

Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов,  
С.А. Силаева

# БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ



Медицинское информационное агентство  
Москва  
2008

УДК 612  
ББК 28.707

Б63

**Северин Е.С., Алейникова Т.Л., Осипов Е.В., Силаева С.А.**

**Б63** Биологическая химия. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2008. — 364 с.

ISBN 5-89481-458-8

В учебнике рассматриваются основные положения классической биохимии. Приведены сведения о структуре и свойствах биомолекул, молекулярных основах физиологических функций человека. Цветные рисунки и схемы помогают восприятию и запоминанию сложного для изложения материала. Учебник рекомендуется для студентов медицинских вузов.

**УДК 612  
ББК 28.707**

ISBN 5-89481-458-8

© Коллектив авторов, 2008

© Оформление. ООО «Медицинское  
информационное агентство», 2008

Все права  
защищены

# Содержание

<b>Список сокращений .....</b>	6
<b>Предисловие .....</b>	8
<b>Раздел 1. Белки. Структура и функции (Т.Л. Алейникова).....</b> 9	
1.1. Структура белка .....	9
1.2. Конформация полипептидных цепей .....	13
1.3. Взаимодействие белков с лигандами .....	17
1.4. Простые и сложные белки.....	19
1.5. Четвертичная структура и кооперативность изменения конформации промеров .....	19
1.6. Ингибиторы функций белков .....	25
1.7. Физико-химические свойства белков.....	26
1.8. Изофункциональные белки .....	28
<b>Раздел 2. Ферменты (Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова) .....</b> 29	
2.1. Кофакторы ферментов .....	30
2.2. Механизмы действия ферментов.....	33
2.3. Кинетика ферментативных реакций .....	35
2.4. Ингибиторы ферментов .....	37
2.5. Регуляция действия ферментов .....	42
<b>Раздел 3. Синтез нуклеиновых кислот и белков</b> <i>(Е.С. Северин, С.А. Силаева) .....</i> 47	
3.1. Строение нуклеиновых кислот .....	47
3.2. Репликация (синтез ДНК) .....	56

3.3. Репарация ошибок и повреждений ДНК .....	62
3.4. Биосинтез РНК (транскрипция).....	65
3.5. Трансляция (биосинтез белка) .....	69
3.6. Ингибиторы матричных биосинтезов .....	76
3.7. Регуляция биосинтеза белков .....	80
3.8. Механизмы генетической изменчивости. Полиморфизм белков. Наследственные болезни.....	85
3.9. Образование белков иммунной системы.....	88
3.10. Использование ДНК-технологий в медицине .....	91

**Раздел 4. Биологические мембрany (Е.С. Северин, Е.В. Осипов).....** 97

**Раздел 5. Общие аспекты регуляции (Е.В. Осипов) .....** 105

**Раздел 6. Биологическое окисление (Е.В. Осипов) .....** 117

<b>Раздел 7. Общий путь катаболизма (Т.Л. Алейникова) .....</b>	127
7.1. Основные этапы общего пути катаболизма.....	127
7.2. Цитратный цикл .....	131
7.3. Регуляция общих путей катаболизма.....	134
7.4. Амфибolicкое значение общего пути катаболизма.....	137
7.5. Гипоэнергетические состояния.....	138

**Раздел 8. Обмен углеводов (Т.Л. Алейникова) .....** 139

8.1. Основные углеводы пищи. Строение, переваривание.....	139
8.2. Трансмембранный перенос глюкозы и других моносахаридов в клетки .....	145
8.3. Метаболизм глюкозы в клетках .....	149
8.4. Метаболизм гликогена .....	151
8.5. Регуляция метаболизма гликогена.....	158
8.6. Катаболизm глюкозы .....	168
8.7. Синтез глюкозы (глюконеогенез) .....	180
8.8. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы.....	196

**Раздел 9. Обмен липидов (С.А. Силаева) .....** 201

9.1. Строение основных липидов организма .....	201
9.2. Переваривание липидов.....	202

---

9.3. Всасывание продуктов гидролиза липидов .....	205
9.4. Ресинтез экзогенных ТАГ в клетках слизистой кишечника и их транспорт по крови.....	206
9.5. Эндогенный синтез жиров в период пищеварения.....	209
9.6. Ожирение.....	216
9.7. Использование жиров в качестве источника энергии .....	219
9.8. Синтез и использование кетоновых тел .....	224
9.9. Метаболизм эйказаноидов.....	228
9.10. Обмен холестерола.....	233

## *Раздел 10. Метаболизм азотсодержащих соединений*

(*Т.Л. Алейникова, С.А. Силаева*)..... 245

10.1. Метаболизм аминокислот .....	245
10.2. Биосинтез аминокислот .....	252
10.3. Катаболизм аминокислот .....	253
10.4. Обмен аммиака .....	258
10.5. Трансметилирование и метаболизм одноуглеродных фрагментов ....	264
10.6. Обмен фенилаланина и тирозина .....	269
10.7. Декарбоксилирование аминокислот и метаболизм биогенных аминов .	274
10.8. Обмен нуклеотидов.....	275

## *Раздел 11. Интеграция метаболизма*

(*Т.Л. Алейникова, С.А. Силаева, Е.В. Осипов*) .....

11.1. Комpartmentализация и регуляция метаболических путей .....	289
11.2. Сахарный диабет.....	298
11.3. Регуляция водно-солевого обмена.....	304
11.4. Регуляция обмена кальция и фосфатов .....	309

## *Раздел 12. Обезвреживание метаболитов и обмен*

**чужеродных соединений в печени (Е.В. Осипов)** .....

313

## *Раздел 13. Биохимия крови (Е.В. Осипов)*..... 327

## *Раздел 14. Биохимия соединительной ткани (Е.В. Осипов)*..... 343

## **Алфавитный указатель..... 362**

# Список сокращений

$\text{Ca}^{2+}$	— катион(ы) кальция, ион(ы) кальция: ионизированный (свободный) кальций	$\text{pO}_2$	— парциальное давление кислорода
$\text{Cl}^-$	— анион(ы) хлора	$\text{PPi} (\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7)$	— пирофосфат неорганический
FAD	— флавинадениндинуклеотид	SАГ	— S-аденозилгомоцистеин
FMN	— флавинмононуклеотид	SАМ	— S-аденозилметионин
$\text{H}^+$	— ион(ы) водорода, протоны	АД	— артериальное давление
Hb	— гемоглобин	АДГ	— антидиуретический гормон (вазопрессин)
HbCO	— карбоксигемоглобин	АДФ	— аденоzinдифосфорная кислота, аденоzinдифосфаты
HbO <sub>2</sub>	— гемоглобин оксигенированный	АКТГ	— адренокортикотропный гормон
[K <sup>+</sup> ]	— концентрация ионов калия	АЛТ	— аланинаминотрансфераза
LT	— leucotrienes, лейкотриены	АМФ	— аденоzinмонофосфат
MetHb	— метгемоглобин	ЦАМФ	— циклический аденоzin-3', 5'-монофосфат
Na <sup>+</sup>	— катион(ы) натрия	апоЛП	— аполипопротеин
[Na <sup>+</sup> ]	— концентрация ионов натрия	АПФ	— ангиотензин-превращающий фермент
NAD	— никотинамидадениндинуклеотид	АСТ	— аспартатаминотрансфераза
NADP	— никотинамидадениндинуклеотидфосфат	АТ	— антитело, антитела
NO	— оксид азота (NO), вырабатываемый в эндотелии фактор релаксации (вазодилатации)	АТФ	— аденоzinтрифосфорная кислота
НТФ	— нуклеозидтрифосфаты	АТФ-аза	— аденоzinтрифосфатаза
$p_a \text{CO}_2$	— парциальное напряжение двуокиси углерода в артериальной крови	АЦ	— аденилатцилаза
$p\text{CO}_2$	— парциальное давление двуокиси углерода	АХАТ	— ацетил-КоА-холестеролацилтрансфераза
PG	— prostaglandins, простагландины	ГАМК	— $\gamma$ -аминомасляная кислота
$\text{Pi} (\text{H}_3\text{PO}_4)$	— фосфат неорганический	ГДФ	— гуанозиндифосфат
		ГМК	— гладкомышечная клетка
		ГМФ	— гуанозинмонофосфат

ГПЭТЕ	— гидропероксидэйкозатетроеноаты	ПФ	— пиридоксальфосфат
ГТ	— глутатионтрансфераза	ПЦР	— полимеразная цепная реакция
ГТФ	— гуанозинтрифосфат	ПЯЛ	— полиморфно-ядерные лейкоциты
ГЭТЕ	— гидроксиэйкозатетреоноаты	РНК	— рибонуклеиновая кислота
Д	— дальтон (после числового значения)	мРНК	— матричная РНК
ДАГ	— диацилглицеролы	рРНК	— рибосомная РНК
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота	тРНК	— транспортная РНК
ДОФА	— диоксифенилаланин	РНР	— рибонуклеотидредуктаза
ДФФ	— дизопропилфторфосфат	РЭС	— ретикулоэндотелиальная система
ЖКТ	— желудочно-кишечный тракт	СТГ	— соматотропный гормон
ИЛ	— интерлейкин, интерлейкины	ТАГ	— триацилглицеролы
ИМФ	— инозинмонофосфат	ТДФ	— тиаминдинификафат
ИФ <sub>3</sub>	— инозитолтрифосфат	ТТГ	— тиреотропный гормон
ИФН	— интерферон, интерфероны	УДФ	— уридиндинификафат
кД	— килодальтон	УМФ	— уридинмонофосфат
КК	— креатинкиназа	УТФ	— уридинтрифосфат
КоА	— кофермент (коэнзим) А	УФО	— ультрафиолетовое облучение
КоК	— кофермент (коэнзим) Q	ФАФС	— 3-фосфоаденозин-5-фосфосульфат
ЛХАТ	— лецитинхолестеролацилтрансфераза	ХМ	— хиломикроны
МАГ	— моноацилглицеролы	ХС	— холестерол
МАО	— моноаминооксидаза	ЭХС	— эфиры холестерола
ОПК	— общий путь катаболизма	ЦДФ	— цитидинификафат
мяРНП	— малые ядерные рибонуклеопротеины	ЦМФ	— цитидинмонофосфат
ПТГ	— паратиреоидный гормон	ЦНС	— центральная нервная система
ПКА	— протеинкиназа А	ЦПЭ	— цепь переноса электронов
ПКС	— протеинкиназа С	ЦТК	— цикл трикарбоновых кислот, цикл Кребса
ПОЛ	— перекисное окисление липидов	ЦТФ	— цитидинтрифосфат
ПОМК	— проопиомеланокортин	ЭР	— эндоплазматический ретикулум

# Предисловие

Биологическая химия является одной из фундаментальных дисциплин, обеспечивающих подготовку квалифицированного врача. Восприятие и усвоение биохимии зависит от учебной системы кафедры, в том числе от качества и стиля учебника.

В данном учебнике авторы пытаются решить нелегкую задачу — создать краткий иллюстрированный, легкочитаемый учебник. Эти качества отличают учебник от других имеющихся в настоящее время. В последний период создан ряд превосходных учебников, но они, как правило, объемны и излишне подробны. Авторы ставили своей целью создание учебника, который бы не только соответствовал образовательному стандарту, но в то же время отвечал критерию минимальности и достаточности при обучении будущего врача.

В данном учебнике 14 разделов, посвященных основным вопросам биологической химии. При изложении положений классической биохимии авторы стремились использовать минимальное количество формульного материала. Учебник знакомит студента также с новыми научными фактами и обобщениями. Так, в разделе, посвященном матричным биосинтезам, включены сведения по биоинженерии; описаны методы работы с генным материалом, в частности излагается метод полимеразной цепной реакции и его использование в диагностике различных болезней.

Основные разделы иллюстрированы цветными схемами и рисунками, благодаря чему достигается эффект наглядности, которая несомненно обеспечит легкость восприятия и запоминания даже непростого в изложении материала. Схемы процессов помогают создать понятную картину взаимодействия метаболических путей, их согласованности и регуляции. Подобное изложение предмета будет хорошей базой для дальнейшего обсуждения нарушений метаболизма как основных причин заболеваний.

В процессе представления материала авторы использовали сокращения, принятые в современной научной и учебной литературе.

Авторы надеются, что краткость содержания, доступность изложения и яркие иллюстрации сделают данный учебник полезным не только для студентов медицинских вузов, но также для медицинских работников широкого профиля.

*Член-корреспондент РАН профессор Е.С. СЕВЕРИН*

# Белки. Структура и функции

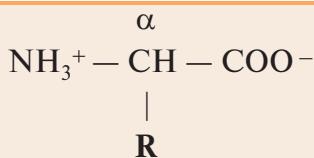
Белки или протеины количественно преобладают над всеми другими макромолекулами живой клетки. Белки участвуют во всех биологических процессах, выполняя разнообразные **функции**. По характеру выполняемых функций белки можно разделить на следующие группы:

- ферменты;
- рецепторные белки;
- регуляторные белки;
- структурные белки;
- транспортные белки;
- защитные белки;
- сократительные белки.

Каждый белок имеет уникальную, свойственную лишь ему структуру и в такой же мере уникальную функцию, отличающуюся от функций других белков.

## 1.1. Структура белка

Белки — это высокомолекулярные соединения (полимеры), состоящие из  $\alpha$ -аминокислот — мономерных звеньев, соединенных между собой пептидными связями. Все 20 аминокислот, встречающихся в белках, — это  $\alpha$ -аминокислоты, общим признаком которых является наличие аминогруппы —  $\text{NH}_2$  и карбоксильной группы —  $\text{COOH}$  у  $\alpha$ -углеродного атома. Исключением является пролин, который содержит в  $\alpha$ - положении группу —  $\text{NH}$  и называется иминокислотой.  $\alpha$ -аминокислоты отличаются друг от друга структурой боковой цепи — радикала ( $R$ ) и, следовательно, свойствами. Все аминокислоты можно разделить на группы на основе полярности боковых цепей, т.е. способности взаимодействовать с водой при биологических значениях  $\text{pH}$  (рис. 1.1 и табл. 1.1).

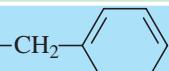
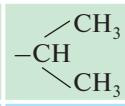
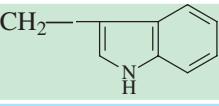
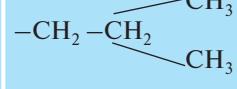
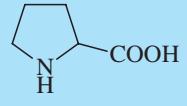
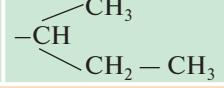


**Рис. 1.1. Общая структура аминокислот. R — боковая цепь**

**Таблица 1.1**

### Свойства радикалов аминокислот

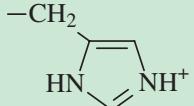
1. НЕПОЛЯРНЫЕ (гидрофобные) R-группы.  
В группе R есть неполярные связи C-C, C-H.

Название аминокислоты	Строение R-группы	Название аминокислоты	Строение R-группы
Глицин Gly, G	-H	Метионин Met, M	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -S-CH <sub>3</sub>
Аланин Ala, A	-CH <sub>3</sub>	Фенилаланин Phe, P	-CH <sub>2</sub> - 
Валин Val, V		Триптофан Trp, W	-CH <sub>2</sub> - 
Лейцин Leu, L		Пролин Pro, P	
Изолейцин Ile, I			

1. ПОЛЯРНЫЕ (гидрофильные) R-группы.  
В группе R есть полярные связи C-O, C-N, O-H, S-H.

а) Полярные незаряженные R-группы		б) Полярные отрицательно заряженные R-группы	
Серин Ser, S	-CH <sub>2</sub> -OH	Аспарагиновая кислота Asp, D	-CH <sub>2</sub> -COO-
Тreonин Thr, T	-CH(OH)-CH <sub>3</sub>	Глутаминовая кислота Glu, E	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -COO-

## Окончание таблицы 1.1

Название аминокислоты	Строение R-группы	Название аминокислоты	Строение R-группы
Цистеин Cys, C	$-\text{CH}_2-\text{SH}$	в) Полярные положительно заряженные R-группы	
Тирозин Тyr	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$	Лизин Lys, K	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_3^+$
Аспарагин Asn, N	$-\text{CH}_2-\text{CONH}_2$	Аргинин Arg, R	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\underset{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}_2$ $\text{NH}_3^+$
Глутамин Gln, Q	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CONH}_2$	Гистидин His, H	

**Пептидные связи** образуются при взаимодействии  $\alpha$ -карбоксильной группы одной аминокислоты и  $\alpha$ -аминогруппы от последующей аминокислоты (рис. 1.2). Пептидная связь — это амидная ковалентная связь, соединяющая аминокислоты в полипептидную цепочку. Следовательно, пептиды — это линейные полимеры из аминокислот. В полипептидной цепи различают: **N-конец**, образованный свободной  $\alpha$ -аминогруппой и **C-конец**, имеющий свободную  $\alpha$ -карбоксильную группу (рис. 1.3, 1.4).

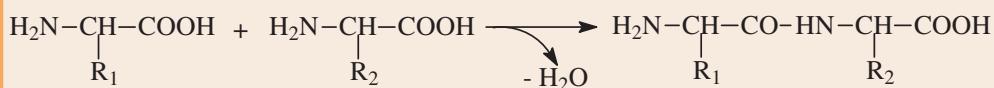


Рис. 1.2. Образование пептидной связи

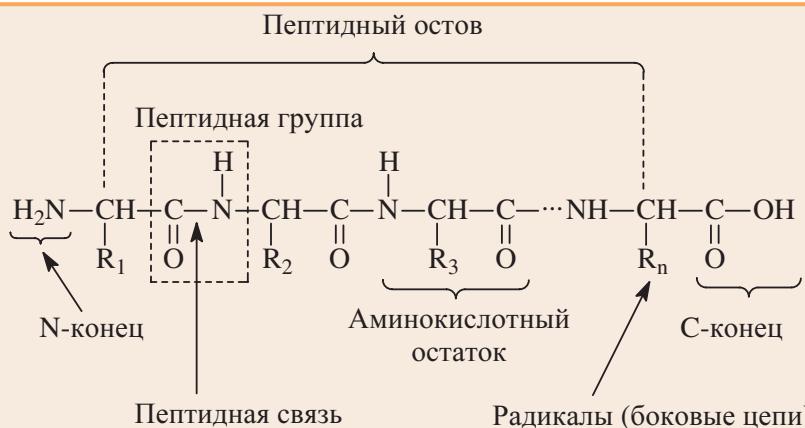
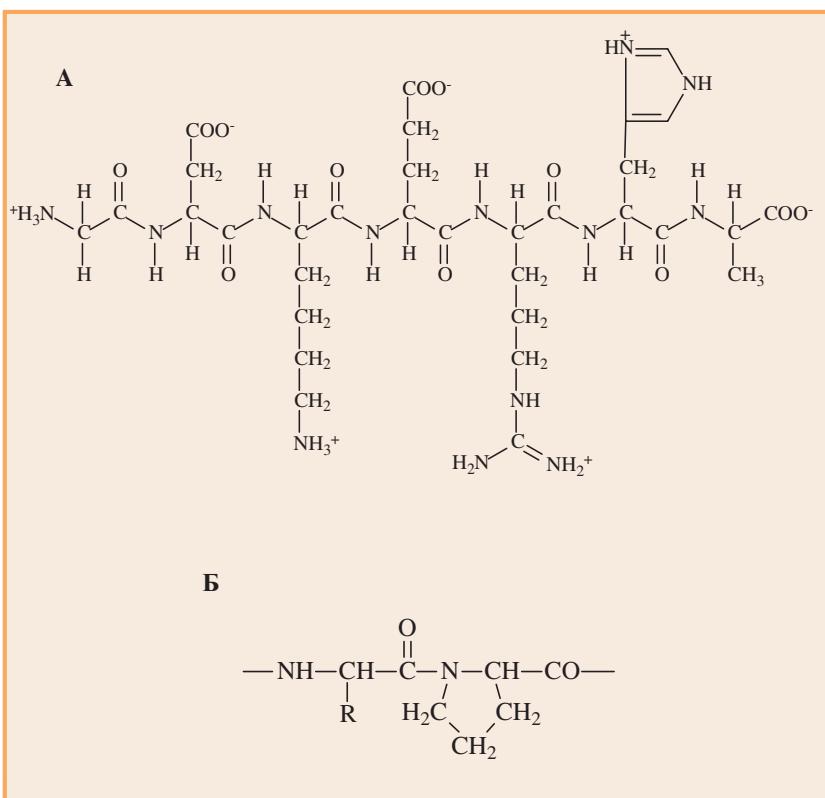


Рис. 1.3. Строение пептидной цепи



**Рис. 1.4. Пример структуры полипептида:**

А. Глицил — Аспарагил — Лизил — Глутамил — Аргинил — Гистидил — Аланин; Б. Участие пролина в образовании пептидной связи

Последовательность аминокислот в цепи изображают, начиная с N-концевой аминокислоты. С нее же начинается нумерация аминокислотных остатков. В полипептидной цепи многократно повторяется последовательность:  $-NH-CH-CO-$ .

Эта последовательность формирует пептидный остов. Следовательно, полипептидная цепь состоит из остова (скелета), имеющего регулярную, повторяющуюся структуру, и отдельных боковых групп (R-групп).

Под **первичной структурой** белка понимают порядок (последовательность) чередования аминокислот в полипептидной цепи. Даже одинаковые по длине и аминокислотному составу пептиды могут быть разными веществами, потому что последовательность аминокислот в цепи у них разная. Последовательность аминокислот в белке уникальна и детерминируется генами. Даже небольшие

изменения первичной структуры могут серьезно изменять свойства белка. Было бы неправильно заключить, что каждый аминокислотный остаток в белке необходим для сохранения нормальной структуры и функции белка. Например, были выявлены многие варианты аминокислотных последовательностей гемоглобина, функционирующие нормально. Объяснение этого явления заключается в понимании конформации белка.

## 1.2. Конформация полипептидных цепей

Функциональные свойства белков определяются **конформацией**, т.е. расположением полипептидной цепи в пространстве. Уникальность конформации для каждого белка определяется его первичной структурой. В белках различают два уровня пространственного строения пептидной цепи — вторичную и третичную структуру.

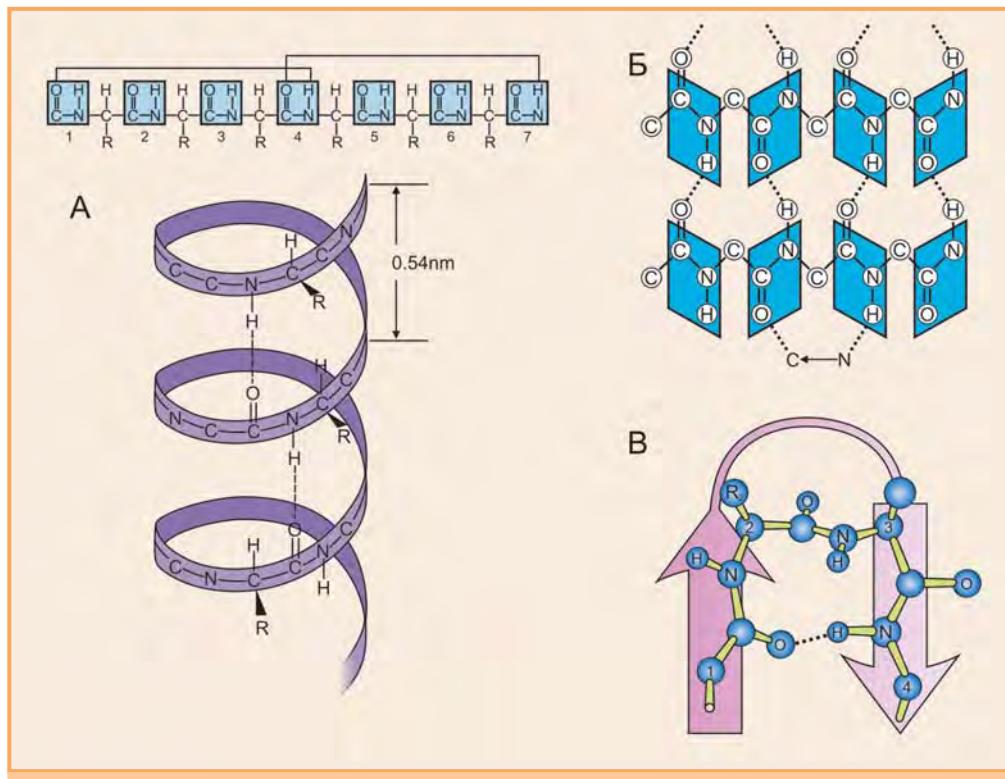
**Вторичная структура** белков обусловлена способностью групп пептидной связи к водородным взаимодействиям: C=O....HN. При этом пептид стремится принять конформацию с образованием максимального числа водородных связей. Однако возможность их образования ограничивается тем, что пептидная связь имеет характер частично двойной связи и вращение вокруг нее затруднено, поэтому пептидная цепь приобретает не произвольную, а строго определенную конформацию (рис. 1.5). Известны несколько способов укладки полипептидной цепи в пространстве:

1)  **$\alpha$ -спираль** — образуется внутрицепочечными водородными связями между NH-группой одного остатка аминокислоты и CO-группой четвертого от нее остатка (рис. 1.5А);

2)  **$\beta$ -структура** (складчатый лист) — формируется водородными связями между пептидными группами полипептидных цепей, расположенными параллельно или антипараллельно (рис. 1.5Б), или связями между участками одной полипептидной цепи, образуя складки (рис. 1.5В);

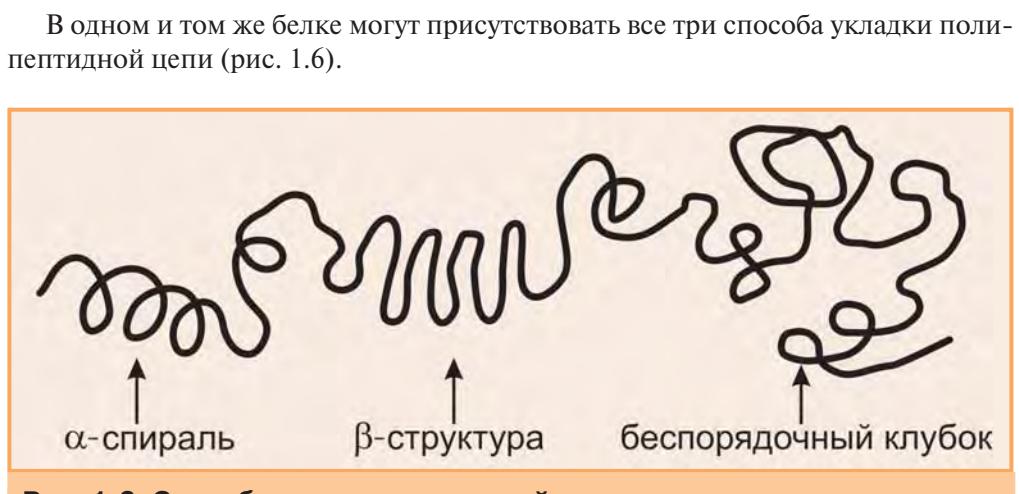
3) беспорядочный клубок — это участки, не имеющие правильной, периодической пространственной организации. Но конформация этих участков также обусловлена аминокислотной последовательностью.

Содержание  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -структур в разных белках различно: у фибрillлярных белков — только спираль или только складчатый лист; а у глобулярных белков — отдельные фрагменты полипептидной цепи: организованы в виде спирали либо складчатого листа, либо беспорядочного клубка.



**Рис. 1.5. Конформация полипептидных цепей:**

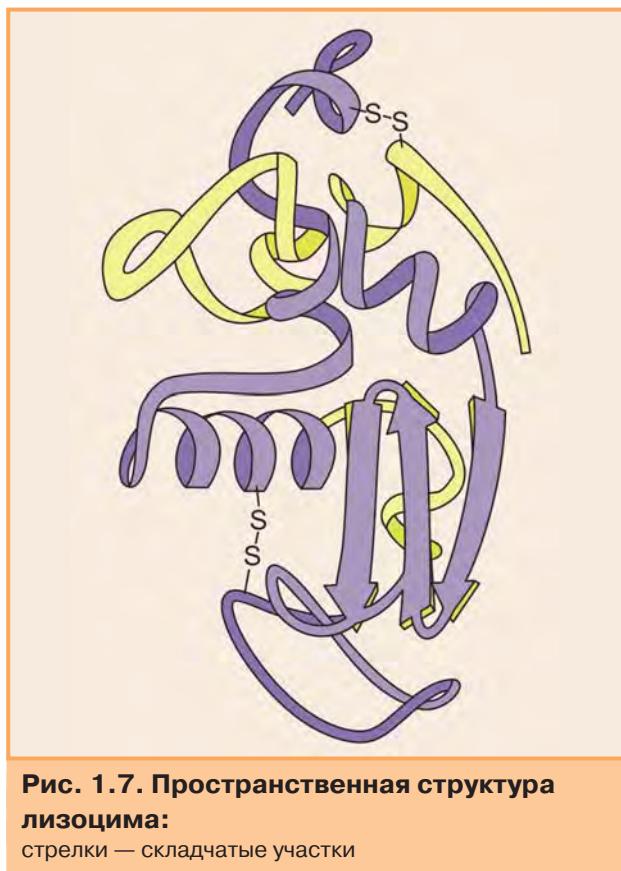
А —  $\alpha$ -спираль; Б —  $\beta$ -структура межцепочечная; В —  $\beta$ -структура в пределах одной пептидной цепи



**Рис. 1.6. Способы укладки пептидной цепи**

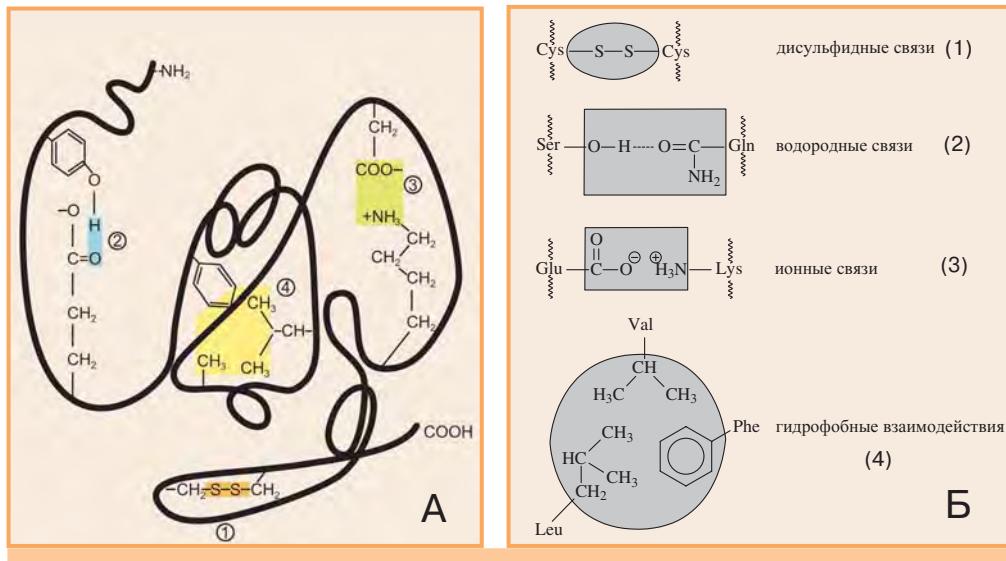
**Третичная структура** глобулярных белков представляет собой укладку в пространстве полипептидной цепи, содержащей  $\alpha$ -спирали,  $\beta$ -структуры и участки без периодической структуры (беспорядочный клубок).

Дополнительное складывание скрученной полипептидной цепи фиксируется связями между боковыми цепями аминокислот (R-группами). Это обеспечивает формирование компактной структуры. Примером может быть пространственная структура лизоцима (рис. 1.7).



Существует несколько видов связей между R-группами, в основном нековалентного характера (рис. 1.8):

- 1) **электростатические силы** притяжения между R-группами, несущими противоположно заряженные ионогенные группы (ионные связи);
- 2) **водородные связи** между полярными (гидрофильными) R-группами;
- 3) **гидрофобные взаимодействия** между неполярными (гидрофобными) R-группами;



**Рис. 1.8. Связи, стабилизирующие третичную структуру (А). Примеры образования связей между радикалами аминокислот (Б):**

- 1 — дисульфидные связи;  
2 — водородные связи;  
3 — ионные связи; 4 — гидрофобные взаимодействия

4) **дисульфидные связи** между радикалами двух молекул цистеина. Эти связи ковалентные. Они повышают стабильность третичной структуры, но не всегда являются обязательными для правильной укладки молекулы в пространстве. В ряде белков они могут вообще отсутствовать.

**Доменные белки.** Для длинных полипептидных цепей (200 или более аминокислотных остатков) характерна доменная структура. **Домен** — это пространственная структура (глобула), образованная в пределах одной и той же полипептидной цепи белка. Одна такая пептидная цепь может иметь два или больше доменов. Домены соединены пептидными перемычками. Домены одной и той же полипептидной цепи могут отличаться по структуре и функциям, например могут связываться с различными веществами (лигандами). Такие белки называются многофункциональными.

**Денатурация белка** — это нарушение его пространственной структуры. Белковая молекула имеет нативную — энергетически более выгодную (функциональную) конформацию благодаря наличию большого числа слабых связей и быстро денатурирует при изменении условий среды. Изменение температуры, ионной силы, pH, а также обработка органическими или некоторыми дестабилизирующими агентами может привести к нарушению нативной конформации. Денатурирующие вещества образуют связи с аминогруппами или карбонильными группами пептидного остова или некоторыми боковыми радикалами амино-

кислот, подменяя собственными связями внутримолекулярные взаимодействия в белке, вследствие чего вторичная и третичная структуры изменяются. Эти изменения не затрагивают первичную структуру, однако при этом биологическая активность белка утрачивается.

**Ренативация белка.** При определенных условиях денатурированный белок может быть ренативирован. Это происходит при удалении денатурирующего или дестабилизирующего фактора. Например, в случае рибонуклеазы при удалении денатурирующего вещества — мочевины — диализом полипептид самопроизвольно восстанавливают свою нативную конформацию. То же может происходить при медленном охлаждении денатурированного нагреванием белка (рис. 1.9). Это подтверждает тезис о том, что характер укладки пептидной цепи предопределен первичной структурой.



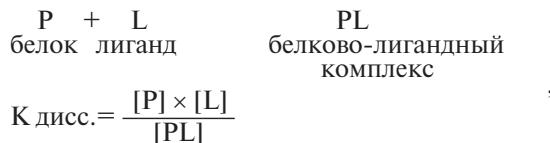
Рис. 1.9. Денатурация белка при нагревании и ренативация при медленном охлаждении

### 1.3. Взаимодействие белков с лигандами

Основным свойством белка, обеспечивающим его функцию, является избирательное взаимодействие с определенным веществом — **лигандом**. Лигандами могут быть вещества разной природы, как низкомолекулярные соединения, так и макромолекулы, в том числе и белки. На белковых молекулах есть участки, к которым присоединяются лиганды — **центры связывания**, или **активные центры**. Центры связывания формируются из аминокислотных остатков, сближенных в результате формирования вторичной и третичной структур. Связи между белком и лигандом могут быть нековалентными и ковалентными. Высокая специ-

фичность взаимодействия («узнавания») белка и лиганда обеспечивается комплементарностью структуры активного центра и лиганда.

Под комплементарностью понимают химическое и пространственное соответствие активного центра белка и лиганда. Взаимодействие между белком Р и лигандом L описывается уравнением:



где К дисс. — константа диссоциации комплекса.

Из уравнения равновесия реакции следует, что если  $[\text{P}] = [\text{PL}]$ , то  $\text{K дисс.} = [\text{L}]$ . Равенство [P] и [PL] наступает при полунасыщении белка лигандом, т.е. когда 50% молекул белка связаны с лигандом, а 50% свободны. Значит, К дисс. равна такой концентрации L, при которой достигается насыщение белка на 50%. Изменение концентрации PL при постоянной концентрации P и возрастающей концентрации L описывается гиперболической кривой. Максимальная величина PL означает, что весь белок связан с лигандом (кривая насыщения) (рис. 1.10). По кривой насыщения можно определить К дисс. и, следовательно, оценить сродство лиганда к белку. Чем меньше К дисс., тем больше сродство L и P.

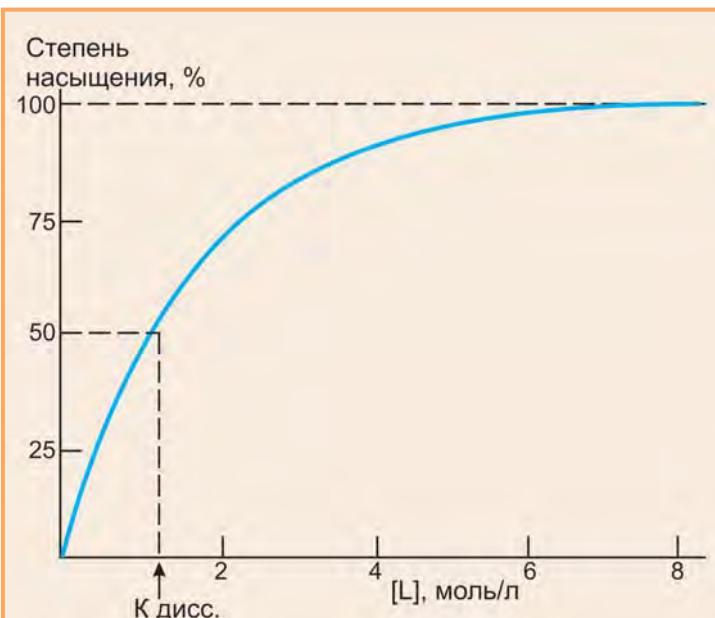


Рис. 1.10. График насыщения белка лигандом

## 1.4. Простые и сложные белки

Если белки кроме пептидных цепей содержат еще компоненты неаминокислотной природы, то такие белки называются сложными. Небелковую часть называют простетической группой, а белковую апопротеином. Сложный белок — холопротеин — может диссоциировать на компоненты: **холопротеин  $\leftrightarrow$  апопротеин + простетическая группа**.

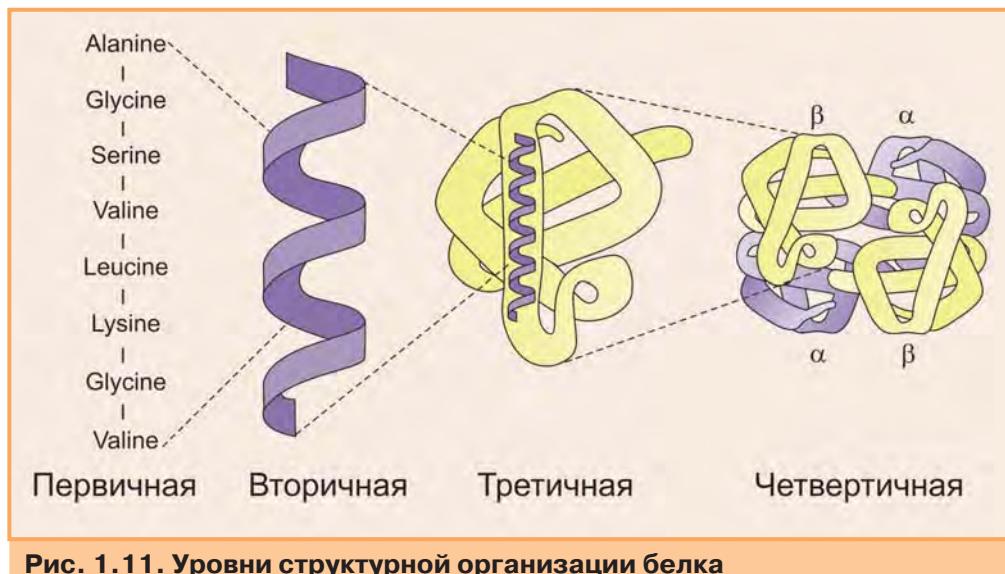
Направление реакции зависит от прочности связи компонентов холопротеина. Простетической группой могут быть органические вещества, ионы металлов, нуклеиновые кислоты, углеводы, липиды и другие вещества (рис. 1.12, табл. 1.2).

*Таблица 1.2*

<b>Некоторые сложные белки</b>	
<b>Белки</b>	<b>Простетические группы</b>
Металлопротеины	Ионы металлов
Фосфопротеины	$H_3PO_4$
Гемопротеины	Геммы
Флавопротеины	Флавиннуклеотиды
Гликопротеины	Моносахариды, олигосахариды
Протеогликаны	Гликозамингликаны
Липопротеины	Триацилглицерины и сложные липиды
Нуклеопротеины:	
рибонуклеопротеины (рибосомы и др.);	РНК
дезоксирибонуклеопротеины (хроматин)	ДНК

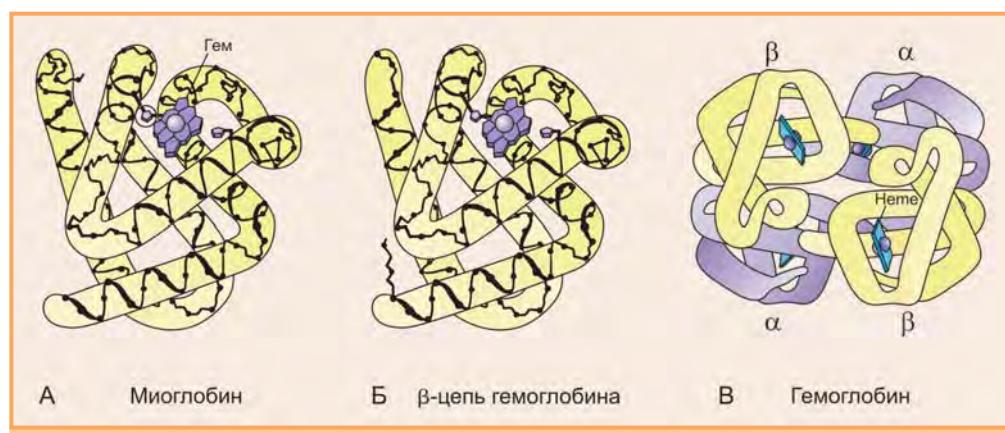
## 1.5. Четвертичная структура и кооперативность изменения конформации промеров

В белках различают первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуры (рис. 1.11). Четвертичная структура характерна для белков, построенных из двух или более пептидных цепей. Белки такого типа называются олигомерами.



**Рис. 1.11. Уровни структурной организации белка**

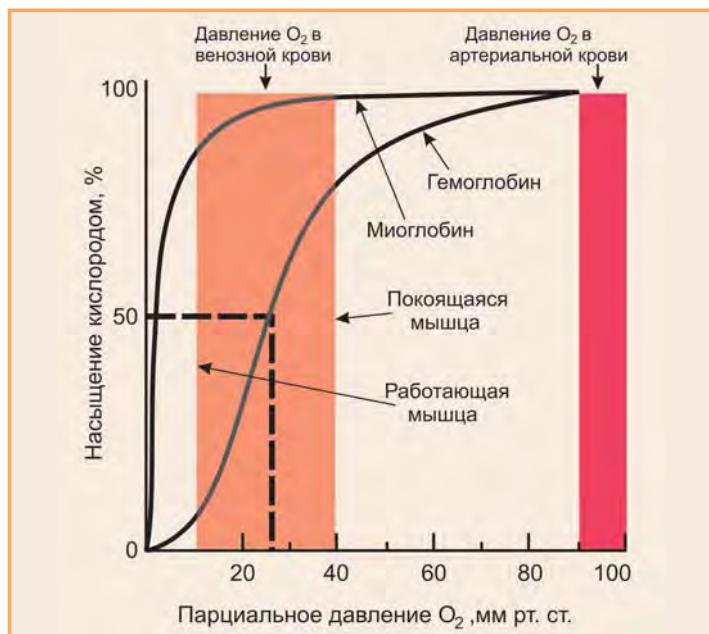
**Четвертичная структура** — это количество и способ укладки полипептидных цепей (протомеров) в пространстве (рис. 1.12В). Протомеры связаны друг с другом посредством лишь нековалентных связей (ионных, водородных, гидрофобных). Причем протомеры взаимодействуют друг с другом только определенными участками своей поверхности (контактные участки). Взаимное «узнавание» контактных участков происходит по принципу комплементарности. Каждый протомер взаимодействует с другим протомером во многих точках. Следовательно, образование ошибочных комплексов в олигомере практически невозможно.



**Рис. 1.12. Миоглобин и гемоглобин:** А — модель молекулы миоглобина; Б — модель  $\beta$ -цепи гемоглобина; В — четвертичная структура гемоглобина, гем изображен в виде диска

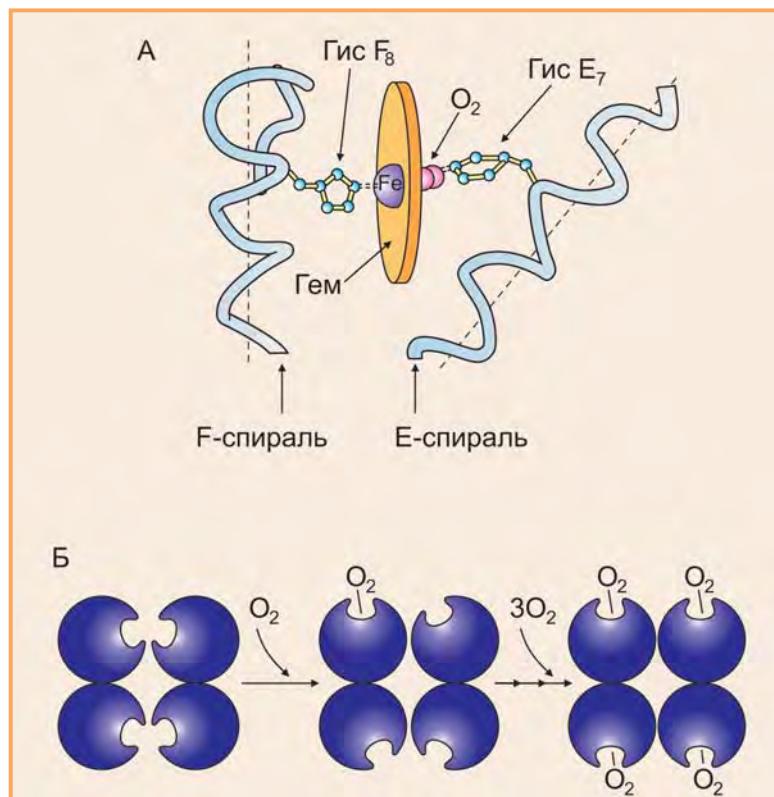
**Особенности функционирования олигомерных белков.** Олигомерные белки способны взаимодействовать с несколькими лигандами в центрах, удаленных от активного центра. Такие **центры называются аллостерическими**, а лиганды, способные с ними взаимодействовать, **аллостерическими лигандами**. Связывание одного протомера с лигандом изменяет конформацию этого протомера, а также всего олигомера (**кооперативный эффект**) и, кроме того, сродство к другим лигандам. Таким образом, функциональная активность олигомерных белков может регулироваться аллостерическими лигандами.

Особенности функционирования олигомерных белков можно рассмотреть на примере двух родственных гемопротеинов: миоглобина и гемоглобина (рис. 1.12). Миоглобин — мономер (состоит из одной полипептидной цепи), основная его функция — запасание кислорода в тканях. Имея высокое сродство к кислороду, миоглобин легко присоединяет его и отдает митохондриям только при интенсивной мышечной работе, когда парциальное давление кислорода падает ниже 10 мм рт.ст. Гемоглобин — тетramer (состоит из четырех протомеров). Основная функция гемоглобина — транспорт кислорода от легких к тканям. В легких, где парциальное давление кислорода высокое, гемоглобин взаимодействует с четырьмя молекулами кислорода. Транспорт кислорода из капилляров в ткани происходит в результате снижения парциального давления  $O_2$  и сродства оксигенированного гемоглобина к кислороду. На рис. 1.13 приведены данные о способности миоглобина и гемоглобина связывать кислород.



**Рис. 1.13. Кривая насыщения кислородом миоглобина и гемоглобина**

Гиперболическая форма кривой у миоглобина характерна для процесса связывания одной молекулы лиганда (в данном случае  $O_2$ ) с активным центром в белковой молекуле, состоящей из одной полипептидной цепи. Сигмоидная кривая, полученная для гемоглобина, характерна для белков, содержащих несколько пептидных цепей и имеющих несколько мест связывания. На ход кривой влияет **кооперативный эффект**, который наблюдается при связывании нескольких лигандов с олигомерной молекулой. Связывание  $O_2$  с атомом  $Fe^{2+}$  вызывает его перемещение в плоскость гема. А это, в свою очередь, вызывает перемещение остатка гистидина, связанного с атомом  $Fe^{2+}$  (рис. 1.14А). Изменение положения гистидина приводит к разрыву некоторых слабых связей в протомере, вследствие чего несколько изменяется конформация этого протомера, а поскольку все протомеры связаны между собой, то также и других протомеров. Изменение конформации облегчает взаимодействие протомеров с  $O_2$ . В результате присоединение четвертой молекулы  $O_2$  происходит в 300 раз легче, чем первой (рис. 1.14Б).



