицеринлипазы. Все регуляторы, способствующие переходу неактивной (нефосфорилированной) липазы в активную (фосфорилированную), стимулируют липолиз и выход жирных кислот в кровь. Стимуляторами этого процесса являются адреналин и норадреналин (выделяющиеся в окончаниях симпатических нервов), гормоны (глюкагон, адреналин, тироксин, тринодтиронин, соматотропин, β -липотропин, кортикотропин и др.), межтканевые регуляторы, или гормоноподобные вещества (гистамин, серотонин и т. д.). Инсулин, наоборот, угнетает аденилатциклазу, чем препятствует образованию активной липазы в жировой ткани, т. е. тормозит липолиз. Кроме того, инсулин способствует новообразованию триацилглицеринов из углеводов, что в целом обеспечивает отложение липидов в жировой ткани, а также образование холестерина в других тканях. Гормоны

цитовидной железы тироксин и триодтиронин способствуют окислению боковой цепи холестерина и выведению холестерина с желчью в кишечник.

4. Патология липидного обмена

Наиболее часто патология липидного обмена проявляется в виде *гиперлипемий* (повышенное содержание липидов в крови) и *тканевых липидозов* (избыточное отложение липидов в тканях). В норме содержание липидов в плазме крови следующее: общие липиды — 4—8 г/л; триглицериды — 0,5—2,1 ммоль/л; фосфолипиды общие — 2,0—3,5 ммоль/л; холестерин общий — 4,0—10,0 ммоль/л ($\frac{2}{3}$ от общего составляет эфирсвязанный холестерин).

Гиперлипемия может проявляться в повышении концентрации всех липидов или отдельных их групп. Например, в форме гиперхолестеринемии, гипертриглицеридемии и т. д. Поскольку практически все липиды плазмы крови входят в состав липопротеидов, то гиперлипемии могут быть сведены к одной из форм гиперлипопротеинемий, каждая из которых отличается соотношением разных классов липопротеидов плазмы.

Различают экзогенные, или пищевые, гиперлипемии, которые представляют собой нормальное повышение содержания липидов в крови после приема жирной пищи, и эндогенные, являющиеся следствием нарушения обмена липидов. Причиной эндогенных гиперлипемий может быть первичный наследственный дефект апопротеинов либо фермента липидного обмена. Однако чаще бывают гиперлипемии, вызванные вторичными причинами — нарушениями регуляции липидного обмена, действиями внешних вредных факторов и т. д. Выделяют 5 типов первичных гиперлипопротеинемий.

Гиперлипопротеинемия I типа характеризуется повышенным содержанием хиломикронов в плазме крови; в то же время может быть понижено количество α - и β -липопротеидов. Содержание триацилглицеринов в 8—10 раз выше нормы, а уровень холестерина не повышен. Возможно, при этом заболевании имеет место дефект липопротеидлипазы, разрушающей хиломикроны.

Гиперлипопротеинемия II типа. Проявляется в виде повышенного содержания в плазме крови β -липопротеидов и соответственно в 1,5—2 раза более высокой, чем в норме, концентрацией холестерина. Описана наследственная форма этого заболевания, связанная с образованием дефектного апопротеина β -липопротеидов и более замедленным их распадом в тканях.

Гиперлипопротеинемия III типа. Редкое наследственное заболевание, характеризующееся образованием необычной формы β -липопротеида. Содержание холестерина и триацилглицеринов у этих больных иногда в 2—5 раз превышает норму.

Гиперлипопротеинемия IV типа. Характеризуется увеличением пре- β -липопротеидов и повышенным содержанием (в 2—5 раз) триацилглицеринов в плазме крови. Встречается часто у лиц пожилого возраста. Описаны и наследственные формы этого заболевания.

Гиперлипопротеинемия V типа. При этой патологии у больных повышено содержание хиломикронов, пре- β -липопротеидов, триацилглицеринов и холестерина в плазме крови.

Вторичные гиперлипопротеинемии, возникающие вследствие нарушений

метаболизма липидов в тканях или его регуляции, наблюдаются при сахарном диабете, гипофункции щитовидной железы, алкоголизме и т. д.

Тканевые липидозы. Гиперлиппротеинемии могут привести к тканевым липидозам. Они возникают также в результате наследственных дефектов ферментов, участвующих в синтезе и распаде липидов в тканях. Остановимся на некоторых примерах тканевых липидозов.

Атеросклероз — широко распространенная патология, характеризующаяся отложением главным образом холестерина в стенках сосудов. Липидные бляшки — это своеобразное инородное тело, вокруг которого развивается соединительная ткань (склероз). Наступает кальцификация пораженного участка сосуда. Сосуды становятся неэластичными, плотными, ухудшается кровоснабжение тканей, а на месте бляшек могут возникать тромбы.

Атеросклероз развивается в результате гиперлиппротеинемии. В стенку сосуда проникают все липопротеиды, кроме хиломикрон. Однако α -липопротеиды, содержащие много белка и фосфолипидов, могут быстро распадаться в стенке сосуда или из-за малых размеров удаляться из нее. Атерогенными являются β -липопротеиды и частично пре- β -липопротеиды, содержащие много холестерина. При повышении этих классов липопротеидов в крови и увеличении проницаемости сосудистой стенки происходит пропитывание сосудов атерогенными липопротеидами с последующим развитием атеросклероза.

Жировая инфильтрация печени. При этой патологии содержание триглицеридов в печени в 10 раз выше нормы. Скопление жира в цитоплазме клеток вызывает нарушение функции печени. Причины могут быть разные, одна из них — недостаток липотропных факторов и связанный с этим избыточный синтез триглицеридов.

Кетоз — патологическое состояние, обусловленное накоплением кетоновых тел в организме. Его можно лишь условно рассматривать как патологию метаболизма липидов, поскольку избыточный биосинтез кетоновых тел в печени возникает при интенсивном сгорании в ней не только жирных кислот, но и кетогенных аминокислот. В ходе распада углеродных скелетов этих аминокислот образуются ацетил-КоА и ацетоацетил-КоА, используемые в кетогенезе. Кетоз сопровождается *кетонемией* и *кетонурией*, т. е. повышением содержания кетоновых тел в крови и выделением их с мочой. При тяжелых формах кетоза содержание кетоновых тел в крови может повышаться до 10—20 ммоль/л. В суточной моче в норме имеются следы кетоновых тел, при патологии с мочой может выделяться за сутки от 1 до 10 г и даже более кетоновых тел. Кетонемия и кетонурия наиболее часто наблюдаются при сахарном диабете (выраженность кетоза зависит от тяжести этого заболевания), а также при длительном голодании, «стероидном» диабете.

5. Применение липидов и их компонентов в качестве лекарственных препаратов

Для применения в клинике разработаны жировые препараты эмульсий для парентерального введения. Поскольку они вводятся больным в вену, размер эмульсионных частиц жира не должен превышать размеры наиболее крупных естественных липопротеидов — хиломикрон, т. е. примерно 1 мкм.

Разработаны жировые эмульсии подобного типа из кукурузного масла (препарат липомаиз), из хлопкового (липофундин и липомоль), из соевого масла (интралипид). Эти препараты содержат от 10 до 20% липидов, эмульгаторы (фосфатиды и другие вещества), иногда глицерин. Применяются для повышения энергетических ресурсов организма у ослабленных больных. Кроме того, липотропные препараты (метионин, холин, инозит), являющиеся компонентами природных фосфолипидов, применяются для профилактики жировой инфильтрации печени.

ГЛАВА 19. ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ И БЕЛКОВ

Аминокислоты — основной источник азота для организма млекопитающих, поэтому они являются связующим звеном между процессами распада и синтеза азотсодержащих соединений. За сутки в организме взрослого человека обновляется до 400 г белка. Разные белки обновляются с разной скоростью — от нескольких минут до 10 и более суток. А такой белок, как коллаген, почти не обновляется. В целом полупериод распада всех белков человеческого организма составляет около 80 сут. Причем необратимо распадается четвертая часть белковых аминокислот (около 100 г), которая должна возобновляться за счет пищевых аминокислот и частично синтезируемых эндогенных аминокислот.

Внутриклеточное содержание свободных аминокислот невелико и в обычных условиях жизнедеятельности относительно постоянно. Это говорит о том, что в клетках поддерживается некий стационарный уровень аминокислот, или *фонд свободных аминокислот*, который отражает интенсивность процессов поступления и расходования аминокислот (рис. 55).

Существует несколько путей поступления свободных аминокислот, образующих аминокислотный фонд в клетке.

1. Транспорт аминокислот из внеклеточной жидкости (наблюдается,

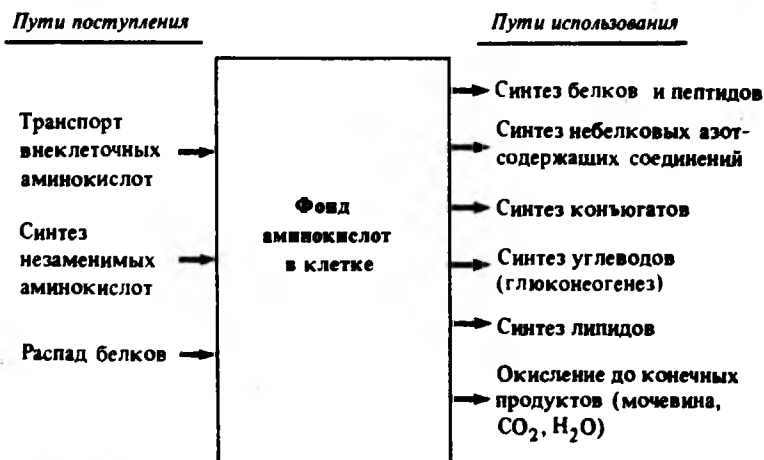


Рис. 55. Схема процессов, влияющих на фонд аминокислот в клетках

как правило, при всасывании пищевых аминокислот). Аминокислоты проникают внутрь клетки путем вторичного активного транспорта за счет энергии градиента ионов натрия на мембране. Перенос осуществляется с помощью пяти транспортных систем (белков-переносчиков), рассмотренных при описании всасывания аминокислот в кишечнике.

2. Образование заменимых аминокислот.

3. Внутриклеточный гидролиз белков. Это основной путь поступления аминокислот.

Пути потребления аминокислот, способствующие снижению их внутриклеточного уровня:

1) синтез белков и пептидов — основной путь потребления аминокислот;

2) синтез небелковых азотсодержащих соединений — пуринов, пиримидинов, порфиринов, холина, креатина, меланина, некоторых витаминов, коферментов (никотинамид, фолиевая кислота, кофермент А), тканевых регуляторов (гистамин, серотонин), медиаторов (адреналин, норадреналин, ацетилхолин);

3) синтез углеводов (глюконеогенез) с использованием углеродных скелетов аминокислот;

4) синтез липидов с использованием ацетильных остатков углеродных скелетов аминокислот;

5) окисление до конечных продуктов обмена. Этот путь служит для извлечения энергии при распаде аминокислот.

1. Распад белков до аминокислот в тканях

Первой стадией обновления белков является их гидролиз с помощью *тканевых протеиназ*, или *катепсинов*. Катепсины сосредоточены преимущественно в лизосомах, как и многие другие гидролитические ферменты. Однако катепсины имеются и в других частях клетки: гиалоплазме, митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме. Лизосомальные катепсины наиболее активны в кислой среде, поэтому их называют кислыми катепсинами. В цитоплазме и других частях клетки катепсины проявляют свое оптимальное действие в нейтральной и слабощелочной среде.

Белок, подвергающийся гидролизу, взаимодействует сначала с аппаратом Гольджи и эндоплазматическим ретикулумом клетки с образованием так называемых *аутофагосом*. Аутофагосомы атакуются первичными лизосомами, что приводит к образованию *аутолизосом* (или вторичных лизосом). Набор лизосомальных катепсинов быстро гидролизует белки, поглощенные этими органоидами. Протениназы сока цитоплазмы дополняют действие катепсинов лизосом.

Различные катепсины отличаются не только оптимумом pH, но специфичностью по отношению к белковым субстратам и пептидным связям, которые они гидролизуют. Все катепсины делятся на *экзопептидазы*, гидролизующие крайние пептидные связи с N- или C-конца полипептидной цепи, и *эндопептидазы*, гидролизующие внутренние пептидные связи. В зависимости от особенностей каталитических групп активного центра различают *тиоловые катепсины* (в каталитическом центре содержится цистен), *аспарагиновые*, или *карбоксикатепсины* (в каталитическом центре — аспарагиновая кислота), и *сериновые* (каталитический участок представлен серином).

Различные катепсины обозначаются латинскими буквами. В настоящее время известны следующие катепсины млекопитающих.

Тиоловые протеиназы тканей. *Катепсин В* — оптимум рН 5,5—6,0. Он является эндопептидазой, но способен также отщеплять дипептиды с С-конца, т. е. действует как дипептидилдипептидаза. Гидролизует различные внутриклеточные белки (ферменты гликолиза, иммуноглобулины, миофибриллярные белки, коллаген, гемоглобин), а также способен превращать проинсулин в инсулин в поджелудочной железе. Найден во многих тканях организма.

Катепсин N, или коллагенолитический фермент, является эндопептидазой. Действует только на коллаген. Оптимум рН при действии на нативный коллаген 3,6, а на растворимый 6,0. Находится в лизосомах или в цитоплазме селезенки и плаценты человека. В других органах и тканях пока не найден.

Катепсин H — эндопептидаза и аминопептидаза. В последнем случае отщепляет N-концевые аминокислоты от полипептидной цепи. Гидролизует многие растворимые белки цитоплазмы. Оптимум рН 6,0—7,0. Наиболее высокая активность его в печени человека.

Катепсин L — эндопептидаза. Обладает высокой способностью гидролизовать белки цитоплазмы с коротким периодом обновления. Оптимум рН 5,0. Найден во всех тканях.

Катепсин С, или *дипептидилдипептидаза I*, является экзопептидазой. Отщепляет дипептид с N-конца полипептидной цепи. Связи, образованные пролином, не гидролизует. Оптимум рН 5,0—6,0. Особенность фермента состоит в том, что он проявляет полимеразную активность при рН 7,0—8,0.

Катепсин S — эндопептидаза. Оптимум рН 3,0—4,0. Находится в селезенке и лимфоузлах.

Аспарагиновые протеиназы тканей. *Катепсин D* — эндопептидаза. Расщепляет пептидные связи, образованные ароматическими аминокислотами. Оптимум рН 3,5—4,0. Сходен по действию с пепсином. Катепсин считается примитивным представителем переваривающих ферментов одноклеточных организмов. Вероятно, в процессе эволюции его специализация привела к появлению пепсина. Содержится в лизосомах почти всех органов и тканей. Особенно активен в селезенке, почках, легких. Гидролизует многие белки цитоплазмы, миозин, основной белок миелина, гемоглобин. В хрящах действует на гидролиз протеогликанов, но при рН 5,0.

Сериновые протеиназы тканей. *Катепсин А*, или *карбоксипептидаза А*, — экзопептидаза, сходная по действию с панкреатической карбоксипептидазой А. Отщепляет аминокислоты N-конца полипептидной цепи. Отмечается и слабая эндопептидазная активность (гидролизует связи, образованные карбоксильной группой тирозина). Оптимум рН 5,0—5,5. Схематическое действие разных катепсинов на внутриклеточный гидролиз белков показано на рис. 56. В результате образуются свободные аминокислоты и дипептиды. Последние гидролизуются клеточными дипептидазами до аминокислот.

Биологическое значение катепсинов. Тканевый гидролиз белков необходим для их обновления, устранения дефектных молекул белка, мобилизации эндогенного белка, с энергетическими целями (особенно при голодании). Следовательно, катепсины играют не только разрушительную, но и реконструктивную функцию. Недостаток катепсинов снижает возможности обновления белков тканей, что приводит к накоплению в них поврежденных, имеющих

слабую функциональную активность белков. Катепсины обладают способностью к ограниченному протеолизу, т.е. отщеплению какого-либо фрагмента полипептидной цепи. Эту функцию катепсинов можно считать регуляторной — после такой обработки вновь синтезированные белки становятся активными (это явление похоже на образование ферментов из пищеварительных проферментов). Ограниченный протеолиз в специализированных нейросекреторных клетках освобождает нейропептиды, выполняющие медиаторные и гормональные функции. По тому же механизму прогормоны, образующиеся в эндокринных железах, переходят в активные белковые гормоны.

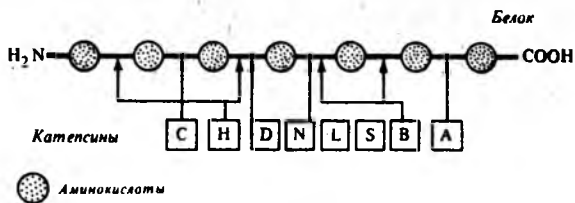


Рис. 56. Схема гидролиза внутриклеточных белков катепсинами

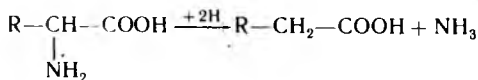
2. Пути распада аминокислот до конечных продуктов

Пути распада аминокислот до конечных продуктов можно условно разделить на три группы: 1) пути распада, связанные с превращением NH₂-групп (каждая аминокислота имеет как минимум одну α-NH₂-группу); 2) пути распада углеродных скелетов аминокислот; 3) декарбоксилирование α-COOH-групп аминокислот. Третий путь является частным вариантом превращения углеродных скелетов аминокислот. Он используется при образовании биогенных аминов, поэтому излагается ниже при описании процессов образования и распада медиаторов.

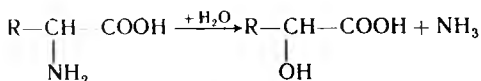
Превращение α-аминогрупп аминокислот

В тканях организма происходит отщепление аминогрупп от аминокислот с образованием аммиака. Этот процесс называется дезаминированием. Возможны четыре типа дезаминирования:

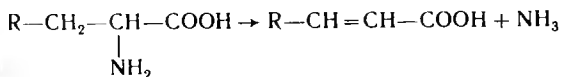
1) восстановительное



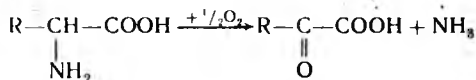
2) гидролитическое



3) внутримолекулярное



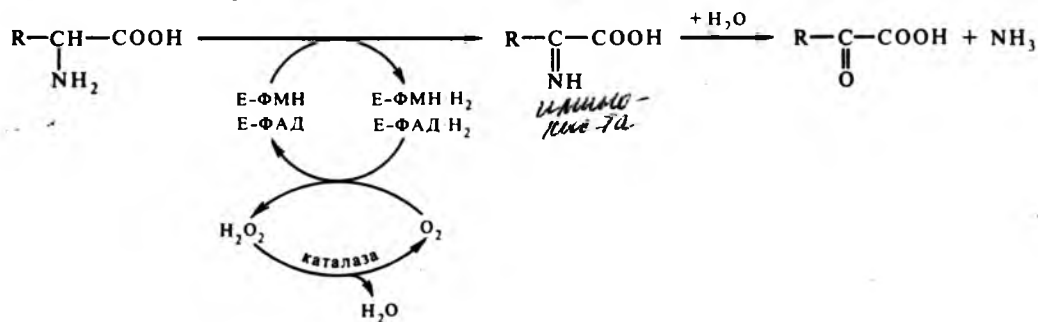
4) окислительное



Общим продуктом всех типов дезаминирования является аммиак. Кроме аммиака образуются жирные кислоты, гидроксикислоты, ненасыщенные кислоты и кетокислоты. Для большинства организмов, в том числе человека и животных, характерно окислительное дезаминирование, хотя для некоторых аминокислот, например гистидина, имеет место внутримолекулярное дезаминирование.

Окислительное дезаминирование может быть двух видов — прямое и непрямое (трансдезаминирование).

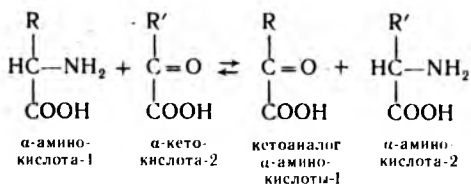
Прямое окислительное дезаминирование осуществляется *оксидазами* L- и D-аминокислот, которые находятся в пероксисомах. Оксидаза L-аминокислот содержит в качестве кофермента **ФМН**, а оксидаза D-аминокислот — **ФАД**. Реакция протекает по схеме



Продуктами реакции являются кетокислоты, аммиак и H_2O_2 . Последний разлагается здесь же, в пероксисомах, каталазой до воды и кислорода. Оксидаза L-аминокислот малоактивна при физиологических значениях pH. Более активна оксидаза D-аминокислот. Однако ее значение до сих пор неясно, поскольку поступающие с пищей белки содержат L-аминокислоты. Возможно, часть L-аминокислот изомеразам бактерий кишечника превращается в D-аминокислоты, которые всасываются и дезаминируются в тканях оксидазами D-аминокислот. Однако в целом прямое окислительное дезаминирование играет незначительную роль в превращении NH_2 -групп аминокислот.

Трансдезаминирование — основной путь дезаминирования аминокислот. Оно происходит в два этапа. Первый — *трансаминирование*, т. е. перенос аминогруппы с любой аминокислоты на α -кетокислоту без промежуточного образования аммиака; второй — собственно окислительное дезаминирование аминокислоты. Поскольку в результате первого этапа аминогруппы «собираются» в составе глутаминовой кислоты, то второй этап связан с ее окислительным дезаминированием. Рассмотрим каждый из этапов процесса трансдезаминирования.

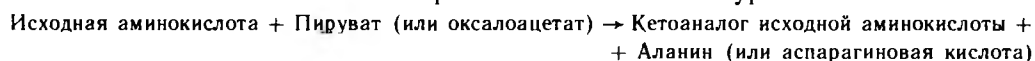
Трансминирование аминокислот было открыто советскими биохимиками А. Е. Браунштейном и М. Г. Крицман (1937). Оно может быть представлено следующей схемой:



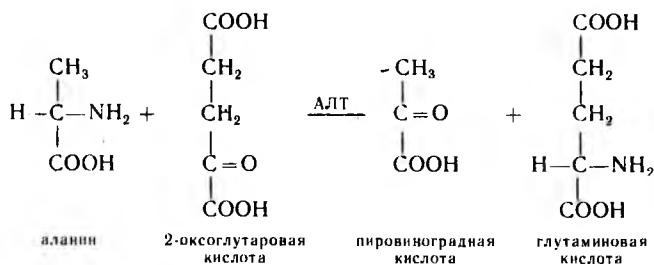
Реакция трансминирования обратима, она катализируется ферментами — *аминотрансферазами*, или *трансаминазами*. Аминотрансферазы имеются во всех животных и растительных клетках, а также в микроорганизмах. Уже обнаружено свыше 50 аминотрансфераз. Большинство из них действуют только на аминокислоты L-ряда; но в микроорганизмах присутствуют аминотрансферазы, действующие только на D-аминокислоты.

Источником аминогрупп в реакции трансминирования служат не только природные α -аминокислоты, но и многие β -, γ -, δ - и ϵ -аминокислоты, а также амиды аминокислот — глутамин и аспарагин.

Большинство известных аминотрансфераз проявляют групповую специфичность, используя в качестве субстратов несколько аминокислот. Акцептором аминогрупп в реакциях трансминирования являются три α -кето-кислоты: пируват, оксалоацетат и 2-оксоглутарат. Наиболее часто акцептором NH_2 -групп служит 2-оксоглутарат; при этом из него образуется глутаминовая кислота. При переносе аминогрупп на пируват или оксалоацетат образуются соответственно аланин или аспарагиновая кислота по уравнению

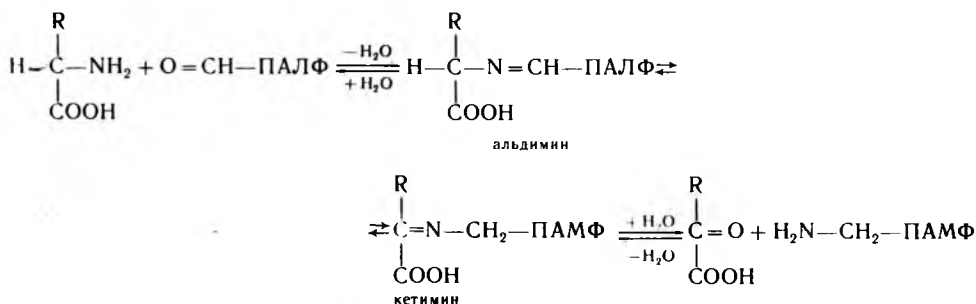


Далее NH_2 -группы с аланина и аспарагиновой кислоты переносятся на 2-оксоглутарат. Эту реакцию катализируют высокоактивные аминотрансферазы: *аланинаминотрансфераза* (АЛТ) и *аспартатаминотрансфераза* (АСТ), обладающие субстратной специфичностью:



Аминотрансферазы состоят из апофермента и кофермента. Коферментами аминотрансфераз являются производные пиридоксина (витамина В₆) — *пиридоксаль-5-фосфат* (ПАЛФ) и *пиридоксамин-5-фосфат* (ПАМФ). Оба кофермента (см. строение их в гл. «Ферменты») обратимо переходят друг в друга в ходе реакции трансаминирования. Следует заметить, что аминотрансферазы для катализа требуют оба кофермента в отличие от других ферментов, которые нуждаются в одном из них и бывают либо пиридоксальфосфат-зависимыми, либо пиридоксаминфосфатзависимыми.

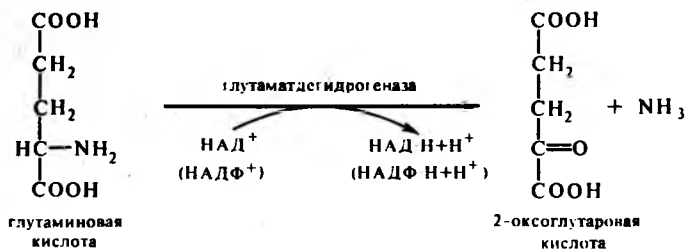
Механизм реакций ферментативного трансаминирования аминокислот был предложен советскими биохимиками (А. Е. Браунштейн и М. М. Шемякин) и зарубежными (Метцлер, Икава и Снелл). Согласно этому механизму NH₂-группа аминокислот на первой стадии взаимодействует с альдегидной группой пиридоксальфосфата O—CH—ПАЛФ с образованием промежуточных шиффовых оснований типа *альдимина* и затем его таутомерной формы *кетимина* H₂N—CH₂—ПАМФ (шиффово основание пиридоксаминфосфата):



Далее кетимин гидролизуется с образованием кетоаналога исходной аминокислоты и ПАМФ. На второй стадии ПАМФ взаимодействует с α-кетокислотой (акцептором аминогрупп) и все повторяется в обратном порядке, т. е. образуется сначала кетимин, затем альдимин. Последний гидролизуется. В результате образуются новая аминокислота и ПАЛФ. Таким образом, коферменты аминотрансфераз выполняют функцию переносчика аминогрупп путем перехода из альдегидной формы в аминированную и обратно.

После уточнения механизма реакции трансаминирования были получены доказательства, что в исходном состоянии альдегидная группа пиридоксальфосфата образует шиффово основание (альдимин) с ε-аминогруппой лизинового остатка каталитического участка апофермента трансаминазы. Поэтому в ходе реакции аминогруппа субстрата, т. е. аминокислоты, замещает ε-аминогруппу лизинового остатка апофермента с образованием комплекса ПАЛФ — субстратная аминокислота.

Окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты. Биологический смысл реакций трансаминирования состоит в том, чтобы собрать аминогруппы всех распадающихся аминокислот в составе молекул всего одного типа аминокислоты, а именно глутаминовой. Глутаминовая кислота поступает в митохондрии клеток, где протекает второй этап трансдезаминирования — собственно дезаминирование глутаминовой кислоты. Эта реакция катализируется *глутаматдегидрогеназой*, которая в качестве кофермента может использовать как НАД⁺, так и НАДФ⁺:



Схематически процесс трансдезаминирования показан на рис. 57. Обе стадии этого процесса обратимы. Обратная последовательность реакций, при которой происходит синтез аминокислот из α -кетокислот и аммиака, был назван А. Е. Браунштейном *трансреаминированием*. При трансреаминировании сначала происходит восстановительное аминирование 2-оксоглутарата с участием аммиака и восстановленного НАДФ. Процесс катализирует НАДФ-зависимая глутаматдегидрогеназа. При этом образуется глутаминовая кислота. Затем происходит перенос NH_2 -группы с глутамата на любую α -кетокислоту с образованием соответствующей аминокислоты. Если есть в тканях подходящие α -кетокислоты, то из них путем трансреаминирования могут синтезироваться аминокислоты. В животных тканях образуются α -кетокислоты заменимых аминокислот, а в растениях и бактериях — α -кетокислоты всех аминокислот.

Пути обезвреживания аммиака

Аммиак образуется в ходе следующих процессов:

- 1) дезаминирования аминокислот;
- 2) дезаминирования биогенных аминов (гистамина, серотонина, цистеина и т. д.);
- 3) дезаминирования пуриновых оснований (гуанина и аденина);
- 4) дезаминирования амидов аминокислот (аспарагина и глутамина);
- 5) распада пиримидиновых оснований (урацила, тимина, цитозина).

Аммиак — очень токсичное соединение, особенно для нервных клеток. При накоплении его возникает возбуждение нервной системы. Поэтому в тканях существуют механизмы его обезвреживания. К ним относятся: 1) образование мочевины; 2) восстановительное аминирование, или трансреаминирование; 3) образование амидов аминокислот — аспарагина и глутамина; 4) образование аммонийных солей.

Основной путь обезвреживания аммиака — синтез мочевины. Еще в прошлом веке русские ученые М. В. Ненцкий и С. С. Салазкин показали, что в печени происходит образование мочевины из аммиака и углекислоты. Кребс и Гензенлейт установили, что синтез мочевины представляет собой циклический процесс, в котором каталитическую роль играет ор-



Рис. 57. Общая схема реакций трансдезаминирования (по А. Е. Браунштейну):

I — трансаминирование; II — дезаминирование

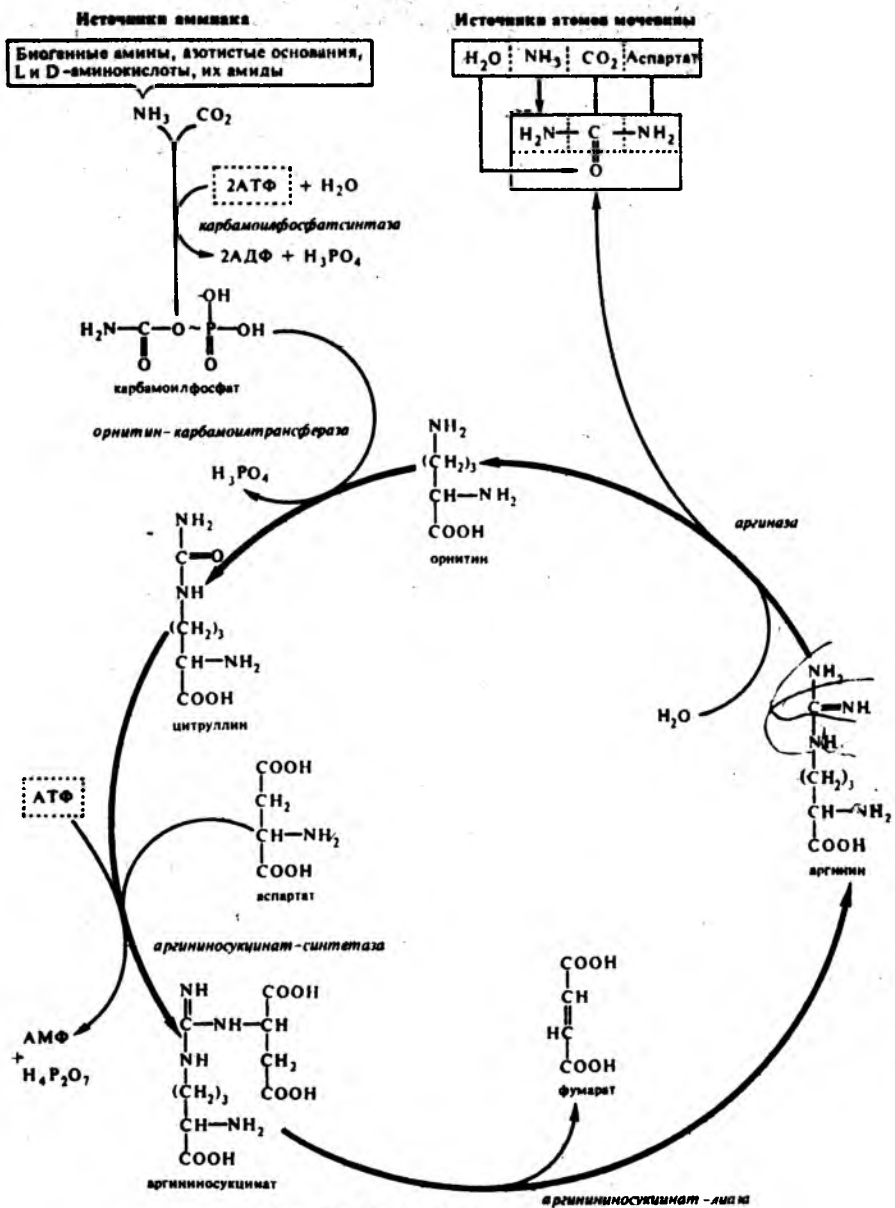


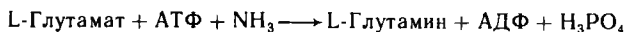
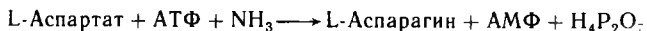
Рис. 58. Цикл образования мочевины

нитин. Коген и Ратнер выяснили, что начальной реакцией этого цикла является синтез карбамоилфосфата. На рис. 58 приведен цикл образования мочевины. На образование одной молекулы мочевины расходуется три молекулы АТФ. Мочевина — безвредное для организма соединение. Главным местом ее образования в организме является печень, где есть все ферменты моче-

винообразования. В головном мозгу имеются все ферменты синтеза мочевины, кроме карбамоилфосфатсинтетазы, поэтому в нем мочевина не образуется. Нарушение функции печени ведет к снижению мочевинообразования, и содержание мочевины в крови и выделение ее с мочой падает.

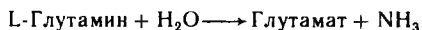
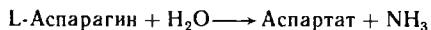
Восстановительное аминирование — малоэффективный процесс связывания аммиака, так как необходимы значительные количества 2-оксоглутарата.

Образование аспарагина и глутамина является важным вспомогательным путем связывания аммиака. Оно протекает с участием *аспарагинсинтетазы* и *глутаминсинтетазы* по уравнениям:

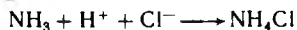


Этот процесс активен в нервной и мышечной тканях, в почках.

Образование аммонийных солей. Глутамин и в меньшей степени аспарагин считают своеобразной транспортной формой аммиака, так как, образуясь в тканях, они с кровью попадают в почки, где подвергаются гидролизу под действием специфических ферментов — *глутаминазы* и *аспарагиназы*:



Освободившийся в канальцах почек аммиак нейтрализуется с образованием солей аммония



которые выделяются с мочой.

Превращение углеродных скелетов аминокислот

Углеродные скелеты белковых аминокислот после отщепления аминогрупп превращаются в конечном счете в пять продуктов, которые вовлекаются в цикл Кребса. Глицин, аланин, лейцин, цистеин, серин, треонин, лизин, триптофан превращаются в ацетил-КоА; фенилаланин и тирозин — в ацетил-КоА и фумарат; изолейцин — в ацетил-КоА и сукцинил-КоА; валин, метионин — в сукцинил-КоА; аргинин, гистидин, глутамин, глутаминовая кислота, пролин — в 2-оксоглутарат; аспарагин и аспарагиновая кислота — в оксалоацетат. Сгорая до CO_2 и H_2O , аминокислота дает значительное количество энергии, почти такое же, как при аэробном окислении глюкозы. Интенсивный распад аминокислот, ведущий к образованию ацетил-КоА, приводит к синтезу кетоновых тел в печени.

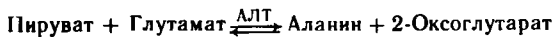
Поскольку в ходе распада углеводородных радикалов аминокислот образуются оксалоацетат и другие кислоты цикла Кребса, то это дает возможность использовать аминокислоты в печени и почках в глюконеогенезе.

3. Биосинтез заменимых аминокислот

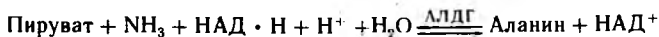
В тканях млекопитающих возможен биосинтез только заменимых аминокислот, незаменимые должны поступать с пищей. Исходными веществами при биосинтезе заменимых аминокислот служат промежуточные продукты распада углеводов, метаболиты цикла Кребса и незаменимые аминокислоты.

Образование заменимых аминокислот из промежуточных продуктов распада углеводов. Источником синтеза аминокислот служат пируват, 3-фосфоглицерат и рибозо-5-фосфат. Первые два — метаболиты гликолиза, третий — метаболит пентозофосфатного цикла.

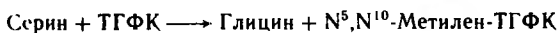
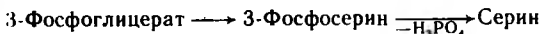
Из пирувата образуется аланин двумя путями: 1) трансаминированием с участием аланинаминотрансферазы:



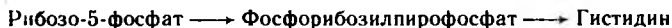
2) восстановительным аминированием с участием аланиндегидрогеназы (АЛДГ):



Из 3-фосфоглицерата образуется серин, а из серина — глицин. Поэтому общим предшественником для серина и глицина можно считать 3-фосфоглицерат:

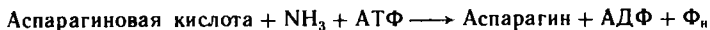
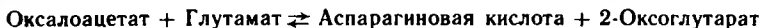


Из рибозо-5-фосфата образуется гистидин. Первоначально рибозо-5-фосфат превращается в α -5-фосфорибозил-1-пирофосфат (ФРПФ), который участвует в дальнейших стадиях биосинтеза и гистидина, и пуринов:



Однако возможности биосинтеза гистидина таким способом ограничены, поэтому он является полузаменимой аминокислотой.

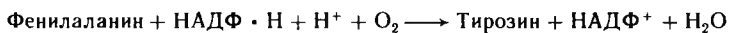
Синтез заменимых аминокислот из метаболитов цикла Кребса. Источником синтеза аминокислот служат оксалоацетат и 2-оксоглутарат. Из оксалоацетата образуются аспарагиновая кислота и аспарагин. Первая — путем трансаминирования с участием аспартатаминотрансферазы, а вторая — аминированием с участием аспарагинсинтетазы:



Из 2-оксоглутарата образуются глутаминовая кислота, глутамин, пролин и в конечном счете гидроксипролин. Синтез глутаминовой кислоты и глутамин протекает с участием соответственно глутаматдегидрогеназы и глутаминсинтетазы. Глутаминовая кислота в ходе обмена превращается в пролин; гидроксипролин образуется только после включения пролина в полипептидную цепь, где он гидроксилируется с участием пролингидроксилазы.

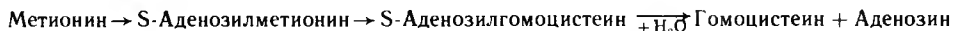
Синтез заменимых аминокислот из незаменимых. Из незаменимой аминокислоты фенилаланина образуется заменимая — тирозин. Этот процесс ка-

тализируется фенилаланингидроксилазой, кофактором которой является дигидробиоптерин, а восстановителем — НАДФ · Н₂:

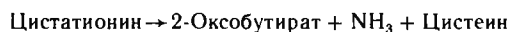


Поскольку фенилаланин — незаменимая кислота, то возможности эндогенного синтеза тирозина ограничены.

Метионин может превращаться в цистеин. Источником серы является сам метионин, а остальная часть молекулы строится за счет серина. В синтезе используется активная форма метионина — *S*-аденозилметионин. При деметилировании его образуется *S*-аденозилгомоцистеин, а затем гомоцистеин:



Гоомоцистеин взаимодействует с серином при участии *цистатионинсинтетазы*. При этом образуется *цистатионин*. На последней стадии *цистатионин* расщепляется *цистатионазой* с выделением свободного цистеина:



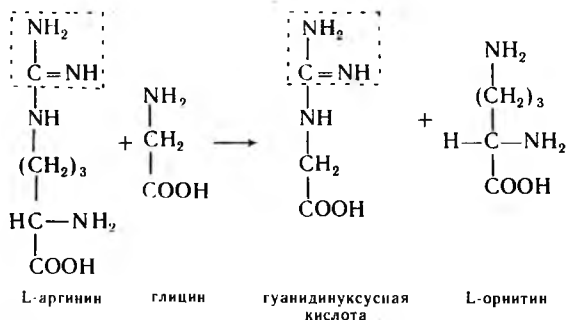
В качестве кофактора *цистатионазы* выступает пиридоксальфосфат.

Орнитин в тканях млекопитающих превращается в *аргинин*. Однако эта возможность образования аргинина невелика, поскольку он сам служит субстратом для синтеза мочевины. Поэтому аргинин является полузаменимой аминокислотой.

4. Использование аминокислот для образования небелковых азотсодержащих соединений

Аминокислоты широко используются для синтеза многих небелковых азотсодержащих веществ: холина, фосфатидов, креатина, медиаторов (включая биогенные амины), пигментов, витаминов, коферментов, порфиринов, пуриновых и пиримидиновых оснований; в растениях — алкалоидов и прочих продуктов вторичного метаболизма, а в микроорганизмах — антибиотиков.

Биосинтез и распад креатина. В тканях человека и животных креатин синтезируется из трех аминокислот — аргинина, глицина, метионина. Синтез креатина идет в две стадии. На первой образуется гуанидинуксусная кислота из аргинина и глицина с участием фермента *глицин-амидинотрансферазы* (в рамку взят переносимый фрагмент):

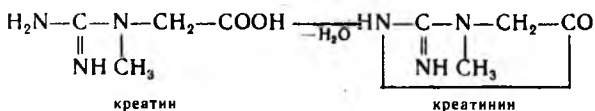


Первая стадия активно протекает в почках и поджелудочной железе.

На второй стадии происходит метилирование гуанидинуксусной кислоты с участием *гуанидинацетат-метилтрансферазы*. Донором метильных групп является активная форма метионина — S-аденозилметионин:



Эта стадия протекает в печени и поджелудочной железе, где имеются необходимые условия и соответствующий фермент для синтеза креатина из гуанидинуксусной кислоты. Считается, что синтезированный в печени и поджелудочной железе креатин разносится с кровью к остальным органам и тканям: головному мозгу, скелетным мышцам, сердцу и т. д. Однако в обмене креатина остается еще много неясного. В частности, обнаружено, что в сердце человека и других мышечных тканях содержится наибольшее количество креатина, хотя он в них почти не проникает. В клетках креатин участвует в переносе энергии путем обратимого перефосфорилирования с АТФ (см. раздел «Биоэнергетика»). Одним из продуктов распада креатина является креатинин, который образуется неферментативным путем:



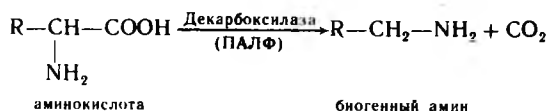
Примерно 2% креатина, содержащегося в организме, превращается в креатинин. В плазме крови в небольших количествах имеются креатин и креатинин. В почках, печени и поджелудочной железе, синтезирующих креатин, содержание его невелико (0,1—0,4 г/кг). Наибольшие количества его в скелетных мышцах (25—55 г/кг), в сердце (15—30 г/кг), в ткани головного мозга (10—15 г/кг).

С мочой выделяется креатин только у детей; у взрослого человека выделяется с мочой креатинин (за сутки около 4,4—17,6 ммоль), причем имеется прямая зависимость между развитием мускулатуры человека и выделением креатинина. Если с мочой выделяется креатин, то это свидетельствует о патологии.

Образование и распад медиаторов. Медиаторы образуются в нервной ткани и ряде других клеток. Нейромедиаторы, образующиеся в нервных окончаниях, участвуют в передаче нервного импульса на другие нервные клетки или периферические органы и ткани. Тканевые медиаторы участвуют в межклеточной регуляции обмена веществ.

В образовании ряда медиаторов существенное значение имеет реакция декарбоксилирования аминокислот, которая катализируется специфическими

ферментами декарбоксилазами, содержащими в качестве кофермента пиридоксальфосфат:

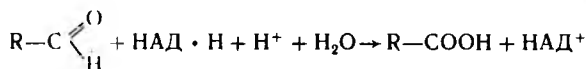


Продуктом декарбоксилирования являются амины, обладающие высокой биологической активностью, поэтому их называют *биогенными аминами*. Большинство медиаторов принадлежат к этой группе соединений.

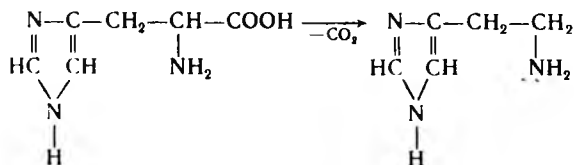
Одним из путей обезвреживания биогенных аминов является их окислительное дезаминирование с участием *аминооксидаз*:



Аминооксидазы бывают двух типов: моноаминооксидаза (МАО) и диаминооксидаза (ДАО). Коферментом МАО служат ФАД, а ДАО — пиридоксальфосфат (для реакции необходимы ионы Cu^{2+}). МАО связана с митохондриями клеток, а ДАО находится в цитоплазме. Небольшие количества этих ферментов присутствуют в крови. МАО инактивирует первичные, вторичные и третичные амины, а ДАО — преимущественно гистамин, путресцин, кадаверин и в меньшей степени алифатические амины. Продукты дезаминирования биогенных аминов — альдегиды — окисляются с помощью *альдегиддегидрогеназ* до органических кислот:



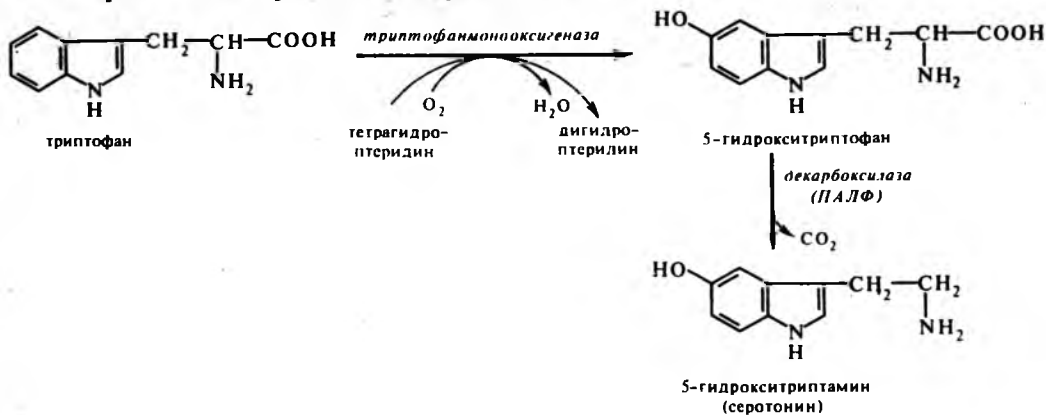
Образование гистамина. Гистамин синтезируется из гистидина под действием *гистидиндекарбоксилазы*:



Почти все ткани и органы содержат гистамин. Особенно много его в тканях легких и в коже, имеется он в спинном мозге и подкорковых образованиях головного мозга. Большое количество гистамина образуется и депонируется в тучных клетках соединительной ткани, в которых он связан в виде белково-гепаринового комплекса. Освобождается он из тучных клеток под действием веществ, которые называются либераторами гистамина. Большое количество гистамина образуется в слизистой желудка, где он действует на секрецию пепсина и соляной кислоты. В крови гистамин связан с гранулами базофилов и эозинофилов. Небольшие количества его всегда имеются в плазме крови и других биологических жидкостях.

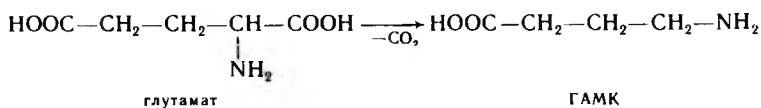
В больших количествах гистамин освобождается при патологических процессах, являясь медиатором аллергических реакций.

Образование серотонина. Серотонин образуется из триптофана:



Примерно 90% серотонина взрослого человека содержится в энтерохромаффинных клетках кишечника. Остальная часть его находится в тучных клетках кожи, селезенке, печени, почках, легких. Много серотонина в тромбоцитах крови и в центральной нервной системе. В частности, он образуется в сером веществе коры головного мозга, в гипоталамусе. Серотонин играет роль медиатора в нервной системе и местного регулятора функций периферических органов и тканей.

Образование γ -аминомасляной кислоты (ГАМК). ГАМК образуется из глутаминовой кислоты под действием *глутаматдекарбоксилазы*:



Синтез протекает в тормозных синапсах нервной системы, являясь их медиатором. Наибольшие количества ГАМК содержатся в подкорковых образованиях головного мозга (в черной субстанции, бледном шаре, гипоталамусе). В периферических органах она встречается в виде следов.

Образование катехоламинов. Катехоламины — группа медиаторов и гормонов, относящихся к биогенным аминам; образуются они из фенилаланина и тирозина (рис. 59). Из фенилаланина и тирозина образуются следующие биогенные амины: фенилэтиламин, фенилэтанолламин, ДОФА, дофамин, норадреналин и адреналин. Главными из катехоламинов, выполняющих медиаторные или гормональные функции, являются адреналин и норадреналин. Обнаружены медиаторные свойства у дофамина и, по-видимому, у тирамина. Норадреналин, адреналин синтезируются в хромаффинных клетках мозгового вещества надпочечников (выполняя гормональную функцию), в адренергических синапсах головного мозга и в окончаниях симпатических нервов вегетативной нервной системы. Дофамин образуется в синапсах центральной нервной системы (гипоталамус, лимбическая система и др.), сетчатке, симпатических ганглиях, где играет роль медиатора в дофаминергических синапсах. В небольших количествах дофамин находится в мозговом веществе надпочечников. Много его по сравнению с другими катехоламинами в печени, легких и кишечнике.

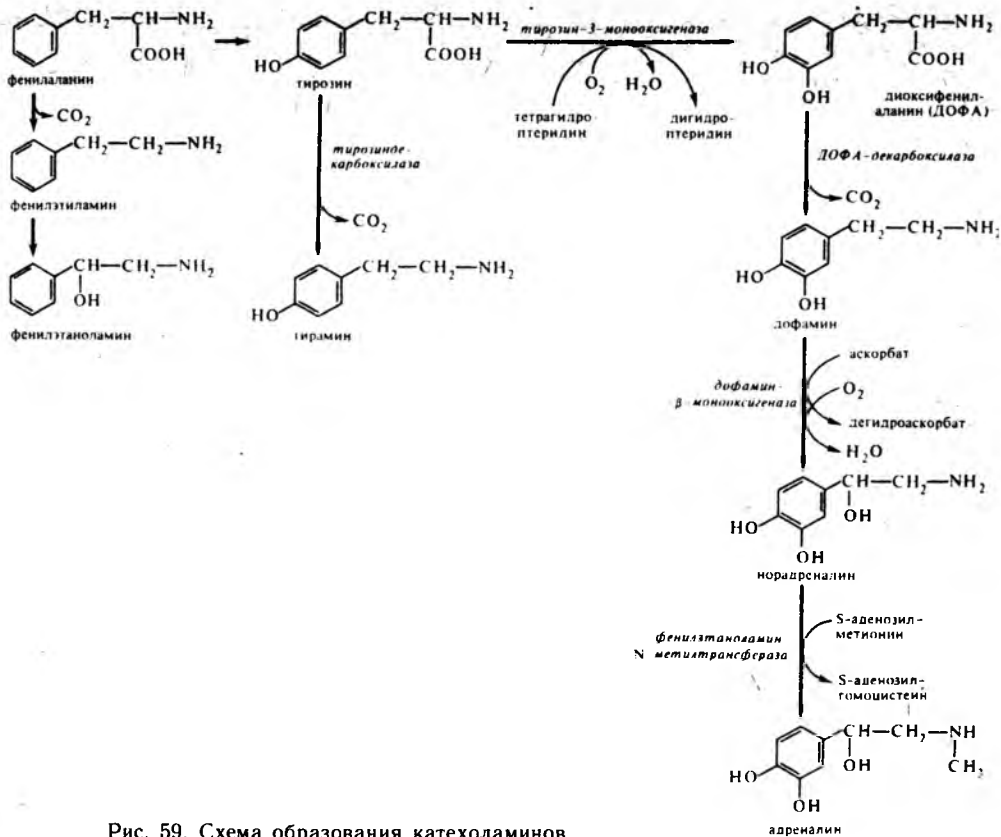


Рис. 59. Схема образования катехоламинов

Инактивация адреналина и норадреналина осуществляется двумя путями: с помощью *моноаминоксидазы* и *катехол-O-метилтрансферазы*, т. е. путем дезаминирования и метилирования.

Образование таурина. Таурин — тоже биогенный амин, образуется из цистеина:



Это соединение синтезируется в различных органах. В печени он используется в реакциях конъюгации с желчными кислотами. В нервной системе, очевидно, является медиатором в синапсах.

Образование некоторых витаминов и коферментов из аминокислот. Из триптофана в тканях человека образуется *никотинамид* (витамин PP):



Поэтому триптофан, поступающий с пищей, может частично заменять недостаток никотинамида в пище.

Цистеин используется для биосинтеза коферментов пантотеновой кислоты (витамин В₅) — 4-фосфопантетеина и КоА. Из цистеина, глутаминовой кислоты и глицина образуется в две стадии глутатион, выполняющий функции кофермента некоторых оксидоредуктаз. На первой стадии синтеза действует глутаминилцистеинсинтетаза, а на второй — глутатионсинтетаза.

Синтез порфиринов и азотистых оснований нуклеотидов, в которых участвуют аминокислоты, целесообразно рассмотреть специально в главах, посвященных обмену этих веществ.

5. Регуляция обмена аминокислот в организме

Аминокислотный баланс в организме человека зависит от полноценности поступающих с пищей белков. Отсутствие одной из незаменимых аминокислот в пищевом рационе или длительное непоступление полунезаменимых аминокислот приводит к нарушению использования в синтезе белков и других аминокислот (как заменимых, так и незаменимых). Развивается нарушение аминокислотного баланса. В норме процессы потребления аминокислот в биосинтетических процессах сбалансированы с процессами их поступления (гидролиз тканевых белков, синтез заменимых аминокислот). Из клеток в околоклеточную жидкость и кровь аминокислоты выходят свободно, путем простой диффузии. С кровью они разносятся по органам и тканям. Однако поступают они в разные ткани избирательно, особенно в ткань головного мозга. Причина этого во многом неясна. Транспорт аминокислот в клетки разных органов, очевидно, определяется эффективностью отдельных систем переносчиков для разных групп аминокислот. В почках происходит реабсорбция аминокислот из мочи в кровь, что позволяет сохранять их для организма и лишь небольшое количество аминокислот теряется с мочой.

Одним из факторов, регулирующих обмен аминокислот, является поступление их с пищей. Потребление значительного количества белковой пищи ведет к массивному поступлению аминокислот в печень. В ней аминокислоты способствуют увеличению активности ферментов, которые вызывают их распад до конечных продуктов обмена (ферменты дезаминирования аминокислот и синтеза мочевины). Так устраняется избыток поступивших в организм аминокислот. При голодании, наоборот, происходит активный распад белков в тканях и образование в них свободных аминокислот.

Регуляция аминокислотного баланса возможна на этапах транспорта аминокислот через кишечный эпителий (при всасывании), периферические ткани (при проникновении внутрь клеток) и каналцы почек (при реабсорбции). Стимулируется мембранный транспорт аминокислот, в основном инсулином. Кроме того, инсулин и другие гормоны способны изменять скорость использования аминокислот в реакциях биосинтеза или скорость распада белков в тканях. Инсулин, соматотропин, тиреоидные гормоны, женские и мужские половые гормоны в физиологических условиях способствуют использованию аминокислот в биосинтезе белков и других синтетических процессах. Глюкокортикоиды могут ускорять в разных тканях оба процесса: в одних распад белков и образование аминокислот, в других — использование аминокислот в биосинтезе белков.

Поскольку аминокислоты являются главным источником азота для всех азотсодержащих соединений организма, то они определяют состояние азотистого баланса организма. *Азотистый баланс* — это разность между количеством азота, получаемого с пищевыми азотсодержащими веществами (преимущественно белки, аминокислоты), и азотом всех азотсодержащих соединений, теряемых организмом с мочой, фекалиями, потом. Если количество поступающего азота равно количеству теряемого, в организме существует *азотистое равновесие*. Если количество поступающего азота больше, чем выделяющегося из организма, азотистый баланс положителен. При превышении выделения азота над поступлением азотистый баланс отрицателен. Положительный азотистый баланс бывает при интенсивном синтезе белка из аминокислот (в период развития плода при беременности, в период роста детей, при употреблении большого количества мясной пищи, введении анаболических гормонов и т. д.). Отрицательный азотистый баланс развивается при полном белковом голодании, при длительном снижении двигательной активности, тяжелых хронических заболеваниях, ожогах и других состояниях, мешающих нормальному перевариванию белков, всасыванию аминокислот и ведущих к распаду тканевого белка.

6. Аминокислоты как лекарственные препараты

В практической медицине применяются препараты гидролизатов белков и препараты отдельных аминокислот.

Препараты гидролизатов белков (препараты для парентерального питания) представляют собой смесь аминокислот, полученных путем кислотного или ферментативного гидролиза разных белков. К ним относятся гидролизин, гидролизат казеина, аминокептид, церебролизин, аминокровин, фибриносол. Эти препараты компенсируют белковое голодание организма, обеспечивают азотистое равновесие и даже положительный азотистый баланс у больных после операций на желудочно-кишечном тракте, с нарушениями переваривания белков и всасывания аминокислот, при тяжелых ожогах.

Препараты отдельных аминокислот. Метионин, а также гидролизаты, содержащие его в больших количествах, применяются как липотропные факторы и для лечения белковой недостаточности при хронических заболеваниях.

Есть указания на положительный эффект использования цистеина (и того же метионина, который превращается в организме в цистеин) при нарушениях обмена серусодержащих белков (хрусталик, роговица глаза, коллаген и т. д.), при отравлении солями тяжелых металлов, которые связываются аминокислотами.

Широко используются в клинике глутаминовая и аспарагиновая кислоты (последняя в виде калиевых и магниевых солей — препараты «панангин», «аспаркам»), которые играют центральную роль в обезвреживании аммиака и в других синтетических реакциях аминокислотного обмена.

В настоящее время разрабатываются препараты различных смесей кристаллических аминокислот, особенно незаменимых, которые в определенных соотношениях будут применяться в чистом виде или в виде добавок к другим лекарственным средствам природного происхождения.

ГЛАВА 20. ОБМЕН ГЕМПРОТЕИДОВ

Смешанные макромолекулы — гликопротеиды, липопротеиды — обновляются описанными выше путями. Белковая часть распадается после гидролиза на аминокислоты, а небелковая — по путям превращения соответственно углеводов и липидов.

Характерной особенностью гемпротеидов является обмен небелковой части этих сложных белков. Основную массу (около 83%) гемпротеидов организма составляет гемоглобин, находящийся в эритроцитах крови и клетках костного мозга. Остальное приходится на миоглобин скелетных мышц и сердца (около 17%) и клеточные гемпротеиды — цитохромы, каталаза, пероксидаза и т. д. (менее 1%).

1. Синтез гемпротеидов

Исходными веществами в синтезе гема служат глицин и сукцинил-КоА (рис. 60). Из них образуется δ -аминолевуленовая кислота с участием пиридоксальзависимого фермента — δ -аминолевулинатсинтетазы. Затем из двух молекул δ -аминолевуленовой кислоты с участием порфириногенсинтазы образуется порфибилиноген — прямой предшественник порфиринов. Одним из

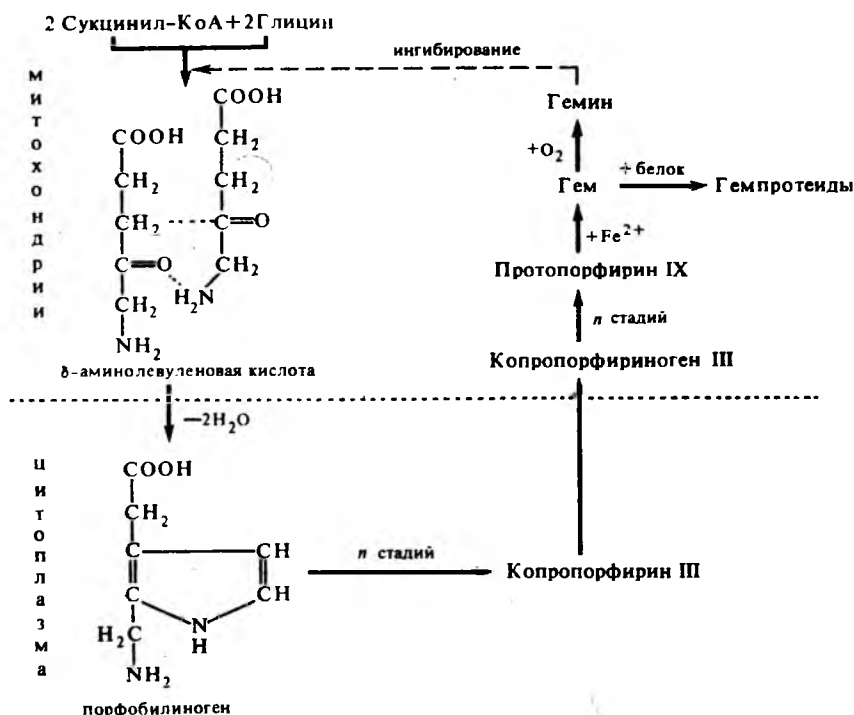
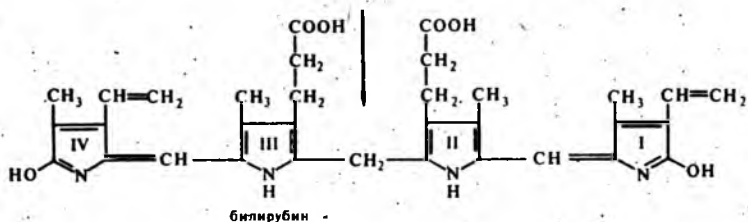


Рис. 60. Схема синтеза гема в клетках



Сначала под действием *гемоксигеназы* происходит окислительное расщепление α -метинового мостика гема, соединяющего два соседних пиррольных кольца. Кольцевая структура гема разрывается и образуется *вердоглобин*. Последний теряет железо, которое связывается белком-переносчиком трансферрином и доставляется с кровью в костный мозг и глобин. Глобин гидролизуется катепсинами селезенки до аминокислот. Разомкнутая тетрапиррольная цепь вердоглобина называется *биливердином* (желтый пигмент зеленого цвета). При восстановлении биливердина образуется билирубин — пигмент красно-желтого цвета.

Билирубин — плохо растворимое в воде соединение, поэтому, поступая в кровь, он связывается белком плазмы альбумином. Комплекс альбумин — билирубин — важнейшая нормальная транспортная форма желчных пигментов. С током крови билирубин поступает в клетки печени. Как липофильное вещество он легко проникает через мембрану клеток печени, освобождаясь от альбумина.

Внутри клеток печени происходит вторая фаза превращения гемпротеидов (рис. 61). В печени образуются конъюгированные формы билирубина — *билирубинглюкурониды*. Донором глюкуроновой кислоты выступает УДФ-глюкуроновая кислота. Реакция катализируется *УДФ-глюкуронозилтрансферазой*. Образуются билирубинмоноглюкуронид (20%) и билирубиндиглюкуронид (80%). Билирубинглюкурониды — хорошо растворимые в воде соединения.

Билирубинглюкурониды лишь в незначительных количествах могут диффундировать в кровеносный капилляр. Поэтому в плазме крови присутствуют две формы билирубина: *неконъюгированный* (он же непрямой, или свободный) и *конъюгированный* (он же прямой, или связанный). На долю первого приходится около 75% общего билирубина плазмы крови, на долю второго — около 25%.

Билирубинглюкурониды выделяются с желчью в кишечник, где происходит заключительная, третья фаза распада гемпротеидов. В желчных путях отщепляется глюкуроновая кислота от билирубинглюкуронидов и вновь образуется неконъюгированный билирубин. В тонком кишечнике небольшая часть билирубина может всасываться и через портальную вену вновь поступать в печень, а оттуда опять с желчью выделяться из кишечника. Эта печеночно-кишечная циркуляция, сходная с циркуляцией желчных кислот, возможно, имеет биологическое значение. Большая же масса билирубина подвергается многократному восстановлению бактериями кишечника или редуцентами слизистой кишечника. В тонком кишечнике билирубин превращается в *мезобилирубин*, затем *мезобилирубиноген* (или уробилиноген). Последний всасывается в тонком кишечнике и через воротную вену поступа-

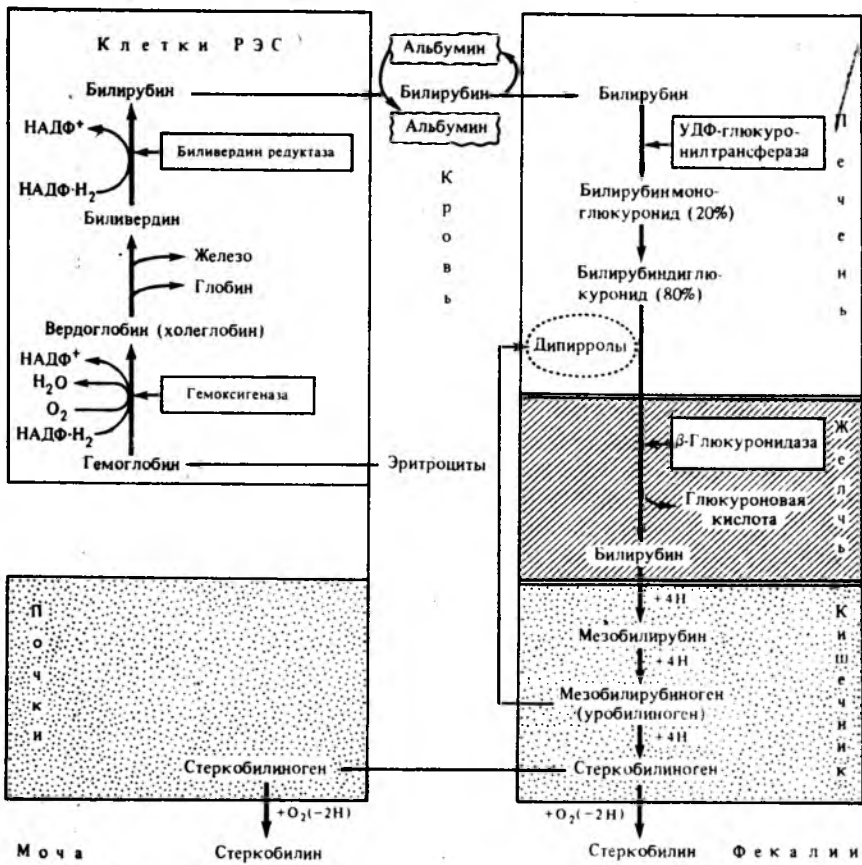


Рис. 61. Схема распада гемоглобина в тканях организма

ет в печень, где уробилиноген необратимо разрушается до моно- и дипирролов. Неразрушенный уробилиноген вновь поступает с желчью в кишечник. В толстом кишечнике мезобилирубиноген (уробилиноген) восстанавливается анаэробными бактериями до стеркобилиногена, который, как и уробилиноген, бесцветен. Большая часть стеркобилиногена выделяется с фекалиями и быстро окисляется кислородом воздуха до стеркобилина — оранжево-желтого пигмента, в основном определяющего цвет фекалий.

Небольшие количества стеркобилиногена всасываются в прямой кишке и через систему геморроидальных вен, минуя печень, достигают с током крови почек, которые выводят его с мочой. Стеркобилиноген мочи, как и в фекалиях, окисляется в стеркобилин, частично определяя нормальный соломенно-желтый цвет мочи. Ранее считалось, что с мочой выделяется уробилиноген (это нашло отражение в его названии), который окисляется в уробилин, имеющий ту же окраску, что и стеркобилин. Возможно, сходство в окраске приводило к ошибочным заключениям, хотя по строению уробилин

и стеркобилин отличаются. В норме уробилиноген не выделяется ни с мочой, ни с фекалиями.

Итак, в норме промежуточный продукт распада гема — билирубин — не накапливается в крови, а быстро захватывается клетками печени. По содержанию билирубина и соотношению его форм в крови можно судить, с одной стороны, о скорости распада гемпротейдов в клетках РЭС, а с другой — о превращении билирубина в печени. В норме содержание общего билирубина в сыворотке крови составляет 8—20 мкмоль/л (из них 75% неконъюгированного).

Конечный продукт превращения билирубина — стеркобилиноген — выделяется у человека в основном с калом (примерно 300 мг в сутки) и в незначительных количествах с мочой (около 1—4 мг в сутки). На состав пигментов, выделяемых с калом и мочой, влияет состояние микрофлоры кишечника. У новорожденных, не имеющих кишечной микрофлоры, выделяющийся билирубин окисляется до биливердина, окрашивающего кал в зеленоватый цвет (поэтому первородный кал — меконий — имеет травянистую окраску). У детей первого года жизни по мере заселения кишечника микрофлорой меняется состав выделяемых пигментов и окраска фекалий. Исчезает зеленоватый оттенок кала, вызываемый присутствием биливердина, так как бактерии кишечника начинают восстанавливать билирубин до стеркобилиногена.

3. Патология обмена желчных пигментов

Под влиянием различных факторов в организме может нарушаться образование, превращение и выведение билирубина. Повышение содержания билирубина в крови ведет к отложению его в тканях, в том числе в коже и слизистых, и вызывает окрашивание их в коричневато-желтый цвет (цвет билирубина). Эти состояния называют *желтухами*, которых бывает несколько видов: *гемолитическая* (или надпеченочная), *паренхиматозная* (или гепатоцеллюлярная) и *обтурационная* (или подпеченочная).

Гемолитическая желтуха возникает по многим причинам, вызывающим массивный внутрисосудистый или тканевый (в клетках РЭС) распад эритроцитов. Большое количество неконъюгированного билирубина, поступающего из клеток РЭС в кровоток, не успевает конъюгироваться в печени, поэтому в крови сохраняется высокий уровень его. Фекалии из-за избытка выделяемого стеркобилина и уробилина интенсивно окрашиваются и становятся почти темного цвета, а в моче содержится много уробилина, окрашивающего мочу в интенсивно оранжево-желтый цвет.

Паренхиматозная желтуха возникает вследствие повреждения клеток печени (вирусами, токсическими гепатотропными соединениями), приводящего к повышению их проницаемости, в том числе и для билирубинглюкуронидов, которые в норме мало проникают из печеночной клетки в кровь. Повреждение печеночных клеток снижает захват ими билирубина из крови и интенсивность образования билирубинглюкуронидов в них. Поэтому, несмотря на нормальный гемолиз, повышается (но не так выражено, как при гемолитической желтухе) содержание неконъюгированного и конъюгированного билирубина. Фекалии и моча из-за небольшого количества выделяющихся стеркобилина и уробилина слабо окрашены. Однако в моче появляется не-

большое содержание неконъюгированного билирубина, отсутствующего в норме.

Обтурационная желтуха (обтурация — в переводе закупорка) возникает в результате нарушения оттока желчи в кишечник. Она сопровождается выходом конъюгированного билирубина из клеток печени обратно в кровь. В крови повышено содержание конъюгированного билирубина, который как хорошо растворимое соединение выделяется в больших количествах с мочой. Из-за этого моча имеет цвет пива с ярко-желтой пеной. Кал, в котором отсутствуют желчные пигменты, приобретает серовато-белый, глинистый цвет.

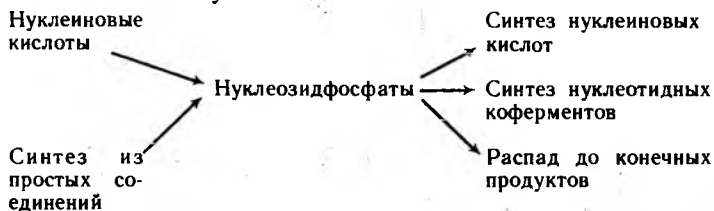
Желтуха новорожденных считается физиологической. Она возникает вследствие возрастного недостатка фермента конъюгации билирубина — глюкуронозилтрансферазы. Поэтому повышение распада эритроцитов, вызванное любыми причинами, ведет к повышению неконъюгированного билирубина в крови и желтухе. Физиологическая желтуха новорожденных обычно проходит через 2 недели по мере увеличения количества глюкуронозилтрансферазы в печени. У недоношенных детей она продолжается дольше. Длительное повышение неконъюгированного билирубина в крови может быть опасным вследствие токсического действия билирубина на развивающийся мозг. Иногда у детей появляются судороги или необратимые расстройства нервной системы. У взрослых клетки мозга малопроницаемы для билирубина и, как правило, осложнений при гипербилирубинемии не происходит. Чтобы повысить активность глюкуронозилтрансферазы, иногда прибегают к введению фенобарбитала, который увеличивает количество фермента и уменьшает проявления желтухи.