**Рис. 1.14. Взаимодействие гемоглобина с кислородом:**

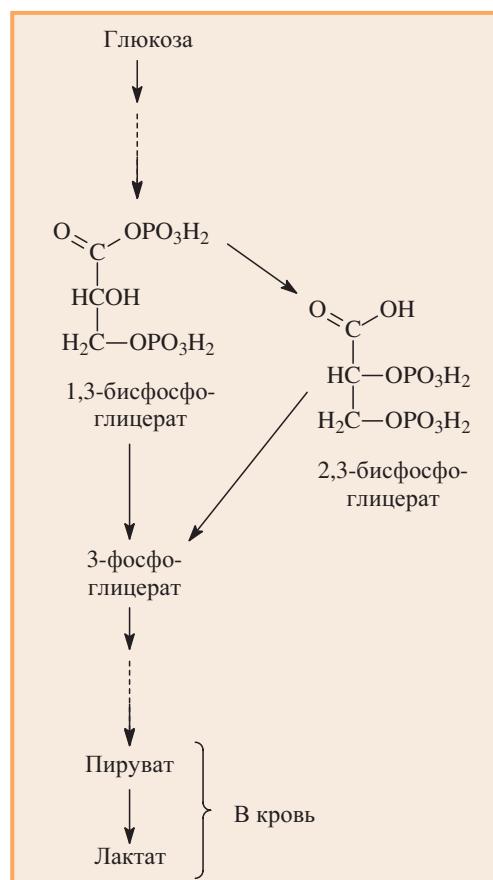
А — изменение конформации протомера гемоглобина при взаимодействии с  $O_2$ ;

Б — кооперативный эффект при взаимодействии гемоглобина с  $O_2$

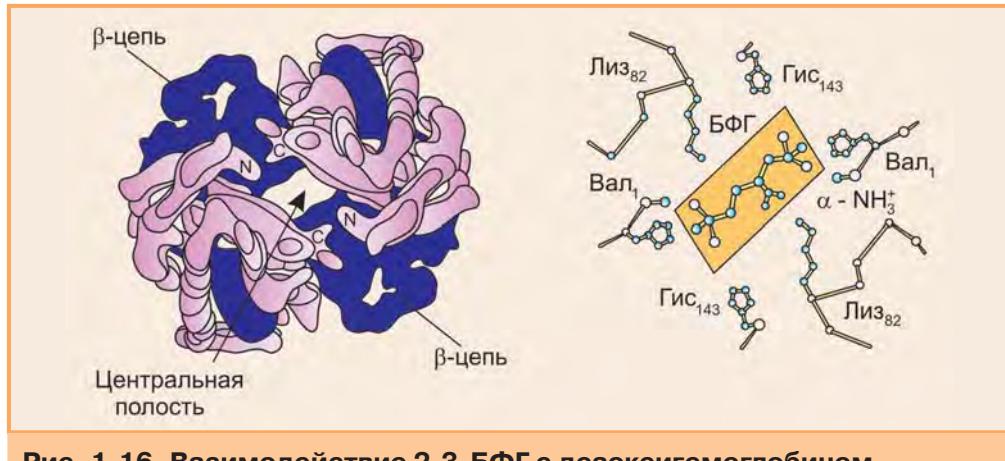
Таким образом, кооперативный эффект в изменении конформации протомеров олигомерного белка проявляется в результате взаимодействия одного протомера со специфическим лигандом, ведущего к конформационным изменениям не только данного протомера, но и всего олигомерного белка, что приводит к изменению сродства других протомеров к лигандам.

**Регуляция функции олигомерных белков на примере изменения сродства гемоглобина к кислороду.** Скорость и полнота переноса кислорода из легких в ткани зависит от изменения сродства гемоглобина к кислороду. В легких сродство Hb к кислороду повышается при присоединении каждой из последующих молекул кислорода по сравнению с предыдущими. Эта положительная регуляция описана ранее. Кроме того, существуют вещества: 2,3-бисfosфоглицерат (2,3-БФГ), ионы водорода — H<sup>+</sup> и CO<sub>2</sub>, снижающие сродство Hb к O<sub>2</sub>. Это отрицательная регуляция. С другой стороны, O<sub>2</sub> снижает сродство Hb к этим веществам. Кислород, 2,3-БФГ, H<sup>+</sup> и CO<sub>2</sub> действуют на сродство Hb как аллостерические регуляторы.

**Влияние 2,3-бисfosфоглицерата.** 2,3-БФГ синтезируется в эритроцитах из 1,3-бисfosфоглицерата — метаболита, образующегося при окислении глюкозы (рис. 1.15). 2,3-БФГ имеет большой отрицательный заряд. В центральной части тетramerной молекулы Hb имеется полость, содержащая положительно заряженные группы, расположенные на поверхностях обоих β-протомеров, приближенных друг к другу. 2,3-БФГ взаимодействует своими отрицательно заряженными фосфатными и карбоксильной группами с положительно заряженными группами β-цепей в центральной полости молекулы Hb (рис. 1.16). Результатом этого взаимодействия является образование 5 дополнительных ионных связей, что приводит к изменению конформации и снижению сродства Hb к O<sub>2</sub>, вследствие чего кислород поступает в ткани. В легких взаимодействие Hb с кислородом приводит к изменению конформации белка и вытеснению 2,3-БФГ из центральной



**Рис. 1.15. Образование 2,3-бисfosфоглицерата**

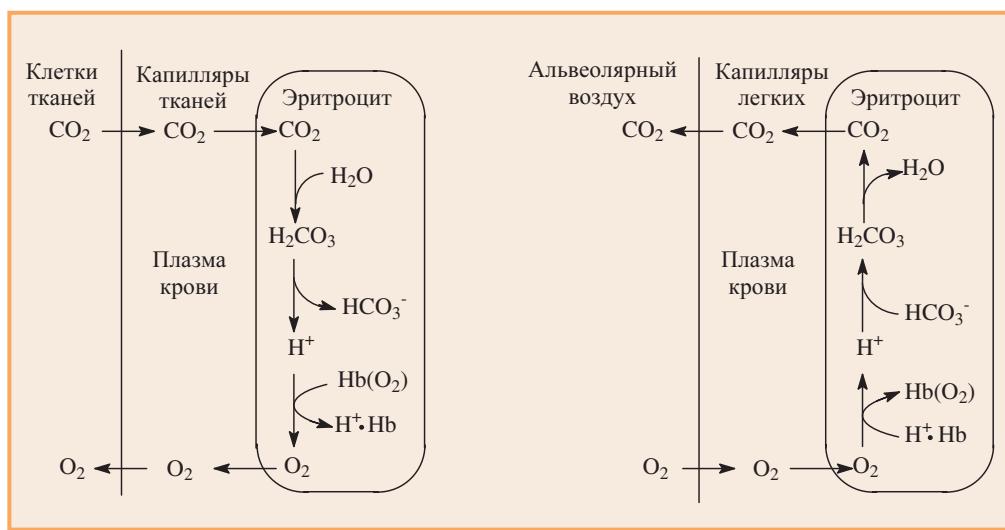


**Рис. 1.16. Взаимодействие 2,3-БФГ с дезоксигемоглобином**

полости. 2,3-БФГ реагирует только с дезоксигемоглобином, так как в оксигемоглобине полость с центром связывания 2,3-БФГ закрыта.

**Влияние  $\text{H}^+$  и  $\text{CO}_2$ .**  $\text{CO}_2$  является конечным продуктом катаболизма органических веществ. Окисление органических веществ происходит с использованием кислорода, доставляемого гемоглобином из легких. Образовавшийся  $\text{CO}_2$  поступает из тканей в кровь, и в эритроцитах происходит реакция образования  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , катализируемая карбангидразой (рис. 1.17).

Угольная кислота затем диссоциирует на протон и ион бикарбоната. Протоны способны присоединяться к гемоглобину в участках, удаленных от гема.



**Рис. 1.17. Перенос кислорода и  $\text{CO}_2$  кровью**

Протонирование гемоглобина изменяет конформацию и снижает его сродство к  $O_2$ , тем самым способствуя поступлению кислорода в ткани.

После освобождения кислорода в ткани эритроциты с током венозной крови попадают в капилляры легких, где происходят превращения, противоположные тем, которые протекали в тканях (рис. 1.17). В легких дезоксигемоглобин насыщается кислородом, что приводит к уменьшению сродства гемоглобина к протонам. Освобождающиеся  $H^+$  нейтрализуют  $HCO_3^-$  с образованием  $H_2CO_3$ , которая расщепляется карбангидразой на  $CO_2$  и  $H_2O$ . Образующийся  $CO_2$  удаляется с выдыхаемым воздухом.

Равновесие реакции  $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$  смешается влево в капиллярах легких и вправо в капиллярах тканей.

Повышение сродства гемоглобина к кислороду в легких и снижение этого свойства гемоглобина в тканях обусловлены конформационными изменениями в олигомерной молекуле Hb. Эти перестройки являются следствием связывания молекулы Hb с лигандами —  $O_2$  или  $H^+$ .

**Регуляция сродства Hb к кислороду протонами называется эффектом Бора** (датский физиолог). Эффект Бора тесно связан с транспортом  $CO_2$ . Из вышеизложенного можно сделать вывод, что  $CO_2$  вытесняет  $O_2$  из Hb в тканях и обратное явление наблюдается в легких.

Таким образом, продукты катаболизма органических веществ регулируют количество освобождаемого гемоглобином  $O_2$ . Чем интенсивнее катаболизм веществ и выше концентрация ионов водорода и  $CO_2$ , тем больше кислорода освобождается в тканях из оксигемоглобина.

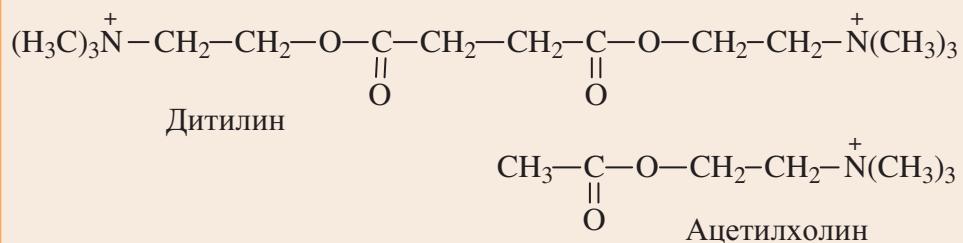
Из рассмотренных примеров следует заключить, что 2,3-БФГ и  $H^+$ , взаимодействующие с Hb в иных по сравнению с  $O_2$  участках (аллостерических центрах), вызывают значительные изменения в белковой молекуле, которые благодаря кооперативному эффекту влияют на активность центров связывания Hb с  $O_2$ .

Кооперативные изменения конформации олигомерных белков составляют основу регуляции активности не только Hb, но и многих других белков.

## 1.6. Ингибиторы функций белков

Лиганд, взаимодействующий с белком и нарушающий его функцию, называют ингибитором. Ингибиторы могут взаимодействовать с белком в активном центре или в другом, удаленном от активного центра участке. С активным центром белка взаимодействуют ингибиторы, по структуре похожие на специфический лиганд. Такие ингибиторы конкурируют с естественным лигандом за активный центр фермента.

Примером структурного аналога естественного лиганда может быть вещество дитилин. Это вещество применяют в медицине как миорелаксант для рас-



**Рис. 1.18. Строение ацетилхолина и дитилина**

слабления мышц при кратковременных операциях и эндоскопических обследованиях.

Механизм действия дитилина заключается в том, что он, будучи структурным аналогом ацетилхолина, взаимодействует с рецепторами этого нейромедиатора, вследствие чего нарушается передача нервного импульса и возникает расслабление мышц.

## 1.7. Физико-химические свойства белков

Различия физико-химических свойств индивидуальных белков обуславливает следующее:

### 1. Молекулярная масса, размеры и форма молекул.

В табл. 1.3 приведены значения молекулярной массы некоторых белков. В табл. 1.4 представлены величины, характеризующие размеры и форму некоторых белков. Для сравнения приведены размеры некоторых клеточных органелл.

**Таблица 1.3**

### Молекулярная масса некоторых белков человека

Белок	M	Белок	M
Соматотропин	21 500	Церулоплазмин	150 000
Интерферон	26 000	Фибриноген	340 000
Карбоангидраза эритроцитов	29 000	Апоферритин	450 000
Пепсин	35 000	Иммуноглобулин IgM	950 000
Альбумин сыворотки крови	66 500		
Трансферрин	88 000		

Таблица 1.4

## Размеры некоторых молекул, клеточных органелл и клеток

Частица	Размеры, нм	Отношение короткой оси к длинной
Аланин	0,5 (длина)	-
Миоглобин	$4,4 \times 4,4 \times 2,5$	1 : 1,7
Гемоглобин	6,8 (поперечник)	-
Трансферрин	$4 \times 5 \times 10$	1 : 2,5
Фибриноген	$3,8 \times 3,8 \times 7$	1 : 18
Миозин	$2 \times 2 \times 150$	1 : 75
Тропоколлаген	$1,5 \times 1,5 \times 300$	1 : 200
Рибосома (80S)	23 (поперечник)	-
Эритроцит	$8000 \times 8000 \times 1500$	-
Гепатоцит	20 000 (поперечник)	-

**2. Суммарный заряд.** Величина суммарного заряда молекулы белка зависит от соотношения положительно и отрицательно заряженных радикалов аминокислот. Изменение pH среды влияет на соотношение этих групп и, следовательно, на суммарный заряд белка. При подкислении раствора белка степень ионизации анионных групп снижается, а катионных повышается. При подщелачивании происходят противоположные изменения. При определенном значении pH (индивидуальном для каждого белка) число положительно и отрицательно заряженных радикалов становится равным, т.е. суммарный заряд молекулы становится равным нулю. Такое **состояние называется изоэлектрическим**. Значение pH, при котором достигается изоэлектрическое состояние, называется **изоэлектрической точкой**.

**3. Соотношение полярных и неполярных радикалов аминокислот** в молекуле. Полярные группы белков, как ионогенные, так и неионогенные, способны взаимодействовать с водой, гидратироваться. Большинство белков имеет гидрофильную поверхность, которая позволяет им находиться в растворимом состоянии в клетке. Но существуют и гидрофобные белки, на поверхности которых находятся преимущественно гидрофобные радикалы. Такие белки характерны для клеточных мембран.

Итак, растворимость белков в водной среде зависит от количества гидрофильных групп, размеров и формы молекулы, величины суммарного заряда. В изоэлектрическом состоянии белки, как правило, теряют растворимость, так как у них отсутствуют гидратная оболочка и заряд. Молекулы образуют

агрегаты, которые не могут удерживаться в растворе и выпадают в осадок. Подобный прием используют для разделения белков, имеющих различающуюся изоэлектрическую точку. Растворимость белков зависит также от солевого состава среды, наличия других органических компонентов, температуры.

## 1.8. Изофункциональные белки

Изофункциональные белки, или изобелки, — это семейство белков, выполняющих в организме одинаковую функцию, но имеющих небольшие отличия в структуре. Эти небольшие структурные особенности могут иметь важное физиологическое значение. Например, в эритроцитах человека обнаружено несколько форм гемоглобина: HbA — преобладающая форма для взрослого человека, HbF — фетальный гемоглобин, характерный для плода, HbA<sub>2</sub> — содержащийся в небольшом количестве в крови.

Все формы гемоглобина выполняют одинаковую функцию — присоединяют кислород в легких и транспортируют его к тканям. Все формы гемоглобина — тетramerы, построенные из разного сочетания протомеров  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\delta$ . Так, HbA — это тетramer  $2\alpha,2\beta$ ; HbF —  $2\alpha,2\gamma$ ; HbA<sub>2</sub> —  $2\alpha,2\delta$ . Для всех форм гемоглобина характерен протомер  $\alpha$ , отличающие их протомеры  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\delta$  имеют сходство по первичной, вторичной и третичной структурам, но небольшие различия обуславливают различия в функциональных свойствах. Так, HbF слабее связывается с 2,3-БФГ и отличается большим сродством к кислороду, чем HbA, и поэтому возможно снабжение плода кислородом за счет диффузии кислорода из кровеносных сосудов матери.

# Ферменты

Ферменты — это группа белков, обладающих способностью к ускорению химических реакций. Ферменты отличают от других катализаторов три уникальных свойства:

- высокая эффективность действия;
- специфичность действия;
- способность к регуляции.

Название всех ферментов имеет окончание «аза», к которому добавлено название субстрата, подвергающегося действию данного фермента. Например, глутамина — фермент, катализирующий гидролиз глутамина. Кроме того, в названии фермента может использоваться название субстрата и действие фермента на него. Например, глутаматдегидрогеназа — фермент, катализирующий дегидрирование глутаминовой кислоты. Некоторые ферменты сохранили тривиальные названия. Например, пепсин, трипсин — протеолитические ферменты, катализирующие гидролиз белков.

## Классификация ферментов

В соответствии с типами катализируемых реакций все ферменты разделены на шесть классов (табл. 2.1). Каждый класс разделен на подклассы и подподклассы, которые уточняют специфичность действия данного фермента.

**Ферменты и метаболизм.** В живой клетке множество разнообразных соединений, но реакции между ними не беспорядочны, а образуют строго определенные метаболические пути, характерные для данной клетки. Индивидуальность клетки в большой степени определяется уникальным набором ферментов, который она генетически запрограммирована производить. Отсутствие даже одного фермента или дефект, изменяющий его катализитические функции, могут иметь очень серьезные отрицательные последствия для организма.

Нарушения структуры фермента, ведущие к снижению его активности, замедляют скорость метаболического пути, в котором участвует этот фермент.

Такие нарушения почти всегда проявляются как болезни (энзимопатии). Повреждения ферментов бывают двух типов: наследственные дефекты строения ферментов и повреждения, вызванные попадающими в организм токсическими веществами или другими внешними воздействиями.

Таблица 2.1

Классы ферментов	
Класс	Тип катализируемой реакции
Оксидоредуктазы	Окислительно-восстановительные реакции
Трансферазы	Перенос отдельных групп атомов от донорной молекулы к акцепторной молекуле
Гидролазы	Гидролитическое (с участием воды) расщепление связей
Лиазы	Расщепление не гидролитическим путем связей С-С, отщепление малых молекул ( $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{H}_2\text{S}$ ) с образованием двойной связи или их присоединение по двойной связи
Изомеразы	Взаимопревращение различных изомеров
Лигазы (синтетазы)	Взаимодействие двух различных соединений с образованием более сложного вещества (используется энергия АТР)

## 2.1. Кофакторы ферментов

Все ферменты относятся к глобулярным белкам, причем каждый фермент выполняет специфическую функцию, обусловленную присущей ему глобулярной структурой. Однако активность многих ферментов проявляется только в присутствии небелковых соединений, называемых **кофакторами**. Молекулярный комплекс белковой части — **апофермента** и кофактора называется **холоферментом**. Роль кофактора могут выполнять **ионы металлов** ( $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ) или различные по структуре **органические соединения**. Органические кофакторы обычно называют **коферментами** (см. табл. 2.2), большинство из них являются производными витаминов. Тип связи между ферментом и коферментом может быть различным. Иногда связь слабая и возникает только во время протекания реакции. В других случаях кофактор и фермент связаныочно за счет ковалентных связей. В последнем случае небелковую часть фермента называют **простетической группой**.

Таблица 2.2

Некоторые коферменты и их функции		
Кофермент-предшественник	Функция	Витамин
NAD <sup>+</sup> , NADP <sup>+</sup>	Перенос водорода (электронов) в окислительно-восстановительных реакциях	Никотиновая кислота — витамин PP
FAD	Перенос водорода (электронов) в окислительно-восстановительных реакциях	Рибофлавин — витамин B <sub>2</sub>
Кофермент А	Активация и перенос ацильных групп в реакциях, катализируемых лигазами и трансферазами	Пантотеновая кислота
Биотин	Связывание CO <sub>2</sub> , активация и включение в молекулы (класс лигазы)	Биотин — витамин H
Пиридоксальфосфат	Перенос аминогрупп и декарбоксилирование аминокислот (класс трансферазы, лиазы)	Пиридоксин — витамин B <sub>6</sub>
Тетрагидрофолиевая кислота	Перенос одноуглеродных фрагментов (класс трансферазы)	Фолиевая кислота

**Кофакторы** в ходе реакций выполняют следующие функции:

- участвуют в формировании третичной структуры белка и обеспечении комплементарности между ферментом и субстратом;
- могут непосредственно вовлекаться в реакции в качестве еще одного субстрата. В этой роли обычно выступают органические коферменты. Их участие в реакции иногда сводится к тому, что они выступают как доноры или акцепторы определенных химических групп.

Дефицит любого витамина ведет к нарушению синтеза определенных коферментов и может проявляться различными заболеваниями, некоторые из них указаны в табл. 2.3.

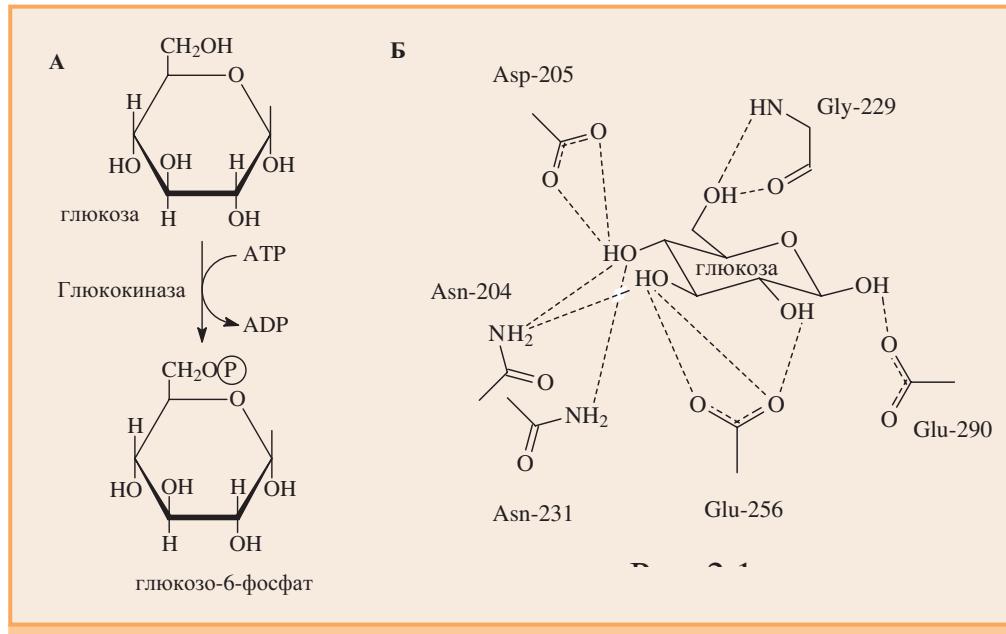
Таблица 2.3

**Структура некоторых витаминов, их пищевые источники и заболевания, возникающие при дефиците**

Витамин	Структура	Заболевания	Пищевые источники. Суточная потребность
Тиамин (витамин В <sub>1</sub> )	 пиридиновое кольцо      тиазоловое кольцо	Полиневриты, бери-бери, нарушение сердечной деятельности, функций ЖКТ	Зерна, орехи, овощи, пшеница, мясо постное 2–3 мг
Рибофлавин (витамин В <sub>2</sub> )	 Изоаллоксанин Рибитол	Дерматиты, конъюнктивиты, катарахта, мышечная слабость	Мясо, орехи, овощи 1,8–2,6 мг
Ниацин, никотиновая кислота (витамин В <sub>3</sub> , витамин PP)	 Никотиновая кислота      Никотинамид	Пеллагра, основные признаки: дерматиты, диарея, деменция (нарушение функций ЦНС)	Мясо, орехи, овощи 15–25 мг
Пантотеновая кислота (витамин В <sub>5</sub> )	 2,4-Дигидрокси-3,3-диметил- масляная кислота      β-Аланин	Дерматиты, невриты, параличи, дистрофические изменения: сердца, почек, желез внутренней секреции	Дрожжи, зерно, желток яиц, печень 10–12 мг
Пиридоксин, пиридоксаль, пиридоксамин (витамин В <sub>6</sub> )	 Пиридоксол (пиридоксин) Пиридоксамин	Неврологические заболевания	Дрожжи, печень, пшеница, орехи, бананы 2–3 мг
Биотин (витамин H)		Специфические дерматиты, себорея, выпадение волос, поражение ногтей, боли в мышцах, депрессия	Зерно, желток яиц, печень, почки, томаты 0,01–0,02 мг
Фолат (витамин В <sub>9</sub> )	 птеридин параамино- бензойная кислота глутаминовая кислота	Нарушение кроветворения, макроцитарная анемия	Дрожжи, печень, листья растений 0,05–0,04 мг

## 2.2. Механизмы действия ферментов

Первоначальным событием при действии фермента является его специфическое связывание с лигандом — субстратом (S). Это происходит в области **активного центра**, который формируется за счет специфического сближения радикалов аминокислот, определенным образом ориентированных в пространстве (рис. 2.1).



**Рис. 2.1. Взаимодействие глюкозы с активным центром глюкокиназы:**  
А — реакция, катализируемая глюкокиназой; Б — образование фермент-субстратного комплекса

У сложных белков в активном центре расположен кофактор. Одни R-группы активного центра принимают участие в связывании субстрата, другие — в катализе. Некоторые группы могут выполнять обе функции.

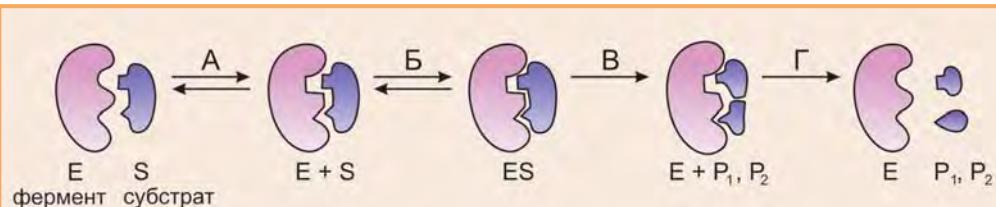
Связывание субстрата с ферментом вызывает конформационные изменения в ферменте и субстрате, необходимые для протекания катализа, и тем самым увеличивает специфичность фермент-субстратного взаимодействия (**индукционное соответствие**).

В общем виде ход ферментативной реакции можно представить следующим образом:



где E — фермент; S — субстрат; P — продукт реакции.

Ферментативная реакция представляет собой многостадийный процесс, на первом этапе которого устанавливается индуцированное комплементарное соответствие между ферментом и субстратом с образованием фермент-субстратного комплекса (ES). Затем в области активного центра происходит химическое превращение субстрата и образование продуктов реакции (рис. 2.2).



**Рис. 2.2. Механизм действия фермента:**

- А — установление индуцированного соответствия конформации активного центра фермента и субстрата;
- Б — образование фермент-субстратного комплекса;
- В — образование продуктов реакции;
- Г — освобождение продуктов реакции и переход фермента в исходное состояние

Детальный механизм действия каждого фермента уникален, но есть общие черты в «работе» ферментов, которые заключаются в следующем:

- высокая избирательность действия фермента обеспечивается тем, что субстрат связывается в активном центре фермента в нескольких точках и это исключает ошибки;
- активный центр располагается в углублении (нише) поверхности фермента и имеет конфигурацию, комплементарную субстрату. В результате субстрат оказывается окруженным функциональными группами активного центра фермента и удаленным от водной среды;
- связывание субстрата со многими точками фермента способствует конформационным изменениям молекулы, «растягиванию» преобразуемой связи в субстрате и облегчает образование продуктов реакции;
- образующиеся продукты реакции теряют комплементарное соответствие ферменту, что обеспечивает их диссоциацию из области активного центра.

Максимальная активность фермента наблюдается при оптимальных условиях протекания реакции и обусловлена оптимальной конформацией молекулы фермента в целом и активного центра в частности, поэтому даже небольшие изменения условий, которые влияют на связывание субстрата или конформацию третичной структуры белка, будут изменять скорость ферментативной реакции. Например, **изменение рН** приводит к изменению степени

ионизации ионогенных групп фермента и, следовательно, ведет к перераспределению межрадикальных связей. Это изменяет конформацию фермента и нарушает комплементарное соответствие активного центра и субстрата, что ведет к снижению скорости реакции (рис. 2.3г). **Изменение температуры** вызывает двоякий эффект: с одной стороны, при повышении температуры до  $37\text{--}40^\circ$  скорость ферментативной реакции увеличивается в связи с повышением кинетической энергии реагирующих молекул; с другой стороны, при температуре выше  $40^\circ$  начинается денатурация фермента (рис. 2.3в) и скорость реакции снижается.

**Специфичность действия ферментов.** Отличительной чертой ферментов от небелковых катализаторов является специфичность их действия. Фермент из множества веществ, имеющихся в клетке, выбирает и присоединяется только свой субстрат, так как только этот субстрат по структуре комплементарен строению активного центра фермента. В этом случае специфичность фермента называют субстратной. Различают абсолютную и групповую субстратную специфичность ферментов. Фермент с **абсолютной специфичностью** катализирует превращение только одного субстрата. Фермент с **групповой специфичностью** взаимодействует с похожими по строению веществами, катализируя однотипные превращения, проявляет более широкую субстратную специфичность. Например, фермент липаза в жирах расщепляет связи между глицеролом и различными жирными кислотами.

Кроме того, один и тот же субстрат может подвергаться различного типа превращениям с образованием разных продуктов. В этом случае каждый путь превращения субстрата катализирует отдельный фермент. Такого типа специфичность называется **специфичностью путей превращения**. Например, гистидин может быть субстратом двух ферментов (эти ферменты имеют одинаковую субстратную специфичность), но один фермент — гистидаза — катализирует отщепление от гистидина аминогруппы, а другой — гистидиндекарбоксилаза — отщепление группы  $\text{CO}_2$ . Таким образом, гистидин включается в два разных пути превращений.

## 2.3. Кинетика ферментативных реакций

Кинетика ферментативных реакций — это раздел энзимологии, изучающий зависимость скоростей реакций, катализируемых ферментами, от различных факторов.

Скорость ферментативных реакций ( $V$ ) измеряют по убыли субстрата ( $S$ ) или приросту продукта ( $P$ ) за единицу времени. Изменение скорости ферментативной реакции находится в прямой пропорциональной зависимости от изменения концентрации фермента при насыщающей концентрации субстрата (рис. 2.3а).

Если концентрация фермента постоянна, то зависимость скорости реакции от концентрации субстрата на графике имеет вид гиперболы (рис. 2.3б) и напоминает кривую насыщения белка лигандом. При определенной концентрации субстрата (разной для различных ферментов), когда все молекулы фермента включены в фермент-субстратный комплекс, скорость реакции становится максимальной —  $V_{\max}$ .  $V_{\max}$  достигается при полном насыщении активных центров фермента молекулами субстрата.

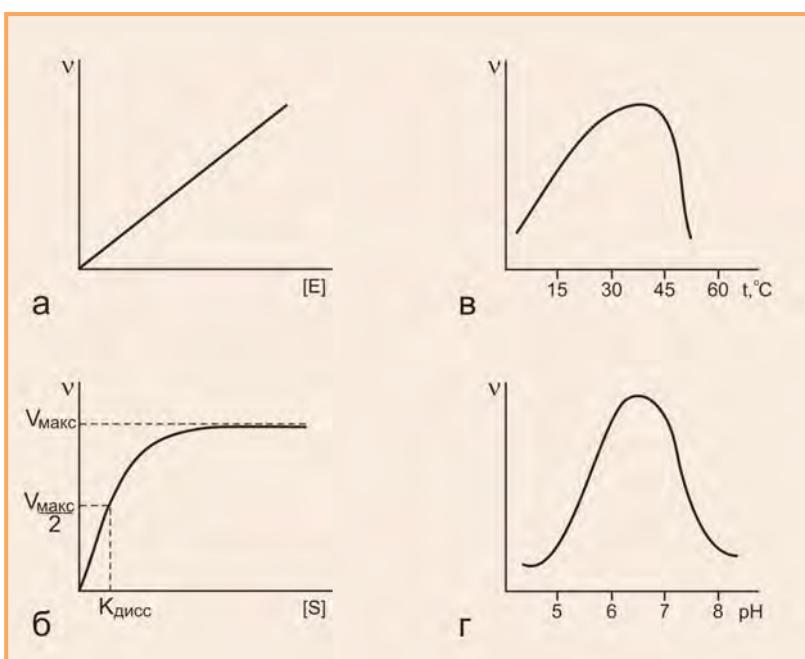
Концентрацию субстрата, при которой достигается скорость реакции, равная половине  $V_{\max}$ , называют **константой Михаэлиса —  $K_m$** .

$K_m$  и  $V_{\max}$  — важные характеристики фермента.

$V_{\max}$  — постоянная для каждого фермента и характеризует эффективность его действия.

$K_m$  — различается для разных ферментов и характеризует сродство фермента по отношению к субстрату.

При оценке сродства фермента к субстрату следует помнить, что чем ниже  $K_m$ , тем быстрее и предпочтительнее субстрат связывается с ферментом, т.е. тем выше его сродство к данному субстрату.



**Рис. 2.3. Зависимость скорости реакции от концентрации фермента (а), концентрации субстрата (б), от температуры (в), рН (г)**

**Единица активности ферментов.** Скорость ферментативных реакций используют как меру каталитической активности фермента.

За **единицу активности фермента** принимают такое его количество, которое катализирует превращение 1 мк моль субстрата за 1 мин при оптимальных условиях.

$$E \text{ (стандартная единица активности)} = \frac{\text{количество мк моль превращенного субстрата} \\ \text{(или образовавшегося продукта)}}{\text{время инкубации, мин}}$$

**Удельная активность фермента** равна числу единиц активности фермента, содержащихся в 1 мг ферментного препарата.

## 2.4. Ингибиторы ферментов

Действие ферментов можно полностью или частично подавить (ингибировать) определенными химическими веществами (ингибиторами). По характеру действия ингибиторы могут быть обратимыми и необратимыми. В основе этого деления лежит прочность соединения ингибитора с ферментом. Другой способ деления ингибиторов основывается на характере места их связывания. Одни из них связываются с ферментом в активном центре, а другие — в удаленном от активного центра месте.

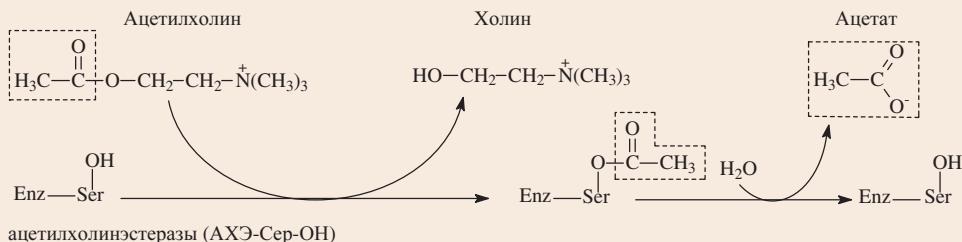
**Необратимые ингибиторы** могут прочно связываться и блокировать функциональные группы активного центра фермента, необходимые для проявления его активности. При этом они необратимо, часто ковалентно, присоединяются к ферменту и необратимо изменяют нативную конформацию. Ингибиторы такого рода называются **специфическими** и могут быть полезны при изучении строения активного центра и природы ферментативного катализа. Например, дизопропилфторфосфат ингибирует ферменты, имеющие серин в активном центре (рис. 2.4). Таким ферментом является ацетилхолинэстераза, катализирующая следующую реакцию: ацетилхолин  $\rightarrow$  холин + уксусная кислота.

Эта реакция происходит каждый раз после проведения нервного импульса, прежде чем следующий импульс будет передан через синапс.

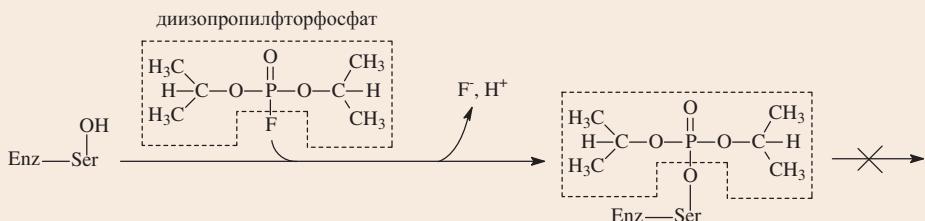
Дизопропилфторфосфат — одно из отравляющих веществ нервно-паралитического действия, так как приводит к утрате способности нейронов проводить нервные импульсы.

Терапевтическое действие аспирина как жаропонижающего и противовоспалительного средства объясняется тем, что аспирин ингибирует один из ферментов, катализирующий синтез простагландинов (ПГ). Простагландины — вещества, участвующие в развитии воспаления. Ингибирование обусловлено ковалентной модификацией OH-группы, входящей в активный центр фермента — простагландинсинтетазы (рис. 2.5).

## А. Реакция с ацетилхолином



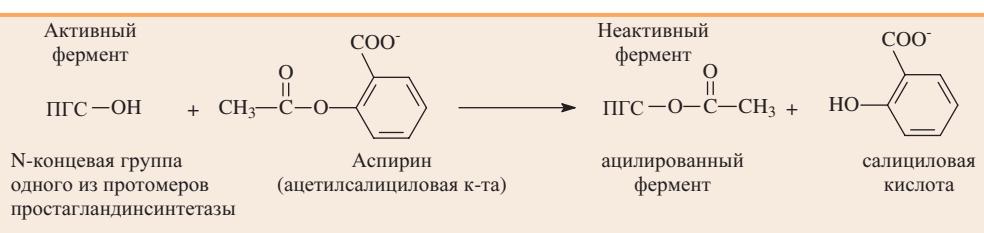
## Б. Реакция с ДФФ



**Рис. 2.4. Действие дизопропилфторфосфата на фермент ацетилхолинэстеразу (АХЭ):**

А — реакция, катализируемая ацетилхолинэстеразой;

Б — реакция ингибиования АХЭ дизопропилфторфосфатом

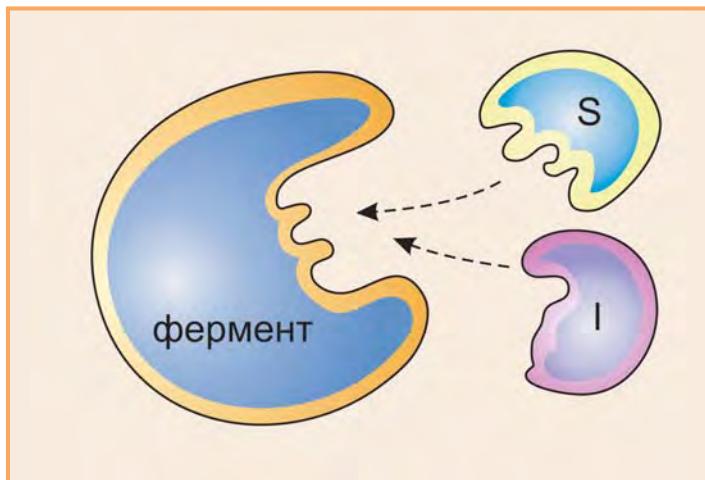


**Рис. 2.5. Взаимодействие аспирина с ферментом простагландинсинтетазой**

**Обратимые ингибиторы.** Существует два типа подобных ингибиторов — **конкурентные и неконкурентные**.

**Конкурентные ингибиторы** конкурируют с субстратом за связывание с активным центром фермента (рис. 2.6). Это происходит потому, что ингибитор и субстрат имеют участки со сходной структурой.

В отличие от субстрата связанный с ферментом конкурентный ингибитор не подвергается ферментативному превращению. Более того, образование комплекса фермент–ингибитор уменьшает число молекул свободного фермента, и скорость реакции снижается.

**Рис.2.6. Конкурентное ингибирование:**

S — субстрат, I — ингибитор (своей трехмерной структурой похож на субстрат).

Связывание S и I происходит взаимоисключающим образом.  
Образуется либо ES, либо EI, но не EIS

Так как конкурентный ингибитор обратимо связывается с ферментом, то можно сдвинуть равновесие реакции  $E + I \leftrightarrow EI$  влево простым увеличением концентрации субстрата. Конкурентными ингибиторами являются многие химиотерапевтические средства. Например, сульфаниламидные препараты, используемые для лечения инфекционных болезней. Сульфаниламиды — это структурные аналоги парааминобензойной кислоты, из которой в клетках микроорганизмов синтезируется кофермент ( $H_4$ -фолат), участвующий в биосинтезе нуклеотидов. Недостаточность нуклеотидов нарушает синтез нуклеиновых кислот и приводит к гибели микроорганизмов (рис. 2.7).

При лечении атеросклероза используют препараты — ингибиторы регуляторного фермента биосинтеза холестерола — гидроксиметилглутарил-КоА редуктазы (ГМГ-КоА-редуктазы). Одним из таких препаратов является ловастатин — структурный аналог субстрата ГМГ-КоА-редуктазы. Ловастатин по механизму конкурентного ингибирования подавляет активность этого фермента и уменьшает синтез холестерола в организме (рис. 2.8).

*Субстраты, —————→ Фолиевая кислота —————→  $H_4$ -фолат  
в том числе  
пара-аминобензойная кислота  
Кофермент*



*Сульфаниламид — конкурентный ингибитор*

Рис. 2.7. Сульфаниламиды — конкурентные ингибиторы синтеза  $H_4$ -фолата

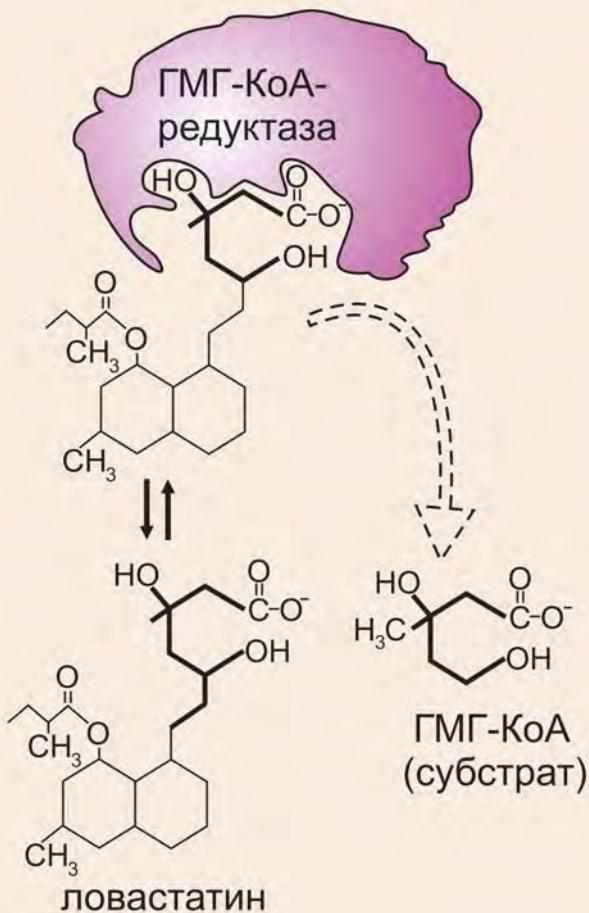


Рис. 2.8. Конкурентное ингибирование ГМГ-КоА-редуктазы ловастатином

Другим примером использования конкурентных ингибиторов при лечении заболеваний могут быть прозерин и эндофоний, применяемые при лечении мышечных дистрофий. Эти вещества имеют структурное сходство с ацетилхолином — субстратом ацетилхолинэстеразы (АХЭ). Прозерин и эндофоний обратимо снижают активность АХЭ и увеличивают концентрацию ацетилхолина, выполняющего функцию медиатора, что сопровождается усилением проведения нервного импульса (рис. 2.9).

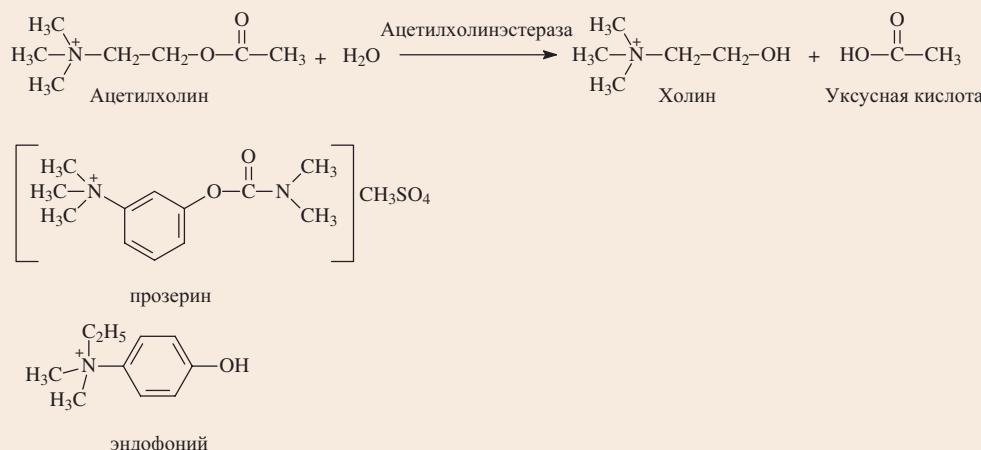
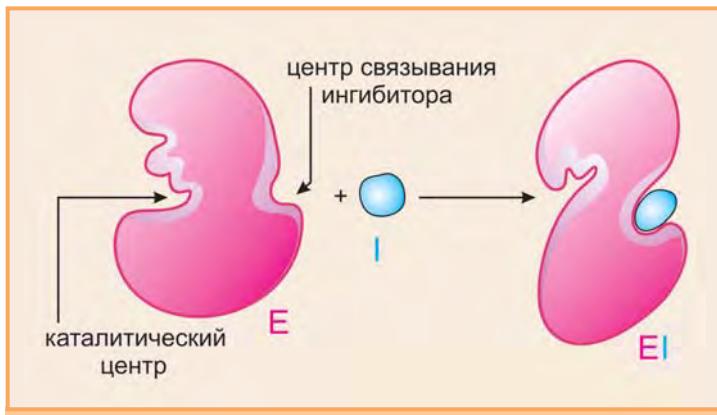


Рис. 2.9. Конкурентное ингибитирование ацетилхолинэстеразы

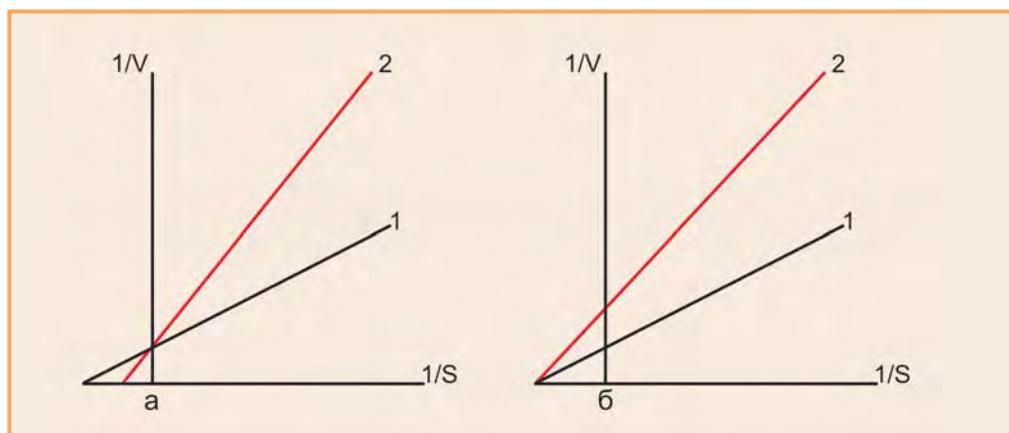
**Неконкурентное обратимое ингибириование** не может быть ослаблено или устранено повышением концентрации субстрата, так как эти ингибиторы присоединяются к ферменту не в активном центре, а в другом участке молекулы (рис. 2.10). Связывание приводит к изменению конформации фермента и нарушению комплементарности к субстрату. Неконкурентные ингибиторы могут обратимо связываться как со свободным ферментом, так и с комплексом ES. Наиболее важными неконкурентными ингибиторами являются образующиеся в живой клетке продукты метаболических путей, способные обратимо связываться с определенными участками ферментов (аллостерические центры) и изменять их активность, что является одним из способов регуляции ключевых процессов, протекающих в организме.

Исследование действия ингибиторов используется при изучении механизма действия фермента, кроме того, помогает в поисках более эффективных лекарственных средств, так как лечебное действие многих лекарств обусловлено тем, что они являются ингибиторами определенных ферментов. Структурные аналоги коферментов тоже могут быть ингибиторами. Исследования



**Рис. 2.10. Неконкурентное обратимое ингибирование**

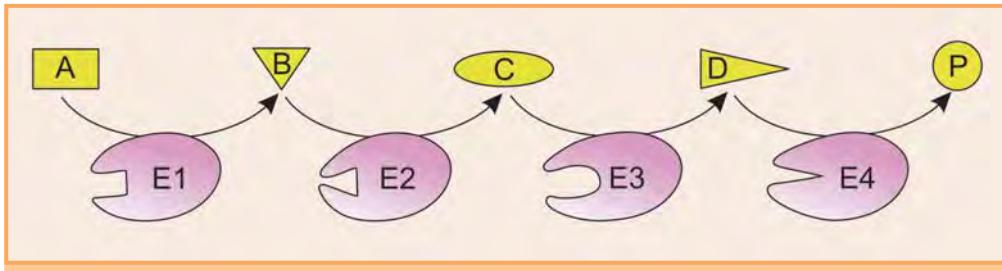
$K_m$  реакции позволяют отличить конкурентное ингибирование от неконкурентного (рис. 2.11).



**Рис. 2.11. Зависимость  $1/V$  от  $1/S$ :** 1 — без ингибитора; 2 — в присутствии ингибитора (а — конкурентное; б — неконкурентное ингибирование)

## 2.5. Регуляция действия ферментов

В живой клетке скорость ферментативных реакций находится под строгим контролем, что позволяет каждой метаболической цепочке реакций постоянно изменять свою скорость, приспосабливаясь к меняющимся условиям среды и потребностям клетки в продукте (рис. 2.12).



**Рис. 2.12. Метаболическая цепь:** А, В, С, Д — метаболиты, Е<sub>1</sub>,-Е<sub>2</sub>,-Е<sub>3</sub>,-Е<sub>4</sub> — ферменты

В каждой метаболической цепи есть один или несколько ферментов, которые определяют скорость всей цепи реакций. Они называются регуляторными ферментами.

Существует несколько способов регуляции действия ферментов:

- изменение активности фермента при его постоянной концентрации;
- изменение концентрации фермента обычно в результате ускорения (индукции) или торможения (репрессии) синтеза фермента. В настоящем разделе будет рассмотрен только первый способ регуляции, а второй — в разделе 3.

### Регуляция активности ферментов

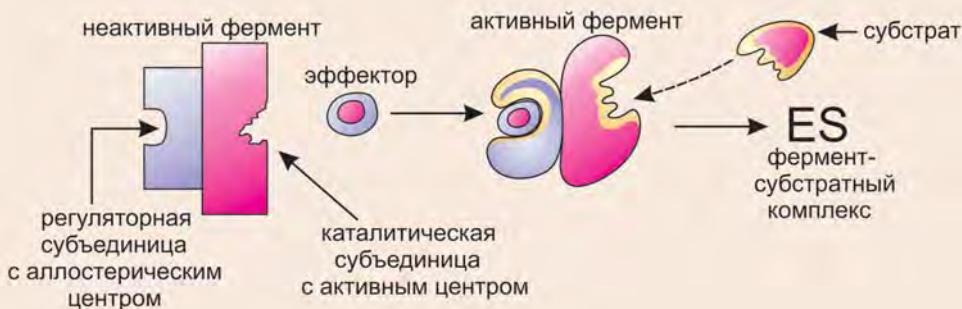
Рассмотрим основные способы регуляции активности ферментов.

**1. Аллостерическая регуляция.** Фермент может изменять активность в результате нековалентного взаимодействия с эффекторами. Связывание с эффектором происходит в участке, пространственно удаленном от активного (катализического) центра, и вызывает конформационные изменения в молекуле белка, а следовательно, и в катализическом центре. Эти изменения могут увеличивать активность фермента, эффектор является активатором, или, наоборот, уменьшать. В последнем случае эффектор играет роль ингибитора.

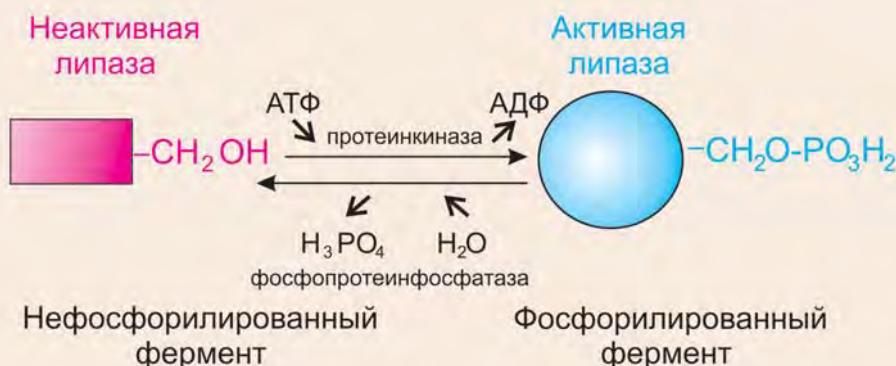
«Сообщение» о присоединении аллостерического активатора передается посредством конформационных изменений каталитической субъединице, которая становится комплементарной субстрату, и фермент «включается» (рис. 2.14). При удалении активатора фермент вновь переходит в неактивную форму и «выключается». Аллостерическая регуляция является основным способом регуляции метаболических путей.

**2. Регуляция активности ферментов путем фосфорилирования-дефосфорилирования.**

При этом способе регуляции фермент изменяет активность в результате ко-валентной модификации (рис. 2.14).



**Рис. 2.13. Аллостерическая активация фермента**

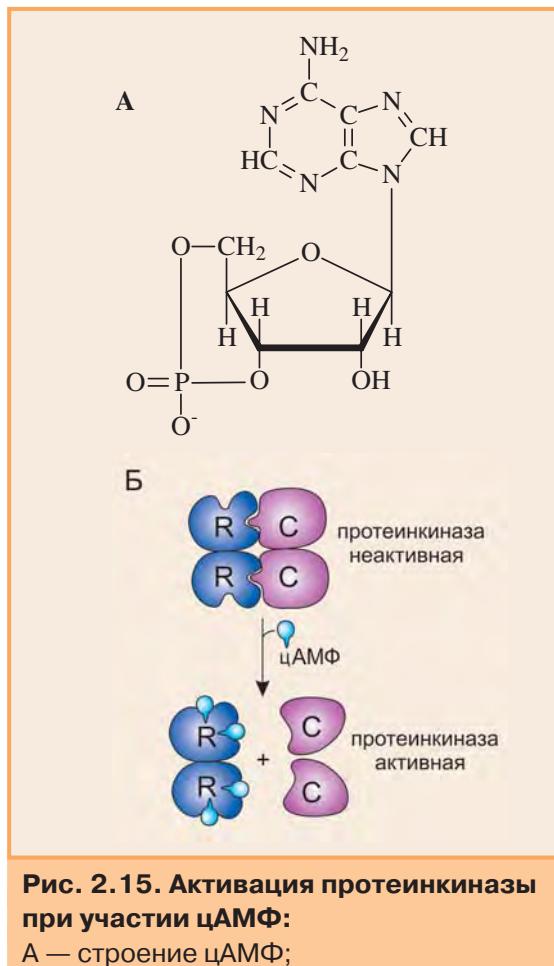


**Рис. 2.14. Регуляция активности липазы**

В данном случае фосфатная группа  $\text{OPO}_3^{2-}$  присоединяется к гидроксильным группам в остатках серина, треонина или тирозина. В зависимости от природы фермента фосфорилирование может его активировать или, наоборот, инактивировать. Реакция присоединения фосфатной группы и ее отщепление катализируют специальные ферменты — протеинкиназы и протеинфосфатазы.

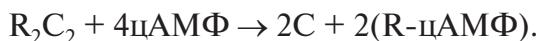
### 3. Регуляция путем ассоциации-диссоциации субъединиц в олигомерном ферменте.

Этот процесс иногда начинается с ковалентной или нековалентной модификации одной из субъединиц. Например, фермент протеинкиназа в неактивной форме является тетramerом  $R_2C_2$ , состоящим из двух регуляторных ( $R$ ) и двух каталитических ( $C$ ) протомеров. Активная протеинкиназа представлена субъединицей  $C$ , для освобождения которой необходима диссоциация комплекса. Активация фермента происходит при участии молекул АМФ (циклической аденоzin монофосфорной кислоты), которые присоединяются к субъединицам  $R$ .



**Рис. 2.15. Активация протеинкиназы при участии цАМФ:**  
**А — строение цАМФ;**  
**Б — активация протеинкиназы**

и изменяют конформацию белка, что приводит к нарушению комплементарности субъединиц R и C и диссоциации комплекса (рис. 2.15):



Циклический АМФ образуется из АТФ под воздействием фермента **аденилатциклазы**:



Аденилатциклаза и протеинкиназа катализируют взаимосвязанные реакции, которые составляют единую регуляторную систему, называемую аденилатциклазной системой (см. раздел).

**4. Активация ферментов путем частичного протеолиза.** Некоторые ферменты синтезируются первоначально в неактивной форме и лишь после секреции из клетки переходят в активную форму. Неактивный предшественник называется проферментом. Активация профермента включает гидролитическое расщепление молекулы с одновременным изменением конформации. Например, трипсиноген синтезируется в поджелудочной железе, а затем в кишечнике превращается в трипсин путем удаления гексапептида с N-конца. Реакцию катализирует энтеропептидаза — фермент, синтезируемый клетками кишечника:

**энтеропептидаза**



Изменение первичной структуры фермента «запускает» новые взаимодействия R-групп по всей молекуле, приводя к новой конформации, в которой R-группы активного центра занимают оптимальное положение для катализа.

# Раздел 3

## Синтез нуклеиновых кислот и белков

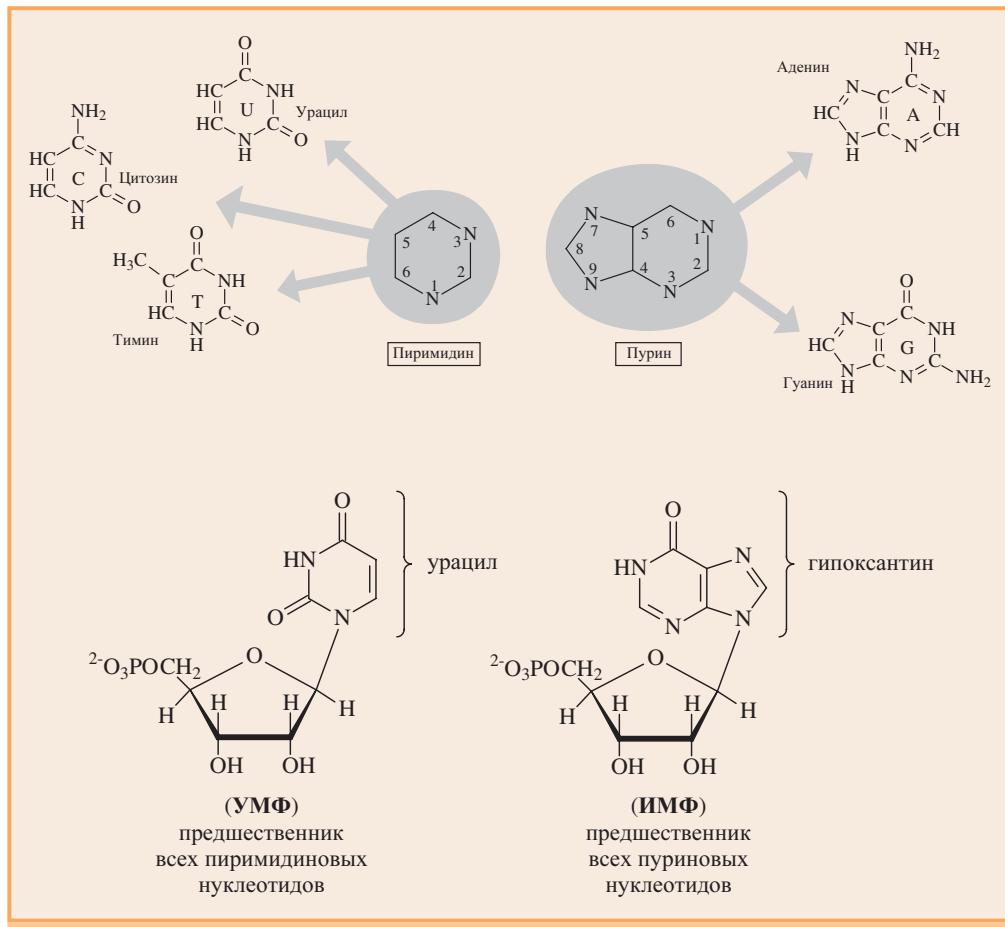
Нуклеиновые кислоты и белки представляют собой информационные молекулы. ДНК является хранителем генетической информации. В геноме — совокупности всех молекул ДНК клетки — зашифровано строение всех белков и молекул РНК данного организма. В процессе **синтеза ДНК, или репликации**, количество информационного материала удваивается и при делении поступает в дочерние клетки. **Репарация** (или ограниченная репликация) исправляет изменения в генетическом материале, происходящие в ходе рекомбинаций (обмена генетическим материалом между хромосомами) и нарушений в структуре ДНК.

Поток информации передается от ДНК через РНК на белок. Реализация этой информации в клетках включает два процесса: **транскрипцию, или синтез, РНК и трансляцию, или синтез, белков**. С помощью первого процесса в ядре на матрице ДНК синтезируются матричные (m), транспортные (t) и рибосомные (r) РНК, необходимые для синтеза белков. В ходе трансляции информация о структуре белка, переписанная с ДНК на мРНК, переводится в аминокислотную последовательность белков. Таким образом генотип клеток определяет фенотипические характеристики органов и тканей. Матричная природа синтеза нуклеиновых кислот и белков обеспечивает высокую точность воспроизведения информации.

### 3.1. Строение нуклеиновых кислот

ДНК и РНК представляют собой линейные полимеры, построенные из нуклеотидов. Каждый нуклеотид состоит из трех компонентов: азотистого основания, являющегося производным пурина или пиримидина, пентозы (рибозы или

дезоксирибозы) и остатка фосфорной кислоты. В состав нуклеиновых кислот входят два производных пурина: аденин и гуанин, и три производных пиримидина: цитозин, урацил (в РНК) и тимин (в ДНК) (рис. 3.1.).

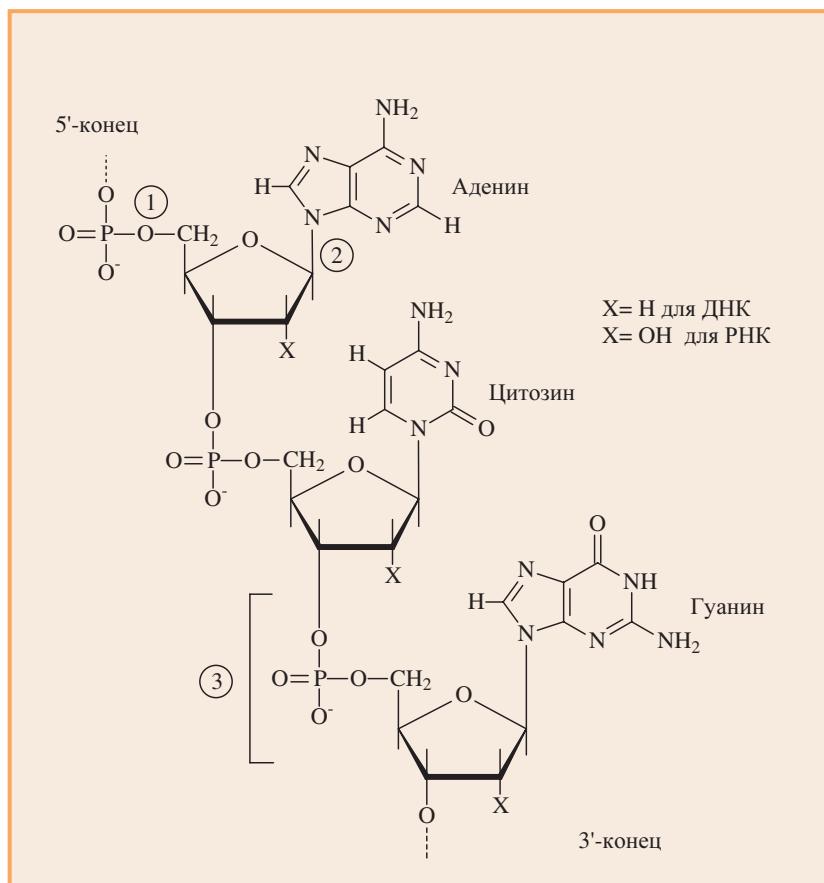


**Рис. 3.1. Азотистые основания, входящие в состав нуклеиновых кислот, и структура нуклеотидов:**

пурины аденин и гуанин входят в состав ДНК и РНК, пиримидины в ДНК: цитозин и тимин, а в РНК — цитозин и урацил

Углеродный атом в первом положении пентозы связывается N-гликозидной связью с атомом азота в 1 положении пиримидина или 9 положении пурина. Образующиеся соединения называют **нуклеозидами**. Углеродные атомы пентоз в отличие от атомов азотистых оснований обозначают номерами со штрихами (1', 2', 3', 4', 5'). Присоединение фосфата в 5'-положение пентоз приводит к образованию **нуклеотидов** (табл. 3.1).

**Первичная структура нуклеиновых кислот (НК) —** это порядок чередования нуклеотидов в полинуклеотидной цепи, связанных между собой 3',5'-фосфодиэфирной связью. В результате образуются полимеры с фосфатным остатком на 5'-конце и свободной  $-OH$  группой пентозы на 3'-конце (рис.3.2.).



**Рис. 3.2. Первичная структура нуклеиновых кислот:**

X = H для ДНК; X = OH для РНК.

Связи в молекуле нуклеиновых кислот:

1 — 5'-фосфоэфирная; 2 — N-гликозидная;

3 — 3',5'-фосфодиэфирная

Таблица 3.1

**Номенклатура основных азотистых оснований, нуклеозидов и нуклеотидов**

Азотистое основание	Нуклеозид (азотистое основание + пентоза)	Нуклеотид (азотистое основание + пентоза + фосфат)	Обозначения нуклеотидов	Однобуквенный код
<b>В ДНК:</b>				
аденин	Дезоксиаденозин (д-Аденозин)	д-Аденозин-5'-монофосфат	5'-дАМФ	A
гуанин	Дезоксигуанозин (д-Гуанозин)	д-Гуанозин-5'-монофосфат	5'-дГМФ	G
цитозин	Дезоксицитидин (д-Цитидин)	д-Цитидин-5'-монофосфат	5'-дЦМФ	C
тимин	Дезокситимидин (д-тимидин)	д-Тимидин-5'-монофосфат	5'-дТМФ	T
<b>В РНК:</b>				
аденин	Аденозин	Адеозин-5'-монофосфат	5'-АМФ	A
гуанин	Гуанозин	Гуанозин-5'-монофосфат	5'-ГМФ	G
цитозин	Цитидин	Цитидин-5'-монофосфат	5'-ЦМФ	C
урацил	Уридин	Уридин-5'-монофосфат	5'-УМФ	U

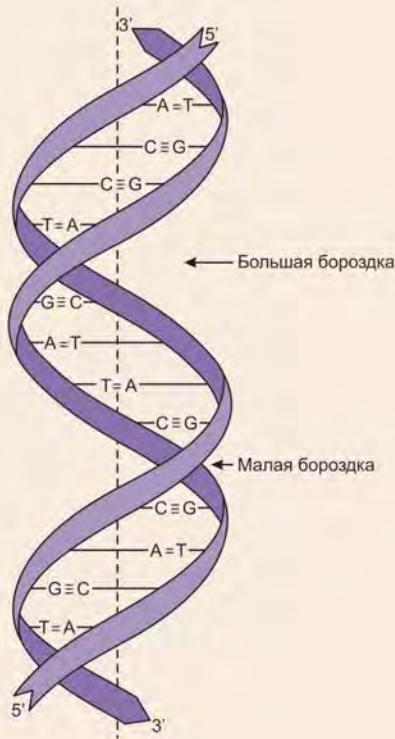
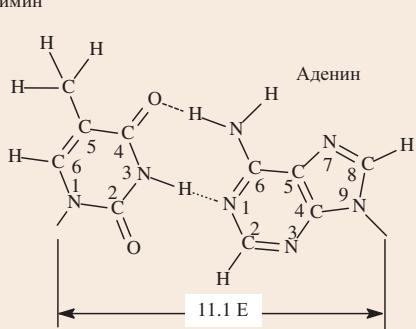
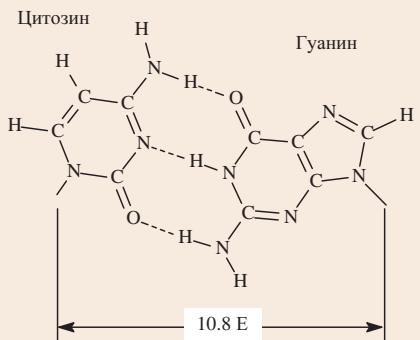
В состав ДНК и РНК входит четыре основных нуклеотида: два пуриновых и два пиrimидиновых (табл. 3.1). Для краткого изображения последовательности нуклеотидов в нуклеиновых кислотах пользуются однобуквенным кодом. При этом запись осуществляют слева направо, так что первый нуклеотид имеет свободный 5'-фосфатный конец, а последний –ОН-группу в 3'-положении рибозы или дезоксирибозы. Например, первичная структура ДНК может быть записана следующим образом: CGTAAGTTCTG...

Иногда полинуклеотидная цепь имеет противоположное направление, в этих случаях направление цепей обязательно указывается от 5'→3' или от 3'→5' концу.

Первичную структуру РНК записывают следующим образом: CAUUAGGUAA...

**Пространственная структура ДНК**

**Вторичная структура ДНК** представлена правозакрученной спиралью (рис. 3.3), в которой две полинуклеотидные цепи расположены **антипараллельно**



**Рис. 3.3. Комплементарные взаимодействия азотистых оснований и формирование двойной спирали ДНК.** Аденин и тимин связываются двумя, а гуанин и цитозин — тремя водородными связями

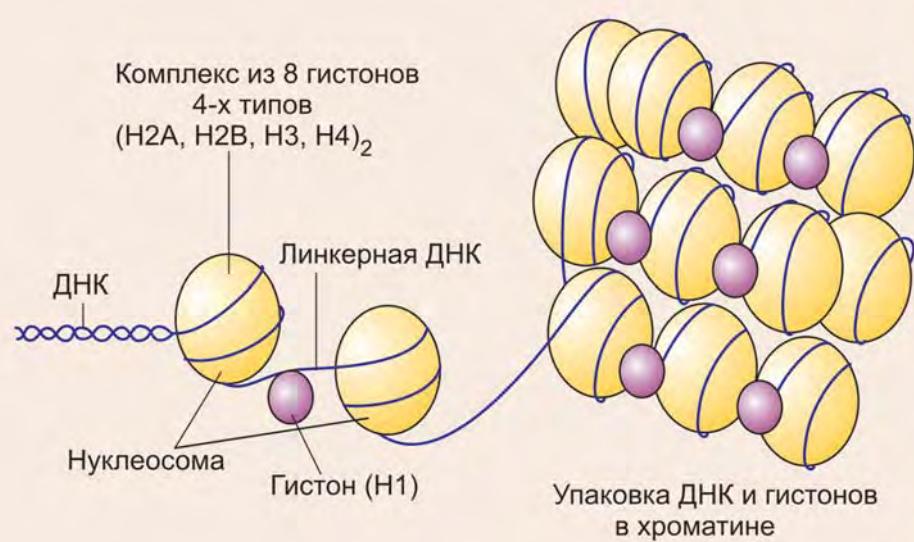
и удерживаются относительно друг друга за счет взаимодействия между комплементарными, азотистыми основаниями (рис. 3.3).

**Цепи молекулы ДНК не идентичны, но комплементарны** друг другу: если известна первичная структура одной цепи, то последовательность нуклеотидов другой цепи задается правилом комплементарности оснований: А одной цепи соответствует Т, а С — Г в другой цепи. Поэтому в молекуле ДНК количество адениловых нуклеотидов равно количеству тимидиловых нуклеотидов ( $A = T$ ), а количество гуаниловых равно количеству цитидиловых нуклеотидов ( $G = C$ ). Соотношение  $A + T / G + C$  — величина постоянная и является видоспецифической характеристикой организма (правило Чаргахфа).

Комплементарные основания обращены внутрь молекулы и лежат в одной плоскости, которая практически перпендикулярна оси спирали. Между основаниями в стопке возникают **гидрофобные** взаимодействия, обеспечивающие

основной вклад в стабилизацию структуры спирали. Рибозофосфатные остатки ограничивают спираль и образуют ее остов. На один виток спирали приходится 10 нуклеотидных пар.

**Третичная структура ДНК** формируется в результате ее взаимодействия с белками. Каждая молекула ДНК упакована в отдельную хромосому, в составе которой разнообразные белки связываются с отдельными участками ДНК и обеспечивают суперспирализацию и компактизацию молекулы (рис. 3.4). Общая длина ДНК гаплоидного набора из 23 хромосом человека составляет  $3,5 \times 10^9$  пар нуклеотидов. Хромосомы образуют компактные структуры только в фазу деления. В период покоя комплексы ДНК с белками распределены равномерно по объему ядра, образуя **хроматин**. Белки хроматина включают две группы: гистоны и негистоновые белки.



**Рис. 3.4. Пространственная структура ДНК.**

Нуклеосома состоит из участка ДНК длиной около 146 нуклеотидных пар и 8 молекул гистонов четырех видов, которые в количестве по два каждого вида образуют комплекс — нуклеосомный кор. ДНК и белки удерживаются друг с другом за счет ионных связей. Линкерный участок ДНК связан с гистоном Н1

**Гистоны** — это небольшие белки с молекулярной массой от 11 000 до 22 000 Д и высоким содержанием лизина и аргинина. Четыре типа гистонов в количестве 8 молекул (по две каждого вида) образуют комплекс — нуклеосомный кор. Этот комплекс за счет ионных связей взаимодействует с отрицательно заряженными фосфатными группами участка ДНК длиной около 146 нуклеотидных пар (при мерно полтора витка вокруг кора) и образует четковидную, компактную струк-

туру, называемую **нуклеосомой**. Между нуклеосомами находится участок ДНК длиной около 30 нуклеотидных пар — **линкерный участок**, к которому присоединяется молекула гистона H1.

**Негистоновые белки** представлены множеством ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК, РНК, регуляции этих процессов и компактизации ДНК.

### Пространственная структура РНК

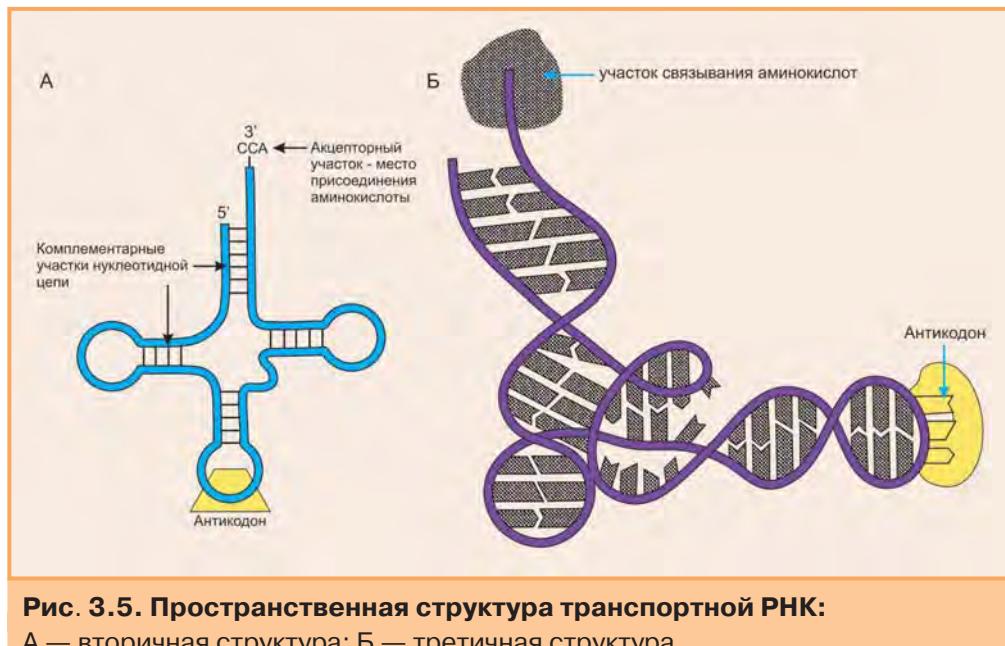
**Вторичная структура РНК** формируется в результате спирализации отдельных участков одноцепочечной РНК. В спирализованных участках, или **шпильках**, комплементарные пары азотистых оснований А и У, Г и С соединены водородными связями. Длина двойных спиралей, как правило, не велика и содержит от 20 до 30 нуклеотидных пар. Двоцепочечные фрагменты чередуются с неспирализованными участками молекулы, образующими петли.

**Третичная структура РНК** образуется за счет дополнительных водородных связей между нуклеотидами, полинуклеотидной цепью и белками, обеспечивая дополнительную компактизацию и стабилизацию пространственной структуры молекулы.

### Основные виды РНК

В зависимости от первичной структуры, размера молекул и функций в клетках выделяют три основных вида РНК:

- **матричные РНК** (мРНК), или информационные, составляют 2–4 % всей РНК клетки. Они чрезвычайно разнообразны по первичной структуре и их количество соответствует числу белков в организме, так как каждая молекула мРНК является матрицей в синтезе соответствующего белка;
- **транспортные РНК** (тРНК) являются молекулами-адапторами, у которых к 3' концу присоединяется аминокислота, а к участку антикодона — мРНК. Семейство тРНК включает более 30 различных по первичной структуре молекул, состоящих примерно из 80 нуклеотидов. тРНК содержат 10–20% модифицированных или минорных нуклеотидов, в состав которых входят метилированные или восстановленные азотистые основания, нуклеотиды с С — С связью между азотистым основанием и рибозой, а также некоторые другие варианты. Вторичная структура тРНК описывается структурой «клеверного листа», где наряду с 70% спирализованных участков цепи имеются одноцепочечные петлеобразные фрагменты (рис. 3.5). Третичная структура молекул за счет дополнительной компактизации приобретает Г-образную конформацию. На долю тРНК приходится около 15% всей РНК клетки;
- **рибосомные РНК** (рРНК) составляют около 80% всей РНК клетки и входят в состав рибосом. В цитоплазматические рибосомы эукариотов входит четыре типа рРНК с разной константой седиментации — скоростью осе-



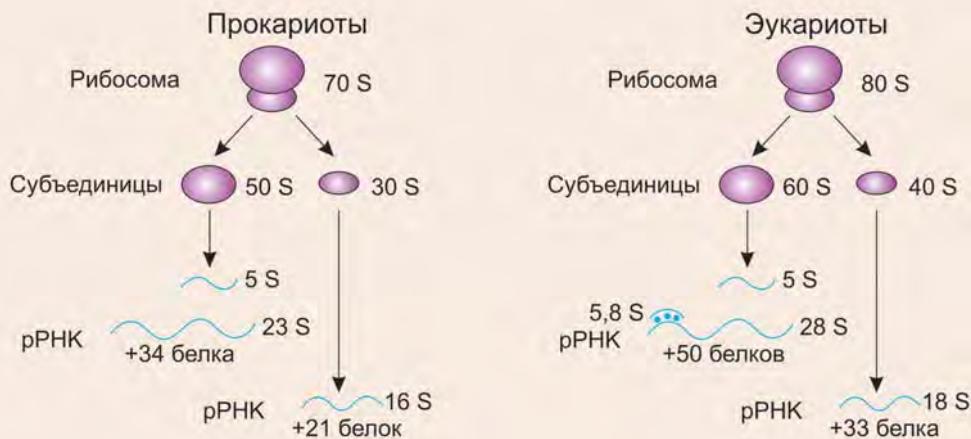
**Рис. 3.5. Пространственная структура транспортной РНК:**  
А — вторичная структура; Б — третичная структура

дания в ультрацентрифуге (КС), которая выражается в единицах Сvedberga (S). Комплекс большой и малой субъединиц рибосомы образует компактную частицу с КС 80 S. тРНК имеют многочисленные спирализованные участки и специфически связаны с разнообразными белками, каждый из которых входит в определенную субъединицу рибосомы в количестве одной копии. Митохондриальные рибосомы значительно мельче цитоплазматических рибосом (55 S) и их структура сходна со структурой рибосом у прокариотов (рис. 3.6).

**Денатурация и ренативация ДНК и РНК.** Пространственная структура нукleinовых кислот стабилизирована только слабыми водородными и гидрофобными связями. При нагревании до 80–90° молекулы денатурируют с разрушением третичной и вторичной структур, образуя одноНитчатые молекулы. При медленном охлаждении нити способны ренативировать и приобретать исходную структуру. На этой способности нукleinовых кислот к денатурации и ренативации основан метод **молекулярной гибридизации** (рис. 3.7).

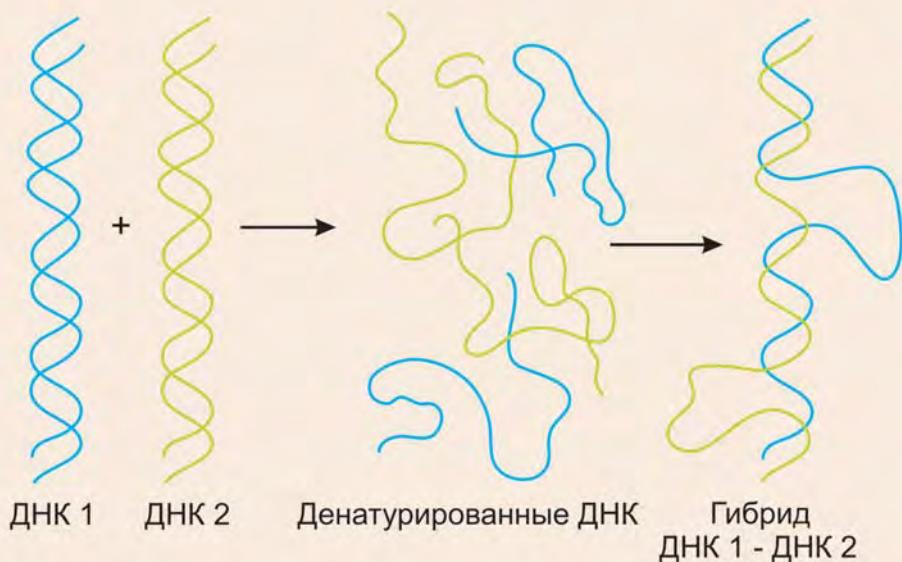
При использовании двух образцов ДНК (один из которых содержал радиоактивную метку) из разных тканей одного организма или разных организмов одного вида процедура денатурации и ренативации позволяла получить гибриды, в которых нити ДНК, принадлежащие разным образцам, были комплементарны и образовывали двойную спираль по всей длине («совершенные гибриды»).

Если проводили такую же процедуру с двумя образцами ДНК разных видов, то наряду с исходными молекулами обнаруживали гибриды, у которых кроме участ-



**Рис. 3.6. Строение прокариотической и эукариотической рибосом.**

У эукариотов в большую 60 S субъединицу рибосомы входят три разные молекулы pPHK и около 50 молекул белков, а в малую 40 S субъединицу — одна молекула pPHK и около 30 молекул разных белков



**Рис. 3.7. Гибридизация ДНК – ДНК.**

ДНК<sub>1</sub> и ДНК<sub>2</sub> выделены из тканей организмов, принадлежащих разным видам

ков двойной спирали наблюдались петли, образованные некомплементарными участками цепей, т.е. формировались «несовершенные гибриды».

При проведении гибридизации ДНК–РНК с молекулами, выделенными из одной и той же ткани, на ДНК обнаруживали участки, комплементарные мРНК, тРНК и рРНК.

Метод молекулярной гибридизации позволил установить следующие закономерности:

- ДНК всех клеток одного организма идентична, а ДНК разных организмов одного вида обнаруживает очень высокое сходство, обеспечивая образование «совершенных гидридов»;
- ДНК является видоспецифической характеристикой организмов: чем больше филогенетическая дистанция между видами, тем сильнее отличается строение ДНК из тканей особей этих видов;
- ДНК, выделенная из тканей определенного организма, содержит информацию о структуре всех видов РНК данного организма.

## 3.2. Репликация (синтез ДНК)

Синтез ДНК протекает в ядре в S-фазу клеточного цикла и предшествует делению клетки. Процесс стимулируют митогенные сигналы, некоторые гормоны и ростовые факторы. Первоначально клетка из состояния покоя G<sub>0</sub> вступает в G<sub>1</sub>-фазу, в ходе которой синтезируются ферменты и белки, необходимые для синтеза ДНК. В S-фазу идет синтез ДНК и диплоидная клетка (содержащая две копии генома) превращается в тетраплоидную (четыре копии генома), а в ходе митоза она делится, образуя две дочерние диплоидные клетки (рис. 3.8).

В эукариотических клетках синтез ДНК начинается одновременно во многих участках ДНК, которые имеют специфическую нуклеотидную последовательность и называются **ориджинами репликации**. Каждая нить ДНК становится матрицей, и от каждого ориджина в противоположных направлениях движутся две репликативные вилки. Процесс является **полуконсервативным**, так как по завершении репликации каждая дочерняя молекула ДНК содержит одну родительскую нить и одну вновь синтезированную (рис. 3.9).

Субстратами являются четыре дезоксинуклеозидтрифосфата (дНТФ): дАТФ, дТТФ, дЦТФ, дГТФ. Они содержат богатые энергией связи и служат строительным материалом синтеза и донорами энергии.

**Процесс синтеза ДНК включает стадии: инициации, elongации и терминации.**

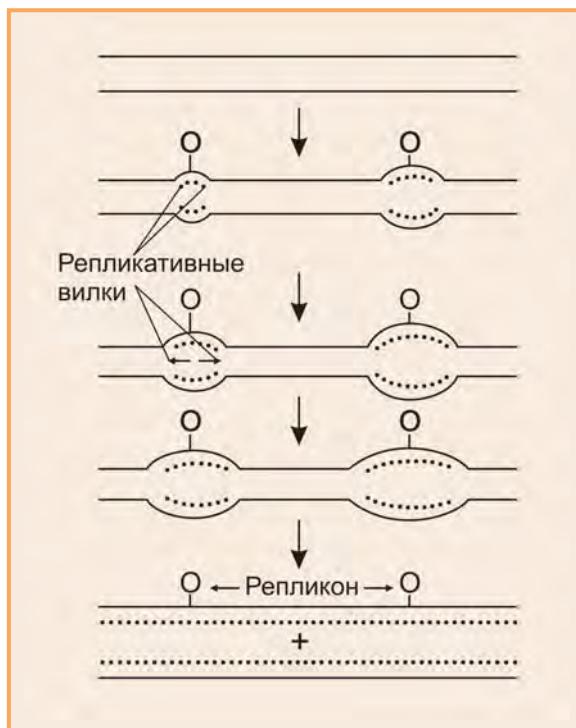
В ходе инициации происходит расплетение двойной спирали ДНК матрицы и образование репликативной вилки. Участвуют в этом процессе ферменты ДНК-топоизомераза 1, ДНК-хеликаза и белки, связывающиеся с одноцепочечными участками ДНК (SSB-белки) (рис. 3.10)

**Рис. 3.8. Фазы клеточного цикла у эукариотов:**

2n — диплоидный набор хромосом n=23 (23 хромосомы по 2 копии);  
4n — тетраплоидный набор хромосом

ДНК-топоизомераза 1 присоединяется к участку ориджина, расщепляет одну из цепей ДНК и связывается с фосфатным остатком в точке разрыва, происходит сброс супервитков и раскручивание двуцепочечной нити ДНК. В область разрыва присоединяются две молекулы ДНК-хеликазы, которые, используя энергию АТФ, разрывают водородные связи между комплементарными основаниями и разделяют цепи ДНК. Затем ДНК топоизомераза восстанавливает фосфодиэфирную связь, которую она первоначально расщепила, и отъединяется от ДНК. SSB-белки присоединяются к одноцепочечным участкам и препятствуют их повторному объединению в двойную спираль.

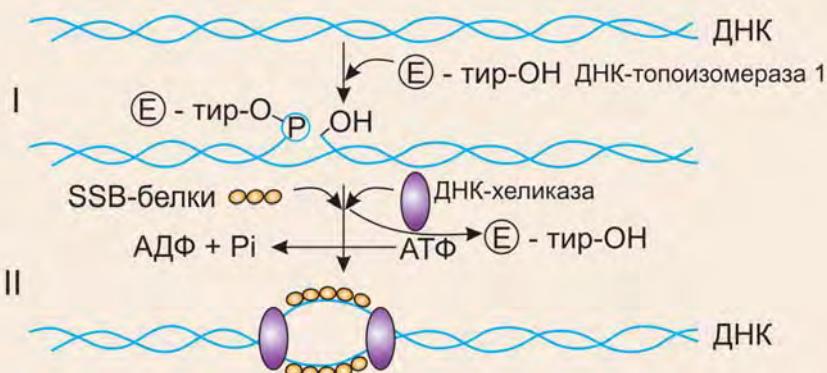
На стадии **элонгации** дочерние нити ДНК образуются на обеих нитях материнской ДНК. Этот процесс катализирует несколько ДНК-полимераз, которые синтезируют полинуклеотидные цепи из дНТФ в направлении от 5'- к 3'-концу на антипараллельной матрице, имеющей направление от 3' - к 5'- концу (рис. 3.11.)



**Рис. 3.9. Схема репликации эукариотических хромосом.**

Синтез начинается в области ориджина (O) и идет в противоположных направлениях. В каждом ориджине образуется две репликативные вилки. Процесс полуконсервативный, и каждая дочерняя молекула ДНК получает одну родительскую и одну вновь синтезированную нить. Участок ДНК между соседними ориджинами называют **репликоном**. Он синтезируется двумя движущимися навстречу друг другу репликативными вилками

Новые цепи синтезируются неодинаково. На матрице ДНК с направлением от 3'→5' концу цепь растет непрерывно по ходу движения репликативной вилки и называется **лидирующей**. На матрице с направлением 5'→3'- концу вторая цепь синтезируется против движения репликативной вилки в виде коротких отрезков — **фрагментов Оказаки** (по имени ученого, впервые обнаружившего их образование). Рост этой цепи начинается, только когда на матрице ДНК появляется одноцепочный участок длиной около 200 нуклеотидов (равный длине фрагмента Оказаки), поэтому ее называют **запаздывающей**, или **отстающей**.



**Рис. 3.10. Инициация репликации ДНК:**

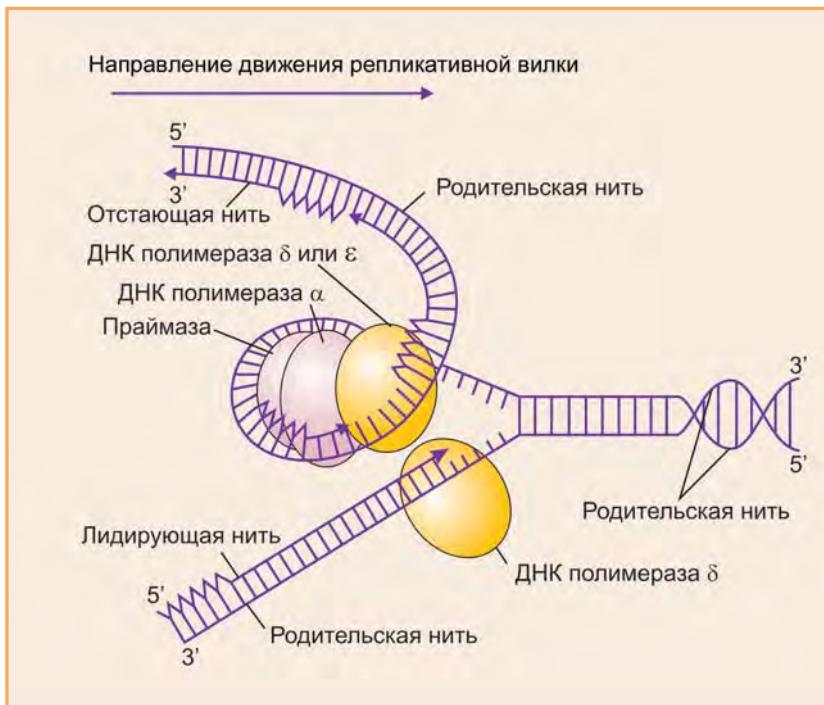
I — ДНК-топоизомераза 1 присоединяется к ориджину, расщепляет одну из цепей ДНК и связывается с фосфатным остатком в месте разрыва. Происходит раскручивание двойной спирали ДНК; II — В область разрыва присоединяются две молекулы ДНК-хеликаз и разделяют цепи ДНК. Затем ДНК-топоизомераза 1 устраняет разрыв, который осуществила первоначально, и отъединяется от ДНК. К одноцепочечным участкам присоединяются SSB-белки

Синтез начинается с образования праймера — олигорибонуклеотида (РНК), включающего около 10 мононуклеотидов. Его образование катализирует праймаза — субъединица, входящая в состав ДНК-полимеразы  $\alpha$ . Далее этот же фермент переключается на образование ДНК и включает во вновь синтезирующую нить около 60 дезоксинуклеотидов, после чего заменяется другими ДНК-полимеразами. Продолжают синтез лидирующей цепи ДНК-полимераза  $\delta$ , а отстающей — ДНК-полимераза  $\delta$  или  $\epsilon$ . Оба фермента обладают экзонуклеазной активностью и в ходе синтеза могут исправлять допущенную ошибку и отщеплять неправильно включенный нуклеотид. Это обеспечивает высокую точность синтеза ДНК.

В отстающей нити каждый фрагмент Оказаки содержит около 200 нуклеотидов, включающих РНК-праймер и участок ДНК. Праймер удаляется эндо-нуклеазой и РНКазой, а ДНК-полимераза  $\beta$  заполняет образующуюся «брешь» по принципу комплементарности, используя дНТФ в качестве субстратов (рис. 3.12).

ДНК-лигаза объединяет фрагменты в полинуклеотидную цепь. Кофактором всех стадий репликации является ион  $Mg^{2+}$ .