Нарушение пигментного обмена наблюдается при дисбактериозе кишечника, возникающего в результате подавления его нормальной микрофлоры (например, при длительном лечении антибиотиками тетрациклинового ряда). При дисбактериозе выделяются с калом промежуточные продукты восстановления билирубина, а в случае глубокого подавления микрофлоры сам билирубин, который окисляется в биливердин, окрашивающий кал в зеленоватый цвет.

ГЛАВА 21. ОБМЕН ПУРИНОВЫХ И ПИРИМИДИНОВЫХ МОНОНУКЛЕОТИДОВ

Для млекопитающих не требуется поступления с пищей азотистых оснований или нуклеотидов, хотя при приеме пищи, богатой нуклеиновыми кислотами, они всасываются в готовом виде. В их тканях расход пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов непрерывно возобновляется путем синтеза из простых фрагментов.

Нуклеозидфосфаты, содержание которых в нормальных клетках невелико и относительно постоянно, являются связующим звеном на путях поступления и использования мононуклеотидов:



1. Биосинтез мононуклеотидов

Биосинтез пуриновых мононуклеотидов. Первоначальным соединением синтеза пуриновых нуклеотидов служит фосфорибозилпирофосфат (ФРПФ), образующийся из рибозо-5-фосфата и АТФ. Первым пуриновым мононуклеотидом, завершающим длинную цепь реакций синтеза, является инозинмонофосфат (ИМФ), из которого затем образуются остальные пуриновые нуклеозидфосфаты через АМФ и КМФ (ксантозинмонофосфат). Происхождение атомов пуринового кольца показано на рис. 62.

Биосинтез пиримидиновых мононуклеотидов. Первоначальными соединениями в биосинтезе пиримидиновых мононуклеотидов являются карбамоилфосфат и аспарагиновая кислота. Из них образуются через длинную цепь реакций УМФ и остальные пиримидиновые мононуклеотиды (рис. 63). Источниками всех атомов пиримидинового кольца являются карбамоилфосфат и аспарагиновая кислота.

Биосинтез дезоксирибонуклеотидов, являющихся предшественниками ДНК, происходит путем восстановления рибозы до 2'-дезоксирибозы уже в составе готового нуклеотида. Восстановителем служит особый белок — тиоредоксин, содержащий в молекуле две SH-группы.

2. Распад нуклеиновых кислот и нуклеотидов

Нуклеиновые кислоты гидролизуются в тканях организма с помощью нуклеаз — дезоксирибонуклеаз (ДНКазы) и рибонуклеаз (РНКазы). Эти ферменты катализируют расщепление внутренних или концевых межнуклеотидных связей (3', 5'-фосфодиэфирных) в ДНК и РНК. Нуклеазы, расщепляющие связи внутри полинуклеотидной цепи, называются *эндонуклеазами*, а отщепляющие концевые нуклеотиды — *экзонуклеазами*. Некоторые экзонуклеазы способны гидролизовать как ДНК, так и РНК. Под действием нуклеаз полинуклеотидная цепь распадается до олигонуклеотидов и мононуклеотидов (нуклеозид-5'- или 3'-монофосфатов).

Мононуклеотиды распадаются до конечных продуктов обмена гидролити-

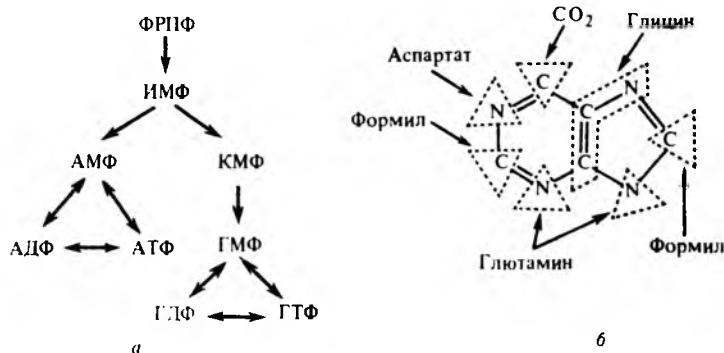


Рис. 62. Схема синтеза пуриновых мононуклеотидов (а) и источники атомов пуринового кольца (б) нуклеотидов

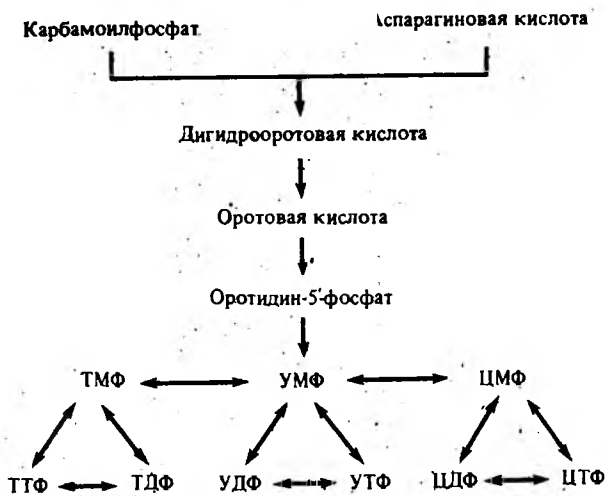
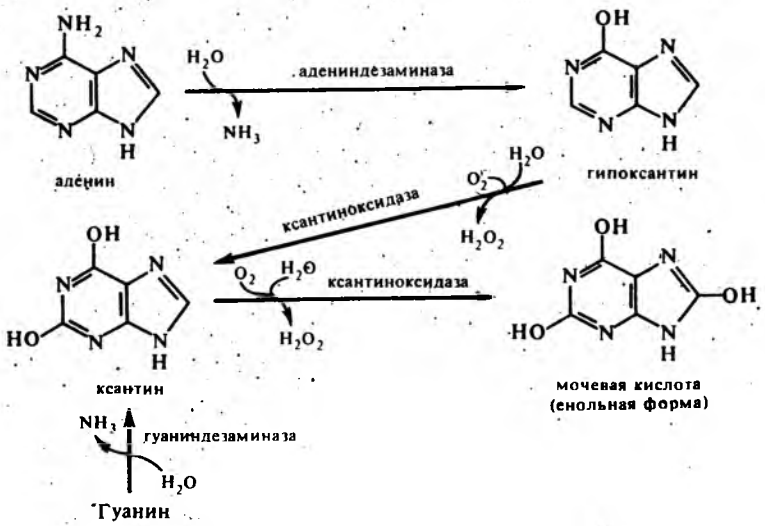


Рис. 63. Схема синтеза пиримидиновых нуклеотидов

ческим или фосфоролитическим путями (в первом случае для разрыва связей используется вода, а во втором — фосфорная кислота).

Мононуклеотиды расщепляются с помощью *нуклеотидаз* (5'-нуклеотидазы и 3'-нуклеотидазы) и нуклеозидгидролаз до свободных оснований, пентозы и фосфата.

Пуриновые основания окисляются до мочевой кислоты:



Она является конечным продуктом обмена пуриновых нуклеотидов в организме человека и выделяется с мочой. Превращение пиримидиновых основа-

ний идет до β -аланина, CO_2 и аммиака. β -Аланин используется для синтеза дипептидов мышц — карнозина и ансерина — или выделяется с мочой.

Таким образом, содержание мочевой кислоты в крови и моче отражает интенсивность расщепления нуклеиновых кислот в организме. Если принимать специальную безпуриновую диету, то по выделению с мочой мочевой кислоты можно судить об обмене эндогенных пуринов. Мочевая кислота — плохо растворимое в воде соединение, поэтому нормальные концентрации ее в жидких средах организма приближаются к пределу растворимости. Повышение ее содержания в крови — *гиперурикемия* — вызывает отложение в виде кристаллов урата натрия в тканях, особенно при местном снижении pH среды. Заболевание, сопровождающееся отложением уратов в суставах, почках, называется *подагрой*. Оно широко распространено, особенно у мужчин. Иногда к подагре приводит врожденная, частичная или полная недостаточность фермента, участвующего в повторном использовании свободных оснований в синтезе нуклеотидов. Препараты, снижающие образование мочевой кислоты при окислении пуринов (например, аллопуринол) или стимулирующие выведение ее почками (например, антуран, цинхофен), облегчают течение подагры.

ГЛАВА 22. ВЗАИМОСВЯЗЬ ОСНОВНЫХ ПУТЕЙ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ

Обмен важнейших структурных мономеров живых систем, т. е. аминокислот, моносахаридов (глюкозы), жирных кислот, мононуклеотидов, тесно взаимосвязан. Эта взаимосвязь осуществляется через так называемые ключевые метаболиты, которые служат общим звеном на путях распада или синтеза мономеров (рис. 64). К таким метаболитам можно отнести пируват, ацетил-КоА, α -глицеролфосфат и промежуточные продукты цикла Кребса (оксалоацетат, малат, фумарат, сукцинил-КоА, 2-оксоглутарат, изоцитрат и цитрат). Пируват является точкой пересечения путей распада и синтеза глюкозы (и других моносахаридов) и некоторых аминокислот. Более разветвленный узел метаболических связей представляет собой ацетил-КоА. Через него перекидывается мостик от моносахаридов и аминокислот к липидам, т. е. открывается путь превращения аминокислот (а следовательно, и белков) и глюкозы (т. е. вообще углеводов) в липиды. Как бы вспомогательным связующим звеном между углеводами и липидами служит α -глицеролфосфат. Через него происходит превращение углеводов в некоторые липиды (триацилглицерины, фосфоглицериды) и, наоборот, липидов, содержащих глицерин, в углеводы.

Обширные возможности для взаимопревращения одних мономеров в другие предоставляют промежуточные продукты цикла Кребса. Через цикл Кребса сообщаются все основные пути распада и синтеза веществ. Поэтому согласно схеме, приведенной на рис. 64, можно, например, представить, что жирные кислоты, являющиеся источником ацетил-КоА, превращаются в углеводы (через оксалоацетат цикла Кребса происходит новообразование глюкозы), в аминокислоты (через оксалоацетат и 2-оксоглутарат в аспарагиновую и глутаминовую кислоты), в порфирины (через сукцинил-КоА).

Мономеры являются структурными звеньями биополимеров, поэтому воз-



Рис. 64. Упрощенная схема взаимосвязи основных путей обмена веществ

можно относительная взаимозаменяемость белков, углеводов и липидов как главных компонентов пищи. Границы взаимозаменяемости позволяют понять не только возможные нарушения обмена при однообразном питании, но и механизм компенсации обмена веществ при голодании, т. е. образования одних веществ за счет эндогенных резервов других. Каковы же границы взаимозаменяемости? Эти рамки ограничивают прежде всего аминокислоты. Восемь незаменимых аминокислот не могут синтезироваться в организме млекопитающих из других веществ, да и синтез полузаменимых аминокислот ограничен. Следовательно, без этих аминокислот или без содержащих их пищевых белков организму не обойтись. Очевидно, аминокислоты (прежде всего незаменимые) являются первичными по отношению к остальным биомолекулам, и с их возникновением, возможно, началась эволюция живых систем.

Из схемы взаимосвязи путей обмена становится понятным, что если потребляются в полном ассортименте и достаточном количестве аминокислоты (точнее пищевые белки) и углеводы, то организм может обходиться достаточно долгое время без липидов (за исключением полиненасыщенных липидов). Аминокислоты и углеводы служат источником ацетил-КоА, а углеводы — к тому же источником и НАДФ · Н₂, что позволяет синтезировать липиды в нужном количестве. Та же схема показывает, почему организму человека вообще не требуется поступления с пищей пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов (структурных мономеров нуклеиновых кислот), ибо при наличии в пище белков и углеводов они синтезируются в необходимых количествах. Следовательно, белки и углеводы позволяют обеспечивать длительное время образование жизненно важных компонентов тканей организма и его нормальную деятельность. Конечно, это возможно, если с белками и углево-

дами поступают и такие компоненты пищи, как витамины, вода и неорганические ионы. Человек может долгое время обходиться и без углеводов, если поступают в необходимом количестве остальные компоненты пищи.

Г. ПЕРЕНОС ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОК

Способность к переносу генетической информации, т. е. к передаче наследственных свойств, является уникальным свойством живых организмов. Хранение и передача генетической информации, которую можно рассматривать как разновидность биологической памяти, возложена природой на нуклеиновые кислоты.

Генетическая программа, заложенная в ДНК хромосом ядра и митохондрий (или хлоропластов) клеток организмов, одинакова. Их специализация определяется различиями в реализации этой генетической программы в ходе развития клеток. Поэтому зрелые, дифференцированные клетки, например клетки нервной ткани, печени, отличаются друг от друга набором молекулярных компонентов, формирующих характерный структурный образ данной клетки, особенностями метаболизма и в конечном счете специфическими функциями. Формирование этих особенностей разных клеток можно упрощенно выразить в виде схемы (см. схему 4).

Схема 4. Роль генетической информации в формировании специальных структур клетки



Из нее видно, насколько важным является процесс переноса генетической информации для развития и нормальной деятельности клеток организма.

ГЛАВА 23. ПЕРЕНОС ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ И БИОСИНТЕЗ БЕЛКА В КЛЕТКАХ

1. Виды переноса генетической информации

Можно отметить три варианта переноса генетической информации, обнаруженные в различных организмах.

1. Перенос генетической информации в пределах одного класса нуклеиновых кислот, т. е. от ДНК к ДНК или у некоторых вирусов от РНК к РНК, называется *репликацией* или самоудвоением. Иногда такой вид переноса наследственной информации образно называют «переносом из хранилища в хранилище», подразумевая под этим, что ДНК (или РНК у некоторых вирусов) выполняет функцию хранилища генетической информации. Репликация происходит во время деления клеток (в S-фазу митотического цикла) и размножения вирусов, когда необходимо целиком передать информацию от одного организма к другому. Возможна репликация отдельных участков ДНК, называемая амплификацией.

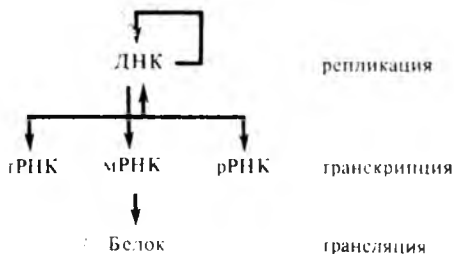
2. Перенос информации между разными классами нуклеиновых кислот: ДНК—РНК, называется *транскрипцией* или переписыванием. В отличие от репликации при транскрипции происходит копирование не целиком всей информации, заложенной в молекуле ДНК, а только ее отдельных участков. В ходе транскрипции образуются все типы РНК: главные (мРНК, тРНК, рРНК) и минорные.

Из этого следует, что цистроны ДНК содержат информацию не только о структуре полипептидной цепи, но и о структуре тРНК, рРНК и минорных типов РНК.

Транскрипция бывает прямая (от ДНК к РНК) и обратная (от РНК к ДНК). Впервые обратная транскрипция была выявлена у РНК-овых онкогенных вирусов (называемых онкорнавирусами), которые встраиваются в ДНК клетки-хозяина путем обратной транскрипции. Чужеродный участок ДНК — копия вирусной РНК — вызывает опухолевую трансформацию клетки. Возможно, обратная транскрипция имеет значение не только при опухолевой трансформации клеток, но и при их нормальной жизнедеятельности или в ходе их дифференцировки. В принципе обратная транскрипция возможна при использовании любого типа РНК, а не только мРНК.

3. Перенос генетической информации от мРНК к белку, т. е. в пределах разных классов макромолекул, называется *трансляцией* или переводом. При трансляции происходит как бы перевод информации с «языка» нуклеиновых кислот, имеющего нуклеотидный алфавит, на «язык» полипептидной цепи, в котором использован аминокислотный алфавит. Транслируется только мРНК. Остальные типы РНК являются готовыми продуктами генов, образующимися при транскрипции. рРНК и тРНК играют вспомогательную роль при трансляции. Трансляция, по термодинамическим и биологическим соображениям, может быть только прямой — от мРНК к белку. Обратная трансляция запрещена.

Перенос генетической информации в клетках — процесс непрерывный, и его можно выразить следующей схемой:



Подобное направление переноса генетической информации от ДНК через РНК к белку называется *центральной постулатом* молекулярной генетики, который был сформулирован Криком. Согласно ему не может быть переноса информации от белка к РНК, но допускается перенос от РНК к ДНК. Если вдруг обнаружится перенос информации от белка к РНК, то придется пересмотреть весь фундамент молекулярной генетики.

Итак, первичными продуктами действия генов являются два типа макромолекул. Это прежде всего белок и некоторые типы РНК: рРНК, тРНК и мРНК.

Все виды передачи генетической информации основаны на матричном механизме. Это означает, что для каждого из них необходима матрица. При репликации матрицей служит одна из цепей ДНК (или РНК у вирусов), при транскрипции — участок ДНК (прямая транскрипция) или РНК (обратная транскрипция), а при трансляции — мРНК, т. е. матрицей может быть только нуклеиновая кислота. Матрица позволяет с большой точностью (что очень важно, поскольку речь идет о наследственных свойствах) и экономичностью (что не менее важно) воспроизводить имеющуюся в клетке генетическую информацию. Точность копирования соответствующей нуклеиновой матрицы обеспечивает *правило комплементарности* азотистых оснований нуклеотидов, согласно которому происходит спаривание А с Т (или с У в РНК) и Г с Ц. Благодаря этому порядок чередования нуклеотидов в каждой новой полинуклеотидной цепи комплементарен матрице.

Представим себе, что не было бы матричного механизма переноса информации. В этом случае даже для сборки, например, одной цепи специфической ДНК бактерии, содержащей около миллиона нуклеотидов, нужно иметь полмиллиона высоко специфичных молекул ферментов (ибо каждая фосфодиэфирная связь между рядом стоящими нуклеотидами в полинуклеотидной цепи должна образовываться строго специфично). Следовательно, клетка должна иметь невероятно большой избыток ферментов только для репликации, а сам процесс был бы труден и длителен, к тому же высокая точность его вряд ли была бы возможна.

2. Молекулярные основы репликации

Теоретически возможны несколько вариантов репликации ДНК: *консервативная*, когда дочерняя двойная спираль ДНК образуется без разделения цепей родительской ДНК; *полуконсервативная*, при которой цепи родительской ДНК расходятся, и на каждой из родительских цепей образуются комплементарные цепи дочерней ДНК, и *дисперсивная*, которая предусматривает расщепление

в нескольких местах цепей родительской ДНК и образование на ней новых цепей ДНК.

В 1957 г. Меселсон и Сталь установили, что в живых организмах репликация ДНК происходит по полуконсервативному механизму. Сначала он представлялся просто: на расплетающихся цепях ДНК, которые являются матрицами, образуются комплементарные новые цепи ДНК. Нуклеотиды при этом выстраиваются по матрице соответственно правилу комплементарности, а «сшиваются» друг с другом фосфодиэфирными связями с помощью специального фермента *ДНК-полимеразы*. Впоследствии оказалось, что ДНК-полимераза не способна начать синтез новой ДНК из свободных нуклеотидов; она лишь способна удлинить уже полинуклеотидную цепь, т. е. для нее нужна затравка. В настоящее время репликация ДНК представляется сложным, многоступенчатым процессом, который имеет отличительные признаки у прокариотов и эукариотов.

Для репликации ДНК необходим ряд условий:

- 1) наличие дезоксирибонуклеозидтрифосфатов (дАТФ, дТТФ, дГТФ и дЦТФ) как структурного материала для сборки новых цепей ДНК;
- 2) расплетение двойной спирали ДНК;
- 3) образование затравки;
- 4) наличие ферментов, участвующих в образовании затравки и синтезе новых полинуклеотидных цепей ДНК.

Механизм репликации ДНК у прокариотов. Каждая стадия процесса репликации протекает с участием соответствующих ферментов.

1. *Расплетающие белки* разрывают водородные связи между комплементарными основаниями двойной спирали ДНК. В результате двойная спираль расплетается и расходится на отдельные цепи. (Внешне это напоминает растягивание застежки «молния».) Расплетенный участок ДНК называется *репликативной вилкой*. В его образовании участвует сразу до 200 молекул расплетающего белка, поэтому каждая ветвь репликативной вилки, на которой происходит начало синтеза новой ДНК, имеет протяженность до 2000 неспаренных оснований. Механизм действия расплетающих белков детально не изучен. Возможно, для расплетения ДНК используется энергия АТФ.

2. «*Затравочная*» *ДНК-зависимая РНК-полимераза* — особый вариант РНК-полимеразы (обычно эти ферменты участвуют в транскрипции), которая образует небольшую РНК-затравку («праймер»), комплементарную участку ДНК в репликативной вилке. Синтез РНК-затравки идет от конца 5' к концу 3'. Порядок чередования нуклеотидов в РНК задается ДНК-матрицей, а сшивка их 5'→3'-фосфодиэфирными связями осуществляется РНК-полимеразой.

3. *ДНК-Полимеразы*. Известны три формы ДНК-полимераз у прокариотов: I, II и III. Все они обладают двумя видами активности: полимеразной и нуклеазной. Полимеразная состоит в образовании фосфодиэфирных связей 5'→3' между дезоксирибонуклеотидами, нуклеазная — в гидролизе фосфодиэфирных связей.

ДНК-полимераза I расщепляет РНК-затравку при репликации (действует как РНКаза) и на ее месте синтезирует комплементарный фрагмент ДНК.

ДНК-полимераза II имеет очень низкую полимеразную активность. Функция ее в репликации неизвестна.

ДНК-Полимераза III является основным ферментом репликации, синте-

зируя на разошедшихся цепях ДНК комплементарные участки новой ДНК в направлении $5' \rightarrow 3'$.

4. *Рибонуклеаза Н*. Участвует в гидролизе РНК-затравки в ходе репликации наряду с ДНК-полимеразой I.

5. *ДНК-Лигазы* (соединяющие ферменты). Обнаружено несколько ферментов, функция которых состоит в соединении друг с другом новосинтезированных фрагментов ДНК. ДНК-Лигазы образуют фосфодиэфирные связи $3' \rightarrow 5'$, используя НАД^+ в качестве источника аденилила.

Общая схема репликации представляется следующим образом (рис. 65). Под действием расплетающих белков образуются сразу в нескольких местах молекулы ДНК (как правило, на внутренних участках) репликативные вилки. Начинается репликация (инициация) с образования РНК-затравки с помощью РНК-полимеразы в направлении $5' \rightarrow 3'$. После завершения синтеза короткой цепи РНК на матрице ДНК фермент отделяется от ДНК. Далее происходит присоединение к РНК-затравке дезоксирибонуклеотидов с помощью ДНК-полимеразы III в направлении $5' \rightarrow 3'$. Образуется гибридная цепь: РНК — ДНК. Причем ДНК-полимераза III синтезирует короткие фрагменты ДНК (фрагменты Оказаки) на другой родительской цепи репликативной вилки. Интересно, что по ходу синтеза ДНК-полимераза III может исправлять ошибки при неправильном спаривании нуклеотидов. Если произошла ошибка, то этот нуклеотид тут же отщепляется ферментом благодаря нуклеазной активности, а при правильном спаривании нового нуклеотида присоединяет его к уже имеющемуся фрагменту ДНК.

РНК-Затравка после действия ДНК-полимеразы III полностью удаляется или специфической рибонуклеазой Н, или ДНК-полимеразой I. На месте бывшей РНК-затравки наращивается цепь ДНК с помощью ДНК-полимеразы I. Соединение синтезированных фрагментов ДНК (фрагментов Оказаки) в направлении $3' \rightarrow 5'$ происходит с помощью ДНК-лигазы.

Точность репликации очень высока. Частота спонтанных ошибок при репликации составляет около $10^{-6} - 10^{-9}$. Это означает, что возможно ошибочное включение только одного нуклеотида на каждый новосинтезированный фрагмент ДНК, содержащий $10^6 - 10^9$ нуклеотидов.

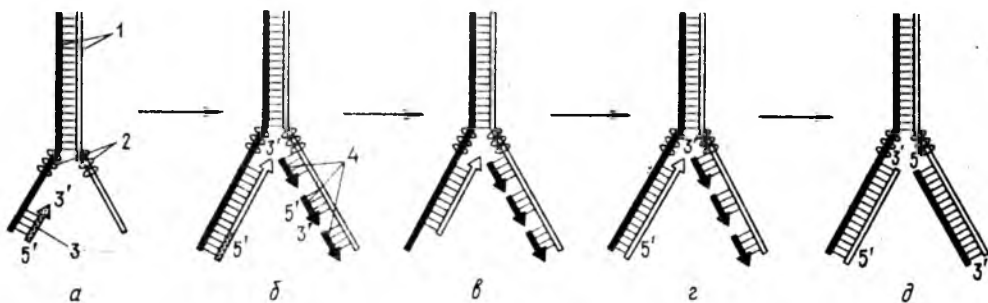


Рис. 65. Схема репликации ДНК:

а — расхождение цепей родительской ДНК и синтез РНК-затравки; б — образование комплементарной гибридной цепи РНК—ДНК и синтез фрагментов Оказаки в направлении $5' \rightarrow 3'$; в — гидролиз РНК-затравки; г — достраивание комплементарной цепи ДНК на месте РНК-затравки; д — сшивание фрагментов комплементарной цепи ДНК; 1 — родительские цепи; 2 — расплетающий белок; 3 — РНК; 4 — фрагменты Оказаки

Репликация ДНК у эукариот. Репликация ДНК в хромосомах и митохондриях эукариотов происходит тоже полуконсервативным способом. Имеются некоторые особенности репликации ДНК ядер и митохондрий (или хлоропластов) эукариот. В клетках млекопитающих обнаружены те же ферменты репликации ДНК (расплетающие белки, РНК-полимераза, ДНК-полимераза, рибонуклеаза Н, ДНК-лигазы). Однако эти ферменты отличаются по молекулярной структуре и свойствам от ферментов прокариотов. Так, ДНК-полимеразы ядер (а их тоже обнаружено три — α , β и γ) и митохондрий (γ -типа) клеток млекопитающих не обладают нуклеазной активностью. Наиболее активна у них ДНК-полимераза α . Она, видимо, выполняет ту же функцию при репликации, что и ДНК-полимераза III прокариотов.

Репарация ДНК. Репарацию, или исправление поврежденных участков одной из цепей ДНК, можно рассматривать как ограниченную репликацию. Наиболее изучен процесс репарации при повреждении цепи ДНК ультрафиолетовым излучением, например, эпителиальных клеток кожи. При УФ облучении образуются «сшивки» между соседними остатками тимина в ДНК. Эти димеры тимина уже не могут выполнять функцию матрицы при репликации. Поэтому в клетках имеются ферменты, исправляющие поврежденные участки ДНК. Сначала такой участок удаляется ДНКазами. Затем фермент типа ДНК-полимеразы I заполняет пробел путем синтеза участка ДНК в направлении $5' \rightarrow 3'$. На последнем этапе сшиваются концы ДНК-лигазой.

3. Молекулярные основы транскрипции

В процессе жизнедеятельности зрелой клетки только часть генетической информации, записанной в ДНК хроматина, реализуется при транскрипции в виде копий РНК. Участки неактивной, или репрессированной, ДНК входят в состав глобулярных нуклеосом хроматина, а активной — в состав межнуклеосомных фрагментов или «развернутых» линейных нуклеосом.

Элементарную единицу транскрипции у прокариотов и эукариотов, т. е. отрезок ДНК, подвергающийся транскрипции, принято называть *транскриптоном*. Иногда транскриптоны прокариотов называют также *оперонами*. Длина транскриптонов колеблется от 300 до 10^8 нуклеотидов (последняя цифра характерна для высших эукариотов, у которых, как правило, размеры транскриптонов намного больше, чем у прокариотов).

Отдельные участки транскриптонов несут разную функцию. Одна группа участков относится к информативным, а другая — к неинформативным. К информативным относятся структурные цистроны или гены, несущие информацию о структуре полипептидной цепи или нематричных РНК (рРНК, тРНК, других низкомолекулярных стабильных РНК); неинформативные выполняют другие функции и не содержат генетической информации. Особенно велика неинформативная часть транскриптона у высших эукариотов. Совершенно неожиданно оказалось, что структурные гены в транскриптоне могут быть двух типов: непрерывными и «разорванными», или прерывистыми. Непрерывность генов считалась абсолютным признаком. Действительно, трудно было представить, что, например, полипептидная цепь записана в соответствующем цистроне не вся, а кусками. Тем не менее во многих структурных генах, особенно эукариотов, генетическая информация записана с перерывами. Участки в структурных генах, несущие информацию, называются *экзонами*.

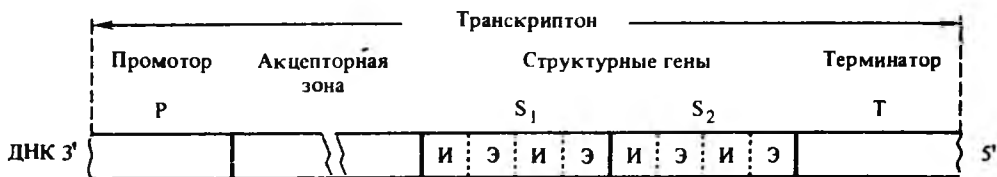
а неинформативные — *интронами*. Возможно, интроны играют дополнительную регуляторную функцию для экзонов.

В ДНК хромосом обнаружены подвижные фрагменты, которые названы *мобильными генами* или *транспозонами*. Выявлено несколько разновидностей таких генов, отличающихся нуклеотидным составом и длиной полинуклеотидной цепи. Миграцию транспозонов объясняют механизмом обратной транскрипции, т. е. сначала образуется транскрипт мобильного гена, а затем он используется как матрица для встраивания ДНК-копии в другом участке хромосом. Функция «прыгающих» генов еще не ясна. Известно, однако, что они могут вызывать перестройки в геноме, изменять функцию тех участков ДНК, рядом с которыми они встраиваются. В частности, вклиниваясь рядом с онкогеном (участком ДНК, вызывающим перестройку нормальной клетки в опухолевую), мобильные гены активируют их функцию, что может привести к опухолевому перерождению ткани. Вместе с тем мобильные гены, участвуя в перестройке отдельных фрагментов хромосом, влияют на изменчивость организмов и их эволюцию.

Схема функциональной организации транскриптона у прокариотов и эукариотов представлена на рис. 66. Начальный участок транскриптона, с которого начинается транскрипция, называется *промотор*. К нему присоединяются белки, облегчающие начало транскрипции, и фермент транскрипции РНК-полимераза. *Оператор* — участок ДНК, связывающий белки-регуляторы транскрипции. Таким белком-регулятором транскрипции у прокариотов является *репрессор*.

У эукариотов после промотора находится участок транскриптона, который называют *акцепторной* или *управляющей зоной*. С ней взаимодействуют различные регуляторы, влияющие на транскрипцию. В акцепторной зоне

Э у к а р и о т ы



П р о к а р и о т ы

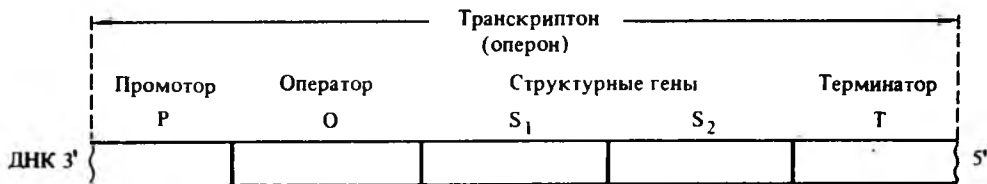


Рис. 66. Функциональная организация транскриптонов у прокариотов и эукариотов (И — интрон; Э — экзон)

имеется фрагмент ДНК (его называют усилитель или «энхансер»), который облегчает транскрипцию с участием РНК-полимеразы.

К оператору, или акцепторной зоне, примыкают структурные цистроны, или гены, содержащие перемежающиеся участки интронов и экзонов. В одном транскрипте может быть один структурный цистрон (моноцистронный транскриптон) или несколько (полицистронный транскриптон). В конце транскриптона имеется последовательность нуклеотидов, которая является своего рода сигналом об окончании транскрипции, — *терминатор*. РНК, образующаяся при транскрипции, называется *транскриптом*. Транскрипт — комплементарная копия транскриптона от промотора до терминатора.

Для транскрипции необходимы определенные условия:

1) участок ДНК, подлежащий транскрипции, должен быть расплетен для образования одноцепочечной матрицы (только одна цепь ДНК служит матрицей при синтезе РНК; если бы обе цепи ДНК одновременно использовались в качестве матрицы, то на одном транскрипте синтезировались бы две комплементарные РНК, несущие информацию для двух разных белков);

2) наличие рибонуклеозидтрифосфатов (АТФ, ГТФ, УТФ, ЦТФ) для синтеза РНК;

3) наличие специальных ферментов транскрипции ДНК-зависимых РНК-полимераз, синтезирующих РНК по матрице ДНК.

Механизм транскрипции ДНК. Транскрипция имеет три фазы: инициацию, элонгацию и терминацию, т. е. начало, продолжение и окончание синтеза РНК (рис. 67).

Инициация транскрипции происходит вследствие присоединения ДНК-зависимой РНК-полимеразы к промотору, обладающему высоким сродством к этому ферменту. Промотор — стартовая точка транскрипции. РНК-полимераза прокариотов состоит из пяти разных субъединиц. Четыре из них образуют агрегат, называемый *кор-ферментом* (от лат. *cor* — сердце, сердцевина), катализирующий образование фосфодиэфирных связей между нуклеотидами в РНК. Пятая субъединица, называемая σ -фактором или σ -субъединицей, легко отделяется от кор-фермента. Эта σ -субъединица как бы выбирает стартовую точку транскрипции, связываясь с промотором. Затем к σ -фактору, выбравшему место транскрипции, присоединяется кор-фермент и начинается транскрипция. Неясно, что вызывает разъединение двойной спирали ДНК в месте транскрипции. Возможно, эту функцию тоже выполняет РНК-полимераза, а может быть, есть специальный белок (типа расплетающего, как при репликации).

У эукариотов имеется три РНК-полимеразы: I, II и III. Это белки, состоящие из нескольких субъединиц и отличающиеся друг от друга по специфичности транскрипции. РНК-Полимераза I ответственна за транскрипцию генов рРНК, РНК-полимераза II — за тРНК и 5S рРНК, а РНК-полимераза III участвует в синтезе предшественника мРНК. Очевидно, структура трех разных типов РНК-полимераз эукариотов предусматривает специфический выбор транскриптонов, содержащих информацию о структуре рРНК, тРНК и полипептидной цепи.

РНК-Полимеразы наращивают цепь всегда только в направлении $5' \rightarrow 3'$, поэтому $5'$ -конец содержит всегда трифосфат ($\text{Ф} \sim \text{Ф} \sim \text{Ф} -$), а $3'$ — свободный ОН. Начинается синтез всех цепей РНК либо с фффА, либо с фффГ, которые

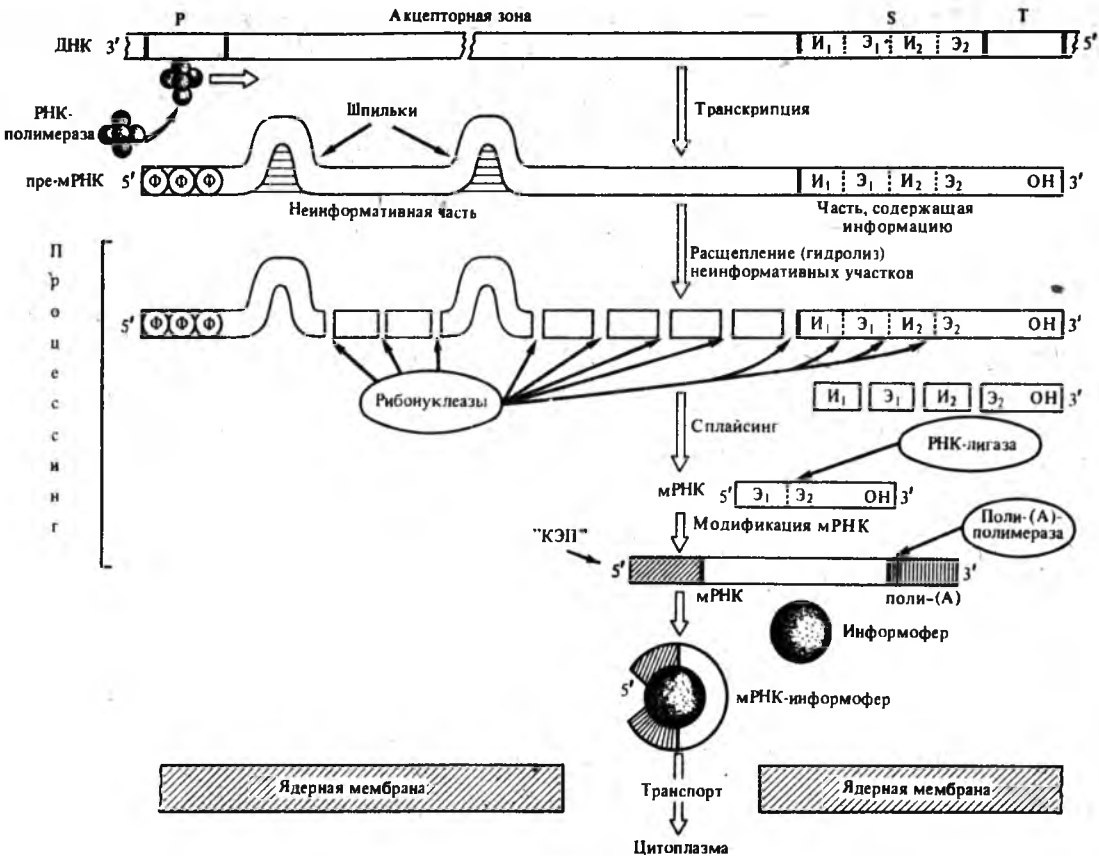


Рис. 67. Схема транскрипции и посттранскрипционных процессов в ядре эукариотов

специфически спариваются со стартовыми основаниями разных транскриптонов.

Элонгация транскрипции происходит при скольжении РНК-полимеразы вдоль матрицы ДНК. Каждый следующий нуклеотид спаривается с комплементарным основанием в ДНК-матрице, а РНК-полимераза «скрепляет» его с растущей цепью РНК фосфодиэфирными связями. Скорость элонгации составляет примерно 40—50 нуклеотидов в секунду.

Терминация транскрипции происходит после достижения РНК-полимеразой нуклеотидных последовательностей ДНК, являющихся стоп-сигналами. Считают, что такими стоп-сигналами в транскриптоне могут быть поли(А) последовательности, поскольку в транскриптах на 3'-конце обнаруживаются комплементарные им поли(У) последовательности. Выделен и специальный фактор терминации — ρ -фактор, который является белком. Он обрывает транскрипцию, каким-то образом взаимодействуя с терминирующими последовательностями транскриптона. Благодаря терминаторам цепи РНК образуются только определенной длины.

По мере того как транскрипция подходит к концу, синтезированная РНК отделяется от ДНК. Первичные продукты транскрипции, т. е. РНК, являются полными копиями (в комплементарном изображении) транскриптонов ДНК. А значит, в новосинтезированной РНК имеются информативные и неинформативные участки. Причем неинформативные участки, несущие определенные функции в транскриптоне ДНК, очевидно, не нужны в РНК и являются своеобразными издержками транскрипции. Да и перенесены они в РНК потому, что процесс транскрипции непрерывен, а «выборочное» копирование только информативных (структурных) участков транскриптонов вряд ли возможно. Первичные транскрипты нужно освободить от неинформативного груза и оставить только информативную часть молекул РНК. Поэтому первичный транскрипт называют РНК-предшественником. При транскрипции образуется в основном три типа предшественников РНК:

- 1) предшественник мРНК, или гетерогенная ядерная РНК (сокращенно пре-мРНК или ГяРНК), содержащая мРНК, использующуюся в цитоплазме как матрица при синтезе белка;
- 2) предшественники рРНК (пре-рРНК), содержащие 18S рРНК и 28S рРНК у эукариотов и, соответственно, 16S и 23S рРНК у прокариотов;
- 3) предшественник тРНК (пре-тРНК).

Все пре-РНК представляют собой линейные цепи, не замыкающиеся в кольцо. Они длиннее, чем функционирующие молекулы РНК. Особенно неоднородна по молекулярной массе пре-мРНК: от 6—7S до гигантских размеров 50—70S. Это связано с разнообразием молекулярной массы белков, информация о которых содержится именно в пре-мРНК.

В ядре эукариотов все предшественники связываются с белками, образуя рибонуклеопротеиды.

4. Посттранскрипционные изменения РНК

В ядре все предшественники РНК проходят стадию *посттранскрипционного созревания*, или *процессинга* (см. рис. 67). В ходе процессинга удаляются неинформативные «излишки» в пре-РНК и образуются «зрелые», функциональные молекулы РНК.

Процессинг включает три операции:

1) вырезание неинформативных участков из пре-рНК;

2) сращивание информативных участков «разорванных» генов — *сплайсинг*;

3) модификация 5'- и 3'-концевых участков рНК.

Процессинг пре-мрНК. Вырезание неинформативных участков пре-мрНК осуществляется с помощью рибонуклеаз (экзо- и эндонуклеаз). Они гидролизуют фосфодиэфирные связи, начиная с 5'-конца, и оставляют от пре-мрНК необходимую часть готовой мрНК. Если пре-мрНК получена с транскриптона, содержащего разорванные гены, то происходит вырезание интронов (участков, не несущих информации), находящихся во внутренней части пре-мрНК. Оставшиеся экзоны сращиваются в единую цепь с помощью специальных рНК-лигаз. В результате восстанавливается, уже после транскрипции, непрерывность генов, кодирующих полипептидные цепи. Далее здесь же в ядре происходит модификация 5'- и 3'-концов образовавшейся мрНК. К 5'-концу мрНК присоединяется олигонуклеотид, который называется «колпачком» или «кэпом». Этот «колпачок» состоит, как правило, из двух или трех метилированных нуклеотидов; концевым нуклеотидом является 7-метилгуанозин, который соединен с остальной мрНК не 5'→3', а 5'→5' фосфодиэфирной связью. Этот метилированный «колпачок» защищает мрНК от разрушения 5'-экзонуклеазами.

К 3'-концу мрНК у эукариот присоединяется полиадениловый фрагмент — поли(А), состоящий примерно из 200 нуклеотидов. Присоединение осуществляется с помощью *поли(А)-полимеразы*. Этот поли(А)-фрагмент, очевидно, необходим для транспорта мрНК из ядра в цитоплазму.

Процессинг пре-ррНК. Пре-ррНК образуется в ядрышке, где находятся транскриптоны ррНК. В ДНК ядрышка гены 18S и 28S ррНК входят в один транскриптон, где расположены тандемами, т. е. попарно друг за другом. В пре-ррНК их расположение такое же. Размеры пре-ррНК достигают 45S (молекулярная масса порядка $4-5 \cdot 10^6$). В ходе процессинга остается чуть больше половины пре-ррНК и освобождаются зрелые 18S и 28S ррНК. Часть нуклеотидов ррНК подвергается модификации, которая состоит в метилировании оснований. Реакция осуществляется *метилтрансферазами*. В роли донора метильных групп выступает S-аденозилметионин. Зрелые ррНК соединяются в ядре с белками рибосом, поступающих сюда из цитоплазмы, и образуют малую и большую субчастицы рибосом.

Процессинг пре-трНК. Пре-трНК образуется в разных местах ДНК хромосом и содержит излишки примерно в 40 нуклеотидов по сравнению со зрелой трНК. При процессинге рибонуклеазами удаляются излишки нуклеотидов, а затем происходит метилирование оснований трНК. Этот процесс аналогичен метилированию ррНК. Метилирование препятствует разрушению трНК нуклеазами. Окончательно зрелая трНК образуется путем присоединения специфической тройки нуклеотидов (акцепторного конца) — ЦЦА, которое осуществляется специальной рНК-полимеразой.

Транспорт зрелых рНК из ядра в цитоплазму. В отличие от прокариот у эукариотов имеется ядерная мембрана, через которую необходимо доставить готовые рНК в цитоплазму, где происходит синтез белка. Все зрелые рНК транспортируются из ядра в цитоплазму в комплексе с белком, который дополнительно защищает их от разрушения и способствует переносу. мрНК

связывается с особым белком — *информофером*, что означает «несущий информацию». Вместе с этим белком РНК доставляется к рибосомам цитоплазмы, где и происходит сборка белка из аминокислот, или трансляция.

5. Молекулярные основы трансляции

При трансляции генетический текст мРНК переводится в линейную последовательность аминокислот полипептидной цепи белка. Поскольку продуктом трансляции является специфический белок, то процесс трансляции в равной степени можно назвать биосинтезом белка.

Процесс трансляции можно разделить на два этапа, которые имеют разную локализацию в клетке: рекогниция, или узнавание аминокислот, и собственно биосинтез белка. Рекогниция протекает в гиалоплазме, а биосинтез белка происходит на рибосомах.

Рекогниция, или узнавание аминокислот

Сущность процесса узнавания аминокислот состоит в том, чтобы соединить аминокислоту со своей тРНК. Структура тРНК обладает качествами потенциального «переводчика», так как в одной молекуле совмещены способности «читать» нуклеотидный текст (антикодон тРНК специфически спаривается с кодоном мРНК) и нести (на акцепторном конце) свою аминокислоту. Однако соединиться со своей аминокислотой тРНК не может. Для этой цели в клеточном соке имеются специальные ферменты, которые по существу выполняют роль «переводчиков», т. е. обеспечивают узнавание тРНК своей аминокислоты. Эти ферменты называются *аминоацил-тРНК-синтетазами* (сокращенно АРСазы). Существует как минимум 20 типов АРСаз (по числу протеиновых аминокислот). АРСазы — крупные молекулы (молекулярная масса 100 000—240 000), имеющие четвертичную структуру. Они специфически узнают тРНК и аминокислоту, катализируя их соединение по реакции



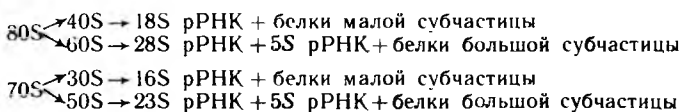
Для этого процесса требуется АТФ (Mg^{2+} играет роль кофактора), энергия которой используется на образование макроэргической связи в аминоацил-тРНК, т. е. в реакции происходит одновременно активирование аминокислоты с карбоксильного конца и присоединение ее к гидроксилу (3'-ОН) аденозина акцепторного конца (ЦЦА) тРНК. В клетках содержится не 20 тРНК, а примерно 40—60, так как некоторые аминокислоты используют несколько специфичных для них тРНК. Из этого следует, что АРСазы обладают способностью выборочно использовать при узнавании ассортимент тРНК для данной аминокислоты, т. е. ведущим звеном узнавания является аминокислота, а к ней подгоняется своя тРНК (или свои тРНК).

Далее тРНК путем простой диффузии переносит присоединенную к ней аминокислоту к рибосомам, где происходит сборка белка из аминокислот, поступающих в виде разных аминоацил-тРНК.

Биосинтез белка на рибосомах

Для биосинтеза белка (второго этапа трансляции) требуются: мРНК как генетическая матрица, программа которой определяет порядок чередования аминокислот в белке; аминоацил-тРНК (для чтения «текста» мРНК и как источник аминокислот при сборке белка); рибосомы как молекулярные машины для последовательного соединения аминокислот в полипептидную цепь в соответствии с программой мРНК; ГТФ как источник энергии при синтезе белка в рибосомах; белковые «факторы», помогающие на разных фазах сборки белка в рибосомах, и, наконец, некоторые ионы как кофакторы (Mg^{2+} , K^+ и др.).

Что представляют собой рибосомы? Устройство рибосом прокариотов и эукариотов примерно одинаково. Отличаются они лишь молекулярной массой. У эукариотов — 80S рибосомы, у прокариотов они мельче — 70S. Состоят рибосомы из двух субчастиц — большой и малой; «скелет» каждой из них образует рРНК, окруженная белками.



В состав рибосом входит до 60 белков, функция которых еще во многом невыяснена. Установлено лишь одно: только в полностью собранном виде рибосомы активны. Рибосомы, не участвующие в синтезе белка, легко диссоциируют на субчастицы. В клетке рибосомы или находятся в свободном состоянии, т. е. в клеточном соке, или связаны с мембранами эндоплазматической сети. Свободное перемещение рибосом в различные участки клетки или соединение их в разных местах с мембранами эндоплазматического ретикулума, очевидно, дает возможность собирать белки в клетке там, где это нужно.

Механизм синтеза белка на рибосомах

Синтез белка, или собственно трансляцию, принято разделять на три фазы: инициация (начало), элонгация (удлинение полипептидной цепи) и терминация (окончание).

Инициация. Начало трансляции — наиболее медленный процесс. В нерабочем состоянии субчастицы рибосом разомкнуты. мРНК, поступившая из ядра в цитоплазму, связывается с малой субчастицей на поверхности, обращенной к большой субчастице. Причем точка присоединения к субчастице расположена рядом с 5'-концом РНК, так как «чтение» программы РНК всегда идет в направлении 5'→3'. В пределах субчастицы умещаются только два кодона мРНК. Первым кодоном мРНК у 5'-конца является АУГ или ГУГ. Эти кодоны называются *иницирующими*, так как именно с них всегда начинается трансляция в рибосомах. Этим кодонам соответствует антикодон метионил-тРНК. У эукариотов имеются две разные метионил-тРНК. Одна из них всегда участвует в инициации, а другая используется в процессе элонгации. У прокариотов синтез белка начинается с формилметионил-тРНК, где NH_2 -группа заблокирована формильной группой.

Кроме того, в инициации участвует как минимум три белковых фактора

инициации (F_1, F_2, F_3), которые не являются составными компонентами рибосом, и ГТФ. Белковые факторы инициации облегчают связывание мРНК с малой субчастицей и ГТФ. К этому первичному комплексу (факторы инициации — малая субчастица — мРНК — ГТФ) присоединяется большая субчастица, т. е. происходит смыкание субчастиц рибосом, после чего факторы инициации удаляются из рибосом. Необходимая для смыкания субчастиц энергия получается за счет гидролиза ГТФ. Образовавшийся инициаторный комплекс (мРНК, рибосома и метионил-тРНК) готов к элонгации. Причем метионил-тРНК своим антикодоном специфически спаривается с кодоном АУГ мРНК, т. е. как бы «подвешивается» на водородных связях к мРНК, а акцепторный конец, где находится аминокислота, прикрепляется к большой субчастице рибосом.

Элонгация. Рассмотрим, как происходит удлинение полипептида на одну аминокислоту (рис. 68). Синтез полипептида всегда начинается от N-конца и заканчивается С-концом. Нарастивание полипептида на одну аминокислоту осуществляется в три шага:

- 1) связывание аминоксил-тРНК;
- 2) транспептидация (или перенос пептида);
- 3) транслокация (или перемещение мРНК на один триплет).

Первый шаг. В рибосомах (как показано на рис. 68) слева находится тРНК, которая антикодоном связана с кодоном мРНК, а акцепторный конец «связан» с растущим пептидом (на рис. 68 изображен дипептид).

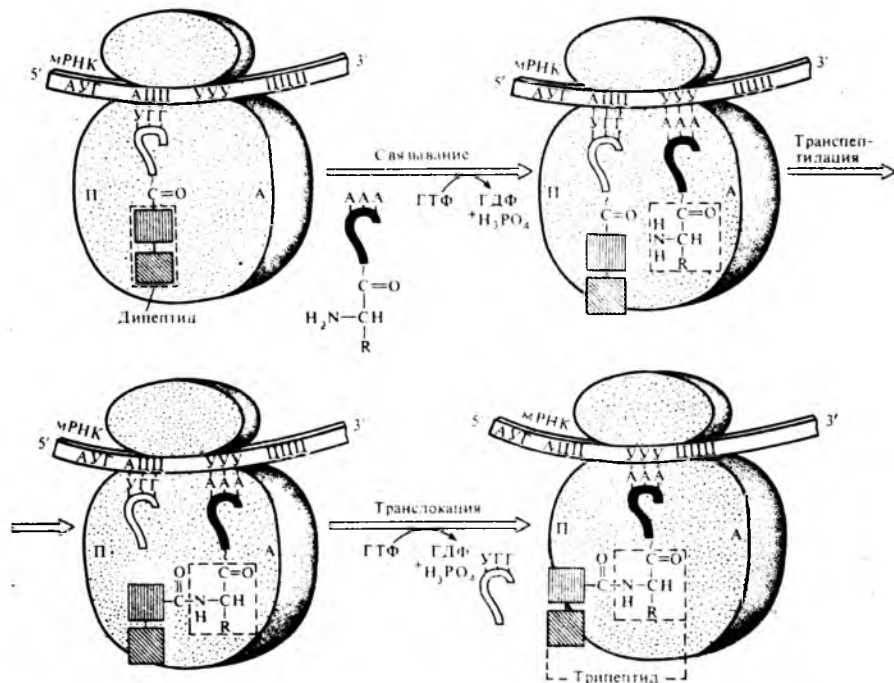


Рис. 68. Схема синтеза белка в рибосомах (элонгация)

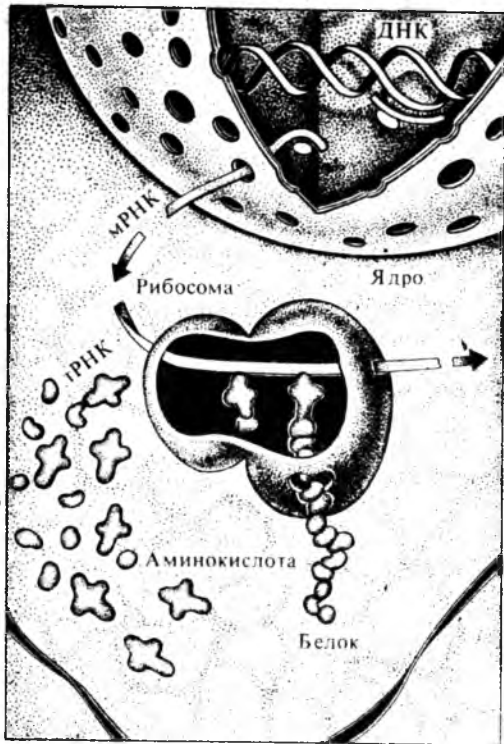


Рис. 69. Общая схема синтеза белка
(по А. С. Спирину)

тРНК из рибосом. Для синтеза одной пептидной связи (или удлинения полипептида на одну аминокислоту) затрачивается энергия двух молекул ГТФ.

Помогают элонгации так называемые белковые факторы элонгации. Элонгация продолжается до тех пор, пока весь текст мРНК не будет прочитан.

Терминация — окончание трансляции — зависит от присутствия в мРНК терминирующих кодонов, или «стоп-сигналов» (УАА, УГА, УАГ) и белковых факторов терминации. С терминирующими кодонами не может связаться ни одна тРНК, так как нет тРНК с соответствующими антикодонами. Возможно, что белковые факторы терминации освобождают синтезированную полипептидную цепь (рис. 69).

В клетке мРНК в синтезе белка использует не одну, а несколько рибосом. Такой работающий комплекс мРНК с несколькими (от 4 до 20) рибосомами называется *полирибосомой*. Благодаря образованию полирибосом нет нужды в большом числе копий мРНК. В то же время синтез белка протекает быстрее, чем при использовании только одной рибосомы. За секунду полипептидная цепь удлиняется на одну аминокислоту, а в интенсивную фазу роста клеток скорость синтеза нарастает до 20 аминокислот в секунду. После

Этот пептид, входящий в пептидил-тРНК, связан с П-участком, который в виде белковой ниши находится на большой субчастице. В момент первого шага второй кодон мРНК свободен. С ним спаривается своим антикодоном поступающая в рибосому аминоацил-тРНК. Аминоацильный конец этой тРНК связывается с А-участком большой субчастицы рибосомы. На этом первый шаг, т. е. связывание, заканчивается. На связывание тратится энергия фосфатной связи ГТФ.

Второй шаг — транспептидация — совершается таким образом, что происходит переброс пептидила с левой тРНК на аминогруппу аминоацил-тРНК. При этом образуется пептидная связь. Катализируют образование пептидной связи белки рибосом, обладающие пептидилтрансферазной активностью.

Третий шаг состоит в размыкании субчастиц рибосом, на что расходуется энергия одной молекулы ГТФ. Пептидил-тРНК, уже несущая трипептид, перемещается из А-участка вместе с мРНК, с которой она спарена, в П-участок на один триплет и выталкивает свободную

отделения мРНК от рибосомы она тут же гидролизуется цитоплазматическими рибонуклеазами. Поэтому для биосинтеза тех же белков необходимо вновь создавать мРНК.

Посттрансляционные изменения белка

Уже в ходе трансляции белок начинает укладываться в трехмерную структуру, которую он окончательно принимает после отделения синтезированного белка от рибосом. Часть белков синтезируется в виде предшественников. Они подвергаются ограниченному протеолизу в цитоплазме клетки. Очевидно, обработку протеазами проходит большинство белков, т. е. происходит их своеобразное созревание.

Значительная часть синтезированных белков остается в клетке. Однако часть белков экспортируется из нее. Особенно активно выделяются белки железистыми клетками, клетками печени. Как правило, экспортируются из клетки белки, которые синтезируются на рибосомах, связанных с мембранами эндоплазматического ретикулума. Уже при синтезе растущая полипептидная цепь проникает через мембрану и попадает в каналы эндоплазматической сети. В цистернах эндоплазматического ретикулума белки концентрируются. Хранение и секреция их происходят в аппарате Гольджи, где к белкам присоединяется углеводный компонент (ставится «углеводный штамп» на пропуск из клетки); они транспортируются наружу путем экзоцитоза. Для этого требуется энергия АТФ, поэтому при дефиците АТФ белки задерживаются в клетке.

Консервация мРНК

Если необходимо сохранить мРНК, а затем вновь использовать ее генетическую программу для сборки нужных белков, требуется защитить ее от действия нуклеаз. В клетках консервация мРНК происходит путем связывания ее со специальными белками цитоплазмы. Такой комплекс белка с мРНК называется *информосомой*. При появлении необходимости в мРНК для синтеза белка она связывается с малой субчастицей рибосом и участвует в трансляции. Прием консервации мРНК используется в ходе развития клеток. Функционирующий ген на одной стадии развития нарабатывает продукт — мРНК, которая консервируется в цитоплазме. На следующей стадии развития ген вообще может не функционировать, а информация его тем не менее может использоваться для сборки специфических белков.

6. Биосинтез белка в митохондриях

В митохондриях имеется полная система переноса генетической информации от ДНК к белку. ДНК митохондрий сходна по размерам и кольцевой форме с бактериальной. Однако размеры ДНК и возможное количество генов в ней не позволяют кодировать синтез всех белков, находящихся в митохондриях. Очевидно, часть белков митохондрий синтезируется на собственных рибосомах, а часть на рибосомах цитоплазмы и затем встраивается внутрь митохондрий. Какие конкретно белки синтезируются в митохондриях и какие в цитоплазме, еще остается неясным.

7. Генетический код, его свойства

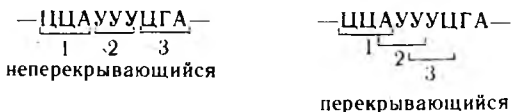
Под генетическим, или аминокислотным, кодом понимают соответствие кодонов (кодовых слов) определенным аминокислотам. Генетический код — своеобразный словарь, переводящий текст, записанный с помощью четырех нуклеотидов, в белковый текст, записанный с помощью 20 аминокислот. Остальные аминокислоты, встречающиеся в белке, являются модификациями одной из 20 аминокислот.

Первое кодовое слово было расшифровано Ниренбергом и Маттеи в 1961 г. Они получили из кишечной палочки экстракт, содержащий рибосомы и прочие факторы, необходимые для синтеза белка. Получилась бесклеточная система для синтеза белка, которая могла бы осуществлять сборку белка из аминокислот, если в среду добавить необходимую мРНК. Добавив в среду синтетическую РНК, состоящую только из урацилов, они обнаружили, что образовался белок, состоящий только из фенилаланина (полифенилаланин). Так было установлено, что кодон УУУ соответствует фенилаланину. В течение последующих 5—6 лет были определены все кодоны генетического кода.

Генетический код имеет следующие свойства.

1. *Триплетность* — каждой аминокислоте соответствует тройка нуклеотидов. Легко подсчитать, что существуют $4^3 = 64$ кодона. Из них 61 является смысловым и 3 — бессмысленными (терминирующими).

2. *Неперекрываемость* — каждый из триплетов генетического текста независим друг от друга. Ниже показана разница между перекрывающимся и неперекрывающимся кодом:



В последнее время появились сообщения, что код иногда бывает перекрывающимся.

3. *Вырожденность*, или *избыточность*, — отдельные аминокислоты имеют несколько кодонов. Об этом говорит простое сравнение: на 20 аминокислот приходится 61 смысловой кодон, т. е. в среднем каждой аминокислоте соответствует около 3 кодонов. Причина вырожденности кода состоит в том, что главную смысловую нагрузку несут два первых нуклеотида в триплете, а третий не так важен. Отсюда правило вырожденности кода: если два кодона имеют два одинаковых первых нуклеотида, а их третьи нуклеотиды принадлежат к одному классу (пуриновому или пиримидиновому), то они кодируют одну и ту же аминокислоту.

Однако из этого идеального правила есть два исключения. Это кодон АУА, который должен соответствовать не изолейцину, а метионину и кодон УГА, который является терминирующим, тогда как должен соответствовать триптофану. Вырожденность кода имеет, очевидно, приспособительное значение.

4. *Специфичность* — каждой аминокислоте соответствуют только определенные кодоны, которые не могут использоваться для другой аминокислоты.

5. *Коллинеарность* — соответствие линейной последовательности кодонов мРНК и аминокислот в белке.

6. *Универсальность* — все перечисленные выше свойства генетического кода характерны для всех живых организмов. В последнее время принцип универсальности кода поколеблен в связи с тем, что в митохондриях собственный генетический код отличается от известного ранее. В нем кодон УГА соответствует триптофану, а АУА — метионину, как того требует правило вырожденности кода. Возможно, в начале эволюции у всех простейших организмов был такой же код, как и у митохондрий, а затем он претерпел небольшие отклонения.

8. Генная инженерия

Генная инженерия — это направление в молекулярной генетике по разработке методов конструирования нужных генов и внедрению их в клетку хозяина с целью изменения ее генетических свойств.

В настоящее время методы генной инженерии используются для генетического конструирования видов, т. е. соединения генов разных организмов (вируса и бактерии, вируса и эукариотов), направленного улучшения наследственных качеств организма (селекция), промышленного получения белков, являющихся продуктом действия пересаженных в клетку генов и т. д.

Методы генной инженерии включают следующие основные стадии:

- 1) получение интересующего гена, т. е. фрагмента ДНК;
- 2) соединение этого гена с так называемой векторной молекулой, способной доставить ген в клетку хозяина и тем обеспечить репликацию чужеродного гена;
- 3) введение полученной гибридной ДНК в клетку реципиента;
- 4) отбор клеток, где размножается (клонировается) введенный чужеродный ген.

Получение интересующего гена. Получают требуемые гены или химическим, или ферментативным способом. Прямой химический синтез гена можно провести, если известна последовательность в нем нуклеотидов. Успехи химии позволяют получить подобным способом ген практически любой длины. Во втором случае предварительно или выделяют в очищенном виде мРНК из тканей (так получены мРНК глобина, овальбумина, иммуноглобулинов и т. д.), или синтезируют химическим путем нужную мРНК. Далее мРНК используют как матрицу для ферментативного синтеза комплементарной ДНК (кДНК) с помощью обратной транскрипции. Для этой цели используется РНК-зависимая ДНК-полимераза, или обратная транскриптаза. Сначала с помощью обратной транскриптазы на мРНК образуется однонитчатая кДНК, а затем с помощью ДНК-полимеразы достраивается вторая нить кДНК.

Получение гибридной ДНК. Вектором называется часть гибридной ДНК, обеспечивающая проникновение и репликацию ее в клетке-хозяине. В качестве вектора применяются плазмиды, умеренные фаги, вирусы. Гибридную ДНК получают путем разрезания молекулы вектора специальными ферментами (рестриктазами) и соединения его с чужеродным геном с помощью ДНК-лигазы.

Перенос гибридной ДНК и клонирование генов. После получения гибридной ДНК ее вносят в среду, где находятся клетки-реципиенты. Наиболее

частым объектом является кишечная палочка. Для улучшения проницаемости гибридной ДНК в клетки их обрабатывают различными способами (например, растворами CaCl_2). Клетки, в которых начинается размножение генов, транскрибирование и транслирование, отбираются. Индикатором функционирования пересаженного гена является соответствующий белок. Значительная часть этих белков выделяется во внеклеточную среду, их легко можно получить, например, осадив клетки центрифугированием. Подобными методами была осуществлена пересадка многих генов, в том числе гена инсулина, соматотропина, овальбумина и др. Это открывает возможность промышленного получения белковых лекарственных препаратов генноинженерным методом.

ГЛАВА 24. РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА БЕЛКОВ

Белки определяют жизнедеятельность клетки. Поэтому клетка должна тонко регулировать не синтез белков вообще, а необходимого в данный момент ассортимента белков.

Белки, которые синтезируются с постоянной скоростью, называются *конститутивными*, а синтезирующиеся с резко изменяющейся в зависимости от разных условий скоростью — *адаптивными* или *индуцибельными*. Конститутивные белки (в том числе и ферменты) содержатся в клетках примерно в постоянных количествах независимо от того, есть ли в них потребность. Количество молекул индуцибельных (адаптивных) белков варьирует в больших пределах. Очевидно, что синтез конститутивных белков не регулируется, а индуцибельных, напротив, подвержен тонкой регулировке.

Если регуляция на уровне фермента может изменять только функциональные возможности самого фермента (интенсивна по своей природе), то регуляция синтеза белков (переноса генетической информации) изменяет количество молекул данных белков (или ферментов) и является экстенсивной.

Стимуляция биосинтеза белков, сопровождающаяся увеличением их количества, называется *индукцией*, а подавление синтеза белков — *репрессией*. Очевидно, в клетках имеются вещества, сигнализирующие о состоянии метаболизма внутри клетки или в организме. Это позволяет включать или выключать синтез белков. Такими веществами у прокариотов могут быть поступающие в клетку питательные вещества, метаболиты и некоторые внутриклеточные регуляторы (типа циклических нуклеотидов). У многоклеточных, особенно сложноорганизованных, помимо автономных внутриклеточных регуляторов значительное место занимают внеклеточные регуляторы синтеза белков, которые подчиняют деятельность генетического аппарата биосинтеза белков конкретной клетке ткани или органа задачам целого организма.

1. Регуляция биосинтеза белков у прокариотов

Впервые схема регуляции биосинтеза белков у микроорганизмов была предложена французскими учеными Жакобом и Моно в 1961 г. Она была разработана на примере работы лактозного оперона у кишечной палочки.

В принципе регулировать синтез белков можно, контролируя активность разных транскриптов (оперонов) у бактерий. Механизм этой регуляции

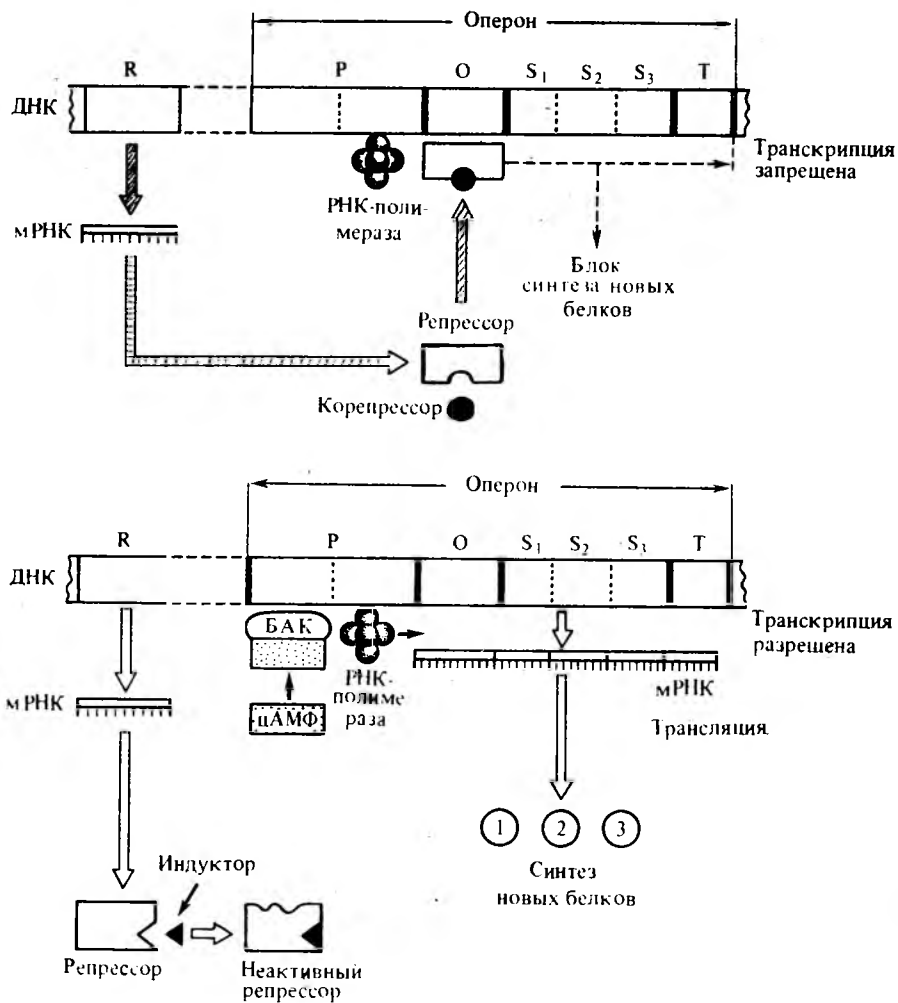


Рис. 70. Регуляция синтеза белка (по Жакобу и Моно)

выглядит следующим образом. В бактериях имеется группа белков, называемых *репрессорами*, которые контролируют транскрипцию разных оперонов. Участок ДНК, определяющий структуру репрессоров, назван *ген-регулятором* или *цистрон-регулятором*. Он может быть расположен не рядом с промотором, а совсем в другом участке хромосомной ДНК бактерии.

Все репрессоры связываются с оператором оперона и блокируют транскрипции определенных мРНК, а с ними и возможность синтеза соответствующих белков. Способность связываться с оператором зависит от конформации репрессора, которая может быть активной или неактивной. Только в активной форме репрессор способен образовывать слабые связи с оператором

ром и блокировать синтез мРНК и белка; в неактивной форме он не может соединяться с оператором. Вещества, которые инактивируют репрессор, называются *индукторами*, а вещества, переводящие его из неактивного состояния в активное, — *корепрессорами*. Следовательно, репрессор имеет участки связывания корепрессора и индуктора. Корепрессорами и индукторами являются питательные вещества, конечные продукты обмена и т. д., которые через репрессор сигнализируют о необходимости увеличить или ослабить синтез белков в клетке.

Механизм индукции рассмотрим на примере регуляции транскрипции лактозного оперона (рис. 70), который несет информацию о структуре трех ферментов (β -галактозидазы, β -галактозидпермеазы и β -галактозидацетилазы), участвующих в превращении лактозы. Лактоза, поступающая в клетки, является индуктором. Она связывается с репрессором лактозного оперона и переводит его в неактивную форму, не способную связываться с оператором. Благодаря этому репрессор, который при связывании с оператором частично закрывает примыкающий участок промотора, не мешает присоединению РНК-полимеразы к промотору, а следовательно, и транскрипции. Репрессоры являются примером отрицательных регуляторов транскрипции и синтеза белка. Однако в отсутствие репрессора нужны положительные регуляторы, помогающие РНК-полимеразе связаться с промотором и запустить транскрипцию. Эту роль положительного регулятора лактозного оперона (и других оперонов, регулирующих катаболизм глюкозы) выполняет цАМФ, связывается со специальным белком, называемым *белком — активатором катаболитного гена* (сокращенно БАК). Комплекс цАМФ — БАК присоединяется к промотору рядом с местом связывания РНК-полимеразы и облегчает ей начало транскрипции структурных генов. Рибосомы тут же связываются с мРНК и синтезируют три ферментных белка, необходимых для катаболизма лактозы. К этому можно добавить, что индукция синтеза белка сопутствует любым ситуациям, при которых количество цАМФ в клетке будет повышаться.

Механизм репрессии. Расщепление ферментами лактозы снижает ее концентрацию и приводит к образованию глюкозы. При распаде глюкозы образуется какой-то метаболит, который угнетает образование цАМФ из АТФ. Дефицит цАМФ снижает связывание БАК, что затрудняет присоединение РНК-полимеразы к промотору. Полное исчерпание лактозы в среде снижает ее действие на репрессор. Он становится активным, связывается с оператором и блокирует транскрипцию. Синтез белков останавливается (см. рис. 70).