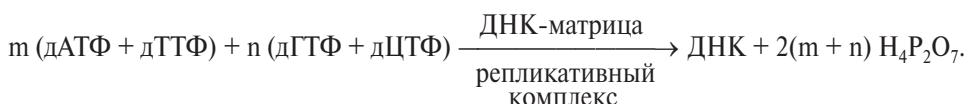
В результате образуются дочерние цепи, комплементарные и антипараллельные нитям материнской ДНК. Без учета НТФ, участвующих в синтезе прайме-



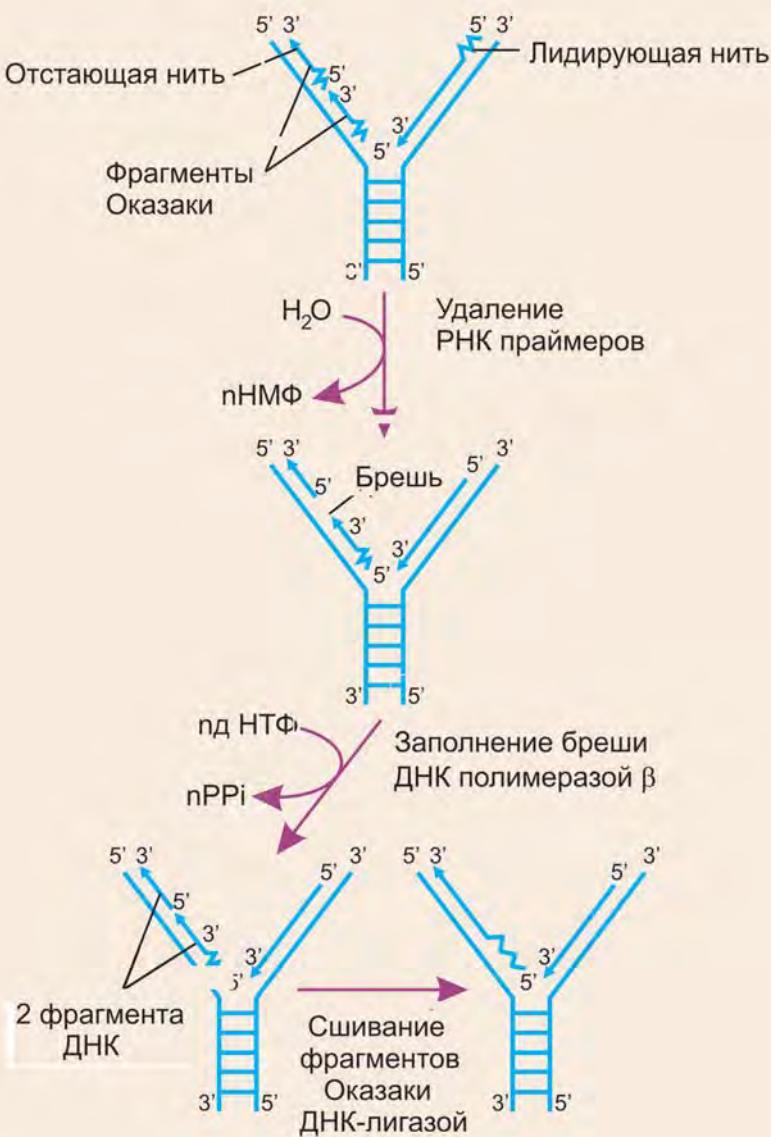
**Рис. 3.11. Рост новых цепей в области репликативной вилки.**