Другие опероны отвечают не только на отрицательные (репрессоры), но и на положительные (типа цАМФ — БАК) регуляторы. Характерной особенностью бактерий является очень короткое время жизни мРНК (они быстро разрушаются), что дает возможность им быстро приспосабливать свой набор белков к резким изменениям внешней среды (условия питания, действие химических и физических факторов).

2. Регуляция синтеза белков у эукариотов

Механизм регуляции синтеза белка у эукариотов, особенно высших, менее изучен, чем у прокариотов. У высших животных и растений хроматин, организованный в хромосомы, устроен значительно сложнее, чем у бактерий.

К тому же локализация хроматина в ядре, окруженном ядерной мембраной, значительно усложняет процесс передачи генетической информации, транскрибированной с определенных генов хромосом, в цитоплазму, где происходит синтез белка. Усложнена и обратная связь — влияние метаболитов и прочих химических регуляторов цитоплазмы на активность генов (что легко осуществляется у бактерий). У высших эукариотов не найдено регуляторных белков типа репрессоров бактерий, которые сочетают в себе функции распознавателя химических сигналов метаболизма (специфически связывают свои метаболиты) и регулятора транскрипции оперонов.

Очевидно, в клетках высших организмов стало трудно сочетать эти обязанности, особенно при наличии барьера в виде ядерной мембраны, поэтому сформировались две группы специальных белков. Вероятно, по одну сторону барьера — в цитоплазме — формировалась группа специальных белков, реагирующих на химические регуляторы и несущих «сведения» об изменении метаболизма в ядре, а по другую сторону ядерной мембраны — в хромосомах ядра — регуляторы транскрипции генов. Это, видимо, привело к разделению функций регуляторных белков (а возможно, и других биомолекул). Одни из них выполняют функцию регуляторов транскрипции генов хроматина и локализованы в ядре, а другие реагируют на изменения метаболизма в цитоплазме и несут «сведения» об этих изменениях в ядро, где взаимодействуют с белками — регуляторами транскрипции.

Регуляторы активности генов

Как известно, в организации структуры хроматина принимает участие ДНК в комплексе с гистонами, негистоновыми белками и небольшим количеством РНК. Существует мнение, что хромосомные белки выполняют не только структурную функцию, но и регуляторную, облегчая или затрудняя транскрипцию определенных генов хроматина с помощью ДНК-зависимой РНК-полимеразы.

Гистоны, как оказалось, являются негативными регуляторами транскрипции (подобно репрессорам у бактерий). Они, имея положительный заряд, связываются с отрицательно заряженными фосфатами ДНК и блокируют транскрипцию, т. е. не дают использовать участки ДНК в качестве матрицы для копирования. Деблокировка транскрипции (или дерепрессия) возможна, если ослабляется связь гистонов с ДНК. Помогают ослабить ее молекулы, нейтрализующие положительный заряд гистонов при связывании с ними, и модификация гистонов, которая изменяет их заряд и конфигурацию. Модификация гистонов происходит путем ферментативного присоединения фосфатных (фосфорилирование гистонов), ацетильных (ацетилирование гистонов) и метильных (метилирование гистонов) групп. При модификации гистонов облегчается транскрипция и увеличивается ДНК-зависимый синтез РНК.

Очевидно, гистоны участвуют в регуляции транскриптов хроматина, однако они не могут обеспечить специфичность регуляции генов, так как их число ограничивается всего пятью молекулами (трудно предположить, чтобы всего пять гистонов могли избирательно регулировать транскрипцию столь разнообразных генов). Видимо, регуляторные функции гистонов неспецифичны или специфичны для каких-то однотипных транскриптов, например для рРНК и тРНК.

Негистоновые белки более разнообразны (насчитывается около 500—600 фракций негистоновых белков), поэтому считается, что они играют роль специфических регуляторов транскрипции. Негистоновые белки, как правило, несущие отрицательный заряд, могут тем не менее связываться непосредственно с ДНК, причем не вообще с любыми ее участками, а специфически. Негистоновые белки являются позитивными регуляторами, так как облегчают транскрипцию в месте связывания с ДНК. Правда, еще неясен молекулярный механизм включения транскрипции негистоновыми белками. Особенно эффективно активируют транскрипцию фосфорилированные негистоновые белки. Приобретая большой отрицательный заряд, они или образуют комплекс с положительно заряженными гистонами, оттесняя их в данном участке от ДНК, или дестабилизируют молекулу ДНК, взаимодействуя непосредственно с ней. В том и другом случае транскрипция облегчается.

Третий тип регуляторов транскрипции — молекулы низкомолекулярной стабильной ядерной РНК (*векторной РНК*), которые находятся в ядре (не покидая его) в комплексе с белком (РНП). Такой рибонуклеопротеид включает избирательно гены путем комплементарного взаимодействия с акцепторными участками транскриптонов. Регуляторная функция этих молекул изучается.

Схема регуляции белкового синтеза

Регуляция синтеза белков у эукариотов может осуществляться на уровне транскрипции и трансляции. В первом случае проявляется избирательность действия разных регуляторов на отдельные гены, а с ним и специфика регуляции метаболизма клетки, который как раз определяется набором соответствующих белков. Регуляция на уровне трансляции больше отражается на скорости синтеза отдельных белков в рибосомах, чем на их составе, ибо при трансляции лишь механически воспроизводится программа мРНК.

Механизм действия индукторов представляется следующим образом. Индукторы (например, гормоны) поступают в ядро и взаимодействуют с молекулами-регуляторами транскрипции или активируют их модификацию. Тем самым различные индукторы могут включать «свои» гены в разных участках хромосом путем инактивации репрессорного действия гистонов (за счет прямого связывания с ними или активирования ферментов, осуществляющих их фосфорилирование, ацетилирование или метилирование) или модификации (например, с помощью фосфорилирования) негистоновых белков, или посредством взаимодействия с векторными РНП. Возможны и другие пока неизвестные механизмы, в частности прямое взаимодействие индуктора с участком ДНК. Любой из этих механизмов облегчает связывание РНК-полимеразы с промотором и образование РНКовых копий транскриптона.

Интересно что при действии индукторов белкового синтеза, например гормонов, транскрипция генов рРНК и тРНК несколько опережает транскрипцию с участков ДНК, содержащих информацию о структуре специфических белков. В этом имеется определенная целесообразность: сначала увеличивается мощность аппарата для сборки белка (тРНК, рРНК и рибосомы), а затем поступает мРНК для реализации синтеза белка.

После прекращения действия индуктора происходит отщепление модифицирующих групп от гистонов, и гистоны, вновь соединяясь с ДНК, прекра-

щают транскрипцию. Негистоновые белки претерпевают аналогичные изменения; они вновь связываются с хроматином, а часть их подвергается распаду и заменяется новыми молекулами, поступающими из цитоплазмы.

В отличие от прокариотов у эукариотов блокада транскрипции не означает прекращения синтеза белка. У эукариотов более стабильны молекулы мРНК, которые у прокариотов быстро гидролизуются. Консервация мРНК у эукариотов дает возможность использовать ее в качестве матрицы для сборки белка в рибосомах и после того, как образование новых копий мРНК при транскрипции заблокировано.

Регуляция синтеза белка на уровне трансляции возможна путем действия регуляторов на белковые факторы, контролирующие в рибосомах инициацию, элонгацию и терминацию трансляции, и на различные функциональные участки рибосом.

Негенетическая регуляция количества белка в клетках

Количество белка зависит не только от скорости его синтеза в клетках, но и от скорости его распада, т. е. обновления. Есть белки, которые недолго существуют после синтеза. Например, полупериод жизни (т. е. время, за которое распадается половина данного вещества) синтетазы δ -аминолевуленовой кислоты составляет около часа, лактатдегидрогеназы — около 16 дней, альдозазы и гликогенфосфоорилазы — около 50 дней, а эластин — гликопротеид соединительной ткани — образуется только эмбриональными фибробластами и, очевидно, не обновляется.

Все вещества, которые повышают стабильность белков (кофакторы, субстраты и др.), сохраняют продолжительность их жизни, что ведет к увеличению количества белка. Это явление увеличения количества белка за счет повышения стабильности его молекул или снижения распада получило название *субстратной* или *негенетической индукции* (хотя индукции как таковой здесь не наблюдается). Процесс регуляции количества белков в клетке играет большую роль, и его нужно учитывать при оценке действия природных регуляторов и лекарств, которые могут больше влиять именно на фазу распада белков, чем на их синтез.

3. Нематричный синтез белка

Как уже говорилось, нематричный синтез белка неэкономичен и громоздок, поскольку для образования каждой новой пептидной связи требуется отдельный фермент. В клетках прокариотов имеются полиферментные системы для синтеза коротких полипептидов, например грамицидина и некоторых других полипептидных антибиотиков. У эукариотов нематричный синтез описан для ди- и трипептидов. Например, таким способом образуются дипептиды — карнозин и ансерин, и трипептид глутатион, являющийся коферментом ряда окислительных ферментов.

4. Препараты, влияющие на синтез белка

Препараты, влияющие на синтез белка, широко используются в практике. Индукторы применяются с целью стимуляции синтеза белка в поврежденных

или ослабленных длительным бездействием (атрофичных) органах. Этот эффект индукторов облегчает восстановление функций клеток пораженного органа.

Ингибиторы синтеза белка применяются в противоположных целях: для подавления деления и роста клеток.

Препараты, усиливающие синтез белка. Препараты этой группы являются индукторами синтеза белка и относятся к так называемым анаболическим средствам. Анаболические средства бывают гормональные и негормональные. Наиболее обширна группа препаратов гормональной природы. Среди них наиболее выраженной способностью к индукции синтеза белка (действуя на уровне транскрипции) обладают *анаболические стероиды* (метандростенолон, феноболлин и самый активный ретаболил), являющиеся производными мужских половых гормонов (андрогенов) и применяющиеся только с целью стимуляции синтеза белка в организме. Выраженной анаболической активностью обладает *инсулин*, причем этот белковый гормон, очевидно, активизирует синтез белка на уровне трансляции.

К негормональным анаболическим средствам, получившим применение в практике, относятся предшественники нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Например, *оротат калия* (оротовая кислота является ключевым соединением в биосинтезе пиримидиновых нуклеотидов), *инозин* (или гипоксантирибозид). Механизм анаболического действия, очевидно, связан не только с использованием их как структурного материала для синтеза нуклеиновых кислот, но главным образом с тем, что они сами или ближайшие их продукты обмена служат индукторами синтеза белка. Возможно, таким образом действуют и другие промежуточные продукты обмена нуклеотидов и нуклеиновых кислот.

Ингибиторы синтеза белка — более обширная группа препаратов, используемая при биохимических исследованиях и в практической медицине. Все ингибиторы синтеза белка можно разделить на ингибиторы: а) транскрипции; б) процессинга и транспорта РНК; в) трансляции. Хотя некоторые препараты действуют на несколько этапов переноса генетической информации.

Ингибиторы транскрипции по механизму делятся на три группы: ингибиторы ДНК-зависимых РНК-полимераз, блокирующие ДНК-матрицу и искажающие информацию синтезируемой РНК.

В качестве примера препаратов первой группы можно назвать: *α-аманитин* (яд бледной поганки), избирательно ингибирующий РНК-полимеразу III (ответственную за транскрипцию мРНК); антибиотики *рифамицины*, блокирующие ядрышковую РНК-полимеразу I (отвечает за транскрипцию рРНК) и обратную транскриптазу. *α-Аманитин* используется при биохимических исследованиях, а *рифамицины* — как антибактериальные препараты в медицинской практике.

Ко второй группе относятся вещества, связывающиеся нековалентно с матрицей ДНК и мешающие работе РНК-полимеразы. Например, *актиномицин D* (используется в биохимических исследованиях), а также антибиотики *оливомицин*, *дактиномицин* и растительные алкалоиды *винбластин* и *винкристин*, которые применяются в медицине как противоопухолевые препараты.

К третьей группе можно отнести, например, 5-фторурацил, включающийся в мРНК вместо природного нуклеотида и приводящий в негодность синтезируемую матрицу РНК.

Ингибиторы процессинга и транспорта мРНК. Потенциальными ингибиторами синтеза белка на этом этапе могут быть ингибиторы внутриядерных РНКаз, РНК-лигаз, осуществляющих различные фазы созревания мРНК. Препятствует присоединению полиаденилового фрагмента к мРНК *кордицепин* (3-дезоксаденозин), который можно назвать ингибитором транспорта мРНК, поскольку полиадениловый фрагмент облегчает транспорт ее из ядра в цитоплазму.

Ингибиторы трансляции (т. е. синтеза белка в рибосомах). В качестве примера можно назвать антибиотики, применяемые как антибактериальные препараты.

Хлорамфеникол действует на бактериальные 70S рибосомы и рибосомы митохондрий и хлоропластов эукариотов (на 80S рибосомы он не влияет). Хлорамфеникол связывается с 50S субчастицей рибосом и блокирует пептидилтрансферазную реакцию, вызывая преждевременный обрыв синтезируемой полипептидной цепи.

Линкомицин близок к действию хлорамфеникола на 80S рибосомы.

Эритромицин (и другие антибиотики макролиды) ингибирует транслокацию пептидил-тРНК из участка А в П-участок 50S субъединицы бактериальных рибосом (т. е. блокирует третий шаг элонгации трансляции).

Тетрациклины более избирательно влияют на 70S, чем на 80S рибосомы. Блокируют связывание мРНК и аминоацил-тРНК с малой субчастицей рибосом, т. е. фазу инициации и элонгации синтеза белка в рибосомах.

Стрептомицин влияет на 70S рибосомы бактерий и не оказывает действия на 80S рибосомы. Специфически связывается с белком малой субчастицы и нарушает правильное считывание мРНК. Синтез белка при этом прекращается или образуется дефектный белок, не способный функционировать.

В лабораторных исследованиях применяется циклогексимид (актидион), действующий исключительно на 80S рибосомы эукариотов. Он связывается с большей субчастицей рибосом и тормозит транслокацию. В высоких концентрациях блокирует РНК-полимеразу I, т. е. действует на транскрипцию.

ГЛАВА 25. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ПАТОЛОГИЯ

1. Нарушения переноса генетической информации

Изменения генетического кода. Изменения генетической программы ДНК клеток называются *мутациями*. Различают хромосомные мутации (изменение числа хромосом, хромосомные aberrации) и молекулярные, или генные, мутации.

Существуют следующие варианты генных мутаций:

- 1) *транзигция*, или замена пар оснований;
- 2) *делеция*, или выпадение одной пары или групп пар оснований (нуклеотидов);
- 3) *вставка* одной пары или групп пар оснований (нуклеотидов);

4) *изменение местоположения* отдельных участков ДНК. Генные мутации вызывают изменения генетического кода, нарушая порядок чередования нуклеотидов в ДНК и функцию транскриптонов. Если изменения происходят в структурных генах, то может образоваться дефектный белок, не способный полностью или частично выполнять свою функцию в зависимости от того, как изменившийся порядок чередования аминокислот в полипептидной цепи отразится на трехмерной структуре белка. Мутации в структурных генах РНК могут привести к образованию дефектных тРНК и рРНК, что скажется на осуществляемых ими функциях (узнавании и транспорте соответствующих аминокислот и сборке рибосом).

Мутации в промоторе нарушают связывание РНК-полимеразы, что в конечном счете приводит или к недостаточному образованию нормального белка, или к полному прекращению его синтеза. Мутации в акцепторной зоне (операторе у прокариотов) приводят к переходу от регулируемого синтеза индуцируемого белка к нерегулируемому, т. е. конститутивному.

Мутации бывают спонтанными и вызванными различными факторами. Спонтанные ошибки очень редки. При репликации они составляют один ошибочный нуклеотид на 10^{-6} – 10^{-9} нуклеотидов, при транскрипции — на 10^{-5} – 10^{-6} и при трансляции — на 10^{-4} нуклеотидов. Факторы, вызывающие мутации, называются *мутагенами*. Бывают природные мутагены, повышающие частоту спонтанных мутаций, и чужеродные. К природным относятся пероксидные соединения, альдегиды, свободные радикалы и т. д. К чужеродным мутагенам относятся как химические вещества (алкилирующие соединения, азотистая кислота, гидроксилламин, окислители и многие другие), так и физические (ионизирующие излучения) и биологические факторы (например, вирусы способствуют образованию в клетке энзимов, повреждающих ее ДНК).

Генетические нарушения и окружающая среда. Мутагены окружающей среды чрезвычайно многочисленны, что приводит к постоянному накоплению в последующих поколениях наследственных болезней. Высокой мутагенной активностью обладает радиоактивное излучение. Фоновая радиация среды постоянно повышается, за последние 30 лет она возросла на 10%, что увеличило частоту мутаций у людей. В мире рождается до 15 000 детей с генетическими дефектами только из-за испытаний ядерного оружия в атмосфере. Поэтому борьба за запрещение ядерного оружия является борьбой за здоровье будущих поколений.

Загрязнение окружающей среды различными химическими отходами промышленных предприятий, химическими средствами защиты растений (применяемыми в сельском хозяйстве) отрицательно сказывается на генетической программе всех живых организмов. В настоящее время пересматривается безвредность пищевых добавок. Некоторые пищевые добавки (консерванты, вкусовые вещества и т. д.) оказались мутагенами, поэтому проходят подробное испытание на мутагенную активность.

Многие лекарственные средства могут обладать выраженной мутагенной активностью и поэтому должны быть «просеяны» через сито предварительных генетических испытаний. Попытки использовать препараты без обстоятельной проверки на мутагенную активность обернулись в ряде капиталистических стран подлинной катастрофой. Особенно опасно применение химических ле-

карственных веществ в период беременности, поскольку, проникая через плаценту, они могут вызвать пороки эмбрионального развития, уродства (подобное действие препаратов называется *тератогенным*, т. е. способным вызвать уродства).

Для предотвращения отрицательного мутагенного влияния препаратов в СССР организованы в государственных масштабах всесторонние испытания лекарственных веществ на тератогенную активность и ограничены показания к назначению лекарств в период беременности. Накопленный материал свидетельствует о том, что многие снотворные, наркотические и успокаивающие средства в лечебных дозах не обладают мутагенным влиянием на клетки плода. Не представляют опасности антибиотики, сульфаниламиды, витаминные препараты в терапевтических дозах. Возможен риск проявления тератогенного действия у противоопухолевых препаратов, частично у кортикостероидов и антигистаминных средств. Всесторонняя работа по охране генетической программы человека станет одним из обязательных условий дальнейшего социального прогресса.

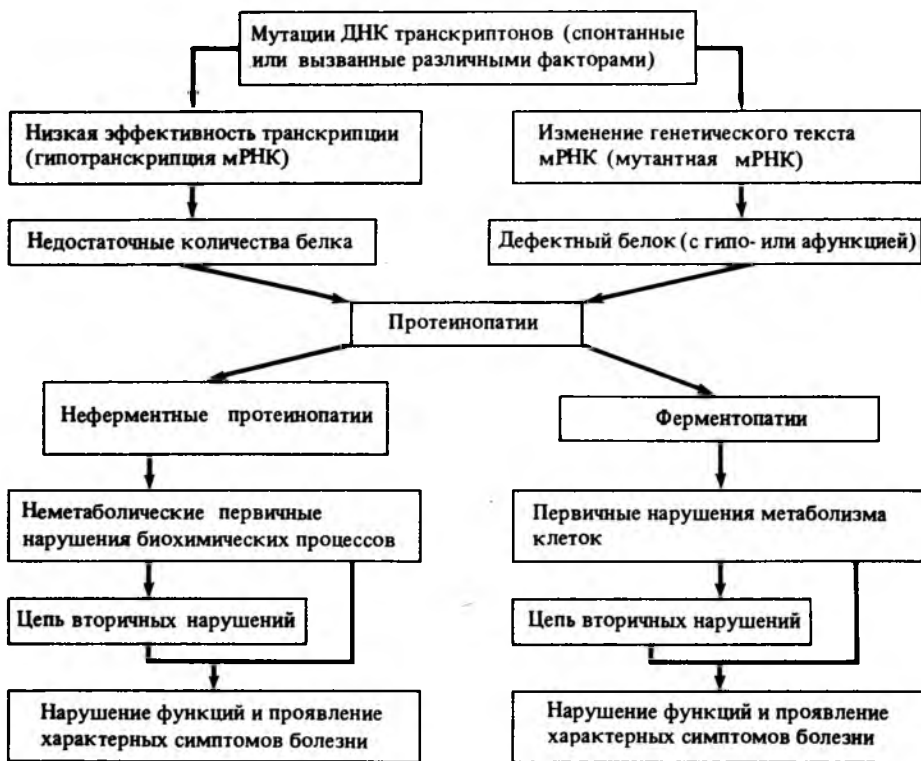
②. Молекулярная патология

Понятие «молекулярная патология» или «молекулярные болезни» было введено в 1949 г. Полингом. Появление его было связано с успехами молекулярной генетики, в частности с раскрытием тайны причин заболевания, называемого серповидноклеточной анемией. Под молекулярными болезнями принято понимать заболевания, основной причиной которых является генетически обусловленное нарушение функции белков. Иными словами, молекулярная болезнь развивается вследствие образования или дефектного белка (полностью или частично утратившего свои функции), или явно недостаточного количества нормального белка, не способного из-за этого выполнять в полном объеме свои функции в организме. Молекулярные болезни по существу можно назвать *протеинопатиями*, т. е. «болезнями» специфических белков.

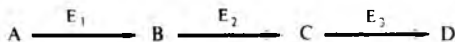
Протеинопатии можно разделить на две большие группы: ферментные (ферментопатии, или энзимопатии) и неферментные. Первая группа связана с дефектами ферментных белков, приводящими к нарушению определенного звена метаболизма, а вторая — с дефектами неферментных белков, выполняющих прочие функции, например транспортную, рецепторную, иммунологическую и т. д. Это приводит к нарушению конкретных процессов, зависящих от данного неферментного белка. Возможна и смешанная протеинопатия, если поврежденный белок совмещает каталитические и какие-либо другие функции.

Внешние проявления, так называемые *манифестные признаки*, протеинопатий зависят прежде всего от степени нарушения функциональных способностей данного белка и значимости выполняемых им функций для жизнедеятельности клеток организма. Цепь вторичных проявлений нарушенных функций белка дезорганизует метаболизм клеток, тканей и органов, что приводит к формированию болезненного состояния организма в целом с присущими данной болезни симптомами (схема 5).

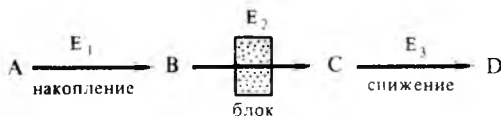
С х е м а 5. Развитие молекулярных болезней



Понятие о ферментопатиях, или «врожденных» нарушениях обмена веществ, упоминалось еще в 1909 г. Гарродом. Важнейшим признаком ферментопатий является блокирование цепи превращений веществ, вызванное недостаточностью фермента. Например, в клетке происходит цепь превращений субстратов (из А в D), катализируемых ферментами (E_1 , E_2 , E_3):



Недостаточность, например, E_2 блокирует эту цепь превращений, что приводит к метаболической ситуации, когда содержание веществ до блока повышается, а после него уменьшается (или они вообще не образуются):



Болезнь развивается только в следующих случаях.

1. Если накопившееся вследствие блокады фермента вещество В токсично для клеток или накопление его столь велико, что оно занимает значительную часть внутриклеточного пространства и является как бы механиче-

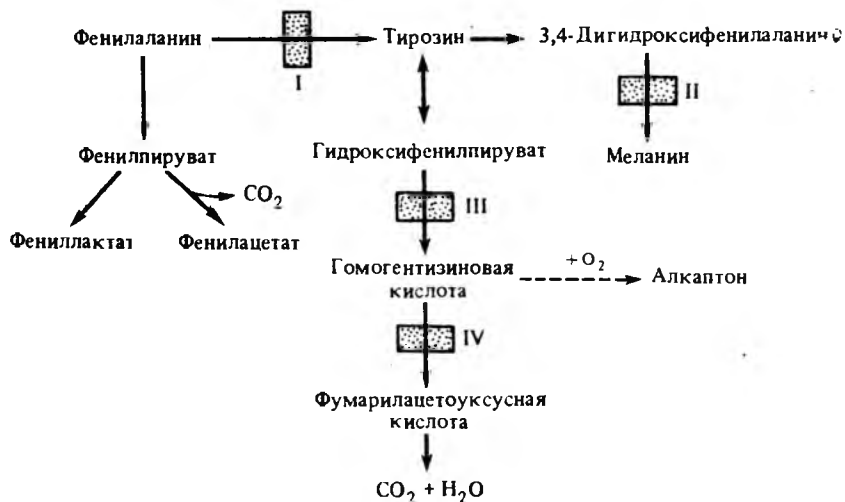


Рис. 71. Схема генетических нарушений обмена фенилаланина и тирозина в тканях организма:

I — фенилкетонурия (дефект фенилаланин-гидроксилазы); *II* — альбинизм (дефект тирозиназы); *III* — тирозинемия (дефект *l*-гидроксифенилпируватоксидазы); *IV* — алкаптонурия (дефект гомогентизинатоксидазы)

ской помехой для осуществления специфических функций клеток. Подобное избыточное накопление (болезни накопления) возможно только для макромолекул, не способных покинуть клетку путем диффузии.

2. Если вещества (С и D), которые не могут образоваться из-за блокады фермента, жизненно важны для клетки и не могут синтезироваться другим (окольным) путем.

Во всех остальных ситуациях — когда накапливающиеся метаболиты нетоксичны или дефицит веществ, возникающий в результате блокады химических превращений, может быть восполнен или заменен, ферментопатия не приводит к развитию молекулярной болезни. Она протекает бессимптомно и обнаруживается при обследовании случайно.

Рассмотрим некоторые примеры молекулярных болезней, связанных с дефектами конкретных ферментов.

Ферментопатии аминокислотного обмена

Нарушения обмена фенилаланина и тирозина. Наиболее часто встречается четыре вида молекулярных болезней, связанных с обменом фенилаланина и тирозина. Причиной их являются блоки на разных этапах обмена этих аминокислот (рис. 71).

Фенилкетонурия, или *фенилпировиноградная олигофрения* (рис. 71, *I*), — молекулярная болезнь, связанная с дефектом фенилаланин-гидроксилазы. При этом заболевании наблюдается блокада превращения фенилаланина в тирозин. Вследствие этого накапливаются фенилаланин и продукты его превращений — фенилпируват, фениллактат и фенилацетат. Повышается содержание этих веществ в крови и выделение их с мочой. Обычно заболева-

ние выявляют по повышению фенилаланина в крови и фенилпировиноградной кислоты в моче.

Предполагают, что фенилпировиноградная кислота или сама является токсическим соединением для клеток мозга, или, накапливаясь, действует на обмен других важных для деятельности нервной системы веществ (например, серотонина, содержание которого снижается). В результате у детей с этой ферментопатией развивается тяжелое отставание умственного развития (слабоумие), приступы судорог.

Альбицизм (рис. 71, II) — молекулярная болезнь, связанная с дефектом тирозиназы. При этой ферментопатии нарушено превращение диоксифенилаланина (ДОФА) в ДОФА-хинон и далее в меланин (пигмент черного цвета). Меланин находится в коже, волосах, радужке и пигментном эпителии сетчатки глаза и определяет их окраску. Характерными признаками этого заболевания являются слабая пигментация кожи, светлые волосы, красноватый цвет радужки глаз (из-за просвечивающих капилляров). Серьезных нарушений это состояние не вызывает. Лишь приходится избегать прямого солнечного света.

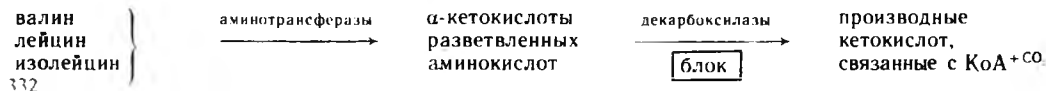
• **Тирозинемия** (рис. 71, III) — ферментопатия, связанная с дефектом *n*-гидроксифенилпируватоксидазы. При этом заболевании не образуется гомогентизиновая кислота из предшественников, вследствие чего содержание тирозина и *n*-гидроксифенилпировиноградной кислоты в крови и выделение их с мочой повышается. У детей, больных тирозинемией, наблюдается отставание в развитии.

Алкаптонурия (рис. 71, IV) — ферментопатия, связанная с дефектом гомогентизинаксидазы. При этой болезни нарушено окисление гомогентизиновой кислоты в тканях, вследствие чего содержание ее в жидкостях организма и выделение с мочой повышается. В присутствии кислорода гомогентизиновая кислота полимеризуется с образованием черного пигмента — **алкаптона**. Поэтому моча таких больных тут же на воздухе темнеет (у детей пленки окрашиваются в черный цвет). Алкаптон может образоваться и в биологических жидкостях, оседая в тканях, коже, сухожилиях, хрящах носа, ушей и суставов. При значительных отложениях пигмента в суставах наблюдаются нарушения их подвижности.

– **Гомоцистинурия** — ферментопатия, связанная с недостатком цистатионин- β -синтазы, что препятствует превращению гомоцистеина в цистатионин. Гомоцистеин накапливается в тканях, в крови и выделяется с мочой в повышенных количествах. У детей при этом заболевании наблюдаются задержка умственного развития, периодические судороги.

• **Гистидинемия** — заболевание, связанное с дефектом гистидазы, катализирующей окислительное дезаминирование гистидина. Наблюдается выраженное повышение содержания гистидина в крови и частично в моче. При этой молекулярной болезни наблюдается поражение функций центральной нервной системы (судорожные явления, шатающаяся походка).

Кетонурия разветвленных аминокислот, или болезнь «моча с запахом кленового сиропа», является следствием недостаточности декарбоксилазы и изолейцина:



В результате нарушения окислительного декарбоксилирования происходит повышение содержания в крови разветвленных аминокислот и их кетопроизводных, а также выделение их с мочой. Моча таких больных имеет характерный запах кленового сиропа. Клинически у таких детей наблюдается рвота, периодические судороги, слепота, мышечная ригидность.

Таблица 28. Классификация заболеваний, вызванных нарушениями в обмене гликогена (по Е. Л. Розенфельд)

Название болезни	Тип	Дефектный фермент	Пораженные органы	Форма болезни	Клинические признаки
Гликогенозы Болезнь Гирке	I	Глюкозо-6-фосфатаза	Печень, почки, слизистая тонкой кишки	Печеночная	Увеличение печени (гепатомегалия); отставание в росте, развитии; гипогликемия, сопровождающаяся судорогами; гипергликемия, кетонемия и кетонурия
Болезнь Помпе	II	Кислая α-глюкозидаза	Печень, селезенка, мышцы, нервная ткань, лейкоциты	Генерализованная, мышечная	Увеличение сердца (кардиомегалия) с гипотонией и постепенно нарастающей сердечной недостаточностью. Смертельный исход наступает в детском возрасте
Болезнь Кори — Форбса (лимитдекстриноз)	III	Амило-1,6-глюкозидаза	Печень, мышцы, почки, лейкоциты	Печеночная, мышечная, генерализованная	Клинические признаки сходны с болезнью Гирке (особенно при печеночной форме), но менее выражены
Болезнь Андерсена (амилопектиноз)	IV	Амило-1,4—1,6-транс-глюкозилаза («ветвящий фермент»)	Печень, мышцы, почки, лейкоциты	Печеночная, генерализованная	Гепатомегалия и спленомегалия, нарастающая печеночная недостаточность
Болезнь Мак-Ардля	V	Фосфорилаза	Скелетные мышцы	Мышечная	Прогрессирующая миопатия и болезненные судороги мышц после физических упражнений на фоне быстрой общей утомляемости (вследствие нарушенной мобилизации гликогена мышц)
Болезнь Херса	VI	Фосфорилаза печени	Печень	Печеночная	Гепатомегалия с умеренной гипогликемией, кетонемией и ацидозом
Болезнь Томсона	VII	Фосфоглюкомутаза	Мышцы, эритроциты, печень	Печеночная, мышечная	Мышечная слабость, особенно при повышенных мышечных нагрузках
Болезнь Гарди	VIII	Фосфофруктокиназа	Мышцы, эритроциты	Мышечная	Болевые ощущения в мышцах при физической нагрузке (напоминает клиническую картину болезни Мак-Ардля)
Болезнь Хага	IX	Киназа фосфорилазы B	Печень	Печеночная	Клиническая картина сходна с болезнью Херса
	X	Протеинкиназа	Печень, мышцы, нервная ткань	Печеночная, мышечная	Гепатомегалия (но без признаков гипогликемии)
Агликогеноз		Гликогенсинтаза	Печень	Печеночная	Гипогликемия с судорогами, кетонемия, рвота, нарушение умственного развития

Ферментопатии углеводного обмена

Гликогенозы. Довольно часто встречаются ферментопатии, связанные с нарушением обмена гликогена, что выражается или в накоплении гликогена в органах (болезни накопления), или в его отсутствии. Ферментопатии, вызывающие накопление гликогена, называются *гликогенозами*, а препятствующие его депонированию — *агликогенозами*. В зависимости от места преимущественного отложения гликогена существует три формы болезни: *печеночная*, *мышечная* и *генерализованная* (т. е. гликоген накапливается почти во всех органах). Вследствие накопления гликогена происходит «механическое» нарушение функций данных тканей и органов и развивается *гипогликемия* в тех случаях, когда гликоген печени не мобилизуется. Классификация заболеваний, связанных с нарушением обмена гликогена, и их краткая характеристика приведены в табл. 28.

Галактоземия — молекулярная болезнь, вызванная дефектом *галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы*. Это приводит к накоплению галактозо-1-фосфата, в норме быстро превращающегося в уридиндифосфатгалактозу и далее по путям превращения глюкозы. Галактозо-1-фосфат токсичен для организма. Поскольку галактоза, входящая в лактозу, потребляется в больших количествах ребенком с молоком матери, то при наличии ферментопатии у него быстро накапливается токсическое производное галактозы. Ребенок теряет в весе, замедляется его умственное и физическое развитие, увеличивается печень, развивается помутнение хрусталика глаза. Если не приостановить кормление молоком, то дети обычно погибают. У таких больных необходимо исключить из пищи галактозу.

Ферментопатии липидного обмена

Заболевания, вызванные нарушениями липидного обмена, принято называть *липидозами*. Большинство липидозов являются ферментопатиями, имеющими генетическую природу. Большинство липидозов проявляются в виде болезней накопления, т. е. в клетках или жидких средах организма обнаруживается ненормально большое количество липидов, связанных с дефектом ферментов, расщепляющих соответствующие липиды (табл. 29).

Прочие ферментопатии

Фактически могут быть дефекты любого фермента, хотя не всегда они проявляются клинически. Например, *акаталазия* — болезнь, связанная с недостаточностью каталазы во всех тканях, у одних протекает тяжело (с язвами на слизистых), у других мало проявляется (очевидно, у них разложение пероксида водорода компенсируется другими ферментами).

Многочисленные молекулярные болезни, например, наблюдаются при дефектах белков системы свертывания крови, которые являются протеиназами. При генетическом дефекте их наблюдается нарушение свертывания крови.

Неферментные протеинопатии

Гемоглинопатии являются классическим примером неферментных протеинопатий, связанных с генетическим дефектом субъединиц гемоглобина. Среди

Таблица 29. Примеры заболеваний, вызванных ферментопатиями липидного обмена

Название болезни	Дефектный фермент	Нарушение обмена липидов	Клинические признаки
Болезнь Вольмана	Кислая триацилглицеринлипаза	Накопление триацилглицеринов, холестерина в клетках внутренних органов и в коже	Гепатоспленомегалия, ксантоматоз (отложение в коже липидов в виде белых пятен)
Болезнь Ниман — Пика (сфингомиелиноз)	Сфингомиелиназа	Накопление сфингомиелина в клетках ретикуло-эндотелиальной системы, головного мозга, костного мозга и других внутренних органов	Прогрессирующее отставание в умственном и физическом развитии. Постепенная потеря слуха, зрения и т. д.
Болезнь Гоше (цереброзидлипондоз)	Кислая β -глюкозидаза (глюкоцереброзидаза)	Накопление гликолипидов (глюкоцереброзидов) в клетках ретикуло-эндотелиальной системы	Примерно та же картина
Болезнь Тея — Сакса (GM_2 -ганглиозидоз, I тип)	Гексоаминидаза А	Накопление так называемого GM_2 -ганглиозида в клетках головного мозга (в 100—300 раз в сравнении с нормой)	То же
Болезнь Краббе (глобидная лейкодистрофия)	β -Галактозидаза (церамидгалактозидаза)	Церамидгалактозид	»

них довольно широко распространено заболевание, названное *серповидноклеточной анемией*. При этой болезни гемоглобин (HbS) отличается от нормального гемоглобина HbA тем, что в HbS место глутаминовой кислоты (шестая аминокислота с N-конца в полипептидной цепи β -субъединицы) занимает валин. α -Субъединицы у HbS по составу те же, что и у HbA. Следовательно, в структурном гене, кодирующем β -субъединицу гемоглобина, у больных серповидноклеточной анемией происходит мутация в шестом кодоне, выражающаяся в замене T на A (т. е. транзиция):

	Норма	Серповидноклеточная анемия
6-й кодон ДНК	—ЦТТ—	—ЦАТ—
6-й кодон мРНК	—ГАА—	—ГУА—
6-я аминокислота с N-конца β -субъединицы	Глутаминовая кислота	Валин

Подобная замена в полипептидной цепи сказывается на физико-химических свойствах гемоглобина. Валин (неполярная аминокислота) придает меньшую растворимость дезоксигемоглобину, поэтому он образует кристаллоподобные структуры. Эритроциты при этом принимают форму серпа (отсюда и название болезни), становятся хрупкими, не способными выполнять функции по транспорту кислорода. Распад эритроцитов приводит к анемии (малокровию); капилляры, где оксигемоглобин отдает кислород, могут закупориваться эритроцитами, что ведет к омертвлению участков тканей. Это заболевание может привести к неблагоприятному исходу.

Транспортные протеинопатии, связанные с дефектами белков, участвующими

щих в транспорте веществ через мембрану, сопровождаются потерей клетками и организмом в целом данных веществ. Например, встречаются следующие наследственные заболевания.

Аминоацидурия — дефект белков одной из транспортных систем аминокислот в почках, где происходит их реабсорбция, сопровождается потерей их с мочой в 3—5 раз больше нормы.

Цистинурия — дефект белка, транспортирующего цистин, приводит к повышенному выделению с мочой преимущественно цистина и образованию цистиновых камней в почках.

Фруктозурия, глюкозурия и пентозурия, связанные с дефектом соответствующих мембранных транспортных белков в почках, сопровождаются потерей соответствующих моносахаридов (фруктозы, глюкозы или пентоз). Иногда эти протеинопатии называют *почечным диабетом*.

Возможны дефекты транспортных белков крови, и следствием этих дефектов является нарушение переноса соответствующих веществ (липидов, гормонов, витаминов и т. д.).

Врожденные дефекты образования антител, называемые **агаммаглобулинемиями**, сопровождаются нарушением защитных реакций организма, связанных с недостатком антител.

3. Принципы лечения и профилактики молекулярных болезней

По подсчетам специалистов ежегодно на земном шаре рождается около 16 млн. детей с наследственными дефектами. Многие из этих болезней протекают тяжело и заканчиваются смертельным исходом. Их лечение основывается на следующих принципах.

1. Частичное или полное исключение из пищи субстрата блокированной ферментной реакции. Подобный способ применяется, например, при лечении фенилкетонурии (бедная фенилаланином диета), галактоземии (исключение пищевой галактозы).

2. Обогащение пищи веществами, отсутствующими при нарушении собственного обмена. Например, при оротатацидурии нарушается синтез оротовой кислоты — предшественника пиримидинов, что ведет к тяжелой мегалобластической анемии. Обогащение пищи цитидиловой кислотой при этом заболевании позволяет обойти блок в обмене веществ и смягчить симптомы заболевания.

3. Обогащение организма кофакторами при дефекте апофермента сложного фермента. Этот способ применяется при врожденных нарушениях обмена витаминов. При дефекте апофермента с ним хуже связывается кофермент и наблюдается недостаточность активного холофермента. Преодолеть это состояние можно в ряде случаев введением значительных доз витаминов и коферментов.

4. Связывание и выведение из организма накапливающихся токсических продуктов метаболизма. Например, связывание накапливающейся в тканях меди при болезни Вильсона—Коновалова (дефект медьпереносящего белка — церрулоплазмينا) и выведение ее из организма (путем введения пеницилламина).

5. Частичное «исправление» патологических белков путем их модификации. Например, введение веществ (цианата натрия или калия, ацетилсалициловой кислоты, цистеамина), вызывающих модификацию валина в HbS у больных серповидноклеточной анемией, уменьшает осаждаемость гемоглобина в эритроцитах и продлевает срок их службы.

6. Диетическое «исправление» дефекта обмена веществ. Эта пищевая коррекция нарушенного обмена применяется при дефектах, связанных с нарушениями водно-солевого, кислотно-щелочного баланса, когда можно применять соответствующие солевые растворы или вещества, нормализующие кислотно-щелочной баланс.

7. Заместительное введение фермента, недостающего в организме. В принципе этот способ лечения применим для любой ферментопатии, хотя существуют трудности с получением очищенных ферментов и, главное, с методом введения их в организм. Сейчас разрабатываются специальные лекарственные формы — липосомы, в которые помещают фермент. Фермент захватывается тканями путем эндоцитоза. Можно также использовать трансплантацию тканей в качестве источника дефицитных ферментов.

8. Исключение внешних факторов, провоцирующих проявление молекулярной болезни. Многие лекарственные препараты усугубляют течение ферментопатий, поэтому применение их исключают при соответствующем заболевании.

9. Использование генной инженерии, т. е. лечение путем пересадки нормального гена. Принцип подобного лечения в эксперименте разработан. Была сделана попытка использования этого метода в клинике при лечении больных β -талассемией (дефект синтеза β -субъединиц гемоглобина). Им был пересажен в клетки костного мозга ген, несущий информацию о структуре β -цепи гемоглобина. Метод очень перспективен, но неясны результаты «поведения» пересаженных генов и векторов в клетках человека.

Профилактика молекулярных болезней зависит и от социальных мероприятий: охраны окружающей среды от загрязнений, прекращения использования отравляющих химических веществ, испытаний и применения радиационного оружия, выполнения правил техники безопасности при работе с источниками ионизирующего излучения, запрещения применения пищевых и лекарственных мутагенов и т. д.

Д. РЕГУЛЯЦИЯ И АДАПТАЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

В процессе жизнедеятельности клеткам приходится непрерывно приспосабливать свой обмен веществ к условиям внешней среды. Для управления обменом веществ существуют вещества-регуляторы, которые должны отвечать по крайней мере двум требованиям: служить неким индикатором изменений в обмене веществ и в то же время включать имеющиеся в клетках механизмы, регулирующие скорость и направление химических превращений. Как известно, скорость и направление биохимических процессов определяются ферментами клетки. Поэтому регуляторы могут направить в нужное русло биохимические процессы, влияя на активность и количество ферментов, принадлежащих к разным путям обмена и находящихся в разных частях клетки. Отсюда ста-

новится понятным одно из важнейших качеств регуляторов: действуя в малых количествах, вызывать существенные сдвиги в метаболизме клеток.

В зависимости от продолжительности эффекта, произведенного регулятором на метаболизм, различают срочную и долговременную регуляцию, в основе которых лежат совершенно разные механизмы. Срочная регуляция производит почти мгновенные изменения в обмене веществ. Механизм ее состоит в действии регулятора на транспорт веществ через мембраны (на транспортные системы мембран) и активность ферментов. Активность ферментов изменяется после воздействия регуляторов на их аллостерические или активные центры. Долговременная регуляция характеризуется длительными, устойчивыми изменениями в обмене веществ и связана с влиянием регулятора на количество ферментов в клетке.

В зависимости от места действия регуляторы можно условно разделить на две большие группы: внутриклеточные и внеклеточные.

Внутриклеточные регуляторы образуются в клетке и влияют на активность и количество ферментов. У одноклеточных они образуются в ответ на изменения химического состава внешней среды или на поступление внутрь клетки, например, питательных веществ. У многоклеточных метаболизм отдельных клеток не автономен, а подчинен задачам целого организма. Поэтому в ходе эволюции у многоклеточных сформировалась целая группа *внеклеточных регуляторов* и регуляторных систем, которые координируют обмен веществ в разных тканях и органах целого организма. Развитие системы внеклеточных регуляторов повлекло за собой формирование воспринимающего их аппарата в рабочих (эффекторных) клетках. С этой целью в эффекторных клетках потребовались специальные белки-рецепторы (своеобразные биологические «антенны» для приема внеклеточных регуляторов). Часть рецепторов была «вынесена» на внешнюю поверхность клеточной мембраны, чтобы различать регуляторы, не способные проникнуть сквозь нее. Другая часть рецепторов локализована в цитоплазме, где они взаимодействуют с проникающими внутрь клеток внешними регуляторами.

К внутриклеточным регуляторам можно отнести:

- 1) питательные вещества и метаболиты;
- 2) витамины и образующиеся из них коферменты;
- 3) группу внутриклеточных посредников — циклические нуклеотиды (цАМФ, цГМФ и, возможно, другие), ионы Ca^{2+} и олигонуклеотиды, например 2', 5'-олиго-(А).

У млекопитающих питательные вещества и метаболиты служат регуляторами главным образом активности ферментов. Генетическая регуляция ими количества ферментов строго не доказана.

Витамины являются смешанными регуляторами, они регулируют активность ферментов (как компоненты активного центра), а часть из них, особенно жирорастворимые витамины, действуют подобно внеклеточным регуляторам активности и количества ферментов.

Группа внутриклеточных посредников, как правило, не имеет самостоятельного значения. Их «запуск» осуществляется внеклеточными регуляторами.

Внеклеточные регуляторы отличаются местом образования и биологическими свойствами. В организме человека и животных различают: гуморальную, эндокринную и нервную системы регуляции.

Гуморальная система регуляции характеризуется тем, что химические вещества-регуляторы образуются во внеклеточных жидкостях, действуя на клетки в месте своего образования, и, как правило, недолго. Эволюционно это наиболее древние внеклеточные регуляторы многоклеточных. Для их образования используется простейший способ: отщепление от неактивной молекулы активного фрагмента-регулятора с помощью гидролитического фермента. Примером таких гуморальных регуляторов могут служить *кинины* (биологические активные полипептиды, образующиеся в результате гидролиза белков крови).

Эндокринная система регуляции отличается от гуморальной тем, что ее химические регуляторы образуются в специальных (эндокринных) клетках и органах и уже после этого достигают эффекторных клеток гуморальным путем (т. е. через биологические жидкости).

Для нервной регуляции характерен кабельный (электрический) способ передачи информации к эффекторным клеткам, действие на обмен и функцию которых происходит посредством медиаторов. Нервная регуляция отличается максимальной быстротой и целенаправленностью действующего сигнала. В организме нервная и эндокринная регуляции тесно связаны, поэтому их рассматривают как единую нейроэндокринную регуляцию.

ГЛАВА 26. ВИТАМИНЫ

1. Введение в витаминологию

Открытие витаминов было связано с изучением роли пищевых веществ в жизнедеятельности организма. В 1880 г. русский ученый Н. И. Луин впервые доказал, что помимо известных составных частей пищи: белков, жиров, углеводов, воды и минеральных веществ — нужны какие-то дополнительные факторы, без которых организм не может нормально существовать. По предложению польского исследователя К. Функа, проводившего опыты по выделению из рисовых отрубей активного начала (1911—1912), эти дополнительные факторы пищи были названы **витаминами** (в дословном переводе «амины жизни»), поскольку выделенное им из рисовых отрубей вещество содержало аминокруппу. С тех пор термин витамины укоренился в науке, хотя в химической структуре многих из них отсутствует аминокруппа и вообще азот.

Витамины — это необходимые для нормальной жизнедеятельности низкомолекулярные органические соединения, синтез которых у организмов данного вида отсутствует или ограничен.

Существует условное деление витаминных веществ на собственно витамины и витаминоподобные соединения. Последние похожи по биологическим свойствам на витамины, но требуются обычно в больших количествах. Следует напомнить, что не для любого организма одно и то же соединение служит витамином. Например, аскорбиновая кислота является для человека и морской свинки витамином, поскольку не синтезируется у них, а для крыс, кроликов, собак она не является витамином, так как она синтезируется у них в тканях.

Источником витаминов у человека служат пища и кишечные бактерии. Последние сами синтезируют многие витамины и являются важным источником их поступления в организм.

В отличие от других пищевых веществ витамины участвуют в образовании коферментов, без которых невозможна нормальная функция соответствующих ферментов, или служат регуляторами биохимических процессов.

Классификация витаминов. По физико-химическим свойствам витамины делятся на две группы: жирорастворимые и водорастворимые. Для обозначения каждого из этих двух групп витаминов существует буквенное обозначение, химическое и физиологическое название (см. табл. 30). Отдельные витамины представляют собой группу близких по химической структуре соедине-

Т а б л и ц а 30. Классификация витаминов и их производных

Буквенное обозначение	Химическое название	Химические формы		Физиологическое название	
		биологически неактивные	биологически активные		
			производные		коферменты
I. Жирорастворимые витамины					
A	Ретинол	Ретинилацетат, ретинилпальмитат	Ретинол, ретиналь, ретиновая кислота	Антиксерофтальмический	
D	Кальциферолы	Эргокальциферол (D ₂), холекальциферол (D ₃)	1,25-Дигидроксикальциферол	Антирахитический	
E	Токоферолы		α, β, γ, δ-Токоферолы, токотриенолы и их эфиры	Антистерильный	
K	Нафтохиноны		Филохинон (K ₁), менахинон (K ₂)	Антигеморрагический	
II. Витаминоподобные жирорастворимые вещества					
F	Эссенциальные жирные кислоты		Олеиновая, линолевая, линоленовая, арахидоновая		
	Убихинон (кофермент Q)			Убихинон (KoQ), убихинол (KoQ · H ₂)	
III. Водорастворимые витамины					
B ₁	Тиамин	Тиамин		Тиамин дифосфат, тиамин трифосфат	Антиневритный
B ₂	Рибофлавин	Рибофлавин		ФМН, ФМН · H ₂ ; ФАД, ФАД · H ₂	Витамин роста
B ₃	Пантотеновая кислота	Пантотенат		Пантетеин-4-фосфат, КоА, дефосфо-КоА	

Буквенное обозначение	Химическое название	Химические формы			Физиологическое название
		биологически неактивные	биологически активные		
			производные	коферменты	
B ₅ (PP)	Ниацин	Никотинамид, никотиновая кислота		НАД ⁺ НАД·Н ₂ ; НАДФ ⁺ , НАДФ·Н ₂ ПАЛФ, ПАМФ	Антипеллагрический
B ₆	Пиридоксин	Пиридоксин, пиридоксамин, пиридоксаль			Антидерматитный
B ₉ (B ₁₂)	Фолиацин (фолиевая кислота)	Фолиацин		Тетрагидрофолиевая кислота и ее производные с одноуглеродными радикалами	Фактор роста
B ₁₂	Цианокобаламин	Цианокобаламин, оксокобаламин, нитриткобаламин		Метилкобаламин, дезоксиадеинозилкобаламин	Антианемический
H	Биотин	Биотин		Карбоксибиотин	Антисеборейный
C	Аскорбиновая кислота	Дегидроаскорбиновая кислота	Аскорбиновая кислота		Антицинготный

IV. Витаминоподобные водорастворимые вещества

B ₄ P	Холин Биофлавоноиды	Холин	Фосфохолин Флавоны: рутин, кверцетин; флавононы: гесперидин, комплекс катехинов		Капилляроукрепляющий
B ₈	Инозит		Инозит, мезоинозит, иноинозит, дифосфоинозит, идцефалин		
N	Липоевая кислота	Липоевая кислота		Липамид, окисленная и восстановленная формы	
B ₇	Карнитин		Карнитин, ацилкарнитин		
B ₁₃	Оротовая кислота	Оротовая кислота	Оротидин-5-фосфат		Фактор роста
B ₁₅	Пангамовая кислота		Пангамовая кислота		Антианоксический
U	S-Метилметионин		S-Метилметионин; метилметионинсульфоний		Антиязвенный
	Парааминобензойная кислота (ПАБК)	Парааминобензойная кислота	Фолиевая кислота		Витамин для микроорганизмов

ний. Эти варианты одного и того же витамина называют **витамерами**. Они обладают сходным специфическим, но отличающимся по силе биологическим эффектом на организм.

Пути метаболизма витаминов в организме. Некоторые витамины поступают с пищей в виде предшественников — **провитамин**ов, которые в тканях превращаются в биологически активные формы витаминов.

Поступающие при всасывании жирорастворимые витамины депонируются в тканях; водорастворимые витамины превращаются в коферменты и, соединяясь с апоферментом, входят в состав сложного фермента. Поскольку срок жизни ферментов ограничен, то коферменты распадаются и выводятся в виде различных метаболитов из организма. Жирорастворимые витамины тоже подвергаются катаболизму и теряются организмом, хотя и медленнее, чем водорастворимые. Поэтому необходимо постоянное поступление витаминов с пищей.

Нарушение баланса витаминов в организме. Дисбаланс витаминов проявляется в форме недостатка (отрицательный баланс) и избытка (положительный баланс). Частичный недостаток витамина (клинически или биохимически проявляющийся отрицательный баланс) называется **гиповитаминозом**, а крайне выраженный дефицит — **авитаминозом**. Недостаток одного витамина относят к **монопровитаминозам**, а сразу нескольких — к **полигиповитаминозам**. Избыточное накопление в тканях витаминов (выраженный положительный баланс), сопровождающийся клиническими и биохимическими признаками нарушений, называется **гипервитаминозом**. Он характерен для жирорастворимых витаминов.

Все гиповитаминозы и авитаминозы проявляются задержкой роста молодого организма. Кроме того, для конкретного гиповитаминоза характерны свои симптомы нарушений обмена веществ и функций, отражающих регуляторные свойства данного витамина. По этим симптомам выявляют недостаточность соответствующего витамина. Причины гиповитаминозов могут быть экзогенные и эндогенные. К **экзогенным** относятся **нерациональное питание** (однообразная, бедная витаминами пища), **изменение состава нормальной кишечной флоры (дисбактериоз)**, обычно вызываемое длительным применением химиотерапевтических средств (антибиотиков, сульфаниламидов и т. д.); к **эндогенным** — нарушения всасывания и транспорта **витаминов**, образования коферментов (вследствие генетически обусловленных дефектов апофермента или ферментов синтеза коферментов), усиление распада витаминов, физиологически обусловленная высокая потребность в витаминах (растущий организм, беременность).

Гипервитаминоз, или витаминная интоксикация, проявляется общими симптомами: потеря аппетита, расстройство моторной функции желудочно-кишечного тракта, сильные головные боли, повышенная возбудимость нервной системы, выпадение волос, шелушение кожи и некоторые специфические признаки, свойственные данному витамину. Гипервитаминоз может закончиться смертельным исходом.

Причиной гипервитаминозов служит избыточный прием продуктов, богатых данным жирорастворимым витамином (например, печени белого медведя или кита, богатых витамином А), или назначение чрезмерных доз витаминов.

Практическое применение витаминов. В настоящее время применяются отдельные витамины, комбинированные поливитаминные препараты и кофер-

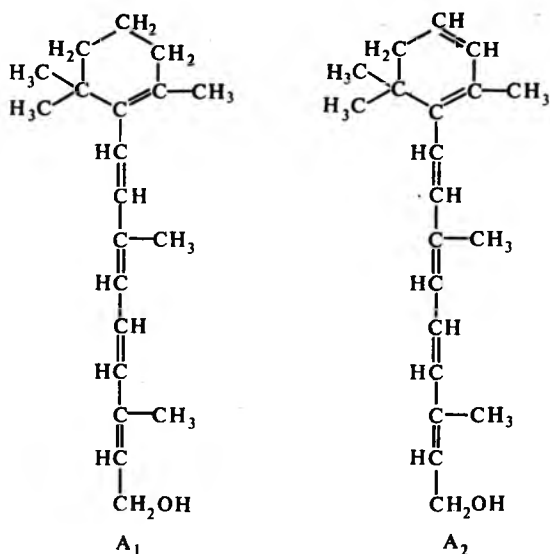
ментные препараты витаминов. Последние особенно перспективны, поскольку будучи введенными в организм, могут сразу участвовать в регуляции обмена веществ. Витамины используются как средство заместительного лечения (при гипо- и авитаминозах) и патогенетического лечения (когда используются ценные качества витаминов — сосудорасширяющее, регенеративное и т. д.).

2. Жирорастворимые витамины

Ретинол (витамин А)

Источником витамина А для человека служат прежде всего продукты животного происхождения. Наиболее богата им печень различных рыб, особенно трески и морского окуня. Много витамина А в свиной и говяжьей печени, желтке яиц, сметане, цельном молоке. В растительных продуктах: моркови, помидорах, свекле, салате содержатся каротиноиды, являющиеся провитаминами А. Поэтому частично обеспечение витамином А происходит за счет растительных продуктов, если в организме не нарушен процесс превращения пищевых каротиноидов в витамин А. Суточная потребность в витамине А для взрослого человека составляет 1,5 мг (5000 МЕ).

Химическая природа и биологически активные формы витамина А. Витамин А представляет собой непредельный одноатомный спирт, состоящий из β -иононового кольца и боковой цепи из двух остатков изопрена, имеющей первичную спиртовую группу. Витамин А имеет витаминеры А₁ и А₂. Витамин А₂, найденный у пресноводных рыб, имеет дополнительную двойную связь в β -иононовом кольце:



В организме ретинол (витамин А спирт) превращается в ретиналь (витамин А альдегид) и ретиноевую кислоту (витамин А кислота), т. е. происходит

окисление спиртовой группы витаминер A_1 и A_2 соответственно в альдегидную и карбоксильную. В тканях организма образуются производные витамина А — *ретирилпальмитат* и *ретирилацетат* (сложные эфиры ретинола с пальмитиновой и уксусной кислотами) и *ретирилфосфат* (фосфорный эфир ретинола). Витамин А и его производные находятся в организме в *транс*-конфигурации, за исключением сетчатки глаза, где образуются *11-цис*-ретинол и *11-цис*-ретиаль.

Известны три провитамина А — α -, β - и γ -каротины, отличающиеся по химическому строению и биологической активности. Наиболее активен β -каротин, который в слизистой кишечника подвергается окислению по центральной двойной связи с участием фермента каротиндиоксигеназы:



При этом образуются две молекулы активного ретиналя. При распаде α - и γ -каротинов, содержащих в отличие от β -каротина одно β -иононовое кольцо, образуется только по одной молекуле витамина А. Отсюда меньшая активность α - и γ -каротинов по сравнению с β -каротином.

Биологической активностью обладают все формы витамина А: ретинол, ретиаль, ретиноевая кислота и их эфирпроизводные.

Метаболизм. Для всасывания витамина А необходимы желчные кислоты, как и для всех липидов. В слизистой кишечника ретинол образует эфиры с жирными кислотами и транспортируется в составе хиломикрон. В плазме ретинол связывается с ретинолсвязывающимся белком, находящимся во фракции α_1 -глобулинов, и доставляется в ткани. В сетчатке ретинол превращается в ретиаль, который входит в состав родопсина и играет важную роль в восприятии света. В печени эфиры ретинола депонируются. Часть ретинола в печени окисляется в ретиаль, а затем в ретиноевую кислоту, которая выводится с желчью в виде глюкуронидов.

Биохимические функции. Все формы витамина А (ретиаль, ретинол, ретиноевая кислота и их эфирные производные) регулируют следующие процессы:

- 1) нормальный рост и дифференцировку клеток развивающегося организма (эмбриона, молодого организма);
- 2) регуляцию деления и дифференцировки быстро пролиферирующих (делящихся) тканей — хряща и костной ткани, сперматогенного эпителия и плаценты, эпителия кожи и слизистых;
- 3) участие в фотохимическом акте зрения.

Ретиноевая кислота в акте зрения и функции размножения, т. е. нормальном развитии сперматозоидов в мужском организме и плаценты при беременности, не участвует. Она стимулирует рост костей и мягких тканей. Остальные формы витамина А обеспечивают все основные его биологические функции.

Окончательно механизм регуляции витамином А деления и дифференци-

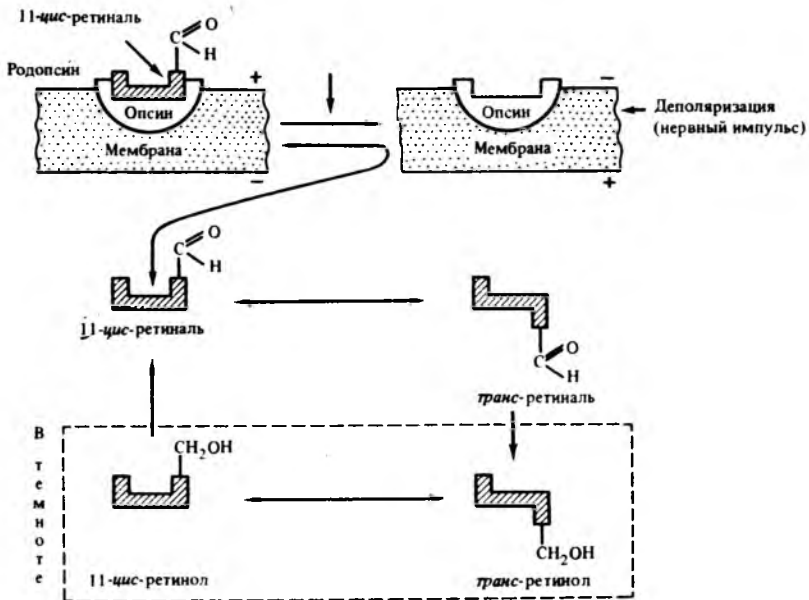


Рис. 72. Схема зрительного акта

ровки клеток не выяснен. Возможно, это действие связано с запуском механизма репликации, а выраженное влияние на рост костей — с регуляцией синтеза хондроитинсульфата в клетках хряща. Многие метаболические функции витаминов А неясны. Детально изучено участие его в акте зрения. В этом процессе витамин А участвует в форме 11-цис-ретинола, который входит в состав светочувствительных пигментов сетчатки глаза. У человека сетчатка имеет два типа клеток — палочки и колбочки. Палочки реагируют на слабое освещение (сумеречное, ночное зрение), а колбочки — на хорошее освещение (дневное зрение) и обеспечивают различение цветов (цветовое зрение). Палочки содержат зрительный пигмент родопсин, а колбочки — иодопсин. И тот, и другой являются сложными белками, состоящими из 11-цис-ретинола и белка опсина. Однако по строению белковой части родопсин и иодопсин различаются.

В зрительном акте можно выделить три процесса (рис. 72):

- 1) фотохимическая абсорбция света пигментом, который при этом изменяется;
- 2) образование нервного импульса в ответ на изменение пигмента;
- 3) регенерация исходного пигмента.

Кванты света, поглощаемые родопсином (или иодопсином), вызывают фотоизомеризацию 11-цис-ретинола в транс-ретинол, после чего происходит диссоциация транс-ретинола и опсина и пигмент обесцвечивается. Поскольку пигменты встроены в мембраны светочувствительных клеток сетчатки, то фотоизомеризация ретинола приводит к местной деполяризации мембраны и возникновению электрического импульса, распространяющегося по нервному волокну.

Регенерация исходного пигмента возможна прямым путем с участием ретинальизомеразы (это медленный процесс), протекающим на свету, или окольным путем в темноте. В темноте регенерация родопсина максимальная. Она протекает через образование *транс*-ретинола, *цис*-ретинола и 11-*цис*-ретинола. Последний вновь комплексируется с опсином. Отсутствие регенерации родопсина приводит к слепоте в ночное время или в сумерках.

Недостаточность витамина А. Наиболее ранним признаком недостаточности является нарушение темновой адаптации и ночная слепота. Кроме того, возможна задержка роста в молодом возрасте. Фолликулярный гиперкератоз (избыточное ороговение кожи, вызванное задержкой смены эпителия), сухость слизистых (тоже вследствие замедленного обновления эпителия), ксерофтальмия (сухость конъюнктивы глаза), помутнение роговицы и размягчение ее (кератомалация), нарушение функции размножения (оплодотворяющей активности сперматозоидов).

Практическое применение. В медицинских целях используют природные препараты витамина А (содержащие смесь его биологических форм) и синтетические — ретинолацетат и ретинолпальмитат. Они применяются для лечения гиповитаминозов как средство профилактики у людей, работа которых связана с напряжением зрения, для стимуляции роста и развития у детей, усиления регенерации плохо заживающих тканей, повышения сопротивляемости инфекциям, профилактики бесплодия.

Кальциферолы (витамин D)

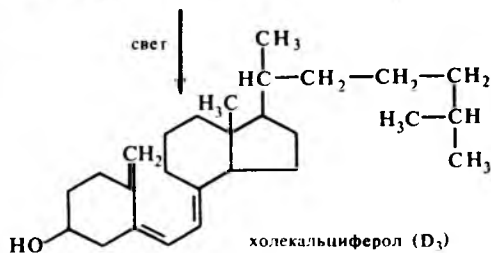
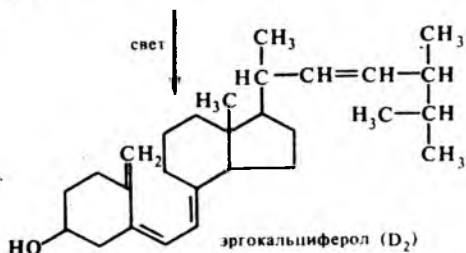
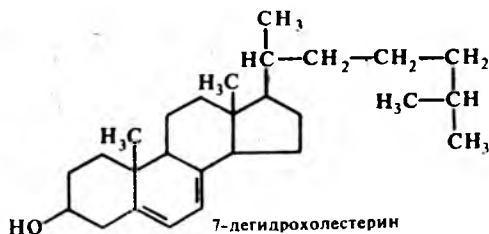
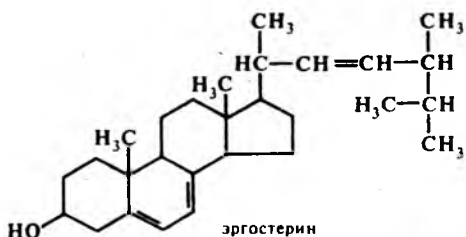
Витамин D содержится в ряде продуктов животного происхождения: в печени, сливочном масле, молоке, а также в дрожжах и растительных маслах. Наиболее богата витамином D печень рыб. Из нее получают рыбий жир, используемый для профилактики и лечения D-витаминной недостаточности.

Суточная потребность в витамине D для детей колеблется от 12 до 25 мкг (500—1000 ME). Для взрослого человека нужны в десятки раз меньшие количества, чем для детей.

Химическая природа и биологически активные формы витамина D. Витамин D — групповое обозначение нескольких веществ, относящихся по химической природе к стеринам. Имеется несколько витамеров витамина D. Среди них наиболее активны эргокальциферол (D_2), холекальциферол (D_3) и дигидроэргокальциферол (D_4). Витамин D_2 образуется из растительного предшественника (провитамина D) — эргостерина, а витамин D_3 — из 7-дегидрохолестерина (синтезирующегося в коже человека и животных) после облучения ультрафиолетовым светом растений или кожи человека и животных. Последний биологически более активен. Менее активные витамеры витамина D — D_4 , D_5 , D_6 , D_7 образуются при облучении ультрафиолетом растительных предшественников (соответственно дигидроэргостерина, 7-дегидростерина, 7-дегидростигмастерина и 7-дегидрокампестерина).

Однако ни эрго-, ни холекальциферолы биологически не активны и не могут выполнять свои регуляторные функции. Биологически активные формы их образуются в ходе метаболизма.

Метаболизм. Пищевые кальциферолы всасываются в тонком кишечнике с помощью желчных кислот. После всасывания они транспортируются в со-



стае хиломикрон в кровь и далее в печень. Сюда же с кровью поступает и эндогенный холекальциферол. В печени холекальциферол и эргокальциферол подвергаются гидроксилированию в эндоплазматическом ретикулуме с помощью 25-гидроксилазы холекальциферола. Образуются *25-гидроксихолекальциферол* и *25-гидроксиэргокальциферол*, которые принято считать основной транспортной формой витамина D. С кровью они переносятся в составе специального кальциферолсвязывающего белка плазмы к почкам, где с участием 1-гидроксилазы кальциферолов образуются *1,25-дигидроксикальциферолы*, которые и являются активной формой («гормональной») витамина D, регулирующей обмен кальция и фосфора в организме.

В тканях витамин D не накапливается, за исключением жировой ткани. Выводится он главным образом с калом в неизменном или окисленном виде или в виде конъюгатов.

Биохимические функции. Биологическая активность 1,25-гидроксикальциферолов в 10 раз превышает активность исходных кальциферолов. Витамин D регулирует транспорт ионов кальция и фосфора через клеточные мембраны и тем самым их уровень в крови. Эта регуляция основана, по крайней мере, на трех процессах, в которых участвует витамин D:

1) транспорт ионов кальция и фосфата через эпителий слизистой тонкого кишечника при их всасывании;

2) мобилизация кальция из костной ткани;

3) реабсорбция кальция и фосфора в почечных канальцах.

Механизм действия на эти процессы витамина D представляется следующим образом. Всасывание кальция в тонком кишечнике происходит путем облегченной диффузии с участием специального кальцийсвязывающего белка (CaCB) и активного транспорта с помощью Ca²⁺-АТФазы. 1,25-Дигидроксикальциферолы индуцируют образование CaCB и белковых компонентов Ca²⁺-АТФазы, возможно, действием на генетический аппарат клеток слизистой тонкого кишечника. Очевидно, подобная стимуляция витамином D Ca²⁺-АТФазы мембран почечных канальцев приводит к реабсорбции в них ионов каль-

ция. Еще не ясны механизмы участия витамина D в трансмембранном переносе фосфата в кишечнике и почках и мобилизации кальция из костной ткани.

В целом действие витамина D выражается в повышении содержания ионов кальция и фосфатов в крови.

Недостаточность витамина D. Недостаточность витамина D проявляется в виде заболевания, названного *рахитом*. Развитие рахита у детей вызывается низким содержанием в пище, потребляемой детьми, витамина D, относительно меньшая, чем в старшем возрасте, возможность получать необходимую дозу ультрафиолетового облучения (для образования эндогенного витамина D) и меньшая чувствительность тканей, реагирующих на кальциферолы (очевидно, недостаток кальциферолсвязывающих рецепторов). При рахите заторможены все процессы, регулируемые витамином D, а именно: всасывание ионов кальция и фосфатов в кишечнике (хотя ребенок с молочной пищей получает их в достаточных количествах), реабсорбция их в почках. Вследствие этого уровень кальция и фосфора в крови снижается и нарушается минерализация костей, т. е. отложения минеральных веществ на вновь образовавшую коллагеновую матрицу растущих костей не происходит. Поэтому у страдающих рахитом наблюдается деформация костей скелета конечностей, черепа, грудной клетки.

Относительная недостаточность витамина D может быть и при нормальном его поступлении в организм. Она проявляется при заболеваниях печени и особенно почек, так как эти органы принимают участие в образовании активных форм витамина D.

Гипервитаминоз D. При приеме избыточных количеств витамина D у детей и взрослых развивается витаминная интоксикация. Она проявляется деминерализацией костей и их переломами. Уровень кальция и фосфатов в крови резко повышается (они извлекаются из костей, всасываются из кишечника и реабсорбируются в почках). Это приводит к кальцификации внутренних органов (из-за плохой растворимости кальция) — сосудов, легких, почек и др.

Практическое применение. В медицинской практике используются природные препараты витамина D (рыбий жир) и синтетические (эргокальциферол или холекальциферол).

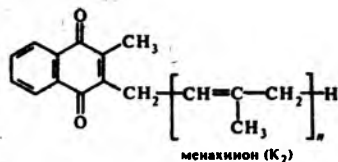
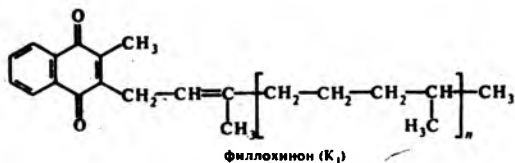
В настоящее время налаживается производство активных метаболитов витамина D — 25-гидроксихолекальциферола, обладающих большей антирахитической активностью, которая к тому же не зависит от сопутствующих заболеваний печени.

Препараты витамина D применяются для профилактики и лечения рахита и для лечения других заболеваний (туберкулеза костей, кожи).

Нафтохиноны (витамин К)

Источником витамина К являются растительные (капуста, шпинат, отчасти корнеплоды и фрукты) и животные продукты (печень). Кроме того, он синтезируется бактериями тонкого кишечника. Суточная потребность в нем взрослого человека составляет примерно 2 мг.

Химическая природа и биологически активные формы витамина К. Витамин К по химической природе является хиноном с боковой изопреноидной цепью. Существует два ряда нафтохинонов, или витаминов К,— филлохиноны (витамины К₁-ряда) и менахиноны (витамины К₂-ряда):



Филлохиноны и их производные содержатся в растениях и поступают с пищей, а менахиноны (сокращенно МК) образуются кишечными бактериями или в ходе метаболизма нафтохинонов в тканях организма. Синтетические препараты витамина К — менадион, викасол и синкавит являются производными 2-метил-1, 4-нафтохинона. В организме из них тоже образуются биологически активные менахиноны.