Лидирующая нить растет непрерывно, а отстаящая —  
в виде фрагментов Оказаки, каждый из которых включает:  
 ~~~~~ — РНК-праймер (~10 нуклеотидов),  
 — — — участок ДНК, примерно равный длине ДНК  
в составе нуклеосомы (~150 нуклеотидов)

ров и объединении фрагментов Оказаки, суммарное уравнение синтеза ДНК может быть записано следующим образом:



После деления каждая дочерняя клетка получает диплоидный набор хромосом, идентичный материнской клетке.



**Рис. 3.12. Удаление РНК-праймеров из отстающей цепи в ходе синтеза ДНК.**

ДНК-полимераза  $\alpha$  синтезирует олигорибонуклеотид, которым начинается каждый фрагмент Оказаки в отстающей нити ДНК. Когда следующий фрагмент Оказаки достигает праймера предыдущего фрагмента, ДНК-полимераза  $\delta$  отделяется, а праймер предыдущего фрагмента удаляют эндонуклеаза и РНКаза. ДНК-полимераза  $\beta$  удлиняет последний фрагмент, заполняя «брешь». ДНК-лигаза сшивает предыдущий и вновь синтезированный фрагменты между собой

### 3.3. Репарация ошибок и повреждений ДНК

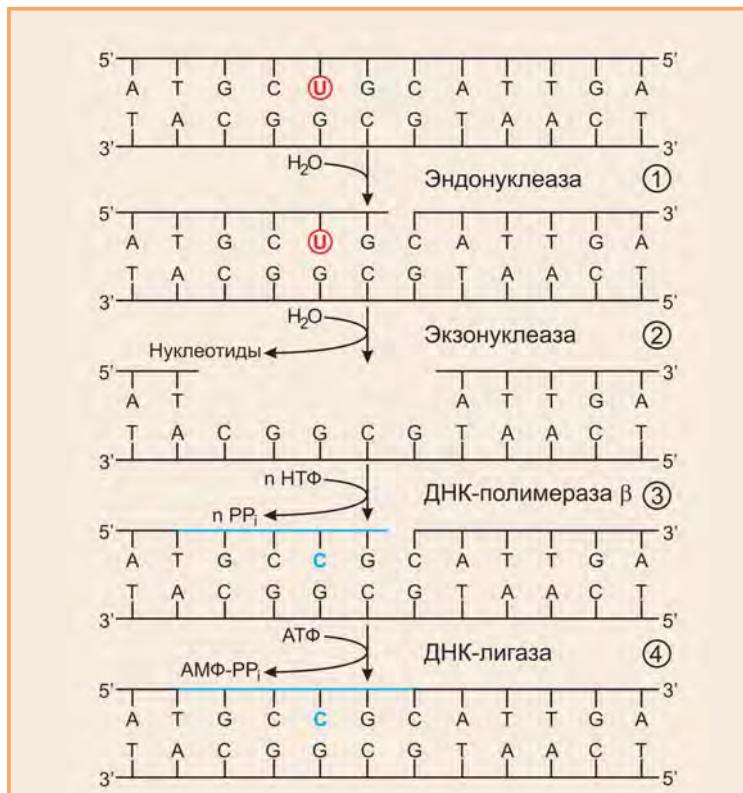
Несмотря на высокую точность репликации, в молекуле ДНК постоянно происходят повреждения, вызванные УФО, радиационным излучением, действием разнообразных веществ внешней и внутренней среды. Под влиянием этих физических и химических факторов в структуре ДНК происходит:

- дезаминирование оснований (из цитозина образуется урацил);
- депуринизация — гидролитическое отщепление пуриновых оснований;
- образование пиримидиновых димеров;
- разрыв нуклеотидных цепей;
- появление ковалентных сшивок между цепями или между цепями и гистонами;
- включение некомплементарного основания, вызванное ошибками репликации.

За сутки в каждой клетке происходят тысячи повреждений ДНК. Исправление нарушений в структуре макромолекулы осуществляют системы репарации ДНК, которые функционируют в ядре клеток постоянно вне зависимости от фаз клеточного цикла. Универсальная система репарации работает следующим образом (рис. 3.13):

- Специфическая эндонуклеаза обнаруживает нарушение комплементарности и гидролитически расщепляет 3',5'-fosфодиэфирную связь в поврежденной нити ДНК.
- Экзонуклеаза удаляет около 30 нуклеотидных остатков по обе стороны от места разрыва.
- К 3'-концу образавшейся «брехи» присоединяется ДНК-полимераза  $\beta$  и, используя дНТФ в качестве субстратов и доноров энергии, заполнят «брехью».
- Одиночный разрыв между вновь синтезированной и основной нитями ДНК устраняет ДНК-лигаза, использующая АТФ в качестве источника энергии.

В ряде случаев в репарации участвуют и некоторые другие ферменты. Так, если произошло дезаминирование азотистых оснований (например, цитозин превратился в урацил), то некомплементарное основание может удалять фермент **ДНК-гликозилаза**. Затем участок, лишенный азотистого основания (АП-сайт), обнаруживает **АП-эндонуклеазу**, гидролизующую апуринизированный или апиримидинизированный сахарофосфатный остов, а далее работает универсальный механизм репарации. Иногда к дезоксирибозе, лишившейся поврежденного основания — АП-сайта, фермент **ДНК-инсертаза** присоединяет основание по принципу комплементарности, ликвидируя повреждение в структуре ДНК.

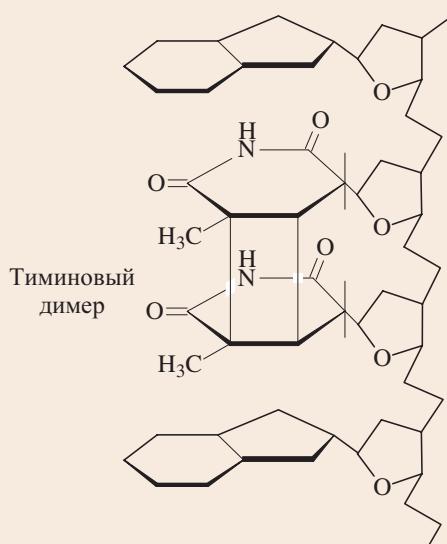


**Рис. 3.13. Репарация эукариотических ДНК.**

Специфическая эндонуклеаза узнает место повреждения и расщепляет 3',5' -fosфодиэфирную связь недалеко от этого места. Экзонуклеаза удаляет участок ДНК, содержащий повреждение. ДНК-полимераза  $\beta$  заполняет «брешь» в поврежденной нити ДНК. ДНК-лигаза соединяет основной и новообразованный участки в нити ДНК.

Под влиянием УФО возникают пиримидиновые димеры (чаще всего тиминовые димеры), за счет связывания двух соседних оснований (рис. 3.14). Это повреждение устраняет фермент **фотолизаза**. Она расщепляет связи между соседними основаниями и восстанавливает нативную структуру ДНК. Свет активирует фермент и таким образом ускоряет этот процесс.

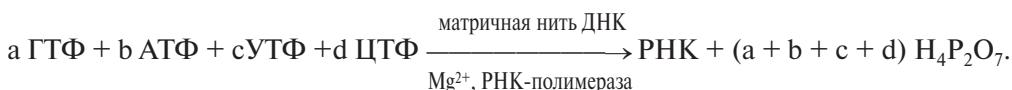
На протяжении жизни человека ферменты репарации устраниют повреждения в структуре ДНК и сохраняют стабильность генетической информации клетки. Снижение активности этих ферментов сопровождается накоплением мутаций в ДНК и является причиной многих заболеваний и преждевременного старения организма.

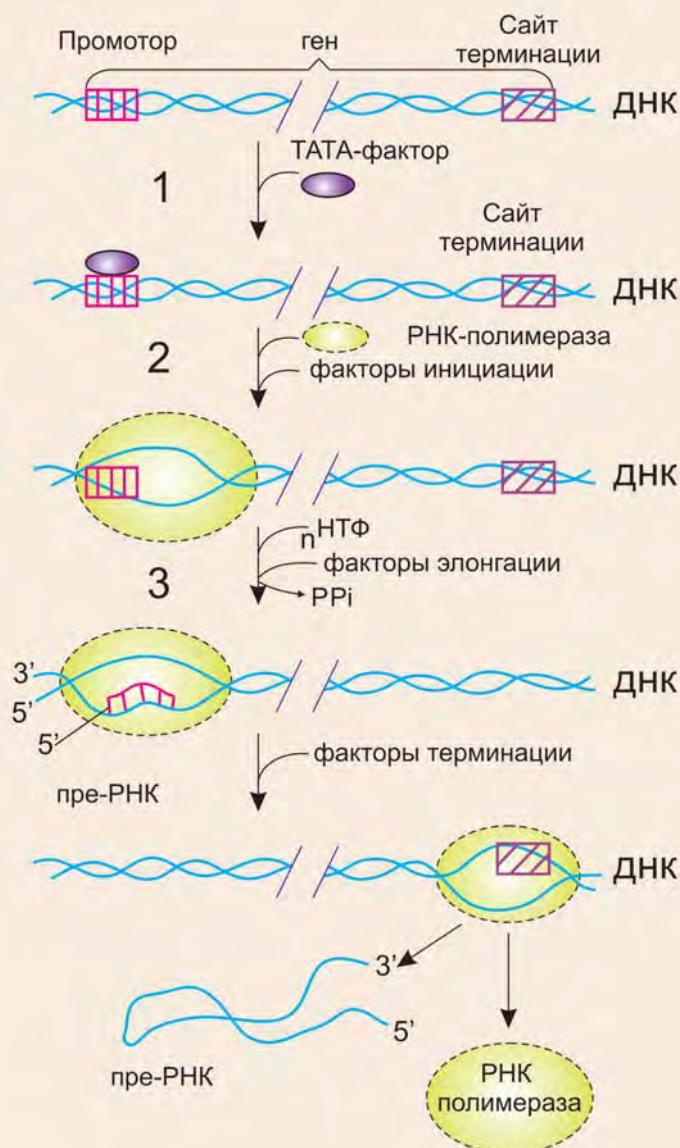


**Рис. 3.14. Тимин-тиминовые димеры в молекуле ДНК**

### 3.4. Биосинтез РНК (транскрипция)

Синтез РНК на матрице ДНК называют транскрипцией. Процесс катализируют РНК-полимеразы, которые образуют полиривонуклеотиды в соответствии с принципом комплементарности к матричной нити ДНК, в которой информация о структуре гена записана в направлении от 3'- к 5'-концу. У эукариотов синтез РНК идет в ядре и митохондриях практически постоянно вне зависимости от фаз клеточного цикла. В ядре РНК синтезируются тремя ферментами: РНК-полимераза I катализирует образование рРНК, РНК-полимераза II — синтез мРНК, а РНК-полимераза III — образование тРНК. Транскрипция, как и репликация, — эндрегонический процесс, в котором используются НТФ: АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ как субстраты синтеза и источники энергии. В основе процесса лежит принцип комплементарного спаривания оснований, когда против A встает U, против G — C, а против T — A. Суммарное уравнение синтеза РНК можно представить следующим образом:



**Рис. 3.15. Транскрипция гена:**

1 — присоединение в область промотора белка, который называется ТАТА-фактором;  
 2 — включение РНК-полимеразы в промоторный участок, при этом в зоне РНК-полимеразы происходит локальное расплетение двойной спирали ДНК; 3 — рост нити пре-мРНК;  
 4 — освобождение пре-РНК и РНК-полимеразы из комплекса с ДНК в сайте терминации ускоряют факторы терминации

Поскольку РНК является одноцепочечной молекулой, то стехиометрические коэффициенты для всех НТФ различны.

Все РНК-полимеразы осуществляют рост новых цепей РНК в направлении от 5'→3'-концу на антипараллельной матрице (рис. 3.15). Процесс транскрипции включает стадии инициации, элонгации и терминации. РНК-полимераза узнает место начала транскрипции — **промотор**, имеющий специфическую последовательность нуклеотидов: —ТАТА.

На стадии **инициации** к —ТАТА-последовательности присоединяется белок **ТАТА-фактор**, который стимулирует связывание с ДНК РНК-полимеразы и **факторов инициации** транскрипции. Образующийся комплекс вызывает расплетение двойной нити ДНК длиной в один виток спирали (около 10 нуклеотидных пар).

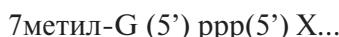
На этапе **элонгации** происходит синтез РНК в соответствии с информацией, содержащейся в гене ДНК, при этом факторы инициации удаляются, а **фактор элонгации** присоединяется. По мере движения РНК-полимеразы по нити ДНК к освободившемуся промотору присоединяются новые молекулы фермента, поэтому один ген может одновременно транскрибироваться несколькими молекулами РНК-полимеразы.

Этап **терминации** начинается, когда РНК-полимераза достигает специфической последовательности нуклеотидов — **сайта терминации**, расположенного на конце гена. Фактор элонгации отделяется от РНК-полимеразы, а присоединяется **фактор терминации**, который облегчает отделение РНК-продукта и фермента от матрицы ДНК.

### Посттранскрипционные модификации пре-РНК

Молекулы РНК, которые синтезируются РНК-полимеразами, функционально неактивны и являются молекулами-предшественниками, или **пре-РНК**. Они превращаются в зрелые молекулы только после соответствующих посттранскрипционных модификаций. Этот процесс получил название **созревания РНК**.

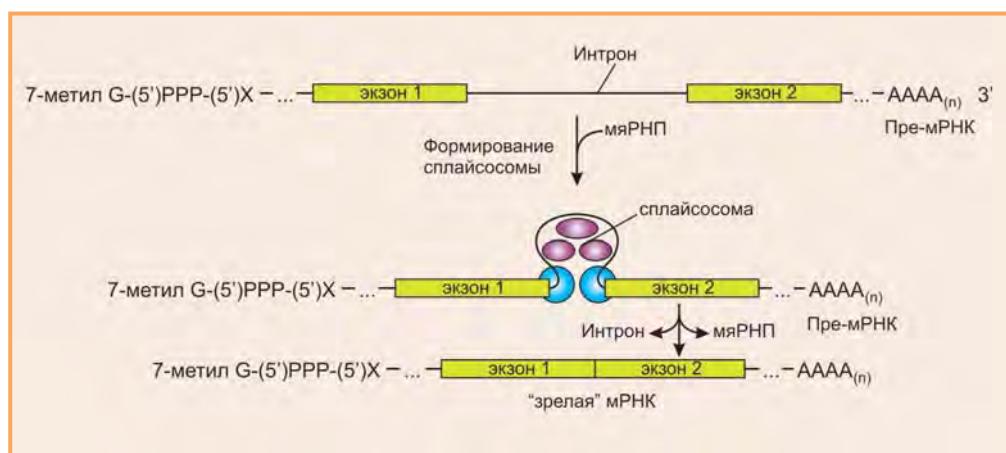
Образование зрелых молекул **мРНК** начинается еще в момент синтеза РНК-полимеразой II новой молекулы на стадии элонгации. К 5'-концу растущей нити РНК с отщеплением ортофосфата присоединяется 5'-концом молекула ГТФ. Затем основание — гуанин в составе ГТФ метилируется с образованием 7-метил-ГТФ. Этую необычную группу в составе мРНК называют «**кэп**» (колпачок или шапочка):



Кэп защищает 5'-конец мРНК от действия нуклеаз и узнается рибосомами в ходе инициации трансляции.

После того как пре-мРНК освобождается из связи с РНК-полимеразой поли(А)-полимераза на 3'-конце молекулы синтезирует **поли(А)-«хвост»**, состоящий примерно из 200 остатков АМФ и защищающий мРНК от расщепления РНКазами. Субстратом реакции является АТФ.

Эукариотические ДНК имеют «мозаичное» строение, т. е. содержат участки, кодирующие последовательность аминокислот в отдельных доменах молекулы белка, — **экзоны**, и участки, не содержащие информации о строении белка или РНК, — **интроны**. В ходе транскрипции получаются пре-РНК, содержащие участки комплементарные как экзонам, так и инtronам. При созревании мРНК интроны удаляются, а экзоны соединяются между собой с высокой точностью с помощью комплексов из малых ядерных рибонуклеопротеинов — **сплайсосом**. Этот процесс получил название **сплайсинга** (рис. 3.16).



**Рис. 3.16. Сплайсинг пре-мРНК.**

В ядре интроны удаляются при участии малых ядерных рибонуклеопротеинов (мяРНП), которые образуют комплекс, или сплайсосому. Сплайсосомы гидролизуют 3',5'-фосфодиэфирные связи на границе интрана — экзона и связывают экзоны между собой. Ферментативной активностью обладают РНК в составе мяРНП

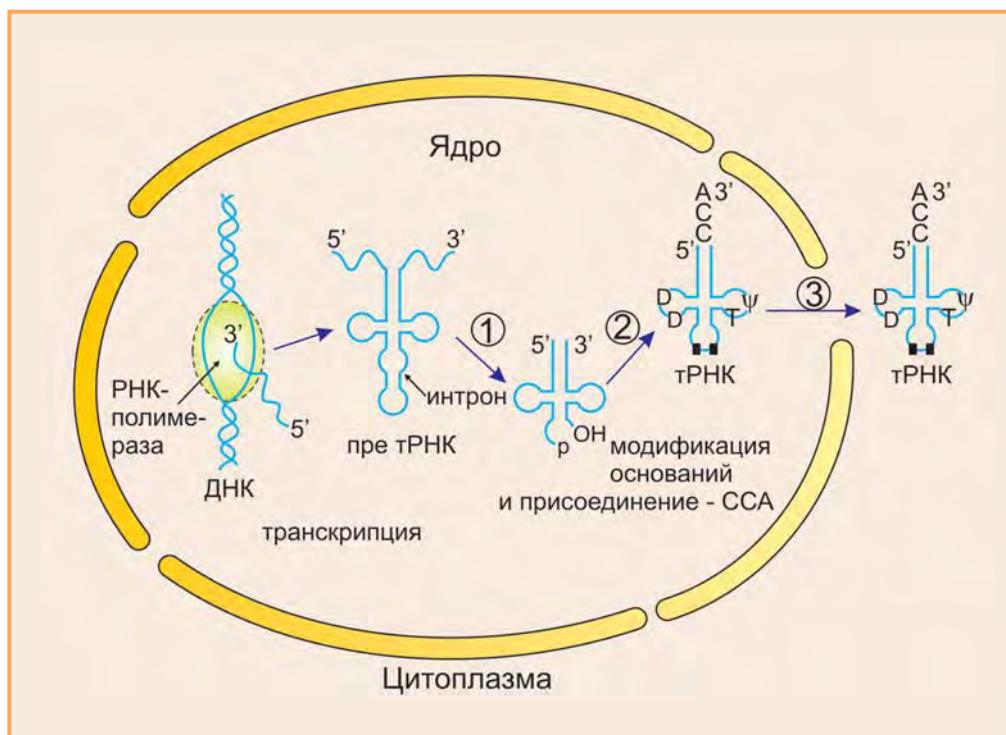
Одна и та же молекула пре-мРНК в различных тканях может подвергаться разным схемам сплайсинга (наряду с инtronами вырезаются и некоторые экзоны или некоторые интроны сохраняются в зрелой молекуле. Иногда сохраняется инtron, содержащий стоп-кодон, в результате образуется мРНК, кодирующая более короткий белок, или используются в ходе транскрипции альтернативные промоторы (перед экзоном 1 или перед более поздним экзоном). Существование такого механизма получило название **альтернативного сплайсинга**. Оно ведет к получению родственных, но различающихся по первичной структуре молекул мРНК.

## Посттранскрипционные модификации тРНК

У человека синтезируется около 20 семейств тРНК, молекулы которых содержат примерно 100 нуклеотидов. Представители каждого семейства способны связываться только с одной из 20 аминокислот, входящих в состав белков.

В ядре при формировании пространственной конформации зрелых молекул (рис. 3.17) пре-тРНК укорачиваются с 5'- и 3'-концов и вырезается один инtron из центральной части полинуклеотидной цепи с помощью специфических РНКаз.

- 10–15 % азотистых оснований модифицируется: урацил метилируется и образует тимин; двойная связь между C4 и C5 атомами урацила восстанавливается, давая дигидроурацил, остаток урацила, присоединенный к рибозе N-гликозидной связью, подвергается ротации и его связь с рибозой становится углерод-углеродной, возникает соединение, называемое псевдоуридин.



**Рис. 3.17. Созревание пре-тРНК**

Первоначально в ядре: 1 — удаляются участки полинуклеотидной цепи на 5'- и 3'-концах молекулы пре-тРНК, инtron в центральной области; 2 — модифицируются азотистые основания ( $\blacklozenge$ ) и к 3'-концу присоединяется триплет CCA; 3 — зрелые тРНК выходят из ядра в цитоплазму

- к 3'-концу всех тРНК с помощью нуклеотидилтрансферазы последовательно присоединяется триплет нуклеотидов ССА, который необходим для связывания аминокислот.
- Зрелые молекулы тРНК выходят из ядра в цитоплазму.

### Посттранскрипционные модификации пре-рРНК

Пре-рРНК освобождаются из комплекса с ДНК в виде крупного транскрипта с константой седиментации 45 S. 1–2 % нуклеотидов этой молекулы метилируется по 2'-гидроксильной группе рибозы. Метильные группы служат маркерами для последующего расщепления пре-рРНК на более мелкие молекулы, включающиеся в субъединицы рибосом. Так, 18 S рРНК формирует малую 40 S субъединицу рибосомы, а молекулы с КС 28 S и 5,8 S включаются в большую субъединицу рибосомы. Самая короткая 5 S рРНК кодируется отдельным геном, транскрибируется РНК-полимеразой III (ответственной за синтез тРНК) и затем поступает в 60 S рибонуклеопротеиновую частицу.

Субъединицы рибосомы и все зрелые мРНК и тРНК поступают в цитоплазму клетки и используются в синтезе белков.

## 3.5. Трансляция (биосинтез белка)

**Трансляция** (биосинтез белка) – процесс, в ходе которого информация о структуре белка, записанная в виде линейной последовательности нуклеотидов в молекуле зрелой мРНК, «переводится на язык аминокислот» при участии тРНК и рибосом. В результате образуется молекула белка со строго определенной первичной структурой.

мРНК построена из четырех нуклеотидов, а в состав белков входит 20 аминокислот. Из этого следует, что должен существовать способ шифрования аминокислот в последовательности нескольких нуклеотидов. Способ шифрования, согласно которому в мРНК закодирована последовательность аминокислот в белке, получил название **генетического (биологического или аминокислотного) кода** (рис. 3.18).

Код характеризуется следующими свойствами:

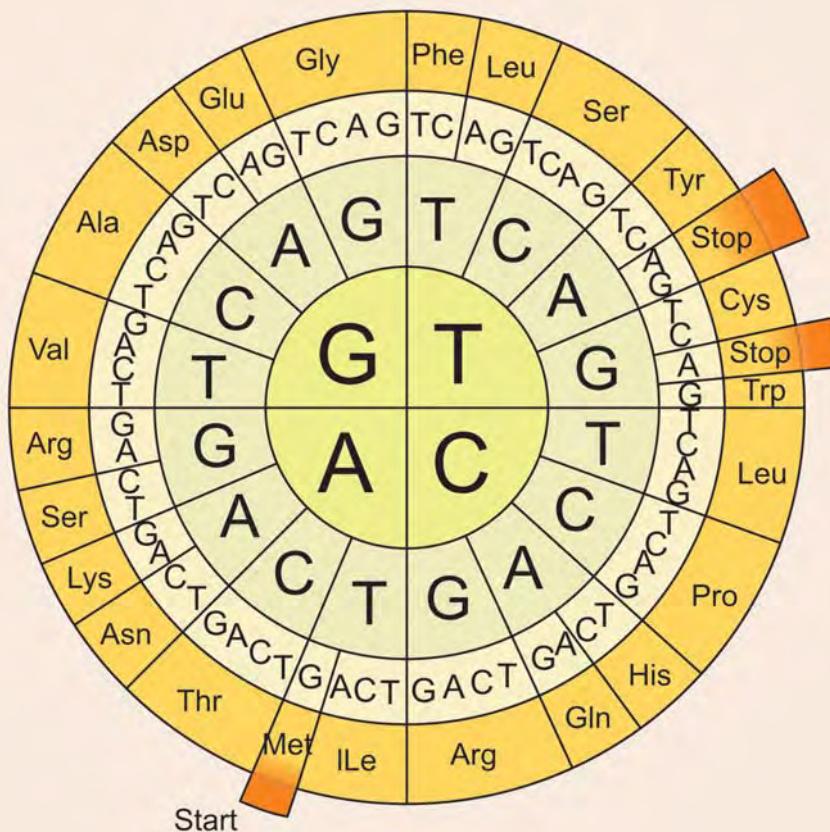
- **триплетен:** каждая аминокислота шифруется в молекуле ДНК или мРНК тремя нуклеотидами — кодонами. Кодирующие элементы не могут состоять из двух нуклеотидов, так как их количество ( $4^2 = 16$ ) будет недостаточно для шифрования всех аминокислот. Из 4-х нуклеотидов, входящих в мРНК, можно составить 64 триплета ( $4^3 = 64$ ). Из них имеет смысл, т.е. кодирует включение в белок определенной аминокислоты 61 триплет. Три остальных триплета — UAA, UAG, UGA — сигнализируют о завершении аминокислотной последовательности белка и выполняют функцию точки в записи информации. Их называют **терминирующими, или стоп-кодонами**;

- **однонаправлен:** кодоны расположены линейно, не перекрываются и читаются в направлении от 5'-к 3'-концу;
- **специчен:** каждый кодон шифрует только одну определенную аминокислоту;
- **вырожден:** большинство аминокислот зашифровано в молекулах ДНК и мРНК больше, чем одним кодоном. Исключение у человека составляют две аминокислоты: Мет и Три, каждая из которых шифруется одним кодоном, а всем остальным аминокислотам соответствуют от двух до шести кодонов (рис. 3.18). Шестью кодонами шифруются Лей, Сер, Арг;
- **универсален:** смысл кодонов един почти для всех организмов на Земле. Исключения редки. Основное отклонение обнаружено в митохондриальной мРНК, у которой четыре кодона имеют другой смысл;
- **коллинеарен:** последовательность кодонов в зрелой мРНК соответствует последовательности аминокислот в белке, который синтезируется на этой матрице.

Декодирование информации о структуре белка, записанной в виде последовательности кодонов мРНК, возможно благодаря тРНК, выполняющим функции **адапторов** («приспособителей» аминокислот к кодонам мРНК). Выполнению этой функции соответствует пространственная структура тРНК. В центре полинуклеотидной цепи этих молекул имеется антикодоновая петля, в которой находится триплет нуклеотидов — **антикодон**, способный связываться с кодоном мРНК по принципу комплементарности и антипараллельности. На 3'-конце молекулы все тРНК имеют акцепторный триплет —CCA, к которому аминокислоты присоединяются  $\alpha$ -COOH-группой.

Для 20 аминокислот, участвующих в синтезе белков, количество тРНК оказалось больше 20, каждой аминокислоте соответствует своя тРНК: для аланина — тРНК<sub>Алα</sub>, глутамата — тРНК<sub>Глу</sub> и т.д. тРНК, отличающиеся по строению антикодона, но связывающиеся с одной и той же аминокислотой, называют **изоакцепторными тРНК**.

Поскольку 61 смысловой кодон содержит информацию о включении аминокислот в белок, то, казалось бы, должно существовать 61 тРНК для связывания с кодонами. Однако оказалось, что число тРНК меньше 61. Первые два основания в кодоне и два последних основания в антикодоне, связываясь друг с другом, образуют обычные комплементарные A = U и G = C пары, а связывание третьего основания кодона с первым основанием антикодона происходит слабее. Эти основания обладают определенной степенью свободы и как бы «качаются» относительно друг друга. Эта особенность кодон — антикодоновых взаимодействий между мРНК и тРНК получила название **«гипотезы качания»** и позволяет антикодону одной и той же тРНК «прочитывать» несколько кодонов мРНК.



**Рис. 3.18. Генетический код.** Последовательность нуклеотидов кодона считывается от центра к периферии

В цитозоле клеток связывание аминокислоты с тРНК катализируют ферменты **аминоацил-тРНК синтетазы** (аа-тРНК-синтетазы), которые образуют сложноэфирную связь между  $\alpha$ -COOH-группой аминокислоты и 3'-ОН группой акцепторного триплета —CCA. В ходе реакции используется молекула АТФ, которая расщепляется на АМФ и  $H_4P_2O_7$ , а связь, образующаяся между аминокислотой и тРНК, является макроэнергической (реакция активации аминокислот) (рис. 3.19).

Семейство аминоацил-тРНК-синтетаз включает более 20 ферментов: для каждой аминокислоты имеется фермент, катализирующий ее присоединение к тРНК, хотя активацию некоторых аминокислот катализирует несколько изоферментов. В названиях отдельных аа-тРНК-синтетаз отражаются названия

аминокислот, которые активируются в ходе реакции. Так, активацию глутамата катализирует глутамил-тРНК-синтетаза, аланина — аланил-тРНК-синтетаза, гистидина — гистидил-тРНК-синтетаза и т.д.

В образовании полипептидных цепей белка участвует большое число компонентов:

- аминокислоты — субстраты синтеза белка;
- мРНК — матрица, содержащая информацию о первичной структуре белка в виде линейной последовательности кодонов;
- тРНК — адапторы аминокислот к кодоном мРНК;
- аминоацил-тРНК синтетазы, катализирующие связывание аминокислот с соответствующими тРНК;
- рибосомы — субклеточные структуры, с помощью которых происходит сборка аминокислот в полипептидные цепи;
- АТФ и ГТФ — источники энергии процесса;
- Mg<sup>2+</sup> — кофактор, стабилизирующий структуру рибосом;
- факторы инициации, элонгации, терминации — внерибосомные белки, облегчающие и ускоряющие процесс трансляции.

События по сборке аминокислот в полипептидные цепи белка происходят на рибосомах и включают этапы инициации, элонгации и терминации (рис. 3.20–3.22).

- Инициация начинается с присоединения в область «кэпа» к зрелой мРНК 40 S субъединицы рибосомы, инициирующей аа-тРНК (у эукариотов это всегда Мет-тРНК<sup>Мет</sup>), факторов инициации и молекулы ГТФ. Образующийся комплекс скользит по мРНК вплоть до встречи с инициирующим кодоном AUG. Когда антикодон Мет-тРНК<sup>Мет</sup> связывается с кодоном AUG, комплекс останавливается, к нему присоединяется 60 S субъединица рибосомы, при этом ГТФ гидролизуется до ГДФ и H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, а факторы инициации удаляются. Формируется полная 80 S рибосома с двумя активными центрами: Р-центром (пептидильным), в который ока-



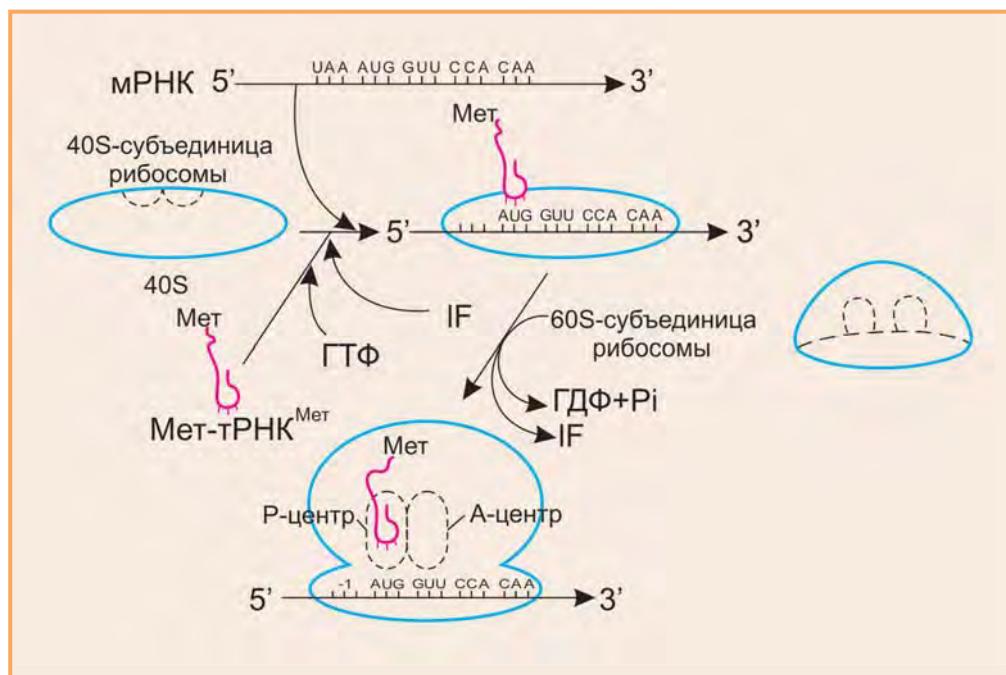
**Рис. 3.19. Реакция активации валина, катализируемая валил-тРНК-синтетазой**

зывается включенной Мет-тРНК Мет, и А-центром (аминоацильным), в область которого попадает первый смысловой кодон мРНК.

- Элонгация включает три последовательные стадии.

**1. Связывание аа-тРНК в А-центре.** К свободному А-центру присоединяется аа-тРНК, у которой антикодон комплементарен кодону мРНК, находящемуся в области этого центра. Для того чтобы это событие стало возможным, в структуре рибосомы происходят конформационные изменения, требующие затраты энергии ГТФ и участия фактора элонгации EF1.

**2. Образование пептидной связи.** Между  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-группой аминокислоты, находящейся в Ацентре в составе аа-тРНК, и карбоксильной группой метионина или другой аминокислоты, входящей в растущую полипептидную цепь, которая присоединена к тРНК Р-центра, образуется пептидная связь. Катализирует реакцию **пептидилтрансфераза**. Продуктом реакции становится удлиненная на одну аминокислоту пептидил-тРНК, расположенная в А-центре рибосомы.

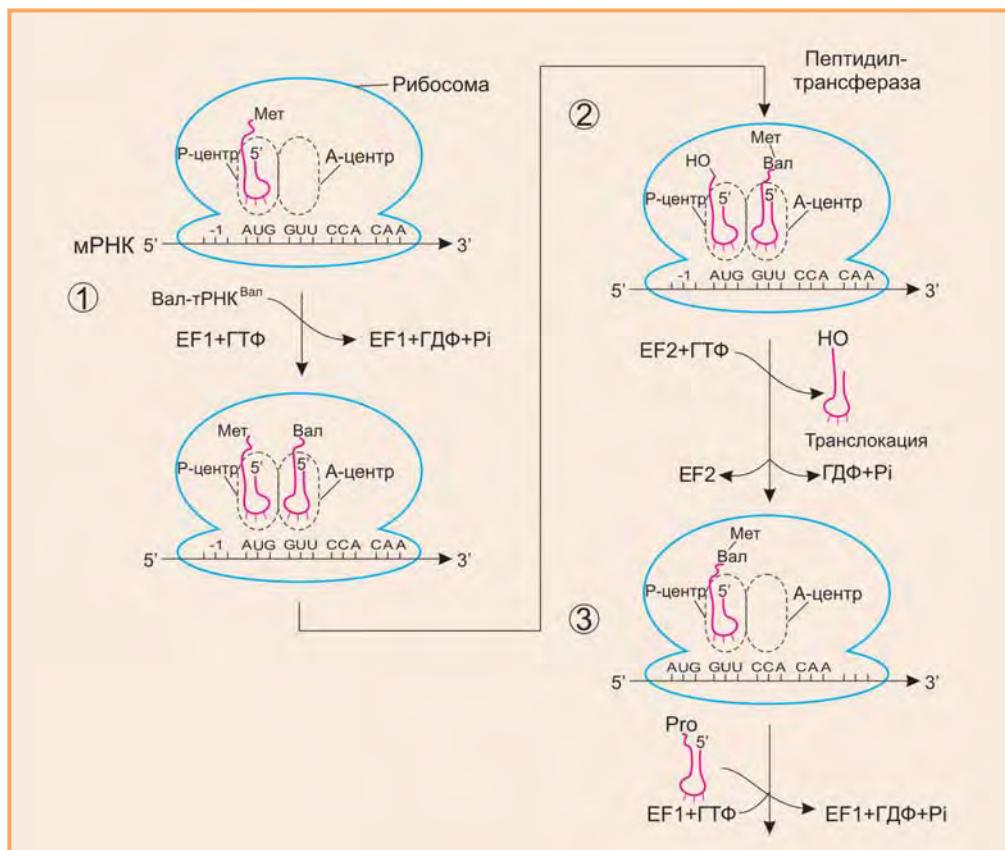


**Рис. 3.20. Инициация синтеза белка.**

Комплекс, состоящий из 40 S субъединицы рибосомы, Мет-тРНК <sup>Мет</sup>, факторов инициации и молекулы ГТФ, присоединяется и скользит по мРНК до встречи с инициирующим кодоном AUG. Антикодон Мет-тРНК<sup>Мет</sup> связывается с кодоном AUG, к комплексу с затраченной энергией ГТФ присоединяется 60 S субъединица рибосомы, а факторы инициации удаляются. На рибосоме формируются А- и Р-центры

3. Транслокация — перемещение рибосомы по мРНК. Рибосома продвигается по мРНК на один кодон в направлении от 5'- к 3'-концу с использованием энергии ГТФ и при участии фактора элонгации eEF2. В результате в рибосоме пептидил-tРНК из А-центра попадает в Р-центр, а в А-центре оказывается следующий кодон мРНК. tРНК, которая передала Мет или растущий пептид на аминокислоту aa-tРНК, на 2 этапе теряет связь с Р-центром и уходит в цитозоль клетки.

Рост полипептидной цепи белка продолжается за счет многократного повторения стадий 1 → 2 → 3.

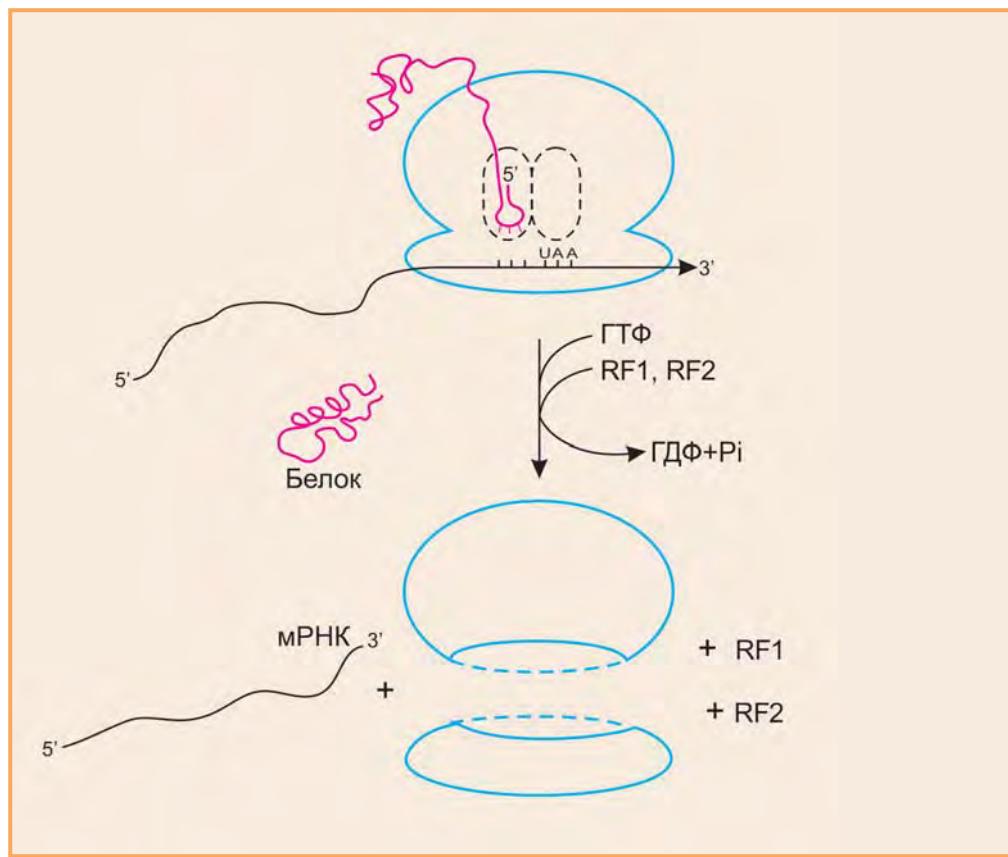


**Рис. 3.21. Элонгация синтеза белка.**

- 1 — связывание аа-tРНК в А-центре происходит за счет энергии ГТФ и при участии фактора элонгации EF1;
- 2 — образование пептидной связи катализирует пептидилтрансфераза, активный центр которой формируется рРНК, входящей в состав большой субъединицы рибосомы;
- 3 — транслокация — перемещение рибосомы по мРНК от 5'- к 3'-концу на один кодон идет с использованием энергии ГТФ

**Терминация.** Когда в А-центр рибосомы попадает один из стоп-кодонов мРНК: UAA, UAG, UGA, белковые факторы терминации RF1, RF3 узнают эти кодоны и освобождают вновь синтезированный пептид из связи с последней тРНК, субъединицами рибосомы и мРНК. Этот этап энергозависим и сопровождается гидролизом ГТФ.

Каждая рибосома на мРНК занимает участок длиной около 80 нуклеотидов. По мере продвижения рибосомы по мРНК к 3'-концу молекулы 5'-конец освобождается и к нему присоединяются новые рибосомы. Одновременно несколько рибосом могут синтезировать полипептидные цепи на одной и той же мРНК. Комплекс мРНК с несколькими работающими рибосомами называют **полирибосомой**.



**Рис. 3.22. Терминация синтеза белка.**

При попадании в А-центр стоп-кодона вновь синтезированный пептид освобождается из связи с тРНК, субъединицами рибосомы и мРНК с участием факторов терминации и энергии ГТФ

Полирибосомы бывают двух типов:

- свободные полиривербосомные образования, плавающие в цитоплазме клеток и отвечающие за синтез внутриклеточных белков;
- связанные с эндоплазматическим ретикулумом (ЭР) и обеспечивающие синтез белков на экспорт.

**Посттрансляционные модификации белков.** Полипептиды, являющиеся продуктами трансляции, не всегда функционально активны и требуют дополнительных посттрансляционных преобразований, включающих:

- **фолдинг молекул.** В процессе синтеза полипептидных цепей на рибосоме при участии белков — шаперонов происходит формирование термодинамически наиболее выгодной пространственной конформации;
- **образование дисульфидных связей** между остатками цистеина. Эта модификация имеет важное значение для проявления активности многих белков (инсулина, иммуноглобулинов, рибонуклеазы и др.);
- **частичный протеолиз,** который имеет место при синтезе всех белков на экспорт и некоторых внутриклеточных белков;
- **присоединение простетической группы,** обеспечивающее образование сложных белков;
- **сборку протомеров в олигомерные белки,** необходимую для образования молекул с четвертичной структурой;
- **модификацию аминокислотных остатков,** свойственную многим белкам. Так, фосфорилирование гидроксильных групп в остатках Сер, Тре и Тир, гидроксилирование остатков Про и Лиз в молекулах коллагенов; карбоксилирование остатков Глу в факторах свертывания крови II, VII, IX, X и др., метилирование остатков Арг и Лиз в молекулах гистонов; йодирование остатков Тир в белке щитовидной железы тиреоглобулине и т.д. являются необходимым этапом в синтезе и функционировании биологически активных молекул.

### 3.6. Ингибиторы матричных биосинтезов

Остановка любого из матричных синтезов опасна для клеток и может вызвать их гибель. Описана довольно большая группа разных по структуре природных и синтетических соединений, являющихся ингибиторами матричных синтезов. Некоторые из них нашли применение в медицине. Наиболее широко используются антибиотики, образующиеся в процессе жизнедеятельности микроорганизмов и способные оказывать избирательное токсическое

действие на синтез ДНК, РНК или белка в про- или эукариотических клетках (табл. 3.2).

Таблица 3.2

### Противоопухолевые и антибактериальные препараты — ингибиторы матричных синтезов

| Препарат                                        | Механизм действия                                                                                                                                                                                        |
|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Ингибиторы репликации и транскрипции:</b>    |                                                                                                                                                                                                          |
| Доксорубицин<br>Даунорубицин<br>Карминомицин    | Внедряются («интеркалируют») между основаниями ДНК, вызывают одно- и двуцепочечные разрывы в ДНК, генерируют свободные радикалы: $\text{O}_2^-$ , $\text{OH}^-$ , $\text{H}_2\text{O}_2$ и усиливают ПОЛ |
| Мелфалан<br>Цисплатин<br>Циклофосфан            | Имеют функциональные группы, способные взаимодействовать с ДНК и образовывать внутри- и межцепочечные поперечные сшивки в двойной спирали ДНК                                                            |
| Фторхинолоны:<br>норфлоксацин<br>ципрофлоксацин | Ингибируют работу бактериальной ДНК-гиразы и нарушают репликацию ДНК у бактерий                                                                                                                          |
| Рифамицины                                      | Связываются с ДНК-зависимой РНК-полимеразой бактериальных клеток и препятствуют инициации транскрипции                                                                                                   |
| <b>Ингибиторы трансляции</b>                    |                                                                                                                                                                                                          |
| Тетрациклин                                     | Связывается с малой субъединицей рибосомы и препятствует присоединению аа-тРНК в А-центр                                                                                                                 |
| Эритромицин                                     | Соединяется с большой субъединицей рибосом и ингибирует транслокацию                                                                                                                                     |
| Линкомицин                                      | Подавляет синтез белка в микробных клетках и эффективен в отношении грамположительных и анаэробных бактерий                                                                                              |
| Левомицетин                                     | Присоединяется к большой субъединице рибосомы и ингибирует пептидилтрансферазную реакцию                                                                                                                 |

- Противоопухолевые препараты — ингибиторы репликации. В молекуле антибиотиков — даунорубицина, доксорубицина содержится циклическая структура, которая встраивается («интеркалирует») между комплементарными основаниями G:::C, нарушая структуру ДНК и ингибируя реплика-

цию и транскрипцию. Избирательность действия этих препаратов невелика и основана на том, что опухолевые клетки, как правило, часто делятся, и их мембрана более проницаема, чем у клеток нормальных тканей. В то же время эти препараты токсичны для быстroredеляющихся клеток организма: стволовых клеток кроветворной системы, клеток слизистой оболочки желудка и кишечника, фолликулов волос.

В лечении онкологических заболеваний используют также **алкилирующие препараты**: мелфалан, цисплатин, циклофосфамид, которые взаимодействуют с азотистыми основаниями ДНК, образуют внутри- и межцепочечные сшивки и нарушают репликацию.

Антибактериальные парепарата разнообразны и могут ингибиовать у прокариотов любой из матричных биосинтезов.

Так, высокоактивны в отношении большинства грамотрицательных и некоторых грамположительных бактерий **антибиотики из семейства фторхинолонов**: норфлоксацин, ципрофлоксацин и др. Эти препараты нарушают репликацию и являются мощными ингибиторами ДНК-гиразы (фермента, аналогичного топоизомеразам эукариотических клеток), отвечающей за суперспирализацию и раскручивание кольцевой бактериальной ДНК.

К ингибиторам транскрипции относятся антибиотики из **семейства рифамицинов**. Они связываются с  $\beta$ -субъединицей бактериальной ДНК-зависимой РНК-полимеразы и препятствуют инициации транскрипции. Антибиотики этой группы используют в лечении туберкулеза, так как они специфичны и не влияют на работу ядерных РНК-полимераз у человека.

Действие большой группы антибиотиков разных классов направлено на ингибирование трансляции у прокариотов. Все они используются в медицинской практике как антибактериальные препараты. Так:

- **стрептомицин** ингибирует инициацию синтеза белка в клетках патогенной микрофлоры и вызывает ошибки в прочтении информации, закодированной в мРНК;
- **тетрациклины** связываются с 30 S субъединицей и препятствуют присоединению аа-тРНК в А-центр рибосомы, нарушая процесс элогации;
- **левомицетин** присоединяется к 50 S субъединице рибосомы и подавляет пептидилтрансферазную реакцию;
- **эритромицин** также присоединяется к 50 S субъединице рибосомы и ингибирует транслокацию.

В отличие от ингибиторов репликации антибактериальные препараты отличаются высокой избирательностью и сравнительно мало токсичны для человека. Это объясняется существенными различиями в структуре РНК-полимераз, РНК и белков рибосом у про- и эукариотов.

## Вирусы и токсины — ингибиторы матричных синтезов у эукариотов

Течение многих вирусных инфекций сопровождается гибелью зараженных клеток. Попадая в эукариотические клетки, вирусы прекращают синтез нукleinовых кислот и белков, характерных для данного организма, и переключают ферментные системы и энергетические ресурсы на воспроизведение вирусных частиц. Продукция вирусных частиц идет вплоть до гибели зараженной клетки.

Причиной гибели людей при отравлении белой поганкой *Amanita phalloides* является токсин — **α-аманин**, который содержится в теле гриба и вызывает необратимую дисфункцию печени и почек. Токсичность соединения обусловлена его способностью ингибиривать РНК-полимеразы, прежде всего РНК-полимеразу II, катализирующую синтез мРНК.

Энтеротоксин возбудителя дифтерии *Corynebacterium diphtheriae* ингибирует синтез белков в клетках слизистой оболочки зева и гортани, что обуславливает чрезвычайно тяжелое течение болезни. В цитоплазме клеток под влиянием протеолитических ферментов токсин расщепляется на два фрагмента, один из которых является АДФ-рибозилтрансферазой. Этот фермент катализирует реакцию:



Субстратом реакции является фактор элонгации FE-2, модификация которого нарушает транслокацию рибосом, прекращает биосинтез белков в инфицированных клетках и вызывает их гибель.

**Интерфероны как противовирусные, противоопухолевые и иммуностимулирующие препараты.** Интерфероны — небольшие белки — гликопротеины, секретирующиеся некоторыми клетками позвоночных (макрофагами, В- и Т-лимфоцитами, фибробластами). Связываясь с рецепторами на плазматической мембране клеток, они индуцируют синтез белков и ферментов, способных разрушать мРНК вирусов и прекращать синтез белков на рибосомах.

Интерфероны:

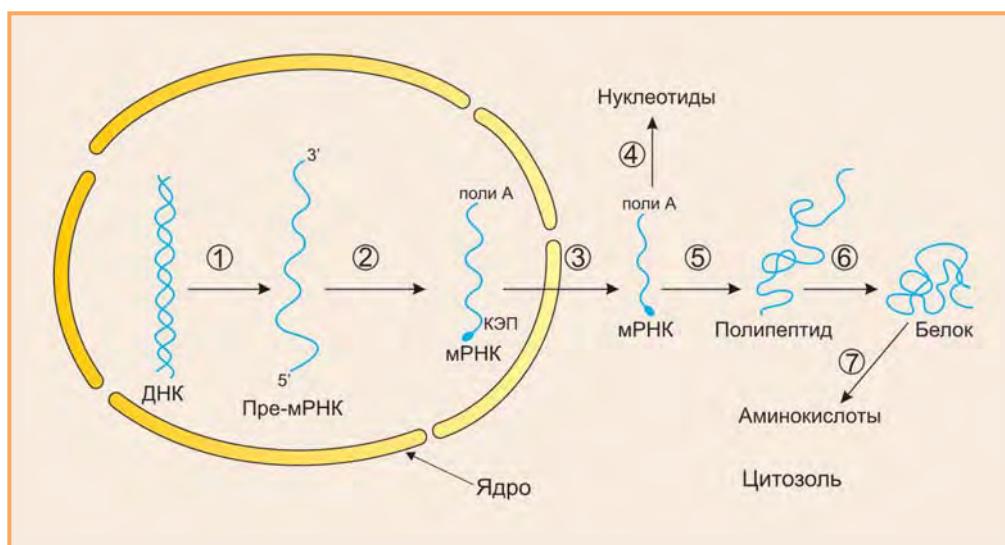
- индуцируют синтез фермента, катализирующего образование коротких олигоаденилатов: 2',5' — олиго (A), которые активируют РНКазу. Последняя расщепляет мРНК и рРНК, необходимые для образования вирусных белков;
- стимулируют синтез протеинкиназы, которая фосфорилирует фактор инициации трансляции IF2, в результате синтез белков в зараженных клетках останавливается;
- повышают фагоцитарную активность макрофагов и усиливают специфическое цитотоксическое действие лимфоцитов на клетки-мишени.

### 3.7. Регуляция биосинтеза белков

Концентрация многих белков в клетках непостоянна и меняется в зависимости от изменяющихся условий окружающей среды. Регуляция синтеза и распада белков может осуществляться на любой стадии реализации информации, содержащейся в структуре гена, начиная от изменения количества генов, их транскрипции и кончая образованием функционально активного белка (рис. 3.23).

В про- и эукариотических клетках обнаружены белки трех типов:

- конститтивные, присутствующие в клетках в постоянных количествах независимо от условий существования организма. Это белки «домашнего хозяйства», которые обеспечивают жизнеспособность клеток (ферменты биологического окисления, синтеза АТФ, мембран и нуклеиновых кислот);
- индуцируемые, их концентрация может возрастать в десятки или тысячи раз при возникновении потребности клетки в этих белках;
- репрессируемые, скорость синтеза которых может ингибироваться при снижении потребности клетки в соответствующих белках.



**Рис. 3.23. Регуляция реализации генетической информации в фенотипическую.**

Процесс реализации информации может регулироваться на этапах:

1 — транскрипции; 2 — посттранскрипционных модификаций; 3 — транспорта мРНК из ядра в цитоплазму, 4 — продолжительности жизни мРНК; 5 — трансляции; 6 — посттрансляционных превращений полипептидных цепей; 7 — продолжительности жизни белка

Наиболее распространенным механизмом регуляции синтеза белков является регуляция транскрипции, которая определяет уровень экспрессии генов. В деталях этот механизм был изучен на бактериях, хотя и эукариотические клетки используют тот же принцип.

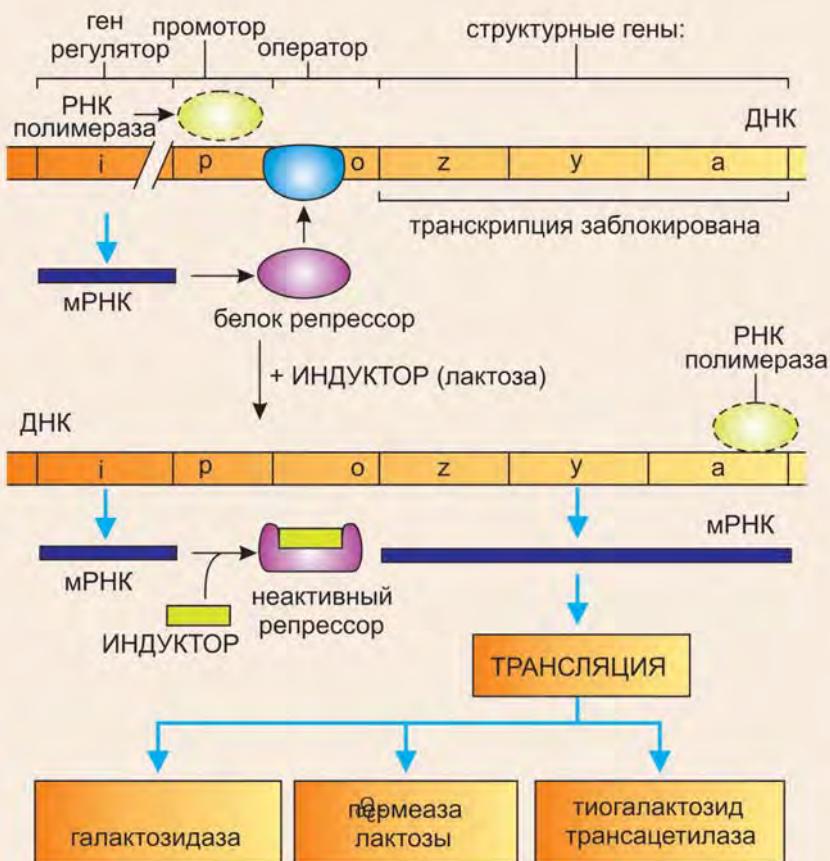
### Регуляция экспрессии генов у прокариотов. Теория оперона

В 1961 году при исследовании индукции синтеза фермента —  $\beta$ -галактозидазы, участвующего в расщеплении лактозы в клетках *E. coli*, было установлено следующее: когда клетки *E. coli* растут на среде, содержащей глюкозу, то в них содержится менее 10 молекул  $\beta$ -галактозидазы на клетку. Если же в среде глюкозу заменить на лактозу, то через несколько минут наблюдается **индукция синтеза белков**, и концентрация ферментов утилизации лактозы увеличивается в сотни раз.

Это явление объяснила теория оперона, доказавшая, что на молекуле ДНК можно обнаружить участки — **опероны**, которые содержат информацию о группе функционально взаимосвязанных структурных белков, и регуляторную зону (участки оператора и гена регулятора), контролирующую транскрипцию этих генов. Экспрессия структурных генов определяется способностью РНК-полимеразы связываться с промотором, расположенным на 5'-конце оперона. Присоединение фермента зависит от **оператора**, участка ДНК, который находится рядом с промотором и даже частично с ним перекрывается. Оператор может связываться с **белком-репрессором**, который синтезируется в клетке с постоянной скоростью. Строение белка-репрессора кодирует мРНК, транскрибируемая с **гена-регулятора**, расположенного на определенном расстоянии от оперона, работу которого он контролирует. Если белок-репрессор присоединяется к оператору, то РНК-полимераза не может связаться с промотором и транскрипция структурных генов не идет. Белки, участвующие в утилизации лактозы, практически не синтезируются (рис. 3.24).

Когда в среде появляется **индуктор** — лактоза и присоединяется к белку-репрессору, то последний изменяет конформацию и теряет сродство к оператору. РНК-полимераза связывается с промотором, структурные гены транскрибируются, синтезируется одна полицистронная молекула мРНК, содержащая информацию о трех белках:  $\beta$ -галактозидазе, пермеазе и галактозидтрансацетилазе, необходимых для утилизации лактозы клетками.