Метаболизм. Для всасывания пищевого витамина К в тонком кишечнике необходимы желчные кислоты и панкреатическая липаза. Водорастворимые препараты его в них не нуждаются. Транспорт всосавшегося витамина К происходит с хиломикронами. В плазме крови он связывается с альбуминами и накапливается в печени, селезенке и сердце. Большинство нафтохинонов пищевого и бактериального происхождения подвергается в тканях превращению с образованием менахинона, называемого МК-4 (который является витамином К₂-ряда). МК-4 служит, очевидно, основной биологически активной формой витамина К. Конечные продукты превращения витамина К выделяются с мочой.

Биохимические функции. Витамин К регулирует в организме процесс свертывания крови путем участия в образовании компонентов ее системы: фактора II (протромбина), фактора VII (проконвертина), фактора IX (фактора Кристмаса) и фактора X (фактора Стюарта). Витамин К участвует в превращении предшественника протромбина, называемого *препротромбином*, в протромбин. Этот процесс происходит в печени. Витамин К стимулирует γ-карбоксилирование остатков глутаминовой кислоты в молекуле протромбина, активируя микросомальную карбоксилазу. Образовавшийся протромбин связывается с фосфолипидами через ионы Ca²⁺ и подвергается ферментативному расщеплению с образованием тромбина. Последний автоматически запускает систему свертывания крови с образованием фибринового сгустка.

Недостаточность витамина К. Признаками недостаточности витамина К является повышенная кровоточивость, особенно при травмах. У взрослых людей кишечная флора полностью обеспечивает организм витамином К. У грудных детей (пока не развита кишечная флора) причиной гиповитаминоза может служить недостаток витамина К в пище. Основными причинами гиповитаминоза К являются: подавление кишечной флоры лекарственными средствами, заболевания печени и желчного пузыря, при которых нарушается образование желчных кислот (необходимых для всасывания витаминов). К тому же печень служит местом образования активных форм витамина К, синтеза ряда факторов свертывания крови и превращения препротромбина в тромбин.

Практическое применение. В медицинской практике используются препараты витамина К₁ и его синтетический аналог — викасол. Они применяются при кровоточивости или кровотечениях, связанных с понижением свертывания крови.

Токоферолы (витамин Е)

Источником токоферола для человека служат растительные масла: подсолнечное, кукурузное, хлопковое, оливковое. Особенно высоко его содержание в масле, полученном из зародышей пшеницы. Продукты животного происхождения, в том числе молочные, бедны токоферолом. Суточная потребность взрослого человека в токофероле примерно 20—50 мг.

Химическая природа и биологически активные формы витамина Е. К витамину Е относятся метильные производные токола и токотриенола. Витамины Е обозначаются греческими буквами α -, β -, γ - и δ -токоферолы и токотриенолы. По строению они очень близки. В их структуре имеется ароматический спирт токол и боковая изопреноидная цепь, которая у токоферолов полностью гидрирована, а у токотриенолов нет (рис. 73). Самым активным является α -токоферол, с которым обычно отождествляют Е-витаминную активность.

Метаболизм. Для всасывания пищевого токоферола необходимо присутствие, как и для всех жирорастворимых витаминов, липидов в качестве растворителей и желчных кислот как эмульгаторов. Всасывание их происходит в тонком кишечнике путем простой диффузии, затем в составе хиломикронов они транспортируются через лимфатические пути в кровь и с липопротеидами крови — в органы и ткани. В их клетках токоферол включается в состав мембран, где он и концентрируется. Наибольшее количество токоферола организ-

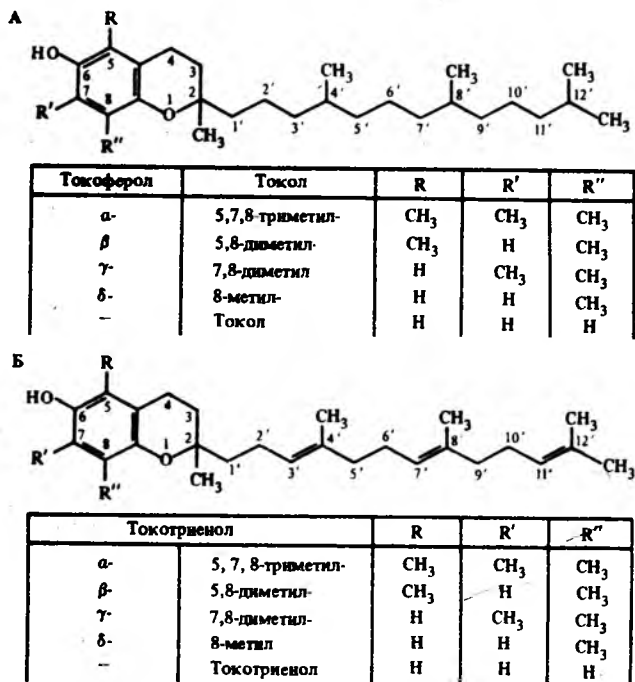


Рис. 73. Строение токоферолов (А) и токотриенолов (Б) по В. Б. Спиричеву

ма сосредоточивается в жировой ткани, печени и скелетных мышцах. Невосставшийся токоферол выводится с калом, а продукты метаболизма его в виде токофероновой кислоты и ее водорастворимых глюкуронидов — с мочой.

Биохимические функции. Токоферол регулирует интенсивность свободно-радикальных реакций в живых клетках, поскольку препятствует развитию цепных неуправляемых реакций пероксидного окисления ненасыщенных липидов в биологических мембранах.

По своему механизму токоферол является биологическим антиоксидантом, благодаря чему обеспечивает стабильность биологических мембран клеток организма. Существует тесная взаимосвязь между токоферолом и селеном в регуляции пероксидного окисления липидов, поскольку селен является кофактором глутатионпероксидазы, инактивирующей гидропероксидазы липидов. Токоферол повышает биологическую активность витамина А, защищая его ненасыщенную боковую цепь от пероксидного окисления. Возможно, имеются и другие стороны действия токоферола и его производных, но пока они не раскрыты.

Недостаточность токоферола. Гиповитаминоз Е у человека практически не встречается. Лишь у недоношенных детей встречаются признаки гиповитаминоза, приводящие к гемолитической анемии (из-за низкой устойчивости мембран эритроцитов и их распада). У экспериментальных животных недостаточность токоферола проявляется как своеобразная патология мембран: нарушается устойчивость их к пероксидам, повышается проницаемость и потеря внутриклеточных компонентов, например белков, для которых в норме мембрана непроницаема. Патология мембран тканей при гиповитаминозе Е, очевидно, служит причиной разнообразия симптомов заболевания: склонность эритроцитов к пероксидному гемолизу, атрофия семенников (ведущая к бесплодию), рассасывание плода при беременности, мышечная дистрофия и потеря внутриклеточных азотистых компонентов и белков мышц, некроз печени, размягчение участков мозга, особенно мозжечка.

Практическое применение. Выпускаются препараты синтетического D, L- α -токоферолацетата в растительном масле и концентраты масляных экстрактов смеси токоферолов из зародышей пшеницы.

Препараты токоферола используются как антиоксиданты при состояниях повышенного риска накопления пероксидов липидов, для профилактики бесплодия и угрозы прерывания беременности, заболеваниях печени, атрофии мышц, врожденных нарушениях мембран эритроцитов у новорожденных, недоношенных детей и т. д.

3. Витаминоподобные жирорастворимые вещества

Убихинон (коэнзим Q)

Убихинон синтезируется в тканях человека. Источником его образования служат мевалоновая кислота и продукты обмена фенилаланина и тирозина. Признаки недостаточности убихинона для человека не описаны, но при некоторых состояниях отмечается повышенная потребность в нем. Поэтому его стали относить к витаминоподобным веществам. Потребность в убихиноне для человека неизвестна.

Физико-химические свойства убихинона (см. глава «Ферменты») и коферментные функции позволяют участвовать в переносе водорода через липидный слой мембран. Возможно, этим не ограничиваются функции убихинона, о чем свидетельствует его положительное влияние как лекарственного средства при мышечной дистрофии, нарушениях сократительной функции миокарда, некоторых типах анемии и др.

Эссенциальные жирные кислоты (витамин F)

Источником витамина F являются растительные масла. Суточная потребность в нем взрослого человека составляет 5—10 г.

Химическая природа и биологически активные формы витамина F. Витамин F представляет собой сумму ненасыщенных жирных кислот, которые не могут быть синтезированы в тканях организма и необходимы для его нормальной деятельности. Однако не все полиеновые жирные кислоты обладают свойствами витамина F. Витамин F необходим для нормального роста и регенерации кожного эпителия, а также для построения таких важных регуляторов, как *простагландины*.

Метаболизм. Незаменимые жирные кислоты всасываются в тонком кишечнике, как и остальные жирные кислоты, и транспортируются в составе хиломикронов к органам. В тканях организма они используются для образования важнейших липидов, входящих в биологические мембраны и обладающих регуляторной активностью. При метаболизме часть их двойных связей восстанавливается.

Биохимические функции. Биохимические функции витамина F во многом не ясны. Очевидно, они связаны с его участием в образовании простагландинов, которые регулируют обмен веществ. Витамин F поддерживает запас витамина А и облегчает его действие на обмен веществ в тканях. Для сохранения биологической активности незаменимых полиеновых жирных кислот требуется токоферол, препятствующий их пероксидному окислению. Витамин F снижает содержание холестерина в крови.

Недостаточность витамина F. У человека почти не встречается. Считается, что гиповитаминоз F сопровождается *фолликулярным гиперкератозом*, т. е. избыточным ороговением кожного эпителия вокруг волосяных фолликулов. Эти симптомы напоминают симптомы недостаточности витамина А. У животных недостаточность витамина F может привести к бесплодию.

Практическое применение. Очевидно, истинно незаменимой жирной кислотой является арахидоновая, которая одна устраняет все признаки недостаточности. В клинике используются препараты незаменимых жирных кислот — линетол и линол — для профилактики отложения холестерина в стенках сосудов при атеросклерозе и местно при кожных заболеваниях.

4. Водорастворимые витамины

Большинство водорастворимых витаминов, поступающих с пищей или синтезируемых кишечными бактериями, проявляют биологическую активность после образования соответствующих коферментов в ходе метаболизма. Строение и функция витаминных коферментов освещалась в главе «Ферменты», поэтому ниже будут рассматриваться только схемы реакции образования коферментов из витаминов.

Тиамин (витамин В₁)

Тиамином богаты хлеб грубого помола, горох, фасоль, а также мясные продукты, с которыми он поступает в организм. Суточная потребность в тиамине взрослого человека составляет около 1—3 мг.

Метаболизм. В пищеварительном тракте различные формы пищевого тиамин гидрализуются с образованием свободного тиамин, который путем простой диффузии всасывается в тонком кишечнике. Часть тиамин расщепляется тиаминазой кишечных бактерий. Всосавшийся витамин с кровью воротной вены поступает в печень, где фосфорилируется с помощью тиаминфосфокиназы до *тиаминмонофосфата*, *тиаминдифосфата* и *тиаминтрифосфата*. Основной активной формой является тиаминдифосфат. Часть свободного тиамин, не задержавшаяся в печени, поступает в общий кровоток и проникает в другие органы и ткани, где тоже фосфорилируется. Тиаминдифосфат связывается с соответствующими апоферментами в клетках, а часть находится, видимо, в резервном состоянии. Примерно половина всего тиамин организма содержится в мышцах, 40% — во внутренних органах, преимущественно в печени. При распаде коферментов тиамин вновь образуется свободный тиамин, который вымывается в кровь и выделяется с мочой.

Биохимические функции. Участие тиамин в регуляции метаболизма тканей определяется тиаминдифосфатом (ТДФ), который входит в состав пируватдегидрогеназного или 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплексов и транскетолазы. Благодаря этому ТДФ способствует окислению пирувата и 2-оксоглутарата в митохондриях и, следовательно, образованию энергии из углеводов и аминокислот. Как известно, транскетолаза обеспечивает деятельность неокислительной фазы пентозофосфатного цикла, который является главным источником НАДФ • Н₂ и единственным источником рибозо-5-фосфата в клетках. Отсюда вытекает, что ТДФ необходим для осуществления всех биохимических процессов, использующих НАДФ • Н₂ (синтез жирных кислот, стероидов, обезвреживаний лекарств и ядов и т. д.) и рибозо-5-фосфат (синтез нуклеотидов, нуклеиновых кислот, нуклеотидных коферментов).

Возможно, существуют и другие, даже не коферментные функции тиамин. В частности, в нервной ткани имеется в ощутимых количествах тиаминтрифосфат, который непосредственно или косвенно участвует в синаптической передаче нервных импульсов:

Не исключено, что биосинтез обнаружен какой-либо тиаминзависимый фермент, участвующий в биосинтезе ДНК и клеточном делении. На это указывает наличие врожденных тиаминзависимых анемий, которые купируются назначением избытка тиамин.

Недостаточность тиамин. Недостаточность тиамин проявляется в тех районах земного шара, где население использует в качестве основного источника питания полированный рис, содержащий лишь следы тиамин. Тиаминовая недостаточность, называемая болезнью *бери-бери*, проявляется нарушениями метаболизма и функций пищеварительной, сердечно-сосудистой и нервной систем.

Гиповитаминоз сопровождается снижением концентрации коферментных форм тиамин в тканях и, как следствие, понижением обеспеченности витамином организма, падением активности транскетолазы и реакций окислительного декарбоксилирования пирувата и 2-оксоглутарата. Содержание этих

кетокислот в крови и выделение их с мочой повышается, уменьшается их использование в энергетическом обеспечении тканей, особенно зависящих от углеводов (прежде всего нервной ткани). Очевидно, нехватка НАДФ · Н₂ и рибозо-5-фосфата при тиаминовой недостаточности влечет за собой торможение многочисленных реакций синтеза, в которых они участвуют. Поэтому в обмене веществ преобладают катаболические процессы над анаболическими. Проявлением этого при бери-бери является выраженный отрицательный азотистый баланс, быстрое общее истощение и атрофия органов.

Цепь метаболических нарушений, вызванных недостатком тиамин в клетках, приводит и к патологии функций различных органов и систем. Со стороны пищеварительной системы это выражается в резкой потере аппетита, снижении секреции желудочного сока и соляной кислоты, атонии, диарее. Характерным признаком служит резкая атрофия мышечной ткани, следствием чего является снижение сократительной способности скелетных мышц (выраженная мышечная слабость), сердца (уменьшение силы сердечных сокращений, расширение правого отдела сердца, тахикардия и острая сердечная недостаточность) и гладких мышц (снижение тонуса гладких мышц кишечника).

Нарушения со стороны нервной системы проявляются постепенным снижением периферической чувствительности, утратой некоторых периферических рефлексов, сильными болями по ходу нервов, судорогами, расстройством высшей нервной деятельности (страх, снижение интеллекта). Проявление тиаминовой недостаточности часто наблюдается у хронических алкоголиков в виде энцефалопатического синдрома Вернике, который характеризуется нарушением координации движений, зрительных функций (офтальмоплегия) и спутанностью сознания.

Частная форма тиаминовой недостаточности имеет место при врожденных нарушениях обмена витамина, например тиаминзависимая анемия.

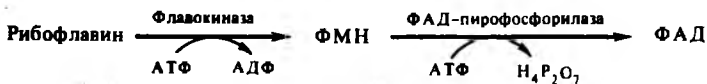
Практическое применение. В медицине используют различные лекарственные формы свободного тиамин и тиаминдифосфат (препарат кокарбоксилаза). Тиаминдифосфат довольно быстро гидролизует в крови и не ясно, попадает ли эта коферментная форма в клетки или только служит источником свободного тиамин.

Эти препараты применяются с целью улучшения усвоения углеводов при сахарном диабете, при гиповитаминозах, при дистрофиях сердца и скелетных мышц, при воспалениях периферических нервов и поражениях нервной системы (в том числе при алкоголизме) и т. д.

Рибофлавин (витамин В₂)

Источником рибофлавина для человека служат продукты питания и частично кишечные бактерии. Богаты рибофлавином печень, почки, желток куриного яйца, творог. В растительных продуктах его меньше. Суточная потребность в нем взрослого человека составляет 1—3 мг.

Метаболизм. В пище рибофлавин находится преимущественно в составе ФМН и ФАД, связанных с белком. Под влиянием пищеварительных ферментов происходит освобождение рибофлавина, который всасывается путем простой диффузии в тонком кишечнике. В слизистой и после всасывания в других тканях происходит образование из рибофлавина ФМН и ФАД по схеме



Эти коферменты входят в состав флавиновых ферментов. При обновлении флавопротеидов образуется свободный рибофлавин, который выделяется с мочой.

Биохимические функции. Флавиновые коферменты участвуют в многочисленных реакциях окисления веществ в клетках: переносе электронов и протонов в дыхательной цепи, окислении пирувата, сукцината, 2-оксоглутарата, α -глицеролфосфата, жирных кислот в митохондриях, окислении биогенных аминов, альдегидов и т. д.

Недостаточность рибофлавина. Недостаточность рибофлавина проявляется в снижении содержания коферментных форм его в тканях, прежде всего ФМН, а также симптомами поражения эпителия слизистых кожи и роговицы глаза. Наблюдается сухость слизистых губ, полости рта. Слизистая ярко-красного цвета, в углу рта и на губах трещины. Повышено шелушение кожи, особенно лица, из-за пониженного обновления эпителия. Имеет место сухость конъюнктивы, ее воспаление, светобоязнь, прорастание роговицы сосудами (вазуляризация), а затем ее помутнение.

Если учесть, что рибофлавин участвует в окислительных процессах, многие из которых протекают с образованием энергии, то становится понятным, почему проявления недостаточности витамина сказываются прежде всего на регенерирующих тканях. Вазуляризация облегчает поступление кислорода в центральную бессосудистую зону роговицы, как бы компенсирует недостаток дыхательной функции роговицы, вызванный дефицитом флавопротеидов, участвующих в окислительно-восстановительных процессах.

Практическое применение. В медицинской практике используются рибофлавин и коферментные препараты ФМН (выпускается под названием флавиномононуклеотид) и ФАД (отечественный препарат флавинад) в различных лекарственных формах. Они употребляются в клинике при гипорибофлавинозе, а также при заболеваниях кожи и глаз, вызванных не дефицитом рибофлавина, а скорее избыточной потребностью в нем: при дерматитах (воспаление кожи), плохо заживающих ранах и язвах, кератитах (воспаление роговицы), конъюнктивитах (воспаление конъюнктивы). Кроме того, при отравлении дыхательными ядами (оксид углерода СО), поражении печени, изнурительной мышечной работе и т. д.

Пантотеновая кислота (витамин В₃)

Источником пантотеновой кислоты для человеческого организма являются кишечные бактерии и продукты питания (дрожжи, печень, куриные яйца, рыба, молоко, мясо, бобовые и т. д.). Потребность в ней взрослого человека около 10 мг.

Метаболизм. Всасывание пантотената происходит в тонком кишечнике путем простой диффузии. С кровью всосавшийся витамин поступает к тканям. В клетках происходит синтез коферментных форм пантотената — 4-фосфопантотеина, дефосфо-КоА и КоА. В цитоплазме имеется набор необходимых ферментов для синтеза этих коферментов. Катаболизм коферментов происхо-

дит путем их гидролиза. Основным продуктом распада является свободная пантотеновая кислота, которая примерно на 90% выделяется с мочой.

Биохимические функции. Значение пантотеновой кислоты определяется участием ее коферментов в биохимических реакциях. 4-Фосфопантетеин является коферментом ацилпереносящего белка синтетазы жирных кислот, дефосфо-КоА — кофермент цитратлиазы и частично кофермент многочисленных реакций превращения ацилов. КоА — основной кофермент в клетках. С его участием протекают следующие процессы:

- 1) активирование ацетата и жирных кислот;
- 2) окисление жирных кислот;
- 3) синтез холестерина и других стероидных соединений;
- 4) синтез кетонových тел;
- 5) образование цитрата и превращение сукцинил-КоА на стадии субстратного фосфорилирования в цикле Кребса;
- 6) синтетические реакции с использованием сукцинил-КоА (синтез δ -аминолевуленовой кислоты);
- 7) синтез ацетилхолина;
- 8) синтез ацетилглюкозаминов;
- 9) реакции ацетилирования биогенных аминов (обезвреживание);
- 10) реакции ацетилирования чужеродных соединений (обезвреживание) и образования гиппуровой кислоты;
- 11) окисление пирувата и 2-оксоглутарата.

Недостаточность пантотената. Недостаточность пантотеновой кислоты не обнаружена. Ее изучали на животных и людях-добровольцах путем введения антагонистов пантотеновой кислоты. Из этих наблюдений было выявлено, что пантотеновый гиповитаминоз проявляется в снижении окисления пирувата, ацетилирования биогенных аминов и чужеродных соединений, а также в поражении кожи, поседении волос, нарушении функций нервной системы, пониженной приспособляемости к факторам внешней среды.

Практическое применение. В практической медицине используются препараты пантотената кальция, пантетина, КоА. Они применяются в различных лекарственных формах и в парфюмерии. Наиболее широко используются при заболевании кожи и волос, а также при поражении печени, дистрофии сердечной мышцы и т. д.

Ниацин (витамин В₅, РР)

В природе ниацин встречается в виде никотиновой кислоты и никотиамида, которые поступают в организм человека с пищей. Источником пищевого ниацина являются мясные, особенно печень, и многие растительные продукты. Молоко и яйца содержат следы ниацина. Однако в отличие от других витаминов ниацин может синтезироваться в тканях человеческого организма из триптофана, поэтому его нельзя считать обязательным компонентом пищи, если в достатке поступает триптофан. Из 60 молекул триптофана образуется одна молекула никотиамида. Поэтому продукты, богатые триптофаном, но бедные ниацином (например, те же молоко и яйца), могут устранять дефицит этого витамина в организме. Суточная потребность в ниацине зависит от потребления триптофана. Она составляет для взрослого человека около 25 мг.

Метаболизм. Ниацин, поступающий с пищей, всасывается в фундальной части желудка и в тонком кишечнике в основном путем простой диффузии.

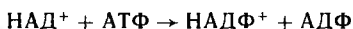
С кровью он доставляется в печень и во все остальные ткани, где проникает внутрь клетки. Причем никотиновая кислота быстрее поступает в клетки, чем никотинамид. В тканях оба витаминоактивных вещества участвуют в синтезе НАД и НАДФ и в составе этих коферментов находятся внутри клетки, так как НАД и НАДФ не способны проникать обратно через биологические мембраны. В свободном виде никотиновая кислота и никотинамид присутствуют в клетках в незначительных количествах.

Биосинтез НАД из никотинамида происходит в две стадии:

- а) Никотинамид + Фосфорибозилпирофосфат → Никотинамид-мононуклеотид + $H_4P_2O_7$
- б) Никотинамид-мононуклеотид + АТФ → НАД⁺ + $H_4P_2O_7$

Первая стадия протекает в цитоплазме клеток, возможно, потому, что источником фосфорибозилпирофосфата для синтеза служит рибозо-5-фосфат пентозофосфатного цикла, локализованный в цитоплазме. Катализирует первую стадию никотинмононуклеотид-пирофосфорилаза. Вторая стадия катализируется НАД-пирофосфорилазой, находящейся в ядрах клеток. В митохондриях тоже имеются свои ферменты, участвующие в синтезе НАД.

НАДФ образуется из НАД с помощью НАД-киназы цитоплазмы по схеме



Все участие ниацина в регуляции биохимических процессов осуществляется через НАД и НАДФ.

В распаде этих коферментов принимают участие НАД-гликогидролаза и НАДФ-гликогидролаза, разрывающие гликозидные связи в соответствующих коферментах с образованием никотинамида и АДФ-рибозы. Никотинамид выводится с мочой главным образом в виде N'-метилникотинамида (частично в виде продуктов окисления — никотинамид-N-оксида, 6-оксиникотинамида и т. д.). При избыточном поступлении ниацина с мочой выводится свободная никотиновая кислота.

Биохимические функции. Коферментные формы ниацина НАД и НАДФ определяют его роль в биохимических функциях тканей организма. Функции, выполняемые этими коферментами, можно разделить как бы на три группы:

1) функция переносчиков водорода в окислительно-восстановительных реакциях;

2) функция субстратная для синтетических реакций;

3) регуляторная функция в качестве аллостерического эффектора.

Первой из этих функций обычно ограничивалось описание биологического значения ниацина. Действительно, окислительные реакции, в которых НАД и НАДФ выступают в качестве промежуточных переносчиков водорода, очень разнообразны. Они являются коферментами дегидрогеназ, действующих на всех этапах окисления энергетических ресурсов в клетке: на начальных этапах окисления углеводов, жирных кислот, глицерина, аминокислот; на этапе превращения субстратов цикла Кребса и терминальных стадиях дегидрирования в дыхательной цепи и монооксигеназной цепи. Этим объясняется исключительная роль этих коферментов в биоэнергетике и окислении неполярных веществ природного и чужеродного происхождения (т. е. ферментами монооксигеназной цепи и другими растворимыми ферментами).

Кроме того, восстановленная форма НАДФ используется как донор водорода в синтетических восстановительных реакциях, например в синтезе жирных кислот, холестерина и других стероидов.

Вторая функция коферментов ниацина вытекает из участия НАД в качестве субстрата ДНК-лигазной реакции. Как известно, ДНК-лигаза является обязательной реакцией при репликации и репарации. Следовательно, дефицит НАД в быстро регенерирующих тканях может сказаться на делении клеток и исправлении дефектов участков, в которых участвует ДНК-лигаза. Кроме того, НАД является субстратом для синтеза поли-АДФ-рибозы, участвующей в поли-(АДФ)-рибозилировании белков хроматина. Этот процесс играет какую-то роль в регуляции матричных синтезов нуклеиновых кислот в клеточном ядре.

Третья, регуляторная, функция состоит в том, что НАД и НАДФ являются не только переносчиками, но и аллостерическими эффекторами ряда ферментов энергетического обмена. Так, НАД · Н регулирует активность цитратсинтазы, малатдегидрогеназы, НАД-изоцитратдегидрогеназы, малатдегидрогеназы (декарбоксилирующей), фосфопируваткарбоксилазы, пируваткарбоксилазы. НАД · Н является для этих ферментов аллостерическим ингибитором, регулирующим скорость окислительных превращений в цикле Кребса (цитратсинтаза, НАД-изоцитратдегидрогеназа и малатдегидрогеназа — ферменты цикла Кребса) и интенсивность глюконеогенеза (пируваткарбоксилаза и фосфопируваткарбоксилаза — ключевые ферменты глюконеогенеза). Избыток НАДФ · Н вызывает, например, ингибирование глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, что также можно отнести на счет регуляторной функции кофермента ниацина.

Недостаточность ниацина. Недостаточность ниацина приводит к заболеванию, называемому *пеллагрой*. Как правило, гиповитаминоз ниацина сопровождается гиповитаминозами рибофлавина и пиридоксина, поскольку для образования никотиновой кислоты из триптофана требуются коферменты рибофлавина и пиридоксина.

При пеллагре почти не изменяется скорость окислительных ферментативных реакций в тканях. Очевидно, достаточно небольших количеств коферментов, чтобы сохранить требуемую интенсивность процессов окисления энергетических субстратов. Более вероятны нарушения других функций ниацина. В частности, НАД участвует в качестве субстрата в процессах репликации и репарации. Поэтому недостаток его сказывается на нормальном делении клеток быстро пролиферирующих тканей (кожа, слизистые и др.). Возможно, отчасти с этим связаны некоторые симптомы пеллагры, хотя многие признаки ее еще ждут своего объяснения.

Пеллагра проявляется в виде дерматита на участках кожи, доступных действию солнечных лучей (фотодерматит), нарушением пищеварения, диареей, слабоумием и нарушением функции периферических нервов (невриты), атрофией и болезненностью языка (который имеет фуксиноподобный цвет). В этих симптомах просматриваются главным образом нарушения пролиферации клеток разных тканей. При тяжелых формах пеллагры наблюдаются кровоизлияния на протяжении всего желудочно-кишечного тракта.

Практическое применение. В медицинской практике используются никотиновая кислота и никотинамид, а также вещества, в которых никотиновая кислота соединена с другими химическими структурами. НАД и НАДФ, оче-

видно, нецелесообразно использовать как коферментные препараты, так как они плохо проникают через плазматические мембраны. Другие, некоферментные, функции их пока неизвестны. Никотинамид и никотиновая кислота используются при пеллагре, а также при дерматитах, вызванных другими причинами, при поражениях периферических нервов, дистрофии сердечной мышцы и т. д. Кроме того, никотиновая кислота оказывает сосудорасширяющее действие, которое используется в клинике. Это действие ее не связано с биохимическими функциями.

Пиридоксин (витамин В₆)

Источником витамина В₆ (пиридоксин, пиридоксаль и пиридоксамин) для человека служат кишечные бактерии и пища. Богаты витамином В₆ зерновые и бобовые, мясные продукты, рыба. Суточная потребность в нем взрослого человека 2—3 мг.

Метаболизм. Всасывание разных форм витамина В₆ происходит в тонком кишечнике. Пиридоксин, пиридоксамин и пиридоксаль проникают через эпителий путем простой диффузии. Фосфорилированные формы витамина В₆ с трудом проникают через биологические мембраны, хотя имеются данные, что часть из них все-таки проникает в виде коферментов, а большая часть дефосфорилируется фосфатазами кишечника. С кровью пиридоксин транспортируется к тканям, где, проникая в клетки, превращается в коферменты — *пиридоксальфосфат* и *пиридоксаминфосфат*. В виде коферментов витамин В₆ и находится в клетках.

Для синтеза коферментов пиридоксина необходимы флавиновые ферменты. Распад коферментов пиридоксина протекает путем дефосфорилирования и окисления их в тканях. Продуктом катаболизма является в основном 4-пиридоксильная кислота, которая выделяется с мочой.

Биохимические функции. В тканях организма основной коферментной формой является пиридоксаль-5-фосфат. Он входит в состав ферментов почти всех классов: оксидоредуктаз, трансфераз, гидролаз, лиаз и изомераз (см. табл. 31).

Таблица 31. Важнейшие биохимические функции пиридоксаль-5-фосфата

Фермент	Биохимическая функция
Моноаминоксидаза, диаминоксидаза (гистаминаза)	Окисление (обезвреживание) биогенных аминов
Аминотрансферазы аминокислот	Взаимопревращение и катаболизм аминокислот
Аминотрансферазы иодтирозинов и иодтиронинов	Биосинтез иодтирозинов (гормонов) в щитовидной железе и катаболизм их в периферических тканях
Аминотрансфераза γ-аминобутирата	Окисление (обезвреживание) γ-аминомасляной кислоты (медиатора торможения центральной нервной системы)
Кинурениназа и кинуренинаминотрансфераза	Синтез никотинамида из триптофана
Декарбоксилазы аминокислот	Образование биогенных аминов (тканевых и нервных медиаторов)
Синтетаза δ-аминолевулиновой кислоты (из глицина и сукцинил-КоА)	Биосинтез гема гемоглобина, миоглобина, цитохромов
Синтетаза 3-кетодигидросфингозина (из α-серина и пальмитил-КоА)	и гемосодержащих ферментов
Изомеразы аминокислот	Биосинтез сфинголипидов
Фосфорилаза гликогена	Утилизация в организме D-аминокислот
	Гликогенолиз

Слишком большая численность пиридоксальзависимых ферментов создает возможность возникновения многочисленных нарушений в обмене веществ при пищевом дефиците пиридоксина или врожденных нарушениях его обмена.

Недостаточность пиридоксина. Пиридоксиновая недостаточность описана у детей. Она сопровождается повышенной возбудимостью центральной нервной системы и периодическими судорогами, что связано, по всей вероятности, с недостаточным образованием γ -аминомасляной кислоты, являющейся тормозным медиатором нейронов мозга. У взрослых людей признаки пиридоксиновой недостаточности наблюдаются при длительном лечении противотуберкулезным препаратом изониазидом, который является антагонистом пиридоксала. При этом также возникают повышенная возбудимость нервной системы, полиневриты и поражения кожи, характерные для недостаточности ниацина.

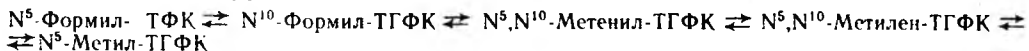
Практическое применение. В клинике применяется пиридоксин в различных лекарственных формах, а в последнее время стал использоваться его кофермент — пиридоксальфосфат. Они используются при гиповитаминозе B_6 , для профилактики и лечения побочного действия изониазида, при полиневритах, дерматитах, токсикозах беременности (усиливают обезвреживание биогенных аминов), нарушениях функции печени, пиридоксинзависимой врожденной анемии у детей и т. д.

Фолацин (витамин B_9 , B_c)

Источником фолацина является главным образом пища. Богаты им продукты растительного (салат, капуста, томаты, земляника, шпинат) и животного происхождения (печень, мясо, яичный желток). Суточная потребность в нем взрослого человека около 400 мкг. У беременных потребность в нем увеличивается в 2 раза.

Метаболизм. Всасываются пищевые производные фолацина в тонком кишечнике. В слизистой его происходит образование тетрагидрофолиевой кислоты (ТГФК) и N^5 -метил-ТГФК. В крови основная часть фолацина (87%) содержится в эритроцитах, а остальное — в плазме. Депонируется фолацин в печени, почках и слизистой кишечника. Из организма выводится с мочой, калом и потом.

Биохимические функции. Функции фолацина определяются его коферментами: N^5 -формил-ТГФК, N^{10} -формил-ТГФК, N^5, N^{10} -метенил-ТГФК, N^5, N^{10} -метилен-ТГФК и N^5 -метил-ТГФК. Все коферменты взаимопревращаются друг в друга по схеме



Одноуглеродный остаток может передаваться от одной коферментной формы к другой и использоваться в различных реакциях синтеза пуринов, пиримидинов и некоторых аминокислот (глицина из серина, метионина из гомоцистеина).

Коферменты фолацина участвуют в биосинтезе 2-го и 8-го углеродных атомов пуринового кольца, а также в образовании дТМФ из дУМФ. Поэтому фолацин играет исключительную роль в биосинтезе нуклеиновых кислот и процессах деления клеток.

Недостаточность фолатина. Недостаточное поступление фолиевой кислоты с пищей или нарушение ее всасывания приводит к развитию мегалобластической анемии. Причиной ее служит нарушение биосинтеза пуриновых оснований и дезокситимидинфосфата, что вызывает угнетение синтеза ДНК и пролиферации (деления) кроветворных клеток. При этой анемии наблюдается снижение количества эритроцитов и гемоглобина в крови; в периферической крови и костном мозге появляются крупные клетки — мегалобласты. Имеет место снижение количества лейкоцитов (лейкопения), так как для их образования в костном мозге также необходим нормальный синтез ДНК.

Практическое применение. В медицинской практике используются препараты фолиевой кислоты для лечения мегалобластической анемии, стимуляции пролиферации клеток и т. д.

Кобаламины (витамин В₁₂)

Кобаламины поступают в организм человека с пищевыми продуктами. Богаты ими печень, почки. Растительные продукты бедны кобаламинами. Частично витамин В₁₂ образуется кишечными бактериями. Суточная потребность в витамине В₁₂ взрослого человека составляет около 2 мкг.

Метаболизм. Для всасывания кобаламинов необходим внутренний фактор, или фактор Кастла, который продуцируется обкладочными клетками желудка. Он представляет собой гликопротеид с молекулярной массой около 93 000. Всасывание кобаламинов включает следующие стадии:

- 1) образование комплекса витамин В₁₂ + внутренний фактор;
- 2) связывание комплекса с эпителием слизистой подвздошной кишки с участием ионов Ca²⁺ (очевидно, имеются мембранные рецепторы для этого комплекса в слизистой подвздошной кишки);
- 3) транспорт комплекса витамин В₁₂ + внутренний фактор через слизистую путем эндоцитоза;
- 4) освобождение витамина В₁₂ в кровь воротной вены (при этом судьба внутреннего фактора неясна: он либо гидролизуется, либо возвращается в просвет кишечника).

При поступлении больших нефизиологических количеств витамина В₁₂ он может всасываться путем пассивной диффузии в тонком кишечнике без участия внутреннего фактора. Но этот процесс медленный.

Используемый в медицинской практике цианкобаламин превращается в гидроксикобаламин ОН-В₁₂, который является транспортной формой кобаламина. Гидроксикобаламин транспортируется кровью с помощью двух специфических плазменных белков: транскобаламина I (ТК-I) и транскобаламина II (ТК-II), ТК-I относится к фракции α-глобулинов. Его молекулярная масса около 120 000. ТК-II относится к β-глобулинам. Его молекулярная масса 35 000. ТК-II — основной транспортный белок, облегчающий доставку кобаламинов к тканям, а ТК-I служит для поддержания концентрации кобаламинов в крови (своеобразное циркулирующее депо витамина В₁₂).

В тканях ОН-В₁₂ превращается в коферментные формы — метилкобаламин (метил-В₁₂) и дезоксиаденозилкобаламин (ДА-В₁₂). Образование коферментов происходит главным образом в печени и почках, а затем распределяется по остальным органам. Выводится кобаламин преимущественно с мочой.

Биохимические функции. Пока известно, что коферменты витамина В₁₂ участвуют в двух ферментативных реакциях. Метил-В₁₂ является коферментом гомоцистеинметилтрансферазы, участвующей в переносе метила с N⁵-метил-ТГФК на гомоцистенн с образованием метионина. В этой реакции кобаламин действует как синергист с ТГФК.

ДА-В₁₂ является коферментом метилмалонил-КоА-мутаза, катализирующей превращение метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА. Эта реакция необходима для сгорания в цикле Кребса остатков пропионил-КоА, образующихся при β-окислении жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов, при окислении боковой цепи холестерина и углеродных радикалов ряда аминокислот (метионина, изолейцина, треонина, валина), а также при окислении тимиана.

Хотя окончательно не расшифрованы другие стороны механизма действия кобаламинов в биохимических процессах, несомненно, что кобаламины облегчают депонирование и образование коферментных форм фолиевой кислоты и тем самым посредством коферментов фолиевой кислоты участвуют в синтезе ДНК и пролиферации кроветворных клеток.

Недостаточность кобаламинов. Недостаточность кобаламинов возникает вследствие дефицита их в пище, нарушении всасывания (например, при оперативном удалении желудка или той его части, где образуется внутренний фактор). Недостаточность кобаламинов проявляется в виде мегалобластической анемии или анемии Адиссон — Бирмера. Нарушение кроветворения выражается теми же признаками, что и при недостатке фолиевой кислоты. Отмечаются поражения задних и боковых столбов спинного мозга (фуникулярный миелоз), повышенное выделение с мочой метилмалоновой кислоты, которая не усваивается.

Обнаружены врожденные дефекты обмена кобаламинов, связанные с недостаточным образованием внутреннего фактора, транскобаламинов, дефектом метилмалонил-КоА-мутаза.

Практическое применение. В медицинской практике используют цианкобаламин, а в последнее время дезоксиаденозилкобаламин. Эти препараты применяются при лечении мегалобластической анемии, поражениях спинного мозга и периферических нервов, врожденных нарушениях обмена витамина В₁₂ и других состояниях. Применение кобаламинов целесообразно в сочетании с фолиевой кислотой и железом, поскольку они необходимы при синтезе гемоглобина в кроветворных клетках.

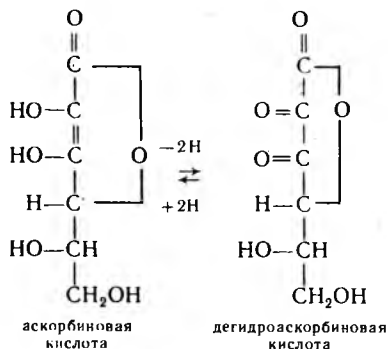
Аскорбиновая кислота (витамин С)

Свежие фрукты и овощи являются основным источником аскорбиновой кислоты для человека. Особенно богаты ею плоды шиповника. Суточная потребность в ней взрослого человека составляет 50—100 мг.

Метаболизм. Всасывание аскорбиновой кислоты происходит с помощью простой диффузии на всем протяжении желудочно-кишечного тракта, особенно в тонком кишечнике. В крови она частично связана с белками, частично находится в свободном виде. Поступая в ткани, аскорбиновая кислота задерживается в них, связываясь с белками. Свободная аскорбиновая кислота вступает в окислительно-восстановительные реакции. Больше всего содержится аскорбиновой кислоты (в расчете на единицу массы ткани) в надпочеч-

никах, печени, легких. Продуктами окислительного распада аскорбиновой кислоты являются дегидроаскорбиновая, дикетогулоновая, щавелевая и некоторые другие. Свободная аскорбиновая кислота и продукты ее распада выводятся с мочой.

Биохимические функции. Аскорбиновая кислота является донором водорода в окислительно-восстановительных ферментативных реакциях. Она образует редокс-пару с *дегидроаскорбиновой кислотой*:



Восстановление дегидроаскорбиновой кислоты в аскорбиновую в тканях осуществляется дегидроаскорбинредуктазой с участием восстановительного глутатиона.

Аскорбиновая кислота участвует в следующих процессах биологического окисления:

- 1) гидроксирование триптофана в 5-гидрокситриптофан (при биосинтезе серотонина);
- 2) превращение 3,4-дигидроксифенилэтиламина в норадреналин;
- 3) гидроксирование *n*-гидроксифенилпирувата в гомогентизиновую кислоту;
- 4) гидроксирование стероидов при биосинтезе гормонов коры надпочечников из холестерина;
- 5) гидроксирование β -бутиробетаина при биосинтезе карнитина;
- 6) восстановление ионов Fe^{3+} до Fe^{2+} в кишечнике, необходимое для всасывания железа в двухвалентном состоянии;
- 7) освобождение железа из связи его с транспортным белком — трансферрином, что облегчает поступление железа в ткани;
- 8) превращение фолиевой кислоты в коферментные формы;
- 9) гидроксирование остатков пролина и лизина при синтезе коллагена.

Следовательно, аскорбиновая кислота участвует в процессах превращения ароматических аминокислот с образованием некоторых нейромедиаторов, в синтезе кортикостероидов, в процессах кроветворения и в образовании коллагена, являющегося главным внеклеточным компонентом соединительной ткани.

Недостаточность аскорбиновой кислоты. Недостаточность аскорбиновой кислоты приводит к заболеванию, называемого *цингой*. При тяжелых формах этого заболевания наблюдаются выраженные признаки нарушения биохимических функций аскорбиновой кислоты. Они проявляются в нарушении об-

разования коллагена и хондроитинсульфата соединительной ткани, постепенного разрушения ее вследствие деполимеризации и гидролиза волокнистых структур этой ткани. В результате повышается проницаемость и ломкость капилляров и возникают подкожные кровоизлияния. При недостатке витамина С снижается возможность использования запасов железа для синтеза гемоглобина в клетках костного мозга и участия фолиевой кислоты в пролиферации кроветворных клеток. Все это приводит к развитию анемии.

На основе возникших биохимических нарушений развиваются внешние проявления цинги: расшатывание и выпадение зубов, кровоточивость десен, отеки и боли в суставах, бледность (анемичность) кожных покровов, кровоизлияния, поражения костей, нарушение заживления ран.

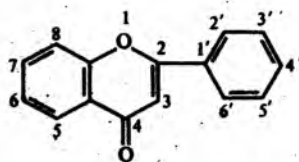
Практическое применение. В медицинской практике аскорбиновую кислоту применяют для лечения гиповитаминозов, стимуляции кроветворения вместе с фолиевой кислотой, витамином В₁₂ и железом, для укрепления капилляров при повышенной их кровоточивости при различных заболеваниях, стимуляции регенеративных процессов, поражениях соединительной ткани, при острых заболеваниях дыхательных путей и т. д.

5. Витаминоподобные водорастворимые вещества

Биофлавоноиды (витамин Р)

Р-Витаминными веществами богаты свежие фрукты и ягоды, особенно черноплодная рябина, черная смородина, яблоки, виноград, лимоны, а также листья чая и плоды шиповника. При употреблении их в пищу обеспечивается потребность человека в биофлавоноидах, которая в сутки составляет для взрослого организма 25—50 мг.

Химическая природа биофлавоноидов. Действующим началом биофлавоноидов (Р-витаминных веществ) являются флавоноиды, представляющие собой растительные полифенольные соединения.



Биофлавоноиды — очень разнообразная группа соединений. В растениях обнаружено до 2000 флавоноидных веществ и родственных им соединений. Р-Витаминными свойствами обладают антоксантины, антоцианы и катехины.

Метаболизм и биохимические функции. Большинство флавоноидов малотоксичны. В организме человека они превращаются в фенольные кислоты.

Выделяются преимущественно с мочой в неизменном виде или в виде фенольных кислот и их конъюгатов с глюкуроновой и серной кислотами. В тканях, возможно, ароматическое кольцо биофлавоноидов используется на построение биологических соединений, например убихинона, или они играют самостоятельную роль в обмене веществ.

Многие стороны действия биофлавоноидов на метаболизм еще неясны. Наиболее ярко проявляется способность флавоноидов снижать проницаемость и ломкость капилляров (капилляроукрепляющее действие). Р-Витаминные вещества взаимодействуют с аскорбиновой кислотой в регуляции образования коллагена соединительной ткани, препятствуют деполимеризации гиалуроновой

кислоты гиалуронидазой. Тем самым флавоноиды снижают проницаемость капилляров. Р-Витаминные вещества активируют тканевое дыхание.

Недостаток биофлавоноидов. Недостаток в организме биофлавоноидов проявляется симптомами повышенной ломкости и проницаемости капилляров, точечными кровоизлияниями и кровоточивостью десен.

Практическое применение. В медицинской практике применяются комплексные Р-витаминные препараты — сумма катехинов чайного листа, сумма флавоноидов из рябины черноплодной, а также индивидуальные флавоноиды — рутин, кверцетин, гесперидин и их производные. Используются и комбинированные препараты с витамином С — аскорутин, галаскорбин и катехины чая с аскорбиновой кислотой.

Назначают их при заболеваниях, сопровождающихся повреждением и повышенной проницаемостью стенок капилляров (капилляротоксикоз, аллергические васкулиты, отравления ядами, лучевая болезнь), также при пониженной свертываемости крови.

Биотин (витамин Н)

Потребность человеческого организма в биотине покрывается в основном за счет биосинтеза его кишечными бактериями. Некоторая часть поступает с пищей. Богаты биотином горох, соя, цветная капуста, грибы, яичный желток, печень и т. д. Суточная потребность взрослого человека в биотине составляет около 150—200 мкг.

Метаболизм и биохимические функции. Поступающий с пищей биотин освобождается с помощью протеиназ кишечника от связи с белками и в свободном виде всасывается в тонком кишечнике. В крови он связывается с альбумином и поступает в ткани. Задерживается биотин главным образом в печени и почках. Выводится в неизменном виде с мочой и калом.

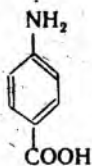
В тканях свободный биотин ковалентно связывается с ε-NH₂-группой лизина, находящегося в активном центре «биотиновых» ферментов. Коферментной формой его считается *N⁵-карбоксибиотин*. Кофермент биотина способствует усвоению тканями организма углекислоты (точнее, ионов гидрокарбоната). Он участвует в реакциях карбоксилирования, входя в состав пируваткарбоксилазы, ацетил-КоА-карбоксилазы, пропионил-КоА-карбоксилазы, а также в других многочисленных реакциях. Тем самым биотин обеспечивает течение глюконеогенеза, синтез жирных кислот, окисление остатков пропионовой кислоты в цикле Кребса.

Биотин образует специфический комплекс с авидином, относящимся к гликопротеидам. Авидина много содержится в белке куриных яиц. Поэтому при употреблении сырых яиц происходит связывание пищевого биотина и всасывание его полностью прекращается (авидин используется в экспериментах для получения биотиновой недостаточности).

Недостаточность биотина у человека не выявлена. В медицинской практике пока не используются препараты биотина, хотя делаются попытки к его применению при дерматозах.

пара-Аминобензойная кислота (ПАБК)

ПАБК содержится практически во всех продуктах питания. Наиболее богаты ею печень, молоко, яйца, дрожжи.



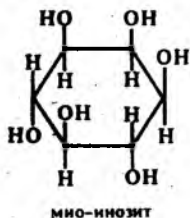
пара-аминобензойная кислота

Метаболизм и функции. ПАБК не является витамином для человека. Она служит витамином для микроорганизмов (возможно, за исключением бактерий туберкулеза, которые сами ее синтезируют) и стимулирует рост микроорганизмов. Коферменты ПАБК неизвестны. Она входит в структуру фолацина, и этим определяется ее значение для жизнедеятельности микроорганизмов. Доказано также, что ПАБК является фактором роста для птиц и необходима для образования пигмента меланина у грызунов. У человека, возможно, она используется кишечными бактериями для образования фолацина, который и поступает в организм.

В практике ПАБК используется в качестве косметического средства в мазях для профилактики солнечных ожогов кожи. Возможно, ее необходимо применять для восстановления нормальной микрофлоры кишечника.

Инозит (витамин B₆)

Инозит широко распространен в пище животного и растительного происхождения. Наиболее богаты им печень, мясные продукты, мозг, яичный желток, а также хлеб, картофель, зеленый горох, грибы. Точная потребность в инозите человека неизвестна. Полагают, что она составляет около 1,0—1,5 г в сутки. По химическому строению инозит — шестнатомный циклический спирт.



мио-инозит

Метаболизм и функции. Биологической активностью обладает только одна из оптических форм — миоинозит. Инозит входит в состав инозитфосфатидов, содержащихся во всех тканях. Особенно много их в нервной ткани. Участием в построении инозитфосфатидов определяются, по-видимому, биологические функции инозита. Инозит играет роль липотропного фактора (см. «Обмен липидов»). При недостатке его в пище у животных накапливаются триацилглицерины и падает содержание фосфолипидов в печени. Развивается жировая дистрофия печени.

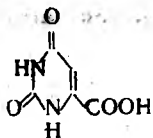
Добавление к пище инозита препятствует этим изменениям. Однако липотропное действие инозита слабее, чем холина. Лишение инозита вызывает задержку роста молодняка, облысение и анемию у мышей и крыс; у голубей — нарушение нервной системы. У человека инозит-авитаминоз не описан.

В практике инозит используется как липотропный препарат, а также для лечения мышечной дистрофии, в косметике его применяют в составе питательных жидкостей для волос.

Оротовая кислота (витамин B₁₃)

Оротовая кислота широко распространена в животных продуктах.

Метаболизм и функции. Оротовая кислота является предшественником при биосинтезе пиримидиновых оснований (урацила, тимина и цитозина) и нуклеотидов. Биологически активная форма оротата — оротидин-5-фосфат, который включается в синтез нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Благо-



оротовая кислота

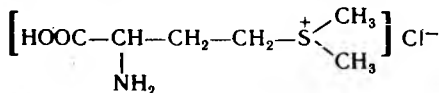
даря этому оротовая кислота стимулирует синтез белка, деление клеток, рост и развитие животных и растений.

Недостаточности оротовой кислоты у человека не бывает, но повышенная потребность в ней растущего организма или отдельных тканей в период регенерации, видимо, существует.

В медицинской практике оротовую кислоту применяют как стимулятор роста недоношенных детей, для усиления процессов кроветворения при некоторых анемиях, для повышения регенеративных процессов в пораженных органах (например, в лечении инфаркта миокарда, дистрофии мышц) и др.

S-Метилметионин (витамин U)

S-Метилметионин содержится в сырых овощах, особенно много его в капусте. Активное начало капустного сока обладает способностью задерживать развитие экспериментальной язвы желудка, поэтому его называли *антиязвенным фактором* или *витамином U* (от лат. *ulcus* — язва). Позднее это вещество было выделено в кристаллическом виде. По химическому строению оно является метилированным производным метионина.



витамин U (метилметионинсульфоний хлорид)

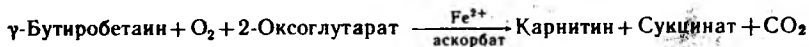
Витамин U, как и метионин, является активным донором метильных групп и тем самым способствует синтезу в тканях организма холина и холинфосфатидов, креатина и других веществ, содержащих метильные группы.

Хотя многие стороны действия на обмен веществ витамина U неясны, но он с успехом применяется для лечения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, гастритов. Возможно липотропное действие этого витамина.

Карнитин (витамин B₁₂)

Карнитин — широко распространенное вещество, особенно много его в мясных продуктах. Карнитин является истинным витамином для мучного червя, но не для млекопитающих, в тканях которых он синтезируется из γ -бутиробетаина. Примерная суточная потребность карнитина для человека составляет 500 мг.

Метаболизм и функции. Биосинтез карнитина происходит в основном в печени. Сначала метилируется лизин белка с образованием ϵ -N-триметилизина. Затем укорачивается углеродная цепь лизина за счет потери первого и второго атомов углерода и образуется γ -бутиробетаин. В клеточном соке печени с участием γ -бутиробетаин-гидроксилазы происходит гидроксирование γ -бутиробетаина с образованием карнитина по схеме



Для протекания реакции необходимы кислород, 2-оксоглутарат, Fe^{2+} и аскорбиновая кислота.

Биологически активным является L-карнитин. Карнитин участвует в переносе длинноцепочечных ацилов жирных кислот и ацетильных групп через

липидную фазу мембран митохондрий, а возможно, и других органоидов. Поэтому он оказывает выраженное влияние на процессы окисления жирных кислот и образование из них энергии, а также на использование ацетильных остатков, образующихся в митохондриях, в биохимических реакциях цитоплазмы. Вероятно, имеются и другие стороны действия карнитина. Имеются данные, что карнитин стимулирует внешнесекреторную функцию поджелудочной железы, оказывает положительный эффект на сперматогенез и подвижность сперматозоидов. Введение карнитина животным повышает образование энергии в дыхательной цепи митохондрий различных органов, стимулирует регенеративные процессы в пораженном миокарде и сперматогенном эпителии канальцев семенников и т. д. (Е. А. Строев, В. Г. Макарова, О. И. Базилевич).

Описаны случаи карнитиновой недостаточности, которые проявляются в виде поражения скелетных мышц. У таких людей наблюдается выраженное снижение содержания карнитина в мышцах, сопровождающееся мышечной слабостью, дистрофией и истончением мышечных волокон. Назначение больших количеств карнитина облегчает течение этого заболевания. Дефицит лизина в пище ухудшает обеспеченность организма карнитином.

В медицинской практике карнитин только начинает применяться, поскольку неясны многие стороны его действия. Он используется для стимуляции мышечной деятельности, внешней секреции поджелудочной железы, при дистрофических процессах в миокарде.

Липоевая кислота (витамин N)

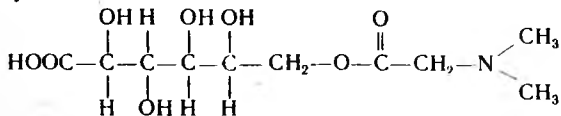
Липоевая кислота поступает с пищей. Наиболее богаты ею дрожжи, мясные продукты, молоко. Потребность в ней человека пока не установлена.

Липоевая кислота, поступая в ткани, связывается ковалентно с NH_2 -группой лизина активного центра апоферментов «липовых» ферментов. К ним относятся полиферментные комплексы окислительного декарбоксилирования пирувата, 2-оксоглутарата и других α -кетокислот. Недостаточность липоевой кислоты у человека не описана.

В медицинской практике используются препараты липоевой кислоты и ее амида при поражениях печени, сахарном диабете, интоксикации тяжелыми металлами и т. д. Считается, что при этом улучшаются окисление метаболитов углеводного обмена и энергетика клеток.

Пангамовая кислота (витамин B_{15})

Пангамовая кислота содержится во многих продуктах питания, но потребность в ней человека неизвестна. Химическое строение пангамовой кислоты окончательно не доказано. Считают, что она является N-диметилглициновым эфиром глюконовой кислоты, хотя это соединение нестойкое и легко гидролизуется:



пангамовая кислота

Пангамовая кислота подобно метионину служит источником подвижных метильных групп. Она участвует в биосинтезе метилированных соединений: холина и холинфосфатидов, креатина и др.

В медицинской практике используются препараты пангамовой кислоты как липотропного средства при жировой инфильтрации печени, атеросклерозе и некоторых других заболеваниях, хотя биохимические основы показаний для применения препарата не всегда ясны.

Холин (витамин В₄)

Холин поступает в организм человека с пищей. Богаты им мясо и продукты, получаемые из злаков. Частично холин образуется кишечной микрофлорой. Потребность в нем взрослого человека составляет 250—600 мг в сутки.

Метаболизм и биохимические функции. Всасывание холина происходит в тонком кишечнике путем простой диффузии и, возможно, с помощью активного транспорта при низких концентрациях в кишечнике. В стенке кишечника он фосфорилируется до фосфохолина и участвует в образовании холинофосфатидов. В составе липопротеидов холин с кровью разносится по тканям. Частично в ткани поступает фосфохолин и небольшие количества свободного холина, где они включаются в обмен веществ.

В клетках холин участвует в синтезе фосфатидов, ацетилхолина и является донором метильных групп при реакциях трансметилирования. У человека недостаточность холина не описана. У экспериментальных животных холиновая недостаточность проявляется в виде жировой инфильтрации печени и других нарушений синтеза липидов.

В медицинской практике используется препарат холина для лечения поражений печени, вызванных различными заболеваниями и интоксикациями.

6. Взаимодействие витаминов

Каждый из витаминов и образующихся из них коферментов контролирует определенную группу биохимических процессов как переносчик активных групп или как регулятор количества определенного фермента в клетках. Между тем возможны взаимодействия разных витаминов в метаболизме, которые отражаются на конечном эффекте каждого из них. Это взаимодействие может выражаться:

- 1) во влиянии одного витамина на катаболизм другого;
- 2) во влиянии одного витамина на регуляцию образования коферментной формы другого, а следовательно, на проявление биохимической функции последнего;
- 3) в совместном участии на одной или нескольких стадиях единого биохимического процесса.

В качестве первого типа взаимодействия можно привести, например, взаимодействие между токоферолом и витамином А или эссенциальными жирными кислотами. Токоферол как антиоксидант препятствует пероксидному окислению витамина А и ненасыщенных жирных кислот, чем повышает их биологическую активность и позволяет снизить вводимую лечебную дозу последних. Напротив, полиненасыщенные кислоты повышают потребность в токофероле и могут вызвать признаки недостаточности токоферола.

Введение рибофлавина усиливает катаболизм ниациновых и пиридоксальных коферментов и увеличивает их недостаточность в организме.

Второй тип взаимодействий проявляется довольно часто. Например, коферменты рибофлавина входят в состав ферментов, катализирующих образование из пиридоксина пиридоксальфосфата. Тем самым они благоприятствуют проявлению биохимических функций пиридоксина. Кобаламины и аскорбиновая кислота способствуют образованию коферментной формы фолиевой кислоты и проявлению ее многообразных биохимических функций.

Взаимодействия третьего типа особенно многочисленны. Например, отмечается совместное участие нескольких витаминов (витамина А, рибофлавина, пиридоксина и ниацина) в образовании и регенерации родопсина, т. е. в биохимическом акте зрения. В этом процессе они проявляют в целом синергетический эффект.

Аналогичный синергизм отмечается в действии фолиевой кислоты, кобаламинов, аскорбиновой кислоты и, вероятно, пиридоксина в биохимическом процессе, ведущем к пролиферации клеток крови. Классическим примером положительного взаимодействия является участие аскорбиновой кислоты и Р-витаминных веществ в образовании соединительной ткани и в регуляции проницаемости капилляров.

Взаимодействие витаминов является основой для их рационального применения и создания эффективных поливитаминных лекарств. В настоящее время созданы поливитаминные препараты, содержащие от двух до десяти витаминов.

7. Антивитамины

Антивитаминами называют аналоги витаминов, действующие как антикоферменты. Антивитамины замещают коферменты, производные витаминов, но не способны выполнять их функции в ферментативных реакциях.

Предлагалось называть антивитаминами в широком смысле любые вещества, инактивирующее или ограничивающее действие витаминов в организме. Однако при взаимодействии некоторые витамины могут вызывать дефицит других. Если встать на позиции широкого определения термина «антивитамины», то многие витамины также можно назвать антивитаминами, что неизбежно приведет к путанице понятий.

Специфическое антикоферментное действие антивитаминов позволило широко использовать их в практике для создания экспериментальных авитаминозов у животных и для лечения бактериальных инфекций и опухолевых заболеваний (табл. 32).

ГЛАВА 27. НЕЙРОЭНДОКРИННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ. БИОХИМИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ

1. Введение в эндокринологию

В эндокринную систему входят специальные железы, клетки которых выделяют во внутренние среды организма, т. е. в кровь или лимфу, химические регуляторы, получившие название *гормонов*. Понятие «гормон» (от греч.

Т а б л и ц а 32. Антивитамины

Витамины	Антивитамины	Механизм действия антивитаминов	Практическое применение антивитаминов
Нафтохиноны (витамины К)	Кумарины (дикумарол, тромексан и др.)	Антивитамины замещают нафтохиноны в биохимических процессах и блокируют образование протромбина, проконвертина и других факторов свертывания крови в печени, оказывая противосвертывающее действие на кровь	Применяются для профилактики и лечения тромбозов при различных заболеваниях
Ниацин (В ₃ , РР)	Изониазид (гидразид изоникотиновой кислоты) и его производные	Антивитамины включаются вместо никотинамида в структуру НАД и НАДФ с образованием ложных коферментов, не способных участвовать в окислительно-восстановительных и других реакциях (репликации и репарации). Это действие проявляется в тех клетках, куда способен проникать антивитамины, например, в туберкулезную палочку	Применяется для лечения туберкулеза, так как оказывает туберкулостатический эффект
Фолацин (фолиевая кислота)	Птеридины (аминоптерин, аметоптерин или метотрексат)	Антивитамины вытесняют фолиевую кислоту из фолатзависимых ферментативных реакций, блокируя этим синтез нуклеотидов и нуклеиновых кислот, что проявляется в торможении деления клеток. Наиболее выраженное действие наблюдается на делящихся клетках	Применяются для лечения лейкозов (тормозят интенсивное образование при этих заболеваниях лейкоцитов в костном мозге) и опухолевых заболеваний (тормозят деление опухолевых клеток)
пара-Аминобензойная кислота (ПАБК)	Сульфаниламиды и их производные (норсульфазол, стрептоцид, фталазол, сульфапиридазин и др.)	Антивитамины включаются вместо ПАБК в структуру фолиевой кислоты, синтезирующейся в микроорганизмах, и блокируют функции коферментов фолиевой кислоты, т. е. в конечном счете размножение чувствительных к сульфаниламидам микроорганизмов	Применяются для лечения инфекционных заболеваний
Тиамин (В ₁)	Гидрокситиамин, пиритиамин	Антивитамины замещают коферменты тиамина в ферментативных реакциях и, возможно, в нейромедиаторных процессах	Применяются в экспериментах для создания тиаминовой недостаточности
Рибофлавин (В ₂)	Дихлоррибофлавин	Антивитамины замещают коферменты рибофлавина в ферментативных реакциях, что приводит к развитию рибофлавиновой недостаточности	Применяется в экспериментах для создания гипо- или арибофлавинозов
Пиридоксин (В ₆)	Дезоксипиридоксин	Антивитамины замещают пиридоксальные коферменты в ферментативных реакциях и вызывает состояние пиридоксиновой недостаточности	Применяется в экспериментах для создания пиридоксиновой недостаточности
Пантотеновая кислота (В ₅)	Гомопантотеновая кислота, ω-метилпантотеновая кислота	Антивитамины замещают пантотеновые коферменты в ферментативных реакциях и вызывают состояние дефицита пантотеновой кислоты в организме	Применяются в экспериментах для создания пантотеновой недостаточности

поглаино — побуждаю, привожу в движение) было предложено Бейлиссом и Старлингом (1905). В настоящее время гормонами называют вещества, образующиеся в железистых клетках, выделяющиеся в кровь или лимфу и регулирующие обмен веществ и развитие организма.

Гормонам присущи следующие общие биологические признаки:

1) *дистантность действия*, т. е. они регулируют обмен и функции эффекторных клеток на расстоянии;

2) *строгая специфичность биологического действия*, т. е. один гормон нельзя целиком заменить другим;

3) *высокая биологическая активность* — достаточно очень малых количеств, порой десятка микрограмм, чтобы сохранить жизнь организма.

Железы, выделяющие гормоны, иногда делят на *центральные*, анатомически связанные с отделами центральной нервной системы, и *периферические* (табл. 33).

Кроме перечисленных желез эндокринной функцией обладают и другие клетки, которые выделяют биологически активные вещества, похожие по своим свойствам на гормоны. Поэтому их принято называть *гормоноподобными веществами* или *гормоноидами* (местные гормоны, парагормоны). Они, как правило, действуют в месте своего образования и выделяются клетками,

Т а б л и ц а 33. Гормоны эндокринных желез

Железы с эндокринной функцией	Гормоны	Функции гормонов
-------------------------------	---------	------------------

Гормоны центральных желез

Гипоталамус (нейро-эндокринные клетки)	1. Нейропептиды: а) либерины б) статины 2. Вазопрессин и окситоцин	Регулируют секрецию тропных гормонов гипофиза Регулируют обмен веществ и функции периферических тканей и органов
Гипофиз	1. Гонадотропины а) фоллитропин б) лютропин в) пролактин (лакто-тропин) 2. Соматотропин 3. Кортикотропин 4. Тиреотропин 5. α - и β -Липотропины 6. Меланотропин 7. Вазопрессин и окситоцин, поступающие из гипоталамуса	Регулируют образование и секрецию гормонов в периферических эндокринных железах и частично действуют непосредственно на обмен веществ периферических тканей и органов
Эпифиз	1. Мелатонин 2. Адреногломерулотропин	Регулирует образование гонадотропинов в гипофизе Возможно, регулирует секрецию альдостерона корой надпочечников

Железы с эндокринной функцией	Гормоны	Функции гормонов
Гормоны периферических желез		
Щитовидная железа	1. Иодтиронины: а) тироксин б) трийодтиронин 2. Кальцитонин	Все гормоны периферических желез действуют на обмен веществ и функции периферических тканей и органов
Паращитовидная железа	1. Паратирин 2. Кальцитонин	
Поджелудочная железа (клетки островков)	1. Инсулин 2. Глюкагон	
Надпочечники	1. Кортикостероиды: а) кортикостерон б) кортизол в) альдостерон г) эстрогены д) андрогены 2. Адреналин	
Половые железы: а) семенники б) яичники	1. Андрогены а) тестостерон б) 5- α -дигидротестостерон 1. Эстрогены а) эстрадиол б) эстрон в) эстриол 2. Гестагены (прогестерон) 3. Релаксин	
Плацента (временная эндокринная железа во время беременности)	1. Эстрогены 2. Гестагены 3. Тестостерон 4. Хорионический гонадотропин 5. Плацентарный лактоген 6. Тиреотропин 7. Релаксин	
Тимус	1. Тимозин	

рассеянными в разных органах. Выделяются гормоноиды клетками желудочно-кишечного тракта (они регулируют процессы пищеварения), энтерохромафинными клетками кишечника (выделяют серотонин, регулирующий функцию кишечника), тучными клетками соединительной ткани (гепарин, гистамин),

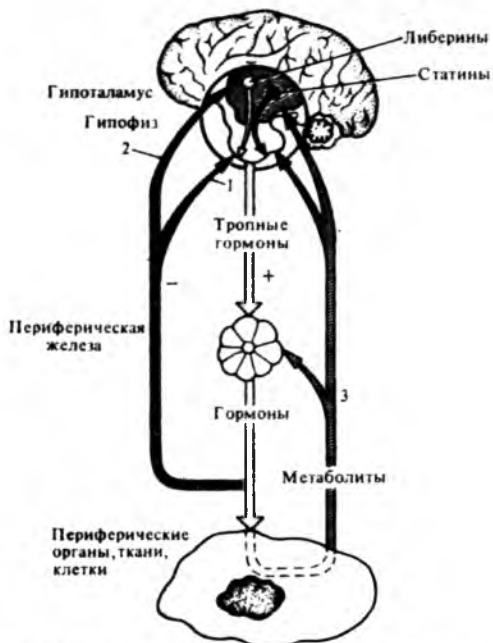


Рис. 74. Схема взаимоотношений в эндокринной системе

клетками почек, семенных пузырьков и других органов (простагландины) и т. д. Возможно, эти эндокринные клетки являются своеобразным представителем эндокринной системы на периферии. Это подтверждается обнаружением некоторых истинных гормонов в периферических органах, например соматостатина в поджелудочной железе, в печени и т. д.

По химическому строению гормоны подразделяются на:

- 1) белково-пептидные (гормоны гипоталамуса, гипофиза, поджелудочной и парашитовидной желез, кальцитонин щитовидной железы);
- 2) производные аминокислот (адреналин — производное аминокислот фенилаланина и тирозина; нодтиронины — производные тирозина; мелатонин — производное триптофана);
- 3) стероиды (половые гормоны — андрогены, эстрогены и гестагены; кортикостероиды).

2. Схема нейроэндокринных взаимосвязей

Поток информации о состоянии внешней и внутренней среды организма поступает в нервную систему, где перерабатывается, а в ответ посылаются регуляторные сигналы к периферическим тканям и органам. Причем нервная регуляция обмена веществ и функций исполнительных органов осуществляется не только благодаря поступлению нервных импульсов по центроостремительным нервам, но и опосредованно, через эндокринную систему. Объединяются оба потока информации — нервной и гормональной — на уровне гипоталамуса. Нервные импульсы, поступающие от различных отделов головного мозга, влияют на секрецию клетками гипоталамуса нейропептидов, которые регулируют выделение тропных гормонов гипофиза, а последние влияют на секрецию гормонов в периферических железах.

Образование и секреция гормонов периферическими железами происходят непрерывно. Это необходимо для поддержания необходимого уровня их в крови, поскольку они быстро инактивируются и выводятся из организма. Требуемый уровень гормона в крови поддерживается благодаря механизму саморегуляции. В основе его лежат межгормональные взаимоотношения, которые носят название «плюс — минус» взаимодействий или *взаимопротивоположных отношений*.

Схема этих взаимоотношений показана на рис. 74. Тропные гормоны стимулируют образование и секрецию гормонов периферическими железами

(знак «плюс»), а последние по механизму отрицательной обратной связи угнетают (знак «минус») образование тропных гормонов, действуя через клетки гипофиза (короткая обратная связь, рис. 74, 1) или нейросекреторные клетки гипоталамуса (длинная обратная связь, рис. 74, 2). В последнем случае угнетается секреция либеринов в гипоталамусе. Кроме того, существует метаболитно-гормональная обратная связь (рис. 74, 3): гормон, действуя на обмен веществ в тканях, вызывает изменение содержания какого-либо метаболита в крови, а тот, по механизму обратной связи, влияет на секрецию гормонов в периферических железах (или непосредственно, или через гипофиз и гипоталамус). На роль метаболитов — индикаторов действия гормонов на клетку могут претендовать глюкоза (индикатор состояния углеводного обмена), аминокислоты (индикатор состояния белкового обмена), нуклеотиды и нуклеозиды (индикатор состояния нуклеинового и, видимо, белкового обмена), жирные кислоты и холестерин (индикатор состояния липидного обмена), Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Cl^- (возможно, и другие ионы) и вода (индикатор состояния водно-солевого баланса). Для некоторых из упомянутых метаболитов (глюкоза, некоторые аминокислоты, Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Cl^- , H_2O) уже доказано, что они могут по механизму обратной связи регулировать секрецию гормонов.

3. Общие представления о действии гормонов

Гормоны, секретируемые железами, обычно связываются в крови со специфическими транспортными белками плазмы (или в некоторых случаях адсорбируются на клетках крови) и доставляются к периферическим тканям, где оказывают влияние на их обмен веществ и функцию. Не все ткани одинаково реагируют на действие гормона. Ткани (клетки, органы) с высокой чувствительностью к гормонам, т. е. ткани, в которых гормоны вызывают наиболее выраженные сдвиги в обмене и функции, называют «мишенями» для данного гормона, а остальные относят к тканям-«немишеням», хотя это разделение условно. Влияние гормонов простирается буквально на все стороны обмена веществ. Однако, чтобы понять механизм действия любого гормона, как, впрочем, и любого внеклеточного регулятора, необходимо рассмотреть общие принципы гормональной регуляции обмена веществ.

Различают следующие возможные варианты действия внеклеточных регуляторов, в том числе и гормонов:

- 1) мембранный, или локальный;
- 2) мембранно-внутриклеточный, или косвенный;
- 3) цитозольный, или прямой.

Мембранный тип действия гормонов

Мембранный тип действия заключается в том, что гормон в месте связывания с клеточной мембраной изменяет проницаемость для глюкозы, аминокислот, некоторых ионов. В этом случае гормон выступает как аллостерический эффектор транспортных систем мембран. Поступление глюкозы и аминокислот оказывает, в свою очередь, влияние на биохимические процессы в клетке, а изменение распределения ионов по обе стороны мембраны влияет на электрический потенциал и функцию клеток. Мембранный тип

действия гормонов редко встречается в изолированном виде. В качестве примера можно назвать инсулин, который обладает как мембранным (вызывает местные изменения транспорта некоторых ионов, глюкозы, возможно, аминокислот), так и мембранно-внутриклеточным типом действия.