При регуляции оперона по механизму репрессии (например, гистидиновый, триптофановый или изолейциновый опероны) белок-репрессор в клетках, выращенных на среде, содержащей  $\text{NH}_4\text{CL}$  в качестве единственного источника азота, не имеет сродства к оператору. Транскрибируются структурные гены оперонов, которые кодируют ферменты, необходимые для синтеза этих аминокислот. Когда в среду культивирования добавляют **корепрессор** — аминокислоту, за синтез которой отвечает один из этих оперонов, то она связывается с белком-репрессором. Образуется комплекс белок-репрессор — корепрессор, который приобретает сродство к оператору, связывается с ним и транскрипция структур-



**Рис. 3.24. Строение и функционирование лактозного оперона *E. coli***

ных генов прекращается. Принцип регуляции по механизму репрессии сходен с регуляцией по механизму индукции, так как синтез ферментов идет только тогда, когда он необходим для выживания клетки.

### Регуляция экспрессии генов у эукариотов

В организме человека имеется более 200 различных типов клеток, существенно различающихся по структуре и функциям, хотя количество и структура ДНК в них практически одинакова. Разное количество и набор белков в дифференцированных клетках различных типов возникает благодаря существованию:

- механизмов **стабильной репрессии транскрипции** одних генов и прочтения (экспрессии) других на протяжении всей жизни организма, причем в разных тканях стабильной репрессии подвергаются разные гены;

- **адаптивной регуляции**, обеспечивающей приспособление организма к меняющимся условиям внутренней и внешней среды.

На определенных стадиях дифференцировки от гамет до взрослого состояния все гены молекулы ДНК в разные периоды времени и в определенной последовательности экспрессируются. Однако в дифференцированных клетках хроматин приобретает такую укладку, что остается небольшое число генов (5–10 %), способных транскрибироваться. В геноме различают участки **гетерохроматина**, в которых ДНК упакована очень компактно и не транскрибируется, и участки **эухроматина**, имеющие более рыхлую укладку и способные связывать РНК-полимеразу. В разных типах клеток в область эухроматина попадают разные гены.

Стойкая репрессия генов в участках гетерохроматина обеспечивается:

- высококонденсированным состоянием ДНК;
- метилированием дезоксицитидина в 5'- —CG- 3'-последовательностях ДНК (эта модификация изменяет конформацию хроматина и препятствует транскрипции),
- связыванием с гистонами и образованием нуклеосом.

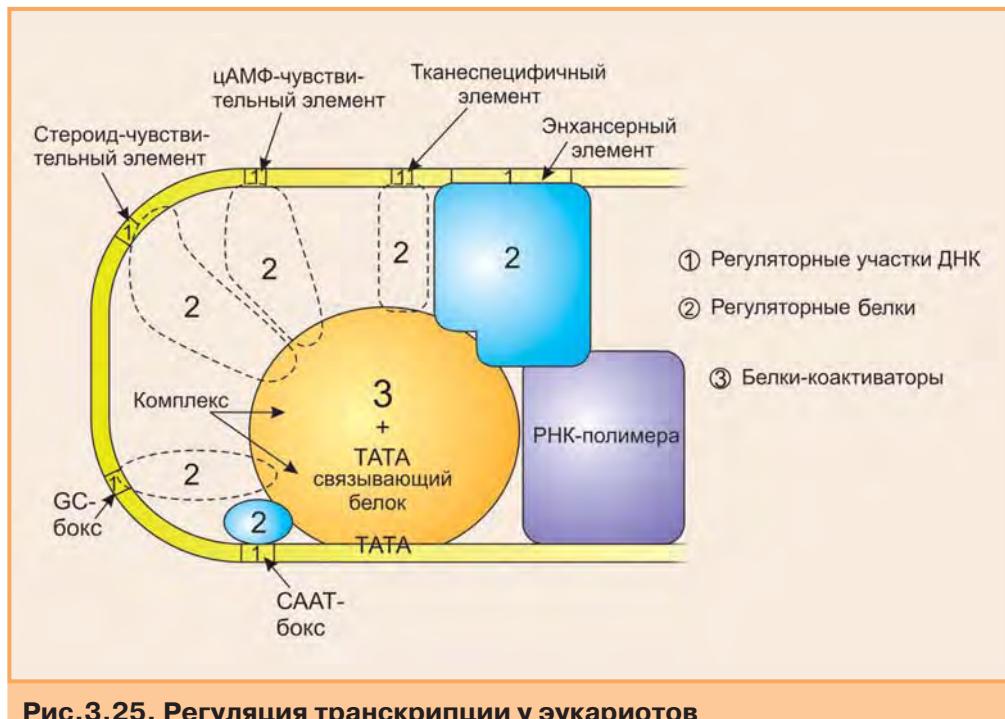
В области эухроматина на ДНК расположены транскрибуемые гены. Для этих областей характерно следующее:

- они более чувствительны к действию ДНК-аз, чем остальные участки;
- молекулы гистонов в них модифицированы путем метилирования или ацетилирования аминогрупп радикалов Лиз и Арг, а остатки Сер фосфорилированы. Это снижает суммарный положительный заряд гистонов и ослабляет связь нуклеосом с ДНК.

Регуляция транскрипции определяет набор и количество белков в клетке. На молекуле эукариотической ДНК на разном расстоянии от стартовой точки транскрипции каждого гена имеются короткие специфические последовательности, которые участвуют в регуляции экспрессии генов. К этим участкам ДНК присоединяются регуляторные белки. Если присоединение белков к регуляторному участку ДНК увеличивает (индуцирует) скорость транскрипции, то такие участки называют **энхансерами** (*enhancer* — усилитель), а если замедляет (репрессирует) транскрипцию, то их называют **сайленсерами** (*silencer* — тушитель). Эти регуляторные участки ДНК могут:

- быть ориентированы на молекуле ДНК в любом направлении;
- связывать с одним или несколькими регуляторными белками;
- располагаться перед или после гена, экспрессию которого они регулируют.

Область, обеспечивающая регуляцию экспрессии генов, включает промоторный участок и дополнительные регуляторные последовательности, в которые входят энхансеры, сайленсеры, гормончувствительные участки, последовательности GC, CAAT и др. Белки, связывающиеся с ДНК в этих участках, называют специфическими регуляторными белками. Они влияют на скорость транскрипции генов, связываясь с белками-посредниками или **коактиваторами**, передающими сигнал на основные транскрикционные факторы и РНК-полимеразу (рис. 3.25).



**Рис.3.25. Регуляция транскрипции у эукариотов**

Индукторами или корепрессорами, стимулирующими присоединение регуляторных белков к ДНК, могут быть гормоны, ионы металлов, субстраты или продукты метаболических путей. У белков-регуляторов имеется три важнейших участка:

- участок, по которому белки взаимодействуют с энхансерами, или сайленсерами;
- участок, к которому присоединяются гормоны, индукторы или корепрессоры;
- участок, взаимодействующий с транскрипционными факторами и изменяющий средство промотора к РНК-полимеразе.

Определенное значение в регуляции состава и содержания белков имеют посттранскриptionные превращения пре-мРНК в процессе альтернативного сплайсинга, изменение стабильности РНК в разные периоды жизни клетки. Описаны примеры влияния факторов среды на средство рибосом к мРНК, посттрансляционные модификации полипептидных цепей и изменения продолжительности жизни белковых молекул.

Количество синтезируемых белков зависит также от **изменения количества структурных генов**. Число копий отдельных генов может возрастать (**амплифицироваться**), если возникает необходимость увеличить синтез определенного гена.

ного продукта. Так, в ответ на повышение концентрации тяжелых металлов в крови в тканях происходит амплификация гена металлотионеина. Продукт экспрессии этого гена — низкомолекулярный белок, способный связывать тяжелые металлы: медь, ртуть, кадмий, цинк и др., и защищать клетки от отравления этими веществами.

Встречаются случаи утраты генетического материала. Они отмечаются в процессе образования В-лимфоцитов разных клонов и классов, в процессе дифференцировки клеток кроветворной системы и образования эритроцитов, когда происходит потеря всего генома за счет разрушения ядра и митохондрий.

У высших организмов обнаружены процессы обмена, перемещения генов внутри хромосомы и между хромосомами, объединение генов с образованием измененной хромосомы. Эти процессы называют **генетическими рекомбинациями**. Они наблюдаются при:

- половом слиянии яйцеклетки и сперматозоида;
- перемещении подвижных генетических элементов — транспозонов;
- формировании в В- и Т-лимфоцитах генов, кодирующих Т-рецепторы и антитела или иммуноглобулины.

### 3.8. Механизмы генетической изменчивости. Полиморфизм белков. Наследственные болезни

Геном клеток постоянно претерпевает разнообразные изменения, и, несмотря на эффективность механизмов reparации, часть ошибок и повреждений в структуре ДНК сохраняется. Эти нерепарированные изменения в первичной структуре ДНК называют **мутациями**. Они возникают в результате ошибок в работе ДНК-полимераз в ходе репликации, ДНК-репарирующих систем и под воздействием факторов внешней или внутренней среды. Соматические мутации не наследуются, но могут вызывать различные функциональные нарушения, трансформацию клеток и образование опухолей. **Мутации в половых клетках** передаются по наследству. Они могут проявляться в фенотипе потомства как **наследственная болезнь**, связанная с низкой активностью или полным отсутствием определенного фермента или белка. Генные или точковые мутации бывают в основном трех видов:

- **замены**, при которых одно азотистое основание в ДНК замещается на другое;
- **вставки**, когда в структуру ДНК внедряется одно или несколько дополнительных нуклеотидов;
- **делеции** или **выпадения** одного или нескольких нуклеотидов.

Каждый вид мутаций вызывает разные фенотипические последствия (табл. 3.3)

мутации по типу замены изменяют структуру одного из кодонов. В результате:

- мутация может быть **молчащей**, если триплет, в котором находится измененный нуклеотид; из-за вырожденности кода шифрует включение в белок той же аминокислоты, что и исходный кодон. Белковый продукт в этом случае идентичен исходному;
- может произойти замена одной аминокислоты на другую — **миссенс-мутация**. Мутантный белок при этом:

полностью либо частично сохраняет функциональную активность, если измененная аминокислота по структуре и свойствам напоминает исходную (эквивалентная замена) и находится в участке, удаленном от активного центра белка;

может полностью терять активность, если измененная аминокислота располагается в области, важной для проявления функциональной активности белка (например, в активном центре) и/или отличается по структуре и свойствам от исходной (неэквивалентная замена).

Обычно миссенс-мутация делает белок менее эффективным, но в единичных случаях может улучшать его функцию

- может возникнуть один из терминирующих кодонов: UAA, UAG, UGA — **нonsense-мутация**, в результате синтез белка прекращается на этом кодоне и образуется укороченный белок. Функциональная активность мутантного белка может варьировать в широких пределах и будет зависеть от места мутации в гене.

**Деления и вставки** дают также неоднозначные результаты:

- если включается или выпадает один нуклеотид или фрагмент ДНК с числом нуклеотидов, не кратным трем, то происходит сдвиг рамки считывания информации, т.е. при трансляции вся информация, расположенная за местом мутации, читается неверно. Синтезируется белок, который, начиная с места мутации, имеет случайную последовательность аминокислот;
- при выпадении или включении в ДНК участка с длиной цепи, кратной трем, сдвига рамки считывания информации не происходит (делеция или вставка без сдвига рамки считывания информации). Синтезируется укороченный при делеции или удлиненный при вставке мутантный белок.

Большинство клеток человека **диплоидны**, т.е. они содержат две копии каждой хромосомы (гомологичные хромосомы). В ДНК каждой хромосомы содержится более тысячи генов. Соответствующие друг другу гены в гомологичных хромосомах называют **аллелями**: если структура аллелей идентична, то их белковые продукты будут также идентичны, а индивидуум, имеющий такие аллели, будет **гомозиготен** по данному признаку. В результате мутаций и рекомбинаций в структуре одного из аллелей могут возникнуть различия. Если у человека име-

Таблица 3.3

| Основные виды генных мутаций                              |                                                                                              |                                                                                            |
|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| Вид мутации                                               | Изменения в структуре ДНК                                                                    | Изменения в структуре белка                                                                |
| <b>Замена</b><br>«Молчая» — без изменения смысла кодона   | Замена одного нуклеотида в кодоне на другой                                                  | Белок не изменен                                                                           |
| «Миссенс-мутация» с изменением смысла кодона              |                                                                                              | Происходит замена одной аминокислоты на другую                                             |
| «Нонсенс-мутация» — с образованием терминирующего кодона  |                                                                                              | Синтез пептидной цепи прерывается, белок укорачивается на одну или несколько аминокислот   |
| <b>Вставка</b><br>Без сдвига рамки считывания информации  | Включение нуклеотидов в структуру ДНК                                                        | Удлинение полипептидной цепи белка                                                         |
| Со сдвигом рамки считывания информации                    | Вставка фрагмента ДНК из трех нуклеотидов или с числом нуклеотидов, кратным трем             | Происходит удлинение полипептидной цепи белка на одну или несколько аминокислот            |
| <b>Делекция</b><br>Без сдвига рамки считывания информации | Выпадение нуклеотидов и укорочение молекулы ДНК                                              | Укорочение белка                                                                           |
| Со сдвигом рамки считывания информации                    | Выпадение фрагмента ДНК, состоящего из трех нуклеотидов или числа нуклеотидов, кратного трем | Белок укорачивается, но за местом мутации имеет «случайную» последовательность аминокислот |

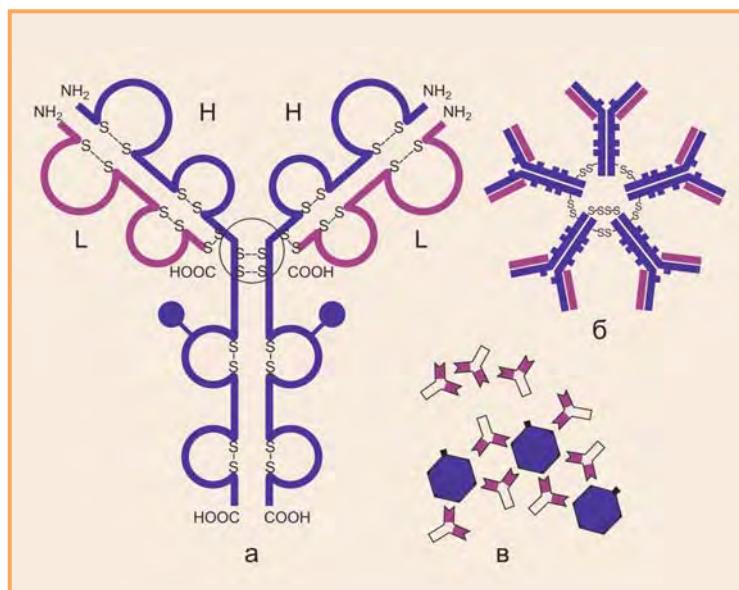
ется два разных аллеля одного гена, то говорят о **гетерозиготном наследовании** этого гена. В популяции людей может существовать огромное множество вариантов одного аллеля, хотя каждый отдельный человек наследует только два. Белковые продукты, образующиеся при экспрессии вариантов одного и того же гена, называют **полиморфами**. Полиморфные белки могут различаться по функциональной активности. Появление вариантов с сильносниженной функциональной активностью или полностью неактивных приводит к развитию **наследственных болезней**. Так, дефект в структуре гена гистидазы, катализирующей дезаминирование гистидина, вызывает накопление этой аминокислоты в крови и развитие наследственной патологии — **гистидинемии**, которая проявляется нарушениями в умственном и физическом развитии детей. Низкая активность любого из ферментов, участвующих в синтезе мочевины, сопровождается симптомами накопления амиака в организме — **гипераммониемией**.

Мутации в копиях генов, изменение положения генов в хромосоме за счет рекомбинаций приводят к появлению новых генов, которые кодируют белки, родственные исходному, но отличающиеся от него определенными свойствами. Так возникли **семейства родственных белков**, например миоглобин и протомеры гемоглобина, группа протеолитических ферментов (трипсин, химотрипсин, плазмин, тромбин и др.).

### 3.9. Образование белков иммунной системы

Иммунная система человека включает молекулы и клетки, ответственные за защитные свойства организма. Они способны распознавать и уничтожать чужеродные макромолекулы, паразитарные организмы и мутантные клетки. Особенно разнообразно семейство иммуноглобулинов. Так, в организме каждого человека образуется около десяти миллионов ( $10^7$ ) различных антител, количества значительно большего, чем все остальные существующие белки. Мономеры антител — доменные белки, состоят из двух идентичных **легких** (L) и двух идентичных **тяжелых** (H) цепей, соединенных между собой дисульфидными связями. Они имеют Y-образную форму. Легкие цепи включают два домена: один **вариабельный** ( $V_L$ ) и один **константный** ( $C_L$ ), а тяжелые: один вариабельный ( $V_H$ ) и три-четыре константных ( $C_H$ ). Разнообразие антител определяют вариабельные области, расположенные на N-конце полипептидных цепей и формирующие активные центры этих молекул. По различиям первичной структуры С-доменов легкие цепи принадлежат двум типам: κ и λ, а на основании различий в структуре константных областей Н-цепей, входящих в мономеры, все иммуноглобулины делят на пять классов (табл. 3.4).

Мономерные антитела двухвалентны, т.е. имеют два центра связывания антигена. В то же время к каждой чужеродной молекуле или клетке может присоединиться несколько антител, так как антиген содержит несколько **антигенных детерминант** (участков, к которым образуются антитела). В результате возникают сложные высокомолекулярные комплексы, которые выпадают в осадок. На этом основана **реакция преципитации** для обнаружения антигенов соответствующими антителами (рис. 3.26).



**Рис. 3.26. Строение иммуноглобулинов и комплексов антиген — антитело:**

а — строение иммуноглобулина-мономера (Н — тяжелые, L — легкие цепи); N — концевые домены Н- и L-цепей. Вариабельные области образуют активные центры;

б — молекула Ig M, 5 мономеров связаны дисульфидными связями;

в — комплексы антиген — антитело

Таблица 3.4

## Классы иммуноглобулинов человека

| Класс Ig | Тип H-цепи | Строение Ig                                                                                     | Концентрация в крови мг/дл | Характеристика углеводной компоненты, % от Мм | Характеристика класса Ig                                                                                         |
|----------|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ig G     | γ          | κ <sub>2</sub> γ <sub>2</sub> или λ <sub>2</sub> γ <sub>2</sub>                                 | 1000–1700                  | 4%<br>(1 олиго-сахаридная цепь)               | Продукт вторичного иммунного ответа, проходит плацентарный барьер, защищает эмбрион от инфекций                  |
| Ig A     | α          | (λ <sub>2</sub> α <sub>2</sub> ) <sub>2–4</sub>                                                 | 200                        | 10%<br>(2–4 олигосахаридной цепи)             | Продукт секреторных желез, обеспечивает защиту эпителиальных клеток                                              |
| Ig M     | μ          | (κ <sub>2</sub> μ <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> или (λ <sub>2</sub> μ <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> | 120                        | 18%<br>(5 олиго-сахаридных цепей)             | Пентамеры, имеют 10 активных центров, обеспечивают первичный иммунный ответ на вирусную и бактериальную инфекции |
| Ig D     | δ          | κ <sub>2</sub> δ <sub>2</sub> или λ <sub>2</sub> δ <sub>2</sub>                                 | 3–4                        | 18%<br>(5 олиго-сахаридных цепей)             | Играют роль рецепторов В-лимфоцитов                                                                              |
| Ig E     | ε          | κ <sub>2</sub> ε <sub>2</sub> или λ <sub>2</sub> ε <sub>2</sub>                                 | 0,05                       | 18%<br>(5 олиго-сахаридных цепей)             | Связываются с тучными клетками и базофилами и становятся рецепторами антигенов этих клеток                       |

Комплексы антител с антигенами поглощаются фагоцитирующими макрофагами и нейтрофилами, поскольку последние имеют рецепторы к Fc-области антител, либо расщепляются ферментами системы комплемента.

Огромное многообразие белков иммунной системы кодируется ограниченным количеством генетического материала, который образует множество генов за счет рекомбинаций и соматических мутаций. В молекуле ДНК отдельные участки полипептидных цепей иммуноглобулинов кодирует набор сегментов.

Легкие (L) цепи кодируются тремя сегментами: V-вариабельным, J-соединяющим и C-константным, а каждая тяжелая (H) цепь — четырьмя сегментами: V, D — сегментом разнообразия, J и C. Количество V сегментов составляет несколько сотен, D-сегментов у человека 15, J-сегментов — 4–5, а C-сегментов от одного для семейства к до 10 для C-сегментов тяжелых цепей.

В зародышевых кроветворных и всех соматических клетках, не синтезирующих антител, сегменты, кодирующие V- и C-домены L- и H-цепей, разделены протяженными нуклеотидными последовательностями. В ходе дифференцировки клеток-предшественников в зрелые В-лимфоциты полные гены L-цепей собираются из трех сегментов в результате одной соматической рекомбинации: один из 300 V-сегментов перемещается в область, находящуюся непосредственно перед одним из пяти J-сегментов, с образованием смешанного VJ-экзона. При формировании полного гена H-цепи первоначально собирается смешанный экзон из двух любых D- и J-сегментов в процессе первой рекомбинации. Затем в участок непосредственно перед DJ-экзоном перемещается один из Vn сегментов в ходе второй рекомбинации и образуется полный ген H-цепи Ig M (рис. 3.27), поскольку к смешанному VnDnJn-экзону, кодирующему вариабельный домен H-цепи ближе всех находится Cn-сегмент. Десять Cn-сегментов константной области содержат информацию о строении доменов этой области и определяют классы и подклассы иммуноглобулинов: Ig M, Ig G, Ig A и т.д.

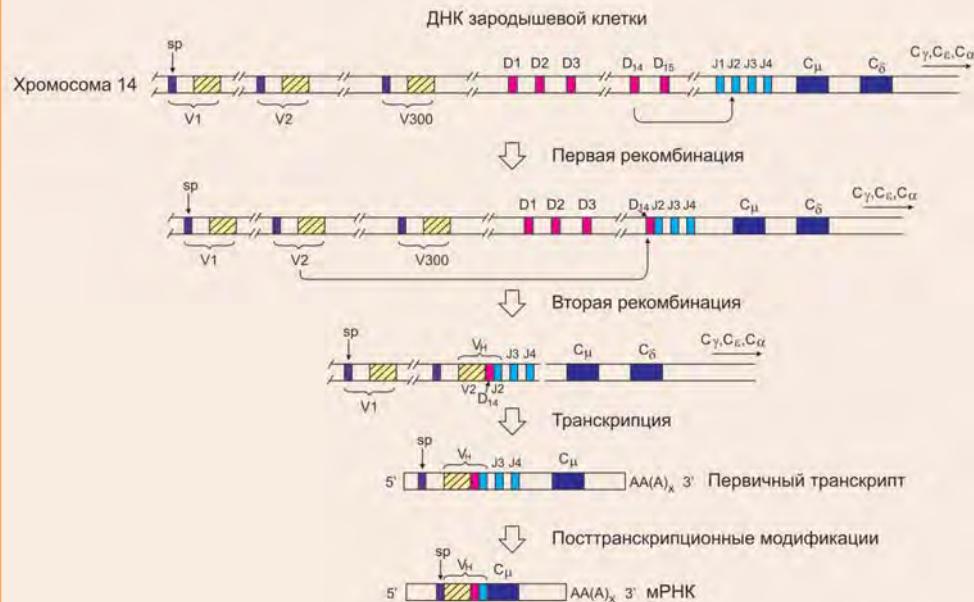
Переключение синтеза антител с одного класса на другой сопровождается дополнительной рекомбинацией, в процессе которой удаляются Cn сегменты между полным геном вариабельного домена VnDnJn и Cn областью синтезируемого класса.

В зрелых В-лимфоцитах помимо рекомбинаций происходят соматические мутации в вариабельных участках H- и L-генов иммуноглобулинов, что делает многообразие антител практически неисчерпаемым.

### 3.10. Использование ДНК-технологий в медицине

В настоящее время интенсивно развиваются методы, позволяющие выделять гены или их фрагменты из гигантских молекул ДНК, получать большое количество копий этого материала и использовать его для выявления:

- мутаций в генах;
- инфицированности человека бактериальными или вирусными заболеваниями;
- носительства патологических генов, являющихся причиной наследственных болезней, а также для идентификации личности и установления родства.

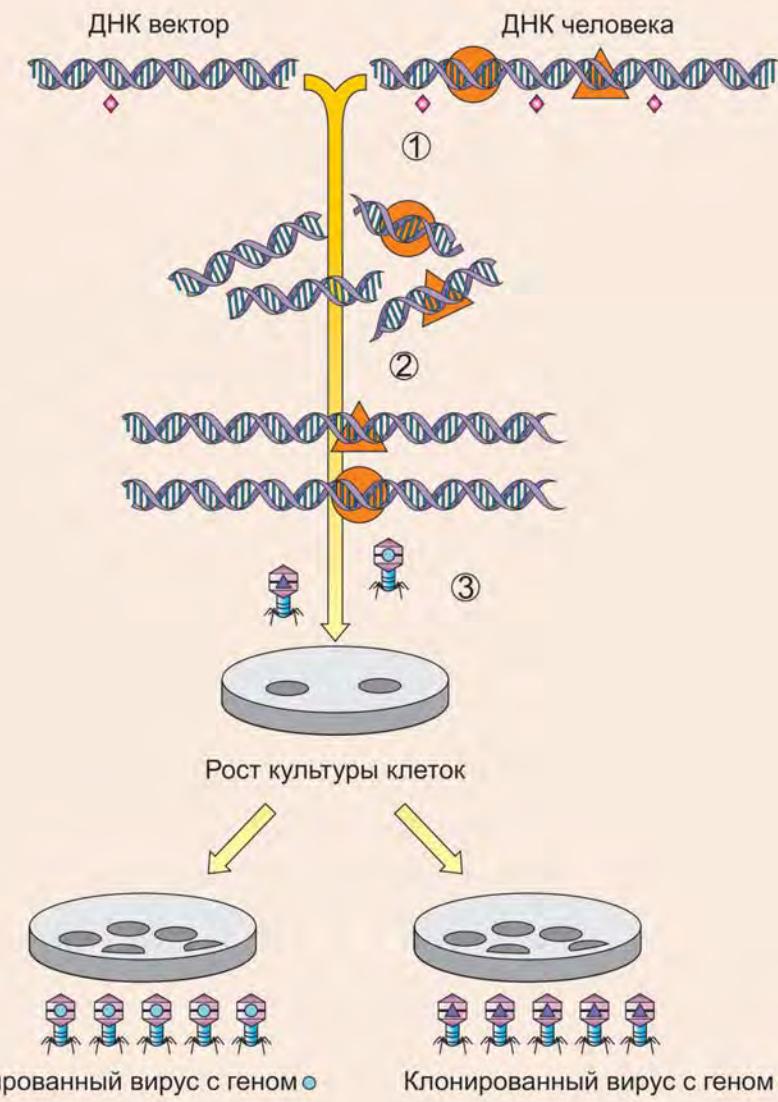


**Рис. 3.27. Образование мРНК, кодирующей строение одной из Н-цепей иммуноглобулинов.**

Ген, кодирующий одну из возможных тяжелых цепей Ig, образуется в результате двух последовательных рекомбинаций, которые объединяют сегменты вариабельного домена и приближают их к константному сегменту. Удаление лишних J сегментов и инtronов происходит в ходе посттранскрипционной модификации пре-мРНК sp — экзон, кодирующий сигнальный пептид.

С этой целью из тканей и клеток, содержащих ядра лейкоцитов, слюны, мочи, биоптатов, гистологических срезов, выделяют ДНК и фрагментируют с помощью гидролитических ферментов — **рестриктаз**. Рестриктазы узнают определенные короткие последовательности нуклеотидов (4–6 нуклеотидных пар) и расщепляют обе нити ДНК с образованием двуцепочечных («слепых») или одноцепочечных («липких») концов. Количество каждого фрагмента очень мало, поэтому нужный для исследования фрагмент многократно удваивают (амплифицируют) с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) или в составе рекомбинантной ДНК.

**Рекомбинантные ДНК** — ДНК, построенные из участков разного происхождения. Их получают следующим образом: ДНК из двух разных источников, чаще всего ДНК человека и ДНК плазмиды (небольших кольцевых молекул ДНК, способных автономно реплицироваться в бактериальных клетках), или вируса,

**Рис. 3.28. Схема клонирования ДНК в бактериальных клетках:**

- 1 — ДНК человека и вируса, являющегося вектором, расщепляют с помощью одной и той же рестриктазы, образующей фрагменты с «липкими» концами;
- 2 — фрагменты объединяются за счет комплементарного взаимодействия азотистых оснований и сшиваются ДНК-лигазой;
- 3 — получают вирусы, в состав которых входят рекомбинантные ДНК, образованные ДНК вируса и генами человека, ими трансформируют бактериальные клетки;
- 4 — в процессе роста трансформированных клеток получают значительные количества генетического материала человека

фрагментируют одной и той же рестриктазой с образованием «липких» концов (рис. 3.28). После денатурации молекул нагреванием и последующего медленного охлаждения («отжига») ДНК ренативирует, и наряду с исходными молекулами за счет «липких» концов получаются рекомбинантные молекулы, состоящие из участков ДНК человека и плазмиды (вируса). Эти участки сшивают ДНК-лигазой, и гибридную плазмиду (вирус) вводят в бактериальные клетки. При выращивании трансформированных бактерий в культуре экспрессируются «чужие» гены, и из бактериальной массы можно получить значительные количества интересующей нас ДНК, мРНК и белка.

Для получения рекомбинантных ДНК кроме фрагментов ДНК, выделенных из клеток тканей, используют ДНК, синтезированную с помощью **обратной транскриптазы** или РНК-зависимой ДНК-полимеразы. Фермент по принципу комплементарности катализирует синтез ДНК из четырех дНТФ на матрице мРНК. Продукт реакции — ДНК, не содержащая инtronов, в отличие от участков ДНК из ядерного материала клеток эукариотов.

Фрагменты ДНК длиной в несколько сотен нуклеотидных пар можно амплифицировать с помощью ПЦР в условиях *in vitro* (в пробирке). Для проведения ПЦР нужно знать нуклеотидную последовательность концевых участков фрагмента. В соответствии с этим химическим путем синтезируют два праймера — одноцепочечных олигодезоксинуклеотида, состоящих из 15–30 нуклеотидов, и комплементарных 3'-концам обеих нитей копируемой ДНК-матрицы.

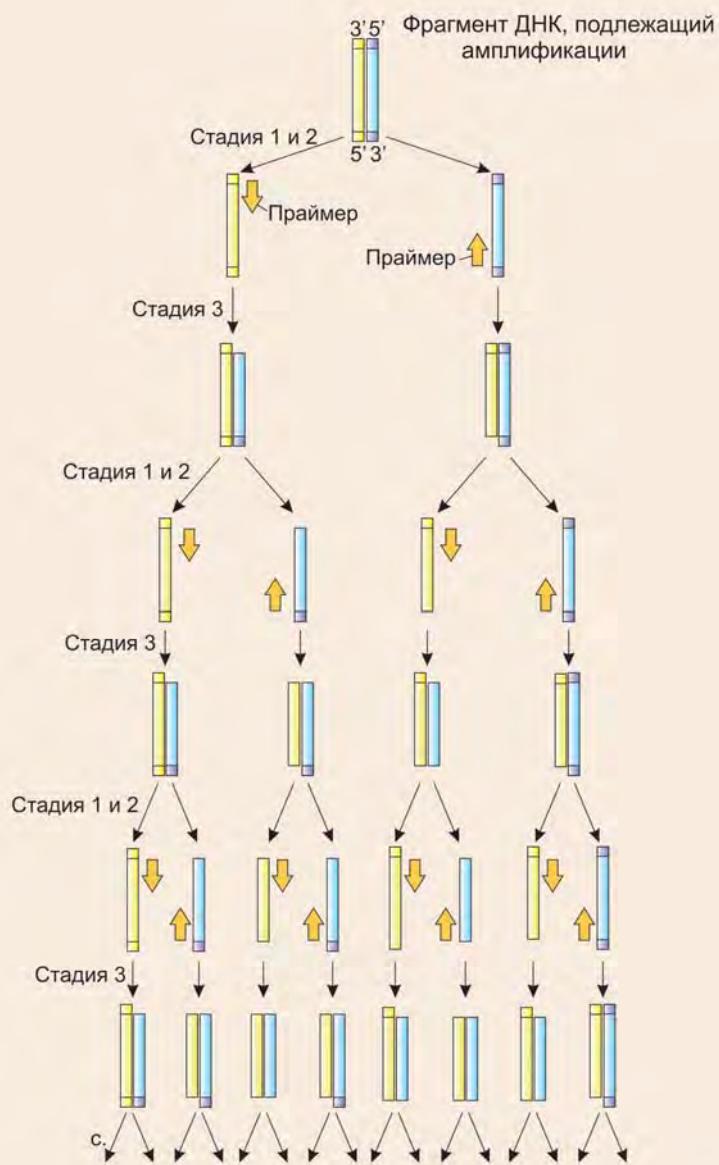
Реакционная смесь для получения копий содержит:

- матрицу — ДНК, выделенную из исследуемого образца;
- субстраты — 4-е дНТФ;
- фермент — термостабильную ДНК-полимеразу (Тaq- полимеразу);
- два праймера;
- буфер для создания оптимального pH и ионы  $Mg^{2+}$ , являющиеся кофактором Таq-полимеразы;

Праймеры ограничивают участок ДНК, который должен быть амплифицирован. Каждый цикл получения копий ДНК включает три стадии:

- плавление: реакционную смесь нагревают до 90–95°, ДНК денатурирует, образуя одноцепочечные нити;
- гибридизацию ДНК с праймерами: температуру снижают до 50–60° и праймеры комплементарно связываются с нитями ДНК;
- элонгация: присоединение Таq- полимеразы к 3'-концу праймеров и синтез ДНК в направлении от 5'- к 3'-концу комплементарно ДНК-матрице.

Процесс автоматизирован, проводится в приборе — **циклизаторе** или амплификаторе ДНК, который позволяет задавать нужное количество циклов и оптимальные временные и температурные параметры. За 25–30 циклов синтезируется несколько миллионов копий (рис. 3.29).

**Рис. 3.29. Полимеразная цепная реакция.**

Праймеры — полученные химическим синтезом олигодезоксирибонуклеотиды.

**Стадия 1 и 2** — нагревание до 90–95° и денатурация ДНК, охлаждение до 50–60° и комплементарное связывание ДНК с праймерами

**Стадия 3** — элонгация праймеров с участием Таq-полимеразы и дАТФ, дГТФ, дТТФ и дЦТФ при температуре ~70°

Используя указанные технологии и ДНК-конструкции, решаются не только ранее перечисленные задачи, но также:

- выращиваются модифицированные микроорганизмы как продуценты гормонов (инсулина, гормона роста, соматостатина и др.), биологически активных пептидов, факторов, участвующих в свертывании крови;
- создаются новые виды растений и животных
- пытаются лечить наследственные болезни путем введения в клетки генов, которые у пациентов утрачены или дефектны. Для этих целей все чаще используют полимерные носители — **наночастицы**, осуществляющие направленную доставку необходимых компонентов в поврежденные органы и ткани.

## Биологические мембранны

Все живые клетки отделены от окружающей среды поверхностью, называемой клеточной мембраной. Кроме того, для эукариотов характерно образование внутри клеток компартментов. Они представлены рядом субклеточных органелл, ограниченных мембранами, например ядро и митохондрии. Мембранны представляют собой не только статически организованные поверхности раздела, но и включают активные биохимические системы, отвечающие за такие процессы, как избирательный транспорт веществ внутрь и наружу клетки, связывание гормонов и других регуляторных молекул, протекание ферментативных реакций, передача импульсов нервной системы и т.д. (рис. 4.1). Существуют различные типы мембран, отличающиеся по выполняемым функциям. Функции мембран обусловлены их строением.

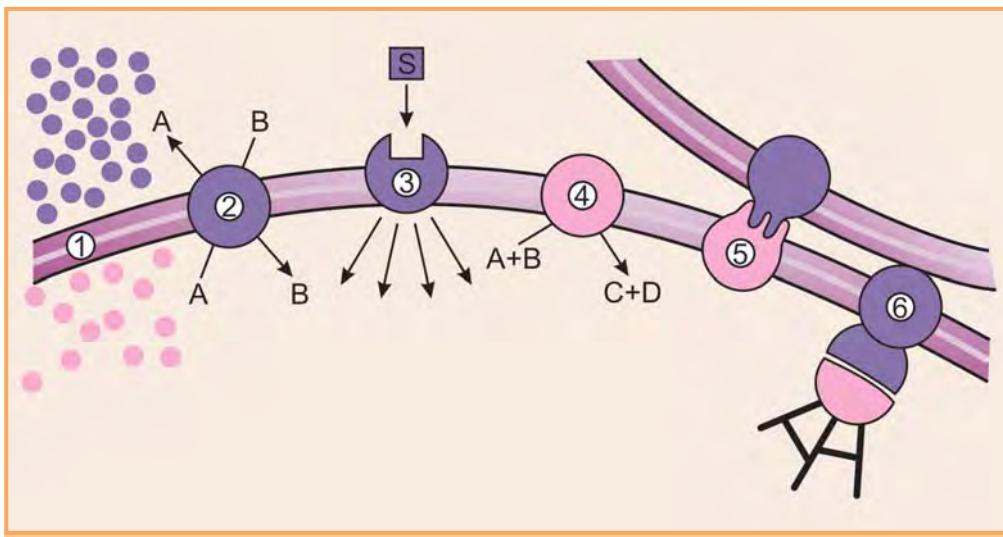


Рис. 4.1. Функции мембран

## Химический состав

Мембранны состоят из липидных и белковых молекул, относительное количество которых варьирует (от 1/5 — белок + 4/5 — липиды до 3/4 — белок + 1/4 — липиды) у разных мембран. Углеводы содержатся в форме гликопротеинов, гликолипидов и составляют 0,5–10% вещества мембраны.

### Липиды мембран

Основная часть липидов в мембранах представлена фосфолипидами, гликолипидами и холестеролом. Строение этих липидов представлено на рис. 4.2. Ли-

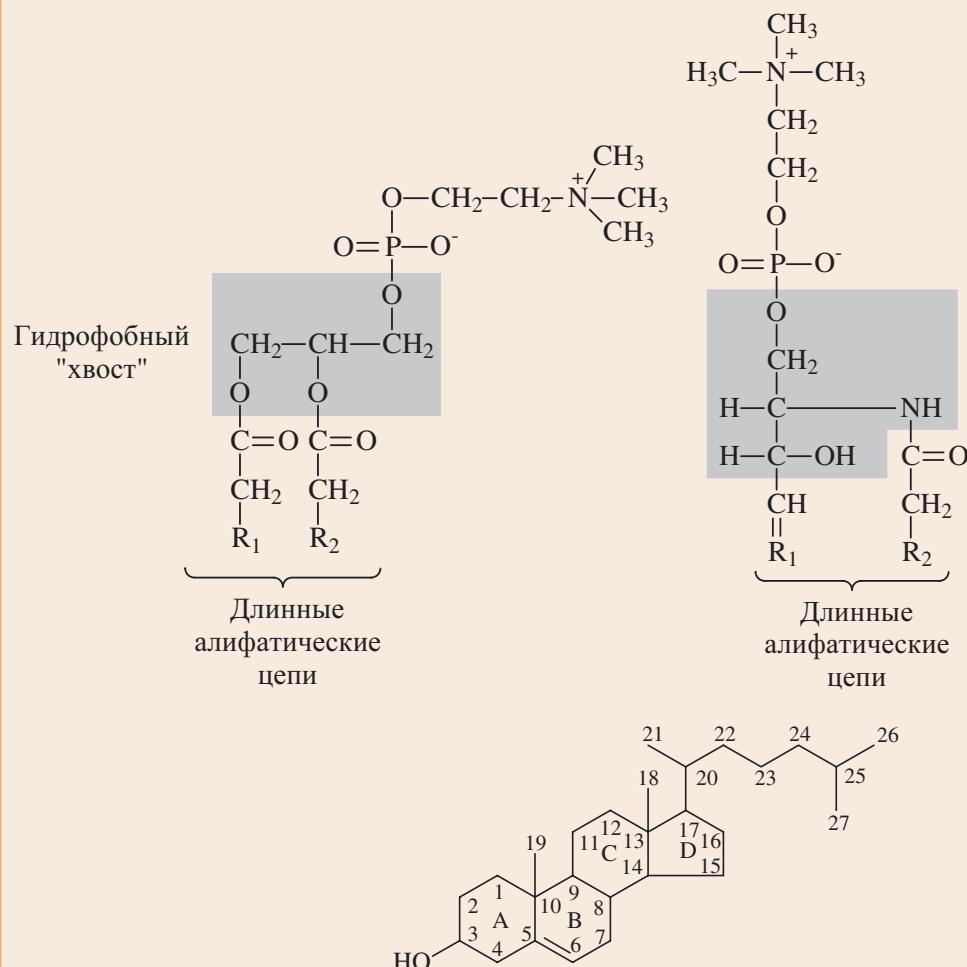


Рис. 4.2. Строение некоторых липидов, входящих в мембранны

пиды мембран имеют в структуре две части: неполярный гидрофобный «хвост» и полярную гидрофильную «голову». Такую двойственную природу соединений называют амфифильной. Липиды мембран образуют двухслойную структуру. Каждый слой состоит из сложных молекул липидов, расположенных таким образом, что неполярные гидрофобные «хвосты» находятся в тесном контакте друг с другом. Так же контактируют гидрофильные части молекул. Все взаимодействия имеют нековалентный характер. Два монослоя ориентируются «хвост к хвосту», так, что образующаяся структура двойного слоя имеет внутреннюю неполярную часть и две полярные поверхности. Белки мембран включены в липидный бислой тремя способами:

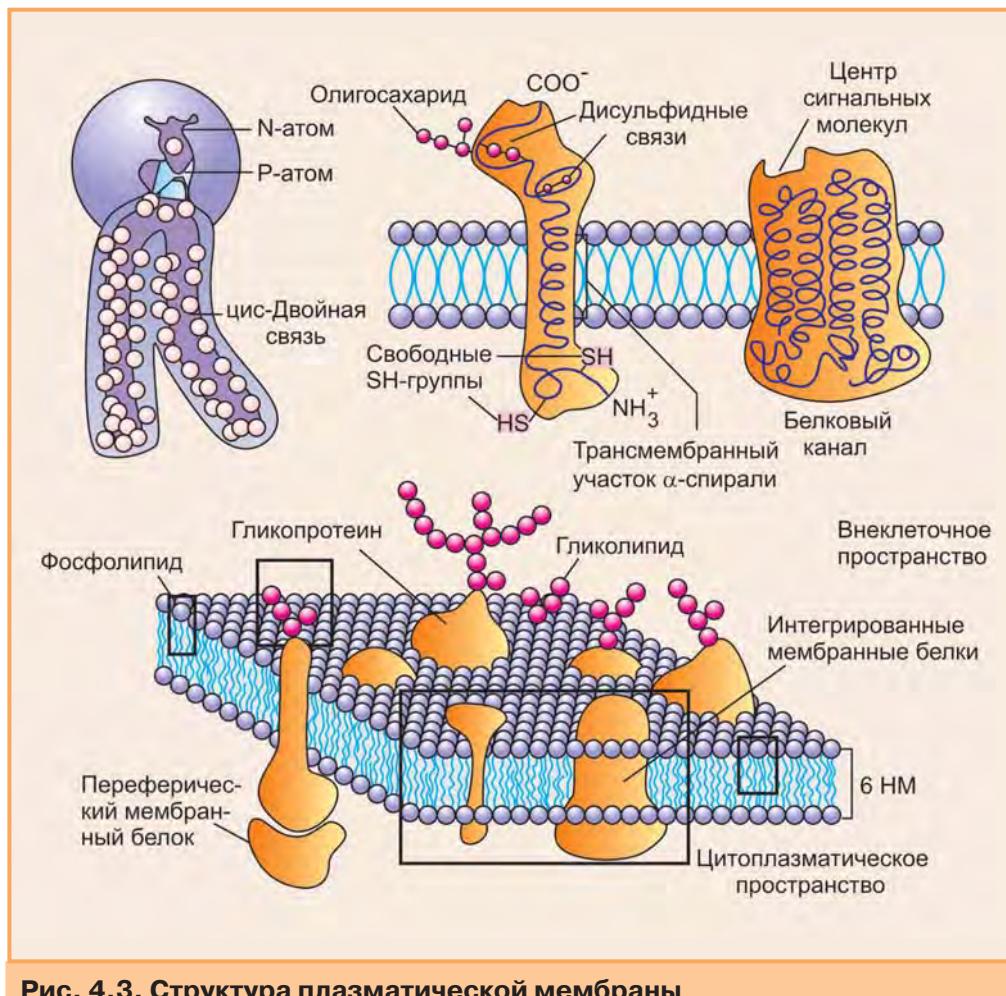
- 1) связаны с гидрофильной поверхностью липидного бислоя — поверхностные мембранные белки;
- 2) погружены в гидрофобную область бислоя;
- 3) пронизывают мембрану — интегральные мембранные белки.

Поверхностные белки своими гидрофильными радикалами аминокислот взаимодействуют нековалентными связями с гидрофильными группами липидного бислоя. Интегральные белки различаются по степени погруженности в гидрофобную часть бислоя. Они могут располагаться внутри мембраны и частично погружаться в мембрану либо прошивать мембрану насквозь. Внутримембральная часть интегральных белков содержит большое количество аминокислот с гидрофобными радикалами, которые обеспечивают гидрофобное взаимодействие с липидами мембран. Гидрофобные взаимодействия поддерживают определенную ориентацию белков в мемbrane. Гидрофильная выступающая часть белка не может переместиться в гидрофобный слой. Часть мембранных белков ковалентно связаны с моносахаридными остатками или олигосахаридными цепями и представляют собой гликопротеины. Примеры расположения белков и липидов в мембране представлены на рис. 4.3.

### Асимметрия мембран

Хотя каждый монослой образован из липидов, ориентированных одинаковым образом, тем не менее липидный состав монослоев различен. Например, в плазматической мембране эритроцитов фосфатидилхолины преобладают в наружном слое, а фосфатидилсерины — во внутреннем слое мембраны. Углеводные части белков и липидов располагаются на наружной части мембраны. Кроме того, поверхности мембраны отличаются по составу белков. Степень такой асимметрии мембран различна у разных типов мембран и может меняться в процессе жизнедеятельности клетки и ее старения.

Жесткость и текучесть мембран также зависят от ее состава. Повышенная жесткость обуславливается увеличением соотношения насыщенных к ненасыщенным жирным кислотам в составе фосфолипидов, а также холестерола. Физические свойства мембран зависят от расположения белков в липидном



**Рис. 4.3. Структура плазматической мембраны**

слое. Липиды мембран способны к диффузии в пределах слоя параллельно поверхности мембраны (латеральная диффузия). Поверхностные белки тоже способны к латеральной диффузии. Поперечная диффузия в мембранах сильно ограничена.

### Мембранный транспорт

Транспорт веществ внутрь и наружу клетки, а также между цитоплазмой и различными субклеточными органеллами (митохондриями, ядром и т.д.) обеспечивается мембранами. Если бы мембранны были глухим барьером, то внутриклеточное пространство оказалось бы недоступным для питательных веществ, а продукты жизнедеятельности не могли бы быть удалены из клетки. В то же время при полной

проницаемости было бы невозможно накопление определенных веществ в клетке. Транспортные свойства мембраны характеризуются полупроницаемостью: некоторые соединения могут проникать через нее, а другие — нет (рис. 4.4).

Одна из главных функций мембран — регуляция переноса веществ. Существуют два способа переноса веществ через мембрану: пассивный (А) и активный (Б) транспорт (рис. 4.5).

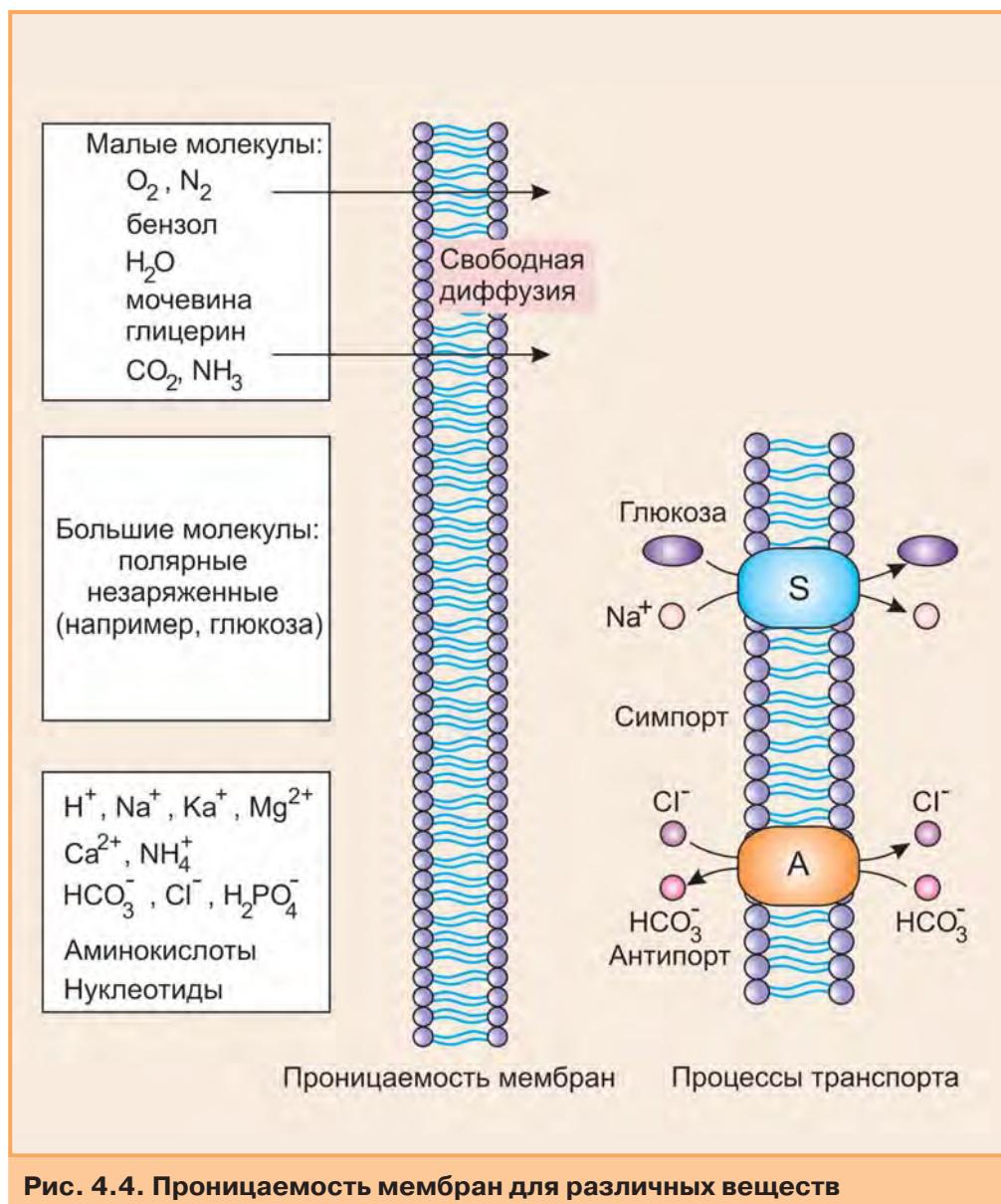


Рис. 4.4. Проницаемость мембран для различных веществ

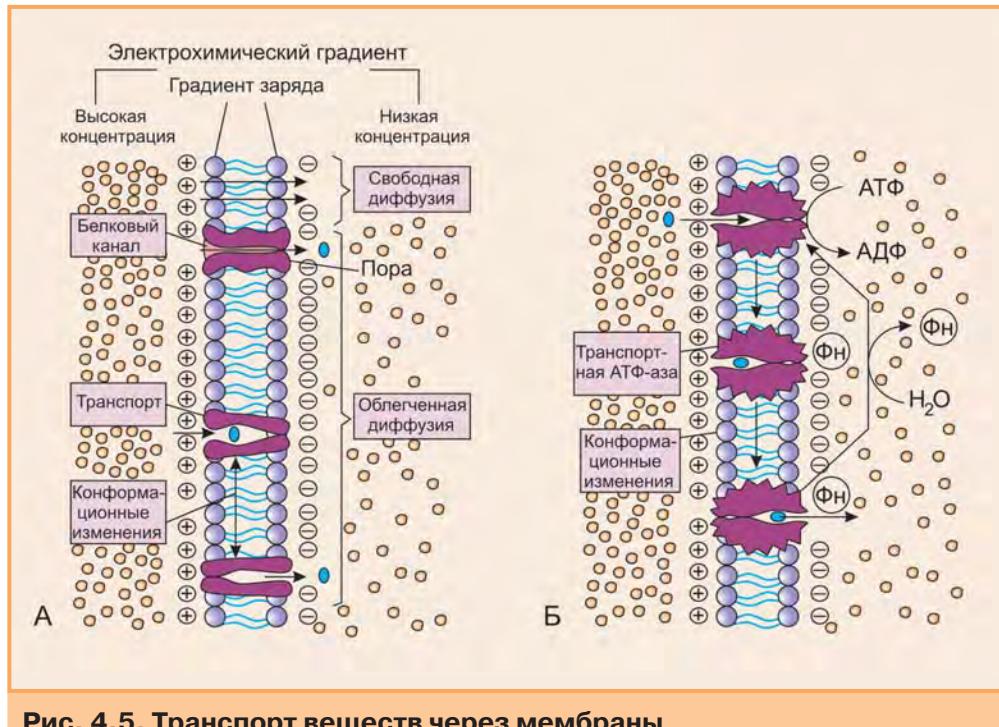


Рис. 4.5. Транспорт веществ через мембранны

**Пассивный транспорт.** Если вещество движется через мембрану из области с высокой концентрацией в сторону низкой концентрации (т.е. по градиенту концентрации этого вещества) без затраты клеткой энергии, то такой транспорт называется пассивным, или диффузией. Различают два типа диффузии: простую и облегченную.

**Простая диффузия** характерна для небольших нейтральных молекул ( $H_2O$ ,  $CO_2$ ,  $O_2$ ), а также гидрофобных низкомолекулярных органических веществ. Эти молекулы могут проходить без какого-либо взаимодействия с мембранными белками через поры или каналы мембранны до тех пор, пока будет сохраняться градиент концентраций.

**Облегченная диффузия** характерна для гидрофильных молекул, которые переносятся через мембрану также по градиенту концентрации, но с помощью специальных мембранных белков-переносчиков. Для облегченной диффузии в отличие от простой диффузии характерна высокая избирательность, так как белок-переносчик имеет центр связывания, комплементарный транспортируемому веществу, и перенос сопровождается конформационными изменениями белка. Один из возможных механизмов облегченной диффузии может быть следующим: транспортный белок (транслоказа) связывает вещество, затем сближается с противоположной стороной мембранны, освобождает это веще-

ство, принимает исходную конформацию и вновь готов выполнять транспортную функцию. Малоизвестно о том, как осуществляется передвижение самого белка. Другой возможный механизм переноса предполагает участие нескольких белков-переносчиков. В этом случае первоначально связанное соединение само переходит от одного белка к другому, последовательно связываясь то с одним, то с другим белком, пока не окажется на противоположной стороне мембраны.

**Активный транспорт** имеет место в том случае, когда перенос осуществляется против градиента концентрации. Такой перенос требует затраты энергии клеткой. Активный транспорт служит для накопления веществ внутри клетки. Источником энергии часто является АТФ. Для активного транспорта кроме источника энергии необходимо участие мембранных белков. Одна из активных транспортных систем в клетке животных отвечает за перенос ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  через клеточную мембрану. Эта система называется  $\text{Na}^+, \text{K}^+$  – насос. Она отвечает за поддержание состава внутриклеточной среды, в которой концентрация  $\text{K}^+$  выше, чем  $\text{Na}^+$  (рис. 4.6).

Градиент концентрации калия и натрия поддерживается путем переноса  $\text{K}^+$  внутрь клетки, а  $\text{Na}^+$  наружу. Оба транспорта происходят против градиента концентрации. Такое распределение ионов определяет содержание воды в клетках, возбудимость нервных клеток и клеток мышц и другие свойства нормальных клеток.  $\text{Na}^+, \text{K}^+$  – насос представляет собой белок – транспортную АТФазу. Мо-

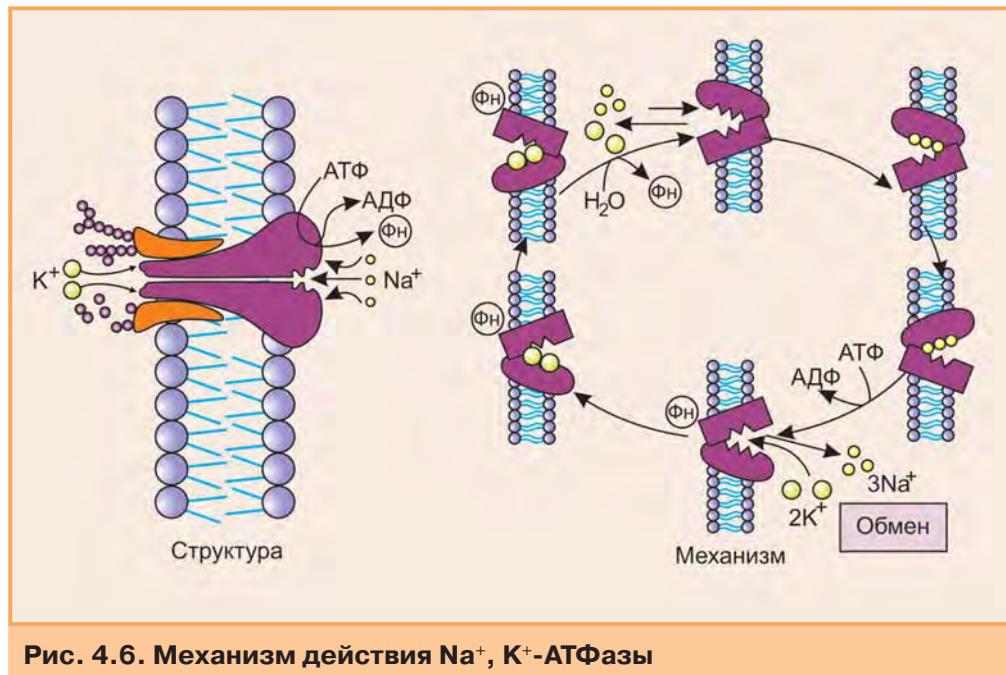


Рис. 4.6. Механизм действия  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы

лекула этого фермента является олигомером и пронизывает мембрану. За полный цикл работы насоса из клетки в межклеточное вещество переносятся три иона  $\text{Na}^+$ , а в обратном направлении — два иона  $\text{K}^+$ . При этом используется энергия молекулы АТФ. Транспортная АТФаза в этом случае имеет центры связывания для обоих веществ (рис. 4.4).

Существуют транспортные системы для переноса ионов кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азы), протонные насосы ( $\text{H}^+$ -АТФазы) и др. Нередко перенос веществ осуществляется по механизму вторичного активного транспорта за счет симпорта или антипорта двух веществ. Симпорт — это активный перенос вещества через мембрану, осуществляемый за счет энергии градиента концентрации другого вещества, который движется по градиенту концентрации. Антипорт — это перемещение вещества против градиента своей концентрации. При этом другое вещество движется в противоположном направлении по градиенту концентрации. Симпорт и антипорт могут происходить при всасывании аминокислот из кишечника и реабсорбции глюкозы из первичной мочи. При этом используется энергия градиента концентрации ионов  $\text{Na}^+$ , созданного  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазой.

# Общие аспекты регуляции

Метаболизм представляет собой совокупность всех химических реакций, происходящих в организме. Под термином **метаболический путь** подразумевается последовательность реакций, приводящих к образованию определенного продукта. Соединения, образующиеся в ходе превращений, называются **метаболитами**. Изучение отдельных путей выделяют для удобства. В действительности метаболические пути связаны между собой в сети общими промежуточными продуктами и необходимостью обращения коферментов. В клетке коферменты присутствуют в низких фиксированных концентрациях, поэтому для функционирования метаболических путей необходима их постоянная регенерация (рис. 5.1).