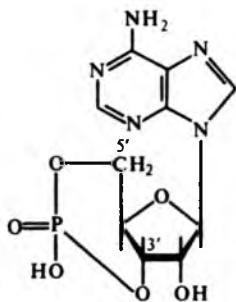
Мембранно-внутриклеточный механизм регуляции обмена веществ

Мембранно-внутриклеточный тип действия характерен для гормонов (и других внеклеточных регуляторов), которые не проникают в клетку и поэтому влияют на обмен веществ через внутриклеточный химический посредник (вторичный посредник), который и является своеобразным полномочным представителем гормона внутри клетки.

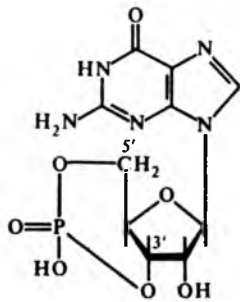
Оказалось, что открытый в 1957 г. Сазерлендом 3', 5'-АМФ, или цАМФ, является внутриклеточным посредником гормонов и других внеклеточных регуляторов. В настоящее время на роль внутриклеточных посредников претендуют три группы веществ: циклические нуклеотиды — цАМФ и цГМФ, ионы Ca^{2+} и 2', 5'-олиго(A)_n-адениловый олигонуклеотид. Гормоны (или другие внеклеточные регуляторы) регулируют образование вторичных посредников в клетке, а те, в свою очередь, влияют на активность и количество разных ферментов и тем самым изменяют биохимические функции клетки.

Для гормона (или любого другого внеклеточного регулятора) мембранные рецепторы — своего рода «кнопки» на пульте управления клеточным метаболизмом. Через них внеклеточный регулятор влияет на функцию сигнальных систем (обычно это ферменты), запускающих образование или поступление внутриклеточных посредников.

Регуляция обмена через циклические нуклеотиды. Внеклеточные регуляторы действуют на образование циклических нуклеотидов через одну из двух сигнальных систем: аденилатциклазу или гуанилатциклазу. Первая контролирует образование цАМФ, вторая — цГМФ:



циклический 3',5'-АМФ



циклический 3',5'-ГМФ

Аденилатциклаза встроена в мембрану и состоит из трех взаимосвязанных частей (рис. 75):

- 1) узнающей (R), представленной набором мембранных рецепторов и находящейся снаружи;
- 2) сопрягающей (N), представленной особым белком (называется N-белком), который занимает промежуточное положение в липидном слое мембраны

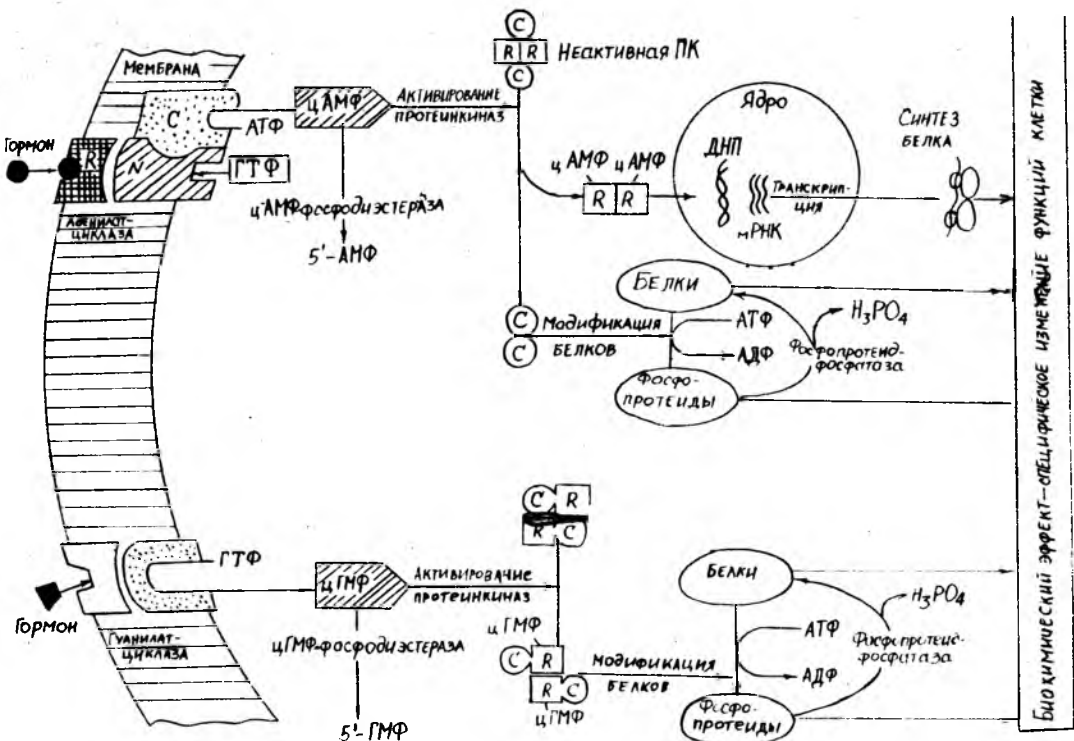


Рис. 75. Схема мембранно-внутриклеточного механизма действия гормонов на обмен веществ клеток (посредством циклических нуклеотидов)

между рецептором и катаболической частью. N-Белок имеет участок связывания и расщепления ГТФ;

3) каталитической (С), являющейся ферментным белком, т. е. собственно аденилатциклазой (активный центр ее обращен внутрь клетки, благодаря чему находящийся здесь АТФ может превращаться в цАМФ по схеме: $ATP \rightarrow 3', 5'-AMP + H_4P_2O_7$).

Как же работает аденилатциклазная система? Как только гормон связывается с рецептором, то комплекс гормон — рецептор взаимодействует с N-белком. В результате изменяется конфигурация N-белка и происходит связывание ГТФ с этим белком, а правильнее сказать, замещение ГДФ, находящегося в неактивном N-белке, на ГТФ. Комплекс N-белок — ГТФ является аллостерическим активатором собственно аденилатциклазы (каталитической части). Активация аденилатциклазы приводит к наработке цАМФ внутри клетки из АТФ.

В активном состоянии аденилатциклаза поддерживается до тех пор, пока существует комплекс гормон — рецептор, который обеспечивает образование комплекса N-белок — ГТФ, активирующего аденилатциклазу. При

диссоциации комплекса гормон — рецептор прекращается его действие на N-белок, ГТФ расщепляется до ГДФ и P_n , а остающийся комплекс N-белок — ГДФ не способен активировать аденилатциклазу. В результате прекращается выработка цАМФ.

Благодаря такому устройству аденилатциклазной системы происходит многократное усиление гормонального сигнала. Даже единственная молекула связавшегося с рецептором гормона заставляет работать аденилатциклазу (пусть в течение короткого времени), которая, как всякий фермент, обеспечивает быструю выработку цАМФ. Происходит как минимум 10—100-кратное усиление сигнала; на одну молекулу связавшегося гормона образуется 10—100 молекул цАМФ внутри клетки.

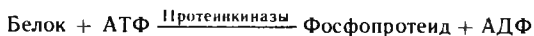
Сходным образом гормоны и другие внеклеточные регуляторы запускают образование другого внутриклеточного посредника — цГМФ. В этом случае комплекс гормон — мембранный рецептор склонен активировать гуанилатциклазу (см. рис. 75). В отличие от аденилатциклазы она прочно связана с клеточной мембраной, поэтому контактирующий с ней рецептор глубже погружается в липидный слой мембраны, чтобы контактировать с гуанилатциклазой. При активировании гуанилатциклазы вырабатывается цГМФ из ГТФ.

В клетке обнаружена и растворимая в цитоплазме гуанилатциклаза, которая, очевидно, реагирует на изменения внутриклеточной среды. (Возможно, имеются циклазы для образования и других циклических нуклеотидов типа цЦМФ и цУТФ, но это пока точно не доказано.)

Циклические нуклеотиды далее активируют протеинкиназы, локализованные во всех отсеках цитоплазмы и ядре. Существует не менее двух групп протеинкиназ: цАМФ-зависимые и цГМФ-зависимые, которые активируются своим циклическим нуклеотидом. цАМФ-Протеинкиназы состоят из четырех субъединиц: из двух регуляторных (R), с которыми связываются циклические нуклеотиды, и двух каталитических (C). Присоединение к R-субъединицам цАМФ способствует диссоциации тетрамера; при этом C-субъединицы объединяются в димер, который и является активной формой протеинкиназы.

Предполагается, что цГМФ-протеинкиназа является димером. На каждой субъединице имеется каталитический центр (C) и участок связывания цГМФ (R). Для активирования протеинкиназы необходимо связывание двух молекул цГМФ с R-участками.

Роль активированных протеинкиназ сводится к фосфорилированию белков по схеме



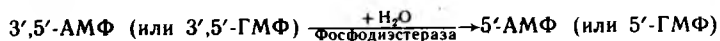
Разные протеинкиназы фосфорилируют разные белки. Поэтому, казалось бы, однообразная протеинкиназная реакция вызывает целую гамму разнообразных биологических эффектов, поскольку функции, выполняемые конкретными белками, разные. Они, по сути дела, определяют жизнедеятельность клетки в целом. Функция одних белков после фосфорилирования их протеинкиназами активируется, функция других угнетается.

К тому же одна группа функциональных белков подчиняется регулирующему влиянию цАМФ, а другая — цГМФ. Поэтому в зависимости от мембранного рецептора, связывающего гормон, включаются или цАМФ-за-

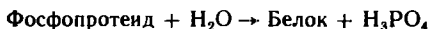
зависимые биологические процессы, или цГМФ-зависимые процессы (см. рис. 75). Причем часто цАМФ и цГМФ действуют противоположно, поэтому представляется уникальная возможность для проявления противоположного действия одним и тем же внеклеточным регулятором на обмен веществ в разных клетках, если в них имеются разные типы рецепторов.

Например, адреналин связывается как с α -, так и с β -адренорецепторами, но β -адренорецепторы включают аденилатциклазу и образование цАМФ, а α -адренорецепторы — гуанилатциклазу и образование цГМФ. Следовательно, биохимические функции в клетках, содержащих разные адренорецепторы, будут изменяться по-разному, несмотря на то, что на них влияет один и тот же внеклеточный регулятор.

Каким же образом прекращается влияние циклических нуклеотидов на биохимические процессы? Этой цели служат специальные ферменты, разрушающие и сами циклические нуклеотиды, и результат их действия — образовавшиеся фосфопротенды. Гидролиз циклических нуклеотидов осуществляется *фосфодиэстеразами* по схеме



Образующиеся просто АМФ и ГМФ не способны активировать протеинкиназы. Кроме фосфодиэстераз в клетках имеется *фосфопротеидфосфатаза*, которая гидролизует фосфопротеид по схеме



Оба фермента — фосфодиэстераза и фосфопротеидфосфатаза — полностью снимают влияние на обмен веществ, вызванное действием внеклеточных регуляторов.

2', 5'-Олиго(А) как внутриклеточный посредник. Роль этого аденилового олигонуклеотида как внутриклеточного регулятора обмена веществ мало изучена. Образование его осуществляется специальным ферментом — *олиго(А)-синтегазой*, активность которой может меняться под действием внеклеточных регуляторов.

Механизм регуляции обмена посредством ионов Ca^{2+} . Необычная роль ионов Ca^{2+} как внутриклеточных посредников внеклеточных регуляторов выявилась относительно недавно. В отличие от других посредников ионы Ca^{2+} не могут превращаться, поэтому кальциевые сигнальные системы мембран, реагирующие на внешние стимулы, способны лишь изменять поступление Ca^{2+} в цитоплазму. Внутриклеточное содержание Ca^{2+} ничтожно — 10^{-7} моль/л, тогда как вне клетки 10^{-3} . Ионы Ca^{2+} поступают из внешней среды по двум «кальциевым каналам» в мембране. Поток Ca^{2+} регулируется Ca^{2+} -АТФазой клеточной мембраны, которая за счет энергии АТФ откачивает Ca^{2+} в обмен на Na^+ из цитоплазмы во внешнюю среду. Внутри клетки ионы Ca^{2+} депонируются в матриксе митохондрий, а в мышечной ткани — в цистернах (замкнутых пузырьках) саркоплазматического ретикулула.

Кальций, поступающий из внешней среды или внутриклеточных депо под действием различных стимулов, взаимодействует с Са-связывающими белками цитоплазмы, выполняющими роль регуляторов. Таким Са-связывающим белком является *калмодулин* (КМ). Комплекс $\text{Ca}^{2+} \cdot \text{КМ}$ изменяет (модули-

рует) активность разных ферментов, что ведет к изменению биохимических функций клеток. В целом регуляция посредством Ca^{2+} происходит примерно по следующей схеме:

внеклеточный фактор — мембранные рецепторы — сигнальные кальциевые системы (Ca^{2+} -АТФазы) — поступление Ca^{2+} в цитоплазму — образование регуляторного комплекса $Ca^{2+} \cdot КМ$ — изменение активности ферментов — изменение клеточных функций

Таким образом, чувствительность тканей и органов к внеклеточным регуляторам зависит от набора связывающих их мембранных рецепторов, а специфическое регуляторное влияние определяется тем внутриклеточным посредником, через который гормон-рецепторный комплекс преимущественно влияет на обмен веществ (табл. 34).

Кроме природных веществ, действующих через аденيلات- и гуанилатциклазы на образование цАМФ и цГМФ, объектом возможного воздействия лекарств является фосфодиэстераза. Если препараты проникают внутрь клетки и ингибируют одну из фосфодиэстераз цАМФ или цГМФ, то они способны имитировать эффект, оказываемый на обмен веществ природным гормоном и медиаторами, действующими через циклические нуклеотиды. Активаторы фосфодиэстеразы снижают действие этих же гормонов и медиаторов. В медицине пользуются этой возможностью, применяя препараты — ингибиторы фосфодиэстеразы. К ним относятся производные ксантинов: кофеин, теофиллин, теобромин, эуфиллин и др. Эти препараты повышают содержание преимущественно цАМФ, а такой препарат, как *трентал*, — преимущественно цГМФ.

Цитозольный механизм действия

Цитозольный тип действия характерен для гормонов, способных проникать через липидный слой плазматической мембраны, т. е. по своим физико-химическим свойствам относящихся к липофильным веществам, например для стероидных гормонов (витамин D тоже близок по типу действия на обмен веществ к стероидным гормонам, поэтому его часто относят к гормональным веществам). Гормоны с цитозольным типом действия проникают внутрь клетки, где вступают в комплекс с цитозольными рецепторами. В комплексе с рецептором гормоны регулируют количество ферментов в клетке, избирательно влияя на активность генов хромосом ядра, и тем самым изменяют обмен веществ и функции клетки. Поскольку проникший в клетку гормон сам участвует в механизмах регуляции количества ферментов, то подобный тип действия называется также п р я м ы м в отличие от мембранно-внутриклеточного, когда гормон регулирует обмен веществ лишь косвенно, через внутриклеточные посредники. Иодтиронины по липофильности занимают промежуточное положение между стероидами и остальными водорастворимыми гормонами. Возможно поэтому они обладают смешанным типом действия на обмен веществ клеток, т. е. мембранно-внутриклеточным и цитозольным.

Схематически цитозольный механизм показан на рис. 76. Стероидные гормоны и иодтиронины, проникая через клеточную мембрану, связы-

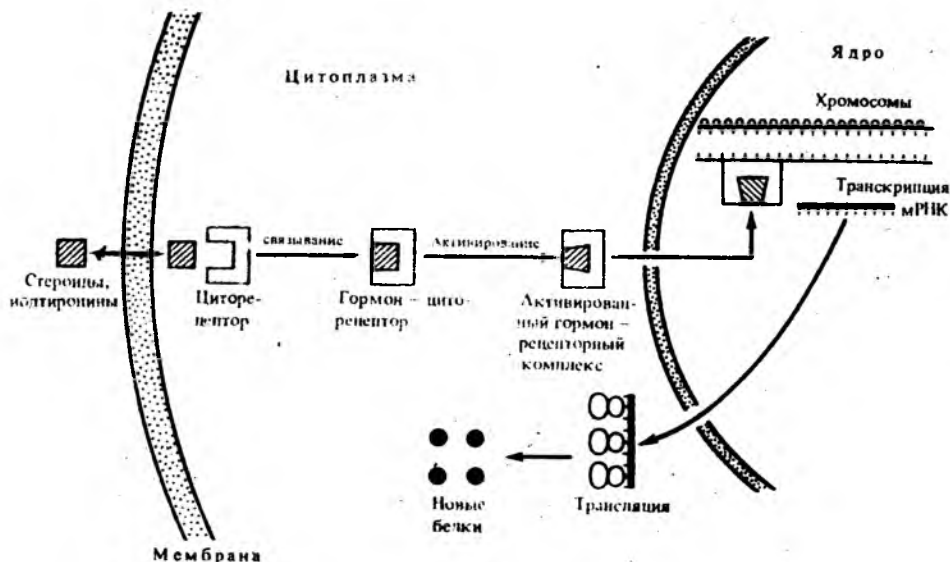


Рис. 76. Схема цитозольного механизма действия гормонов

ваются с цитозольными рецепторами, через которые гормоны оказывают регуляторное действие на метаболизм клеток. Циторецепторы являются белками с молекулярной массой 60 000—120 000. Для них характерна стереоспецифичность связывания, а отсюда высокое сродство к своему гормону.

Первичный комплекс гормон — циторецептор подвергается в цитоплазме активации, которая заключается в перестройке молекулы циторецептора. В «активированной» форме гормон-рецепторный комплекс способен проникать через ядерную мембрану к хромосомам ядра и взаимодействовать с ними. Конкретный гормон-рецепторный комплекс, связываясь с регуляторными белками хроматина (гистоны, негистоновые белки) или с ДНК, регулирует или деление клеток, или транскрипцию «своих» генов в неделящихся клетках и синтез специфических белков. Этим определяется специфический эффект каждого гормона.

Поскольку стероидные гормоны влияют только на активность генов в хромосомах, то для них более характерна, чем для гормонов с мембранно-внутриклеточным типом действия, регуляция роста и дифференцировки клеток, т. е. влияние на развитие организма. При введении таких гормонов в больших дозах может проявиться и прямое их действие на ферменты и внутриклеточные мембраны, так как для связывания массивных количеств проникшего гормона не хватает цитозольных рецепторов.

4. Получение и практическое применение гормонов

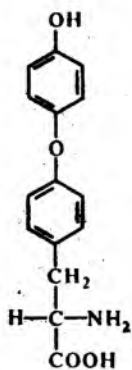
Для практического применения гормоны получают извечением из биологического материала, химическим синтезом и методами генной инженерии. Первым способом получают инсулин и глюкагон из поджелудочных желез, корти-

котропин и меланотропин из гипофизов крупного рогатого скота, фоллитропин (сывороточный гонадотропин) из сыворотки крови и лютропин (хорионический гонадотропин) из мочи жеребых кобыл. Путем химического синтеза в настоящее время получают все стероидные гормоны, их аналоги и производные, иодтиронины и другие гормоны — производные аминокислот, пептидные гормоны типа окситоцина. Лабораторным синтезом получены практически все белковые гормоны. Методом генной инженерии получены в лабораторных условиях инсулин, соматостатин и др.

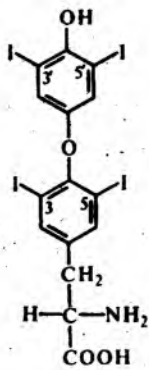
В медицинской практике гормоны применяются для *заместительного и патогенетического лечения*. В последнем случае используются отдельные свойства гормонов (противовоспалительные, анаболические и др.), хотя их содержание в организме больного человека не снижено.

5. Гормоны щитовидной железы

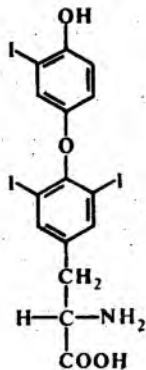
Щитовидная железа секретирует две группы гормонов с разным влиянием на обмен веществ. Иодтиронины — *тироксин* и *трииодтиронин* регулируют



L-тиронин



L-тироксин
(3,5,3',5'-тетраиодтиронин)



L-3,5,3'-три-
иодтиронин

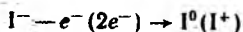
энергетический обмен и влияют на деление и дифференцировку клеток, определяя развитие организма. *Кальцитонин* (белок с молекулярной массой около 30 000) регулирует фосфорно-кальциевый обмен; его действие удобнее рассматривать вместе с гормонами паращитовидных желез.

Синтез иодтиронинов

Иодтиронины входят в состав белка тиреоглобулина, содержащегося в коллоиде фолликулов щитовидной железы. Для синтеза гормонов необходимы иодид, поступающий путем активного транспорта из крови в эпителий щитовидной железы, и тиреоглобулин, образующийся в эпителии и заполняющий полость фолликула (формирует коллоид).

Собственно синтез протекает в несколько стадий.

1. Образование из иодида «активного» иода с участием *иодидпероксидазы* по схеме



Акцептором электронов служит H_2O_2 . Активный иод способен иодировать тирозин.

2. Иодирование тирозина в составе тиреоглобулина с участием *тирозин-иодиназы*. При этом образуется моноиодтирозин или диодтирозин.

3. Окислительная конденсация моно- и диодтирозинов с образованием триодтиронина и тироксина в молекуле тиреоглобулина. Процесс осуществляется на поверхности тирозин-иодиназы.

4. Поглощение тиреоглобулина из коллоида клетками эпителия и перемещение его к внешней поверхности мембраны, омываемой внеклеточной жидкостью. Процесс напоминает эндоцитоз.

5. Собственно секрция иодтиронинов, осуществляемая благодаря гидролизу протеазами тиреоглобулина, из которого освобождаются в кровь тироксин (T_4) и триодтиронин (T_3).

Секрция и синтез T_4 и T_3 находятся под контролем тиреотропина. В сутки у человека выделяется около 55 мкг T_3 и 110 мкг T_4 . В крови иодтиронины образуют комплексы с тироксинсвязывающим глобулином, альбумином и преальбумином плазмы и транспортируются к периферическим тканям. T_3 связан с белками плазмы примерно в 3—5 раз меньше, чем T_4 . Поэтому биологический эффект T_3 примерно в 3—5 раз сильнее, чем T_4 .

Механизм действия иодтиронинов

Иодтиронины действуют на многие ткани организма, хотя наиболее чувствительны к нему ткани печени, сердца, почек, скелетных мышц и в меньшей степени жировая и нервная ткань.

Тиреоидные гормоны наиболее сильно влияют на деление и дифференцировку клеток и энергетический обмен организма. Изменения в энергетическом обмене, так называемое калоригенное свойство тиреоидных гормонов, внешне выражается в повышенном потреблении кислорода и продуцировании теплоты.

Какова связь между способностью иодтиронинов контролировать рост и дифференцировку клеток и их калоригенными свойствами? Иодтиронины действуют на обмен веществ двояко: через цитозольные рецепторы на хромосомы ядра и через цАМФ. Оказалось, что влияние на хромосомы проявляется в ускорении процесса репликации ДНК в период митоза клеток, в избирательной активации транскрипции определенных генов. Это способствует усилению синтеза соответствующих белков и увеличению мощности специализированного ферментного аппарата в клетках, на которые действуют иодтиронины. Гормоны являются индукторами синтеза более 100 различных ферментов, причем большинство из них относится к ферментам энергетического обмена. Иодтиронины активируют окислительные ферменты митохондрий и ферменты «челночного» транспорта водорода из цитоплазмы в митохондриальный матрикс. В клетках под воздействием иодтиронинов возрастает число митохондрий, а у многих из них увеличиваются в размерах кристы, которые усеяны большим количеством дыхательных ансамблей.

В целом можно сказать, что влиянием иодтиронинов на генетический аппарат клетки создается база для интенсивного аэробного образования энергии. Этому способствует массивная мобилизация энергетических ресурсов организма. Она осуществляется благодаря активации иодтиронинами аденилатциклазы в тканях и увеличению в них содержания цАМФ, который активирует липолиз в жировой ткани и гликогенолиз в печени и мышцах. Интенсивное сгорание субстратов липидного и углеводного обмена требует большего расхода кислорода организмом, что и наблюдается при введении иодтиронинов. При этом иодтиронины увеличивают не только валовую продукцию энергии в митохондриях, но и теплообразование. Раньше связывали этот феномен с разобщающим действием иодтиронинов на митохондрии. Однако в условиях организма разобщающих концентраций иодтиронинов в тканях никогда не бывает, а вместе с тем тиреоидные гормоны всегда повышают теплообразование. В настоящее время это связывают с повышенным расходом АТФ на различные синтетические процессы в тканях и особенно активный транспорт веществ с участием Na^+ , K^+ -АТФазы.

Внешне перечисленные молекулярные процессы, запускаемые иодтиронинами, проявляются пролиферацией клеток, их ростом и дифференцировкой, а на уровне целого организма — в нормальном росте и правильном развитии тканей и органов. Специфика же действия на энергетический обмен обнаруживается в виде повышенного расхода кислорода и продуцировании теплоты в организме.

Нарушения функции щитовидной железы

Нарушения функции щитовидной железы могут сопровождаться избытком или недостатком содержания иодтиронинов в организме.

При гиперфункции щитовидной железы, или гипертиреозе, наблюдается чрезмерное образование иодтиронинов. Выраженные формы гиперфункции получили название *тиреотоксикоза*, или *Базедовой болезни*, поскольку признаки нарушения метаболизма и функций при этом заболевании связаны как бы с интоксикацией организма иодтиронинами. В крови таких больных преобладает трииодтиронин.

Характерным признаком тиреотоксикоза является ускоренный распад углеводов и триацилглицеринов (последние мобилизуются из жировых депо). Быстрое сгорание жирных кислот, глицерина и продуктов гликолиза требует большого расхода кислорода. Митохондрии увеличиваются в размерах, набухают. При тяжелых тиреотоксикозах изменяется форма митохондрий, поэтому иногда образно называют тиреотоксикоз «болезнью митохондрий». Хотя избыток иодтиронинов способствует характерному для них влиянию на генетический аппарат и синтезу специфических белков, но постепенно начинают преобладать процессы распада белков и потеря организма азота. При тяжелых формах заболевания имеет место отрицательный азотистый баланс.

Внешне избыточное регуляторное влияние иодтиронинов проявляется в виде характерных симптомов: увеличение основного обмена, повышение температуры тела (из-за повышенной теплопродукции), потеря в весе, выраженная тахикардия, повышенная нервная возбудимость, пучеглазие и т. д.

Снимаются эти нарушения или хирургическим удалением части щитовид-

ной железы, или с помощью препаратов, угнетающих образование в фолликулах железы.

При гипофункции щитовидной железы, или гипотиреозе, имеется недостаток в организме иодтиронинов. Гипотиреоз новорожденных или в раннем детском возрасте называется *кретинизмом* или *микседемой детей*; у взрослых его называют просто *микседемой*. Признаки этих заболеваний противоположны тем, что имеют место при тиреотоксикозе. Кретинизм характеризуется выраженной физической и умственной отсталостью. Такие люди имеют карликовый рост, непропорциональное сложение, а крайняя умственная отсталость делает их неспособными к учению и производительному труду. У них понижены обмен и температура тела. Симптомы этого заболевания объясняются прежде всего снижением действия иодтиронинов на деление клеток и их дифференцировку, что влечет к замедленному и неправильному росту костной ткани, нарушению дифференцировки нейронов, которые не могут выполнять возложенные на них природой специфические функции.

У взрослого организма основные процессы роста и дифференцировки тканей завершены. Поэтому микседема проявляется снижением основного обмена, температуры тела, некоторым понижением памяти, нарушением обновления кожного эпителия (сухая, шелушащаяся кожа), пропитыванием подкожной клетчатки слизеподобным веществом и т. д. В тканях организма снижены аэробное окисление углеводов и жирных кислот и все энергетические процессы. Устранение всех симптомов заболевания, включая нарушения в обмене, происходит после заместительного лечения препаратами иодтиронинов (применяется чаще всего трииодтиронин).

6. Гормоны парашитовидных желез

В парашитовидных железах образуются два белковых гормона — *кальцитонин* (как и в щитовидной железе) и *паратирин* (*паратгормон*). Последний является белком с молекулярной массой 9500, состоящим из 84 аминокислотных остатков. Оба гормона синтезируются в клетках желез в виде препрого르몬ов, имеющих большую молекулярную массу. Препрого르몬ы после отщепления протеиназами фрагмента полипептидной цепи превращаются в прогормон, а последний после гидролиза переходит в активный гормон, который накапливается в секреторных гранулах аппарата Гольджи. Кальцитонин и паратирин регулируют в организме баланс ионов Ca^{2+} и неорганического фосфата. В свою очередь секреция кальцитонина и паратирина, для которых не имеется тропных гормонов, регулируется ионами Ca^{2+} .

Повышение содержания ионизированного Ca^{2+} в плазме крови является стимулом для секреции кальцитонина и, наоборот, снижение содержания ионов Ca^{2+} в плазме крови стимулирует освобождение паратирина из желез.

Механизм действия паратирина и кальцитонина

Оба гормона регулируют фосфорно-кальциевый обмен: паратирин повышает уровень кальция и снижает уровень неорганических фосфатов в крови, а кальцитонин снижает содержание в крови и кальция, и фосфатов.

Каков механизм этих изменений и фосфорно-кальциевого обмена? Паратирин оказывает в значительной степени свое влияние на фосфорно-кальцие

вый обмен через витамин D. В почках паратирин активирует аденлатциклазу. Образующаяся цАМФ стимулирует активность гидроксилазы 25-гидрокси-кальциферола и тем самым образование 1,25-дигидроксикальциферола. Последний усиливает всасывание в кишечнике ионов Ca^{2+} и F_n , мобилизует Ca^{2+} и F_n из костной ткани и увеличивает реабсорбцию Ca^{2+} в почках. Все эти процессы приводят к повышению уровня Ca^{2+} в крови и должны, казалось бы, вызывать повышение уровня F_n . Однако этого не происходит вследствие того, что паратирин резко тормозит реабсорбцию фосфатов в канальцах почек и тем самым приводит к потере фосфатов с мочой (фосфатурия). В результате массивной фосфатурии уровень фосфатов в крови под действием паратиринна снижается. Имеются данные, что паратирин посредством ионов Ca^{2+} влияет на синтез ДНК и пролиферацию лимфоцитов, которые образуют антитела.

Кальцитонин оказывает гипокальциемический эффект при удалении желудочно-кишечного тракта и почек, т. е. главным объектом его действия является депо кальция в организме — костная ткань. Кальцитонин влияет на метаболизм костной ткани противоположно паратирину, так как вызывает в отличие от последнего отложение фосфорно-кальциевых солей на коллагеновую матрицу костей. Это приводит к снижению уровня кальция и фосфатов в крови. Гипокальциемия сопровождается уменьшением выделения кальция с мочой, однако кальцитонин вызывает, как и паратирин, повышенную фосфатурию, механизм которой не зависит от влияния кальцитонина на регуляцию обмена кальция.

Нарушения функции паращитовидных желез

Гипофункция желез, или гипопаратиреоз, встречается редко и проявляется повышенной возбудимостью нервно-мышечной системы (судорожные сокращения мышц). Причиной их является низкое содержание кальция в крови и межклеточной жидкости. Низкое содержание Ca^{2+} во внеклеточной среде облегчает деполяризацию мембран, вызываемую током Na^+ внутрь клетки, и увеличивает возбудимость нервных и мышечных клеток. Устранить эти явления можно введением препаратов кальция и паратиринна или витамина D.

Гиперфункция, или гиперпаратиреоз, возникает или при повышенном образовании паратиринна в железах, или при неправильном длительном применении препарата паратиринна в клинике. При гиперпаратиреозе происходит массивная мобилизация эндогенных депо кальция из костей вплоть до рассасывания отдельных участков костей. При этом легко возникают самопроизвольные переломы костей. В крови содержание Ca^{2+} резко повышается и снижается содержание фосфора. Кальций вследствие плохой растворимости начинает оседать во внутренних органах и тканях, что ведет к кальцификации сосудов, почек, желудочно-кишечного тракта, печени и т. д.

7. Гормоны поджелудочной железы

Гистологически в поджелудочной железе различают островковую (островки Соболева — Лангерганса) и ацинозную ткани, в которых находятся клетки, осуществляющие синтез и секрецию ряда гормонов. Клетки А-типа (α -клетки), В-типа (β -клетки) и D-типа, находящиеся в ткани островков, выделяют соответственно глюкагон, инсулин и соматостатин. Клетки PP-типа (или

β-клетки), содержащиеся как в островковой, так и в ацинозной ткани, секретируют *панкреатический полипептид*.

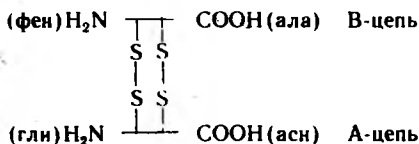
Соматостатин, первоначально выделенный из гипоталамуса, угнетает выделение соматотропина гипофизом, а также тормозит секрецию глюкагона, гастрина и, возможно, инсулина поджелудочной железой. Соматостатин угнетает выделение глюкагона и соматотропина, оказывает положительное влияние на обмен веществ при сахарном диабете.

Панкреатический полипептид, состоящий из 36 аминокислот, действует на желудочно-кишечный тракт, стимулируя выделение ферментов слизистой желудка и панкреатических энзимов. Кроме того, этот полипептид тормозит перистальтику кишечника и расслабляет желчный пузырь.

Химия и секреция глюкагона и инсулина

Глюкагон является белком с молекулярной массой 3485, состоящим из 29 аминокислот. В α-клетках образуется проглюкагон, содержащий 37 аминокислот, а затем, после гидролиза его протеазами, активный глюкагон. Секреция глюкагона усиливается при повышении содержания Ca^{2+} и аргинина в крови и тормозится глюкозой и соматостатином.

Инсулин образуется в β-клетках сначала в виде препроинсулина, который после гидролиза дает проинсулин. Протеиназы отщепляют от проинсулина, содержащего 84 аминокислотных остатка, полипептидный фрагмент, называемый С-пептидом, состоящий из 33 аминокислот. При этом образуется инсулин (молекулярная масса около 6000), состоящий из 51 аминокислотного остатка. Инсулин имеет 2 цепи: короткую (А-цепь) из 21 аминокислоты и длинную (В-цепь) из 30 аминокислот, которые соединены дисульфидными мостиками:



Для проявления биологической активности инсулина необходимы дисульфидные связи и С-конечный аспарагин. При восстановлении S — S-связей и протеолизе инсулин инактивируется.

Секреция инсулина усиливается глюкозой и ионами Ca^{2+} , а также аминокислотами — аргинином и лейцином. Стимулирует секрецию инсулина соматотропин, а задерживает, но в меньшей степени, чем секрецию глюкагона, соматостатин.

Механизм действия глюкагона

Глюкагон связывается с мембранными рецепторами тканей-мишеней. Мишенями для него являются печень, жировая ткань и в меньшей степени мышцы.

Активируя аденилатциклазу и повышая содержание цАМФ, глюкагон вызывает мобилизацию глюкогена в печени и отчасти в скелетных мышцах и триацилглицеринов в жировой ткани. Мобилизация этих энергетических ресурсов приводит к повышению уровня глюкозы, жирных кислот и глицерина в крови. Сгорание жирных кислот в печени ведет к образованию большого

количества ацетил-КоА, а из них кетонových тел. Поэтому глюкагон вызывает умеренную кетонемию и кетонурию.

В печени гормон угнетает синтез белка в рибосомах и облегчает катаболизм белков. Образующиеся аминокислоты используются на образование мочевины и в глюконеогенезе. Следовательно, повышение содержания глюкозы в крови обусловлено двумя факторами: активацией гликогенолиза (быстрый процесс) и глюконеогенеза (медленный процесс). В целом изменения в обмене веществ, вызванные глюкагоном, напоминают изменения при сахарном диабете (см. ниже).

Механизм действия инсулина

Инсулин, поступающий в кровь, находится в свободной и в связанной с белками плазмы формах. Свободный инсулин влияет на метаболизм всех инсулинчувствительных тканей, а связанный — только на жировую ткань. К инсулинчувствительным тканям относятся мышечная и соединительная ткани (жировая ткань есть разновидность соединительной). Менее чувствительна к инсулину печень и, вероятно, совсем нечувствительна нервная ткань. В тканях обнаружены мембранные рецепторы к инсулину гликопротеидной природы. Их число больше в клетках, где наиболее выражено влияние инсулина на метаболизм.

Комплекс инсулин—рецептор обладает способностью резко изменять проницаемость клеточных мембран для глюкозы, аминокислот, ионов Ca^{2+} , K^+ , Na^+ , а именно: ускорять транспорт внутрь клеток глюкозы, аминокислот, ионов K^+ и Ca^{2+} . Причиной этих изменений служит местное, т. е. мембранное, действие инсулина на системы активного транспорта веществ и влияние гормона на образование внутриклеточных посредников.

Наиболее яркое свойство инсулина — способность усиливать активный транспорт глюкозы в клетки чувствительных к гормону тканей. Механизм стимуляции инсулином транспорта глюкозы внутрь клетки до конца неясен. Или инсулин сам взаимодействует с белками, формирующими глюкозные каналы в мембранах, и открывает «поры» для глюкозы, или косвенно, через циклические нуклеотиды, влияет на фосфорилирование белков мембран и тем самым на проницаемость мембран для глюкозы.

Активация Na^+ , K^+ -насоса приводит к повышению Na^+/K^+ -градиента на мембране и ее гиперполяризации. Na^+/K^+ -градиент облегчает вторичный активный транспорт аминокислот в клетку, а в жировой ткани, возможно, и транспорт глюкозы.

Действие инсулина на внутриклеточный метаболизм реализуется через внутриклеточных посредников. Инсулин облегчает проникновение Ca^{2+} в клетки и, очевидно, благодаря ему увеличивает активность растворимой гуанилатциклазы и синтез цГМФ. Напротив, ионы Ca^{2+} снижают содержание цАМФ, активируя фосфодиэстеразу, которая расщепляет цАМФ.

Низкая концентрация цАМФ приводит к торможению гликогенолиза, глюконеогенеза (за счет использования аминокислот), липолиза и угнетает образование кетонových тел. В то же время более низкое отношение цАМФ/цГМФ, наблюдаемое при действии инсулина, облегчает синтез гликогена, триацилглицеринов (липогенез) и синтез белка (индукция синтеза белка в рибосомах является цГМФ-зависимым процессом, который усиливается инсулином). Кроме того, инсулин, вероятно через цГМФ и ионы Ca^{2+} ,

ускоряет синтез ДНК (репликацию) и РНК (транскрипцию), благодаря чему усиливает пролиферацию клеток, их рост и дифференцировку.

Отражением регуляторного действия инсулина на ткани-мишени организма являются сдвиги показателей углеводного, липидного, белкового и минерального обмена в крови, по которым судят о действии инсулина на организм в клинике. Инсулин вызывает снижение концентрации глюкозы, аминокислот, жирных кислот, глицерина и ионов K^+ в крови, а также уменьшает потерю с мочой аминокислот и ионов K^+ . В целом действие инсулина на обмен веществ можно характеризовать как анаболическое, сопровождающееся положительным азотистым балансом.

Нарушения гормональной функции поджелудочной железы

В практике встречаются нарушения обмена веществ, вызванные избытком или недостатком в организме инсулина. **Избыток инсулина** может наблюдаться при опухолях островков (инсуломах) или при передозировке инсулина в ходе лечения. Все изменения в обмене веществ, которые описаны выше, при этом усилены. Характерна для этого состояния выраженная гипогликемия, которая ведет к обморочным состояниям. При крайней степени гипогликемии наблюдаются судороги и смертельный исход. Устранить гиперинсулинизм можно введением глюкозы и гормонами, вызывающими гипергликемию (например, глюкагоном, адреналином).

При **дефиците инсулина** развивается сахарный диабет — широко распространенное заболевание (на земном шаре около 100 млн. людей болеют сахарным диабетом). Сахарный диабет развивается при истинной и ложной недостаточности инсулина. При истинной недостаточности наблюдается нарушение образования и секреции инсулина в β -клетках островков. При ложной — общая инсулиновая активность плазмы крови остается нормальной, а нарушения обмена, свойственные сахарному диабету, проявляются. Подобные формы сахарного диабета развиваются вследствие изменения соотношения свободной и связанной форм инсулина плазмы крови в пользу связанной формы, поэтому глюкоза поглощается только жировой тканью, где перерабатывается на жир. Возможно развитие сахарного диабета при отсутствии или снижении количества мембранных инсулиновых рецепторов в тканях-мишенях. В этом случае клетки мало чувствительны к инсулину, хотя его количество в организме нормально или даже повышено.

При сахарном диабете изменения в углеводном, липидном, белковом и водно-минеральном обмене обратные тем, что описаны выше при действии избытка инсулина. Основные изменения метаболизма при сахарном диабете суммированы ниже.

В целом при сахарном диабете заметно преобладают катаболические пути обмена над анаболическими. Взамен глюкозы, которая плохо усваивается в инсулинчувствительных тканях, в организме мобилизуются липиды и повышается сгорание жирных кислот. В результате описанных нарушений обмена веществ в тканях наблюдается гипергликемия с глюкозурией, гипер-аминоацидемия с гипераминоацидурией, повышение содержания жирных кислот, глицерина и холестерина в крови, а также кетонемия и кетонурия. Большое количество кетоновых тел, имеющих кислую среду, вызывает снижение рН крови, что может привести к смертельному исходу.

Транспорт в клетки:	
глюкозы	Угнетен
аминокислот	»
ионов K^+	»
ионов Ca^{2+}	»
Содержание циклических нуклеотидов:	
цАМФ	Повышено
цГМФ	Понижено
Углеводный обмен:	
гликогенолиз	Повышен
синтез гликогена	Угнетен
глюконеогенез (из аминокислот)	Повышен
Липидный обмен:	
синтез триацилглицеринов (липогенез)	Угнетен
распад триацилглицеринов (липолиз)	Повышен
синтез кетоновых тел (при сгорании жирных кислот)	»
синтез холестерина (из ацетил-КоА, образующегося при сгорании жирных кислот)	»
Белковый обмен:	
синтез белка	Угнетен
распад белка	Повышен
обмен аминокислот и образование мочевины	Повышены

Практическое применение инсулина

Препараты инсулина используются для лечения сахарного диабета, а также как анаболическое средство при дистрофии органов, пониженном питании, истощении, для восстановления метаболизма после тяжелой мышечной работы.

8. Гормоны надпочечников

Гормоны мозгового вещества надпочечников

В мозговом веществе надпочечников человека образуются адреналин и в меньшей степени норадреналин, которые накапливаются в виде секреторных гранул в хромоаффинных клетках. Повышенная секреция адреналина происходит при понижении глюкозы в крови, а также при состоянии напряжения организма, так называемом стрессе.

Адреналин оказывает двойственное влияние на метаболизм тканей-мишеней в зависимости от наличия в них преимущественно α - или β -адренорецепторов, с которыми гормон связывается. Связывание адреналина с β -адренорецепторами стимулирует аденилатциклазу и вызывает изменения в обмене, характерные для цАМФ; связывание его с α -адренорецепторами стимулирует гуанилатциклазу и вызывает изменения в обмене, характерные для цГМФ. В целом адреналин вызывает подобное глюкагону, т. е. цАМФ-зависимое, действие на обмен жировой ткани, скелетные мышцы и печень, являющиеся для гормона мишенями. Происходят те же, что и под влиянием глюкагона, изменения углеводного и липидного обменов. Кроме этого, адреналин действует на функцию сердечно-сосудистой системы. Он увеличивает силу и частоту сердечных сокращений, повышает кровяное давление, расширяет мел-

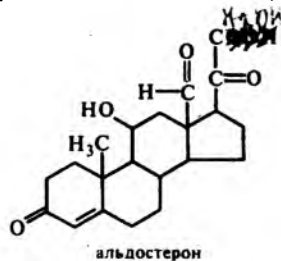
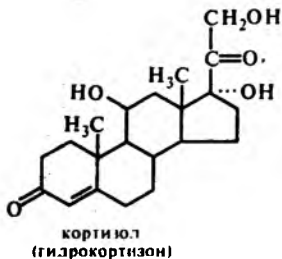
кие артериолы. Адреналин вызывает также расслабление гладких мышц кишечника, бронхов, матки.

Как регулятор обмена веществ адреналин редко используется в практике (лишь иногда при передозировке инсулина адреналин применяется вместе с глюкозой как препарат, повышающий уровень глюкозы в крови); чаще применяется как средство, стимулирующее сердечные сокращения и повышающее кровяное давление.

Гормоны коры надпочечников

В коре надпочечников образуются из холестерина стероидные гормоны: кортикостероиды. По физическому эффекту кортикостероиды разделяют на три группы: глюкокортикоиды, действующие преимущественно на углеводный обмен, минералокортикоиды, действующие преимущественно на минеральный обмен, и половые гормоны (мужские — андрогены, женские — эстрогены), которые выделяются в небольших количествах (их действие будет рассматриваться позже).

Надпочечники человека в норме секретируют глюкокортикоиды — кортизол (гидрокортизон) и кортикостерон, и минералокортикоид — альдостерон:



Секреция глюкокортикоидов находится под контролем кортикотропина, который связывается с мембраной клеток коры надпочечников, повышает образование цАМФ и через него запускает процесс использования эфиров холестерина на синтез глюкокортикоидов. Выброс кортикотропина из гипофиза является типичным ответом на стресс. Это влечет за собой выделение в кровь глюкокортикоидов, которые облегчают освобождение адреналина. По механизму отрицательной обратной связи глюкокортикоиды тормозят выделение кортикотропина.

Секреция альдостерона регулируется катионами Na^+ и K^+ . При низком содержании Na^+ или повышенном K^+ в крови усиливаются синтез и секреция альдостерона. Предполагают, что в эпифизе имеется тропный гормон, называемый аденогломерулотропином, который стимулирует секрецию альдостерона. Но окончательно вопрос о его существовании не решен.

Механизм действия глюкокортикоидов. Глюкокортикоиды связываются с α_1 -глобулином плазмы крови, называемым *транскортином*, и в таком комплексе транспортируются к периферическим тканям.

Мишенью для глюкокортикоидов являются печень, почки, лимфоидная ткань (селезенка, лимфоузлы, лимфоидные бляшки кишечника, лимфоциты, тимус и др.), соединительная ткань (кости, подкожная соединительная ткань).

жировая и т. д.), скелетные мышцы. В этих тканях имеются цитозольные рецепторы глюкокортикоидов. Причем комплекс гормон — циторецептор оказывает прямо противоположное влияние на синтез белка в разных типах тканей (рис. 77). В печени и почках он усиливает транскрипцию специфических генов и синтез соответствующих белков; в остальных тканях, наоборот, ингибирует синтез белка, а в лимфоидной ткани вызывает ее распад (лимфоцитоллиз). Блокада синтеза белка в лимфоидной ткани и активный протеолиз в ней увеличивают фонд свободных аминокислот, которые поступают в большом количестве в кровь. Аминокислоты используются в печени и почках на синтез белка и как субстраты для новообразования глюкозы.

В печени и почках глюкокортикоиды благоприятствуют использованию аминокислот в глюконеогенезе, так как служат специфическими индукторами синтеза ферментов глюконеогенеза (пируваткарбоксилазы, фосфопируваткарбоксилазы, глюкозо-6-фосфатазы и фруктозобисфосфатазы). Глюкоза, синтезирующаяся в ходе глюконеогенеза, используется на образование гликогена в печени, так как глюкокортикоиды повышают синтез фермента гликогенсинтетазы, а также на синтез в мышцах гликогена.

Поскольку выделяющиеся глюкокортикоиды усиливают секрецию адреналина из мозгового вещества надпочечников, то к действию глюкокортикоидов «присоединяется» влияние на обмен веществ адреналина. Так, глюкокортикоиды мобилизуют триацилглицерины из жировой ткани за счет активации аденилатциклазы, хотя мембранно-внутриклеточное действие для них нетипично.

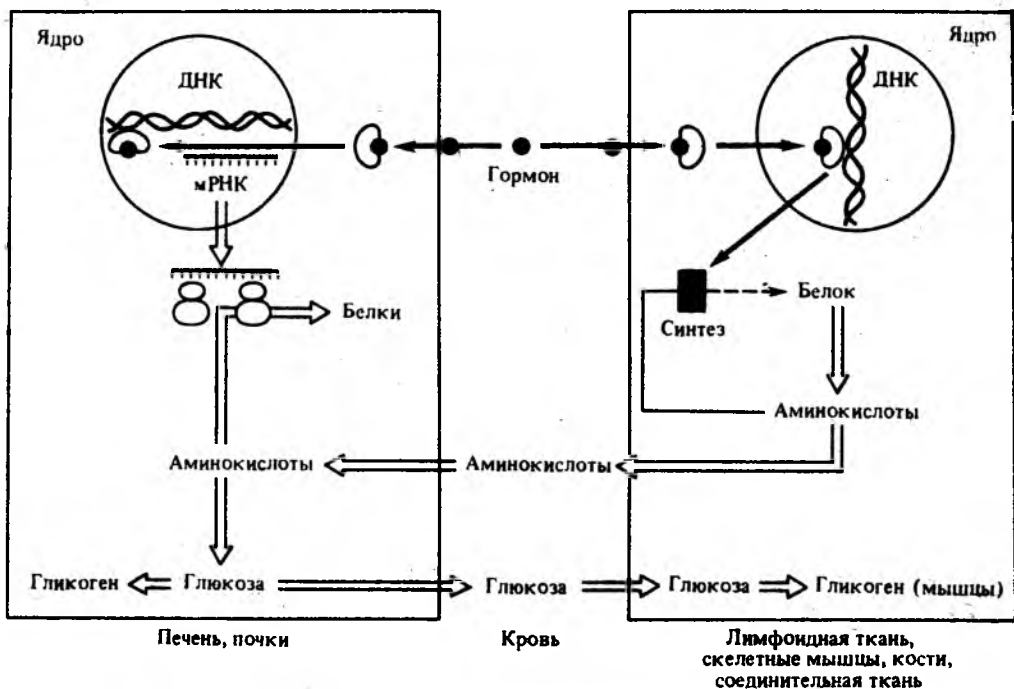


Рис. 77. Схема регуляции глюкокортикоидами обмена веществ в организме

но. Очевидно, мобилизация жира из депо связана с адреналином. В результате в кровь поступают глицерин и жирные кислоты: глицерин используется в глюконеогенезе, а жирные кислоты, сгорая в печени, идут на образование кетоновых тел, которые поступают в кровь.

В крови повышается содержание глюкозы, аминокислот, жирных кислот, глицерина и кетоновых тел и наблюдается глюкозурия, аминоацидурия, кетонурия. В целом эти изменения в обмене напоминают картину сахарного диабета. Только такой диабет имеет другую природу и потому называется «стероидным».

Глюкокортикоиды вызывают сдвиги водно-минерального обмена: повышают реабсорбцию ионов Na^+ и выделение K^+ в почках и задерживают натрий, а с ним и воду во внеклеточных пространствах тканевой организации (что может вызвать отеки). Это действие сходно с эффектом минералокортикоидов, только более слабое. Торможение синтеза белков костной ткани приводит к рассасыванию ее отдельных участков. Кальций и фосфор поступают из них в кровь и теряются с мочой.

Глюкокортикоиды и их аналоги широко применяются в клинике. Конечно, не из-за того, что они вызывают диабетоподобное состояние (комплекс диабетоподобных нарушений обмена является побочным эффектом этих препаратов). Основой их лечебного эффекта служит влияние на лимфоидную и соединительную ткань. Лимфоидная ткань участвует в образовании антител и защите организма от чужеродных веществ. В ответ на инфекцию или поступление в организм чужеродных веществ образуются антитела, которые определяют состояние повышенной чувствительности к конкретному чужеродному агенту, называемое *сенсibilизацией*. При повторном контакте организма с тем же чужеродным веществом происходит его взаимодействие с антителами, что вызывает чрезмерную реакцию организма, которую называют *аллергией*. Аллергия приводит к развитию воспаления, сопровождающегося местными нарушениями сосудистой проницаемости и повреждением тканей. Разрушенные участки ткани замещаются соединительной тканью, образуются соединительнотканые рубцы, деформирующие органы.

Глюкокортикоиды, подавляя образование антител в лимфоидной ткани, уменьшают состояние сенсibilизации к чужеродным веществам, развитие последующих аллергических реакций и воспаления. Угнетение глюкокортикоидами образования коллагена фибробластами соединительной ткани препятствуют излишнему образованию соединительнотканых волокон на месте участка ткани, разрушенного воспалением. Тем самым гормоны задерживают формирование грубых рубцов, спаек, которые деформируют органы и мешают нормальной их функции.

Механизм действия минералокортикоидов. Альдостерон регулирует баланс в организме жизненно необходимых ионов Na^+ , K^+ , Cl^- и воды, поэтому без него нормальная жизнедеятельность невозможна.

Альдостерон транспортируется с кровью к тканям, адсорбируясь на альбумине плазмы. Мишенями для альдостерона служат клетки эпителия дистальных канальцев почек, содержащие много циторецепторов для гормона. Комплекс альдостерон — циторецептор проникает в ядра клеток канальцев и активирует транскрипцию генов хромосом, несущих информацию о структуре белков, участвующих в транспорте Na^+ через клеточные мембраны эпителия канальцев. Благодаря этому усиливается реабсорбция Na^+ и его проти-

воиона — Cl^- из мочи в межклеточную жидкость и далее в кровь. Одновременно происходит выделение в мочу ионов K^+ (в обмен на Na^+) из эпителия канальцев. В целом эффект альдостерона сопровождается задержкой Na^+ , Cl^- и воды (вода удерживается Na^+ вторично) в тканях и потерей с мочой ионов K^+ .

Нарушения гормональной функции надпочечников

Гиперфункция коры надпочечников, или гиперкортицизм, может проявляться повышенной секрецией всех кортикостероидов или преимущественно одной из групп гормонов. Например, при таких формах гиперкортицизма, как *болезнь Иценко—Кушинга* (она является следствием поражения гипоталамо-гипофизарной системы, приводящего к гиперсекреции кортикотропина) и *кортикостерома* (опухоль, активно синтезирующая главным образом кортизол), наблюдается гиперпродукция глюкокортикоидов, чем объясняются симптомы этих нарушений в организме: атрофия подкожной соединительной ткани, развитие стероидного диабета, остеопороз (пустоты в костях, вызванные их рассасыванием), гипертония (за счет вторичного усиления секреции адреналина и норадреналина мозговым веществом).

Встречается гиперкортицизм, сопровождающийся избыточной секрецией преимущественно альдостерона (*гиперальдостеронизм*, или *болезнь Конна*). При этом заболевании наблюдаются симптомы влияния избыточного альдостерона на водно-солевой обмен: отеки, повышение кровяного давления, повышенная возбудимость миокарда. Если человек употребляет с пищей много соли, то может развиваться так называемая «солевая» гипертония.

Гипокортицизм, называемый *Аддисоновой* или *бронзовой болезнью*, сопровождается дефицитом всех кортикостероидов и смешанными изменениями обмена веществ и функций организма. Недостаток глюкокортикоидов обуславливает снижение устойчивости организма к эмоциональным стрессам и действию повреждающих факторов (инфекционных, химических, механических) и развитию выраженной гипогликемии. Эта симптоматика усугубляется нарушениями водно-минерального обмена из-за недостатка альдостерона. Организм теряет натрий и воду и накапливает калий, вследствие чего развивается гипотония (расслабление гладкомышечных стенок сосудов), резкая мышечная слабость, прогрессирующая утомляемость вплоть до полного бессилия. Эти симптомы связаны с нарушениями калий-натриевого градиента на мембране мышечных клеток (гиперполяризация), снижающими возбудимость мышц. При гипокортицизме больные погибают из-за нарушений водно-солевого баланса.

Практическое применение кортикостероидов

Глюкокортикоиды и многочисленные их аналоги широко применяются при аллергических и аутоиммунных заболеваниях (ревматизме, коллагенозах, неспецифических артритах, бронхиальной астме, дерматозах и т. д.) как десенсибилизирующие, противовоспалительные и иммунодепрессивные средства. Их иммунодепрессивное действие (подавление синтеза антител лимфоидными клетками) используется для профилактики отторжения пересаженных органов.

В клинической практике применяется синтетический аналог природных минералокортикоидов — дезоксикортикостерон для заместительного лечения гипокортицизма и иногда для лечения гипотонии.

9. Гормоны половых желез

Половые железы (гонады) — парные органы, представленные у мужчин семенниками, у женщин — яичниками. Семенники и яичники относятся к железам смешанной секреции, продуцирующими половые клетки (сперматозоиды и яйцеклетки), необходимые для продолжения рода, и половые гормоны. Мужские половые гормоны — *андрогены* — образуются клетками Лейдига, а сперматозоиды — семенными канальцами семенников; женские половые гормоны (эстрогены и гестагены) и яйцеклетки образуются в фолликулах яичников. Половые гормоны синтезируются из общего предшественника — холестерина, многие стадии их образования совпадают, поэтому небольшие количества женских и мужских половых гормонов синтезируются у лиц противоположного пола.

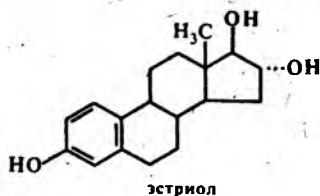
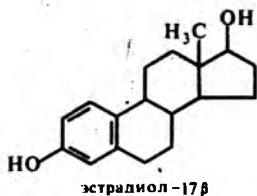
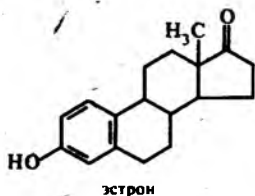
Развитие пола predetermined не только половыми хромосомами, но и особенностями секреции половых гормонов гонадами в эмбриональном периоде. Закладка половых желез происходит на ранних стадиях эмбриогенеза. Важным моментом является действие андрогенов, выделяемых эмбриональными семенниками, на половую дифференцировку гипоталамуса в так называемый «критический» период развития. Если в этот период гипоталамус подвергается воздействию андрогенов, то после достижения половой зрелости он обеспечивает (через либерины и статины) секрецию гонадотропинов по мужскому типу (ациклическую), а если не подвергается, то секреция их идет по женскому типу (циклическая).

По достижении половой зрелости у мужчин выделяются *фоллитропин*, регулирующий образование сперматозоидов, и *лютропин*, регулирующий образование андрогенов, главным образом тестостерона. Тестостерон по механизму отрицательной обратной связи угнетает секрецию лютропина гипофизом. *Пролактин* у мужчин остается в связанном состоянии в гипофизе и в норме не секретруется. У женщин секретуются все три гонадотропина, причем циклически. Секреция гонадотропинов задает тон циклическим процессам в организме женщины, которые объединяются в понятие «половой цикл». Половой цикл включает два тесно связанных процесса: яичниковый (овариальный) цикл, т. е. циклические процессы, происходящие в яичниках, и маточный, или менструальный, цикл, т. е. циклические изменения в матке. Длительность каждого цикла одинакова. Она колеблется от 21 до 35 дней, чаще всего 26—28 дней.

Женские половые гормоны

Схема полового цикла. Овариальный цикл имеет три фазы: 1) фолликулиновую; 2) лютеиновую; 3) инволюции желтого тела. При 26—28-дневном половом цикле первая фаза длится 13—14 дней, вторая — 9—10 дней и третья 3—4 дня. Схематически овариальный цикл выглядит следующим образом. Фоллитропин вызывает рост первичных (примордиальных) фолликулов яичников. Клетки фолликула на определенной стадии развития начинают секретировать

рывать эстрогены. Основным секретирующимся эстрогеном является эстрадиол, остальные эстрогены (эстрон и эстриол) — продукты его превращения:



Выделение эстрогенов в кровь угнетает выделение фоллитропина (отрицательная обратная связь) и стимулирует секрецию лютропина (положительная обратная связь) гипофизом. Выделяющийся лютропин вместе с фоллитропином вызывают овуляцию. Яйцеклетка попадает в брюшную полость, захватывается ворсинками фаллопиевых труб и продвигается по направлению к слизистой матки, а на месте разорвавшегося фолликула образуется желтое тело. Овуляция знаменует окончание фолликулиновой фазы цикла, при которой в организме имеется высокий уровень эстрогенов и низкий уровень гестагенов.

Лютропин способствует развитию желтого тела и секреции им прогестерона. Прогестерон, поступая в кровь, тормозит секрецию лютропина и стимулирует выделение пролактина из гипофиза. Пролактин поддерживает секрецию прогестерона и вместе с ним развитие молочных ходов в молочных железах. Если не происходит оплодотворение яйцеклетки и она не имплантируется в слизистую матки, то желтое тело прекращает свою функцию. Заканчивается лютеиновая фаза, которая характеризуется высоким содержанием в организме прогестерона и низким — эстрогенов.



В третьей фазе желтое тело подвергается обратному развитию (инволюции) и не секретирует прогестерон. Третья фаза характеризуется низким содержанием в организме прогестерона и эстрогенов. Затем яичниковый цикл повторяется, так как из-за низкого уровня в крови эстрогенов вновь начинает секретироваться гипофизом фоллитропин.

Циклическому выделению гормонов в яичниках соответствуют изменения в матке и в других органах и тканях, являющихся мишенями для этих гормонов. В матке реагируют на гормоны мышечный слой (миометрий) и особенно демонстративно слизистая (эндометрий).

В фолликулиновую фазу яичников выделяющиеся эстрогены вызывают интенсивную пролиферацию эпителия слизистой (*пролиферативная фаза* маточного цикла). При этом повышаются возбудимость и сократительная активность миометрия.

В лютеиновую фазу яичников повышенная секреция прогестерона приводит к разрыхлению эндометрия, железистый эпителий которого выделяет слизистый секрет. Поэтому данную фазу маточного цикла называют *секреторной*, а возникшие изменения слизистой — прегравидными, т. е. сходными с

изменениями на ранних стадиях беременности. Кроме того, прогестерон тормозит возбудимость и сократительную способность миометрия. Все изменения в матке, вызванные прогестероном, облегчают фиксацию оплодотворенной яйцеклетки и имплантацию ее в слизистую матки.

Прекращение секреции прогестерона желтым телом, при его инволюции в яичниках, влечет за собой сморщивание разросшегося эндометрия, спазм питающих его кровеносных капилляров и последующее отторжение слизистой, сопровождающееся кровотечением (менструацией). Эту фазу маточного цикла называют *менструальной*. Ниже показано соответствие фаз яичникового и маточного цикла:

Яичниковый цикл (фазы)	Маточный цикл (фазы)
Фолликулиновая (секреция эстрогенов)	Пролиферативная
Лютеиновая (секреция прогестерона)	Секреторная
Инволюции желтого тела (отсутствие секреции эстрогенов и прогестерона)	Менструальная

Если происходит оплодотворение яйцеклетки и она имплантируется в слизистую, то трофобласт уже через сутки после имплантации оплодотворенной яйцеклетки начинает выделять хорионический гонадотропин, который, действуя подобно лютропину гипофиза, стимулирует рост, развитие и секреторную функцию желтого тела яичника. Инволюции желтого тела не наблюдается и наступает беременность.

Эндокринная функция плаценты. Во время беременности формируется своеобразный эндокринный орган — плацента, который секретирует белковые и стероидные гормоны в организм матери. В плаценте синтезируются такие белковые гормоны, как хорионический гонадотропин (обладающий активностью лютропина), плацентарный лактоген, или соматомаммотропин (обладающий наряду с лактотропным и лютеотропным действием, подобно пролактину гипофиза, еще и соматотропной активностью), тиреотропин (с выделением которого связывают повышенную функцию щитовидных желез у беременных).

Биосинтез стероидных гормонов имеет ряд особенностей. Главная из них состоит в том, что в этом процессе участвуют как плацента, так и ткани плода. Это дало возможность Дисфалузи ввести понятие *фетоплацентарной системы* (плод — плацента), участвующей в синтезе и секреции стероидных гормонов. В фетоплацентарной системе синтезируются прогестерон, эстрадиол, эстрон, эстриол и тестостерон. Остальные стероидные соединения образуются в небольших количествах. Упрощенно биосинтез основных стероидных гормонов показан на рис. 78.

В плаценте холестерин превращается через прегненолон в прогестерон, секретирующийся в кровь матери. Предшественники для биосинтеза в плаценте остальных стероидных гормонов могут образовываться только в тканях плода. К этим предшественникам относятся дегидроэпиандростеронсульфат (ДГЭАС), синтезирующийся из прегненолона в надпочечниках плода, и 16- α -гидроксидегидроэпиандростеронсульфат, являющийся продуктом гидроксилирования ДГЭАС в печени плода. Из первого в плаценте синтезируются эстрон, эстрадиол и тестостерон, а из второго — эстриол.

ское действие эстрогенов, т. е. способность стимулировать синтез белка в органах-мишенях, обеспечивает положительный азотистый баланс.

В эпифизах костей эстрогены обеспечивают синтез коллагена и отложение кальция и фосфора. Кроме того, эстрогены, являясь индукторами ферментов гликолиза и пентозофосфатного цикла, облегчают аэробное образование энергии из углеводов и восстановительные синтезы с участием НАДФ · Н₂ и рибозо-5-фосфата. Отмечено влияние эстрогенов на липидный обмен. Гормоны способствуют более быстрому обновлению липидов, препятствуют их накоплению в печени и жировой ткани, способствуют выведению холестерина из организма и снижению его уровня в крови. Возможно, в связи с этим у женщин реже, чем у мужчин, развивается атеросклероз коронарных и других сосудов.

Замечено, что, связываясь с миометрием, эстрогены тормозят Na⁺, K⁺-АТФазы мембран мышечных клеток. Это приводит к задержке в миометрии Na⁺, а с ним воды, и потере K⁺, т. е. возникает деполяризация мембран, обуславливающая повышенную возбудимость и сократимость миометрия.

Прогестерон оказывает физиологический и биохимический эффекты только в период функционирования желтого тела. Гормон обеспечивает:

- 1) торможение сокращений матки и маточных труб;
- 2) прегравидные изменения слизистой в период половых циклов и имплантацию оплодотворенной яйцеклетки;
- 3) разрастание молочных ходов (после предварительного действия на молочные железы эстрогенов) и лактацию;
- 4) понижает возбудимость гиппокампа и центра терморегуляции, а также снижает сексуальную реактивность.

Механизм действия прогестерона на рост и развитие эндометрия, молочных желез тот же, что и эстрогенов. Тормозящее влияние на сократительную функцию миометрия связано, как считают, со стойкой деполяризацией мембраны мышечных клеток, в результате первоначальное кратковременное возбуждение гладких мышц сменяется их параличом. Они не реагируют на медиаторы. При введении прогестерона в больших дозах в организм он оказывает глюкокортикоидоподобное действие.

Нарушения гормональных функций яичников. Дефицит эстрогенов до периода полового созревания приводит к задержке развития (инфантильности) органов половой сферы, формирования вторичных половых признаков, остонения эфизарных хрящей, к нарушению половых циклов. При этом имеет место отрицательный азотистый баланс, потеря кальция и фосфата, гиперлипемия.

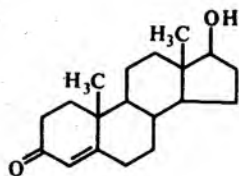
Дефицит прогестерона нарушает течение половых циклов, приводит к привычным выкидышам.

Практическое применение женских половых гормонов. Эстрогены и их синтетические аналоги применяются вместе с прогестероном для восстановления нарушенных половых циклов, при недостаточности яичников; прогестерон — для сохранения беременности.

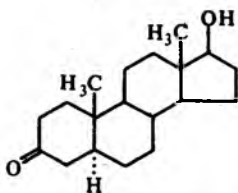
Мужские половые гормоны

Механизм действия и биологические функции андрогенов. Тестостерон связывается с гликопротеидом плазмы крови, называемым тестостерон-эстрадиолсвязывающим глобулином (он специфически связывает тестостерон, ди-

гидротестостерон и эстрадиол), и поступает в ткани. В клетках *тестостерон* восстанавливается с участием НАДФ · Н-специфичной 5 α -стероид-редуктазы до 5 α -дигидротестостерона:



тестостерон



5- α -дигидротестостерон

Оба андрогена могут проявлять специфическую активность, но в одних тканях более активен 5 α -дигидротестостерон (простата, семенные пузырьки), а в других — тестостерон (мышцы). Андрогены связываются с андрогенными рецепторами и действуют на хроматин ядер клеток-мишеней, способствуя активации синтеза ДНК во время репликации и усилению транскрипции специфических генов. Отражением этого регуляторного влияния андрогенов на генетический аппарат служит резкое увеличение биосинтеза белков в тканях и как следствие его положительный азотистый баланс организма. Анаболическое действие тестостерона значительно выше, чем эстрогенов. Оно приводит к развитию мощной скелетной мускулатуры, развитию и минерализации эпифизарных зон роста костей, которые становятся более массивными, как весь формирующийся в период полового созревания скелет мужчины; андрогены резко увеличивают синтез белков в почках и печени. Кроме того, они стимулируют развитие половых органов мужчины, добавочных половых желез (простаты, семенных пузырьков), а в период полового созревания обеспечивает развитие вторичных половых признаков — роста волос на лице и теле, развитие хрящей гортани и формирование характерного мужского тембра голоса. Совместно с фоллитропином андрогены активируют сперматогенез.

Заметное влияние оказывают андрогены на головной мозг, в различных отделах которого имеются андрогенные циторецепторы. Андрогены влияют на развитие мозга, на половую дифференцировку гипоталамуса в эмбриогенезе, поведенческие реакции и развитие полового влечения; участвуют в формировании психофизиологических особенностей мужчины.

Индукция синтеза белков, в том числе и ферментов, является основным механизмом действия андрогенов, посредством которого они вторично усиливают аэробное сгорание углеводов, жирных кислот и образование энергии. Обнаружено также, что андрогены активируют синтез фосфолипидов, снижают содержание общих липидов и холестерина, но менее выражено, чем эстрогены.

В практическом отношении наиболее привлекает внимание анаболический эффект андрогенов, который сочетается, конечно, с андрогенным, или маскулинизирующим, действием. Попытки ослабить андрогенные и сохранить анаболические свойства привели к созданию химических производных андрогенов, названных *анаболическими стероидами*. В химическом отношении они являются норстероидами, лишенными метильной группы при C₁₉ стеранового

кольца. У лучших препаратов **норстероидов** соотношение анаболической и андрогенной активностей, принятое у тестостерона за единицу, в 5—12 раз выше, чем у тестостерона. Помимо выраженного влияния на синтез белка в мышцах, костях, почках, печени, норстероиды способствуют, как и тестостерон, отложению фосфорно-кальциевых солей в костях, мобилизации жира из жирового депо.

Нарушение андрогенной функции семенников. Дефицит андрогенов в организме (состояние, называемое евнухоидизм) обычно сопровождается недоразвитием половых органов и вторичных половых признаков, отсутствием полового влечения, запаздыванием процессов окостенения эпифизов костей (что ведет к удлинению конечностей), атрофией скелетной мускулатуры, чрезмерным отложением жира в подкожной клетчатке и внутренних органах, нарушением корковых процессов торможения.

Практическое применение андрогенов и анаболических стероидов. Препараты тестостерона и их синтетических аналогов применяются в клинике при гипофункции семенников, нарушении половой дифференцировки, функциональных нарушениях половой системы у мужчин и т. д. Анаболические стероиды (метиландростендиол, нероболл, ретаболл) используются при заболеваниях, протекающих с истощением, при недостатке роста и физического развития детей, а также при сахарном диабете, тиреотоксикозе и стероидном диабете (которые сопровождаются отрицательным азотистым балансом) и для стимуляции сращения костей при переломах.

10. Гормоны тимуса

Тимус можно назвать железой смешанной секреции, так как в нем происходит образование лимфоидных клеток и «расселение» их по лимфатическим узлам и селезенке и образование гормонов. Из тимуса экстрагированы пять полипептидов: *тимозин, гомеостатический тимусный гормон, тимопоэтины I и II, тимусный гуморальный фактор* и стероидоподобное вещество — *тимостерин*. Всем им приписывают функции гормонов, которые влияют на скорость развития и созревания предшественников лимфоидных клеток.

Таким образом, тимус имеет отношение к формированию и деятельности иммунной системы организма. Функция тимуса тесно связана с другими, нетимусными, гормонами, влияющими на образование лимфоцитов и секрецию гормонов в железе. Так, иодтиронины, эстрогены, соматотропин и, возможно, инсулин, а также вещества, усиливающие их секрецию, стимулируют образование тимусных гормонов и лимфопоэз. Напротив, глюкокортикоиды, андрогены, прогестерон оказывают обратный эффект и угнетают иммунитет. Участие гормонов тимуса в регуляции обмена веществ, помимо иммунологических их функций, окончательно не выяснено.

При врожденном отсутствии тимуса наблюдается комбинированная иммунная недостаточность ввиду отсутствия источника образования лимфоидных клеток и тимусных гормонов, регулирующих развитие и созревание лимфоцитов. Недостаточное развитие тимуса у детей приводит к нарушению синтеза гуморальных антител (агаммаглобулинемия), либо к отсутствию клеточного иммунитета (при нормальном образовании антител).

11. Гормоны эпифиза

В эпифизе синтезируется *мелатонин*, источником которого служит триптофан. Промежуточным продуктом синтеза является серотонин, который затем метилируется с участием метилтрансферазы и ацетируется с участием серотонин-N-ацетилтрансферазы. Синтез мелатонина периодически изменяется в течение суток и зависит от освещенности. В темноте увеличивается синтез метилтрансферазы и образование мелатонина. На свету нервные сигналы, поступающие из зрительного анализатора по симпатическим волокнам в эпифиз, тормозят активность ацетилтрансферазы и синтез мелатонина.

Мелатонин тормозит секрецию гонадотропинов в гипофизе или через либерины гипоталамуса, или непосредственно, угнетая этим половое созревание. Увеличение светового дня тормозит синтез мелатонина, благодаря чему активно секретируются гонадотропины, вызывающие рост гонад, образование в них половых гормонов и повышение половой активности. Уменьшение светового дня вызывает противоположные изменения.

12. Гормоны гипоталамо-гипофизарной системы

Образование и выделение гормонов в гипоталамусе и гипофизе тесно связаны, поэтому их целесообразно рассматривать вместе. В передней и средней доле гипофиза (аденогипофиз) образуются тропные гормоны, задняя доля (нейрогипофиз) только секретирует нейрогормоны (вазопрессин и окситоцин), образующиеся в ядрах гипоталамуса.

По химическому строению тиреотропин, фоллитропин, лютропин являются гликопротеидами. Они состоят из двух субъединиц: α и β . α -Субъединицы у них одинаковы, а β -субъединицы различаются, определяя специфичность гормонов. Остальные гормоны являются простыми белками, имеющими одну полипептидную цепь, а вазопрессин и окситоцин — циклические октапептиды.

Секреция тропных гормонов контролируется пептидами гипоталамические. В настоящее время выделены следующие гипоталамические нейропептиды — регуляторы секреции гормонов гипофиза:

Тропный гормон

Соматотропин
Кортикотропин
Тиреотропин
Фоллитропин
Лютропин
Пролактин
Меланотропин

Нейропептид гипоталамуса

Соматолиберин, соматостатин
Кортиколиберин
Тиреолиберин
Фоллилиберин
Люлиберин
Пролактилиберин, пролактостатин
Меланолиберин, меланостатин

Механизм действия и функции гормонов гипофиза

Все тропные гормоны реализуют свое действие на функции периферических желез или непосредственно на периферические ткани после связывания с их мембранными рецепторами и активации аденилатциклазы. цАМФ оказывает влияние на гормонообразование или обмен веществ в клетках-мишенях.

Эффекты, вызываемые гипофизарными гормонами, можно разделить на четыре группы:

1) регуляция биосинтеза и секреции гормонов периферическими железами (тиреотропин, фоллитропин, лютропин, пролактин, кортикотропин, соматотропин);

2) влияние на образование половых клеток (фоллитропин);

3) регуляция функции и метаболизма исполнительных тканей и органов (соматотропин, α - и β -липотропины, кортикотропин, лютропин, фоллитропин, меланотропин, пролактин, окситоцин, вазопрессин);

4) регуляция функции нервной системы (кортикотропин, β -липотропин и др.).

Первые две функции гормонов гипофиза рассматривались в ходе изложения периферических желез.

Прямое влияние гипофизарных гормонов на периферические ткани.

Кортикотропин оказывает прямое действие на жировую ткань, стимулируя поглощение ею глюкозы и освобождение жирных кислот и глицерина. Жиромобилизующий эффект гормона связан с активацией аденилатциклазы, образующаяся цАМФ стимулирует триацилглицеринлипазу, которая расщепляет триацилглицерина на глицерин и жирные кислоты. Кроме того, кортикотропин обладает сходным с меланотропином действием на образование меланина и пигментацию кожи.

α - и β -*Липотропины* оказывают специфическое жиромобилизующее действие, механизм которого тот же, что и у всех гормонов, стимулирующих образование цАМФ.

Гонадотропины вызывают сходный с липотропинами жиромобилизующий эффект. Кроме того, пролактин стимулирует синтез белков и лактозы эпителием молочных желез.

Вазопрессин, или антидиуретический гормон, помимо жиромобилизующего действия оказывает избирательное влияние на реабсорбцию воды в дистальных канальцах и собирательных трубках почек. В них он также активирует аденилатциклазу. цАМФ активирует протенинкиназы, которые фосфорилируют белки клеточных мембран, увеличивая их проницаемость для воды. Реабсорбция воды снижает диурез, повышается концентрация натрия и хлоридов в моче и ее плотность. Вазопрессин вызывает сокращение сосудов мышечного типа и умеренно повышает кровяное давление.

При недостатке вазопрессина развивается заболевание *несахарный диабет*. Для него характерно выделение большого количества мочи (10 л в сутки) низкой плотности (1,002—1,006); развивается жажда. Препараты вазопрессина устраняют симптомы заболевания.

Окситоцин стимулирует сокращение матки, что связано с повышением внутриклеточной концентрации Ca^{2+} и образованием цГМФ. Окситоцин повышает синтез белка в молочной железе при лактации (отчасти этим свойством обладает и вазопрессин) и отделение молока за счет повышения сократительной активности миоэпителия молочных ходов. Гормон оказывает инсулиноподобное действие на жировую ткань, повышая потребление глюкозы и синтез триацилглицеринов в ней.

Меланотропин. Имеются α - и β -меланотропины. Оба гормона, образующиеся в средней доле гипофиза, влияют на образование меланина в коже, радужке и пигментном эпителии сетчатки глаза. На жировую ткань они оказывают жиромобилизующее действие, вызываемое стимуляцией образования в ней цАМФ.

Соматотропин, или гормон роста, является единственным гормоном, имеющим видовую специфичность биологического эффекта. Соматотропин животных не действует на человека. Соматотропин стимулирует деление клеток хрящей, рост костей в длину, а также увеличение массы внутренних органов и мягких тканей лица и ротовой полости. Соматотропин оказывает прямое и опосредованное влияние на периферические ткани. Прямое действие его связано с активированием аденилатциклазы и образованием цАМФ, например в мышцах, в островковой ткани поджелудочной железы. В островках гормон стимулирует выделение глюкагона и инсулина, причем первого сильнее, чем второго. Возможно, из-за этого соматотропин оказывает диабетогенный эффект.

Опосредованное влияние соматотропина связано с тем, что он вызывает образование рострегулирующих полипептидов, названных *соматомединами*. Они выделяются в кровь и проявляют свойства, характерные для соматотропина. Из плазмы крови человека выделено семь соматомединов с молекулярной массой около 7000: соматомедин А (A_1 и A_2), соматомедины В, объединяющие группу из четырех полипептидов, и соматомедин С. Соматомедины группы А и С усиливают деление хрящевых клеток, синтез ДНК, РНК, белка и включение сульфатов в синтезируемые ими протеогликаны. Кроме того, соматомедин С действует на жировую и мышечную ткань подобно инсулину, т. е. усиливает поглощение ими глюкозы и тормозит липолиз в жировой ткани. Соматомедины В стимулируют синтез ДНК и белка в клетках нервной системы. В целом соматотропин оказывает выраженный анаболический эффект, сопровождающийся положительным азотистым балансом.

При дефиците соматотропина в молодом организме наблюдается преждевременная остановка роста, ведущая к карликовости. Рост взрослого карлика не превышает 100—120 см. В отличие от карликовости, развивающейся при гипотиреозе, у гипофизарных карликов телосложение остается пропорциональным, отсутствуют признаки умственной отсталости. Гиперсекреция соматотропина в молодом возрасте проявляется в виде гигантизма, в зрелом возрасте она приводит к состоянию, называемому акромегалией. Проявляется акромегалия в увеличении выступающих частей лица (носа, подбородка, надбровных дуг) и мягких тканей лица и ротовой полости (например, языка), иногда увеличиваются в размерах отдельные пальцы ног, рук или в целом стопа или кисть. Физиологическая, слабо выраженная акромегалия развивается в период беременности, когда плацента вырабатывает в больших количествах соматотропин; после родов она проходит.

Участие гипоталамо-гипофизарных гормонов в регуляции функции центральной нервной системы

В 1975 г. из нервной ткани были выделены два пентапептида: **лейцин-энкефалин** и **метионин-энкефалин**, обладающие способностью связываться с опиоидными рецепторами и действовать подобно морфину. Позднее в гипофизе были обнаружены и другие эндогенные опиаты — α -, β -, γ -эндорфины, являющиеся пептидами. Все эти вещества с опиатоподобным действием, включая ранее открытые энкефалины, получили общее групповое название — **эндорфины** или **эндогенные морфины**. Эндорфины являются продуктами ограниченного протеолиза гормонов гипофиза, т. е. имеют гормональное происхождение.

Предполагают, что в гипофизе образуется крупный прегормональный белок, из которого образуются β -липотропин и кортикотропин. Ограниченный протеолиз β -липотропина и кортикотропина приводит к образованию эндорфинов, пептидов обучения и памяти и α - и β -меланотропинов. Последние также содержат аминокислотную последовательность пептидов, облегчающих обучение и запоминание. Все нейропептиды являются, очевидно, медиаторами или модуляторами в синапсах, влияя на функцию нейронов. С эндорфинами связывают обезболивающее действие, состояние эйфории и отклонения психической деятельности вследствие нарушения их обмена при шизофрении. Эндорфины оказывают более сильное болеутоляющее действие, чем морфин. Эффективность обезболивающего влияния иглоукалывания тоже связывается с эндорфинами.

Практическое применение гормонов гипофиза и гипоталамуса

Среди пептидов — регуляторов гипоталамуса в качестве препарата нашел применение *соматостатин*. Он используется для лечения сахарного диабета, так как сдерживает влияние эндогенного соматотропина на секрецию глюкагона. Вазопрессинсодержащие препараты (*адиурекрин*) используются в лечении несахарного диабета, а *окситоцин* — для стимуляции сокращений матки при родах.

Все тропные гормоны гипофиза, за исключением соматотропина и тиреотропина, применяются в практической медицине. Кортикотропин — для стимуляции функции коры надпочечников и при тех же состояниях, что и глюкокортикоиды, секрецию которых он стимулирует. Аналог фоллитропина — сывороточный гонадотропин — и лютропина — хорионический гонадотропин — используются для нормализации циклической деятельности яичников у женщин и при гипофункции семенников у мужчин. Пролактин применяется для стимуляции процесса лактации у женщин. Делаются попытки применить меланотропин для повышения образования меланина при поражении сетчатки и β -липотропина для лечения ожирения.

13. Антигормоны

Антигормонами называются соединения, проявляющие антигормональную активность путем связывания с цитозольными рецепторами. Проявляя антигормональную активность в отношении другого гормона, они могут обладать или не обладать собственной гормональной активностью. В основе молекулярного механизма действия антигормонов лежат их конкурентные отношения за участки связывания с соответствующими цитозольными рецепторами. Благодаря этому комплекс антигормон — цитозольный рецептор не способен играть роль индуктора синтеза белков в клетках. Антигормоны обладают меньшим сродством к рецепторам, чем истинные гормоны. Они вытесняют последние только по достижении более высоких концентраций в клетке.

К природным антигормонам относятся эстрогены и андрогены, конкурирующие за связывание с рецепторами противоположного гормона: эстрогены блокируют андрогенные рецепторы, а андрогены — эстрогенные. Примерами антигормонов могут быть *17- α -метилтестостерон* для рецепторов глюкокорти-

коидов, *спиролактоны* для рецепторов минералокортикоидов, *флутамид* для рецепторов андрогенов, *нафоксидин* для рецепторов эстрогенов.

Следует отметить особенность некоторых антигормонов. Если после связывания их с рецептором комплекс не способен транспортироваться в ядро и взаимодействовать с хроматином, то наблюдается истинный антигормональный эффект, т. е. свойства данного гормона не проявляются. Если же комплекс антигормон — рецептор сохранил в той или иной степени эту способность, то можно наблюдать имитацию антигормоном гормональной активности. Например, нафоксидин сочетает в себе антиэстрогенную и эстрогенную активность. В матке, связываясь с рецепторами, он действует как эстрадиол; в то же время в опухолях молочной железы и печени он, взаимодействуя с эстрогенными рецепторами, проявляет антиэстрогенную активность.

Антигормоны используют не только в лабораторных исследованиях для изучения механизма действия гормонов, но и в медицинской практике. Так, тестостерон и эстрадиол применяют при лечении опухолей половой сферы у лиц противоположного пола: тестостерон — у женщин, эстрадиол — у мужчин. Используют антигормоны при гормональнозависимых опухолях, когда нужно исключить действие гормона на делящиеся клетки опухоли, при отклонениях в половом поведении (гиперсексуальность) и т. д.

14. Простагландины

Простагландины — это гормоноподобные вещества, являющиеся производными C_{20} -полиеновых жирных кислот, содержащих циклопентановое кольцо. Они впервые были найдены Эйлером в экстрактах предстательной железы (prostata), поэтому названы им простагландинами. Сейчас известно, что простагландины образуются во всех клетках и тканях организма человека, за исключением эритроцитов. Это короткоживущие соединения, которые синтезируются в небольших количествах по мере необходимости и оказывают биологический эффект на месте своего образования.

Строение и номенклатура. Простагландины (ПГ) можно рассматривать как производные простановой кислоты — соединения, не найденного в природе, но полученного синтетическим путем. В зависимости от типа и числа кислородных заместителей, а также расположения двойных связей в циклопентановом кольце простагландины делят на несколько типов, обозначаемых буквами латинского алфавита: А, В, С, D, E, F, G, H. Внутри каждого типа простагландинов имеется несколько серий, различающихся числом двойных связей в боковых частях молекулы и обозначаемых цифровыми индексами (например, ПГЕ₁, ПГЕ₂, ПГЕ₃). Кроме того, может быть разная ориентация ОН-группы и циклопентанового кольца, которая указывается после цифровых индексов буквами α и β (например, ПГF_{2 α} , ПГF_{1 β}). Все природные простагландины имеют α -конфигурацию.

Биосинтез и метаболизм. Исходным субстратом для синтеза простагландинов являются такие полиеновые жирные кислоты, как эйкоза-8,11,14-триеновая (гомо- γ -линолевая), эйкоза-5,8,11,14-тетраеновая (арахидоновая) и эйкоза-5,8,11,14,17-пентаеновая.

Образование этих кислот в тканях происходит из линолевой кислоты, которая в животном организме не синтезируется и поэтому должна поступать с пищей, т. е. линолевая кислота служит незаменимым фактором пищи.

В организме линолевая кислота превращается преимущественно в арахидоновую кислоту, которая не может существовать в свободном состоянии и быстро включается в состав фосфолипидов практически всех тканей. Арахидоновая кислота составляет основную долю всех C_{20} -полиеновых жирных кислот внутриклеточных фосфолипидов и является исходным субстратом для образования простагландинов. Биосинтез их начинается с высвобождения арахидоновой кислоты из фосфолипидов под действием тканевой фосфолипазы A_2 (иногда C). В дальнейшем арахидоновая кислота подвергается действию циклооксигеназы жирных кислот, входящей в состав подферментного комплекса — *простагландинсинтетазы*. В результате образуются биологически активные промежуточные продукты — эндопероксиды простагландинов, называемых также PGG_2 и PGH_2 . Конечные продукты биосинтеза простагландинов неодинаковы в разных клетках и тканях. В большинстве из них эндопероксиды простагландинов превращаются в простагландины типа E и F (среди которых наибольшую долю составляют PGE_2 и $PGF_{2\alpha}$), а также в PGD . Простагландины типа A образуются при дегидратации PGE , а простагландины типа B и C — изомеризацией двойной связи в циклопентановом кольце PGA .

Однако в стенке сосудов из эндопероксида типа PGG_2 образуется особый тип простагландина I_2 , больше известный под названием *простациклин*. В тромбоцитах и тучных клетках из PGH_2 синтезируются соединения с шестичленным оксановым кольцом, которые названы *тромбоксанами* (TX). Имеются тромбоксаны типа A и B , делящиеся на несколько серий по тому же принципу, что и простагландины.

В лейкоцитах метаболизм арахидоновой кислоты идет по иному пути. С участием фермента липооксигеназы она превращается в нециклические ненасыщенные производные, которые получили название *лейкотриенов* (LT). В зависимости от особенностей строения выделяют LT типа A, B, C, D и E , а по количеству двойных связей их делят на серии $3, 4$ и 5 .

Образование простагландинов, простациклинов, тромбоксанов и лейкотриенов показано на схеме



Все эти вещества имеют короткий полупериод распада (от нескольких секунд для тромбоксанов до 20 мин для простагландинов), быстро подвергаются инактивации и выводятся с мочой из организма.

Биологическое действие. Разные типы простагландинов, например E и F, оказывают неодинаковый и даже противоположный эффект; более того, простагландины одного типа, но разных серий, например E₁ и E₂, в некоторых случаях оказывают противоположное действие. Необычайное разнообразие эффектов и высокую активность простагландинов связывают с их влиянием на обмен веществ через внутриклеточные посредники: цАМФ, цГМФ и ионы Ca²⁺.

Отмечено, что чаще всего простагландины повышают содержание цАМФ, усиливая связанное с ним воздействие на обмен и функцию данной ткани. Так, повышая уровень цАМФ в эндокринных железах, они стимулируют образование и секрецию гормонов. Например, в надпочечниках — образование стероидных гормонов и выделение катехоламинов, в щитовидной железе — синтез иодтиронинов, в поджелудочной — освобождение инсулина. Однако в жировой ткани простагландины снижают образование цАМФ и тормозят липолиз подобно инсулину, т. е. они проявляют антагонизм в отношении эффекта катехоламинов и полипептидных гормонов, которые, повышая содержание цАМФ в жировой ткани, усиливают липолиз.

ПГF_{2α} регулирует сокращение гладких мышц матки, бронхов и кишечника, больше действуя через цГМФ или ионы Ca²⁺.

Ряд клеток имеет мембранные рецепторы для простагландинов. Поэтому в одних тканях образуются простагландины могут влиять на содержание внутриклеточных посредников изнутри (непосредственно изменяя активность ферментов, участвующих в превращении этих посредников), а в других действовать, подобно гормонам, через специфические рецепторы.

Простагландины обладают поразительно широким спектром биологического действия и чрезвычайно высокой активностью (миллионной доли грамма их достаточно для проявления эффекта).

Простагландины, особенно F_{2α}, усиливают сокращение матки, маточных труб и вызывают рассасывание желтого тела, тем самым облегчая прерывание беременности и оказывая родостимулирующее действие.

Неодинаково влияют разные типы простагландинов на тонус гладких мышц других органов. Так, ПГD₂, ПГG₂, ПГH₂, ТХА₂ и ЛТ вызывают сокращение бронхов, а ПГE — их расслабление; ПГF_{2α} и тромбоксан A₂ сужают кровеносные сосуды и повышают артериальное давление, а простаглицлин и ПГE₂ вызывают сосудорасширяющий эффект и падение этого давления. Простаглицлин и ПГE₂ увеличивают объем мочи и выведение с ней натрия, что также помогает снижению тонуса кровеносных сосудов и препятствует развитию гипертонии.

Простагландины усиливают моторику кишечника, но по-разному действуют на секрецию желудочного сока. В частности, ПГE тормозит секрецию желудочного сока, ПГF_{2α} — ее усиливает.

Роль простагландинов в патологии. Избыточное образование простагландинов или их дефицит могут служить причиной патологических процессов, в частности таких, как воспаление, тромбозы, язва желудка и др.

Действием простагландинов и лейкотриенов, образующихся в тканях из арахидоновой кислоты, можно объяснить все характерные симптомы воспа-

ления: покраснение, отек, повышение температуры и боль. Простагландины расширяют сосудистые капилляры и увеличивают их проницаемость, в результате чего развивается покраснение и отечность воспаленного очага. Лейкотриены способствуют хемотаксису лейкоцитов, т. е. миграции их к месту образования лейкотриенов, прилипанию лейкоцитов к стенке сосуда и скоплению их в месте воспаления. Ферменты лейкоцитов участвуют в уничтожении бактерий, вызывающих воспаление. Если лейкотриены не образуются, то это препятствует локализации воспаления и может привести к развитию бактериемии. Повышение температуры и лихорадка, наблюдаемые при воспалении, вызываются действием простагландинов на терморегулирующие центры гипоталамуса, а болевой симптом — тем, что простагландины повышают чувствительность нервных окончаний к раздражающему действию гистамина. Кроме того, установлено, что медленно реагирующая субстанция анафилаксии (SRS—A) представляет собой смесь лейкотриенов, а образующееся в легких при анафилаксии вещество RCS (сокращающая аорту кролика субстанция) есть не что иное, как смесь ПГГ₂, ПГН₂ и ТХА₂.

Следовательно, простагландины, лейкотриены и тромбоксаны являются медиаторами воспалительных и аллергических реакций. Природные и синтетические препараты глюкокортикоидов, блокируя фосфолипазу А₂, снижают образование простагландинов из арахидоновой кислоты и оказывают противовоспалительный эффект. Негормональные противовоспалительные средства (ацетилсалициловая кислота, индометацин, диклофенак и др.), ингибируя циклооксигеназу, препятствуют синтезу простагландинов, а рутин, угнетая липооксигеназу, снижает образование лейкотриенов и уменьшает признаки воспаления.

Важную роль в развитии тромбоза сосудов играют тромбоксан и простаглицлин. Тромбоксан А₂ способствует тромбообразованию сосудов, так как вызывает слипание тромбоцитов и тем самым облегчает участие тромбоцитарных факторов в свертывании крови. Простаглицлин, напротив, является сильнейшим природным ингибитором агрегации тромбоцитов и антитромбообразующим веществом. Соотношение простаглицлин/тромбоксан в стенке сосудов имеет важное значение в развитии тромбоза. Антитромботический эффект ацетилсалициловой кислоты и индометацина объясняется тем, что они тормозят образование тромбоксана и агрегацию тромбоцитов.

Следует упомянуть, что простаглицлин Е₂ препятствует развитию язв в слизистой желудка и кишечника, поэтому препараты (особенно глюкокортикоиды), подавляющие биосинтез простагландинов, приводят к образованию язв, сопровождающихся желудочно-кишечными кровотечениями.

Применение в практике. Простаглицлин F_{2α} (динопрост, энзопрост F) используют в акушерстве для прерывания беременности и как родостимулирующее средство, а простаглицлин Е₂ (динопростон, простин Е₂) применяется для купирования приступов спазма бронхов, гипертонии и язвенной болезни.

15. Биохимическая адаптация

Адаптация, или приспособление, есть совокупность процессов в организме, формирующих его устойчивость к изменившимся условиям существования. При адаптации происходит направленная перестройка физиологических и био-

химических функций к действию неблагоприятного фактора, которая позволяет организму не только выжить, но продолжить существование в экстремальных условиях. В зависимости от уровня приспособительных реакций полезно выделить *физиологическую* (системную) и *биохимическую* (клеточную) *адаптацию*. Физиологическая адаптация связана с перестройкой деятельности системных функций организма (например, кровообращения, дыхания, нервной системы и т. д.), позволяющих сохранить постоянство внутренней среды организма и облегчить деятельность тканей и клеток, например улучшая снабжение их питательными веществами, кислородом и ускоряя выведение продуктов жизнедеятельности. Однако, являясь частью организма, клетки обладают собственными механизмами перестройки обмена веществ, которые противодействуют изменившимся условиям жизнедеятельности и помогают приспособляться к ним. По сути своей клеточная адаптация основывается на биохимических механизмах перестройки обмена веществ, поэтому она и называется *биохимической адаптацией*. Сочетание физиологических (системных) и клеточных механизмов адаптации дает возможность приспособиться организму к неблагоприятным условиям.

Адаптация и регуляция тесно связаны, ибо направить в нужное русло обмен веществ можно только с помощью системы внеклеточных регуляторов, запускающих собственные регуляторные механизмы клетки. Биохимическая адаптация, как и регуляция, может быть срочной и долговременной. Срочная адаптация связана с быстрой перестройкой обмена веществ, происходящей в начале критической ситуации. Эти изменения в обмене веществ обусловлены включением срочных механизмов регуляции клеточного метаболизма, а именно — действием нервно-гормональных стимулов на проницаемость клеточных мембран и активность ферментов.

Долговременная адаптация выражается стойкой перестройкой обмена веществ, развивающейся вследствие длительного действия неблагоприятных факторов. Если срочная адаптация направлена на выживание клетки, то долговременная — на сохранение жизнеспособности ее в неблагоприятных условиях. При долговременной адаптации перестройка метаболизма обусловлена включением долговременных механизмов регуляции, т. е. влиянием нервно-гормональных стимулов на синтез ферментов и других функциональных белков. В результате индукции «нужных» белков складывается иной, чем обычно, тип обмена веществ, наилучшим образом отвечающий работе клетки в данной неблагоприятной ситуации. Если по каким-либо причинам не формируется требуемый состав функциональных белков, то ткани, да и организм в целом, не могут приспособиться к сложившимся условиям среды, что проявляется в виде болезни адаптации, или акклиматизации.



ГЛАВА 28. БИОХИМИЯ КРОВИ

Специализация биохимических функций зависит главным образом от состава ферментов и других белков, образование которых предопределяется особенностями реализации генетической информации в процессе развития и дифференцировки клеток, тканей и органов.

Каждой ткани и органу помимо общих для любой живой системы биохимических процессов присущи специализированные функции, выполняемые ими в организме.

Кровь — жидкая ткань, состоящая из клеток (форменных элементов крови) и внеклеточной жидкой среды. При осаждении клеток крови в присутствии противосвертывающих веществ получается надосадочная жидкость, называемая *плазмой*. Плазма представляет собой опалесцирующую жидкость, содержащую все внеклеточные компоненты крови (табл. 35). По объему клетки крови составляют около 45%, остальное — плазма. Если дать крови свернуться и затем отделить сгусток, получается сыворотка крови. Сыворотка — та же плазма без фибриногена, вошедшего в состав сгустка крови.

В крови около 83% воды, остальное — сухое вещество. По физико-химическим свойствам кровь представляет собой вязкую жидкость с плотностью 1,050—1,060. Вязкость и плотность крови зависят от относительного содержания клеток крови и белков плазмы. pH крови (7,36—7,40) поддерживается буферными системами на постоянном уровне и не смещается больше чем на 0,05—0,1 единицы.

I. Составные компоненты крови

Клеточные и внеклеточные компоненты крови имеют разное происхождение, поэтому они являются как бы индикаторами биохимических физиологических процессов тех тканей и органов, откуда они поступают в кровотоки. По изменениям состава крови судят о состоянии здоровья человека.

Изменения количественного, качественного состава и биохимии клеток крови сигнализируют о нарушениях в костном мозге, а если это касается лимфоцитов, то в костном мозге и лимфоидных тканях. Большинство химических компонентов плазмы крови поступает из различных органов. Клеточные мембраны непроницаемы или плохо проницаемы для макромолекул (белков, ферментов), поэтому макромолекулы секретируются тканями и органами активно

Т а б л и ц а 35. Биохимические показатели плазмы

Показатели	Содержание	Показатели	Содержание
I. Белки		5. Мочевина	3—7 ммоль/л
1. Общие	65—85 г/л	6. Мочевая кислота	0,1—0,4 ммоль/л
2. Альбумины	35—60 г/л	7. Пигменты:	
3. Преальбумин	0,1—0,4 г/л	билирубин общий	8—20 мкмоль/л
4. Глобулины	25—35 г/л	билирубин неконъю-	75% общего
α_1	2,5—5%	гированный	
α_2	7—13%	моноглокуронид	5% общего
β	8—14%	диглокуронид	20% общего
γ	12—22%	III. Углеводы и мета-	
5. Фибриноген	2,0—7,0 г/л	болиты	
6. Липопротеиды:		1. Глюкоза	2,8—4,0 ммоль/л
хиломикроны	0—0,5 г/л	2. Сахароза	0,8—1,2 г/л
пре- β -липопротеиды	1,5—2,0 г/л	3. Лактат	0,5—2,0 ммоль/л
β -липопротеиды	3,0—6,0 г/л	4. Пируват	0,1 ммоль/л
α -липопротеиды	2,2—3,2 г/л	IV. Липиды и метабо-	
7. Гемоглобин	0,28—1,9 г/л	литы	
8. Ферменты:		1. Общие липиды	4—8 г/л
аланиламино-трансфе-	0 16 0,68	2. Триацилглицерины	0,5—2,1 ммоль/л
раза	ммоль/(ч·л)	3. Фосфолипиды общие	2,0—3,5 ммоль/л
аспартатамино-транс-	0 10 0,45	4. Холестерин общий	4,0—10,0 ммоль/л
фераза	ммоль/(ч·л)	5. Жирные кислоты	0,3—0,8 ммоль/л
лактатдегидро-геназа	0,8 4,0	свободные	
креатинкиназа	ммоль/(ч·л)	6. Кетоновые тела (в	100—600 мкмоль/л
фруктозобисфосфат-	До 1,2 ммоль/(ч·л)	пересчете на ацетон)	
альдолаза	(с активаторами)	V. Минеральные веще-	
сорбитдегидрогеназа	3,6 21,8	ства	
ацетилхолинэстераза	мкмоль/(ч·л)	1. Натрий	135—155 ммоль/л
α -амилаза	0,9 мкмоль/(ч·л)	2. Калий	3,6—5,0 ммоль/л
II. Небелковые азотсо-	160 340	3. Хлориды	97—108 ммоль/л
держивающие вещества	ммоль(ч·л)	4. Кальций:	
1. Азот остаточный (не-	15—30 г/(ч·л)	общий	2,25—2,75 ммоль/л
белковый)		ионизированный	50—58% общего
2. Азот α -аминокислот	19,5—30 ммоль/л	5. Неорганический фос-	3,0—5,0 ммоль/л
3. Креатин	3,5—5,5 ммоль/л	фор	
4. Креатинин	15—70 мкмоль/л	6. Сульфаты	0,4—0,6 ммоль/л
	40—150 мкмоль/л	7. Железо	14—32 мкмоль/л

(экзоцитоз). Основным источником макромолекул являются печень, эндокринные железы, частично слизистая кишечника и сами клетки крови. Остальные органы и ткани в физиологических условиях в незначительной степени участвуют в формировании белкового состава плазмы. Низкомолекулярные компоненты плазмы имеют более разнообразное происхождение и характеризуют различные стороны метаболизма тканей.

Биохимические и физиологические функции крови определяются совместным участием клеток крови и химических компонентов плазмы.

2. Биохимические особенности клеток крови

Эритроциты

Эритроциты составляют основную часть клеток крови. Будучи безъядерными клетками, они не обладают способностью синтезировать новые белки и адаптироваться к изменениям факторов среды. Эритроциты относятся к клеткам с анаэробным типом энергии, которая вырабатывается в гликолизе. В них имеются отдельные дегидрогеназы цикла Кребса и ферменты дыхательной цепи, которые свидетельствуют о том, что незрелые эритроциты содержали митохондрии. Глюкоза потребляется эритроцитами из плазмы. За 1 ч все эритроциты крови используют около 0,7 г глюкозы. Энергия гликолиза используется главным образом на поддержание трансмембранного градиента ионов Na^+ и K^+ : внутри эритроцитов высокое содержание K^+ и низкое Na^+ , а в плазме наоборот. Этот процесс осуществляет Na^+ , K^+ -АТФаза, высокоактивная в мембранах эритроцитов. Блокада гликолиза — источника энергии для Na^+ , K^+ -АТФазы — выравняет трансмембранный потенциал и приводит к гибели эритроцитов. В эритроцитах активен пентозофосфатный цикл. Производство $\text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$ этим циклом поддерживает целостность мембраны эритроцитов, облегчая инактивацию пероксидов липидов мембран.

Особенностью гликолиза в эритроцитах является наличие шунта, приводящего к образованию 2,3-дифосфоглицерата. Это вещество играет роль регуляторного приспособления для работы гемоглобина, основного компонента эритроцитов, определяющего их специализированные функции. В одном эритроците около миллиона молекул гемоглобина. Содержание его в цельной крови составляет 140—160 г/л, или 750 г на всю массу крови. Функция гемоглобина — связывать и переносить кислород от легких к тканям, а углекислый газ в обратном направлении. Для транспорта газов необходимо тесное взаимодействие эритроцитов и плазмы. За время своего существования, составляющее около 120 дней, эритроцит прodelывает гигантскую работу, перенося от легких к тканям до миллиарда молекул кислорода.

Нейтрофилы

Нейтрофилы играют защитную роль. Они обладают способностью проявлять антимикробное действие, а также поглощать и переваривать погибшие микроорганизмы, фрагменты поврежденных тканей.

В этих клетках возможен биосинтез белков, и они могут приспособляться к меняющимся условиям среды, хотя этот процесс, видимо, не очень интенсивен. Снабжение энергией клеточных функций осуществляется в них преимущественно за счет гликолиза и менее активно путем окислительного

фосфорилирования. Глюкоза, поглощаемая клетками, превращается в пентозофосфатном цикле и участвует в синтезе гликогена. Так как нейтрофилы проявляют антимикробные функции, характерной особенностью их обмена является наличие ферментов, продуцирующих H_2O_2 (миелопероксидаза) и супероксидный радикал (НАДФ·Н-оксидаза). H_2O_2 и супероксидный радикал как сильные окислители уничтожают микробы в момент фагоцитоза, особенно быстро микроорганизмы, не имеющие от них защиты. Другой особенностью нейтрофилов является наличие большого числа лизосом, гидролитические ферменты которых переваривают поглощенный материал. Кроме того, нейтрофилы содержат лизоцим, лизирующий микробные клетки.

Базофилы

Базофилы активно образуются в костном мозге при аллергии. Они участвуют в аллергических реакциях, в процессах свертывания крови и внутрисосудистом липозе. Базофилы имеют аппарат синтеза белка, обладают интенсивным окислительным обменом. Образование энергии происходит путем окислительного фосфорилирования. Базофилы синтезируют и накапливают так называемые медиаторы аллергических реакций — гистамин, серотонин, гепарин, медленно реагирующую субстанцию. При развитии аллергии эти вещества выделяют из гранул базофилов и вызывают местную реакцию воспаления. Гепарин участвует в активации липопроотеинлипазы и распаде триацилглицеринов. Кроме того, он препятствует свертыванию крови.

Эозинофилы

Эозинофилы участвуют в аллергических реакциях, поэтому их количество повышается при сенсibilизации организма. Эозинофилы способны синтезировать белки, хотя этот процесс малоактивен. Образование энергии особенно активно происходит в гликолизе; мало активен процесс окислительного фосфорилирования. В этих клетках, как и в нейтрофилах, имеются пероксидаза и большой набор лизосомальных ферментов, но отсутствует лизоцим. Эозинофилы способны накапливать и инактивировать гистамин. В них содержится профибринолизин, участвующий в процессе «растворения» тромба, и ферменты, инактивирующие брадикинин, — кининазы.

Моноциты

Моноциты способны к фагоцитозу и проявляют антимикробную активность подобно нейтрофилам. Особенности обмена веществ, в том числе определяющими их специализированные функции, моноциты сходны с нейтрофилами.

Лимфоциты

Лимфоциты играют важную роль в формировании гуморального и клеточного иммунитета. Эти специализированные функции лимфоцитов требуют конвейерного производства иммуноглобулинов, поэтому особенностью их является мощный аппарат синтеза белков, превосходящий по активности не только все клетки крови, но многие клетки других органов и тканей. Как ни странно, но в лимфоцитах относительно мало продуктивен аэробный механизм образования энергии и, наоборот, активен гликолиз.

Тромбоциты

Тромбоциты участвуют во всех фазах свертывания крови. Они содержат РНК и необходимые компоненты для синтеза белков. Образование энергии в них осуществляется преимущественно в ходе гликолиза. В тромбоцитах происходят разнообразные реакции обмена. В них накапливается много серотонина. Однако основное значение для функции тромбоцитов имеют содержащиеся в них тромбоцитарные факторы, способствующие свертыванию крови.

3. Биохимические функции крови и их характеристика

Кровь выполняет следующие функции: 1) транспортную; 2) осморегулирующую; 3) буферную; 4) обезвреживающую; 5) защитную, или иммунологическую; 6) регуляторную, или гормоноидную; 7) гомеостатическую.

Транспортная функция крови

Транспортная функция — одна из ведущих. С кровью механическим транспортом переносятся различные вещества: питательные, газы (O_2 и CO_2), гормоны, витамины и др. Не следует считать, что если кровь транспортирует питательные вещества, то она выполняет питательную функцию, если гормоны, то гормональную и т. д. Эти функции всего лишь производные транспортных функций крови. Остановимся на наиболее важной транспортировке функции крови, связанной с переносом кислорода и углекислого газа. Эту функцию крови иногда неточно называют дыхательной, поскольку этот процесс является связующим звеном между тканевым и легочным (внешним) дыханием.

Транспорт кислорода. Все ткани организма человека требуют бесперебойной доставки кислорода от легких, куда он поступает из атмосферного воздуха, к тканям, в которых кислород потребляется в реакциях аэробного окисления веществ. В обычном состоянии ткани человека расходуют ежеминутно около 200—250 мл кислорода. За сутки его потребляется порядка 300 л, а при тяжелой работе потребность в кислороде возрастает в десятки раз. Альвеолярный воздух (при средней емкости легких 6 л) содержит не более 850 мл кислорода, что обеспечивает потребность в нем организма всего на 4 мин.

В легких происходит насыщение крови кислородом. Диффузия его из легочных альвеол в кровь идет благодаря альвеолярно-капиллярной разнице парциальных давлений кислорода, которая составляет: $13,83$ (p_{O_2} в альвеолах) — $5,98$ (p_{O_2} в капиллярах легких) = $7,85$ кПа. Кислород, проникший через стенку капилляра, растворяется в плазме крови, проходит через мембрану эритроцитов и связывается с гемоглобином. 1 г гемоглобина связывает 1,34 мл кислорода. Учтявая, что содержание гемоглобина в крови равно 140—160 г/л, можно подсчитать, что максимумально 1 л крови связывает 180—210 мл O_2 (разумеется, если весь гемоглобин насыщен кислородом). Количество кислорода, связанное с гемоглобином крови, называется кислородной емкостью крови. Она зависит главным образом от содержания гемоглобина.

При дыхании обычным атмосферным воздухом гемоглобин насыщается неполностью: на 95—97% (для полного насыщения необходимо повысить со-

держании O_2 во вдыхаемом воздухе до 35% вместо обычных 21%). Следовательно, в виде оксигемоглобина при нормальном атмосферном давлении содержится около 200 мл кислорода на 1 л крови. Небольшое количество кислорода (около 3 мл на 1 л крови) остается растворенным в плазме. Таким образом, гемоглобин, связывая примерно в 60 раз больше кислорода, обеспечивает в 60 раз более эффективный транспорт его к тканям, чем если бы он переносился просто в растворенном виде, что потребовало бы увеличения скорости кровотока в 50—60 раз. По этой причине жизнь человека без гемоглобина невозможна.

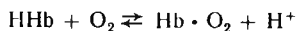
Насыщение гемоглобина кислородом зависит от парциального давления его. Эта зависимость выражается S-образной кривой (форма ее, как было рассмотрено ранее, обусловлена взаимным влиянием субъединиц гемоглобина на способность каждой из них связывать кислород). Благодаря этой зависимости можно снабжать ткани кислородом при небольших перепадах его парциального давления: от 13,03 в легочных капиллярах до 3,99—5,32 кПа в тканевых капиллярах.

В эритроцитах имеется специальное регулирующее приспособление, меняющее сродство гемоглобина к O_2 . Это уже известный 2,3-дифосфоглицерат. Низкое содержание его в легочных капиллярах повышает сродство гемоглобина к O_2 и способствует образованию оксигемоглобина; напротив, диссоциация оксигемоглобина в условиях низкого содержания 2,3-дифосфоглицерата угнетена. Увеличение образования его приводит к обратной ситуации: присоединяясь к регуляторным участкам молекулы гемоглобина, 2,3-дифосфоглицерат уменьшает сродство гемоглобина к O_2 и способствует отдаче кислорода тканям. Этот процесс наблюдается в тканевых капиллярах.

В артериальном конце капилляра кислород диффундирует через его стенку в межклеточную среду и далее внутрь клетки. Сначала диффундирует растворенный в плазме кислород, затем происходит диссоциация оксигемоглобина, диффузия кислорода через мембрану эритроцитов, растворение его в плазме и транспорт внутрь клетки. Отдача кислорода периферическим тканям приводит к падению парциального давления кислорода в венозном конце капилляра и к снижению содержания оксигемоглобина с 97% (в артериальном конце) до 65—75% (в венозном конце). Артериально-венозная разность в содержании кислорода вдоль капилляра дает представление о потребности тканей в кислороде: чем выше эта разность, тем больше потребность в кислороде данной ткани. Освобождение оксигемоглобина от кислорода в артериальном конце капилляра зависит также от расхода кислорода в окислительных реакциях клеток. Если его в силу каких-то причин расходуется в тканях мало, то из-за плохой растворимости в жидкой среде он перестает поступать из артериального русла. В этом случае наблюдается снижение артериально-венозной разницы по кислороду и высокое давление оксигемоглобина в венозном конце.

Мышечные органы имеют миоглобин, который активно связывает кислород и помогает оксигемоглобину «разгружаться» в кровеносных капиллярах. По-видимому, механическая деятельность мышечной ткани требует специальных молекул типа миоглобина, создающих кислородный резерв для непрерывного использования его в митохондриях даже в момент прекращения кровотока по капиллярам. Возможно, и в немышечных органах и в тканях имеются пока еще неизвестные кислородсвязывающие вещества. В ходе пере-

носа кислорода меняются кислотные свойства гемоглобина. Гемоглобин является менее сильной кислотой, чем оксигемоглобин, поэтому при образовании оксигемоглобина в легочных капиллярах среда становится более кислой:

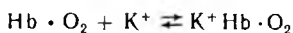


При снижении рН крови (например, при накоплении кислых кетоновых тел при сахарном диабете или длительном голодании) насыщение гемоглобина кислородом в легких ухудшается. Зато отдача кислорода оксигемоглобином в тканях облегчается. Повышение рН ведет к обратным результатам.

Транспорт углекислого газа. Транспорт углекислого газа от тканей к легким тоже связан с гемоглобином. Углекислый газ, поступающий в кровь тканевых капилляров, используется на образование угольной кислоты внутри эритроцитов с помощью *карбоангидразы*, катализирующей обратимую реакцию: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$. Угольная кислота диссоциирует на H^+ и на HCO_3^- . Однако закисления среды не происходит благодаря гемоглобину, который связывает ионы H^+ , облегчая диссоциацию оксигемоглобина. Анионы HCO_3^- взаимодействуют с катионами K^+ , концентрация которых внутри эритроцита очень высока, с образованием гидрокарбонатов: в эритроцитах — KHCO_3 , а в плазме — NaHCO_3 (так как в плазме концентрация Na^+ выше, чем в эритроцитах). Благодаря буферному действию гемоглобина нейтрализуется угольная кислота в тканях и рН крови колеблется только в узком диапазоне (не более, чем на 0,1 единицы). Частично углекислый газ связывается NH_2 -группами гемоглобина с образованием карбгемоглобина.

Следовательно, транспорт CO_2 от тканей к легким осуществляется в виде гидрокарбонатов (KHCO_3 и NaHCO_3) и карбгемоглобина, причем в обоих процессах прямо или косвенно участвует гемоглобин.

В легких происходят процессы, обратные тем, что имеют место в тканях. В крови легких образование оксигемоглобина приводит к отдаче им ионов H^+ внутри эритроцита. Ионы H^+ реагируют с KHCO_3 эритроцитов. При этом образуется H_2CO_3 , а ионы K^+ связываются оксигемоглобином:



H_2CO_3 разлагается карбоангидразой эритроцитов, а образующийся CO_2 выделяется легкими (рис. 79).

Таким образом, существует тесная связь между снабжением тканей кислородом и выносом из них углекислого газа благодаря участию гемоглобина в обоих процессах.

Осмотическая функция крови

Кровь поддерживает осмотическое давление внутри сосудов. Эту функцию выполняют белки плазмы, главным образом альбумины, и катионы Na^+ . Внутри эритроцитов эта роль отводится гемоглобину и ионам K^+ . Понижение содержания белков плазмы крови, или *гипопротеинемия*, приводит к снижению онкотического давления в капиллярах и образованию отеков. Это наблюдается при голодании («голодные» отеки), нарушениях образования альбуминов в печени и других состояниях. Повышение содержания белков и натрия в плазме приводит к задержке воды в сосудистом русле, называемой *гиперволемией*.

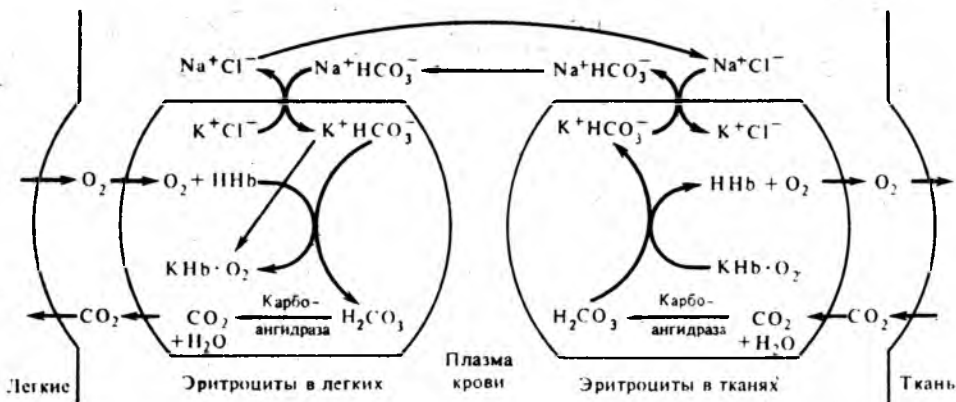


Рис. 79. Схема участия гемоглобина эритроцитов в транспорте O_2 и CO_2

Буферная функция крови

Понятие о буферных системах. Кислотно-щелочное равновесие, обеспечивающее постоянство рН жидких сред организма, определяется свойствами буферных систем. Буферные системы способны быть акцепторами и донорами водородных ионов без существенных сдвигов рН среды, т. е. устойчиво сохраняют рН среды в определенных границах, несмотря на разведение или добавление небольших количеств кислот и щелочей. Известно, что свойствами буферных систем обладают смеси слабых кислот или слабых оснований с их солью, являющиеся сопряженными кислотно-основными парами.

Буферные системы препятствуют изменению рН при добавлении избытка ионов H^+ или OH^- . Поведение буферных растворов описывается уравнением Гендерсона—Хассельбаха, которое связывает значение рН с константой кислотности (K_a):

$$pH = pK_a + \lg \frac{[\text{акцептор протонов}]}{[\text{донор протонов}]}, \text{ или } pH = pK_a + \lg \frac{[\text{основание}]}{[\text{кислота}]}$$

Из уравнения видно, что pK_a соответствует значению рН, при котором концентрации донора и акцептора протонов (или кислоты и основания) равны, а их соотношение равно единице, это соответствует средней точке кривой титрования. Буферная емкость максимальна в этой точке, т. е. при значении рН, равном pK_a кислоты буферной системы. В живых организмах есть несколько буферных систем, которые обеспечивают постоянство рН внутри клеток и во внеклеточных жидкостях. В клетках постоянство рН поддерживается за счет фосфатной и белковой буферной систем и в меньшей степени буферной системой, состоящей из органических фосфатов (гексозофосфаты, триозофосфаты, нуклеозидфосфаты). Основным внеклеточным буфером является гидрокарбонатная система, хотя и другие буферные системы тоже принимают участие в поддержании кислотно-щелочного равновесия.

Буферные системы крови. Поскольку кровь — не просто внеклеточная жидкость, а взвесь клеток в жидкой среде, то ее кислотно-щелочное равно-

весие поддерживается совместным участием буферных систем плазмы и клеток крови, главным образом эритроцитов. Различают следующие буферные системы крови: плазменные (гидрокарбонатная, фосфатная, органических фосфатов и белковая) и эритроцитарная (гемоглобиновая, гидрокарбонатная, фосфатная).

Плазменные буферные системы. Главным буфером плазмы крови является гидрокарбонатная система: $\text{H}_2\text{CO}_3 - \text{HCO}_3^-$, где H_2CO_3 — донор протонов, а HCO_3^- — сопряженное основание, акцептор протонов. pK_a этой системы равно 6,3, поэтому она особенно эффективна, если pH крови изменяется в кислую сторону. Физиологическое значение pH крови устанавливается при соотношении между концентрациями HCO_3^- и H_2CO_3 , равном 20:1 (см. уравнение Гендерсона—Хассельбаха). Именно в таком соотношении находятся компоненты гидрокарбонатного буфера.

Фосфатный буфер тоже участвует в поддержании постоянного pH плазмы крови и внеклеточных жидкостей, но в меньшей степени, чем гидрокарбонатный. Фосфатная буферная система состоит из H_2PO_4^- (кислота, донор протонов) и HPO_4^{2-} (сопряженное основание, акцептор протонов). pK_a этой системы 7,2, следовательно, емкость фосфатного буфера максимальна вблизи этого значения pH. Органические фосфаты также обладают буферными свойствами, но мощность их слабее, чем неорганического фосфатного буфера.

Белковый буфер имеет меньшее значение для поддержания кислотно-щелочного равновесия в плазме крови, чем другие буферные системы. Белки образуют буферную систему благодаря наличию кислотно-основных групп в молекуле белков: белок- H^+ (кислота, донор протонов) — белок (сопряженное основание, акцептор протонов). Рассчитано, что при pH 7,36 белки плазмы, содержащиеся в 1 л крови, способны связать 18 ммоль оснований. Белковая буферная система эффективна в области pH 7,2—7,4.

Клеточные (эритроцитарные) буферные системы. Главной и самой мощной буферной системой является гемоглобиновая, состоящая из неионизированного гемоглобина HHb (слабая органическая кислота, донор протонов) и калиевой соли гемоглобина KHb (сопряженное основание, акцептор протонов). Особенно важно, что гемоглобиновый буфер взаимодействует с гидрокарбонатной системой, являющейся главным щелочным резервом крови. В тканевых капиллярах взаимодействие гемоглобина с углекислотой приводит к сохранению гидрокарбонатов, т. е. щелочных резервов крови. В легких гемоглобин вытесняет из гидрокарбонатов H_2CO_3 и понижает щелочные резервы крови.

Все буферные системы препятствуют нарушению кислотно-щелочного равновесия. Оно может нарушиться при накоплении кислых веществ, например кетоновых тел при сахарном диабете. Это состояние называется ацидозом. Если при этом pH крови не изменяется, то говорят о компенсированном ацидозе; если pH сдвигается, то о некомпенсированном ацидозе. Различают две формы ацидоза: метаболический и газовый. Метаболический ацидоз развивается за счет задержки в организме кислых метаболитов, главным образом органических кислот. Он сопровождается снижением щелочных резервов крови, так как кислоты вытесняют из гидрокарбонатов H_2CO_3 . Газовый ацидоз наблюдается вследствие накопления угольной кислоты в организме. В отличие от метаболического ацидоза при нем происходит увеличение щелочных резервов крови, поскольку H_2CO_3 является их частью.

Накопление щелочных веществ в крови называют *алкалозом*, который имеет те же формы — метаболическую и газовую. Первая сопровождается увеличением щелочных резервов крови, а вторая, развивающаяся вследствие избыточного выведения через легкие угольной кислоты (гипервентиляция легких), их понижением.

Обезвреживающая функция крови

Эта функция обеспечивает обезвреживание и снижение токсичности поступающих в кровь веществ. Обезвреживание осуществляется за счет разведения токсических веществ, их связывания главным образом альбуминами плазмы. Тем самым снижается возможность проникновения вредных веществ в ткани и облегчается их выведение из организма. Кроме такого пассивного обезвреживания в крови происходит активное обезвреживание с помощью ферментов, находящихся в плазме и клетках крови. Например, обезвреживание алкоголя алкогольдегидрогеназой, различных аминов аминоксидазами, курареподобных соединений (сукцинилдихолин) холинэстеразой крови и т. д.

Иммунологическая, или защитная, функция крови

Иммунологическая функция обеспечивается клетками крови, участвующими в фагоцитозе и образовании антител и других природных факторов иммунитета (лизоцим). Благодаря наличию в плазме крови антител, лизоцима и фагоцитирующих клеток обеспечивается защита от инфекции.

Регуляторная, или гормоноидная, функция крови

Клетки крови и плазма служат источником образования различных внеклеточных регуляторов обмена веществ и функций тканей и органов. Эти регуляторы относятся к местным гормонам, или гормоноидам. В базофилах образуются гепарин и гистамин, в эозинофилах — гистамин и серотонин, в тромбоцитах — серотонин. Выделение гистамина и серотонина вызывает местные изменения проницаемости капилляров, сократимости гладких мышц сосудов, развитие аллергических реакций. Гепарин как активатор липопротеидлипазы и антикоагулянт участвует в регуляции соответственно липидного обмена и свертывания крови.

Белки плазмы крови служат субстратом для образования биологически активных полипептидов, получивших групповое название *кинины* (рис. 80). К ним относятся *брадикинин, каллидин и метионил-лизил-брадикинин*. Образуются кинины из неактивных предшественников, называемых *кининогенами*. В плазме крови человека обнаружено три вида кининогенов: низкомолекулярные кининогены I и II (мол. масса около 50 000) и высокомолекулярный кининоген (мол. масса около 200 000).

Освобождаются кинины действием на кининогены плазмы крови протеолитических ферментов, называемых *кининогеназами*. К ним относят *калликреины* плазмы и тканей, образующиеся из неактивных ферментов *калликреиногенов*.⁴ Калликреиногены тканей активируются после действия на них катепсинов или трипсина в поджелудочной железе, а калликреиногены плазмы под влиянием протеиназ плазмы крови — *факторы Хагемана* (фермент свертывания

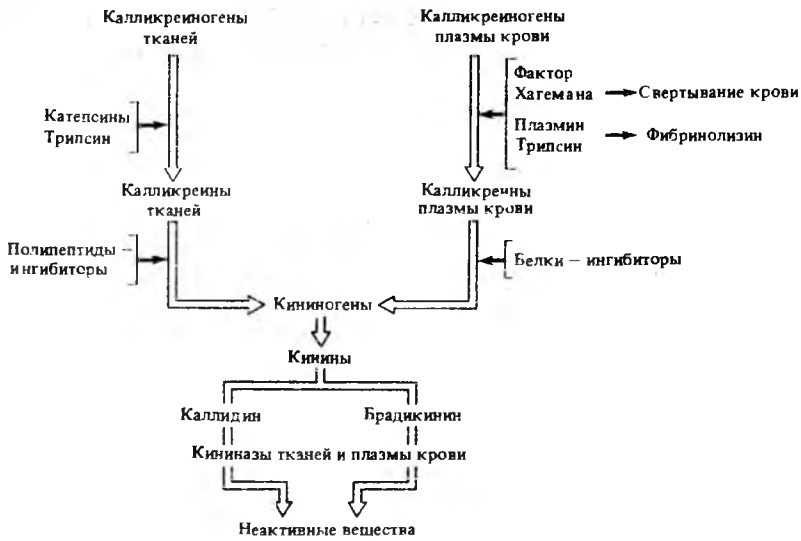


Рис. 80. Схема образования и распада кининов

вающей системы крови), *плазмина* (фермент фибринолиза) и *трипсина* (поступающего в плазму, особенно при поражении поджелудочной железы).

Существует тесная связь между образованием кининов, свертыванием крови и фибринолизом, так как у них общие активаторы — фактор Хагемана и плазмин. Активность калликреинов регулируют белковые и полипептидные ингибиторы плазмы крови и тканей. Тканевые калликреины освобождают из кининогенов каллидин, а плазменные калликреины — брадикинин. Кинины, образующиеся в крови, действуют кратковременно (их полупериод распада около 30 с). Протеолитические ферменты, разрушающие кинины плазмы, называют *кининазами*. Кининазы находятся в плазме и клетках крови, в тканях. Таким образом, калликреин-кининовая система способствует образованию кининов, а кининазная — их инактивации.

Физиологическая роль кининов состоит в регуляции скорости, кровотока, кровяного давления и проницаемости капилляров. Кинины вызывают расширение периферических кровеносных и коронарных сосудов, падение артериального давления, повышают проницаемость капилляров, стимулируют сокращение сердца. Кроме того, кинины вызывают сокращение гладких мышц несосудистых органов (bronхов, матки, кишечника), раздражают внутричерепные сосудистые баро- и болевые рецепторы и нарушают внутричерепное давление спинно-мозговой жидкости.

В физиологических условиях системы образования и инактивации кининов уравновешены. Патологические изменения возникают при повышенном образовании кининов, что сопровождается развитием местного воспалительного процесса и нарушениями кровообращения.

Гемостатическая функция крови

Гемостаз, или остановка кровотечения, является важной функцией крови. В этом процессе участвуют система свертывания крови, тромбоциты и стенка сосуда. Травматизация сосудов или другие причины, ведущие к суживанию эндотелия сосудов, обнажают расположенный под эндотелием коллаген стенки сосуда, служащий матрицей, на которой образуется кровяной сгусток или тромб из составных компонентов крови. Первичный тромб может образоваться из тромбоцитов, прилипающих в месте повреждения стенки сосуда. Но он не ведет к остановке кровотечения, а способствует выделению из тромбоцитов компонентов, запускающих ферментную систему свертывания крови и ведущих к образованию из фибриногена плазмы полимерной сетки фибрина. В ней застревают клетки крови и формируется тромб, закупоривающий участок повреждения и просвет сосуда. Проприходимость сосуда может быть восстановлена при растворении тромба. Этот процесс осуществляется антисвертывающей, или фибринолитической ферментной системой. Обе системы, свертывающая и фибринолитическая, регулируют гемостаз: первая ведет к образованию полимерной стенки фибрина, а вторая — к его гидролизу.

Свертывание крови — многоступенчатый самоускоряющийся ферментативный процесс, в котором участвуют плазменные и тромбоцитарные факторы. В настоящее время описано 13 плазменных и 11 тромбоцитарных факторов. Подробно процесс свертывания крови рассматривается в курсе физиологии. Напомним лишь, что в основе этого процесса лежат две основные стадии конечной целью первой является образование из протромбина плазмы тромбина и на второй образование из фибриногена фибрина под действием тромбина. Фибрин служит основой тромба. Для растворения тромба требуется активация плазминогена, из которого образуется плазмин, осуществляющий гидролиз фибрина в тромбе. В организме имеются вещества, регулирующие свертывание крови: ускоряющие — прокоагулянты и замедляющие — антикоагулянты. К природным антикоагулянтам относят гепарин, к прокоагулянтам — витамин К и ионы Ca^{2+} .

4. Кровь как источник лекарственных препаратов

Из крови получают различные препараты, которые по своему назначению можно разделить на четыре группы: препараты комплексного действия (альбумин, протеин, нативная плазма и др.), иммунологически активные препараты (гамма-глобулин, антистафилококковый, противогриппозный, противокклюшный и другие препараты иммуноглобулинов, интерферон и др.). Гемостатические препараты (антигемофильная плазма, тромбин, фибриновая губка, фибриновая пленка, фибриноген и др.), противоанемические и стимулирующие препараты (полиоболлин — сухой порошок белковых компонентов плазмы, эригем — высушенный гемолизат эритроцитов и др.).

ГЛАВА 29. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ

Печень занимает центральное место в обмене веществ организма. Особенности ферментного аппарата печени и анатомических связей с другими органами дает возможность участвовать печени в регуляции практически всех видов обмена

веществ и обеспечивать постоянство содержания многих жизненно важных компонентов крови в организме. Можно сказать, что функциональная специализация печени состоит в своеобразном «биохимическом альтруизме», т. е. обеспечении необходимых условий жизнедеятельности для других органов и тканей организма. Этим объясняются особенности биохимических процессов печени, которые, с одной стороны, настроены на производство различных веществ для других органов, а с другой — обеспечивают защиту этих органов от образующихся в них токсических веществ или от поступающих в организм чужеродных соединений.

Печень выполняет следующие биохимические функции: 1) регуляторно-гомеостатическую; 2) мочевинообразовательную; 3) желчеобразовательную; 4) экскреторную; 5) обезвреживающую.

1. Регуляторно-гомеостатическая функция

Печень участвует в регуляции обмена питательных веществ — углеводов, липидов, белков, витаминов и частично водно-минеральных веществ, а также в обмене пигментов, азотистых небелковых веществ.

Регуляция углеводного обмена осуществляется благодаря тому, что печень является практически единственным органом, который поддерживает постоянный уровень глюкозы в крови даже в условиях голодания. Глюкоза, производимая печенью в ходе гликогенолиза и глюконеогенеза, поступает в кровь и расходуется прежде всего нервной тканью, а при избыточном поступлении ее из кишечника депонируется в виде гликогена (см. «Углеводный обмен»).

Регуляция липидного обмена обусловлена биосинтезом в печени различных липидов (холестерина, триацилглицерина, фосфоглицеридов, сфингомиелина и др.), которые поступают в кровь и распределяются по другим тканям. В печени образуется холестерина больше, чем поступает с пищей: с пищей человек ежедневно потребляет около 0,3—0,5 г холестерина, а в печени образуется в сутки до 2—4 г холестерина. Распределение липидов по органам и тканям осуществляется печенью. В ней образуются апопротеины α - и β -липопротеидов. Кроме того, при сгорании жирных кислот в печени образуются кетоновые тела, которые используются как источник энергии для внепеченочных тканей.

Регуляция обмена белков печенью осуществляется благодаря интенсивному биосинтезу в ней белков и окислению аминокислот. За сутки в организме человека образуется около 80—100 г белка, из них половина в печени. В отличие от других органов и тканей печень значительную часть всего синтезируемого белка (преимущественно альбумина) поставляет для потребления другими органами. За сутки в печени образуется примерно 12 г альбуминов плазмы крови, большая часть α - и β -глобулинов крови. Кроме того, в ней образуются белки плазмы крови, участвующие в гемостазе (фибриноген, протромбин и другие белковые факторы свертывающей и антисвертывающей систем крови), холинэстераза, группа транспортных белков (ферритин, церуллоплазмин, транскортин и другие белки, участвующие в транспорте гормонов, витаминов).

В печени наиболее активно протекает обмен аминокислот: синтез заменимых аминокислот, синтез небелковых азотистых соединений из аминокислот (креатина, глутатиона, никотиновой кислоты, пуринов и пиримидинов, порфиринов, дипептидов, коферментов пантотената и др.), окисление аминокислот с образованием аммиака. При голодании печень быстрее всех расходует свои ре-

зервные белки для снабжения аминокислотами других тканей. Потери белка в печени составляют примерно 20%; в то время как в других органах не более 4%.

Участие печени в обмене витаминов складывается из процессов депонирования их в ней, главным образом жирорастворимых витаминов, синтеза некоторых витаминов (никотиновая кислота) и коферментов, превращения кальциферолов в 25-гидроксикальциферолы.

Участие печени в водно-минеральном обмене состоит в том, что она дополняет деятельность почек в поддержании водно-солевого равновесия и является как бы внутренним фильтром организма. Имеются данные, что печень задерживает ионы Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} и воду и выделяет их в кровь. Кроме того, печень депонирует микроэлементы (железо, медь и др.) и участвует в их распределении по другим тканям с помощью транспортных белков.

Участие печени в обмене азотистых оснований нуклеиновых кислот проявляется в синтезе их из простых соединений и окислении до мочевиной кислоты. Азотистые основания используются другими органами для синтеза нуклеозидов, нуклеотидов и нуклеиновых кислот, а мочевиная кислота выделяется как конечный продукт обмена.

2. Мочевинообразовательная функция (уреогенез)

Печень — единственный орган, имеющий все ферменты цикла образования мочевины из аммиака. Аммиак, образующийся в других тканях, в печени превращается в индифферентный продукт — мочевину, которая выделяется в кровь. При интенсивном катаболизме белков и небелковых азотистых соединений (аминокислот, пуринов, пиримидинов, биогенных аминов) повышено образование мочевины в печени, ее содержание в крови и выделение с мочой.

3. Желчеобразовательная и экскреторная функции

Печень образует специальный жидкий экскрет — желчь, которая выделяется в тонкий кишечник. Только в печени образуются желчные кислоты и их конъюгаты, которые используются при переваривании и всасывании липидов в кишечнике.

В желчь входят: желчные кислоты, белки (альбумины, глобулины), холестерин и его эфиры, минеральные вещества (Ca, Na, K и др.), вода, продукты пигментного обмена (билирубинглюкуроныды), неактивные продукты обмена гормонов и витаминов, чужеродные вещества, поступившие в организм, и др. Нарушение экскреторной функции неблагоприятно влияет на переваривание и всасывание липидов и вызывает накопление токсических продуктов обмена пигментов и чужеродных веществ.

4. Обезвреживающая функция

Печень является основным органом, где происходит обезвреживание природных продуктов обмена и чужеродных веществ. Участие печени в обмене пигментов проявляется в превращении хромопротеидов до билирубина в клетках РЭС,

имеющихся в печени, конъюгации билирубина в самих печеночных клетках и разложении в них всасывающегося из кишечника уробилиногена до непигментных продуктов. Об участии печени в метаболизме лекарств и ядов см. с. 444.

5. Нарушения функций печени

При повреждениях печени, вызванных инфекционными агентами и химическими веществами, нарушаются ее функции — или все, или некоторые из них. Индикаторами этих нарушений может служить изменение содержания в крови веществ, поступающих в нее из печени (глюкозы, холестерина, фосфолипидов, витаминов и 25-гидроксикальциферолов, мочевой кислоты, мочевины и др.).

Нарушения регуляторно-гомеостатической функции отчетливо проявляются в изменениях состава белков плазмы крови: в виде диспротеинемии, т. е. нарушения соотношения белковых фракций плазмы (понижается альбумин/глобулиновый коэффициент), в снижении содержания альбуминов, фибриногена, протромбина и других белковых факторов свертывания крови, транспортных белков (α - и β -липопротеидов, трансферрина, церуллоплазмينا, гормон- и витаминтранспортующих белков), активности холинэстеразы и т. д.

При патологии печени нарушения уреогенеза выражаются в снижении содержания мочевины в крови и суточного выделения ее с мочой, а нарушение обезвреживающей функции — в снижении превращения и конъюгации метаболитов (например, билирубина, индола, скатола) и чужеродных веществ (бензойной кислоты, ариламинов, гидразидов изоникотиновой кислоты, алкоголей и др.), поступающих с пищей или вводимых в организм.

Подавление образования желчных кислот проявляется в снижении их содержания в желчи и в симптомах нарушения переваривания и всасывания липидов. При нарушениях экскреторной функции печени происходит задержка во внутренних средах организма веществ, обычно выделяющихся с желчью (желчные кислоты, билирубинглюкурониды, различные лекарственные вещества и яды). По увеличению их содержания в крови и выделению с мочой можно выявить изменения экскреторной функции печени.

ГЛАВА 30. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ ПОЧЕК

Почки выполняют следующие специфические функции: 1) мочеобразовательную и экскреторную; 2) регуляторно-гомеостатическую; 3) обезвреживающую; 4) внутрисекреторную.

Основной жизненно важной функцией почек является образование мочи и связанная с ней экскреция веществ, в том числе чужеродных, попадающих в организм.

Функциональной единицей почек служит *нефрон* (рис. 81). Образование мочи в нефронах достигается ультрафильтрацией плазмы крови в клубочках, реабсорбцией веществ канальцами и собирательными трубками и секрецией в мочу и канальцев некоторых веществ. В сутки образуется до 180 л ультрафильтрата плазмы крови (первичная моча). Более 99% ультрафильтрата реаб-

сорбируется. Объем конечной мочи составляет 1,5—2,0 л. Эпителий канальцев за сутки реабсорбирует огромную массу веществ: 179 л воды, 1 кг NaCl, 500 г NaHCO₃, 250 г глюкозы, 100 г свободных аминокислот и т. д.

Все вещества первичной мочи делятся на пороговые и беспороговые. Первые реабсорбируются и потому имеют порог реабсорбции, вторые не реабсорбируются и выделяются в количествах, пропорциональных их концентрации в плазме крови. Реабсорбция происходит или простой диффузией, или активным транспортом. Большинство веществ реабсорбируется с помощью активного транспорта, требующего больших затрат энергии. Поэтому в канальцах почек чрезвычайно развита система активного транспорта веществ: высока активность Na⁺, K⁺-АТФазы, создающая Na⁺/K⁺-градиент для вторичного активного транспорта, и систем белковых переносчиков для различных веществ. Почки богаты митохондриями и отличаются высоким потреблением кислорода. Это дает возможность производить большое количество энергии в ходе окислительного фосфорилирования. В качестве источников энергии почки используют глюкозу, жирные кислоты, ацетоновые тела, аминокислоты.

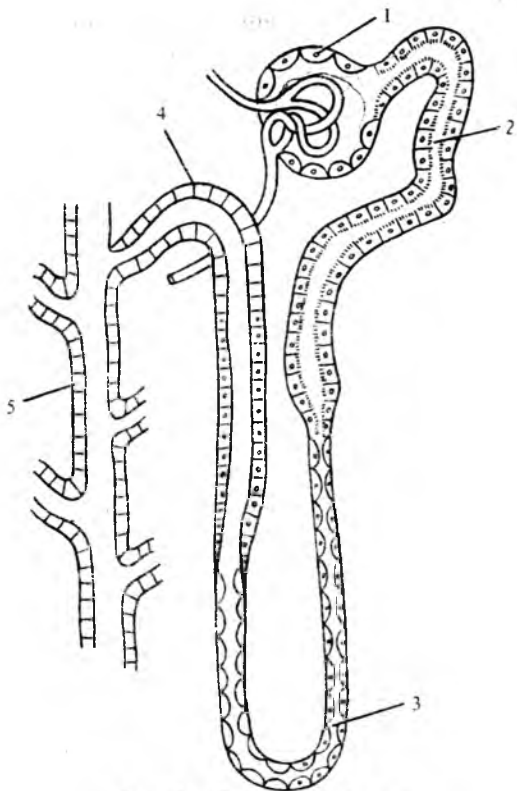


Рис. 81. Строение нефрона:
1 — клубочек; 2 — проксимальный каналец; 3 — петля Генле; 4 — дистальный каналец; 5 — собира-
тельная трубка

1. Механизм образования мочи в различных отделах нефрона

Первичная моча образуется ультрафильтрацией крови через поры базальной мембраны клубочка, размер которых около 4 нм. Ультрафильтрат содержит все компоненты плазмы крови, за исключением белков с молекулярной массой свыше 50 000.

В проксимальных канальцах происходит реабсорбция веществ, которые делятся на три группы: активно реабсорбирующиеся, слабо реабсорбирующиеся, нереабсорбирующиеся. Активно реабсорбируются: Na⁺, Cl⁻, H₂O, глюкоза и другие моносахариды, аминокислоты, Ca²⁺, Mg²⁺, фосфаты неорганические, гидрокарбонаты, белки. Причем глюкоза и белки реабсорбируются почти полностью, аминокислоты — на 99%, H₂O — на 96, Na⁺ и Cl⁻ — на 70%, остальные вещества более чем наполовину. Ионы Na⁺ реабсорбируются эпителием канальцев посредством активного транспорта. Сначала они посту-

пают в клетки эпителия, а оттуда в межклеточную среду. За Na^+ из мочи пассивно следуют Cl^- и HCO_3^- по принципу электронейтральности, а вода — вследствие повышения осмотического давления в межклеточной среде. Из последней вещества поступают в кровеносный капилляр.

Глюкоза и аминокислоты транспортируются с помощью специальных переносчиков совместно с Na^+ , используя энергию Na^+ -градиента на мембране. Ca^{2+} и Mg^{2+} реабсорбируются, очевидно, с помощью транспортных АТФаз. Белок реабсорбируется путем эндоцитоза. К слабо реабсорбирующимся веществам относятся мочевина и мочевая кислота. Они поступают простой диффузией в межклеточную жидкость, а из нее обратно в петлю Генле. К нереабсорбирующимся веществам относятся креатин, маннит, полисахарид инулин и др.

Нисходящее и восходящее колено петли Генле образуют поворотную-противоточную систему, которая участвует в концентрировании и разведении мочи (подробно этот процесс излагается в курсе физиологии), благодаря чему плотность мочи может колебаться от 1,002 до 1,030.

В дистальных канальцах происходят процессы реабсорбции Na^+ и Cl^- . Здесь реабсорбируются оставшиеся 29% Na^+ и Cl^- первичной мочи (всего в проксимальных и дистальных канальцах реабсорбируется до 99% Na^+ и Cl^-). Обратное всасывание Na^+ в дистальных канальцах имеет свои особенности. Во-первых, Na^+ реабсорбируется независимо от воды. Происходит как бы «сухое» всасывание Na^+ из мочи; за ним пассивно следуют ионы Cl^- . Во-вторых, в обмен на поступающий в эпителий дистальных канальцев Na^+ в мочу секретируются другие катионы — H^+ , K^+ и NH_4^+ . Источником H^+ являются H_2CO_3 , которая образуется из CO_2 и H_2O при участии карбоангидразы и затем диссоциирует на H^+ , HCO_3^- и органические субстраты, подвергающиеся дегидрированию с участием дегидрогеназ. Ионы NH_4 образуются из H^+ и NH_3 . Последний образуется при дезаминировании глутамина под действием глутаминазы и α -аминокислот с участием оксидаз аминокислот. Ионы K^+ , имеющиеся внутри эпителия канальцев, так же как и ионы H^+ , выделяются в мочу взамен на реабсорбируемый Na^+ (причем K^+ и H^+ могут взаимозаменяться при секреции). При низкой концентрации K^+ внутри эпителия канальцев секретируются ионы H^+ и наоборот.

Третьей особенностью реабсорбции Na^+ в дистальных канальцах является его регулируемость альдостероном, который повышает скорость этого процесса.

В собирательных трубках протекает заключительная фаза реабсорбции. В них реабсорбируется вода и образуется окончательная моча. Проницаемость клеток собирательных канальцев для воды регулируется вазопрессинном, который повышает реабсорбцию воды.

2. Регуляторно-гомеостатическая функция

Мочеобразовательная функция почек тесно связана со способностью их регулировать осмотическое давление, водно-минеральный баланс и кислотно-щелочное равновесие внеклеточных жидкостей организма, в том числе крови.

Почки являются эфферентным звеном нейроэндокринной регуляции водно-солевого гомеостаза. При повышении осмотического давления крови вследствие избыточного потребления натрия или потери воды раздражаются осморе-

цепторы. Возбуждение с них поступает в гипоталамус, что ведет к выделению вазопрессина. Последний усиливает реабсорбцию в собирательных трубках и уменьшает диурез. Задержка воды в организме снижает осмотическое давление. Одновременно развивается чувство жажды. Повышение концентрации натрия в крови подавляет секрецию альдостерона надпочечниками, который тормозит реабсорбцию натрия в дистальных канальцах и выведение его с мочой. В результате снижаются осмотическое давление крови и объем циркулирующей жидкости в кровеносной системе.

При избыточном потреблении воды увеличивается объем циркулирующей крови и раздражаются волюморцепторы сосудистой системы, реагирующие на объем циркулирующей жидкости. Импульсы от волюморцепторов поступают в гипоталамус, где тормозят секрецию вазопрессина, и способствуют выделению альдостерона надпочечниками. Это ведет, с одной стороны, к подавлению реабсорбции воды в собирательных трубках (снижение эффекта вазопрессина), а с другой — к повышенной реабсорбции натрия в проксимальных канальцах почек и потере с мочой калия (эффект альдостерона). Тем самым нормализуются объем циркулирующей крови и осмотическое давление.

Почки регулируют кислотно-щелочное равновесие крови, способствуя выделению кислых веществ с мочой и сохранению для организма щелочных резервов — гидрокарбонатов. В процессе обмена образуются преимущественно кислые вещества (лактат, кетоновые тела, угольная кислота). Удаление летучих кислых веществ происходит через легкие, а нелетучих — через почки. Анионы кислот нейтрализуются преимущественно катионами натрия, поэтому с мочой они выделяются в виде натриевых солей (Na_2HPO_4 , NaHCO_3 , NaCl , натриевых солей органических кислот и др.). Для сбережения гидрокарбоната, являющегося щелочным резервом крови, Na^+ реабсорбируется в дистальных канальцах и заменяется в солях мочи на H^+ и NH_4^+ , продуцирующихся эпителием канальцев. За Na^+ следует HCO_3^- и остается в организме. С мочой же выделяются более кислые соли (NaH_2PO_4 , NH_4Cl) и кислоты (H_2CO_3 ; молочная, ацетоуксусная, β -гидроксимасляная). Реакция мочи становится выражено кислой, рН может доходить до 4,5 в то время как щелочные резервы крови сохраняются.

3. Обезвреживающая функция

В почках происходит обезвреживание чужеродных соединений путем образования парных соединений с глицином, уксусной и глюкуроновой кислотами, а также окисление некоторых органических спиртов и других веществ.

4. Внутрисекреторная функция

В клетках соединительной ткани почек образуются внеклеточные регуляторы типа гормоноидов, например простагландины. Кроме того, почки участвуют в гуморальной регуляции сосудистого тонуса и давления. Они выделяют в кровь протеолитический фермент — *ренин*, который отщепляет от белка плазмы полипептид ангиотензин I. Неактивный ангиотензин I превращается в ангиотензин II *карбоксикапепсином*. Ангиотензин II стимулирует сокращение гладких мышц сосудов и секрецию альдостерона надпочечниками, что вызывает повышение кровяного давления.

Карбоксикапепсин, по В. Н. Ореховичу, является ключевым звеном ренин-ангиотензиновой и калликреин-кининовой системы. Первая повышает, а вторая снижает сосудистый тонус и давление. Карбоксикапепсин включает первую систему путем образования ангиотензина II и снимает эффект второй системы, расщепляя брадикинин (рис. 82).

5. Характеристика компонентов мочи в норме и патологии

Выделение с мочой различных веществ отражает изменение процессов в почках и других органах и тканях организма. Суточный объем конечной мочи, составляющий около 1,5—2 л, содержит примерно 60 г сухих веществ. Поскольку моча является фильтратом плазмы крови, то целесообразно рассмотреть присутствие в моче отдельных групп биологических веществ, имеющих в плазме.

Белки

В норме суточное выделение белков с мочой составляет всего около 30 мг, которое обычными лабораторными методами не улавливается и обозначается как «следы или отсутствие белков в моче». Среди белков, присутствующих в моче, имеются и ферменты. Происхождение нормальных белков мочи разное. Часть из них — это белки плазмы крови, которые до конца не реабсорбируются, другая — белки слущившихся клеток мочевыводящих путей.

При патологиях может увеличиваться содержание белков в моче, причем в зависимости от места повреждения в моче будет преимущественно повышаться доля плазменных белков или белков клеток мочевыводящих путей. При воспалительных заболеваниях почек (гломерулонефриты) повышается проницаемость базальной мембраны клубочка нефрона; белка фильтруется больше, чем обычно, и он не может целиком реабсорбироваться. Нарушения реабсорбции белка в канальцах (нефрозы) приводят к тем же изменениям. В результате с мочой при гломерулонефритах и нефрозах может выделяться от 1 до 15—40 г белка в сутки. При повышенном содержании в плазме некоторых нормально фильтрующихся белков происходит большее выделение их с мочой. Но их количество в моче все равно незначительно и может быть выявлено только специальными методами. Например, если в крови увеличено количество некоторых ферментов, то они в больших количествах фильтруются в мочу. Поэтому в моче обнаруживается повышение активности ферментов, хотя это существенно не сказывается на общем содержании белка, определяемого менее

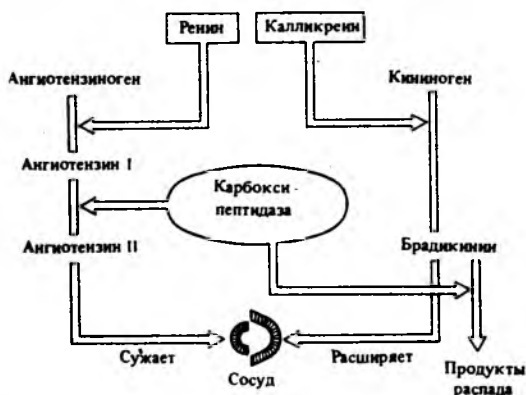


Рис. 82. Схема регуляции карбоксипептидазой тонуса сосудов (по В. Н. Ореховичу и др.)

чувствительными методами. Например, при панкреатитах наблюдается повышение активности α -амилазы, трипсина и в крови, и в моче.

Небелковые азотистые вещества мочи

Мочевина — главный азотистый компонент мочи. В норме ее выделяется 333—583 ммоль в сутки (60—80% общего азота мочи). Повышенное выделение мочевины наблюдается при выраженном катаболизме белков и других азотистых компонентов (голодание, ожоги, травмы, атрофия тканей и т. д.). Пониженное выделение имеет место при поражениях печени (место образования мочевины) и нарушении фильтрации плазмы в клубочках. В последнем случае происходит задержка мочевины в крови (азотемия). Низкое выделение мочевины бывает в ростовой период организма и при действии анаболических препаратов.

Мочевая кислота. В норме количество выделяющей мочевой кислоты составляет 2,35—5,9 ммоль в сутки. Повышенное выделение ее с мочой отмечается при потреблении пищи, богатой нуклеиновыми кислотами, или при распаде клеток и тканей, например лейкоцитов у больных лейкозом. Повышенное содержание мочевой кислоты в моче обуславливается также повышенным синтезом ее в тканях организма (синдром Леша—Найхана у детей).

Креатинин. В норме с мочой выделяется около 4,4—17,6 ммоль креатинина в сутки. Колебания зависят от развития мускулатуры. Креатинин экскретируется только у детей. У взрослых креатинурия — признак патологии (например, при мышечной дистрофии).

Аминокислоты. В норме с мочой выделяется примерно 0,29—5,35 ммоль аминокислот (по азоту) в сутки. Глицина, гистидина и аланина в моче содержится больше, чем других аминокислот.

При патологии может наблюдаться гипераминоацидурия, например при ожогах, сахарном диабете, заболеваниях печени, мышечной дистрофии и т. д. При наследственной гипераминоацидурии имеет место дефект белков — переносчиков аминокислот в проксимальных канальцах почек. В результате наблюдается или повышенное выделение всех аминокислот (при общем дефекте транспортных систем канальцев), или отдельных групп аминокислот (при дефекте одной из транспортных систем). При нарушении обмена аминокислот в тканях происходит выделение с мочой продуктов их обмена, не экскретирующихся в норме (гомогентизиновой кислоты — при алкалтозурии, фенилпировиноградной, фенилуксусной, фенилмолочной кислот — при фенилкетонурии и т. д.).

Аммонийные соли. В норме с мочой выделяется около 30—60 ммоль аммиака в составе аммонийных солей (хлорида аммония) в сутки.

При патологии может наблюдаться повышенное их выделение с мочой (при заболеваниях, сопровождающихся ацидозом). Пониженная экскреция аммонийных солей проявляется при заболеваниях, сопровождающихся алкалозом, при употреблении с пищей большого количества щелочных веществ и при заболеваниях почек, связанных с поражением дистальных канальцев, в которых происходит аммионогенез.

Гиппуровая кислота. Экскреция с мочой гиппуровой кислоты зависит только от количества принятой растительной пищи, так как эндогенно она не

образуется. Обычно в суточной моче содержится до 5,5 ммоль гиппуровой кислоты.

Индикан (индоксилсерная кислота). В норме моча содержит следы индикана. Появляется он в ощутимых количествах при употреблении больших порций мясных продуктов и при гнилостных процессах в кишечнике.

Азотистые пигменты. В норме с мочой выделяется продукт распада гемпротеидов — стеркобилиноген, который превращается в стеркобилин.

При патологии выделяются желчные кислоты и различные желчные пигменты, например, при поражениях печени и отравлении ядами, вызывающими гемолиз.

Безазотистые компоненты мочи.

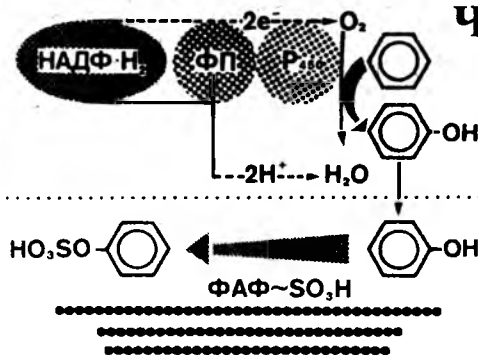
Глюкоза и другие моносахариды. В норме суточная моча содержит всего 0,3—1,1 ммоль глюкозы. Эти количества не обнаруживаются обычными лабораторными методами, поэтому считается, что в нормальной моче глюкоза отсутствует. При употреблении с пищей такого количества углеводов, при котором концентрация глюкозы в крови достигает порогового значения, т. е. порядка 8,3—8,8 ммоль/л, наблюдается пищевая глюкозурия.

При патологии имеет место глюкозурия, обусловленная или повышением содержания глюкозы в крови выше пороговых величин, или дефектом белка-переносчика, участвующего в реабсорбции ее в проксимальных канальцах почек. Первая причина наиболее часто встречается в клинике, например при сахарном и стероидном диабетах. Вторая вызывает так называемый почечный диабет. При поражении транспортных систем канальцев почек для других сахаров, например фруктозы или пентоз (почечная фруктозурия или пентозурия), в моче обнаруживаются эти моносахариды.

Молочная и пировиноградная кислоты В норме суточная экскреция с мочой молочной и пировиноградной кислот составляет соответственно 1,1 и 0,11 ммоль. Повышенное содержание молочной кислоты в моче наблюдается при интенсивной мышечной работе и гипоксии. Увеличение экскреции пировиноградной кислоты с мочой имеет место при сахарном диабете, гиповитаминозе В₁.

Кетоновые тела. В норме суточная моча содержит 20—50 мг кетоновых тел. Эти количества не обнаруживаются принятыми в клинике лабораторными методами. Увеличение их количества, т. е. кетонурия, наблюдается при сахарном диабете, голодании, стероидном диабете и т. д.

Минеральные соли. В норме суточная моча содержит (ммоль): натрия 174—222, калия 61—79, кальция около 4,02—4,99, неорганического фосфора около 33. Увеличение выведения с мочой натрия и уменьшение выведения калия наблюдается при гипофункции надпочечников, обратная картина — при гиперальдостеронизме и назначении минерало- и глюкокортикоидов. Снижение содержания кальция в моче и выраженная фосфатурия наблюдается при введении больших количеств витамина D, паратиринина, а высокая потеря кальция с мочой — при рахите, гипопаратиреодизме.



ГЛАВА 31. ВВЕДЕНИЕ В КЛИНИЧЕСКУЮ БИОХИМИЮ

1. Цель и задачи клинической биохимии

Биохимические знания, приемы и методы являются основой диагностики, лечения и профилактики заболеваний; они также используются в различных областях фармации, биофармации, биотехнологии лекарств, анализе, контроле качества и стандартизации лекарственных препаратов.

Клиническая биохимия — это прикладной раздел биохимии, изучающий состояние биохимических процессов в организме человека для выяснения механизма развития болезни и оценки состояния его здоровья. Клиническая биохимия является составной частью практической медицины (табл. 36). Однако возможности изучения причины, т. е. этиологии, заболевания и механизма его развития, т. е. патогенеза, с помощью биохимических методов в клетках, тканях и органах человека весьма ограничены и составляют малую часть клинико-биохимических исследований, так как эти исследования необходимо проводить не в ущерб человеку. Поэтому в клинике биохимические лабораторные исследования используются в основном для оценки состояния здоровья человека; этиологию и патогенез обменных нарушений изучают на моделях заболеваний в эксперименте. Эту задачу выполняет *патологическая биохимия*, или *патобиохимия*, на данных которой основываются знания клинической биохимии.

Процесс жизнедеятельности организма определяют три взаимосвязанных признака — структура, обмен веществ и функции, каждый из которых составляет предмет изучения разных специальных дисциплин. Лечение и про-

Т а б л и ц а 36. Разделы биохимии в медицинском образовании

Область знаний	Специальные дисциплины			
Биология человека (изучение основ жизнедеятельности)	Биохимия (химические основы жизнедеятельности — молекулярная организация биологических структур, биохимические превращения и их регуляция)	Физиология (функциональные основы жизнедеятельности тканей, органов и систем организма)	Морфология (структурные основы жизнедеятельности) Гистология и цитология (микроскопическое изучение структур клеток, тканей, органов) Анатомия (макроскопическое изучение строения органов и систем организма)	
Общая патология (изучение патогенеза заболеваний)	Патобиохимия (механизмы нарушений молекулярных структур, обмена веществ и их регуляция)	Патофизиология (механизмы нарушений функций организма)	Патоморфология Патогистология и патоцитология (микроскопическое изучение нарушений структуры клеток, тканей и органов) Патанатомия (макроскопическое изучение нарушений строения органов и систем организма)	
Диагностика (выявление заболеваний)	Клиническая биохимия (оценка состояния здоровья человека с помощью биохимических исследований)	Клиническая физиология или патофизиология (оценка состояния здоровья человека с помощью функциональных методов)	Клиническая патогистология и цитология (прижизненная диагностика заболевания с помощью морфологических методов) Секционная патанатомия (посмертная диагностика болезни с помощью макро- и микроскопических методов исследования строения и структуры тканей, органов и систем)	

филактика заболеваний основывается на знании биологии и социальных условий жизни человека.

Назначение клинико-биохимических исследований:

1) ранняя диагностика и постановка дифференциального диагноза заболевания;

2) характеристика течения и прогноза заболевания;

3) контроль эффективности лечебных и профилактических мероприятий;

4) изучение молекулярных механизмов развития заболевания.

Материалом для клинико-биохимических исследований служат:

1) биологические жидкости внутренних сред организма: кровь, спинно-мозговая жидкость, лимфа, внутрисуставная и внутриглазная жидкости;

2) экскреты: моча, желчь, слюна, желудочный и кишечный соки, кал, пот, слезная жидкость, женское молоко и молозиво, семенная жидкость, слизистые выделения;

3) кусочки ткани или биоптаты, т. е. взятые прижизненно с помощью специальных инструментов или во время хирургических вмешательств.

Наиболее частым объектом биохимических исследований в клинике являются кровь и моча; реже анализируются другие жидкости и экскреты, а также ткани человека.

Основные группы биохимических показателей, определяемых в клинике:

1) содержание макромолекул, мономеров и некоторых продуктов их обмена;

2) активность ферментов и изоферментов;

3) содержание витаминов, коферментов и продуктов их обмена;

4) содержание воды и минеральных веществ;

5) содержание внеклеточных регуляторов-гормонов, гормоноидов, нейромедиаторов, гуморальных регуляторов и продуктов их обмена.

2. Тактика биохимических исследований в клинике

Применение биохимических методов в клинике позволяет не только выявить отклонение биохимического показателя и тем самым облегчить постановку диагноза заболевания, но и понять механизм развития обменных нарушений и функций организма. Причиной нарушений биохимических процессов могут быть генетические и негенетические (внешние) факторы. Генетические нарушения могут быть первичными, вызванными спонтанными мутациями, и вторичными, наступающими под действием внешних факторов. Внешние факторы, вызывающие патологию, весьма многообразны: пищевые, физические, химические, механические, биологические (инфекционные и неинфекционные), психогенные.

В основе патогенеза многих заболеваний лежат: патология переноса генетической информации и биосинтеза белка, патология метаболизма, патология мембран, патология регуляций. Последующие биохимические нарушения функций клеток, тканей и органов и систем организма являются, как правило, следствием перечисленных начальных изменений.

Тактика клинико-биохимических исследований включает ряд этапов:

1) биохимический скрининг (просивание), т. е. выявление, часто случайное, отклонений от нормы при профилактическом лабораторном обследовании населения;

2) целенаправленное дифференциально-диагностическое биохимическое исследование для установления точного диагноза;

3) использование наиболее информативных биохимических тестов для контроля проводимого лечения;

4) биохимический контроль за состоянием выздоровления и восстановления нарушенных функций (диспансерное наблюдение)

На каждом из этих этапов объем, сочетание и частота исследования соответствующих биохимических показателей, необходимость их определения в конкретной биологической жидкости, экскрете или биоптате обуславливается поставленными целями.

3. Принципы биохимической диагностики заболеваний и примеры их использования в практике

Биохимическая диагностика заболеваний основывается на знании:

а) общих закономерностей метаболизма в органоидах клетки;

б) структурно-функциональных особенностей клеточных мембран и гистогематических барьеров;

в) биохимических особенностей специализированных тканей и органов;

г) особенностей нейро-эндокринной регуляции обмена веществ.

Знание закономерностей метаболизма клетки позволяет оценить состояние путей обмена, общих для любой клетки, независимо от ее специализации (пути распада питательных веществ и энергетики, синтеза белка и т. д.), а также вероятность нарушения биохимических процессов в отдельных внутриклеточных структурах, где локализовано определенное звено обмена. Знание структурно-функциональных особенностей клеточных мембран может быть использовано при выявлении дефектов транспорта веществ (например, используя нагрузку какими-либо веществами и затем определяя динамику их содержания) и проницаемости клеточных мембран, а в масштабе ткани — гисто-гематических барьеров. Особенности обмена веществ в специализированных тканях и органах дает возможность выявить избирательность их повреждения, используя наиболее специфичные для них биохимические тесты. Наконец, знание нейро-эндокринных механизмов регуляции обмена веществ ориентирует врача на применение биохимических методов определения соответствующих регуляторов (гормоны, медиаторы и их метаболиты) в организме.

В клинике редко приходится использовать биоптаты различных тканей, т. е. непосредственно выявлять биохимические нарушения в органах, пораженных патологическим процессом. Биохимические исследования таких жидких сред, как кровь и моча (наиболее часто подвергаемых биохимическому анализу) требуют иной, чем прямое изучение тканей, оценки полученных изменений. Дело в том, что изменения биохимических показателей в жидких средах лишь косвенно отражают сдвиги в отдельных тканях и органах. К тому же, например, в крови они представляют собой равнодействующую двух противоположных явлений — поступления в кровь данного компонента и его утилизации тканями. Большинство низкомолекулярных веществ легко проходят через клеточную мембрану, поэтому, определяя содержание этих ве-

ществ в крови, можно говорить об интенсивности процессов их образования и использования в тканях. Низкомолекулярные вещества, аккумулирующиеся в клетках, поступают в кровь и выделяются с мочой при нарушениях проницаемости клеточных мембран.

Широко используется в клинической практике определение содержания в крови различных белков, поступающих из тканей. Особенно часто определяется активность ферментов, методы регистрации которых очень чувствительны и позволяют обнаружить минимальные отклонения. К тому же ферменты имеют определенную органную и тканевую специфичность. Поэтому повышение их активности в крови свидетельствует о повреждении патологическим процессом соответствующего органа или ткани, так как происходит освобождение ферментов в кровь из отмирающих клеток или просто потеря ферментов (как и других веществ) клетками вследствие повышенной проницаемости их плазматических мембран. Еще более наглядно использование в диагностике методов определения состава изоферментов крови. Многие ткани и органы существенно различаются по набору изоферментов. Поэтому изменение состава изоферментов (для выявления которых в клинике используются методы электрофореза в гелях) в плазме крови более специфично и проявляется раньше, нежели повышение общей активности данного фермента.

В арсенале врача имеется много биохимических методов, применение которых зависит от предполагаемого диагноза. Тактика обследования и использования биохимических методов при молекулярных болезнях (генетических протеинопатиях) и приобретенных заболеваниях различна.

Биохимическая диагностика молекулярных болезней зависит от вида протеинопатии, т. е. от того, является заболевание ферментопатией или неферментной протеинопатией. Тактика биохимической диагностики ферментопатий состоит в том, чтобы после обнаружения (часто случайного) повышенного содержания метаболитов в крови и моче, накопления или отсутствия некоторых макромолекул в клетках крови (чаще всего в лейкоцитах) и биоптатах тканей направить исследования на выявление дефектного фермента в биоптатах и клетках крови. В ряде случаев эти биохимические исследования заканчиваются выделением дефектного фермента, изучением его свойств, а следовательно, установлением максимально точного диагноза и патогенеза заболевания.

Биохимическая диагностика неферментных протеинопатий осуществляется путем обнаружения дефектного белка и последующего изучения его свойств и структуры.

Биохимическая диагностика заболеваний, вызывающих повреждение определенных органов. В патогенезе многих заболеваний имеет место нарушение проницаемости плазматических мембран и гисто-гематических барьеров или отмирание участка органа. В этих случаях используют методы ферментной диагностики заболеваний.

Болезни, вызывающие повреждение мышечных органов. Примером таких заболеваний может служить ишемическая болезнь сердца, при которой происходит некроз участка сердца (инфаркт миокарда). Для диагностики ее используется определение активности креатинфосфокиназы (КФК), аспаратаминотрансферазы (АСТ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ), так как эти ферменты содержатся в мышечной ткани и, в частности, в миокарде в больших количествах. Динамика изменений их активности в плазме крови при инфарк-

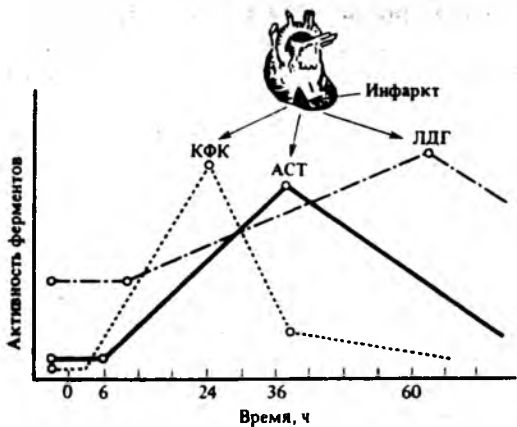


Рис. 83. Диаграмма изменений активности ферментов в крови при инфаркте миокарда

те миокарда показана на рис. 83. Уже через 3 ч после инфаркта повышается активность КФК в плазме крови; она достигает максимума через 24 ч. Несколько позже начинает повышаться и достигает максимума активность АСТ и ЛДГ. Степень гиперферментемии зависит от размеров инфарктного очага: чем он больше, тем выше подъем активности этих ферментов в плазме крови. Еще более специфична диагностика при определении изоферментов КФК и ЛДГ в плазме крови. Определение спектра этих изоферментов позволяет дифференцировать поражение мышечной ткани и избежать ошибок в постановке диагноза. Так, например, аналогичное повышение КФК и ЛДГ бывает и при повреждении

скелетных мышц, однако изоферментный состав КФК и ЛДГ в разных органах различен. КФК — димер, состоящий из двух субъединиц — М и В. Всего имеется три типа изофермента КФК: КФК₁ (ВВ) характерен для ткани головного мозга, КФК₂ (МВ) — для сердца и КФК₃ (ММ) — для скелетной мышцы.

Поэтому повышение в плазме крови активности КФК₂ (тип МВ) свидетельствует об инфаркте миокарда (даже вычисляют математически размеры инфарктного очага по степени повышения активности КФК₂ в плазме крови), а КФК₃ — о повреждении (например, атрофии) скелетной мышцы.

Другой пример — определение изоферментного спектра ЛДГ плазмы. Изоферменты ЛДГ₁, ЛДГ₂ преобладают в сердце, ЛДГ₃ — в поджелудочной железе и некоторых других железах, ЛДГ₄ и ЛДГ₅ — в скелетной мышце и печени. При инфаркте сердца в плазме крови увеличивается доля изоферментов ЛДГ₁ и ЛДГ₂, при поражении скелетных мышц и печени — ЛДГ₄ и ЛДГ₅.

При поражениях печени используют определение ее «органоспецифических» ферментов: аланинаминотрансферазы (АЛТ), глутаматдегидрогеназы (ГлДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), изоферментов ЛДГ в плазме крови. В крови увеличивается активность АЛТ в 8—10 раз, ГлДГ — в 10—15 раз, ЩФ — в 2—3 раза и, как уже говорилось, повышается содержание ЛДГ₄ и ЛДГ₅.

При поражениях поджелудочной железы в плазме крови резко повышается активность органоспецифических ферментов — α-амилазы, трипсина и фосфолипаз. Наиболее часто используется определение активности α-амилазы в крови и моче. При острых панкреатитах активность амилазы в крови повышается через 3—6 часов и достигает максимума через 48—72 часа; в моче увеличивается активность фермента через 6—10 часов. Активность амилазы в крови при остром процессе может повышаться в 40 раз; при хроническом в 2—3 раза.

Биохимическая диагностика болезней регуляции: Диагностика этих заболеваний основывается почти исключительно на биохимических исследованиях. С этой целью проводится прямое определение предполагаемого внеклеточного регулятора и продуктов его обмена, которое подкрепляется исследованием содержания регулируемых метаболитов в крови и моче. Например, при диагностике сахарного диабета определяется содержанием глюкозы, кетоновых тел в крови и моче; окончательно диагноз сахарного диабета устанавливается по концентрации инсулина в крови.

4. Клинико-биохимические лаборатории

Лаборатории, выполняющие биохимические исследования, занимают важное место в работе клиник и поликлиник. Объем и номенклатура биохимических лабораторных исследований в них зависит от типа медицинского учреждения.

В настоящее время Всемирная организация здравоохранения обсуждает номенклатуру лабораторных исследований, включающих до 800 наименований. В СССР проводится работа по унификации лабораторных методов, осуществляются разработка и выпуск готовых наборов по определению биохимических показателей. Особое внимание уделяется внедрению экспресс-методов биохимического анализа, которые удобно применять на начальных этапах обследования населения (биохимическом скрининге) и службе скорой медицинской помощи.

Самый большой эффект дает автоматизация биохимических исследований. В настоящее время применяют три вида биохимических автоматов: *одноцелевые* (для определения одного компонента, например глюкозы, кальция и т. д.); *групповые* (для определения группы родственных соединений, например аминокислотный анализатор применяют для определения свободных аминокислот) и *многоцелевые* (для одновременного определения самых разнообразных показателей — субстраты, ферменты и т. д.).

ГЛАВА 32. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

Фармацевтическая биохимия представляет собой совокупность биохимических знаний, используемых в решении задач фармации. Биохимические исследования необходимы при разработке рациональных лекарственных форм, стандартизации и контроле качества лекарств, анализе и производстве лекарственных средств, поиске новых лекарственных средств и оценке эффективности на основе изучения их метаболизма. В решении этих задач биохимия тесно сотрудничает с фармацевтическими науками: с технологией лекарств — в области биологического обоснования конкретных лекарственных форм для данного лекарственного средства или их комбинации; с фармацевтической химией — в вопросах обоснования биохимических методов стандартизации и контроля качества лекарств, анализа и синтеза лекарственных веществ; с фармакологией и токсикологией — в вопросах метаболизма лекарств и ядов. Каждое новое лекарственное вещество, облеченное в определенную лекарственную форму, требует всесторонних исследований, рассматривающих поведение его в организме. Создание общей теории метаболизма лекарства в организме фактически основывается на деятельности ферментных систем на раз-

личных этапах контакта лекарства с организмом и специфического взаимодействия с природными процессами регуляции. Роль биохимии в этих вопросах неопределима. Знание особенностей ферментативных превращений лекарств в организме позволяет обосновать целесообразность использования определенной лекарственной формы для эффективного влияния препарата на определенный орган или ткань, вскрыть причины неадекватного эффекта его и помочь оценить действующее начало лекарств.

Все лекарственные средства делят по отношению к организму человека на природные (аутобиогенные) и чужеродные (ксенобиотики). Природные являются естественными продуктами организма и участвуют в осуществлении биохимических процессов. Ксенобиотики в норме отсутствуют в организме человека или находятся в следовых количествах. Они являются синтетическими соединениями или веществами, извлеченными из других организмов (главным образом микроорганизмов и растений). Формально вещества, являющиеся для человека витаминами, сходны с чужеродными, но они, образуясь в организме человека, обязательны для осуществления его биохимических реакций. Поэтому их тоже следует отнести к природным препаратам.

1. Биохимические методы, используемые в стандартизации и контроле качества лекарств

Стандартизация и контроль качества лекарств являются важной стороной деятельности фармацевтической службы. Для стандартизации препаратов природного происхождения, относящихся по своему действию к группе биорегуляторов (гормоны, гормоноиды, витамины), используются химические и биологические способы стандартизации. Обычно биологическая стандартизация заменяется химической, если разработаны точные физико-химические методы определения данных препаратов. Однако для ряда препаратов, например, белковых гормонов, приемлема только биологическая стандартизация, поскольку, определяя химическими методами содержание этих гормонов в образцах препаратов, нельзя дать оценку их биологической активности. Так, стандартизация инсулина проводится по снижению им содержания глюкозы в крови, кальцитонина — по снижению содержания кальция в крови, а паратирин — по его повышению. Биохимические методы применяют и для стандартизации препаратов тропных гормонов. Активность кортикотропина устанавливают по снижению им количества аскорбиновой кислоты и холестерина в надпочечниках, соматотропина — по включению сульфата в хрящи и т. д. В фармацевтической промышленности эти биохимические методы позволяют контролировать качество выпускаемых препаратов, а в системе аптечной службы — контролировать качество препаратов в процессе их хранения.

Государственная система контроля качества лекарств предусматривает наблюдение за всеми этапами испытания и внедрения новых лекарств — доклиническим (экспериментальным) и клиническим. На каждом из этих этапов для оценки эффективности специфической активности, побочного действия и клинической эффективности лекарств проводят различные биохимические исследования.

2. Ферменты как аналитические реагенты

В фармацевтической промышленности, аналитической химии и медицине широко применяются в качестве аналитических реагентов иммобилизованные ферменты. Для ферментного анализа веществ характерны безвредность и высокая специфичность.

Иммобилизованные ферменты применяют в автоматическом анализе биологических субстратов и лекарственных веществ. Они являются рабочей частью автоматических проточных анализаторов. Жидкость, в которой находится определяемое вещество, протекает по специальным трубкам, к внутренней поверхности которой «пришит» фермент.

Субстрат количественно превращается ферментом, что регистрируется по изменению оптической плотности или флуоресценции жидкости. Оптически активными являются коферменты оксидоредуктаз, например НАД, НАДФ, ФАД, ФМН. Таким способом определяют содержание субстратов, которые могут подвергаться превращению оксидоредуктазами.

Для аналитических целей используют специальные ферментные электроды. Они представляют собой электрохимические датчики, на которые нанесен слой иммобилизованного фермента. Чаще всего для ферментных электродов изготавливаются ферменты, иммобилизованные в полиакриламидный гель. При контакте анализируемого вещества с ферментом электрода происходит реакция. Продукт (или субстрат) реакции как электрохимически активное вещество изменяет окислительно-восстановительный потенциал. По изменению потенциала судят о количестве анализируемого вещества в среде. Ферментные электроды позволяют проводить непрерывный анализ веществ.

На основе проточных анализаторов с иммобилизованными ферментами и ферментных электродов разработаны биохимические автоматы. С их помощью налажено автоматическое определение многих веществ: мочевины, глюкозы, этанола, лактозы, лактата, пирувата, аспарагина, глутамина и других в биологических жидкостях. Разработан метод быстрого определения пенициллина в ходе промышленного производства и в фармацевтических препаратах. Метод основан на использовании иммобилизованной на пористом стекле пенициллиназы, которая гидролизует в образцах пенициллин. Образующаяся пенициллинавая кислота определяется потенциометрически.

Иммобилизованные ферменты используют для непрерывного контроля загрязненности окружающей среды токсическими препаратами. Например, определение фенола в сточных водах и других средах ведется с помощью иммобилизованной тирозиназы.

Широкое применение получили методы иммуноферментного анализа для определения природных лекарственных веществ и ксенобиотиков. Суть его состоит в том, что молекула фермента, «пришитая» к антигену или антители, служит индикатором высокоспецифической реакции антиген—антитело в среде. Измеряя активность фермента, можно сказать, сколько молекул антигена вступило в иммунохимическую реакцию с антителом. Например, для того чтобы определить количество инсулина, вначале получают антитела к нему, связывают их с нерастворимым носителем. К инсулину, как к антигену, пришивают фермент, затем добавляют в среду инсулин (без фермента), количество которого надо измерить, и инсулин с ферментом, количество которого точно известно. Оба инсулина конкурируют за места связывания с иммобилизованными анти-

телями. Определяя по ферментной реакции количество индикаторного инсулина (с ферментом), связывавшегося с антителами или оставшегося в растворе, измеряют количество инсулина в анализируемой жидкости. Метод иммуноферментного анализа успешно применяют для определения ряда ксенобиотиков (кодеина, морфина, барбитуратов и др.) в крови и моче. Задача состоит в том, чтобы получить антитела к этим ксенобиотикам.

3. Биотехнология лекарственных препаратов

Применение ферментов в фармацевтической промышленности. Имобилизованные ферменты нашли применение в химико-фармацевтической промышленности для синтеза лекарственных средств. Ферменты позволяют быстро, специфично и без побочных продуктов (которые являются бичом химического синтеза) осуществлять синтез веществ. Так, иммобилизованная пенициллинамидаза используется для промышленного получения 6-аминопенициллановой кислоты, являющейся исходным сырьем в производстве полусинтетических новых пенициллинов широкого спектра действия и цефалоспоринов. Промышленное производство гормональных препаратов — кортизола и преднизолона — осуществляется с помощью колонок, заполненных гранулами нерастворимого носителя с иммобилизованными ферментами. Исходное вещество, поступающее в колонку, — предшественник кортизола — соединение «S» Рейхштейна, которое превращается иммобилизованной 11β -стероидгидроксилазой в кортизол (гидрокортизон), вытекающий из колонки-реактора. Из кортизола с помощью иммобилизованной Δ^1-2 -стероиддегидрогеназы получают преднизолон.

Генно-инженерная биотехнология лекарственных средств. Этот способ производства лекарственных препаратов в настоящее время освоен в лабораторных условиях и внедряется в фармацевтическую промышленность. Методы генной инженерии могут быть использованы только для получения белковых и пептидных препаратов. Пересадкой генов, кодирующих образование инсулина, соматостатина, соматотропина и других белково-пептидных гормонов, в кишечную палочку были получены в культуральной жидкости продукты деятельности пересаженных генов, т. е. соответствующие белковые препараты. Особую ценность представляет разработка промышленной биотехнологии производства инсулина, требующегося во все возрастающих количествах. Возможность его получения традиционным способом — из поджелудочных желез крупного рогатого скота — ограничена, а химический синтез, осуществленный в лабораторных условиях, трудоемок и пока несовершенен.

Большой интерес для фармацевтической промышленности представляет новый способ биотехнологии иммунопрепаратов — антител, интерферона. Он основан на получении клеточных гибридов, которые могут производить антитела в пробирках. Для этой цели были взяты клетки селезенки, продуцирующие антитела, но неспособные долго жить в пробирке, и клетки опухолей, которые хорошо живут и размножаются в искусственной среде. Из них получены клеточные гибриды, т. е. клетки, получившиеся не вследствие деления, а в результате слияния. Эти клеточные гибриды, названные *гибридомами*, унаследовали от клеток селезенки способность синтезировать антитела, а от опухолевых клеток — быстро размножаться в искусственных условиях. Весь процесс получения препаратов чистых антител и интерферона упрощает-

ся. Животным вводят соответствующие белковые вещества (иммунизируют) или заражают вирусом (для производства интерферона), берут от них клетки селезенки, получают гибридомы и соответствующие иммунопрепараты. В настоящее время многие фармацевтические фирмы производят иммунопрепараты подобным способом.

4. Биохимические основы технологии лекарственных форм

Оптимальное действие лекарственного вещества на организм зависит от лекарственной формы, в которой оно применяется. Одним из условий выбора лекарственных форм при использовании любого лекарственного вещества является знание условий биологической среды, с которой контактирует вводимое лекарство, т. е. ферментного состава и физико-химических свойств биологических жидкостей ротовой полости, желудка и кишечника (для энтеральных лекарственных форм) и внутренних сред организма (для парентеральных лекарственных форм).

Методические приемы биохимии использованы и при разработке новой лекарственной формы — *липосомы*. Липосомы — это микроскопические пузырьки, стенка которых представляет собой двухслойную липидную мембрану. Их используют в биохимических исследованиях как простейшую модель биологических мембран. Возникла заманчивая идея — использовать липосомы как лекарственную форму для транспорта лекарственных веществ. Липосома, подобно контейнеру, загружается различными лекарственными средствами, например ферментами, гормонами, антибиотиками, цитостатиками и др., и вводится в кровеносное русло. Возможны два пути проникновения в клетки липосом с препаратом: эндоцитоз или «слияние» липидной оболочки липосомы с липидным слоем мембран клеток. В первом случае липидная оболочка липосом внутри клеток разрушается фосфолипазами лизосом и лекарство освобождается в цитоплазму, во втором липидный компонент липосом входит в состав клеточных мембран, а его лекарственное содержимое поступает в цитоплазму. Липосомы делают возможным транспорт в клетки водорастворимых препаратов, в том числе макромолекул, которые в обычных условиях не проникают через плазматическую мембрану. При парентеральном введении липосомы захватываются клетками ретикуло-эндотелиальной системы, прежде всего селезенки и печени; в остальные органы и ткани их поступление невелико. Чтобы повысить избирательность действия препаратов, заключенных в липосомы, в липидную оболочку липосом встраивают молекулы, являющиеся антителами к антигенам определенных органов. Эти антитела на поверхности липосом находят путь к нужному антигену органа, к которому необходимо доставить лекарство. Этим достигается избирательность действия препарата, снижается его побочное влияние на другие ткани и требуется гораздо меньшая доза вещества для получения лечебного эффекта. В частности, были использованы антитела к коллагену, которые встраивались в липосомы. Коллаген обнажается при слушивании эндотелия сосудов или их повреждении, поэтому целесообразно антитела к коллагену использовать для доставки веществ, влияющих на сосуды или на тромбы в них.

Фазы метаболизма ксенобиотиков

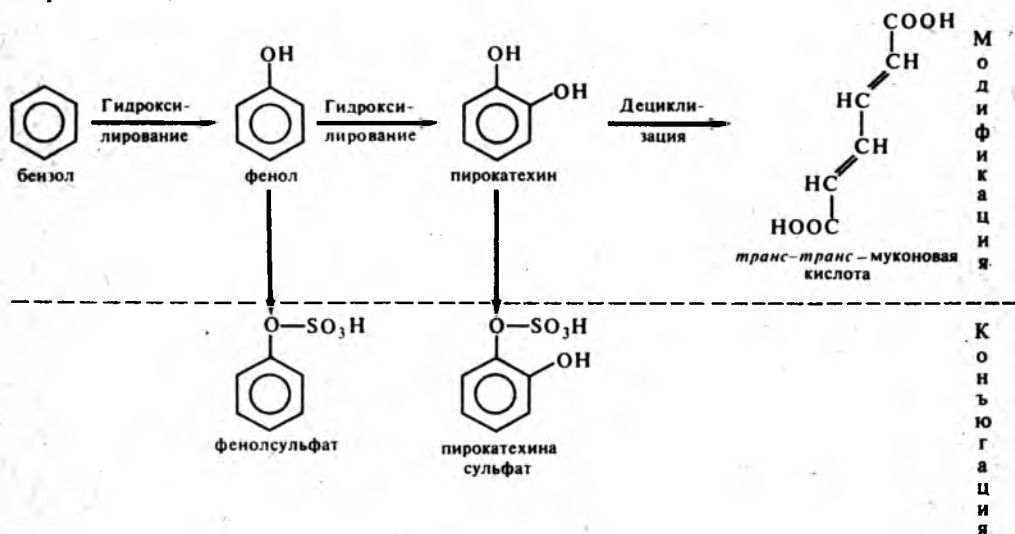
Биогенные вещества в отличие от ксенобиотиков включаются в обычный ход метаболизма. Ксенобиотики проходят при своем превращении две основные фазы: модификации (несинтетическая) и конъюгации (синтетическая).

Фаза модификации — это процесс ферментативной модификации исходной структуры ксенобиотика, в результате которой или проходит разрыв связей в молекуле ксенобиотика, или «вводятся» дополнительные функциональные группы в его молекулы (например, гидроксильная, аминная), или освобождаются свои функциональные группы, заблокированные в исходной молекуле (например, путем гидролиза эфирных, пептидных связей). В результате модификации повышается растворимость ксенобиотика (он становится более гидрофильным). Дополнительные функциональные группы необходимы, чтобы вещество вступило в фазу конъюгации.

Фаза конъюгации — процесс образования ковалентных связей между ксенобиотиком и биомолекулами организма (например, глюкуроновой кислотой, сульфатами и т. д.), происходящего с участием ферментов. При конъюгации синтезируется новое вещество, одной частью которого является ксенобиотик, второй — конъюгирующее вещество — биомолекула.

Зависимость метаболизма ксенобиотиков от их строения

Вводимые в организм ксенобиотики могут подвергаться целому ряду модификаций, или несинтетических превращений (окислению — восстановлению, изомеризации, циклизации дециклизации, гидролизу), осуществляемых соответствующими ферментами (оксидо-редуктазами, изомеразам, лиазами, гидролазами):



В зависимости от числа функциональных групп в молекуле модифицированного ксенобиотика может быть несколько конъюгаций его, причем каждая из функциональных групп связывается с конъюгирующим веществом.

Если вещество не имеет таких функциональных групп (например, бензол), то оно не может пройти фазу конъюгации. Напротив, если вводимый ксенобиотик уже имеет необходимую функциональную группу (например, фенол), то он может сразу вступить в фазу конъюгации.

Знание принципов ферментных превращений ксенобиотиков дает возможность прогнозировать метаболическую судьбу любого ксенобиотика в зависимости от особенностей его строения.

Судьба ксенобиотиков в организме

Ксенобиотики или выводятся из организма, или накапливаются в тканях. Выводятся ксенобиотики:

а) в неизменном виде (не подвергшиеся действию ферментов); б) в виде метаболитов (после модификации ферментами); в) в виде конъюгатов (после действия конъюгирующих ферментов); г) в виде химических комплексов с биомолекулами (например, вещества, содержащие металлы, связываются с цистеином» глутатионом и выводятся в виде комплексов).

В организме накапливаются только те ксенобиотики, которые взаимодействуют с макромолекулами (белками, нуклеиновыми кислотами, липидными структурами). Например, хлорорганические соединения, хорошо растворимые в липидах, мало превращаются в организме и потому медленно выводятся. Они накапливаются в тканях, богатых липидами. Тяжелые металлы (ртуть, кадмий, серебро, мышьяк, свинец) и препараты металлорганических соединений связываются с белками и тоже накапливаются в организме.

Зависимость действия лекарств от их метаболизма

Вещества, вводимые в организм, могут проявить или лечебные, или ядовитые свойства. Как правило, любое лекарственное средство оказывает и лечебный, и побочный (токсический) эффекты, причем чем активнее это вещество, тем быстрее оно проявляет и токсические свойства. В ходе метаболизма ксенобиотиков происходит изменение их специфической активности и токсичности. Изменения биологической активности проявляются в виде:

а) дезактивации, т. е. потери лекарственной или биологической активности веществ;

б) активации, т. е. проявления активности неактивного препарата;

в) модификации основного эффекта, т. е. когда вводимое вещество после метаболизма проявляет несколько другие свойства, чем исходный препарат.

Изменения токсичности проявляются в виде:

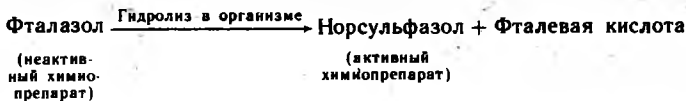
а) дезинтоксикации, т. е. потери или снижении токсичности вещества;

б) токсификации, т. е. усиления токсичности вещества.

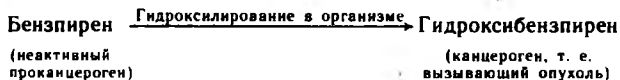
Рассмотрим эти положения на конкретных примерах.

Дезактивация наблюдается при утрате или связывании функциональных групп препарата, имеющих ведущее значение для проявления его биологической активности. Так, активный сульфаниламид после конъюгации с ацетилм превращается в ацетилсульфаниламид, который неактивен.

Активация наблюдается при освобождении в ходе метаболизма функциональных групп (от которых зависит в основном биологическая активность), заблокированных в исходном препарате:



или в приобретении в ходе метаболизма функциональных групп, необходимых для проявления активности вещества:



Модификация основного эффекта проявляется как вариант активации. Например, кодеин (метилморфин) проявляет в основном противокашлевое и слабое болеутоляющее действие. При деметилировании в организме он превращается в морфин, который обладает болеутоляющим действием.

Дезинтоксикация похожа на дезактивацию и является защитной реакцией на токсическое влияние веществ. Например, фенол — токсическое вещество, а продукт его конъюгации в организме фенолсульфат — нетоксическое.

Токсификация проявляется в виде усиления побочного действия вещества. По механизму она сходна с активацией. Иногда токсификация возникает вследствие синтеза из вводимых веществ в ходе метаболизма так называемых «летальных» молекул. Летальный (смертельный) синтез из чужеродного вещества приводит к блоку в обмене веществ и гибели организма. Например, вводимый фторацетат вступает в тканях в цикл Кребса и из него образуется токсический продукт — фторцитрат, который блокирует аконитатгидратазу и превращения в цикле Кребса. Явление токсификации используется при создании препаратов для борьбы с грызунами и другими вредителями.

Локализация метаболизма лекарственных веществ в организме

В зависимости от места превращения биогенных препаратов и ксенобиотиков можно выделить полостной (энтеральный), внеклеточный (гуморальный) и клеточный, или тканевый, метаболизм лекарств.

Полостной, или энтеральный, метаболизм лекарств осуществляется гидролитическими ферментами, поступающими в полость желудочно-кишечного тракта. Гидролиз биогенных препаратов происходит с участием тех же пищеварительных ферментов поджелудочной железы и кишечника. Ксенобиотики, имеющие в молекуле пептидные, карбоксиэфирные, гликозидные, амидные, фосфамидные связи, также подвергаются гидролизу. В этом процессе участвуют протеолитические и липолитические ферменты, ферменты, гидролизующие гликозидные связи. Кроме того, в кишечнике имеется большая группа эстераз (например, карбоксиэстеразы, фосфатазы), фосфамидазы (гидролизуют фосфамидные связи в препаратах). Трипсин помимо протеолитической обладает также эстеразной активностью и способен гидролизовать эфирные связи ксенобиотиков.

Внеклеточный, или гуморальный, метаболизм лекарств имеет место во внеклеточных жидкостях (после всасывания препарата и во время циркуляции его в организме), т. е. в крови, лимфе, спинно-мозговой и собственно межклеточной жидкостях. Возможно, превращения здесь ограничиваются в основ-

ном гидролизом поступивших препаратов (как биогенных, так и ксенобиотиков). В крови и других жидкостях эту роль выполняют протеиназы, различные эстеразы (например, псевдохолинэстераза, фосфатазы и др.). Во внеклеточных жидкостях имеются в небольших количествах и другие ферменты, например алкогольдегидрогеназа, окисляющая спирты, аминоксидазы, окисляющие амины, и т. д., но активность этих ферментов невелика. Роль гуморального звена метаболизма в общем объеме превращений препарата не очень велика. В основном здесь осуществляется гидролиз препаратов, однако если гидролиз имеет существенное значение в инактивации лекарственного вещества, то это звено метаболизма приходится учитывать.

Клеточный (тканевый) метаболизм лекарств. В клетках осуществляется все многообразие метаболических превращений, в том числе и ксенобиотиков. Однако прежде чем подвергнуться действию ферментных систем, вещество должно транспортироваться от места введения к клеткам и проникнуть внутрь их через клеточные мембраны. Ксенобиотики транспортируются с помощью тех же механизмов, что и биогенные вещества. В плазме крови они или растворяются в жидкой среде, или адсорбируются главным образом на альбумине. В растворенном состоянии или связанные с белками они достигают клеток (тканей). Внутри клеток они проникают главным образом путем простой и облегченной диффузии, а крупные молекулы — посредством эндоцитоза. Если ксенобиотики являются синтетическими производными биогенных веществ, то возможен активный транспорт их через клеточные мембраны с использованием систем транспорта природных веществ.

Не все ткани и органы одинаково активно превращают ксенобиотики. Основным органом является печень, где имеются ферменты, осуществляющие модификацию и конъюгацию лекарств. Остальные органы и ткани принимают меньшее участие в метаболизме ксенобиотиков.

Превращение ксенобиотиков происходит в разных органоидах клеток печени. Наиболее мощная система метаболизма находится в эндоплазматической сети (в микросомах). Микросомы являются фрагментами эндоплазматической сети, которые образуются при растирании ткани и самопроизвольно замыкаются в пузырьковидные структуры. Итак, в зависимости от локализации метаболизм ксенобиотиков делится на *микросомальный* и *внемикросомальный*. Вне микросом метаболизм происходит в гиалоплазме, лизосомах, пероксисомах, митохондриях.

Ферментативные реакции превращения ксенобиотиков можно разделить на следующие основные группы:

- 1) окислительно-восстановительные реакции;
- 2) гидролитические реакции;
- 3) синтетические реакции или реакции конъюгации;
- 4) прочие реакции (изомеризации, дециклизации и т. д., осуществляемые изомеразами и лиазами).

Микросомальное окисление веществ

В микросомах находятся ферментные цепи окисления веществ. Они представлены двумя короткими цепями переноса электронов и протонов, смонтированными в мембраны эндоплазматической сети или микросом. Когда говорят о микросомальном окислении, имеют в виду эти цепи. Одна из них — моноокси-

геназная цепь окисления, в которой источником электронов и протонов является восстановленный НАДФ, а другая — редуктазная цепь окисления, в которой источником электронов и протонов служит восстановленный НАД. Последовательность переноса электронов в НАДФ · Н- и НАД · Н-зависимых цепях окисления показана на рис. 84. Источником НАДФ · Н для монооксигеназной цепи является пентозофосфатный цикл, а источником НАД · Н — гликолиз.

НАДФ · Н-зависимая монооксигеназная цепь микросом состоит из флавопротеида (ФП₂), коферментом которого служит ФАД, и цитохрома Р₄₅₀. Флавопротеид обладает НАДФ · Н-дегидрогеназной активностью, причем ФАД акцептирует 2Н⁺ и 2e⁻. С флавопротеидов электроны транспортируются на цитохром Р₄₅₀, а протоны в окружающую среду. Цитохром Р₄₅₀ — последнее самоокисляющееся звено этой цепи. Как и все цитохромы, он относится к гемпротеидам. Белковая часть его представлена одной полипептидной цепью. Молекулярная масса цитохрома Р₄₅₀ около 50 000. Он способен образовывать комплексы с оксидом углерода СО. Такой комплекс имеет максимум поглощения при 450 нм. Отсюда и название данного цитохрома. Цитохром Р₄₅₀ выполняет двойную функцию: он активирует кислород посредством переноса на него электронов и использует активированный кислород для окисления вещества (R) и образования воды. В результате один атом кислорода включается в окисляемое вещество (RO), а другой, связывая два иона Н⁺ из среды, входит в состав воды.

НАД · Н-зависимая редуктазная цепь окисления содержит не только в мембранах микросом, она имеется также в наружной мембране митохондрий, ядерной мембране, клеточной мембране эритроцитов. Редуктазная цепь относится к самым быстрым реакциям биологического окисления, но функция ее в клетке окончательно неясна. Неизвестен также самоокисляющийся компонент этой цепи, который может активировать кислород (вполне возможно, что им является то же цитохром Р₄₅₀). НАД · Н- и НАДФ · Н-зависимые цепи окисления могут обмениваться электронами, например электроны с ФП₂ и цитохрома В₅ могут передаваться на цитохром Р₄₅₀ и использоваться в окислении субстратов (см. рис. 84).

Иногда ошибочно считают, что монооксигеназная цепь микросом предназначена для окисления ксенобиотиков. На самом деле она служит универсальной биологической системой окисления неполярных соединений любого происхождения, поскольку цитохром Р₄₅₀, непосредственно участвующий в окислении, находится в липидном слое мембран. Субстрат, окисляемый цитохромом Р₄₅₀, должен отвечать одному требованию — быть неполярным, т. е. проявляется специфичность не к структуре субстрата, а к его физико-химическим свойствам.

Наиболее распространенные окислительно-восстановительные реакции

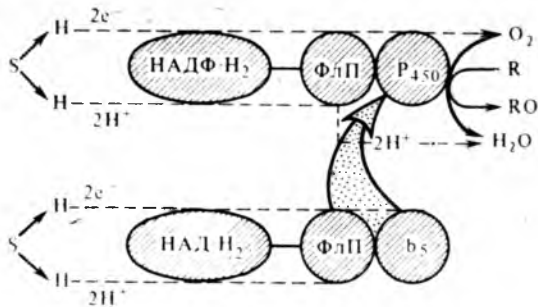
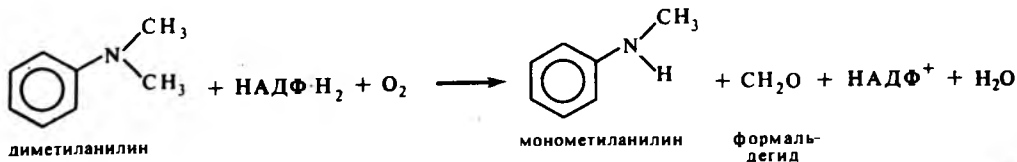


Рис. 84. Схема монооксигеназной (верхняя) и редуктазной (нижняя) цепей окисления соединений в микросомах (S · Н₂ — субстрат, донор водорода; R — окисляемое соединение)

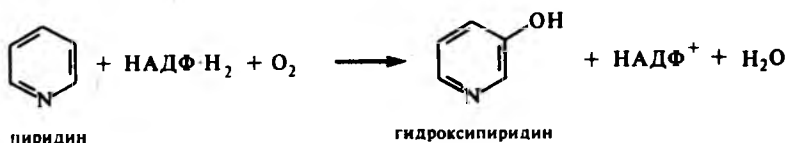
осуществляемые НАДФ · Н- и НАД · Н-зависимыми цепями окисления мембран микросом (эндоплазматического ретикулула) печени, описаны ниже (классификация А. И. Арчакова).

НАДФ · Н-зависимые реакции. I. Окисление ксенобиотиков.

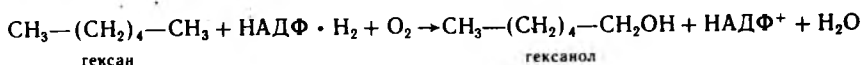
1. Окислительное N-, S- и O-деалкилирование. Например, окислительное N-деалкилирование диметиланилина протекает по схеме



2. Гидроксилирование карбоциклических и гетероциклических соединений, например



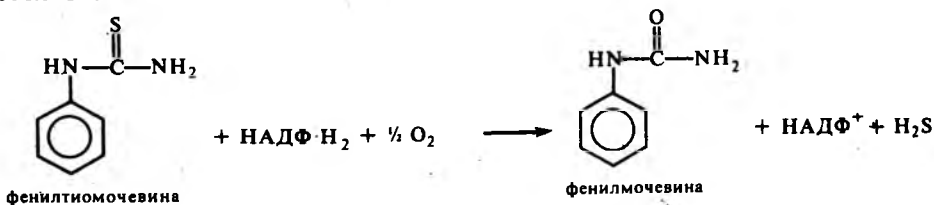
3. Гидроксилирование алифатических соединений. Например:



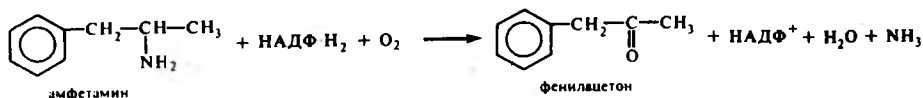
4. N-Окисление с образованием N-оксидов и N-гидроксиламинов. Например:



5. S-Окисление и десульфирование. Например, фенилтиомочевина подвергается S-окислению по схеме



6. Окислительное дезаминирование. Например, амфетамин (психотропный препарат) дезаминируется по схеме



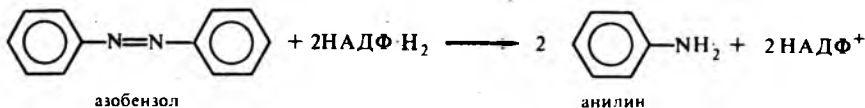
II. Окисление природных субстратов:

1. ω -Окисление ненасыщенных жирных кислот.

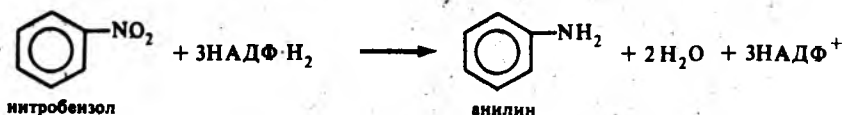
2. Гидроксилирование различных стероидов, простагландинов.

III. Реакции восстановления ксенобиотиков (возможно, и некоторых природных субстратов). Особенностью этих реакций является то, что восстановление соединений происходит не на уровне цитохрома P₄₅₀, а на уровне флавопротеида. С флавопротеида водород поступает на субстрат. Имеется три типа этих реакций.

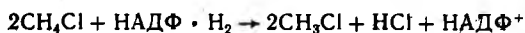
1. Восстановление азосоединений:



2. Восстановление нитросоединений:



3. Восстановительное дегалогенирование:



НАДФ · Н-зависимые реакции:

I. Образование ненасыщенных жирных кислот из насыщенных.

II. Восстановление семидегидроаскорбиновой кислоты.

III. Реакции гидроксилирования:

1. Гидроксилирование кинуренина.

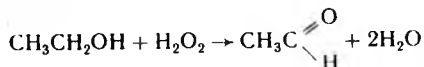
2. Гидроксилирование фенолов и анилина.

Масштабы деятельности монооксигеназной цепи окисления веществ в печени очень велики. Уже сейчас известно свыше 7000 наименований соединений, окисляющихся этой цепью. Подобная универсальность монооксигеназной цепи дает возможность выполнять главную задачу — сделать вещество более полярным. В результате вещества легче растворяются в водной среде, подвергаются другим превращениям и выводятся из организма. В большинстве случаев гидроксилирование ксенобиотиков приводит к снижению их токсичности. Но не всегда: например, монооксигеназная цепь, окисляя нетоксичный бензпирен (содержащийся в табачном дыму, копченостях), приводит к образованию токсичного гидроксибензпирена, являющегося канцерогеном. Образование токсических и биологических агрессивных продуктов в монооксигеназной цепи окисления — это своеобразная «плата» за ее универсальность.

Превращения ксенобиотиков вне микросом

Превращения ксенобиотиков могут происходить также вне микросом клеток печени и других органов. Например, в митохондриях происходит окислительное дезаминирование алифатических и арилзамещенных аминов в соответ-

ствующие альдегиды. В растворимой части цитоплазмы происходит окисление алифатических спиртов (метанола, этанола, бутанола и др.) алкогольдегидрогеназой в соответствующие альдегиды, которые альдегиддегидрогеназой окисляются в органические кислоты. В пероксисомах возможен другой путь окисления этанола с участием каталазы по схеме



К числу окислительно-восстановительных превращений ксенобиотиков относятся реакции ароматизации кольца или восстановления в нем двойных связей.

Большую группу превращений выполняют гидролазы, главным образом гидролазы лизосом. К ним относятся:

- 1) эстеразы эфиров карбоновых кислот (псевдохолинэстераза, атропинэстераза, кокаинэстераза, танинэстераза и др.);
- 2) эстеразы эфиров фосфорной кислоты (фосфомоноэстеразы, фосфодиэстеразы, фосфоамидазы и др.);
- 3) эстеразы эфиров серной кислоты (различные сульфатазы);
- 4) эстеразы глюкуронидов (β -глюкуронидаза).

Образующиеся под действием ферментов эндоплазматической сети и других органондов метаболиты ксенобиотиков являются реакционно-способными промежуточными соединениями. Они могут оказать побочное влияние на ткани организма, например мутагенное, канцерогенное, иммунодепрессивное, аллергическое и т. д.

Конъюгация ксенобиотиков, ее механизм и значение

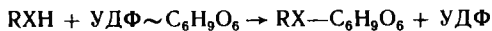
Конъюгационная, или синтетическая, фаза необходима для образования нетоксичных и легко выводимых продуктов метаболизма лекарств. По механизму реакции конъюгации делятся на два типа.

I тип реакций. Сначала активируются конъюгирующие вещества, т. е. биомолекулы, а затем они переносятся на ксенобиотики с образованием конъюгата. Этот тип реакций конъюгации наблюдается во всех тканях организма.

II тип реакций. Сначала активируется ксенобиотик, который затем переносится на конъюгирующую биомолекулу с образованием конъюгата. Это редкий тип конъюгации. Он наблюдается только в печени и почках.

Имеются различные группы реакций конъюгации I и II типа в зависимости от природы участвующего в них конъюгирующего вещества. В I типе реакций конъюгации выделяются глюкуронидная, сульфатная, ацетильная, метильная, тиосульфатная, а во II типе-глициновая и глутаминовая.

Глюкуронидная конъюгация. Источником остатков глюкуроновой кислоты в этом процессе является УДФ-глюкуроновая кислота. Глюкуронидной конъюгации подвергаются природные соединения (известны глюкурониды билирубина, стероидных гормонов, витамина D и др.) и ксенобиотики. Последние могут вступать в глюкуронидную конъюгацию, если они имеют или приобрели в ходе модификации гидроксильную, карбоксильную, аминогруппу (обычно у ароматического кольца) и в крайнем случае SH-группу. Реакция конъюгации протекает с участием *УДФ-глюкуронозилтрансферазы* по схеме

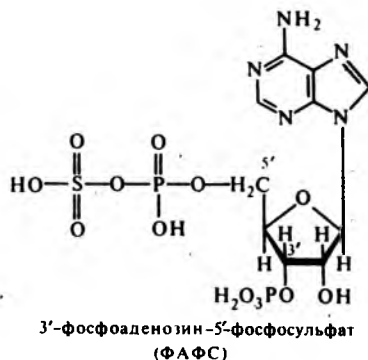


ксено-биотик УДФ-глюкуро-вая кислота глюкуронид ксенобиотика

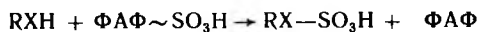
Среди ксенобиотиков (лекарств и ядов) глюкуронидной конъюгации подвергаются фенолы, полифенолы, фенольные стероиды, ароматические амины и т. д.

Сульфатная конъюгация. При осуществлении этой разновидности конъюгации предварительно образуется активная форма конъюгирующего вещества — *3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат* (сокращенно **ФАФС**):

ФАФС, который можно записать как $\text{ФАФ} \sim \text{SO}_3\text{H}$, является источником подвижных сульфатных групп, используемые для конъюгации природных соединений и ксенобиотиков. Природными веществами, подвергающимися сульфатной конъюгации, являются эндогенные токсические продукты гниения белков в кишечнике: индол, скатол, фенолы, а также стероиды, иодтиронины, токоферолы, нафтохиноны и др. Чтобы подвергнуться сульфатной конъюгации, ксенобиотики (кстати так же, как и природные вещества) должны представлять собой, как правило, циклические структуры (карбоциклические или гетероциклические), содержащие свободные OH - и NH_2 -группы.



Реакция сульфатной конъюгации происходит с участием специального фермента *сульфотрансферазы* по схеме



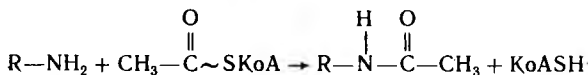
ксено-биотик ФАФС сульфат ксенобиотика 3'-фосфо-аденозин-5'-фосфат

Следует отметить, что большинство веществ, структура которых подходит для сульфатной конъюгации, могут с равной долей вероятности подвергаться глюкуронидной конъюгации. Очевидно, все зависит от условий в месте локализации ферментов, осуществляющих ту или иную конъюгацию, и относительной специфичности этих ферментов к субстрату.

Ацетильная конъюгация. Источником подвижных ацетильных групп в этой разновидности реакций конъюгации служит *ацетил-КоА*, который образуется в ходе распада углеводов, триацилглицеринов и аминокислот. Ацетилированию могут подвергаться природные вещества и ксенобиотики, имеющие свободную NH_2 -группу. N-Ацетилирование служит необходимой биохимической реакцией для синтеза производных моносахаридов (N-ацетилглюкозамина, N-ацетилгалактозамина, нейраминной кислоты), использующихся в дальнейшем синтезе гетерополисахаридов. N-Ацетилирование является также одним из путей обезвреживания биогенных аминов — серотонина, гистамина и др. N-Ацетилирование гистонов и негистоновых белков хроматина является важным механизмом регуляции транскрипции ДНК. Для природных веществ

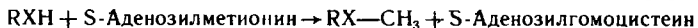
известен единственный случай O-ацелирования — это реакция образования ацетилхолина.

Ксенобиотики, содержащие свободную NH₂-группу (как правило, у ароматического кольца), подвергаются ацелированию. Оно осуществляется при участии специальной ацетилтрансферазы, называемой *ариламин-N-ацетилтрансферазой* (возможно, этих ферментов несколько). Этот фермент мало специфичен по отношению к ацелируемому ксенобиотику. Реакция протекает по схеме



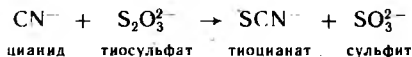
Среди ксенобиотиков, подвергающихся ацелированию, можно назвать сульфаниламиды, гидразиды изоникотиновой кислоты, производные анилина, препараты которых широко используют в лечебной практике.

Метильная конъюгация. Конъюгирующим веществом в этой реакции являются метильные группы, источником которых служит активная форма метионина *S-аденозилметионин*. S-Аденозилметионин участвует в многочисленных реакциях метилирования природных соединений. Он же служит донором метильных групп для реакций конъюгации ксенобиотиков (RXH), которые протекают с участием метилтрансфераз по схеме



Метилированию подвергаются ксенобиотики, содержащие NH₂-группу или азот в гетероцикле, OH- и SH-группы, т. е. происходит их N-, O- и S-метилирование. Среди препаратов, используемых в медицине, подвергаются метилированию моно- и полифенолы, гетероциклические соединения типа пиридина, хинолина, изохинолина, тиюрацила и др.

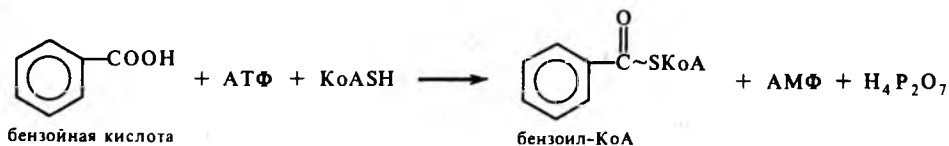
Тиосульфатная конъюгация. Эта разновидность конъюгации используется при ферментативном обезвреживании цианидов. Конъюгирующим веществом в реакции является сера тиосульфата (редко другие серусодержащие соединения). Перенос серы от тиосульфата к иону цианида катализируется специфическим ферментом *тиосульфат-сульфидтрансферазой* (прежнее название — роданеза) по схеме



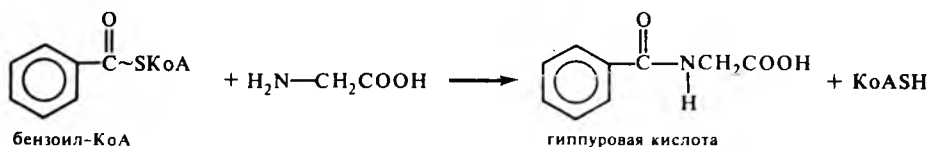
Образующийся тиоцианат значительно менее токсичен, чем цианиды. Источником тиосульфата в тканях человека являются серусодержащие аминокислоты. Тиосульфатная конъюгация возможна с цианидами неорганического (синильная кислота, цианиды натрия или калия) и органического (ацетонитрил, акрилонитрил, бензилцианид, нитрил миндальной кислоты, малонитрил, различные циангидрингликозиды и галогенцианиды и др.) происхождения, если последние освобождают в ходе гидролиза в организме цианид-ион.

Глициновая конъюгация. Относится к конъюгациям II типа, требующих предварительного активирования субстрата, но не конъюгирующего вещества. Субстратом конъюгации в принципе могут служить любые карбоновые кислоты. Но алифатические, как правило, образуются редко, поэтому основным субстратом являются циклические карбоновые кислоты.

Механизм глициновой конъюгации можно рассмотреть на примере образования гиппуровой кислоты. Согласно механизму реакций конъюгации II типа при образовании гиппуровой кислоты сначала активируется бензойная кислота с участием *арилацил-КоА-синтетазы* по схеме



Затем происходит перенос бензоила (в других подобных реакциях конъюгации — любого активированного субстрата) на аминогруппу глицина. Этот процесс катализируется *ацил-N-глицилтрансферазой*, которая специфична для ацилирования глицина, а не других аминокислот:



Аналогично проходит образование глициновых конъюгатов других соединений: ароматических кислот (никотиновой), фенолзамещенных уксусных кислот (фенилуксусной, гидратроновой), β -замещенной пропионовой кислоты (β -толилпропионовой), замещенных акриловых кислот (коричной, фурилакриловой, β -метилкоричной, фелландреновой), стероидных кислот (холевой, дезоксихолевой).

Глутаминовая конъюгация — редкая разновидность конъюгации, которая наблюдается в ощутимых количествах у больных фенилкетонурией. У них образуются существенные количества фенилуксусной кислоты, которая в печени и почках активируется с образованием фенилацетил-КоА и затем переносится на NH_2 -группу глутамин. При этом образуется конъюгат-фенилацетил-глутамин, выделяющийся с мочой. Глутаминовая конъюгация ксенобиотиков в норме у человека не наблюдается.

6. Условия, определяющие метаболизм лекарств

Метаболизм лекарств зависит от многих факторов. К их числу относятся: генетические, возрастные, органоспецифические, нейроэндокринные, способ введения и факторы внешней среды.

Молекулярно-генетические механизмы, определяющие метаболизм лекарств. Скорость метаболизма лекарств зависит от количества ферментов, обеспечивающих модификацию и конъюгацию поступающего в организм препарата. При ферментопатиях, связанных с дефектом ферментов, участвующих в превращении лекарств, наблюдается снижение скорости метаболизма лекарственного средства. Поскольку в большинстве своем метаболизм лекарств ведет к снижению их активности и токсичности, то при энзимопатиях может

неожиданно проявиться ненормально повышенная чувствительность тканей организма к введенному лекарству (если оно вводится в активной форме) и высокая его токсичность (побочное действие). Ферментопатии метаболизма лекарств являются частой причиной отрицательного действия многих лекарств. Приведем несколько примеров таких ферментопатий.

В плазме крови содержится холинэстераза, гидролизующая ацетилхолин, и неспецифичная псевдохолинэстераза, гидролизующая помимо ацетилхолина другие карбоксиэфиры. Оба фермента образуются в печени. При ферментопатии псевдохолинэстеразы наблюдается низкая активность ее в плазме крови. Применение у таких людей препарата дитилина в качестве миорелаксанта (расслабляющего скелетные мышцы), который гидролизует псевдохолинэстеразой, вызывает ненормально длительное действие его на организм — до нескольких часов (при норме в несколько минут).

Описаны у человека ферментопатии, связанные с реакциями конъюгации. Известны молекулярные болезни, вызванные дефектом УДФ-глюкуронозилтрансферазы. Они проявляются в виде двух форм наследственных гипербилирубинемий или желтух: гипербилирубинемия негемолитическая наследственная с ядерной желтухой (синдром Криглера—Наджара) и гипербилирубинемия юношеская идиопатическая семейная (синдром Жильбера—Мейленграхта). При этих молекулярных болезнях нарушена глюкуроноидная конъюгация не только билирубина, но и других природных субстратов и лекарств. Поэтому назначение сульфаниламидов, салицилатов, препаратов, производных фенола, которые метаболизируются посредством глюкуроноидной конъюгации, резко усиливают признаки заболевания и проявляют отрицательное действие даже в обычных дозах.

Встречаются ферментопатии, связанные с ацелированием ксенобиотиков. У таких людей низкая активность ариламинов-N-ацетилтрансферазы, поэтому они медленно инактивируют (путем конъюгации) сульфаниламиды и противотуберкулезные препараты (*n*-аминосалициловую кислоту, изониазид), чем и обусловлено их побочное действие на ткани организма. В связи с этим лечение изониазидом больных туберкулезом должно проводиться с учетом того, к какому типу пациенты относятся: к быстрым или медленным инактиваторам.

Возрастные факторы метаболизма лекарств. Возраст существенно влияет на метаболизм лекарств. У новорожденных и детей примерно до восьминедельного возраста слабо развит ферментативный аппарат метаболизма ксенобиотиков. У них низкая активность монооксигеназной цепи окисления лекарств (в том числе и содержание цитохрома P₄₅₀) и других ферментов, в частности УДФ-глюкуронозилтрансферазы, по сравнению со взрослым организмом. Поэтому у новорожденных встречаются физиологические желтухи, о чем говорилось ранее. Возрастную недостаточность этих ферментов не следует путать с энзимопатиями. По мере развития организма физиологическая недостаточность фермента исчезает; энзимопатии же остаются и у взрослого человека. Возрастная недостаточность обезвреживания лекарств у детей приводит к тому, что у них быстрее и от меньшей дозы проявляются побочные эффекты лекарств.

Органоспецифические факторы метаболизма лекарств. Основным органом метаболизма лекарств является печень. Поэтому при патологии печени возни-

кают нарушения обезвреживания лекарств, что тоже ведет к повышению их токсичности и необычно высокой активности.

Нейроэндокринные факторы, определяющие метаболизм лекарств. Состояние нейроэндокринной системы влияет на активность ферментов метаболизма лекарств. Состояние напряжения, стресса ведет к повышению выделения кортикотропина и соответственно глюкокортикоидов, которые увеличивают активность ферментов метаболизма лекарств женских и мужских половых гормонов связаны половые различия инактивации лекарств. Андрогены являются индукторами ферментов монооксигеназной цепи окисления и конъюгации лекарств, поэтому у мужчин лекарства обезвреживаются быстрее. Женщины, напротив, медленнее инактивируют лекарственные средства. Возможно, это связано с тем, что эстрогены и прогестерон угнетают гидроксילирование ксенобиотиков в микросомах печени и активность УДФ-глюкуронозилтрансферазы.

Зависимость метаболизма лекарств от способа введения. Способ введения лекарств определяет пути их превращений. При энтеральном способе введения лекарства подвергаются гидролитическому расщеплению ферментами желудочно-кишечного тракта, при всасывании с кровью воротной вены сразу поступают в печень. Поэтому энтеральный способ введения обуславливает интенсивные метаболические превращения лекарственных средств и более быструю их инактивацию. Из этого вытекает, что энтеральный способ введения более безопасен в отношении проявления токсических свойств препарата, но, с другой стороны, требует применения больших доз его для развития специфического эффекта. Особенности метаболизма лекарств при их энтеральном введении позволяют разрабатывать препараты кишечного действия. Для этих целей блокируются активные химические группы препарата, которые освобождаются при гидролизе его ферментами кишечника.

При парентеральном способе введения лекарство вообще не проходит этап полостного метаболизма и не сразу поступает в печень. Поэтому скорость метаболизма его значительно ниже, а вероятность проявления побочного действия выше. Однако требуется гораздо меньшее количество препарата для достижения его максимального эффекта.

Влияние факторов внешней среды на метаболизм лекарств. Многие факторы внешней среды влияют на активность ферментных систем тканей организма, которые участвуют в метаболизме лекарств и тем самым изменяют их эффективность и токсичность. Замечено действие таких внешних факторов, как световой режим, температура среды, радиация и др. Действие этих факторов на ферменты реализуется не прямо, но косвенно — через нейро-эндокринную систему. В то же время влияние эндокринных факторов на различные ферменты, обезвреживающие лекарства, неоднозначно: на одни ферменты они могут оказывать индуцирующее действие, на другие — или не влиять, или угнетать их активность. Поэтому влияние внешних факторов на метаболизм разных групп лекарственных средств (и, следовательно, на их активность и токсичность) зависит от того, как они воздействуют на активность ферментов, метаболизирующих конкретную химическую группу лекарственных веществ.

Увеличение продолжительности светового дня снижает активность ферментных систем микросомального окисления в печени; напротив, в ночное время активность их увеличивается. Поэтому скорость метаболизма препаратов ферментами эндоплазматического ретикулаума печени ночью увеличивает

ся, а днем уменьшается. Воздействие на организм ионизирующего облучения снижает обезвреживающую способность монооксигеназной цепи окисления лекарств в печени.

Режим питания также существенно изменяет метаболизм лекарств. Голодание приводит к угнетению активности ферментов микросомального окисления большинства лекарств и повышает вероятность лекарственной интоксикации. Недостаток в пище белков оказывает примерно такое же влияние на метаболизм лекарств, что и голодание. При гиповитаминозах B_1 , B_2 снижается гидроксילирование ксенобиотиков в микросомах печени. Эти данные используют врачи для обоснования схем и режима назначения различных лекарств.

Особо следует остановиться на механизме регуляции различными лекарственными препаратами и прочими соединениями, с которым сталкивается человек, ферментативных процессов метаболизма ксенобиотиков. Среди них имеются вещества — индукторы и ингибиторы синтеза этих ферментных систем. В настоящее время известно свыше 200 препаратов, оказывающих индуцирующее действие на ферменты метаболизма лекарств, прежде всего микросомальных. К ним относятся бутадиион (противовоспалительное), амидопирин (болеутоляющее), новокаин (местнообезболивающее), этиловый алкоголь и др. Наиболее мощным индуктором служит фенobarбитал (снотворное средство). Он резко увеличивает синтез ферментов микросомального окисления в печени, воздействуя на генетический аппарат клеток печени. Увеличение количества цепей микросомального окисления приводит к повышению метаболизма природных соединений и ксенобиотиков, окисляющихся ферментами этой цепи. Кроме того, фенobarбитал индуцирует синтез УДФ-глюкуронозилтрансферазы и облегчает протекание фазы конъюгации в метаболизме различных веществ. Остальные препараты обладают сходным, но более слабым действием.

Явление лекарственной (в частности, фенobarбиталовой) индукции объясняет привыкание к снотворным препаратам, относящимся к барбитуратам, и к другим лекарственным средствам, обезвреживающимся посредством окисления в монооксигеназной цепи эндоплазматического ретикулаума печени и глюкуронидной конъюгации. Таким образом, фенobarбитал как бы «готовит» почву для обезвреживания самого себя и других веществ, поэтому его полезно использовать для этих целей в практике, например при отравлениях или для усиления метаболизма эндогенных веществ (например, билирубина при физиологической желтухе новорожденных и врожденных гипербилирубинемиях).

Назначение препаратов-индукторов совместно с другими лекарствами требует специального подхода. В противном случае можно не достичь желаемого лечебного эффекта от применяемой дозы препарата.

Индукторами ферментов лекарственного метаболизма являются биогенные препараты — тиамин, рибофлавин и их коферменты, карнитин, пантотеновая кислота, андрогены, анаболические стероиды и др.; препараты эстрогенов и прогестерона угнетают эти ферменты.

Таким образом, с помощью препаратов биогенного происхождения и ксенобиотиков можно направить в нужное русло метаболизм эндогенных и поступающих в организм пациента соединений, в ходе которого изменяются их токсичность и активность.

ЛИТЕРАТУРА

- Арчаков А. И.** Микросомальное окисление. — М.: Наука, 1975.
- Ашмарин И. П.** Молекулярная биология. — Изд-во ЛГУ, 1977.
- Бергельсон Л. Д.** Мембраны, молекулы, клетки. — М.: Наука, 1975.
- Зубаиров Д. М.** Биохимия свертывания крови. — М.: «Медицина», 1978.
- Зенгбуш П.** Молекулярная и клеточная биология. — М.: Мир, 1982.
- Козлов Ю. И., Машков С. В., Дебабов В. Г.** Методы генной инженерии. — Усп. биол. хим., 1982, т. XXII, с. 7—25.
- Комаров Ф. И., Коровкин Б. Ф., Меньшиков В. В.** Биохимические исследования в клинике. — Л.: Медицина, 1981.
- Кретович В. Л.** Введение в энзимологию. — М.: Наука, 1974.
- Ленинджер А.** Биохимия. — М.: Мир, 1974.
- Лизосомы и лизосомные болезни накопления/Под ред. Дж. В. Каллахана, Дж. А. Лоудена. — М.: Медицина, 1984.
- Мак-Мюррей У.** Обмен веществ у человека. — М.: Мир, 1980.
- Мусил Я., Новакова О., Кунц К.** Современная биохимия в схемах. — М.: Мир, 1981.
- Мосс Д. В., Баттерворт П. Дж.** Энзимология в медицине. — М.: Медицина, 1978.
- Мейнуоринг Г. У.** Механизм действия андрогенов. — М.: Мир, 1979.
- Молекулярные основы патологии/Под ред. В. П. Ореховича. — М.: Медицина, 1966.
- Номенклатура ферментов/Под ред. А. Е. Браунштейна. — М.: ВИНТИ, 1979.
- Певзнер Л.** Основы биоэнергетики. — М.: Мир, 1977.
- Парк Д. В.** Биохимия чужеродных соединений. — М.: Медицина, 1973.
- Розен В. Б., Смирнов А. Н.** Рецепторы и стероидные гормоны. — Изд-во МГУ, 1981.
- Розенфельд Е. Л., Попова И. А.** Гликогеновая болезнь. — М.: Медицина, 1979.
- Спричев В. Б., Барашнев Ю. И.** Врожденные нарушения обмена витаминов. — М.: Медицина, 1977.

- Сейц И. Ф., Луганова И. С.** Биохимия клеток крови и костного мозга в норме и при лейкозах. — М.: Медицина, 1967.
- Северин С. Е.** Механизм действия и биологическая роль циклазной системы. — В кн.: «Фундаментальные науки — медицине». — М.: Наука, 1981, с. 189—195.
- Сент-Дьёрдьи А.** Биоэлектроника. — М.: Мир, 1971.
- Толкачевская Н. Ф.** Развитие биохимии животных. — М.: Изд-во АН СССР, 1963.
- Ткачук В. А.** Введение в молекулярную эндокринологию. — Изд-во МГУ, 1983.
- Уайт А.** и др. Основы биохимии. — М.: Мир, 1981.
- Уотсон Дж.** Молекулярная биология гена. — М.: Мир, 1978.
- Федоров Н. А.** Биологическое и клиническое значение циклических нуклеотидов. — М.: Медицина, 1979.
- Хашен Р., Шейх Д.** Очерки по патологической биохимии. — М.: Медицина, 1981.
- Химия биологически активных природных соединений / Под ред. Н. А. Преображенского, Р. П. Евстигнеевой. — М.: Химия, 1976.
- Хорст А.** Молекулярные основы патогенеза болезней. — М.: Медицина, 1982.
- Хочачка П., Сомеро Дж.** Стратегия биохимической адаптации. — М.: Мир, 1977.
- Экспериментальная витаминология / Под ред. Ю. М. Островского. — Минск: Наука и техника, 1979.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Абсцизовая кислота 86
Авидин 365
Авитаминозы 342
Автотрофы 116—117
Агаммаглобулинемия 336
Агликогенозы 334
Адаптация биохимическая 410—411
Ардисонова болезнь 395
Аденилаткиназа 151
Аденилатциклаза 258, 376, 391
Адениловая кислота 136
Адениндезаминаза 299
Аденозин 285
Аденозиндифосфат (АДФ) 116, 121
Аденозинтрифосфат (АТФ) 251, 252, 259, 261
Адеозинтрифосфатазы (АТФазы) 167—169
S-Аденозингомоцистенн 285, 289
S-Аденозинметионин 266, 285—286, 289
Адиурекрин 406
Адреналин 288, 391—392
Азиды 237
Азотистые основания 73
Азотистые спирты 258
Азотистый баланс, виды 29
Акаталазия 334
Аконитатгидратаза 197
Активирование профосфолипазы 183
Активный транспорт 166—169
Активный центр фермента 129—130
Актиномицин D 326
Акцепторная зона 308
Акцепторный участок тРНК 81
Аланин 279, 283
 β -Аланин 300
Аланинаминотрансфераза (АлТ) 279, 284
Аланиндегидрогеназа (АлДГ) 284
Алкантон 331
Алкантонурия 332
Алкогольдегидрогеназа 230
Аллопуринол 300
Аллостерическая регуляция 158—160
Аллостерические ферменты 159
Аллостерические эффекторы 130
Альбинизм 332
Альбумины 57, 60, 295
Альдегиддегидрогеназа 230, 287
Альдимин 280
Альдостерон 392—395
Аметоптерин 371
 α -Амилаза 66, 142, 176—177, 228
 β -Амилаза 177
 γ -Амилаза 177, 228—229
Амилопектин 66
Амило- (α -1,4 \rightarrow α -1,6)-трансгликозилаза 255, 333
Аминоацидурия 336
Аминоацил-тРНК 313
Аминоацил-тРНК-синтетаза (АРСаза) 313
Аминодезоксисахара 63
Аминокислоты 26—35, 185, 254
— ауксотрофность 32
— влияние pH среды 32
— всасывание 185
— главные 26
— гликогенные 254
— заменимые 31
— изоэлектрическое состояние 33
— изоэлектрическая точка 33
— кислотно-основные свойства 32
— кислые 27
— классификация 27—31
— минорные 26
— нейтральные 27
— непотенногенные 26
— определение 26
— основные 27
— полузаменимые 31
— протениногенные 26
— распространение в белках 35
— L- и D-ряда 34
— стереоизомерия 34
— строение 27—31
— физико-химические свойства 32—34
 δ -Аминолевуленатсинтетаза 292
 δ -Аминолевуленовая кислота 292
 γ -Аминомасляная кислота (ГАМК) 288
Аминооксидаза, типы 287
Аминопептидаза 276
Аминопептидаза 180
Аминоптерин 371
Аминосахариды 61
Аминотрансфераза 127, 279

Амитап 237
Аммиак 277, 281—283
Аммонийные соли, образование 283
АМФ 121
3', 5'-АМФ 112, 376—379
Анаболизм 116
Анаболические стероиды 326, 401—402
Анаэробное окисление 193
Анаэробы 117, 219
Ангиотензин I, 11, 429
Андрогены 396
Ансерин 169, 300
Антибиотики 326
Антивитамины 370—371
Антигормоны 406—407
Антидиуретический гормон см. Вазопрессин
Антикодон 81, 313
Антикодonoвая петля тРНК 81
Антикоферменты 156
Антилиппероксиданты 218
Антиметаболиты 156
Антиоксиданты 218
Антипорт 167
Антихолинэстеразные вещества 156
Антоксантины 364
Антоцианы 364
Аполипопротеиды 100
Апопротеиды 55
Апофермент 129, 336
Арахидоновая кислота 90, 261
Аргиназа 282
Аргинин 27, 282, 285
Аргининосукцинат 282
Аргининосукцинат-лиаза 282
Аргининосукцинат-синтетаза 282
Ариламин-N-ацетилтрансфераза 454
Ариллацил-КоА-синтетаза 455
Аровые кислоты 61, 63
Арсенат 236, 237
Аскорбиновая кислота 362—364
Аскорутин 365
Аспарагин 283
Аспарагиназа 283
Аспарагиновая кислота 27, 275, 298
Аспарагинсинтетаза 283
Аспартаминотрансфераза (АсТ) 279, 284
Аспаргат-карбамоилтрансфераза (АКТаза) 159
Атеросклероз 273
АТФ-синтетаза 66, 169, 209, 212, 213, 239, 244
АТФ-цитратлиаза 263
Аутолизосомы 275
Аутофагосомы 275
Ацетальдегид 230
Ацетат 230
Ацетил-КоА 196, 262, 300
Ацетил-КоА-ацетилтрансфераза 268
N-Ацетилгалактозамин 255
N-Ацетилглюкозамин 67, 255
Ацетил-КоА-карбоксилаза 263
Ацетил-КоА-карнитинтрансфераза 263

Ацетил-КоА-синтетаза 230
N-Ацетилмурамовая кислота 63
N-Ацетилнейраминаовая кислота 63
Ацетилтрансацилаза 263
Ацетилхолин 156
Ацетоацетат-декарбоксилаза 269
Ацетоацетил-КоА-гидролаза 269
Ацетон 268
Ацил-КоА 259
Ацил-КоА-дегидрогеназа 260
Ацил-КоА-карнитин-трансфераза 259
Ацил-КоА-синтетаза 259
Ацил-карнитин 139, 259
Ациллероносый белок (АПБ) 263, 270
Ацилсерин 145
Ацилцистеин 145
Аэробный гликолиз 233
Аэробы 117

Базофилы 415
Бактериородопсин 246
Бактериохлорофилл 108
Батрахотоксин 88
Белки 24—60, 109, 113, 274—277
— амфотерность 44
— буферные свойства 44
— биологические функции 59—60
— вторичная структура 37, 38
— выделение 51—53
— высаливание 49
— вязкость растворов 46
— гидратация 47
— гидратная оболочка 48
— глобулярные 39
— денатурация 49
— диализ 46
— диффузия 45—46
— заряд 48
— изоэлектрическая точка 44
— искусственный синтез 53
— классификация и номенклатура 53
— коллоидные свойства 45
— методы изучения структуры 53—55
— молекулярная масса 25
— негистоновые 324
— неполноценные 173
— нефелометрия 45
— олигомеры 40
— осмотические свойства 45
— первичная структура 35—36
— пептидная теория строения 24
— полноценные 173
— потребность человека 173
— простые 55—58
— протомер 40
— развитие представлений 24
— распад в тканях 275—277
— растворимость 48
— ренатурация 49

- сложные 55, 58
- содержание и распределение в организме 24
- α -спираль, особенности строения 37
- β -структура (слоисто-складчатая) 37—38
- структурные звенья 25
- третичная структура 39—40
- уровни структурной организации 35
- фибриллярные 39—41
- физико-химическая классификация 53
- физико-химические свойства 43
- функциональная классификация 55
- характеристика связей 42
- характерные признаки 24
- четвертичная структура 40—41
- элементный состав 25
- ✓ Белок 376—377
- Белок — активатор катаболического гена (БАК) 322
- Белок-небелковые комплексы 55, 58
- Белок-регулятор 308
- Бери-бери 353
- Биливердин 294—295
- Биливердин-редуктаза 295
- Билирубин 293
- Билирубингликокурониды, формы 294
- Биогенные амины 287
- Биокинетика 444
- Биологические мономеры 13
- Биологическое окисление 192—193
- Биополимеры 13
- Биосинтез белка 314—327
 - влияние лекарственных препаратов 325—327
 - в митохондриях 317
 - индукция 320, 322
 - на рибосомах 314
 - нематричный синтез 325
 - регуляция у прокариотов 320—322
 - — — эукариотов 322—325
 - репрессия 320, 322
 - фазы 314—317
- Биотехнология лекарств 442—443
- Биотин 138, 252, 263, 365
- Биотиновые коферменты 132, 138
- Биофлаваноиды 364—365
- Биохимия крови 412—423
 - печени 423—426
 - почек 426—432
- Биоэнергетика 9
- Болезнь Иценко—Кушинга 395
- Брадикинин 420—422
- Брожение 219—220
 - спиртовое 230
 - фазы 314—317
- Бурый жир 214
- Бутирил-КоА 260
- Бутирил 264
- γ -Бутиробатаин-гидроксилаза 367
- Буферные системы 419—420
 - — крови 419—420
- Вазопрессин 403, 404
- Валин 283, 332, 339
- Валиномицин 238
- Векторная РНК 324
- Вердоглобин (холеглобин) 295
- Викасол 349—350
- Вилликинин 188
- Винбластин 326
- Витализм 7
- Витамины 88—89, 339—371
 - взаимодействие 309
 - водорастворимые 88, 340
 - в пище 174
 - жирорастворимые 88—89, 340
 - источники 340
 - классификация 340
 - нарушение баланса 342
 - номенклатура 340—341
 - практическое применение 342—343
 - пути метаболизма 342
 - химические формы 340—341
- Витамин А см. Ретинол
 - В₁ см. Тиамин
 - В₂ см. Рибофлавин
 - В₃ см. Пантотеновая кислота
 - В₄ см. Холин
 - В₆ см. Пиридоксин
 - В₈ см. Инозит
 - В₉, В_с см. Фолацин
 - В₁₂ см. Кобаламины
 - В₁₃ см. Оротовая кислота
 - В₁₅ см. Пангамовая кислота
 - В₇ см. Карнитин
 - Е см. Токоферолы
 - С см. Аскорбиновая кислота
 - D см. Кальциферолы
 - F см. Эссенциальные жирные кислоты
 - Н см. Биотин
 - К см. Нафтохиноны
 - N см. Липоевая кислота
 - Р см. Биофлаваноиды
 - U см. S-метилметионин
- Витаминные коферменты 132—139
- Витаминоподобные вещества 340—341
- Внемитохондриальный НАД·Н₂ 231—233
- Вода 18—21, 109, 174
- Водорастворимые витамины 352—364
- Водорастворимые витаминоподобные вещества 364—369
- Воски 91
- Восстановительное аминирование 283
- Восстановление активности фермента 154
- Всасывание веществ 184—188
- Галактоза 64, 230
- D-Галактоза 67
- D-Галактозамин 63
- β -Галактозидаза 322
- β -Галактозидацетилаза 322

- β-Галактозидпермеаза 322
 Галаскорбин 365
 Галактозо-1-фосфат 230, 334
 Галактозо-1-фосфат-уридилтрансфераза 230, 334
 Гаптоглобин 293
 Гастринсин 179
 Гастрин 188
 Гексозаминидаза А 335
 Гексокиназа 221
 Гексуриновая кислота 67
 Гем 103, 292
 Гемин 292
 Гемовандин 108
 Гемоглобин 103—107, 293
 — А 106
 — Барта 107
 — F 106, 107
 — H 107
 — P 106
 — S 107
 — мономерный 107
 — производные 105—106
 — связывание с O₂ 104—105
 — связывание с CO₂ 106
 — строение 103—104
 — типы аномальные 107
 — типы физиологические 106
 — функции 104—105
 Гемоксигеназа 294
 Гемоцианин 108
 Гемпротеиды 102—108
 — обмен 292—297
 Гемэритрин 108
 Ген 304, 323—324
 Ген-регулятор 321
 Ген структурный 307, 308
 Генетическая матрица 314
 — информация 303—304
 Генетический код, свойства 318—319
 — — мутации 327
 Генная инженерия 9, 319
 Гепарансульфат 68
 Гепарин 67, 68
 Геносистематика 83—84
 Гераниол 86
 Гесперидин 365
 Гестагены 396
 Гетерогликаны 64
 Гетеромакромолекулы 98—109
 Гетерополисахариды 61, 67
 Гетеротрофы 117
 Гиалоплазма П4
 Гиалуронидаза 356, 67
 Гиалуриновая кислота 64, 65, 67
 Гибернация 151
 Гибридная цепь 306
 Гидробиоптерин 285
 β-Гидроксинацил-КоА-дегидрогеназа 260
 Гидроксинацил-гидратаза 264
 β-Гидроксипутират 268
 Гидроксиметилглутарил-КоА-лиаза 268
 Гидроксифенилпируват 331
 Гидроксиметилглутарил-КоА-редуктаза 269
 β-Гидрокси-β-метилглутарил-S-АПБ 270
 Гидроксиметилглутарил-КоА-синтетаза 268
 β-Гидрокси-β-метилглутарил-КоА 268
 Гидроксиметилглутаратный цикл кетогенеза 268—269
 л-Гидроксифенилпируватоксидаза 332
 25-Гидроксикальциферол 347, 348
 1-Гидроксилаза кальциферолов 347
 25-Гидроксилаза кальциферолов 347
 Гидрокситиамин 371
 25-Гидроксиэргольциферол 347
 Гидроксикобаламин 361
 Гидролазы 126, 128
 Гидроксинервоновая кислота 90
 ГИНК 238
 Гиперальдостеронизм 395
 Гипервитаминозы 342
 Гиперволемиа 418
 Гипергликемия 257
 Гиперлипемия 272—273
 Гиперлиппротеинемия, типы 272
 Гиперпаратиреоз 387
 Гиперурикемия 300
 Гиповитаминозы 342
 Гипогликемия 57, 334
 Гипопротеинемия 418
 Гипопаратиреоз 387
 Гипоталамо-гипофизарная система 403—406
 Гипохромный эффект 83
 Гистамин 188
 Гистамин, образование 287
 Гистидин 195, 283
 5-Гидрокситриптофан 288
 Гистидаза 332
 Гистидиндекарбоксилаза 287
 Гистидинемия 332
 Гистоны 56, 60, 323
 Гликоген 64, 65, 66.
 — биосинтез 254—255
 — гидролиз 228
 — фосфорилиз 228
 Гликогенолиз 228—229, 246
 Гликогенсинтетаза 253—255
 Гликогенфосфорилаза 228, 255
 Гликозиды 62—63
 Гликозилтрансфераза 256
 Гликолиз 220—227, 231, 234, 246, 259
 — активаторы 236
 — биологические функции 227
 — взаимоотношение с дыханием 234
 — ингибиторы 236
 — отдельные реакции и ферменты 221
 — переключение анаэробного на аэробный 231
 — энергетический баланс 227
 — эффективность 227
 Гликолипиды 63, 97, 98, 108, 258
 Гликопротеиды 63, 64, 68, 98—99
 Гликофинголипиды 96

- Гликохолевая кислота 87
 Глицеральдегид-3-фосфат 222—223, 249—250
 Глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа 145, 224, 233
 Глицеральдегид 61, 223, 253—255
 Глицериды 91—93
 Глицерин 258
 Глицеролфосфокиназа 259
 Глицерофосфат-ацилтрансфераза 265
 α -Глицерол-фосфат 203, 232, 253, 259, 265, 300
 α -Глицеролфосфатдегидрогеназа 232, 253, 259
 Глицеролфосфокиназа 253
 Глицин 285
 Глицин-амидинотрансфераза 295
 Глутамат 203
 Глутаматдегидрогеназа 160, 203, 280
 Глутаматдекарбоксилаза 288
 γ -Глутамилтрансфераза 185
 γ -Глутамильный цикл 185
 Глутамин 283
 Глутаминаза 283
 Глутаминовая кислота 160, 283, 288
 Глутаминсинтетаза 283
 Глутатион 141
 Глутатионпероксидаза 218, 351
 Глюкогон-387—389
 D-Глюкоза 64, 66
 D-Глюкозамин 63, 221
 Глюкозаминпротеогликаны 67
 Глюкозо-6-фосфат 140, 221, 247, 253
 Глюкозо-6-фосфатаза 253
 Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа 247
 Глюкозофосфатизомераза 140, 221—222, 250, 253
 Глюкозо-1-фосфат-уридилтрансфераза 254
 Глюкозурия 257, 336
 Глюкокиназа 221
 Глюкокортикоиды 290, 392—395
 Глюконеогенез 252—253
 β -Глюкуронидаза 295
 D-Глюкуроновая кислота 67, 255, 295
 Глютелины 57
 Гольджи комплекс 113
 Гомогентизиновая кислота 331
 Гомогентизинатоксидаза 332
 Гомогликаны 64
 Гомопантотеновая кислота 371
 Гомоцистеин 285—332
 Гомоцистинурия 332
 Гормоны 372—403
 Грамицидин А 238
 Грана 240
 Гуанидинуксусная кислота 285
 Гуанин 73
 Гуанозиндифосфат (ГДФ) 199
 Гуанозинмонофосфат (НМФ) 199
 Гуандинтрифосфат (ГТФ) 199
 Гуморальная система 339
- Давление 171
 Деацилаза 269
 Деацилазный путь кетогенеза 269
 Дезаминирование аминокислот 277—281
 Дегидратаза 128
 Дегидроаскорбиновая кислота 363
 Дегидроаскорбинредуктаза 363
 Дегидрогеназы 127, 193, 203
 7-Дегидрокампестерин 346
 7-Дегидроситостерин 346
 7-Дегидростигмастерин 346
 7-Дегидрохолестерин 346
 Дегидроэпиандростеросульфат 398—399
 5'-Дезоксиаденозил 138
 5-Дезоксиаденозилкобаламин 137, 261, 361—362
 Дезоксигемоглобин 104
 Дезоксикортикостерон 396
 2-Дезоксирибоза 62, 298
 Дезоксирибонуклеотиды 74—75, 298
 Дезоксириридоксин 371
 Дезоксирибонуклеаза (ДНКаза) 181, 298
 Дезоксирибонуклеозиды 72, 74
 Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) 70, 80, 109, 113, 302
 Дезоксирибонуклеопротеид (ДНП) 71—72
 Декарбоксилирование аминокислот 277—281
 Делеция 327
 Денатурация 26, 49—51, 82, 151
 — белков 26, 49—51
 — нуклеиновых кислот 82
 — ферментов 151
 Дерматансульфат 67
 Дефосфокофермент А (дефосфо-КоА) 134—135, 355
 Диабет
 — несахарный 404
 — почечный 336
 — сахарный 390
 — стероидный 394
 Диаминооксидаза (ДАО) 287
 Диастереомеры 34
 Диацилглицерин 266
 Диацилглицерол-ацилтрансфераза 266
 Дигидробиотерин 285
 Дигидроксиацетон 62
 Дигидроксиацетонфосфат 222—223, 229, 253, 259
 Дигидроксикальциферолы 347
 Дигидроксифенилаланин 331
 Дигидролипоилацетилтрансфераза 194—195
 Дигидролипоилдгидрогеназа 194, 195
 Дигидрооротовая кислота 299
 Дигидроптеридин 288
 Дигидрофлингозин 89
 Дигидротестостерон 401
 Дигидроуридин 74
 Дигидроуридиновая петля тРНК 85
 Дигидроэргокальциферол 346
 Дигидроэргостерин 346
 3,6-Дидезоксигексоза 137

Дикумарол 238, 371
5,6-Диметилбензилмидазолинриботид 137, 138
3,3-Диметилаллилпирофосфат 270
Диноппрост 410
Диноппростон 410
Диуклеотиды 136
Диоксифенилаланин (ДОФА) 288
Диоксид углерода 250
Дипептидазы 142, 180
Дипептидилдипептидаза 276
Дипирролы 295
1,3-Дифосфоглицерат 224—225
2,3-Дифосфоглицерат 140—225
Диффузионный транспорт 164—166
Дихлоррибофлавин 371
Дициклокарбодимид 239
ДНК-полимеразы, формы 305
ДНК-зависимая РНК-полимераза 305
ДНК-лигазы 306, 358
Добавочная петля тРНК 82
Долихофосфат 255
Доннана равновесие 22
Дофамин 288
Дофаминергические синапсы 288
ДОФА-декарбоксилаза 289
Дофамин- β -монооксигеназа 216, 289
ДОФА-хинон 332
Дыхательная цепь 205—211, 260

Единицы активности ферментов 153
Еноил-КоА 261
Еноил-КоА-гидратаза 260
Еноил-КоА-изомераза 261
Еноилредуктаза 264
Енолаза (еноилгидратаза) 255

Желатина 47
Железо 295
Железокуппротеид 199
Железо негеминное 199, 205
Железосеропротеид 199, 205, 206, 210—211, 242
Желтуха, виды 296—297
Желчные кислоты 86—87, 182—186, 270
— спирты 86
Жирные кислоты 89—91, 259—265
— — биосинтез 262—265
— — всасывание в кишечнике 186
— — депонирование 187—188
— — насыщенные 89
— — ненасыщенные 89—90
— — окисление, особенности 259—261
— — распространение в липидах 90
— — стадии синтеза 263—265
— — транспорт с кровью 187
— — удлинение 265
— — энергетический баланс окисления 261—262
Жирорастворимые витамины 88, 343—351
— витаминоподобные вещества 351—352

Закон изосмолярности 23
Законы термодинамики 118, 119
Заменимые аминокислоты, биосинтез 283—285
Зимоген 154
Зоостерины 86

L-Идуоновая кислота 63, 67, 255
Изолейцин 268, 332
Изомальтаза 177
Изомальтоза 177
Изомеразы 128
Изониазид 371
Изоцианлилпирофосфат 270
Изостерическое ингибирование 155
Изоферменты 150—161
Изоцитрат 197—198, 300
Изоцитратдегидрогеназа 197—198, 203
Иммобилизованные ферменты 162
Иммуноглобулины 60
Ингибиторы ферментов 154—155
Индол 189
Индолэтиламин 189
Инициация трансляции 314—315
Инициация транскрипции 309
Иницирующий кодон 314
Инозин 326
Инозинмонофосфат 298
Инозит 266, 268, 274, 366
Инсулин 257, 326, 387—390
Интралипид 274
Интрон 307
Информосома 317
Информофер 81, 313
Иодопсин 345
Иодтиронины 383—386
Ионофоры 238
Ионы металлов 141—143

Кадаверин 287
Каллидин 420—422
Калликреин 420
Калликреиногены 420
Калмодулин 379—380
Кальций 379
Кальциотонин 386
Кальциферолы 346—348
Камфора 86
Карбамоилфосфатсинтаза 282
Карбгемоглобин 106
Карбоангидраза 418
Карбоксибиотин 138—365
Карбоксикатепсин 429
Карбоксилаза 128
Кардиолипин 94—95
Карнитин 139, 259, 367—368
Карнитиновые коферменты 132, 139
Карнозин 169, 300
 α -, β -, γ -Каротины 86, 344
Каротиндиоксигеназа 344

- Каротиноиды 86, 241
 Катаболизм 116
 Каталаза 107, 113, 218—219
 Катализ
 — кислотно-основной 144
 — ковалентный 145
 Катепсины (тканевые протеиназы) 275—277
 Катехины 364
 Катехоламины 288—289
 Квазисубстраты 147
 Квантосома 241
 Кверцетин 365
 Кератансульфат 67
 Кератин 38, 41
 Кетимин 280
 β -Кетоацил-редуктаза 264
 β -Кетоацил-КоА-тиолаза 260
 β -Кетоацил-синтетаза 264
 Кетоз 273
 α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс 162
 Кетокислоты 133, 278—279
 Кетонемия 273
 Кетоновые тела 262, 268—269
 Кетонурия 273
 Киназа фосфорилазы В 229, 333
 Кинетическая константа 148
 Кининазы 421
 Кининогены 420
 Кининогеназы 420
 Кинины 339, 420
 Кислая α -глюкозидаза 333
 Кислая триацил-глицеринлипаза 335
 Кислород 217, 413
 Кислородная емкость крови 416
 Кислородные радикалы 216
 Клетка 13
 Клиническая биохимия 433—439
 Кобаламины 361—362
 Кобамидные коферменты 132, 137, 361
 Кодоген 77
 Кодон 81, 313
 Кокарбокслеаза 354
 Колипаза 182
 Коллаген 43
 Коллагенолитический фермент 276
 Комплементарность, правило 304
 Конкурентное ингибирование 155—156
 Копропорфирин III 292
 Копропорфириноген III 292
 Конна болезнь 395
 Константа Михаэлиса 148
 — сродства 148
 Контринсулярные гормоны 258
 Конъюгации 452—455
 Корепрессор 322
 Коррин 132
 Кортизол 392
 Кортикостерон 392
 Кортикотропин 404
 Кор-фермент 309
 Косубстрат, 131, 140
 Кофакторпротенды 102
 Кофакторы 109, 129, 131
 Кофермент А (КоА) 134, 135, 289, 355—356
 Кофермент Q (КоQ) см. Убихинон
 Коферменты 131—141
 Крахмал 64—66
 Креатин 235, 285—286
 Креатинкиназа 235
 Креатинфосфат 235
 Креатинфосфокиназа 142
 Кребтри эффект 234
 Крезол 189
 Кривая Михаэлиса 148, 149
 Кристи 189
 Кротонил 264
 Ксантинооксидаза 299
 Ксантозинмонофосфат (КМФ) 298
 Ксанобиотики 440
 — метаболизм 444—458
 Ксилоза 67, 255
 Ксилулозо-5-фосфат 248, 249
 Кумарины 371
 Лактаза 178, 189—190
 Лактат 226, 250, 251
 Лактатдегидрогеназа 160, 226
 Лактоаза 247
 Ланолин 92
 Ланостерин 86, 271
 Латеральная диффузия 166
 Лауриновая кислота 90
 Леггемоглобин 107
 Лейкотриены 408
 Лейцин 268, 283, 332
 Лейцин-энкефалин 405
 Лиазы 126, 128
 Лигазы (синтетазы) 126
 Лигноцерниновая кислота 90
 Лизин 268, 283
 Лизосомы 113
 Лизофосфатидилхолин 270
 Лизофосфатиды 93
 Лизофосфолипаза 183
 Ликолин 86
 α -Лимитдекстрин 177
 Лимфоциты 415
 Линалоол 86
 Линолевая кислота 90, 261
 Линоленовая кислота 90, 261
 Лиотропный ряд 49
 Липаза 92
 Липамид 138
 Липид-белковые комплексы 100—102
 Липидные мономеры 85—91
 Липидозы 334
 Липиды 84—98, 109, 113
 Липоевая кислота 138, 195, 218, 368
 Липоевые коферменты 132, 138, 368
 Липолиз 258
 Липомаиз 274

Липомоль 274
Липополисахариды 107
Липопрогендипаза 187, 272
Липопротеиды 100—102, 272
Липосомы 443
Липотропины 404
Липотропные факторы 268, 271
Липофундин 274
Лютропин 396, 403

Магний, кофактор 313
Макромолекулы 13
— смешанные (гетеромакромолекулы) 98—109
Макроциклические соединения 13
Малат 199, 200
Малатдегидрогеназа 160, 199—200
— декарбоксилирующая 200, 201
Малеат 199
Малонил 264
Малонил-КоА 262, 264
— пути образования 263
Малонилтрансфераза 264
Малоновый диальдегид 216
Мальтаза 177
Мальтоза 63, 177
D-Манноза 67, 221, 229, 256
D-Маннозамин 63
Маннозо-6-фосфат 229
Маточный цикл, фазы 397—398
Матрикс митохондрий 193
Мевалоновая кислота 269
Мегалобластическая анемия (Аддисона—Бир-мера) 362
Мезобилирубин 294
Мезобилирубиноген 294
Мезосома 70, 240
Меланин 331
Меланотропины 404
Мелатонин 403
Мембраны биологические 109—112
Менахины 348
Менадион 349
Метаболизм 115—116
Метаболические пути 115—116
Металлополинуклеотиды 109
Металлополисахариды 109
Металлопорфириновые коферменты 132, 140
Метгемоглобин 106, 293
Метилкобаламин 137, 266, 361
Метилмалонил-КоА 261
Метилмалонил-КоА-мутаза 261, 362
S-Метилметионин 367
17- α -Метилтестостерон 406
Метилтрансфераза 127
Метионин 268, 274, 283
Метионил-тРНК 314
Метионин-энкефалин 405
Метод Лайнуивера — Берка 148
Миелинизация 97
Микросомальное окисление 448—451

Микротрубочки 114
Микседема 386
Минеральные вещества 174
Минералокортикостероиды 392—396
Минорные РНК 71
Миоглобин 107, 293
Митохондрии 113, 193—204, 265
Митотический цикл, S-фаза 303
Модификаторы ферментов 153
Молекулярная биология 10
Молекулярная патология 329—337
Моноаминоксидаза (МАО) 287
Моногиповитаминозы 342
Моноиодацетат 236
Мононуклеотиды 298
Моноксигеназа 215
Моноксигеназная цепь 270
Моносахариды 61—63, 185—186
Моча 430—432
Мочевая кислота 113, 299
Мочевина, синтез 281—282
Мукополисахариды 67, 68
Мутагены, виды 328
Мутазы 128

Надмолекулярные структуры 13
НАД-гликогидролаза 357
НАД-зависимая гидроксипурилатдегидрогеназа 269
НАД-киназа 357
НАД-пирофосфорилаза 357
НАД-Н-дегидрогеназа 205—206
Натриевый насос 167—169
Нафоксидин 407
Нафтохиноны 139, 348—349, 371
Невитаминные коферменты 139—141
Негистоновые белки 324
Нейропептиды гипоталамуса 403
Нейтрофилы 414—415
Неконкурентное ингибирование 156—158
Неорганические ионы 21—24, 109
Нервная регуляция 339
Нервоновая кислота 90
Нерол 86
Неферментные белки 302
Неферментные протеинопатии 330
Нефосфорилирующее окисление 214
Нефрон 420
Ниацин 356—359, 371
Нигерцин 258
Никотинамид (ниацин, витамин B₃, PP) 136, 356—357
Никотинамид-N-оксид 357
Никотинамидные коферменты 132, 136
Никотинамидадениндинуклеотид 136, 203, 205
Никотинамидадениндинуклеотидфосфат 103, 136, 203, 247—250
Никотиновая кислота 359
Нитратредуктаза 142
Норадреналин 39, 288

- Нуклеазы, виды** 298
 Нуклеин 69
 Нуклеиновые кислоты 69—84, 298
 Нуклеозидаза 181
 Нуклеозидгидролаза 299
 Нуклеозиддифосфаты 75, 140
 Нуклеозиддифосфаткиназа 199
 Нуклеозидмонофосфаты 140
 Нуклеозид-3-монофосфат 298
 Нуклеозид-5-монофосфат 298
 Нуклеозидтрифосфаты 175
 Нуклеозиды 61, 63, 74
 Нуклеонид 70
 Нуклеосомы 79—80
 Нуклеотидаза 181, 299
 Нуклеотиды 61, 63, 74—76
 Нуклеотидные коферменты 61, 132, 139—140
 Нулевой порядок реакции 148
- Обмен**
 — аминокислот и белков 274, 291
 — углеводов 246—258
 — липидов 258—274
 Обмен веществ, характеристика 115, 116, 300—302
 Овариальный цикл, фазы 396—398
 Окислительно-восстановительный потенциал см. Редокс-потенциал
 Окислительное фосфорилирование 207, 209—213, 238
 Оксалоацетат 262, 279, 283
 Оксигемоглобин 104—105, 106
 Оксигеназа 127, 204, 215—216
 Оксидаза 113, 127, 215
 Оксид углерода 237
 Оксидоредуктазы 126, 127
 Окситоцин 403, 404
 2-Оксоглутарат 133, 198, 279, 283
 Олеиновая кислота 90
 Олиго-1,6-глюкозидаза 177, 228
 Олигомицин 239
 Олигонуклеотиды 298
 Олиго(A)-синтетаза 379
 Олигосахариды 63, 64
 — биосинтез 255—256
 2',5'-Олиго(A)-синтетаза 379
 Онкотическое давление 46
 Оперон 307, 321
 Оператор 308
 Органоиды 13, 109
 — клетки 113—114
 Орнитин-карбамилтрансфераза 282
 Оротат калия 326
 Оротидин-5-фосфат 299
 Оротовая кислота 299, 366, 367
 Осмос 46
 Осмотическое давление 46
 Островки Соболева — Лангерганса 387
- Палиндромы** 79
 Пальмитат-деацетилаза 265
 Пальмитат-синтетаза 262
 Пальмитиновая кислота 90, 265
 Пангамовая кислота 368—369
 Панкреатический полипептид 388
 Панкреозимин 188
 Пантетин 356
 Пантотеновая кислота 355—356, 371
 Пантотеновые коферменты 132, 134—135
 Папаин 145
 Пара-аминобензойная кислота 365—366, 371
 Паратирин 386—387
 Пастера эффект 234
 Пектиновые вещества 63
 Пеллагра 358
 Пентозофосфат-изомераза 248
 Пентозофосфат-эпимераза 248
 Пентозофосфатный цикл 247
 Пентозофосфаты 247—248
 Пентозурия 336
 Пепсин 178—179
 Пепсина ингибитор 179
 Пепсиноген 178—179
 Пептидная связь 35
 Пептидные коферменты 141
 Пептиды 25
 Переваривание 176—184
 — белков 178—181
 — гликогена 177
 — дисахаридов 177—178
 — крахмала 177
 — лактозы 178
 — липидов 181—184
 — мальтозы 177
 — патология 189—190
 — продукты 184
 — сахарозы 177
 — трегалозы 178
 — углеводов 176—178
 Пероксидаза 107, 113, 204, 215, 218—219
 Пероксид водорода 204, 215, 218—219
 Пероксисомы 113, 278
 Пиноцитоз см. Эндоцитоз
 Пиридоксаль 136
 Пиридоксальфосфат (ПАЛФ) 136, 266, 285, 359
 Пиридоксин 136, 359—360, 371
 Пиридоксамин 136
 Пиридоксаминфосфат (ПАМФ) 136, 137, 280, 359
 Пиридоксиновые коферменты 132, 136—137
 Пиримидин 73
 Пиримидиновые мононуклеотиды 297—299
 Пиритиамин 371
 Пируват 133, 194, 226, 250, 252, 279, 300
 Пируватдегидрогеназный комплекс 194—195
 Пируватдекарбоксилаза 230
 Пируваткарбоксилаза 252, 253, 262
 Пируваткиназа 225—226, 252
 Питание 172—175

Питательные вещества 173—174
Пищеварение 176 сл.
Плазмалогены 94—95
Плазмиды 70
Плазмин 422
Пластохинон 138, 242, 243
Пластоцианин 242
Подагра 300
Поли-АДФ-рибоза 358
Полиаминоксидаза 215
Полигиповитаминозы 342
Полинуклеотиды 109
Полипептиды 25, 35
Полирибосома 316
Полисахариды 64—69, 113
— биосинтез 255, 256
Полиферментные системы 161—162
Половой цикл 396—398
Порфобилиноген 292
Порфобилиногенсинтаза 292
Порядок реакции 148
Прегненолон 88
Пре- β -липопротеиды 100, 270
Препротромбин 349
Признаки живой материи 11
Прогестерон 88, 397—400
Прокарбоксилептидазы А и В 179
Прокаринты 308
Проконовёртин 349
Пролактин 396
Проламины 56
Пролин 283
Пролингидроксилаза 284
Промежуточные соединения 13
Промотор 308, 321
Прооксиданты 218
Проионил-КоА 261
Проионил-КоА-карбоксилаза 261
Простагландинсинтаза 408
Простагландины 352, 407—410
Простациклин 408
Простетическая группа 131
Простые липиды 91—92
Протамины 56, 69
Протеиноиды 58
Протеинкиназа цАМФ-зависимая 228
Протеинопатия 329
Протеогликаны 67, 68
Протеолитические ферменты 178—181
Протогем 103
Протомеры ферментов 129
Протонный потенциал 209, 235
Протонофоры 238
Протонтрансфераза 127
Протопорфирин IX, строение 102—103
Протромбин 349
Проферменты 123, 154
Процессинг 310—312
Прозластаза 179
Псевдоуридиловая петля 81
Псевдоуридин 74

Птеридины 371
Пурин 73
Пуриновые мононуклеотиды 297—299
Пути потребления кислорода 214—215
Путресцин 71, 189, 287

Радикалы кислорода 216
Разобшение 214, 238—239
Распад липидов 258—262
— углеводов 246—251
Расплетающиеся белки 305
Рахит 348
Рацемазы 128
Реактиваторы ферментов 157
Регуляторы пищеварения 188
Редуктазы 127
Редокс-потенциал 192, 206—207
Редоксия 313
Ренин 429
Ренатурация 51, 82
Репарация ДНК 307
Репрессор 308, 321
Репликация ДНК 303—307
Ресинтез липидов 186—187
Ретикулоэндотелиальная система (РЭС) 293
Ретиналь 246, 343—344
Ретинальизомераза 346
Ретиниллацетат 344
Ретинилпальмитат 344
Ретиновая кислота 343—344
Ретинол 86, 343—346
Рибоза 62
Рибозо-5-фосфат 248, 250, 298
Рибонуклеаза 181, 298, 305
Рибонуклеиновая кислота (РНК) 70—113,
303, 317
Рибонуклеозиды 72, 74
Рибонуклеопроteid (РНП) 72
Рибонуклеотиды 74, 75
Рибосомы 314
Риботимидин 74
Рибофлавин 133, 134, 354, 371
Рибулозодифосфат 244, 245
Рибулозодифосфаткарбоксилаза 244
Рибулозо-5-фосфат 247, 248
РНК-затравка 306
РНК-полимераза, формы 306, 309
Роданеза 454
Родопсин 344—346
Ротенон 237
Рутин 365
Рыбий жир 348

Сальмин 57
Самовоспроизведение 15
Сахарара 177
Сахароза 63
Свободнорадикальное окисление 216
Седогентулозо-7-фосфат 249
Секретин 188

Селен 218, 351
Серин 145, 266, 275, 283
Серинфосфатиды 266
Серотонин, образование 287—288
Серотонин-N-ацетилтрансфераза 403
Серповидноклеточная анемия 335
Сиаловая кислота 63, 67, 285
Симпорт 167
Синкавит 349
Синтетаза жирных кислот 262
Скатол 189
Сквален '86
Скумбрин 57
Сложные (смешанные) липиды 92—98
Соляная кислота, функции 179
Соматомедины 405
Соматостатин 387, 403
Спермидин 71
Специфическое динамическое действие пищи 174
Сплайсинг 310
Спиrolактоны 407
Стеариновая кислота 90, 261
Стеаторея 189
Стериды 87, 92, 187
— растительные 92
Стерины 86
Стеркобилин 295
Стеркобилиноген 295
Стероидные алкалоиды 88
— витамины 88
— гликозиды 88
— гормоны 88, 218, 270
5 α -Стероид-редуктаза 401
Строма 240
Строфантин G см. Убаин
Стрептомицин 327
Субмитохондриальные частицы 194
Субстратное фосфорилирование 198
Субстратная индукция 325
 σ -Субъединица 309
Субстратное ингибирование 158
Сукцинат 199
Сукцинатдегидрогеназа 155, 199
Сукцинил-КоА 198, 251, 283, 292
Сукцинилтхиокиназа 198
Сульфаниламиды 371
Сульфотрансфераза 453
Супероксиддисмутаза 217

Таурохолевая кислота 87
Таутомеразы 128
Тератогенное действие 329
Терминатор 309—311
Терпены 86
Тестостерон 306
Тестостерон-эстрадиольсвязывающий глобулин 401
Тетрагидрофоллиевая кислота (ТГФК) 137, 266, 360

Тетрагидроптеридин 288
Теплота 214
Тиазол 133
Тиамин 353—354, 371
Тиаминовые коферменты 132, 133
Тиаминдифосфат (ТДФ) 132, 133, 195, 353
Тиаминмонофосфат (ТМФ) 132, 133, 249, 353
Тиаминтрифосфат (ТТФ) 132, 133, 353
Тилактоиды 240
Тимин 73
Тимозин 402
Тимопоэтины I и II 402
Тимостерин 402
Тимусный гуморальный фактор 402
Тиоредоксин 298
Тиосульфат-сульфидтрансфераза 454
Тирамин 289
Тиреоглобулин 384
Тиреотоксикоз 385
Тиреотропин 384, 403
Тирозин 283, 288—289
Тирозиназа 332
Тирозиндекарбоксилаза 289
Тирозинемия 331
Тирозиниодиназа 384
Тирозин-3-монооксигеназа 289
Тироксин 218, 238, 383
Тканевая липаза 258
Тканевое дыхание 193, 204
Тканевые липидозы 273
Токотриенолы 350
D, L- α -Токоферолаацетат 351
Токоферолы 139, 218, 350—351
Токсикокинетика 444
Транзиция 327, 335
Трансальдолаза 249
Трансгидрогеназа 193, 203—205, 209
Трансдезаминирование 278—281
Транскетолаза 133, 248, 249
Транскобаламины I и II 361
Транскриптон 307—309
Транскрипция, виды 303, 309—311
Транслокация 314
Трансляция 303
Транспептидация 314, 316
Транспозон (мобильный ген) 308
Транспорт аминокислот 184—185
— веществ 163—172
Трансреаминирование 281
Трансферазы 126, 127
Трегалоза 63, 177—178
Треонин 283
Триацилглицерины 257, 259, 271
Триацилглицеринлипаза 218
Триозофосфатизомераза 223
Триплетность 318
Трипсин 145, 180
Трипсиноген 175—180
Триптофан 283, 288—289, 403
Триптофанмонооксигеназа 288
Тромбин 145, 349

- Тромбоксаны 408
Тромбоциты 416
Тромексан 371
Тропоколлаген 42
Труттин 357
- Убаин 168
Убихинон (КоQ) 138, 139, 205, 207, 210, 211, 351
Углеводы 60—69, 109
Угледод-белковые комплексы 98—99
Угледод-липидные комплексы 108—109
Углекислый газ, транспорт 418
Удельная активность фермента 153
УДФ-Галактоза 230—234
УДФ-Глюкоза 230—254
УДФ-Глюкозоэпимераза 230
УДФ-Глюкуроновая кислота 294
УДФ-Глюкуронозилтрансфераза 294, 452
Уксусная кислота 260
Уратоксидаза 113
Урацил 73
Уридинтрифосфат (УТФ) 254
Уробилиноген 294
Уроновые кислоты 63, 65
- ФАД-Пирофосфорилаза 355
Фазы освобождения энергии 191
σ-Фактор 309
Фактор Кастла 361
— проницаемости 67
— Хагемана 420
Факторы денатурации белков 50—51
— инициации 315
— свертывания крови 349
Фармакокинетика 444
Фармацевтическая биохимия 439—458
Фарнезол 86
Фенилаланин 268, 283, 288—289, 331
Фенилаланингидроксилаза 285, 331
Фенилацетат 331
Фенилин 238
Фенилкетонурия 331
Фениллактат 331
Фенилпириват 331
Фенилэтиламин 189, 288
Фенилэтанолламин 288
Фенилэтанолламин-N-метилтрансфераза 289
Феофитин 108
Ферментативные реакции, кинетика 147—151
Ферментативный анализ 7
Ферментология (энзимология) 125
Ферментопатия 330 сл.
Ферменты (энзимы) 122—163, 441
— активность 147, 152
— аналитические реагенты 441
— единицы активности 153
— иммобилизованные 162
— кинетика действия 147—151
— классификация и номенклатура 125—127
— кофакторы 131, 141—143
— коферменты 131—141
— методы определения 152—153
— механизм действия 143—145
— молекулярные формы 160—161
— полиферментные системы 161—162
— понятие о катализе 123—125
— практическое значение 163
— регулируя активности 153—160
— специфичность действия 145—147
— структура активного центра 130
— структурно-функциональная организация 129—131
— функциональные группы активного центра 130—131
— характеристика отдельных классов 127—129
Ферредоксингидрогеназа 142
Феррохлестатаза 293
Фетоплацентарная система 398—399
Фибрин 349
Фибриноген 60
Фибронин 41
Фикобилины 241
Филлохиноны 349—350
Фитонин 86
Фитол 86
Фитостеринны 86
Флавокиназа 355
Флавинадениндинуклеотид (ФАД) 132, 133, 199, 202—203, 205, 287
— восстановленный (ФАД·Н₂) 132—133
Флавинат 355
Флавиномононуклеотид (ФМН) 132, 133, 203, 355
— восстановленный (ФМН·Н₂) 132—133, 205, 210
Флавиновые коферменты 132, 133—134
Флавопротеид-1 205—206
Флоридзин 190
Флутамид 407
Фолицин (фолиевая кислота) 137, 360—361, 371
Фолиевая кислота см. Фолицин
Фолиевые коферменты 132, 137, 360
Фоликкулярный гиперкератоз 352
Фоллитропин 396, 403
Фонд свободных аминокислот 274
Формилметонил тРНК 314
Фосфатидатфосфатаза 266
Фосфатидилглицерин 94
Фосфатидилинозит 94—95
Фосфатидилсерин 94—95
Фосфатидилхолин 94—95
Фосфатидилхолин-холестерин-ацилтрансфераза 270
Фосфатидилэтанолламин 94—95
Фосфатидная кислота 93—95, 265
Фосфаты углеводов как коферменты 132, 140
3'-Фосфоаденозин-5'-фосфосульфат 453

2-Фосфоглицерат 140
3-Фосфоглицерат 140, 284
Фосфоглицераткиназа 224
Фосфоглицерат-фосфомутаза 140, 225
Фосфоглицериды 93—95
Фосфоглюкомутаза 145
6-Фосфоглюконат 247—248
6-Фосфоглюконат-дегидрогеназа 247—248
6-Фосфоглюконолактон 247—248
Фосфодиэстераза 181, 389
Фосфоенолпируват 225—226, 252
Фосфоенолпируват-карбоксилаза 252—253
Фосфолипиды 183, 258
Фосфолипиды 93—97, 110
Фосфоманнозоизомераза 229
4-Фосфопантетеин 263, 355—356
Фосфопируват-гидратаза 142
Фосфопротейдфосфатаза 259, 379
Фосфорибозилпирофосфат 298, 357
Фосфориллазы 333
Фосфорилирование 198, 207
Фосфорилсерин 145
Фосфосахариды 61
Фосфофруктокиназа 222, 333
Фотодерматит 358
Фотосинтез 241—246
Фотосистемы 241—242
Фототрофы 117, 240
Фотифосфорилирование 242—245
Фрагменты Оказаки 306
Фруктозо-бисфосфатаза 253
Фруктозо-1,6-бисфосфат 222, 250, 253
Фруктозо-1-фосфат 223, 229
Фруктозо-1-фосфат-альдолаза 223
Фруктозурия 336
Фруктокиназа 229
Фтивазид 237
Фториды 236
Фукоза 67, 255
Фумарат 199, 283, 300
Фумаратгидратаза 199
Фумарилацетоуксусная кислота 331

Хемисоматическая гипотеза 209—210
Хемобиокинетика 444
Хемолитотрофы 117
Хемоорганотрофы 117
Хемотрофы 117
Хенодезоксихолевая кислота 87
Хилла реакция 243
Хиломикроны 100, 187
Химические компоненты организма 16
Химоденин 188
Химотрипсин 145, 180
Химотрипсиноген 179—180
Хиноновые коферменты 132, 138—139
Хлоропласты 240
Хлорофилл 188, 241
Хлорофиллпротеиды 108
Холевая кислота 86

Холекальциферол 270, 346, 348
Холестерин 258, 260—270, 397—398
Холестеролэстераза 184
Холецистокинин 188
Холин 266, 269—270, 274, 369
Холинэстераза 159
Холофермент 129
Хондронин 67
Хондронинсульфаты 67—68
Хроматофоры 213, 240

Цвиттер-ион 33
ЦДФ-Диацилглицерин 266
ЦДФ-Холин 266
Целлюлаза 67
Целлюлоза 66
Церамид 96
Церамидаза 184
Церамидгалактозид 335
Цереброновая кислота 90
Цианиды 237
Цианкобаламин 137, 362
Цианметгемоглобин 106
Цикл Кальвина 244—245
— Кноопа — Линена 259—260
— Кори 256
— Кребса 196—202, 260
Циклические нуклеотиды 376—379
Цинга 363
Цис-Аконитат 197
Цистатионин 285, 332
Цистатионаза 285
Цистеин 145, 276, 285, 290
Цитидинтрифосфат 159
Цистин 145
Цистинурия 336
Цистрон структурный 309
Цитозин 73
Цитохромы 107, 205, 211
Цитохромоксидаза ($a + a_3$) 157, 207, 211
Цитрат 196, 197, 263, 300
Цитратсинтаза 196

Челночные системы 231—232

Щелочная фосфатаза 145

Экзергонические реакции 199, 124
Экзон 307
Экзонуклеаза 298
Экзоцитоз 170
Электрический потенциал 210
Электронтрансфераза 127
Элонгация транскрипции 311
Энантиомеры 134
Эндергонические реакции 119
Эндокринная регуляция 339

Эндонуклеаза 298
Эндоплазматическая сеть 113, 265
Эндорфины 405
Эндоцитоз 170
Энергетика организмов 117—118
Энергетические посредники 234
-- ресурсы 190
Энергетический обмен 235
Энергия 119, 122—124, 235
Энтальпия 119
Энтерогастрон 188
Энтерокиназа 179—180
Энтерокринин 188
Энтропия 13, 119
Эпимеразы 128
Эписомы 70

Эргокальциферол 346, 348
Эритрозо-4-фосфат 249
Эритромицин 327
Эритроциты 414
Эссенциальные жирные кислоты 352
Эстераза 145
Эстрадиол 398
Эстриол 397
Эстрогены 396, 399—400
Эстрон 397
Этанол 230
Этаноламинфосфатиды 266
Эукариоты 308

Ядро клетки 113

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Введение	5
Предмет и задачи биохимии	5
Методы биохимии	6
Краткая история развития биохимии	7
Основные признаки живой материи	11
Часть I. Молекулярные основы структурной организации клеток	16
Глава 1. Основные химические компоненты организма	16
Глава 2. Вода и неорганические ионы	18
1. Вода. Свойства и биологические функции	18
2. Неорганические ионы, их свойства и биологические функции	21
Глава 3. Белки	24
1. Введение в химию белков	24
2. Аминокислоты — структурные мономеры белков	26
3. Строение и уровни структурной организации белков	35
4. Физико-химические свойства белков	43
5. Выделение и искусственный синтез белков	51
6. Классификация и номенклатура белков	55
7. Биологические функции белков	58
Глава 4. Углеводы	60
1. Моносахариды	61
2. Олигосахариды	63
3. Полисахариды	64
Глава 5. Нуклеиновые кислоты	69
1. Общая характеристика нуклеиновых кислот	70
2. Компоненты нуклеиновых кислот	72
3. Строение и уровни организации нуклеиновых кислот	76
4. Физико-химические свойства нуклеиновых кислот	82

5. Нуклеиновые кислоты и систематика организмов	83
Глава 6. Липиды	84
1. Общая характеристика и классификация липидов	84
2. Однокомпонентные липиды, или липидные мономеры	85
3. Многокомпонентные липиды	91
4. Основные биологические функции липидов	98
Глава 7. Смешанные макромолекулы (гетеромакромолекулы)	98
1. Угледод-белковые комплексы	98
2. Липид-белковые комплексы	100
3. Фосфопротеиды	102
4. Кофакторпротеиды	102
5. Металлопротеиды	108
6. Небелковые смешанные макромолекулы	108
Глава 8. Организация субклеточных структур клеток	109
1. Структурная организация биологических мембран	109
2. Характеристика и функции органоидов клеток	113
Часть II. Молекулярные основы жизнедеятельности и патологии	115
А. Общая характеристика обмена веществ и энергии	115
Глава 9. Введение в обмен веществ и энергии	115
1. Характеристика обмена веществ	115
2. Энергетические циклы в живой природе	116
3. Энергетика биохимических реакций	118
4. Понятие о высокоэнергетических и низкоэнергетических фосфатах	120
5. Перенос энергии в биохимических процессах	121
Глава 10. Ферменты	122
1. Введение в науку о ферментах	122
2. Классификация и номенклатура ферментов	125
3. Структурно-функциональная организация ферментов	129
4. Коферменты, химическое строение и функции	131
5. Ионы металлов как кофакторы ферментов	141
6. Механизм действия ферментов	143
7. Специфичность действия ферментов	145
8. Кинетика ферментативных реакций	147
9. Методы определения и единицы активности ферментов	152
10. Регуляция активности ферментов	153
11. Множественные молекулярные формы ферментов	160
12. Полиферментные системы	161
13. Имобилизованные ферменты	162
14. Практическое значение ферментов	163
Глава 11. Транспорт веществ в организме	163
1. Механический транспорт	164
2. Диффузионный транспорт	164
3. Активный транспорт	166
4. Электрофоретический транспорт	169
5. Везикулярный транспорт (цитоз)	170
6. Локализация переноса веществ в организме	170
Глава 12. Биохимия питания и пищеварения	172
1. Основные компоненты пищи и их значение	172
2. Биохимические основы сбалансированного питания	174
3. Биохимия пищеварения	176

4. Всасывание веществ в кишечнике	184
5. Регуляция пищеварения	188
6. Патология переваривания и всасывания	189
Б. Биоэнергетика	190
1. Фазы освобождения энергии из питательных веществ	191
2. Биологическое окисление	192
Глава 13. Аэробное образование энергии в митохондриях	193
1. Структурная организация митохондрий	193
2. Ферментные системы митохондрий — генераторы водорода	194
3. Тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование	204
4. Пути потребления кислорода в реакциях биологического окисления	214
Глава 14. Анаэробное образование энергии из углеводов	219
1. Распад глюкозы (гликолиз)	220
2. Распад гликогена (гликогенолиз)	228
3. Распад других моносахаридов	229
4. Спиртовое брожение	230
5. Переключение анаэробного гликолиза на аэробный	231
Глава 15. Взаимоотношение и регуляция различных путей образования энергии	233
1. Взаимоотношение аэробных и анаэробных путей образования энергии	233
2. Вещества, влияющие на энергетический обмен в клетках	236
Глава 16. Образование энергии в фотосинтезирующих организмах	240
1. Фотосинтезирующие структуры	240
2. Стадии фотосинтеза	241
3. Бесхлорофильный фотосинтез	245
4. Фотосинтез и внешняя среда	246
В. Обмен веществ	246
Глава 17. Обмен углеводов	246
1. Распад углеводов в тканях	246
2. Биосинтез углеводов в тканях	252
3. Регуляция обмена углеводов в организме	256
Глава 18. Обмен липидов	258
1. Распад липидов в тканях	258
2. Биосинтез липидов в тканях	262
3. Регуляция обмена липидов в организме	270
4. Патология липидного обмена	272
5. Применение липидов и их компонентов в качестве лекарственных препаратов	273
Глава 19. Обмен аминокислот и белков	274
1. Распад белков до аминокислот в тканях	275
2. Пути распада аминокислот до конечных продуктов	277
3. Биосинтез заменимых аминокислот	283
4. Использование аминокислот для образования небелковых азотсодержащих соединений	285
5. Регуляция обмена аминокислот в организме	290
6. Аминокислоты как лекарственные препараты	291
Глава 20. Обмен гемпротеидов	292
1. Синтез гемпротеидов	292
2. Распад гемпротеидов	293
3. Патология обмена желчных пигментов	296
Глава 21. Обмен пуриновых и пиримидиновых мононуклеотидов	297
1. Биосинтез мононуклеотидов	298
2. Распад нуклеиновых кислот и нуклеотидов	298

Глава 22. Взаимосвязь основных путей обмена веществ в организме	300
Г. Перенос генетической информации и его значение для жизнедеятельности клеток	302
Глава 23. Перенос генетической информации и биосинтез белка в клетках	303
1. Виды переноса генетической информации	303
2. Молекулярные основы репликации	304
3. Молекулярные основы транскрипции	307
4. Посттранскрипционные изменения РНК	311
5. Молекулярные основы трансляции	313
6. Биосинтез белка в митохондриях	317
7. Генетический код, его свойства	318
8. Генная инженерия	319
Глава 24. Регуляция биосинтеза белков	320
1. Регуляция биосинтеза белков у прокариотов	320
2. Регуляция синтеза белков у эукариотов	322
3. Нематричный синтез белка	325
4. Препараты, влияющие на синтез белка	325
Глава 25. Молекулярная патология	327
1. Нарушения переноса генетической информации	327
2. Молекулярная патология	329
3. Принципы лечения и профилактики молекулярных болезней	336
Д. Регуляция и адаптация обмена веществ	337
Глава 26. Витамины	339
1. Введение в витаминологию	339
2. Жирорастворимые витамины	343
3. Витаминоподобные жирорастворимые вещества	351
4. Водорастворимые витамины	352
5. Витаминоподобные водорастворимые вещества	364
6. Взаимодействие витаминов	369
7. Антивитамины	370
Глава 27. Нейроэндокринная регуляция обмена веществ. Биохимическая адаптация	370
1. Введение в эндокринологию	370
2. Схема нейроэндокринных взаимосвязей	374
3. Общие представления о действии гормонов	375
4. Получение и практическое применение гормонов	382
5. Гормоны щитовидной железы	383
6. Гормоны паращитовидных желез	386
7. Гормоны поджелудочной железы	387
8. Гормоны надпочечников	391
9. Гормоны половых желез	396
10. Гормоны тимуса	402
11. Гормоны эпифиза	403
12. Гормоны гипоталамо-гипофизарной системы	403
13. Антигормоны	406
14. Простагландины	407
15. Биохимическая адаптация	410
Часть III. Функциональная биохимия тканей и органов	412
Глава 28. Биохимия крови	412
1. Составные компоненты крови	413
2. Биохимические особенности клеток крови	414
3. Биохимические функции крови и их характеристика	416
4. Кровь как источник лекарственных препаратов	423
Глава 29. Функциональная биохимия печени	423

1. Регуляторно-гомеостатическая функция	424
2. Мочевинообразовательная функция (уреогенез)	425
3. Желчеобразовательная и экскреторная функции	425
4. Обезвреживающая функция	425
5. Нарушения функций печени	426
Глава 30. Функциональная биохимия почек	426
1. Механизм образования мочи в различных отделах нефрона	427
2. Регуляторно-гомеостатическая функция	428
3. Обезвреживающая функция	429
4. Внутрисекреторная функция	429
5. Характеристика компонентов мочи в норме и патологии	430
Часть IV. Прикладная биохимия	433
Глава 31. Введение в клиническую биохимию	433
1. Цель и задачи клинической биохимии	433
2. Тактика биохимических исследований в клинике	435
3. Принципы биохимической диагностики заболеваний и примеры их использования в практике	436
4. Клинико-биохимические лаборатории	439
Глава 32. Фармацевтическая биохимия	439
1. Биохимические методы, используемые в стандартизации и контроле качества лекарств	440
2. Ферменты как аналитические реагенты	441
3. Биотехнология лекарственных препаратов	442
4. Биохимические основы технологии лекарственных форм	443
5. Метаболизм лекарств и ядов	444
6. Условия, определяющие метаболизм лекарств	455
Литература	459
Предметный указатель	461

Евгений Алексеевич Строев

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Зав. редакцией *С. Ф. Кондрашкова*

Редактор *А. В. Бородина*

Мл. редактор *С. М. Ерохина*

Технический редактор *Т. Д. Гарина*

Художественный редактор *Л. К. Громова*

Художник *В. В. Гарбузов*

Корректор *С. К. Завьялова*

ИБ № 4892

Изд. № Хим-742. Слано в набор 26.03.85. Подп. в печать 10.09.85. Формат 70×90¹/₁₆. Бум. тип. № 1. Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Объем 35,10 усл. печ. л. + 0,29 усл. печ. л. форзац. 70,8 усл. кр.-отт. 38,47 уч.-изд. л. + 0,5 уч.-изд. л. форзац. Тираж 39 000 экз. Зак. № 271. Цена 1 р. 80 к. Издательство «Высшая школа», 101430, Москва, ГСП-4, Неглинная ул., д. 29/14.

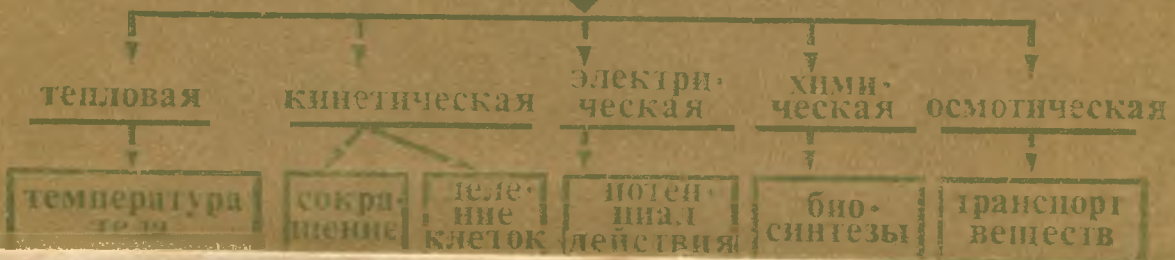
Ярославский полиграфкомбинат Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли. 150014, Ярославль, ул. Свободы, 97.



Солнце



Работа



Геносистематика организмов