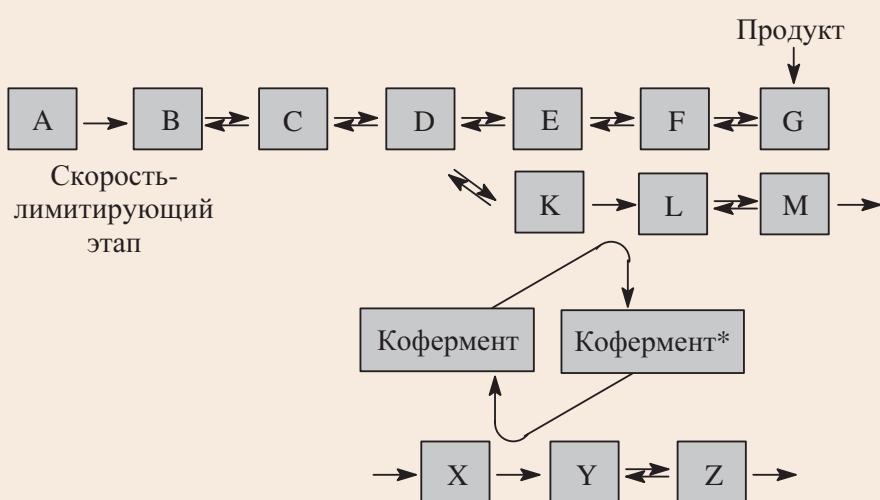


Рис. 5.1. Объединение метаболических путей в метаболическую сеть

**Анаболизм и катаболизм.** В метаболизме можно выделить пути анаболизма, которые предназначены для биосинтезов, и пути катаболизма, которые ведут к расщеплению сложных молекул. Хотя катаболические и анаболические пути во многом различаются, они тесно связаны друг с другом. Связь между ними обеспечивает оптимальный уровень метаболизма. Катаболизм и анаболизм — это со-пряженные взаимодополняющие процессы.

**Энергия и метаболизм.** Живые системы требуют постоянного притока энергии для своей жизнедеятельности. В отсутствие энергии клетку можно сравнить с не-работающей машиной. Жизнь, рост, целостность клетки зависят от пищи не только как источника углерода, азота, фосфора и других необходимых элементов, но также как источника энергии.

### Роль АТФ

Процессы, протекающие с потреблением и выделением энергии, связаны между собой. Центральную роль в этой взаимосвязи выполняет АТФ — основное высокоэнергетическое соединение клетки. Роль АТФ в клеточной энергетике можно определить следующим образом:

- химическая энергия, освобождаемая в процессе катаболизма, запасается путем фосфорилирования АДФ с образованием АТФ;
- энергия АТФ затем используется за счет расщепления макроэргических связей АТФ в ходе эндергонических реакций синтеза и других процессов, требующих затрат энергии, например активного транспорта (рис. 5.2).

АТФ часто рассматривается как энергетическая валюта. Важно понимать, что АТФ — это не вид энергии, а форма запасания энергии, получаемая при деградации сложных молекул. Пример рециркуляции АТФ приведен на рис. 5.3.

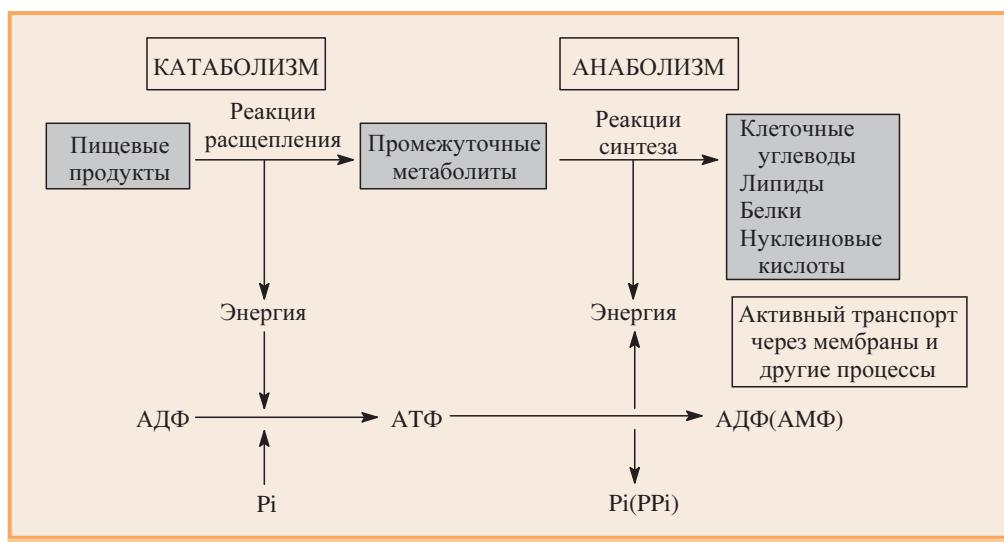


Рис. 5.2. Роль АТФ в биоэнергетике

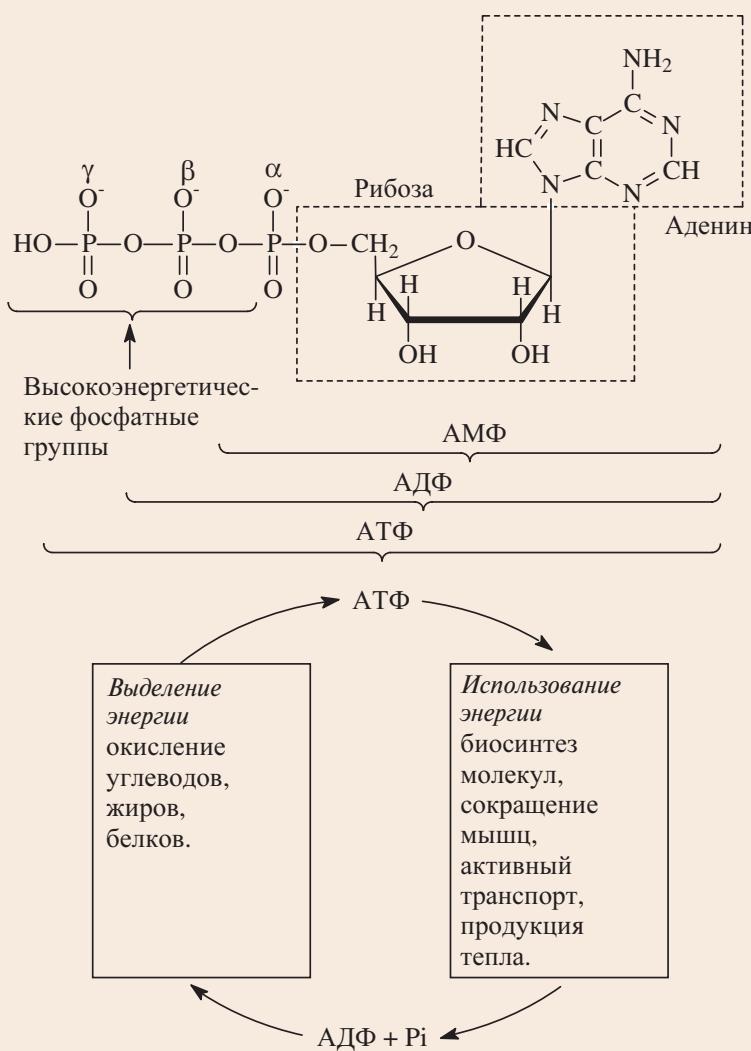


Рис. 5.3. Структура и рециркуляция АТФ

### Регуляция метаболизма. Общие аспекты

Среди многих ферментов, обеспечивающих протекание того или иного метаболического пути со скоростью, необходимой для удовлетворения физиологических потребностей организма, только некоторые играют ключевую роль в регуляции. Это, во-первых, как правило, ферменты одной из начальных стадий цепи превращений, обязательно необратимой. Во-вторых, регуляторной функцией часто наделены ферменты, находящиеся в точках разветвления метаболических путей.

Кроме того, регуляторные ферменты часто катализируют самые медленные (лимитирующие) стадии метаболического пути. Активность ферментов в этих ключевых точках определяет скорость метаболизма и может регулироваться в основном тремя способами.

**Аллостерическая регуляция** ключевых ферментов позволяет получить немедленный ответ клетки на изменения условий среды, выражаящиеся в изменении концентрации промежуточных продуктов или коферментов. Например, увеличение потребности клетки в АТФ приводит к повышению скорости гликолиза в мышечных клетках. Энергетический запас клетки определяется как отношение:

$$\frac{1/2[\text{АДФ}] + [\text{АТФ}]}{[\text{АМФ}] + [\text{АДФ}] + [\text{АТФ}]}.$$

Скорость катаболизма глюкозы обратно пропорциональна энергетическому запасу клетки вследствие противоположности влияния АДФ + АМФ или АТФ на регуляторные ферменты гликолиза. Аллостерическая регуляция ферментов является основным способом регуляции метаболических путей.

**Отрицательная обратная связь.** В простейших саморегулирующихся системах увеличение концентрации конечного продукта подавляет его синтез на ранних стадиях (рис. 5.4).

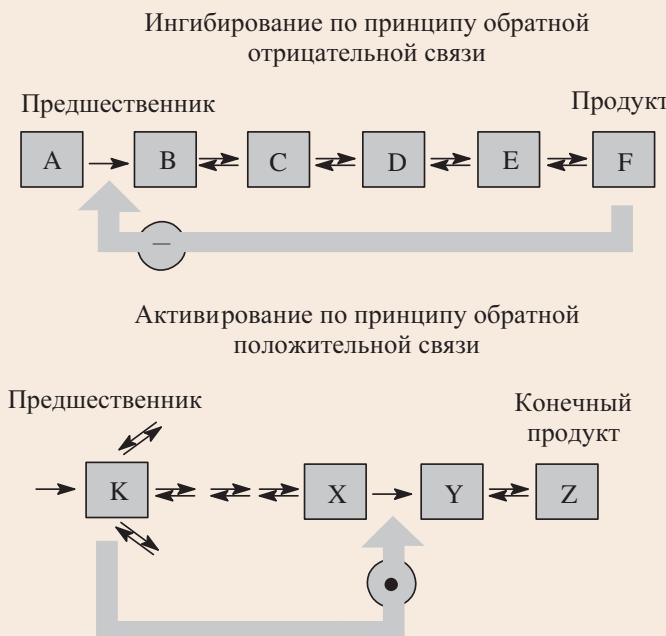


Рис. 5.4. Положительная и отрицательная обратные связи

**Положительная обратная связь** наблюдается, когда метаболит-предшественник активирует стадию, контролирующую его дальнейшее превращение, например, переход в запасные вещества. Вещество запасается только тогда, когда его количество превосходит потребности метаболического пути.

**Ковалентная модификация** ключевых ферментов может осуществляться под влиянием внеклеточных воздействий (гормонов) и приводить как к активации, так и к ингибиции ферментов. В этом случае метаболизм клетки изменяется таким образом, чтобы соответствовать в большей мере потребностям организма, чем потребностям самой клетки. Ковалентная модификация обычно осуществляется путем фосфорилирования — дефосфорилирования. Фосфорилирование катализируют протеинкиназы. Соответствующие им фосфатазы дефосфорилируют фермент и, следовательно, отменяют результаты фосфорилирования. Количество фосфорилированных форм фермента зависит от соотношения активностей киназы и фосфатазы.

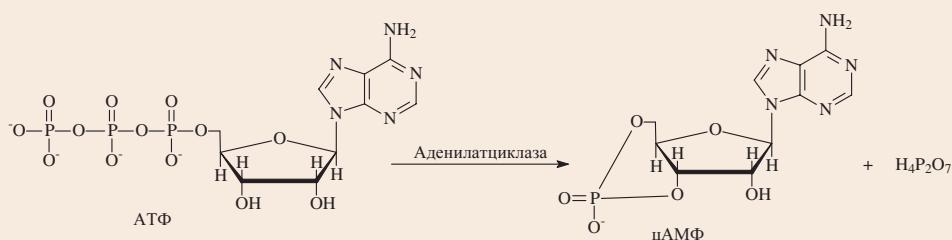
**Индукция или репрессия** синтеза ферментов приводит к изменению количества ферментов и, значит, скорости метаболизма. Подобным способом обеспечиваются долговременные, адаптивные изменения метаболизма. Индукция и репрессия синтеза ферментов могут происходить в клетках в результате влияния на них некоторых гормонов (см. раздел 3).

### Механизм действия гормонов на метаболизм

Гормоны — это **межклеточные химические посредники** (мессенджеры). Они секретируются одним типом клеток в ответ на определенные стимулы (сигналы) и оказывают воздействие на метаболизм клеток другого типа. Например, клетки островков Лангерганса поджелудочной железы секретируют гормон глюкагон в ответ на снижение концентрации глюкозы в крови. Глюкагон стимулирует распад гликогена в клетках печени и поступление запасенной глюкозы в кровь.

Гормоны обладают высокой биологической активностью. Их действие проявляется при очень низких концентрациях ( $10^{-6}$ — $10^{-10}$  моль/л). С химической точки зрения гормоны можно разделить на три группы: 1) гормоны — производные аминокислот, 2) белково-пептидные гормоны, 3) стероидные гормоны. Гормоны оказывают свое действие, связываясь со специфическими рецепторами, располагающимися либо на поверхности мембранны клетки, либо в цитозоле. Связывание с рецепторами — обязательный этап в действии гормона. Белково-пептидные гормоны и гормоны — производные аминокислот являются гидрофильными веществами, и проникновение их через плазматическую мембрану, состоящую из липидного бислоя, затруднено или невозможно. Рецепторы таких гормонов находятся на наружной поверхности плазматической мембранны. Гормоны связываются с рецепторными белками тех участков мембран клеток-мишеней, которые контактируют с окружающей средой, что, в свою очередь, активирует ферментную систему, отвечающую за образование вторичного (внутриклеточного) посредника.

**Система вторичных посредников.** Появление в клетке вторичного посредника является пусковым моментом для изменения метаболизма, осуществляемого обычно путем фосфорилирования белков. Роль вторичных посредников могут выполнять цАМФ, цГМФ, инозитол-трифосфат, диацилглицерол,  $\text{Ca}^{2+}$ . Наиболее распространенным и хорошо изученным вторичным посредником является циклический 3',5'-аденозинмонофосфат (цАМФ). Связывание гормона с рецептором активирует аденилатциклазу и, следовательно, ведет к повышению внутриклеточной концентрации цАМФ (рис. 5.5), что сопровождается увеличением скорости фосфорилирования белка (рис. 5.6). Наличие каскада ферментативных реакций между связыванием гормона с рецептором и изменением метаболизма позволяет значительно усилить первичное воздействие гормона. При участии аденилатциклазной системы реализуются эффекты сотни различных по своей природе сигнальных молекул — гормонов, нейромедиаторов, эйкозаноидов.



**Рис. 5.5. Образование цАМФ**

Функционирование системы трансмембранный передачи сигналов обеспечивают белки:  $R_s$  — receptor сигнальной молекулы, которая активирует аденилатциклазу;  $R_i$  — receptor сигнальной молекулы, которая ингибирует аденилатциклазу;  $G_s$  — стимулирующий и  $G_i$  — ингибирующий аденилатциклазу белок; ферменты аденилатциклаза (АЦ) и протеинкиназа А (ПКА) (рис. 5.6).

Последовательность событий, приводящих к активации **аденилатциклазы**:

- связывание активатора аденилатциклазной системы, например гормона ( $\Gamma$ ) с рецептором ( $R_s$ ), приводит к изменению конформации рецептора и увеличению его сродства к  $G_s$ -белку. В результате образуется комплекс  $[\Gamma][R]\text{-ГДФ}$ ;
- присоединение  $[\Gamma][R]$  к Г-ГДФ снижает сродство  $\alpha$ -субъединицы  $G_s$ -белка к ГДФ и увеличивает сродство к ГТФ. ГДФ замещается на ГТФ;
- это вызывает диссоциацию комплекса. Отделившаяся субъединица  $\alpha$ , связанная с молекулой ГТФ, обладает сродством к аденилатциклазе:

$$[\Gamma][R][G - \text{ГТФ}] \rightarrow [\Gamma][R] + \alpha\text{-ГТФ} + \beta\gamma;$$

- взаимодействие  $\alpha$ -субъединицы с аденилаткиназой приводит к изменению конформации фермента и его активации, увеличивается скорость образования цАМФ из АТФ;
- конформационные изменения в комплексе [ $\alpha$ -ГТФ][АЦ] стимулируют повышение ГТФ — фосфатазной активности  $\alpha$ -субъединицы. Протекает

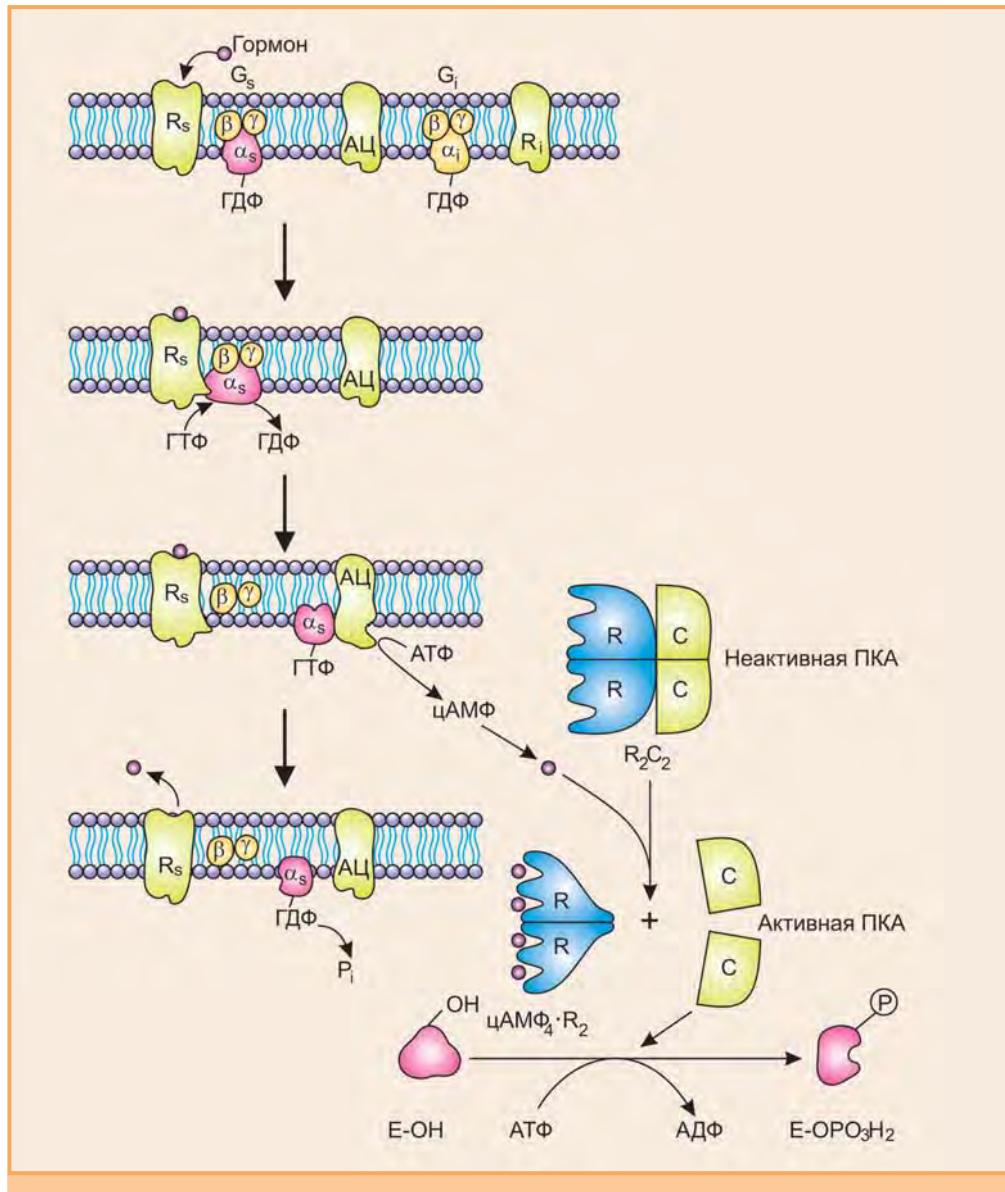


Рис. 5.6. Механизм действия гормонов, опосредованный цАМФ

реакция дефосфорилирования ГТФ, и один из продуктов реакции — неорганический фосфат ( $P_i$ ) отделяется от  $\alpha$ -субъединицы; скорость гидролиза определяет время проведения сигнала;

- образование в активном центре  $\alpha$ -субъединицы молекулы ГДФ снижает его сродство к аденилатциклазе, но увеличивает сродство к  $\beta\gamma$ -субъединицам.  $G_s$ -белок возвращается к неактивной форме;
- если receptor связывается с новой молекулой активатора, например гормоном, цикл функционирования  $G_s$  белка повторяется.

### Активация протеинкиназы А (ПКА)

Молекулы цАМФ могут обратимо соединяться с регуляторными субъединицами ПКА. Присоединение цАМФ к регуляторным субъединицам (R) вызывает диссоциацию комплекса  $C_2R_2$  на комплекс цАМФ<sub>4</sub> R<sub>2</sub> и C + С. Субъединицы C представляют собой активную форму протеинкиназы А.

Активная протеинкиназа А фосфорилирует специфические белки по серину и треонину, в результате изменяются конформация и активность фосфорилированных белков, а это приводит к изменению скорости и направления регулируемых процессов в клетке.

Концентрация цАМФ в клетке может изменяться, она зависит от соотношения активностей ферментов аденилатциклазы и фосфодиэстеразы.

Большую роль в регуляции внутриклеточной сигнальной системы играет белок AKAP<sub>s</sub>. «Заякоренный» белок AKAP<sub>s</sub> участвует в сборке ферментных комплексов, включающих не только протеинкиназу А, но и фосфодиэстеразу и фосфопротеинфосфатазу.

### Инозитолфосфатная система

Инозитолфосфатная система включает 3 основных мембранных белка: R (рецептор), фосфолипазу С и  $G_{plc}$  — белок, активирующий фосфолипазу С, а также белки и ферменты мембран цитозоля, участвующие в связывании и транспорте  $Ca^{2+}$ .

Последовательность событий, приводящих к активации фосфолипазы С:

- связывание гормона с R приводит к изменению его конформации и увеличению сродства к  $G_{plc}$ ;
- образование комплекса [Г][R][ $G_{plc}$  — ГДФ] приводит к снижению сродства  $\alpha$ -протомера  $G_{plc}$ -белка к ГДФ и увеличению сродства к ГТФ. ГДФ заменяется на ГТФ.

Это вызывает диссоциацию комплекса;  $\alpha$ -GTP взаимодействует с фосфолипазой С и активирует ее. Субстратом этого фермента является фосфатидилиноцитолбисфосфат (ФИФ<sub>2</sub>).

В результате гидролиза ФИФ<sub>2</sub> образуется и выходит в цитозоль гидрофильное вещество инозитолтрифосфат (ИФ-3). Другой продукт реакции, диацилглицерол (ДАГ), остается в мембране и участвует в активации фермента протеинкиназы С (ПКС).

ИФ-3 связывается со специфическими центрами  $\text{Ca}^{2+}$ -канала мембраны ЭР, он изменяет конформацию и канал открывается —  $\text{Ca}^{2+}$  поступает в цитозоль. В отсутствие в цитозоле ИФ-3 канал закрыт.

Повышение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле клетки увеличивает скорость взаимодействия  $\text{Ca}^{2+}$  с неактивным цитозольным ферментом протеинкиназой С и белком кальмодулином, таким образом сигнал, принятый рецептором клетки, раздваивается.

Изменение конформации  $[\text{ПКС}][\text{Ca}^{2+}]$  увеличивает сродство центров связывания фермента к липидам клеточной мембраны — ДАГ и фосфатидилсерину (ФС). На внутренней стороне мембраны образуется ферментный комплекс —  $[\text{ПКС}][\text{Ca}^{2+}] [\text{ДАГ}] [\text{ФС}]$  — активная протеинкиназа С, которая меняет активность специфических ферментов, фосфорилируя их по серину и треонину.

В клетках тканей присутствует белок кальмодулин, который функционирует как внутриклеточный receptor  $\text{Ca}^{2+}$ , он имеет 4 центра для связывания  $\text{Ca}^{2+}$ . Комплекс [кальмодулин] $[4\text{Ca}^{2+}]$  не обладает ферментативной активностью, но взаимодействие комплекса с различными белками и ферментами приводит к их активации.

Для снижения концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в клетке до исходного уровня работают системы  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз и транслоказ (антипорт).

При повышении в клетке концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  увеличивается активность  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы (Е):

- это приводит к активации аутофосфорилирования и образованию фосфорилированной формы  $\text{Ca}^{2+}$ -АТРазы (Е-Р);
- аутофосфорилирование вызывает изменение конформации  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы, снижение ее сродства к  $\text{Ca}^{2+}$  и высвобождение ионов по другую сторону мембранны.

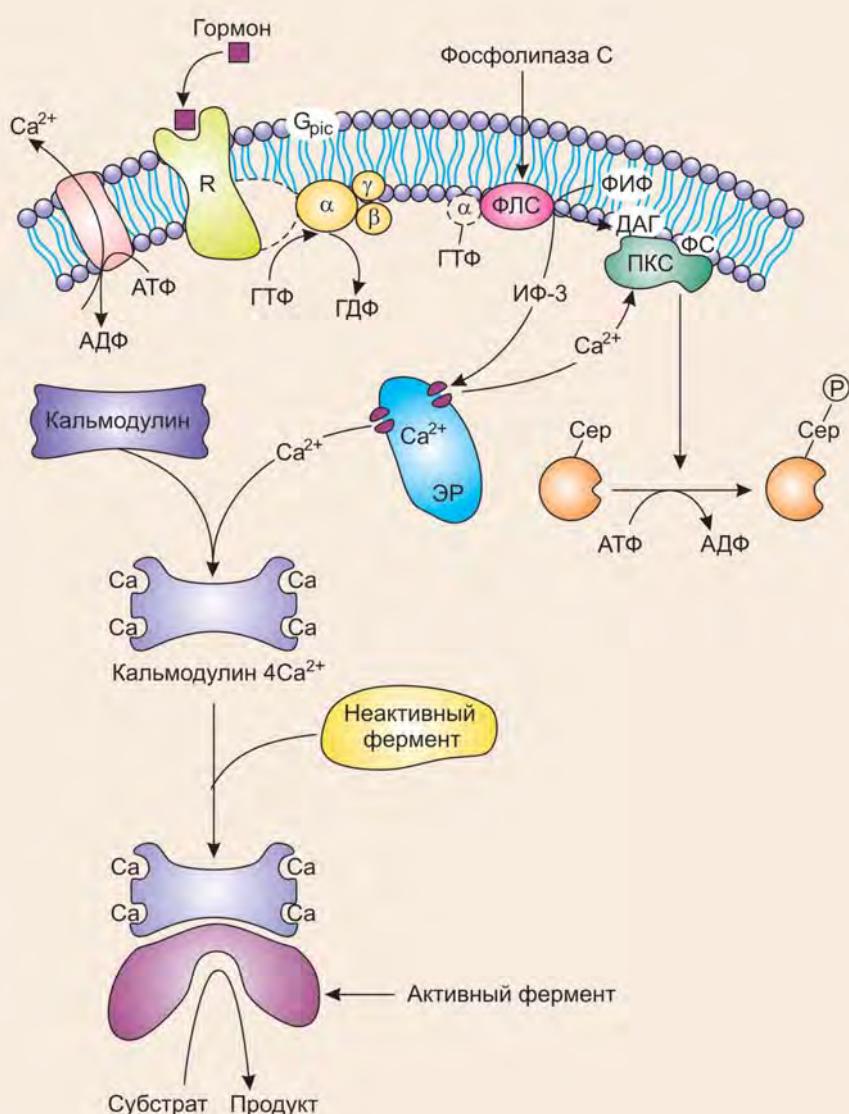
Активность транслоказ  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-аз может регулироваться:

- комплексом [кальмодулин] $[4\text{Ca}^{2+}]$ ;
- ПКА (фосфорилированием);
- ПКС (фосфорилированием), а также зависит от структуры и состава липидного бислоя мембранны.

Присутствующие в цитозоле ИФ-3 и ДАГ в мембране могут в результате серии реакций опять превращаться в ФИФ<sub>2</sub>. Активная ПКС стимулирует образование ФИФ<sub>2</sub> (рис. 5.7).

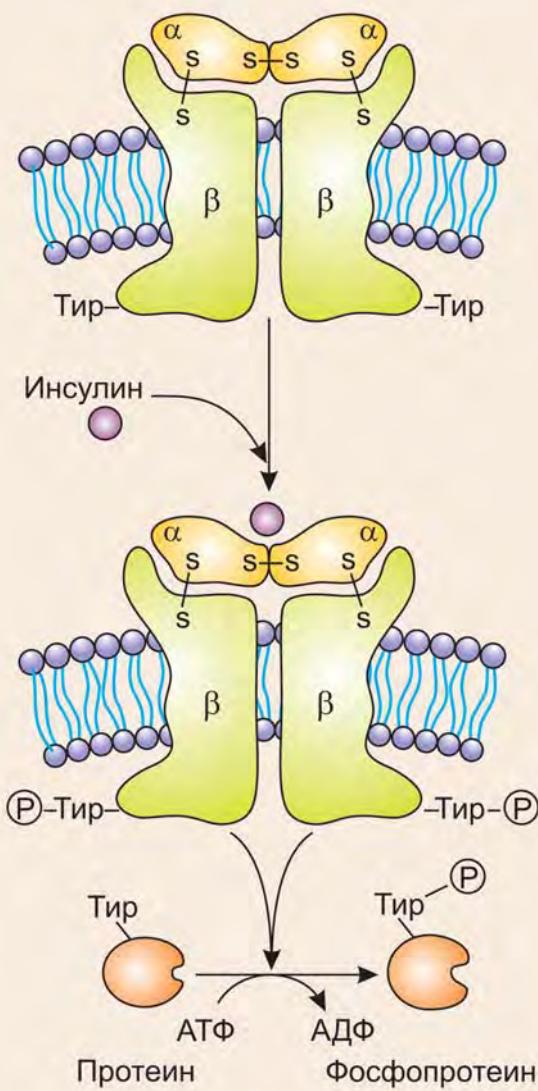
### Трансдукция сигнала через инсулиновый receptor

Receptor инсулина (рис. 5.8) представляет собой тирозиновую протеинкиназу (ТП), т.е. протеинкиназу, фосфорилирующую белки по OH-группам тирозина. Receptor состоит из 2  $\alpha$ - и 2  $\beta$ -субъединиц, связанных дисульфидными связями и нековалентными взаимодействиями,  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицы являются гликопротеинами с углеводной частью на наружной стороне мембранны. Вне мембранны находятся  $\alpha$ -субъединицы. Центр связывания инсулина образуют N-концевые домены  $\alpha$ -субъединиц, а  $\beta$ -субъединицы пронизывают мембранный бислой и не участвуют в связывании инсулина.



**Рис. 5.7. Инозитолфосфатная система**

Каталитический центр ТП находится на внутриклеточных доменах  $\beta$ -субъединиц. Присоединение инсулина к центру связывания на  $\alpha$ -субъединицах активирует аутофосфорилирование  $\beta$ -субъединиц, причем субстратом служит сама ТП.  $\beta$ -субъединицы фосфорилируются по нескольким тирозиновым остаткам. Это, в свою очередь, приводит к способности ТП фосфорилировать и другие внутриклеточные белки. Активация и изменение специфично-



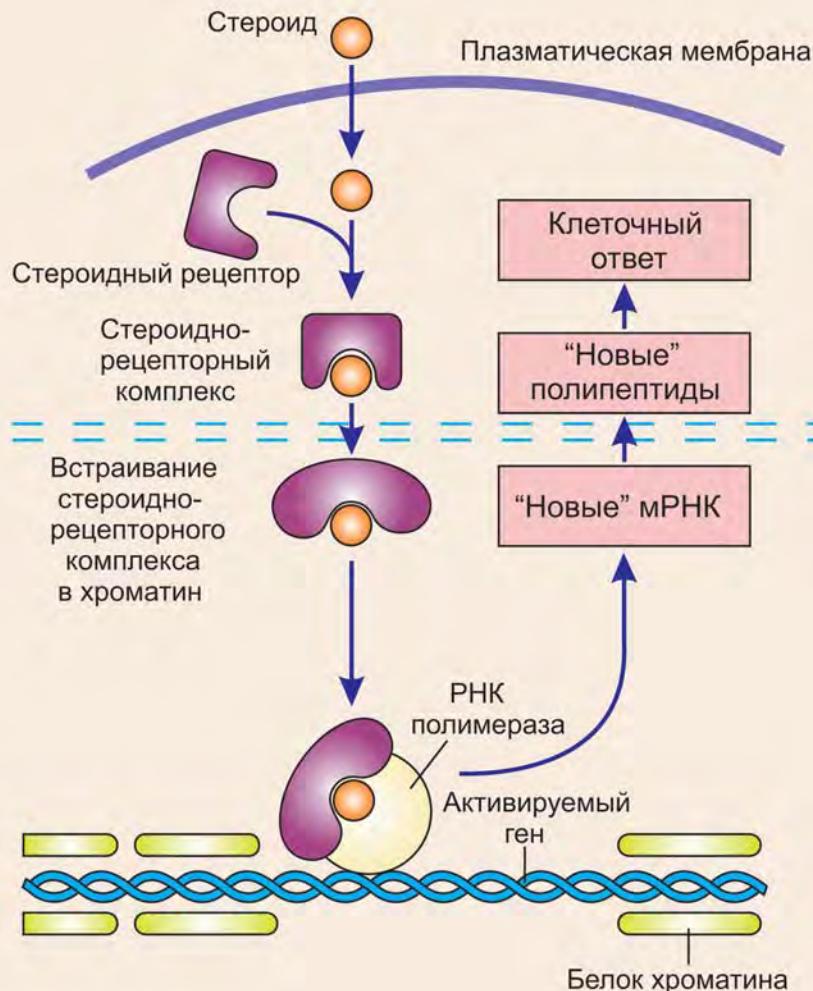
**Рис. 5.8. Активации рецептора инсулина — тирозиновой протеинкиназы**

сти обусловлены конформационными изменениями рецептора инсулина после связывания инсулина и аутофосфорилирования.

Фосфорилирование внутриклеточных белков, участвующих в регуляции клеточных процессов, меняет их активность.

Стероидные гормоны являются веществами гидрофобного характера. Они легко преодолевают фосфолипидный барьер мембран и попадают в цитозоль

клетки, где связываются с рецепторами. Образующийся комплекс гормон–рецептор перемещается в ядро, взаимодействует с хроматином и стимулирует или репрессирует транскрипцию определенных генов. Некоторые гормоны взаимодействуют с рецепторами, локализованными в ядре в составе хроматина. Таким образом, эти гормоны регулируют метаболические процессы, изменяя скорость биосинтеза ключевых белков (рис. 5.9).



**Рис. 5.9. Механизм действия стероидных гормонов**

## Биологическое окисление

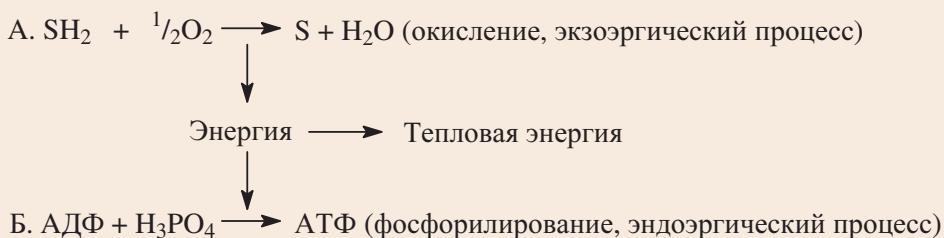
Катаболизм органических веществ в тканях сопровождается потреблением кислорода и выделением  $\text{CO}_2$ . Этот процесс называют тканевым дыханием. Кислород в этом процессе используется как акцептор водорода от окисляемых (дегидрируемых) веществ (субстратов), в результате чего синтезируется вода. Процесс окисления можно представить следующим уравнением:  $\text{SH}_2 + 1/2\text{O}_2 \rightarrow \text{S} + \text{H}_2\text{O}$ .

Различные окисляемые органические вещества ( $\text{S}$ -субстраты) представляют собой метаболиты катаболизма, их дегидрирование является экзогеническим процессом. Энергия, освобождающаяся в ходе реакций окисления, либо полностью рассеивается в виде тепла, либо частично тратится на фосфорилирование АДФ с образованием АТФ. Организм превращает около 40% энергии, выделяющейся при окислении, в энергию макроэргических связей АТФ. Большинство организмов в биосфере использует этот способ или очень сходный с ним (в качестве терминального акцептора водорода может быть не кислород, а другое соединение) как основной источник энергии, необходимый для синтеза внутриклеточной АТФ. Таким путем клетка превращает химическую энергию питательных веществ, поступивших извне, в энергию, утилизируемую на разные виды работы.

Реакция дегидрирования и способ превращения выделившейся энергии путем синтеза АТФ — это энергетически сопряженные реакции. Синтез АТФ из АДФ и  $\text{Pi}$  за счет биологического окисления называется окислительным фосфорилированием (рис. 6.1).

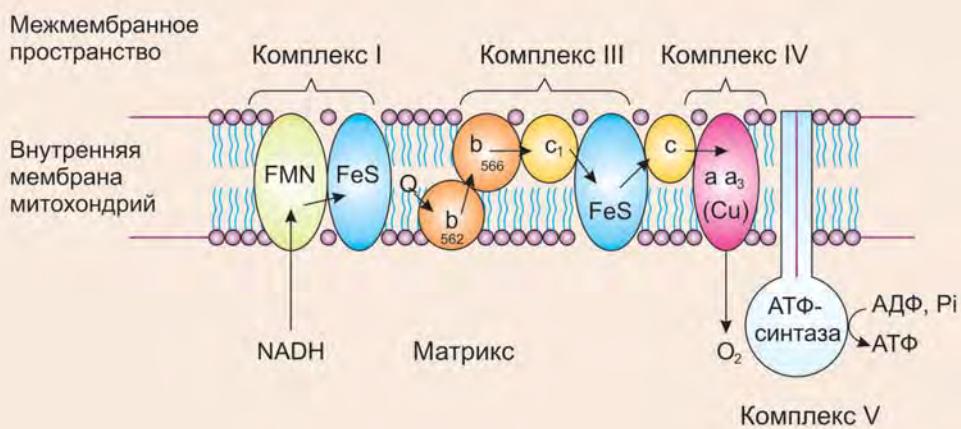
### Цепь переноса электронов — ЦПЭ

Указанное выше уравнение для окислительно-восстановительной реакции представляет собой обобщенную форму, так как изображает процесс окисления субстратов как прямое дегидрирование, причем кислород выступает в роли непосредственного акцептора водорода. На самом деле кислород получает электроны иным образом. Существуют промежуточные переносчики при транспорте электронов от исходного донора электронов  $\text{SH}_2$  к терминальному акцептору —  $\text{O}_2$ . Полный процесс представляет собой цепь последовательных окислительно-



**Рис. 6.1. Окислительное фосфорилирование**

восстановительных реакций, в ходе которых происходит взаимодействие между переносчиками. Каждый промежуточный переносчик вначале выступает в роли акцептора электронов и протонов и из окисленного состояния переходит в восстановленную форму. Затем он передает электрон следующему переносчику и снова возвращается в окисленное состояние. На последней стадии переносчик передает электроны кислороду, который затем восстанавливается до воды. Совокупность последовательных окислительно-восстановительных реакций называется цепью переноса (транспорта) электронов, или дыхательной цепью (рис. 6.2).

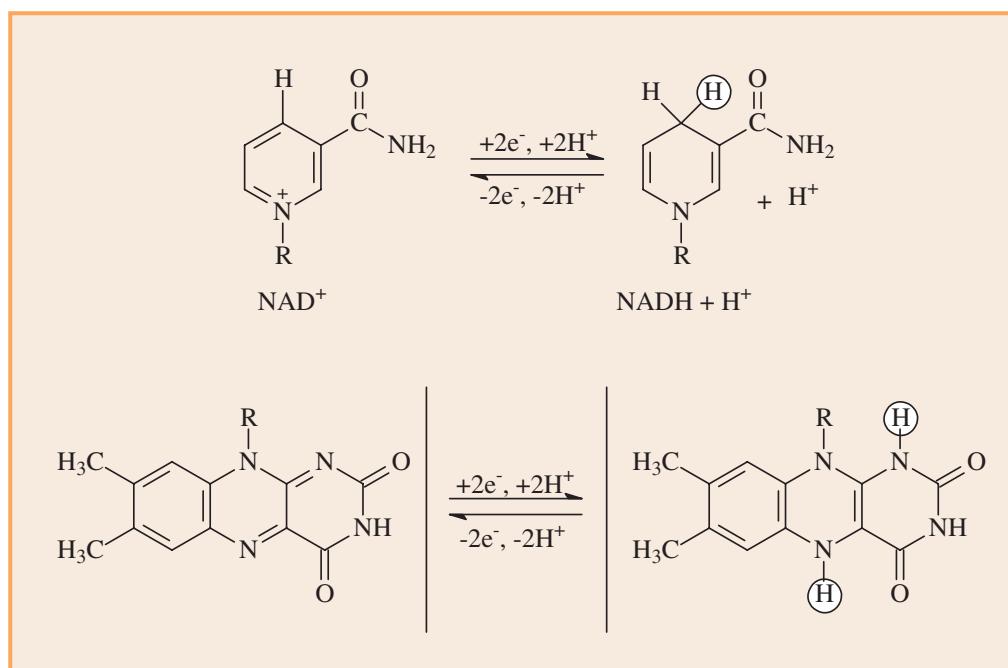


**Рис. 6.2. Митохондриальная цепь переноса электронов:**

I, III и IV — высокомолекулярные комплексы, расположенные во внутренней мембране митохондрий; комплекс II — сукцинатдегидрогеназа, в отличие от других FAD-зависимых дегидрогеназ локализована во внутренней мембране митохондрий, но на рисунке не представлена. Цитохром с — низкомолекулярный гемсодержащий белок, обладающий подвижностью в липидном слое мембранных митохондрий. Белки FeS содержат негеминовое железо и входят в состав ферментных комплексов I, II и III. Кофермент Q — небелковый компонент ЦПЭ. Места действия ингибиторов ЦПЭ показаны жирными стрелками: I — ротенон, барбитураты; 2 — антибиотики; 3 — цианиды, CO, H<sub>2</sub>S

Промежуточными переносчиками в дыхательной цепи у высших организмов являются коферменты: NAD<sup>+</sup> (никотинамид-адениндинуклеотид), FAD и FMN (флавинадениндинуклеотид и флавинмононуклеотид), кофермент Q (CoQ), семейство гемсодержащих белков — цитохромов (обозначаемых как цитохромы b, c<sub>1</sub>, c, a, a<sub>3</sub>) и белки, содержащие негеминовое железо. Все участники этой цепи организованы в четыре окислительно-восстановительных комплекса (рис. 6.5), связанные убихиноном (CoQ) и цитохромом с.

Процесс начинается с переноса протонов и электронов от окисляемого субстрата на коферменты NAD<sup>+</sup> или FAD. Это определяется тем, является ли дегидрогеназа, катализирующая первую стадию, NAD-зависимой или FAD-зависимой. NAD-зависимая дегидрогеназа катализирует реакции окисления непосредственно субстрата (первичная дегидрогеназа). NAD<sup>+</sup> является коферментом и выполняет роль акцептора водорода (рис. 6.3). FAD-зависимая деги-



**Рис. 6.3. Коферменты дегидрогеназ.**

Структурные формулы рабочей части коферментов NAD<sup>+</sup> и NADP<sup>+</sup>, FAD и FMN. В окисленной форме никотинамидные коферменты обозначают как NAD<sup>+</sup> и NADP<sup>+</sup>, так как они несут положительный заряд на атоме азота пиримидинового кольца. В реакциях дегидрирования из двух атомов водорода, отщепляемых от окисляемого субстрата, никотинамидное кольцо присоединяет ион водорода и два электрона в форме гидрид-иона ( $:H$ ). Второй ион переходит в среду. В обратной реакции NADH (NADPH) выступают в качестве доноров электронов и протонов. В ходе реакции FAD и FMN присоединяют два электрона и два протона катализируемыми FAD-зависимой и NADH-дегидрогеназами

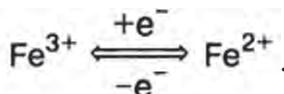
дрогеназа также выполняет функцию первичной дегидрогеназы. Кофермент FAD является акцептором водорода от субстрата. Если процесс начинается с  $\text{NAD}^+$ , то следующим переносчиком будет NADH-дегидрогеназа, коферментом которой является FMN.

Тип участвующей дегидрогеназы зависит от природы субстрата. Но каким бы ни был исходный субстрат, электроны и протоны от flavинов переносятся к коферменту Q, а дальше пути электронов и протонов расходятся. Электроны с помощью системы цитохромов достигают кислорода, который затем, присоединяя протоны, превращается в воду. Чтобы разобраться в системе транспорта электронов, необходимо познакомиться с отдельными ее участниками.

Символ  $2\text{H}^+$  означает два протона, обычно переносимые в виде гидрида иона. В этом случае вместо терминов «донор электронов» и «акцептор электронов» иногда используют термины «донор или акцептор водорода».

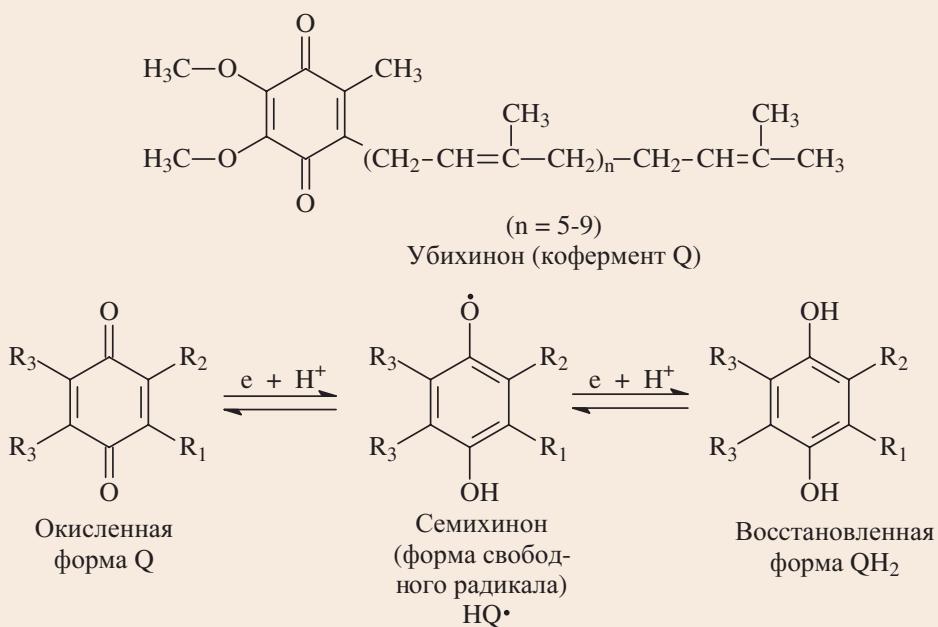
NADH-дегидрогеназа катализирует окисление NADH и восстановление убихинона (CoQ). Переносчиком водорода является кофермент — FMN (комплекс I на рис. 6.5). Строение FMN представлено на рис. 6.3. В процессе реакции водород сначала присоединяется к FMN, соединенному с ферментом, а затем протоны поступают в межмембранные пространство, а электроны с помощью FeS-белков передаются на убихинон. Flavиновые коферменты (FAD и FMN) содержат производные витамина  $\text{B}_2$  и прочно связаны с ферментом, поэтому ферменты, в состав которых они входят, называются flavопротеинами. Акцептором электронов от комплекса I является убихинон (кофермент Q, рис. 6.4) — производное изопрена, его название возникло из-за повсеместной распространенности в природе.

Получая  $2e^-$  из матрикса митохондрий, он восстанавливается в убихинол. Кофермент Q действует как переносчик электронов на цитохромы. Цитохромы — это гемопротеины, содержащие в качестве простетической группы гем, прочно связанный с белковой частью. Атом железа в геме может менять валентность, присоединяя или отдавая электроны:



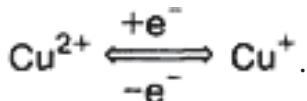
В дыхательной цепи цитохромы служат переносчиками электронов и располагаются соответственно величине окислительно-восстановительного потенциала следующим образом: b,  $c_1$ , c, a,  $a_3$ . Гемовые группы цитохромов связаны с белковой частью координационными связями между ионом железа и соответствующими аминокислотными остатками.

В цитохромах с и  $c_1$  дополнительные ковалентные связи формируются между тиоловыми группами цистеина и боковыми винильными группами гема. QH<sub>2</sub>-дегидрогеназа (комплекс III на рис. 6.5) представляет собой комплекс цитохромов b и  $c_1$ . Этот фермент катализирует окисление восстановленного

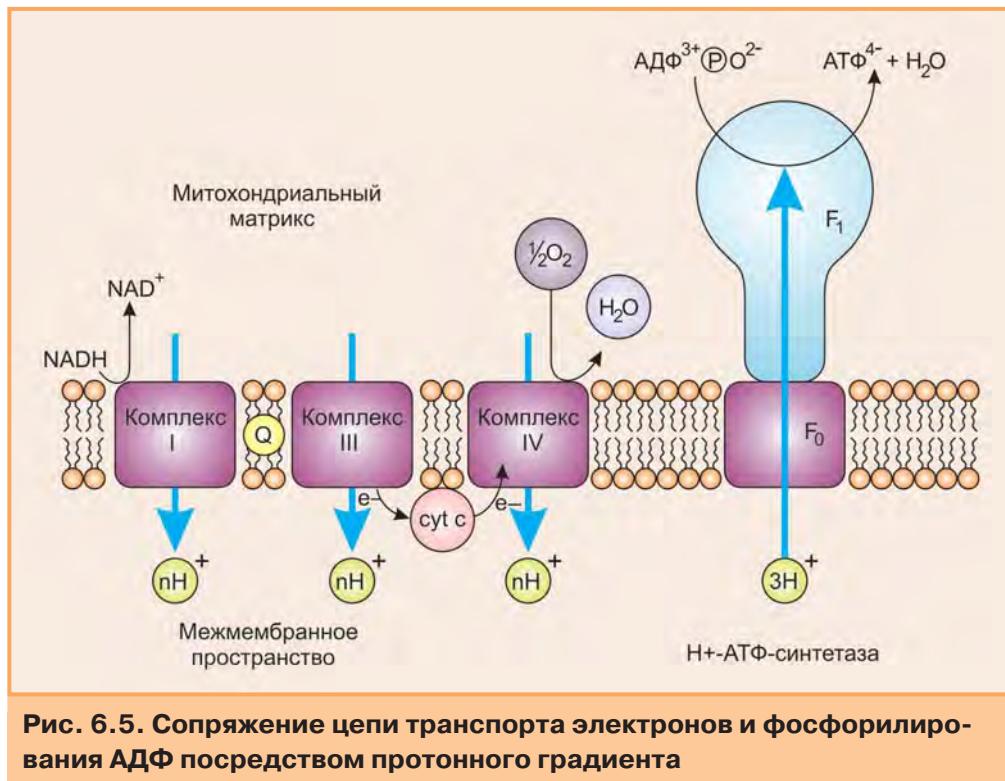
**Рис. 6.4. Структура убихинона (кофермента Q).**

п — число изопренOIDНЫХ звеньев. Убихинон может принимать один электрон и превращаться в семихинон или два электрона и полностью восстанавливаться в гидрохинон (убихинол)

кофермента Q и перенос электронов на цитохром с. Электроны последовательно переносятся атомами железа цитохромов b и c<sub>1</sub>, а затем поступают на цитохром с. В то же время протоны за счет энергии, выделяющейся в процессе транспорта e<sup>-</sup> с цитохромом b на цитохром с, выделяются в межмембранные пространство. Цитохромоксидаза включает комплекс цитохромов a и a<sub>3</sub> (комплекс IV на рис. 6.5). Цитохромоксидаза кроме гема содержит ионы меди, которые способны менять валентность и таким способом участвовать в переносе электронов:



**Цитохромоксидаза** переносит электроны с цитохрома с на кислород. В переносе электронов участвуют сначала ионы железа цитохромов a и a<sub>3</sub>, а затем ион меди цитохрома a<sub>3</sub>. Молекула кислорода связывается с железом в геме цитохрома a<sub>3</sub>. Следовательно, переход электронов на кислород с иона меди цитохрома



**Рис. 6.5. Сопряжение цепи транспорта электронов и фосфорилирования АДФ посредством протонного градиента**

$a_3$  происходит на молекуле фермента. Каждый из атомов молекулы кислорода присоединяется по два электрона и протона, образуя при этом молекулу воды.

**Белки, содержащие негеминовое железо.** Некоторое количество атомов железа в митохондриях связано не в геме цитохромов, а образует комплексы с другими белками. Эти белки называют также железосерными, так как атомы железа связаны с атомами серы цистeinовых остатков. Белки, содержащие негеминовое железо, участвуют в переносе электронов в составе комплексов I и III. Хотя не совсем ясен до настоящего времени механизм их действия.

### Окислительное фосфорилирование

Энергия, образующаяся при прохождении потока электронов по дыхательной цепи, используется для сопряженного фосфорилирования АДФ. Эти два процесса взаимозависимы: окисление не может протекать в отсутствие АДФ. Соотношение окисления и фосфорилирования определяется коэффициентом Р/О, показывающим, какое количество Рi используется на образование АТФ при превращении одного грамм-атома O<sub>2</sub> в H<sub>2</sub>O (количество моль фосфорилированного АДФ на 1/2 моль кислорода). Коэффициент Р/О называется **коэффициентом окислительного фосфорилирования** и зависит от точки вхождения

восстановительных эквивалентов в цепь транспорта электронов. Например, для субстратов, окисляемых NAD-зависимой дегидрогеназой, Р/О=3, так как в дыхательной цепи есть три участка, где перенос электронов сопряжен с синтезом АТФ. Не все субстраты передают электроны и протоны на NAD, некоторые окисляются FAD- зависимыми дегидрогеназами, которые переносят протоны и электроны сразу на убихинон, минуя комплекс I. В этом случае Р/О=2. В действительности коэффициент фосфорилирования всегда меньше теоретической величины, потому что часть энергии, высвобождающейся при транспорте электронов, расходуется не на синтез АТФ, а для переноса веществ через митохондриальную мембрану.

В сутки человек потребляет в среднем 27 моль кислорода. Основное его количество (примерно 25 моль) используется в митохондриях в дыхательной цепи. Следовательно, ежесуточно синтезируется 125 моль АТФ или 62 кг (при расчете использовали коэффициент Р/О=2,5, то есть среднее значение коэффициента фосфорилирования). Масса всей АТФ, содержащейся в организме, составляет примерно 20–30 г. Итак, можно сделать вывод, что каждая молекула АТФ за сутки 2500 раз проходит процесс гидролиза и синтеза, что и характеризует интенсивность обмена АТФ.

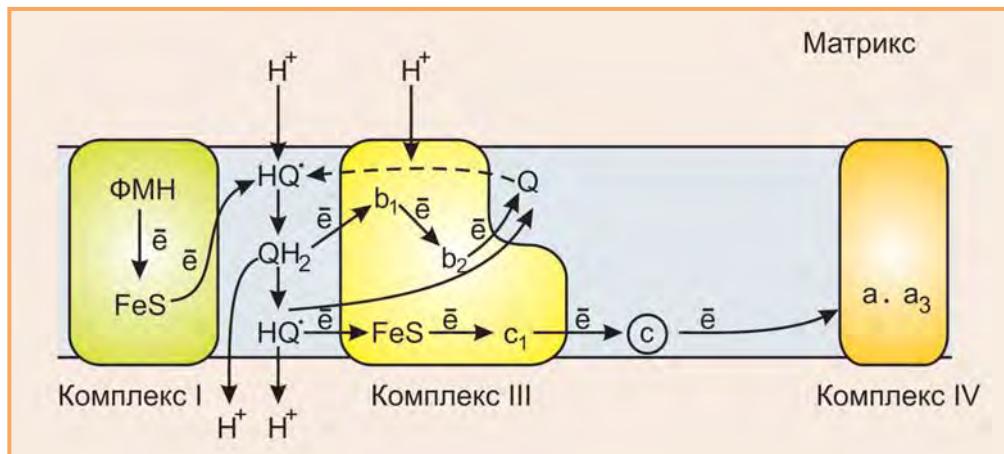
### Сопряжение работы дыхательной цепи с процессом синтеза АТФ

Существование такого сопряжения доказывается тем, что можно ингибировать образование АТФ, не нарушая процесса транспорта электронов. Это достигается добавлением химических веществ, названных разобщителями. После удаления разобщителей синтез АТФ восстанавливается. Изучение механизма сопряжения дает ответ на основные вопросы:

- 1) каким образом транспорт электронов служит источником энергии;
- 2) как эта энергия обеспечивает протекание реакции АДФ + Pi → АТФ.

Объясняет механизм сопряжения хемосомотическая теория. Доказано, что комплексы I, III и IV цепи переноса электронов функционируют как протонные ( $H^+$ )-помпы, осуществляя перенос протонов из матрикса через внутреннюю мембрану в межмембранные пространство. Затраты энергии на выброс протонов из матрикса происходят за счет экзергонических окислительно-восстановительных реакций дыхательной цепи. Перенос протонов приводит к возникновению разности концентрации  $H^+$  с двух сторон митохондриальной мембраны: более высокая концентрация будет снаружи и более низкая — внутри. Митохондрия в результате переходит в «энергизированное» состояние, так как возникает градиент концентрации  $H^+$  и одновременно разность электрохимических потенциалов со знаком плюс на наружной поверхности. Электрохимический потенциал стимулирует протоны двигаться в обратном направлении, но мембрана непроницаема для них кроме отдельных участков, называемых протонными каналами. Обратный перенос протонов в матрикс является экзергоническим процессом, высвобождающаяся при этом энергия используется на

фосфорилирование АДФ. Катализирует процесс фермент  $\text{H}^+$ -АТФ-синтаза, состоящая из протонных каналов, пронизывающих внутреннюю мембрану митохондрии и обращенной в матрикс «головки», состоящей из субъединиц, участвующих в образовании АТФ (рис. 6.5 и 6.7).



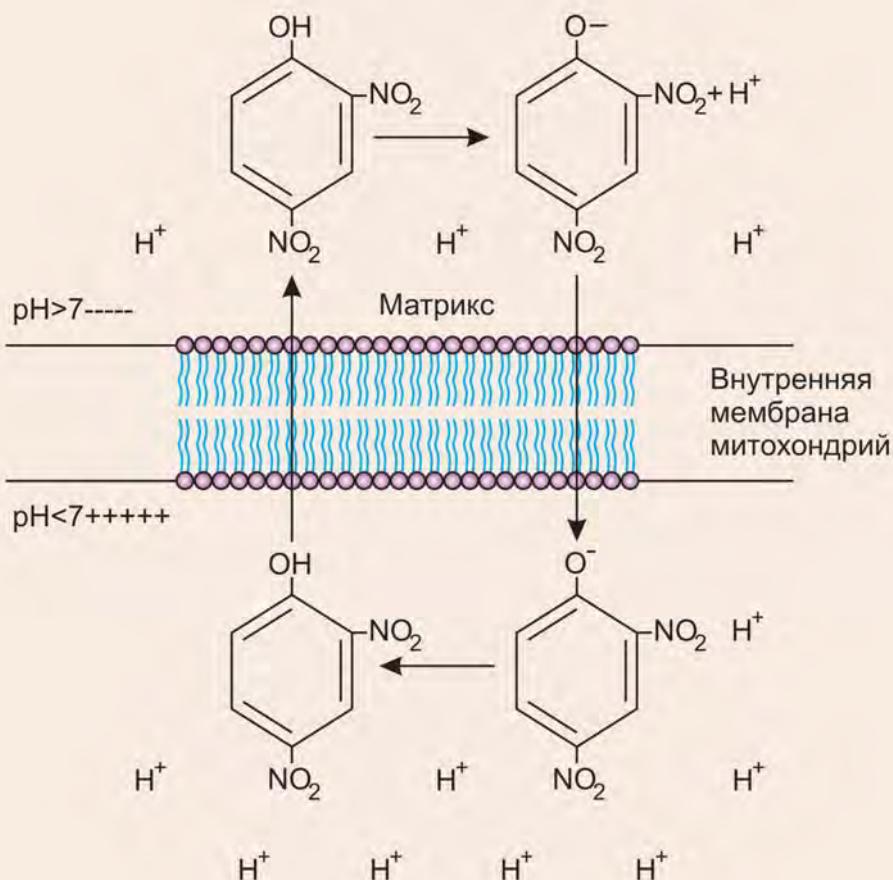
**Рис. 6.6. Сопряжение переноса электронов через дыхательный комплекс III с транспортом  $\text{H}^+$  через мембрану.**

Восстановленный убихинон ( $\text{HQ}_2$ ) взаимодействует с  $\text{Fe}^{3+}$  гема  $b_1$  и, восстанавливая его, освобождает протон в водную фазу, превращаясь в семихинон ( $\text{HQ}^*$ ). Электрон от гема  $b_1$  переносится на  $\text{Fe}^{3+}$  гема  $b_2$ .  $\text{HQ}^*$  отдает второй электрон на FeS-центр, расположенный ближе к наружной поверхности мембранны; при этом второй протон оказывается в межмембранным пространстве; электрон передается на цитохром  $c_1$ , а далее на цитохром  $c$ . Окисленный  $Q$  диффундирует к внутренней стороне мембранны, где получает электрон от гема  $b_2$  и протон из матрица, превращаясь в  $\text{HQ}^*$ .  $\text{HQ}^*$  получает электрон от комплекса I и протон из матрица; в мембране образуется  $\text{QH}_2$ , и весь процесс повторяется сначала

### Разобщение дыхания и фосфорилирования

Убедительные экспериментальные доказательства в пользу описанного механизма сопряжения дыхания и фосфорилирования были получены с помощью ионофоров. Молекулы этих веществ, как правило, липофильны и способны переносить ионы через мембрану. Например, 2,4-динитрофенол (протонофор) легко диффундирует через мембрану в ионизированной и неионизированной форме, перенося протоны в сторону их меньшей концентрации в обход протонных каналов (рис. 6.7 и 6.8).

Таким образом, 2,4-динитрофенол уничтожает электрохимический потенциал и синтез АТФ сильно снижается, хотя окисление субстратов при этом происходит. Энергия дыхательной цепи в основном рассеивается в виде теплоты. Этим объясняется пирогенное действие разобщителей. Разобщающим действием обладают некоторые антибиотики, такие, как валиномицин и грамицидин.

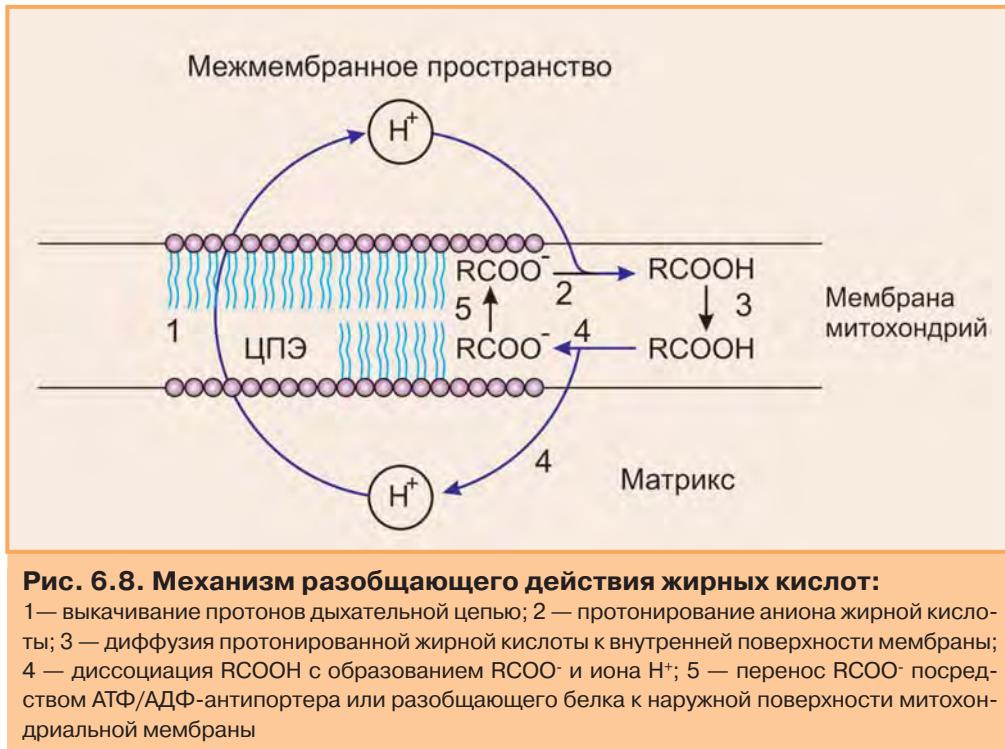


**Рис. 6.7. Механизм разобщения дыхания и фосфорилирования.**

Протонированная форма 2,4-динитрофенола переносит протоны через внутреннюю мембрану митохондрий и препятствует образованию протонного градиента

### Дыхательный контроль

Скорость дыхания митохондрий может контролироваться концентрацией АДФ. Это объясняется тем, что окисление и фосфорилирование жестко сопряжены. Энергия, необходимая клетке для совершения работы, поставляется за счет гидролиза АТФ. Концентрация АДФ при этом увеличивается; в результате создаются условия для ускорения дыхания, что и ведет к восполнению запасов АТФ. Таким образом повышение концентрации АДФ стимулирует работу ЦПЭ, а увеличение содержания АТФ ее снижает.



**Рис. 6.8. Механизм разобщающего действия жирных кислот:**

1 — выкачивание протонов дыхательной цепью; 2 — протонирование аниона жирной кислоты; 3 — диффузия протонированной жирной кислоты к внутренней поверхности мембраны; 4 — диссоциация  $RCOOH$  с образованием  $RCOO^-$  и иона  $H^+$ ; 5 — перенос  $RCOO^-$  посредством АТФ/АДФ-антиторптера или разобщающего белка к наружной поверхности митохондриальной мембрany

### Ингибиторы цепи транспорта электронов и окислительного фосфорилирования

Ингибиторы, блокирующие дыхательную цепь, действуют в определенных местах, препятствуя работе дыхательных ферментов. В результате дыхание снижается и человек впадает в сон (при употреблении барбитуратов) либо дыхание прекращается совсем (ингибиторы комплекса IV, например цианиды) и человек умирает (см. рис. 6.2).

# Общий путь катаболизма

Углеводы, белки и жиры — основные компоненты пищи человека, являются многокомпонентными веществами и, прежде чем включиться в метаболизм, подвергаются гидролизу в желудочно-кишечном тракте. Продукты гидролиза, способные всасываться из кишечника в кровь, затем в ходе катаболизма в клетке полностью окисляются, освобождая энергию, используемую для синтеза АТФ.

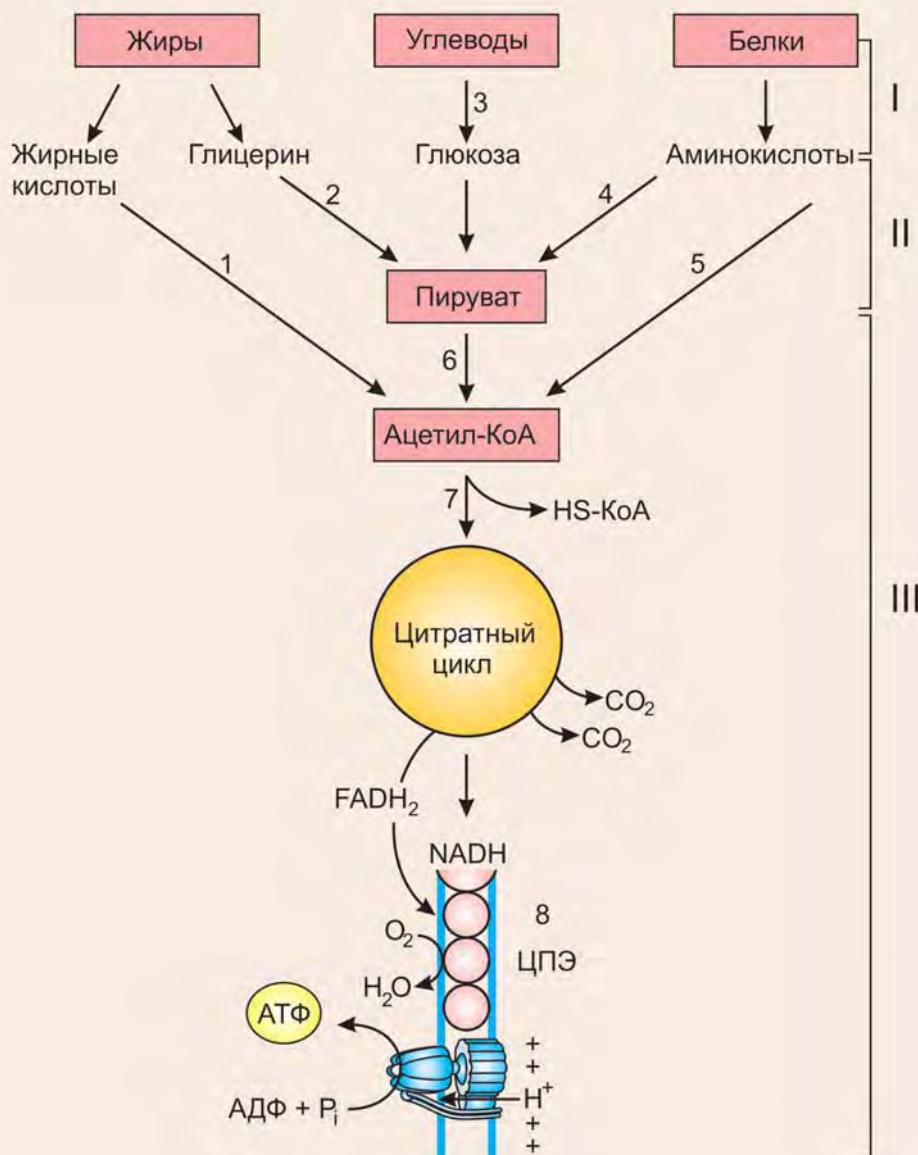
Одной из основных характеристик процесса катаболизма является соединение метаболических путей в единый процесс, т.е. образование в ходе катаболизма общих метаболитов, окисление которых до конечных продуктов осуществляется с использованием одних и тех же реакций, составляющих общий этап катаболизма. Таким образом, конечным этапом окисления практически всех веществ в организме, имеющих исходно разное строение, являются реакции общего пути катаболизма, изучение которого позволяет понять основные принципы организации процесса метаболизма в организме человека, в ходе которого субстраты полностью окисляются до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

## 7.1. Основные этапы общего пути катаболизма

В процессе катаболизма можно выделить три основные его части (рис. 7.1):

**1. Расщепление в пищеварительном тракте.** Это гидролитические реакции, превращающие сложные пищевые вещества в относительно небольшое число простых метаболитов: глюкозу, аминокислоты, глицерол, жирные кислоты.

**2. Специфические пути катаболизма.** На этом этапе простые метаболиты подвергаются специфическим реакциям расщепления, в результате которых образуется либо пировиноградная кислота, либо ацетил-КоА. Ацетил-КоА может образоваться из пирувата, а также из жирных кислот и аминокислот. В специфических путях катаболизма могут образоваться соединения, которые непосредственно включаются в цитратный цикл.



**Рис. 7.1. Катаболизм основных пищевых веществ:**

I — расщепление в пищеварительном тракте;

II — специфичные пути катаболизма (1–5);

III — общий путь катаболизма: 6 — окислительное декарбоксилирование пирувата;

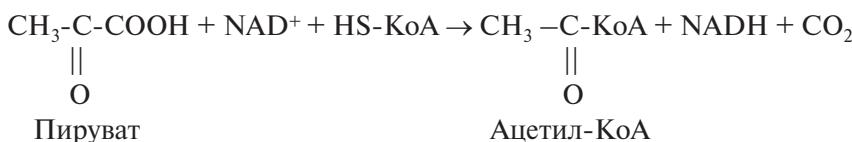
7 — цитратный цикл; 8 — дыхательная цепь

**3. Окислительное декарбоксилирование пирувата, цитратный цикл и дыхательная цепь** завершают расщепление пищевых веществ до конечных продуктов — CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O.

Следовательно, начиная со стадии образования пирувата, происходит унификация путей катаболизма. Из большого числа исходных соединений образуется всего два — пируват и ацетил-КоА. **Процесс, начинающийся с окисления пирувата, называется общим путем катаболизма.** Именно в общем пути катаболизма образуется основное количество субстратов для реакций дегидрирования. Совместно с дыхательной цепью и окислительным фосфорилированием общий путь катаболизма является основным источником энергии в форме АТФ.

### Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты

Суммарный результат многостадийной реакции выглядит следующим образом:



Реакцию катализируют три фермента, работающие в определенной последовательности и объединенные в **пируватдегидрогеназный комплекс (ПДК)**, в состав которого входит 5 коферментов.

Этот комплекс ферментов работает подобно конвейеру, в котором промежуточные продукты передаются от фермента к ферменту. Такой принцип повышает эффективность работы ферментов, так как снижает случайность в контакте реагирующих веществ. В табл. 7.1 и на рис. 7.2 приводятся названия ферментов (ПДК) и характеристика катализируемых реакций.

**Пирануватдекарбоксилаза (E<sub>1</sub>).** В качестве кофермента в реакции участвует **тиамидифосфат (ТДФ)** — производное витамина B<sub>1</sub>. Фермент катализирует отщепление карбоксильной группы в виде CO<sub>2</sub> и присоединение ацетильного остатка к коферменту ТДФ.

**Дигидролипоилтрансацетилаза (E<sub>2</sub>)** — второй фермент комплекса. Катализирует окисление гидроксиэтильной группы и перенос ацетильной группы на липоевую кислоту, а затем на HS-KoA с образованием ацетил-КоА.

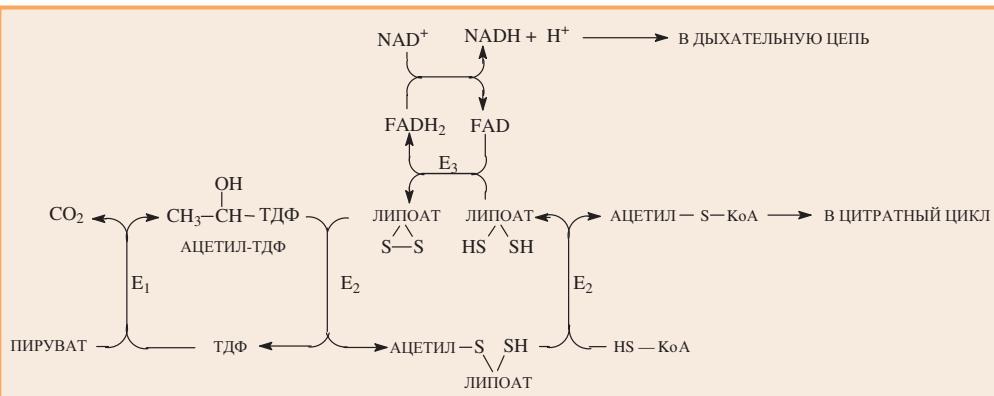
Таким образом, в этой реакции участвуют **два кофермента: липоевая кислота**, прочно соединенная с ферментом, и **кофермент А**, объединяющийся с ферментом в момент реакции. Водород остается связанным с липоевой кислотой, которая превращается в дигидролипоат.

**Дигидролипоилдегидрогеназа (E<sub>3</sub>)** — FAD, содержащий флавопротеин, катализирует дегидрирование восстановленной формы липоевой кислоты и перенос водорода на FAD (прочно связанный с ферментом), а затем на свой второй кофермент NAD<sup>+</sup>, который включается в состав комплекса только во время реакции.

Таблица 7.1

## Пищеварительный комплекс млекопитающих

| Фермент                                  | Кофермент          | Витамин                                  |
|------------------------------------------|--------------------|------------------------------------------|
| Пищеварительная декарбоксилаза ( $E_1$ ) | ТДФ                | $B_1$                                    |
| Дигидролипоилтрансактилаза ( $E_2$ )     | Липоамид<br>HS-KoA | Липоевая кислота<br>Пантотеновая кислота |
| Дигидролипоилдегидрогеназа ( $E_3$ )     | FAD<br>NAD         | $B_2$<br>PP                              |



**Рис. 7.2. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты. ТДФ-тиаминдинифосфат,**

S

Липоат &lt; | — окисленная форма липоевой кислоты,

S

SH

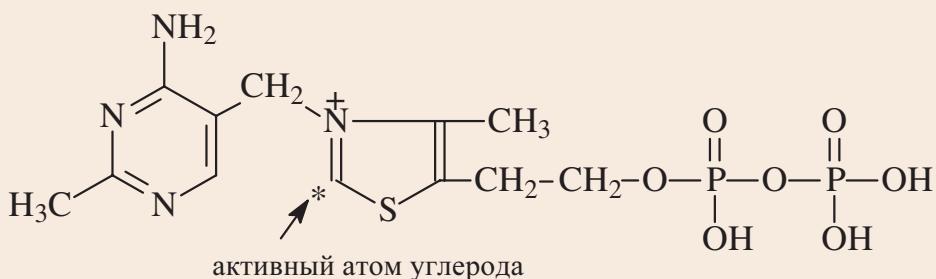
Липоат &lt; — восстановленная форма липоевой кислоты

SH

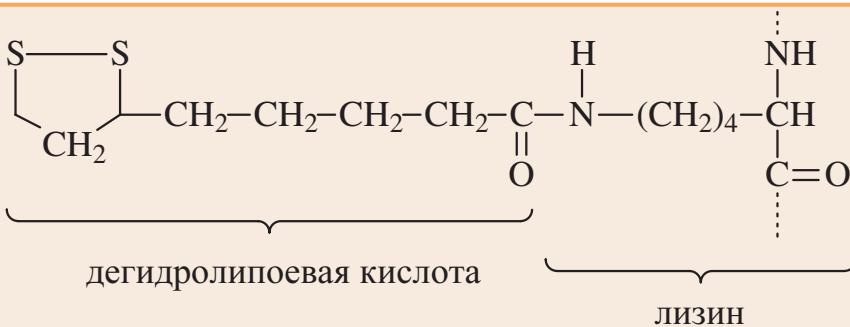
$E_1$  — пищеварительная декарбоксилаза катализирует декарбоксилирование пищеварителя и перенос  $C_2$ -фрагмента на ТДФ.  $E_2$ -трансактилаза катализирует окисление гидроксилетильной группы и перенос  $C_2$ -фрагмента на липоевую кислоту; ацетилированная трансактилаза взаимодействует с HS-KoA с образованием восстановленной формы липоевой кислоты и ацетил-KoA;  $E_3$  — дигидролипоилдегидрогеназа — FAD-содержащий фермент окисляет дигидролипоат с образованием FADH<sub>2</sub> в составе фермента, который затем регенерируется при участии NAD<sup>+</sup>. Липоевая кислота, связанная в молекуле фермента  $E_2$  с остатками лизина, функционирует как «поворотный кронштейн», переносящий атомы водорода и ацетильные группы от одного фермента к другому.

Главные продукты реакций ПДК — это NADH + H<sup>+</sup> и ацетил-КоА. NADH + H<sup>+</sup> далее окисляется в дыхательной цепи, где энергия используется на синтез 3 моль АТФ, а ацетил-КоА окисляется в цитратном цикле. Пируватдекарбоксилазный комплекс находится на внутренней мемbrane митохондрий и соединен с ней со стороны матрикса.

На рис. 7.3, 7.4, 7.5 представлено строение коферментов ПДК.



**Рис. 7.3. Строение тиаминдинофосфата**



**Рис. 7.4. Строение липоильного остатка в составе дигидролипоил-трансацетилазы**

## 7.2. Цитратный цикл

Цитратный цикл (цикл Кребса, цикл трикарбоновых кислот) — это система реакций, приводящая к полному окислению двухуглеродного ацетильного остатка, который мог образоваться в различных метаболических путях. Цитратный цикл является общим конечным путем окисления белков, жиров и углеводов. Все реакции цитратного цикла, как и окислительного декарбоксилирования пирувата, локализованы в митохондриях. В ходе одного полного цикла происходит:

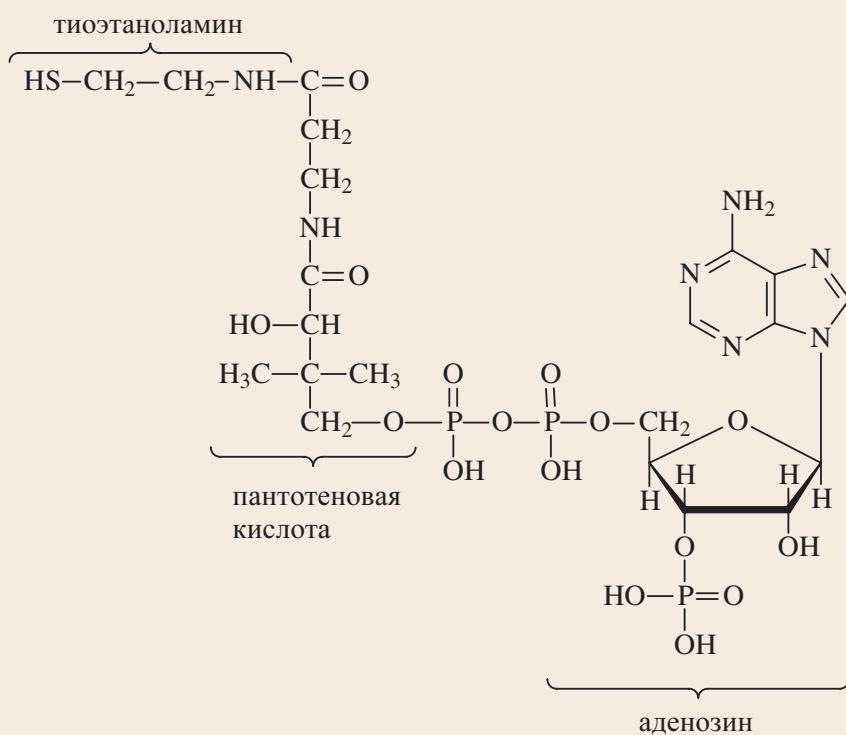


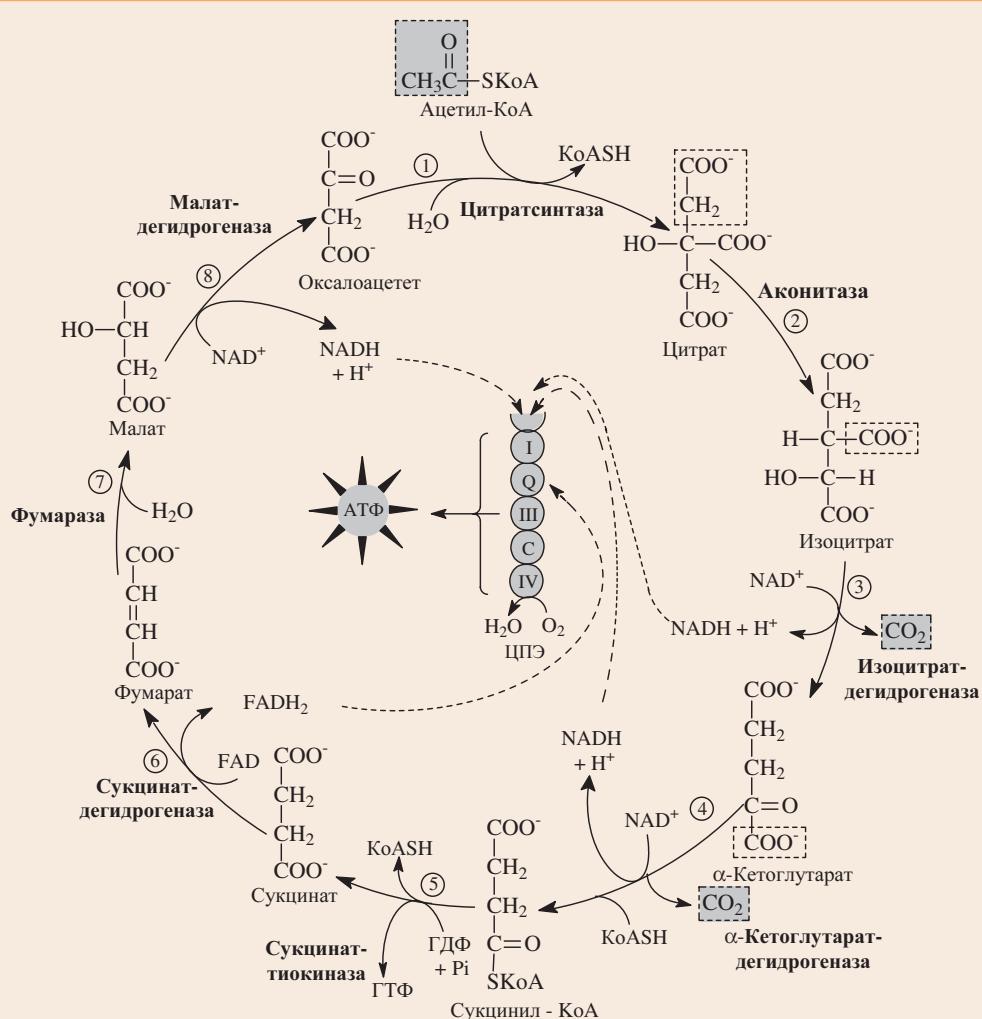
Рис. 7.5. Строение HS-КоА

- полное окисление ацетильного остатка до двух молекул  $\text{CO}_2$ ;
- образование трех молекул восстановленного  $\text{NADH} + \text{H}^+$  и одной молекулы  $\text{FADH}_2$ ;
- синтез одной молекулы ГТФ в результате субстратного фосфорилирования.

Реакции цитратного цикла, ферменты и их характеристика приведены на рис. 7.6.

### Сопряжение общих путей катаболизма с дыхательной цепью

В общих путях катаболизма происходит пять реакций дегидрирования: одна на стадии окислительного декарбоксилирования пирувата и четыре в цитратном цикле. Все 10 атомов водорода переносятся на коферменты дегидрогеназ, которые, в свою очередь, окисляются в дыхательной цепи. Окисленные коферменты возвращаются в реакции общих путей катаболизма. **Регенерация коферментов — это обязательное условие для протекания реакции дегидрирования.** Таким образом, общий путь катаболизма и дыхательная цепь неразрывно связаны между собой и отдельно функционировать не могут.

**Рис. 7.6. Схема цитратного цикла:**

I, III, IV — ферментативные комплексы в ЦПЭ; Q — кофермент Q;  
C — циtoхром C

### Значение общих путей катаболизма в энергетическом обмене

За один оборот цитратного цикла синтезируется 12 молекул АТФ (рис. 7.6). Девять из них образуются за счет энергии транспорта электронов в дыхательной цепи от трех молекул  $\text{NADH} + \text{H}^+$ . Две молекулы АТФ синтезируются при окислении 1 молекулы  $\text{FADH}_2$ , так как в дыхательной цепи в данном случае действуют только два пункта сопряжения ЦПЭ с окислительным фосфорилированием АДФ. Кроме того, в цитратном цикле происходит одна реакция субстратного фосфорилирования (реакция 5), дающая 1 моль ГТФ (АТФ).

В общих путях катаболизма синтезируется **15 молекул АТФ**. Три из них при окислительном декарбоксилировании пирувата и 12 — в цитратном цикле.

### 7.3. Регуляция общих путей катаболизма

Главным фактором, регулирующим скорость дыхания и фосфорилирования, является **потребность организма в энергии**. Синтез АТФ осуществляется в ЦПЭ, но основная масса восстановленных эквивалентов для дыхательной цепи поступает из общих путей катаболизма. Следовательно, **регуляция общих путей катаболизма и дыхательной цепи тесно связана**.

Для оценки энергетического состояния клетки используют величину энергетического заряда, отражающего соотношение концентрации АТФ к продуктам ее распада — АДФ и АМФ.

При увеличении энергетического заряда в клетке (в состоянии покоя) скорость реакций общих путей катаболизма снижается, а при уменьшении энергетического заряда — увеличивается. Это достигается за счет того, что **АТФ действует как аллостерический ингибитор, а АДФ и АМФ — как аллостерические активаторы некоторых ферментов ОПК** (рис. 7.7).

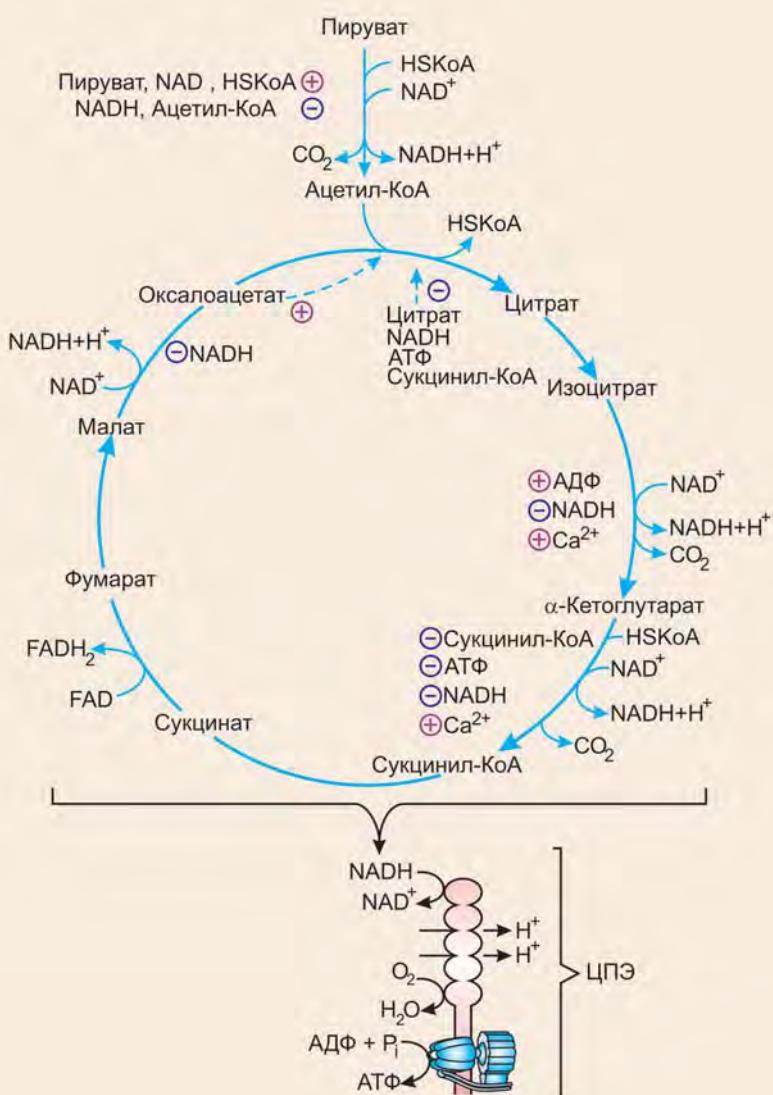
Другой механизм регуляции связан с необходимостью регенерации  $\text{NAD}^+$  в дыхательной цепи. При уменьшении расхода АТФ в клетке скорость дыхания митохондрий снижается (дыхательный контроль), уменьшается также скорость окисления NADH в дыхательной цепи и увеличивается концентрация NADH. В этом случае NADH ингибирует некоторые ферменты общих путей катаболизма, что приводит к замедлению реакций катаболизма и, следовательно, замедлению наработки восстановленных коферментов и уменьшению синтеза АТФ. При увеличении энергетических потребностей организма происходит все наоборот.

В регуляции скорости ОПК существенную роль играет концентрация субстратов (например, активатором пируватдегидрогеназного комплекса является пируват) и концентрация продуктов реакции, которые оказывают ингибирующее действие на активность некоторых ферментов. К тому же, регулирующим действием обладают ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , что особенно важно для мышц, так как при мышечном сокращении происходит увеличение концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , которые вместе с другими эффекторами быстро активируют ферменты ОПК и обеспечивают синтез АТФ для работы мышц.

Регуляция ОПК осуществляется на уровне 4-х реакций, катализируемых:

- ПДК;
- цитратсинтазой;
- изоцитратдегидрогеназой;
- $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназным комплексом.

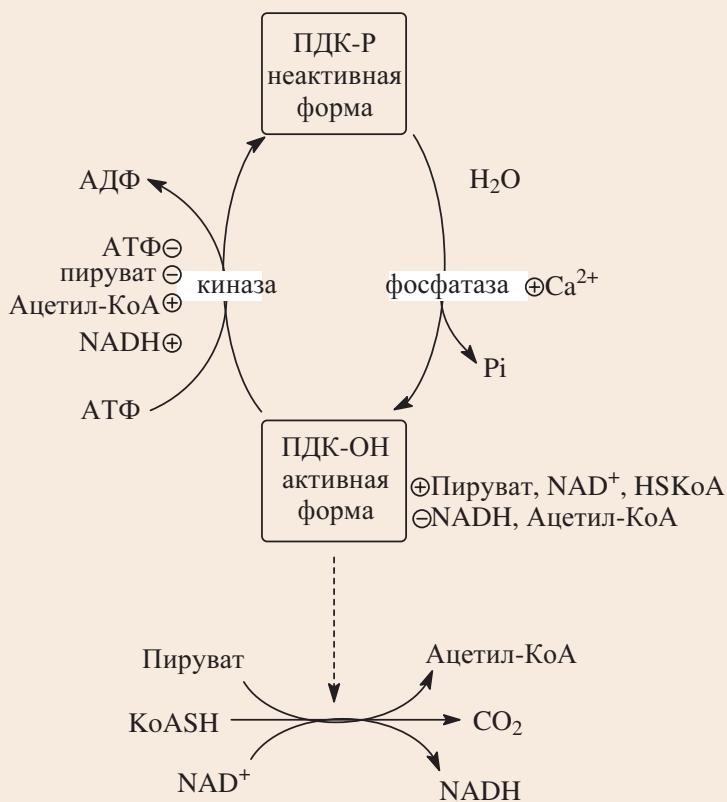
Реакция, катализируемая ПДК, является ключевой реакцией, так как находится в центре пересечения метаболических путей и обеспечивает взаимосвязь

**Рис. 7.7. Регуляция общего пути катаболизма.**

Цитратный цикл регулируется по механизму отрицательной обратной связи с участием аллостерических ферментов. При уменьшении расхода АТФ активность дыхательной цепи снижается (дыхательный контроль), концентрация NADH в клетке повышается и приводит к снижению активности регуляторных ферментов. NADH ингибирует NAD-зависимые дегидрогеназы. Повышение концентрации цитрата, сукцинил-КоА и ацетил-КоА также приводит к ингибированию регуляторных реакций, тогда как субстраты реакций — пируват и оксалоацетат активируют ферменты ОПК

таких процессов, как гликолиз, глюконеогенез, синтез и окисление жирных кислот. ПДК обеспечивает цитратный цикл субстратом — ацетил-КоА. Активность ПДК регулируется различными способами (рис. 7.8):

- активацией субстратами;
- ингибирированием продуктами;
- соотношением  $\text{NAD}^+$ /NADH и АМФ/АТФ;
- путем ковалентной модификации — фосфорилированием и дефосфорилированием.



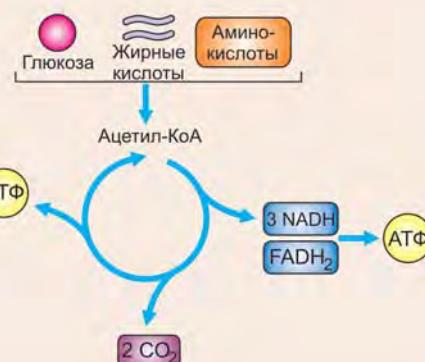
**Рис. 7.8. Регуляция пируватдегидрогеназного комплекса.**

Пируватдегидрогеназный комплекс содержит две регуляторные субъединицы, проявляющие киназную и фосфатазную активность. Киназа фосфорилирует ПДК и переводит его в неактивную форму, фосфатаза отщепляет фосфорный остаток и переводит ПДК в активную форму. Киназа ПДК аллостерически активируется NADH и ацетил-КоА, но ингибируется АТФ и пируватом. При мышечной работе повышение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  активирует фосфатазу ПДК, которая дефосфорилирует и активирует ПДК

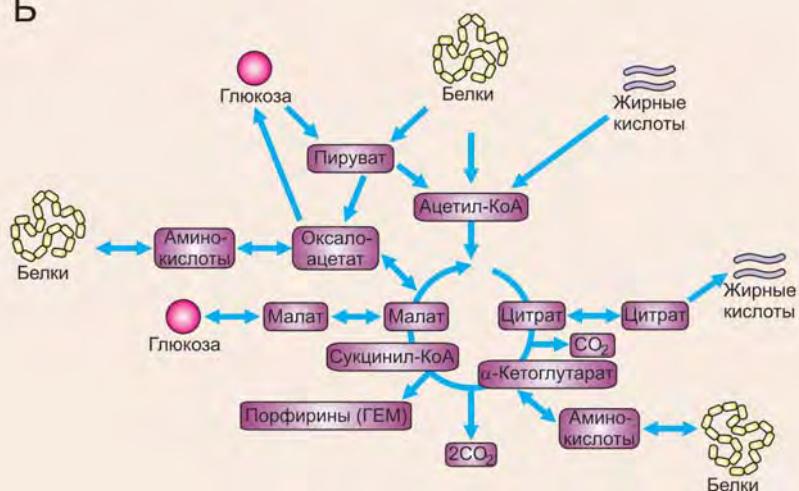
## 7.4. Амфиболическое значение общего пути катаболизма

Общий путь катаболизма выполняет как энергетическую, так и анаболическую функцию (рис. 7.9). Анаболическая функция ОПК проявляется в том, что ряд промежуточных продуктов используется для синтеза необходимых организму веществ. Так пируват,  $\alpha$ -кетоглутарат и оксалоацетат являются кетокислотами, которые путем трансаминирования могут превращаться в аланин, глутаминовую и аспарагиновую кислоты соответственно. Сукцинил-КоА используется для синтеза гема, а пируват и оксалоацетат могут включаться в процесс синтеза глюкозы.

А



Б

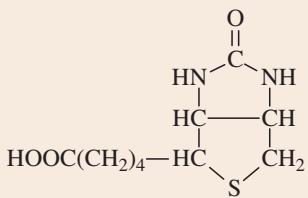


**Рис. 7.9. Амфиболическое значение общих путей катаболизма:**  
А — энергетическая роль ОПК; Б — анаболическое значение ОПК

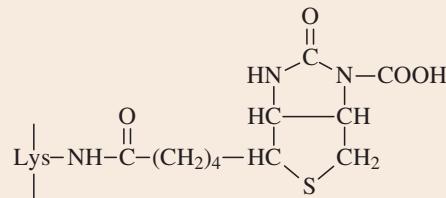
Очевидно, что выведение хотя бы одного метаболита цикла нарушает его работу, так как уменьшает регенерацию оксалоацетата. Для компенсации убыли метаболитов цикла в митохондриях происходит реакция карбоксилирования пирувата с образованием оксалоацетата. Таким образом, пируват включается в цитратный цикл двумя путями: окислительным декарбоксилированием с образованием ацетил-КоА и карбоксилированием с образованием **оксалоацетата**. Последнюю реакцию катализирует **пируваткарбоксилаза**



Пируваткарбоксилаза содержится только в митохондриях. Фермент построен из четырех субъединиц, каждая из которых содержит прочно связанный ион  $\text{Mn}^{2+}$  и витамин биотин, выполняющий коферментную функцию. Биотин соединен с ферментом амидной связью через  $\epsilon$ -аминогруппу остатка лизина (рис. 7.10).



А. биотин



Б. карбоксибиотин в составе фермента

**Рис. 7.10. Строение биотина (А) и карбоксибиотина в составе фермента (Б)**

## 7.5. Гипоэнергетические состояния

Наиболее частой причиной гипоэнергетических состояний является **гипоксия**, возникновение которой, в свою очередь, связано с нарушением:

- **поступления кислорода в кровь**, что наблюдается при недостаточности  $\text{O}_2$  во вдыхаемом воздухе или недостаточности легочной вентиляции;
- **транспорта кислорода в ткани** при патологии кровообращения или снижении транспортной функции гемоглобина;
- **функций митохондрий**, вызванных действием ядов и разобщителей.

Кроме того, причиной гипоэнергетических состояний могут быть **гиповитаминозы**, так как в реакциях общих путей катаболизма и дыхательной цепи участвуют коферменты, содержащие витамины. Так, витамин  $\text{B}_1$  входит в состав тиаминдифосфата,  $\text{B}_2$  является составной частью FMН и FAD, витамин PP в виде никотинамида входит в состав  $\text{NAD}^+$  и  $\text{NADP}$ , пантотеновая кислота — в состав кофермента А; биотин выполняет коферментную функцию в реакции карбоксилирования пирувата.

## Обмен углеводов

Знания о структуре и свойствах углеводов необходимы для понимания их функции в организме человека. Прежде всего углеводы являются основными поставщиками энергии. На их долю приходится более 50% от суточного количества необходимых организму человека калорий. Углеводы составляют почти 75% массы суточного пищевого рациона. В промежутках между едой в качестве легко-мобилизуемого резерва организм использует гликоген. В виде гликогена клетки запасают около 500 г этого полисахарида, что соответствует примерно 2000 ккал.

Следует отметить и структурную роль углеводов. В виде гликозаминогликанов углеводы входят в состав межклеточного матрикса. Большое число белков (ферменты, белки-транспортеры, белки-рецепторы, гормоны, иммуноглобулины и т.д.) является гликопротеинами. Углеводы используются для синтеза нуклеиновых кислот и входят в состав коферментов. Глюкурониды участвуют в процессах детоксикации эндогенных ядов и ксенобиотиков. Таким образом, кроме основной энергетической функции («клеточные дрова») углеводы участвуют во многих метаболических процессах.

### 8.1. Основные углеводы пищи. Строение, переваривание

Источником углеводов для организма человека являются углеводы пищи, основным из которых является крахмал. Кроме того, в пище содержатся глюкоза, сахароза, лактоза и другие углеводы, но в меньшем количестве.

#### Моносахариды пищи (рис. 8.1А)

**Глюкоза** — это альдогексоза. Она может существовать в линейной и циклической формах. Циклическая форма глюкозы, предпочтительная в термодинамическом отношении, обуславливает химические свойства глюкозы. Наиболее важными стереоизомерами этого моносахарида является D- и L-глюкоза.

**Фруктоза** — кетогексоза (кетогруппа находится у второго углеродного атома). Фруктоза, так же как и глюкоза, существует в циклической форме, образуя  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномеры.

### Дисахариды пищи (Рис. 8.1Б)

**Сахароза** — дисахарид, состоящий из  $\alpha$ -D-глюкозы и  $\beta$ -D-фруктозы, соединенных  $\alpha, \beta$ -1,2 гликозидной связью. Сахароза — растворимый дисахарид, привлекающий человека своим сладким вкусом. Источником сахарозы служат растения, особенно такие, как сахарная свекла, сахарный тростник. Последнее объясняет возникновение тривиального названия сахарозы — тростниковый или свекловичный сахар, широко используемый людьми в пищевом рационе.

**Лактоза** — молочный сахар, является важнейшим дисахаридом молока млекопитающих. В коровьем молоке содержится до 5% лактозы, в женском молоке — до 8%. В лактозе аномерная OH-группа первого углеродного атома остатка D-галактозы связана  $\beta$ -гликозидной связью с четвертым углеродным атомом D-глюкозы ( $\beta$ -1,4-связь).

**Мальтоза** поступает с продуктами, содержащими частично гидролизованный крахмал, например солод, пиво. Мальтоза также образуется при расщеплении крахмала в кишечнике. Мальтоза состоит из двух остатков D-глюкозы, соединенных  $\alpha$ -1,4-гликозидной связью.

**Изомальтоза** — промежуточный продукт, образующийся при расщеплении крахмала в кишечнике. Состоит из двух остатков D-глюкозы, но соединены эти моносахариды  $\alpha$ -1,6-гликозидной связью.

### Полисахариды пищи (рис. 8.1В)

**Крахмал** является резервным полисахаридом растений и содержится в наибольшем количестве (до 45% от сухого вещества) в зернах злаков (пшеница, кукуруза, рис и т.д.), а также луковицах, стеблях и клубнях растений (в картофеле примерно 65%). Он содержится в клетках растений в виде гранул, практически нерастворим в воде. Крахмал — это разветвленный полисахарид, состоящий из остатков глюкозы (гомогликан).

В местах ветвления остатки глюкозы соединены  $\alpha$ -1,6-гликозидными связями. Линейные участки содержат примерно 20–25 остатков глюкозы. При этом формируется древовидная структура, в которой имеется лишь одна аномерная OH-группа. Крахмал — это высокомолекулярное соединение с молекулярной массой порядка  $10^5$ – $10^8$  Да.

**Целлюлоза** (клетчатка) — основной структурный полисахарид растений. Это самое распространенное органическое соединение на Земле. Доля целлюлозы в клеточных стенках растений составляет 40–50%.

Целлюлоза — линейный полисахарид гомогликан, построенный из остатков глюкозы, соединенных между собой  $\beta$ -1,4-гликозидными связями. Пищевари-

тельная система человека не имеет ферментов, гидролизующих  $\beta$ -связи в полисахаридах, поэтому целлюлоза является неиспользуемым углеводом, но этот пищевой компонент, как будет описано далее, необходим для нормального протекания процесса переваривания.

**Гликоген** — полисахарид животных и человека. Так же, как крахмал в растениях, гликоген в клетках животных выполняет резервную функцию, хотя в пище содержится лишь в небольших количествах.

Гликоген представляет собой структурный аналог крахмала, но имеет большую степень ветвления: примерно на каждые 10 остатков глюкозы приходится одна  $\alpha$ -1,6-гликозидная связь.

### Переваривание углеводов

В эпителиальные клетки кишечника способны всасываться только моносахариды. Поэтому процесс переваривания заключается в ферментативном гидролизе гликозидных связей в углеводах, имеющих диолиго- или полисахаридное строение.

### Переваривание углеводов в ротовой полости

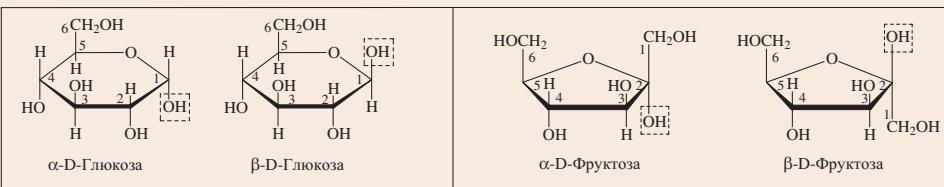
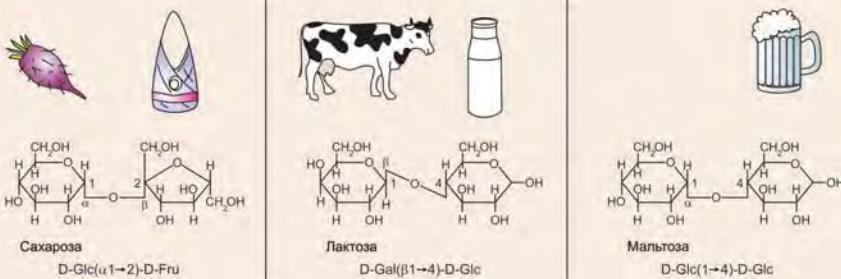
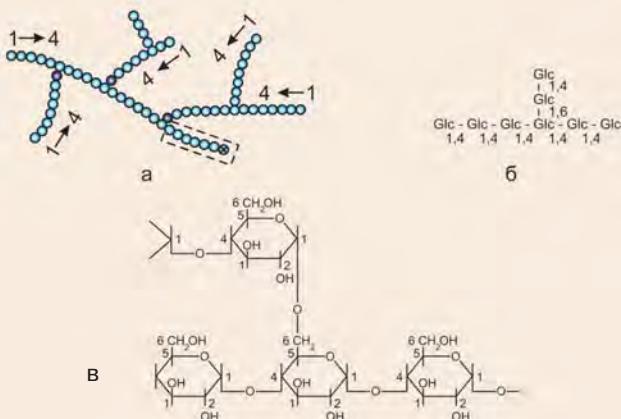
В ротовой полости пища измельчается при пережевывании, смачиваясь при этом слюной. Слюна на 99% состоит из воды и обычно имеет pH 6,8. В слюне присутствует гидролитический фермент  **$\alpha$ -амилаза** ( $\alpha$ -1,4-гликозидаза), которая расщепляет в крахмале  $\alpha$ -1,4-гликозидные связи. Полное расщепление крахмала в ротовой полости не происходит, так как действие фермента кратковременно. Кроме того, амилаза слюны не расщепляет  $\alpha$ -1,6-гликозидные связи, поэтому крахмал переваривается лишь частично с образованием крупных фрагментов — **декстринов** и небольшого количества **мальтозы**. Следует отметить, что амилаза слюны не гидролизует гликозидные связи в дисахаридах.

Действие амилазы слюны прекращается в кислой среде содержимого желудка (pH 1,5–2,5). Однако внутри пищевого комка, активность амилазы может некоторое время сохраняться. Желудочный сок не содержит ферментов, расщепляющих углеводы. В желудочном содержимом возможен лишь незначительный кислотный гидролиз гликозидных связей.

### Переваривание углеводов в кишечнике

Последующие этапы переваривания нерасщепленного или частично расщепленного крахмала, а также других углеводов пищи происходят в тонком кишечнике в разных его отделах под действием гидролитических ферментов — **гликозидаз**.

В двенадцатиперстной кишке pH среды желудочного содержимого нейтрализуется, так как секрет поджелудочной железы имеет pH 7,5–8,0 и содержит

**A.****Б****В****Рис. 8.1. Строение углеводов пищи:**

А — строение моносахаридов; Б — строение дисахаридов;

В — строение крахмала и гликогена:

а — общая схема; в рамке единственная в молекуле цепь, имеющая глюкозный остаток (обозначен крестиком) со свободным гликозидным гидроксилом — редуцирующий конец;

б — фрагмент молекулы, включающий точку ветвления;

в — гликозидные связи в молекуле крахмала и гликогена: 1,4 — в линейных участках,

1,6 — в местах разветвления

бикарбонаты ( $\text{HCO}_3^-$ ). С секретом поджелудочной железы в кишечник поступает **панкреатическая  $\alpha$ -амилаза**. Этот фермент гидролизует  $\alpha$ -1,4-гликозидные связи в крахмале и декстринах.

Продуктами переваривания крахмала на этом этапе является дисахарид **мальтоза**, содержащая два остатка глюкозы, связанные  $\alpha$ -1,4-связью. Из тех остатков глюкозы, которые в молекуле крахмала находятся в местах разветвления и соединены  $\alpha$ -1,6-гликозидной связью, образуется дисахарид **изомальтоза**. Кроме того, образуется некоторое количество **олигосахаридов**, содержащих 3–8 **остатков глюкозы**, связанных  $\alpha$ -1,4, и  $\alpha$ -1,6 связями.

$\alpha$ -амилаза поджелудочной железы, также как  $\alpha$ -амилаза слюны, действует как **эндогликозидаза**. Панкреатическая  $\alpha$ -амилаза не расщепляет  $\alpha$ -1,6-гликозидные связи в крахмале. Этот фермент также не гидролизует  $\beta$ -1,4-гликозидные связи, которыми соединены остатки глюкозы в молекуле целлюлозы. Целлюлоза, таким образом, проходит через кишечник неизмененной. Тем не менее непереваренная целлюлоза выполняет важную функцию балластного вещества, придавая пище дополнительный объем и положительно влияя на процесс переваривания. Кроме того, в толстом кишечнике целлюлоза может подвергаться действию бактериальных ферментов и частично расщепляться с образованием спиртов, органических кислот и  $\text{CO}_2$ . Продукты бактериального расщепления целлюлозы важны как стимуляторы перистальтики кишечника.

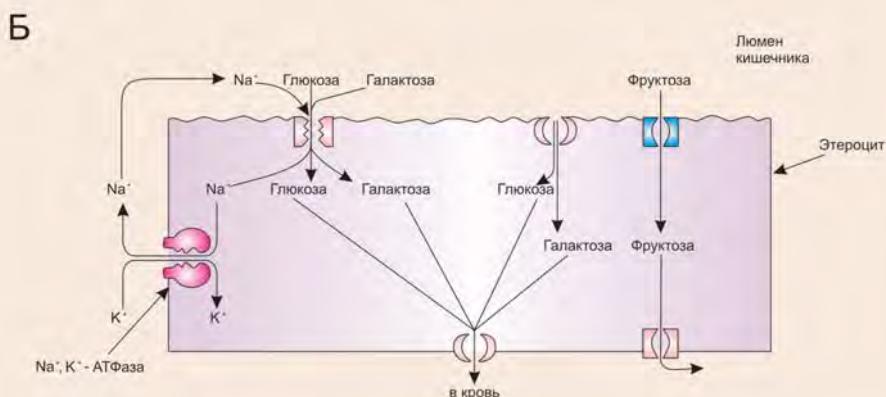
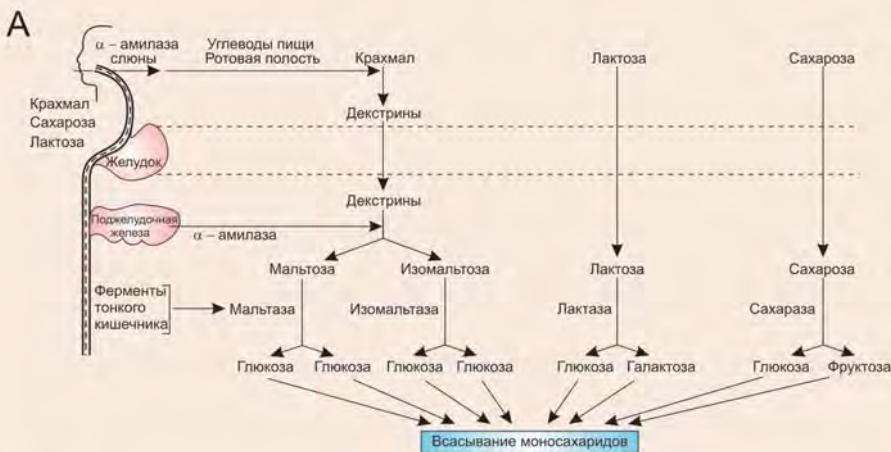
Дальнейшее переваривание мальтозы, изомальтозы, сахарозы, лактозы и олигосахаридов происходит под действием специфических ферментов в тонком кишечнике. Активность специфических олиго- и дисахаридаз в просвете кишечника низкая. Но ферменты активно действуют на поверхности эпителиальных клеток кишечника, образуя **ферментативные комплексы**.

**Сахарозо-изомальтазный комплекс** гидролизует сахарозу и изомальтозу, расщепляя  $\alpha$ -1,2- и  $\alpha$ -1,6-гликозидные связи. К тому же, этот комплекс имеет мальтазную и мальтотриазную активность, гидролизуя  $\alpha$ -1,4-гликозидные связи в мальтозе и мальтотриозе (трисахарид, образующийся из крахмала). Надолго сахарозо-изомальтазного комплекса приходится 80% от всей мальтазной активности кишечника.

В тощей кишке содержание сахарозо-изомальтазного ферментативного комплекса достаточно высокое, но оно снижается в проксимальной и дистальной частях кишечника.

**Гликоамилазный комплекс** катализирует гидролиз  $\alpha$ -1,4-связи между глюкозными остатками в олигосахаридах, действуя с восстановливающим концом. По механизму действия этот фермент относится к экзогликозидазам. Комплекс расщепляет также связи в мальтозе, действуя как мальтаза. Гликоамилазная активность комплекса наибольшая в нижних отделах тонкого кишечника.

**$\beta$ -гликозидазный комплекс (лактаза)** расщепляет  $\beta$ -1,4-гликозидные связи между галактозой и глюкозой в лактозе.



**Рис. 8.2. Переваривание (А) и всасывание (Б) углеводов:**

А — переваривание углеводов в ротовой полости и кишечнике

Б — всасывание моносахаридов в кишечнике;

— белки — переносчики (транспортеры) фруктозы;

— белки — переносчики (транспортеры) глюкозы;

—  $\text{Na}^+$  — зависимый белок-переносчик.

Всасывание моносахаридов из кишечника происходит путем облегченной диффузии с помощью специальных белков-переносчиков (транспортеров). Кроме того, глюкоза и галактоза переносятся в энтероцит путем вторично-активного транспорта, зависимого от градиента концентрации ионов натрия.  $\text{Na}^+$ -зависимые транспортеры обеспечивают всасывание глюкозы из просвета кишечника в энтероцит против градиента концентрации. Энергию, необходимую для этого транспорта, обеспечиваются  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФаза, которая работает, как насос, откачивая из клетки  $\text{Na}^+$  в обмен на  $\text{K}^+$ . В отличие от глюкозы фруктоза транспортируется в любые клетки путем облегченной диффузии.

Лактаза, как и другие гликозидазные комплексы, связана с щеточной каемкой и распределена неравномерно по всему тонкому кишечнику. Активность лактазы колеблется в зависимости от возраста. Так, у плода она особенно активна в поздние сроки беременности и сохраняется на высоком уровне до 5–7 летнего возраста. Затем активность фермента снижается, составляя у взрослых 10% от уровня, характерного для детей.

Совместное действие всех перечисленных ферментов завершает переваривание пищевых олиго- и полисахаридов с образованием моносахаридов, основным из которых является глюкоза. Кроме глюкозы из углеводов пищи образуется также фруктоза и галактоза, в меньшем количестве манноза, ксилоза, арабиноза (рис. 8.2).

## 8.2. Трансмембранный перенос глюкозы и других моносахаридов в клетки

### Всасывание моносахаридов в кишечнике (рис. 8.2Б)

Транспорт моносахаридов в клетки слизистой кишечника может осуществляться разными способами: путем **облегченной диффузии и активного транспорта**. В случае активного транспорта глюкоза и  $\text{Na}^+$  проходят через мембранные протеины с люминальной стороны, связываясь с разными участками белка-переносчика. При этом  $\text{Na}^+$  поступает в клетку по градиенту концентрации и одновременно глюкоза транспортируется против градиента концентрации (вторично-активный транспорт, см. раздел 4). Следовательно, чем больше градиент  $\text{Na}^+$ , тем больше поступление глюкозы в энтероциты. Если концентрация  $\text{Na}^+$  во внеклеточной жидкости уменьшается, транспорт глюкозы снижается. Градиент концентрации  $\text{Na}^+$  создается работой  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТРазы (см. раздел 5). Вторично-активный транспорт характерен также для галактозы.

Благодаря активному транспорту эпителиальные клетки кишечника могут поглощать глюкозу при ее очень низкой концентрации в просвете кишечника. Если же концентрация глюкозы в просвете кишечника велика, то она может транспортироваться в клетку путем облегченной диффузии. Таким же способом может всасываться и фруктоза.

После всасывания моносахариды (главным образом глюкоза) покидают клетки слизистой кишечника через мембрану, обращенную к кровеносному капилляру, с помощью облегченной диффузии. Часть глюкозы (более половины) попадает в кровеносную систему и через воротную вену и доставляется в печень, а остальное количество глюкозы поступает в клетки других тканей.

## Транспорт глюкозы из крови в клетки

Потребление глюкозы клетками из кровотока происходит также путем **облегченной диффузии**. Следовательно, скорость трансмембранных потоков глюкозы зависит только от градиента ее концентрации. Исключением являются клетки мышц и жировой ткани, где облегченная диффузия регулируется инсулином (гормон поджелудочной железы). В отсутствие инсулина плазматическая мембрана этих клеток непроницаема для глюкозы, так как она не содержит белки—переносчики (транспортеры) глюкозы. **Глюкозные транспортеры (ГЛЮТ)** называют также рецепторами глюкозы. Транспортер имеет участок связывания глюкозы на внешней стороне мембраны. После присоединения глюкозы конформация белка изменяется, в результате чего глюкоза оказывается связанной с белком в участке, обращенном внутрь клетки. Затем глюкоза отделяется от транспортера, переходя внутрь клетки.

Описаны пять типов ГЛЮТ. Они имеют сходную первичную структуру и доменную организацию, но отличаются локализацией и степенью сродства к глюкозе.

Все типы ГЛЮТ могут находиться как в плазматической мембране, так и в цитозольных везикулах. ГЛЮТ-4 (и в меньшей мере ГЛЮТ-1) почти полностью находятся в цитоплазме клеток. Влияние инсулина на клетки, содержащие ГЛЮТ-4, приводит к перемещению везикул, содержащих ГЛЮТ, к плазматической мембране, слиянию с ней и встраиванию транспортеров в мембрану. После чего возможен облегченный транспорт глюкозы в эти клетки. После снижения концентрации инсулина в крови транспортеры глюкозы снова перемещаются в цитоплазму и поступление глюкозы в клетку прекращается (рис. 8.3).

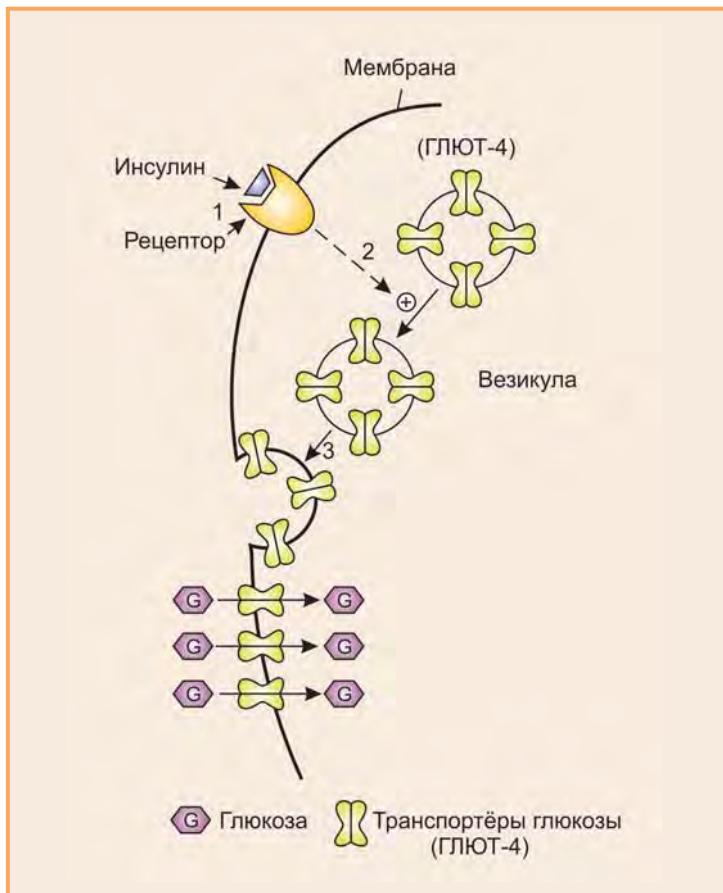
Известны различные нарушения в работе транспортеров глюкозы. Наследственный дефект этих белков может лежать в основе инсулиннезависимого сахарного диабета (см. раздел 11).

## Нарушения переваривания и всасывания углеводов

В основе патологии переваривания и всасывания углеводов могут быть причины двух типов:

- 1) дефекты ферментов, участвующих в гидролизе углеводов в кишечнике;
- 2) нарушение всасывания продуктов переваривания углеводов в клеткислизистой кишечника.

В том и другом случае возникает осмотическая диарея, которую вызывают нерасщепленные дисахариды или невсосавшиеся моносахариды. Эти невостребованные углеводы поступают в дистальные отделы кишечника, изменения осмотическое давление содержимого кишечника. Оставшиеся в



**Рис. 8.3. Влияние инсулина на перемещение транспортеров глюкозы из цитоплазмы в плазматическую мембрану:**

- 1 — связывание инсулина с рецептором;
- 2 — участок инсулинового рецептора, обращенный внутрь клетки, стимулирует перемещение транспортеров глюкозы;
- 3, 4 — транспортеры, в составе везикул перемещаются к плазматической мембране, включаются в ее состав и переносят глюкозу в клетку

просвете кишечника углеводы частично подвергаются ферментативному расщеплению микроорганизмами с образованием органических кислот и газов. Все это приводит к притоку воды в кишечник, увеличению объема кишечного содержимого, усилию перистальтики, спазмам и болям, а также метеоризму.

Известны **наследственные и приобретенные** формы снижения активности ферментов. Симптомы врожденных форм проявляются достаточно рано, например после первых кормлений грудным молоком (при дефиците лактазы), после перехода на искусственное вскармливание или при добавлении в рацион сахара и крахмала (при дефиците  $\alpha$ -амилазы или специфических дисахаридаз). При отсутствии своевременного лечения врожденные формы патологии сопровождаются хроническим дисбактериозом и нарушениями физического развития ребенка.

Приобретенные формы патологии могут наблюдаться при кишечных заболеваниях, например гастритах, колитах, энтеритах. Следует заметить, что в этих случаях особенно часто снижается активность лактазы. Как уже говорилось, активность лактазы в кишечнике ниже, чем других дисахаридаз, поэтому уменьшение ее активности становится заметным в первую очередь.

Дефицит лактазы у взрослых людей может быть результатом снижения экспрессии гена лактазы возрастного характера. У отдельных людей это может проявляться непереносимостью молока.

Нарушения всасывания могут быть следствием дефекта какого-либо компонента (белка или ферmenta), участвующего в системе транспорта моносахаридов через мембрану. Так, описаны патологии, связанные с дефектом натрий-зависимого переносчика глюкозы.

Для **диагностики** различных нарушений переваривания используют пробы с нагрузкой определенными углеводами. Недостаточность кишечных дисахаридаз можно диагностировать с помощью введения дисахарida и последующего определения концентрации глюкозы в крови. Для большей чувствительности этот тест проводят, вводя сначала дисахарид (50 г), а затем эквивалентное количество составляющих его моносахаридов (по 25 г каждого). После нагрузки концентрация глюкозы в крови увеличивается примерно на 50% относительно нормы. При патологии подъем гликемической кривой незначителен.

Если тест при нагрузке моносахаридом сопровождается адекватным повышением его концентрации в крови, а нагрузка дисахаридом не дает нормальной реакции, то это, скорее всего, указывает на дефект кишечной дисахаридазы, а не системы транспорта.

О недостаточности лактазы можно судить, определяя водород в выдыхаемом воздухе (водородный тест). Водород образуется в результате действия бактериальных ферментов на лактозу.

### 8.3. Метаболизм глюкозы в клетках

После всасывания в кишечнике моносахариды кровью воротной вены доставляются прежде всего в печень. Поскольку в составе основных углеводов пищи преобладает глюкоза, ее можно считать основным продуктом переваривания углеводов. Другие моносахариды, поступающие из кишечника в процессе метаболизма, могут превращаться в глюкозу или продукты ее метаболизма. Часть глюкозы в печени депонируется в виде гликогена, а другая часть через общий кровоток доставляется и используется разными тканями и органами. В промежутке между приемами пищи концентрация глюкозы в крови поддерживается на уровне 3,3–5,5 ммоль/л (60–100 мг/дл). А в период пищеварения может повышаться примерно до 150 мг/дл (8 ммоль/л).

#### Фосфорилирование глюкозы

В клетках глюкоза и другие моносахариды участвуют только в виде фосфорных эфиров. Фосфорилирование свободных моносахаридов — обязательная реакция на пути их использования, она приводит к образованию более реакционноспособных соединений и поэтому может рассматриваться как реакция активации.

Глюкоза, поступающая в клетки органов и тканей, сразу же подвергается фосфорилированию с использованием АТФ (рис. 8.4). Эту реакцию во многих тканях катализирует фермент **гексокиназа**, а в печени и поджелудочной железе — **глюкокиназа**. Фосфорилирование глюкозы практически **необратимая реакция**, так как протекает с использованием значительного количества энергии. Образование глюкозо-6-фосфата в клетке — это своеобразная «ловушка» для глюкозы, так как мембрана клетки непроницаема для фосфорилированной глюкозы (нет соответствующих транспортных белков). Кроме того, фосфорилирование уменьшает концентрацию свободной глюкозы в цитоплазме. В результате создаются благоприятные условия для облегченной диффузии глюкозы в клетки из крови.

**Глюкокиназа** имеет высокое значение  $K_m = 10$  ммоль/л и катализирует фосфорилирование глюкозы в гепатоцитах в период пищеварения. В этот период концентрация глюкозы в воротной вене больше, чем в других отделах кровяного русла, и может превышать 10 ммоль/л, а следовательно, активность глюкокиназы в гепатоцитах повышается. В отличие от гексокиназы активность глюкокиназы, не ингибируется продуктом реакции — глюкозо-6-фосфатом. Поэтому при повышении ее уровня в крови концентрация глюкозы в клетке в фосфорилированной форме тоже повышается. В гепатоциты глюкоза проникает путем облегченной диффузии при участии транспортера ГЛЮТ-2 (не-

зависимого от инсулина). ГЛЮТ-2, так же как глюкокиназа, имеет высокую  $K_m$ , что способствует повышению скорости поступления глюкозы в гепатоциты в период пищеварения.

Преимущественное потребление глюкозы гепатоцитами предотвращает чрезмерное повышение ее концентрации в крови в абсорбтивном периоде. Это, в свою очередь, снижает вероятность протекания нежелательных реакций с участием глюкозы, например гликозилирования белков.

**Гексокиназа** отличается от глюкокиназы высоким сродством к глюкозе и низким значением  $K_m < 0,1$  ммоль/л. Следовательно, этот фермент в отличие от глюкокиназы активен при низкой концентрации глюкозы в крови, что характерно для постабсорбтивного состояния. В этот период гексокиназа обеспечивает потребление глюкозы мозгом, эритроцитами и другими тканями.

### Дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата

Превращение глюкозо-6-фосфата в глюкозу возможно в печени, почках и клетках эпителия кишечника. В клетках этих органов имеется фермент **глюкозо-6-фосфатаза**, катализирующая отщепление фосфатной группы гидролитическим путем:



Свободная глюкоза способна диффундировать из этих органов в кровь. В других органах и тканях нет глюкозо-6-фосфатазы, и дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата невозможно. Примером подобного необратимого проникновения глюкозы в клетку являются мышцы, где глюкозо-6-фосфат может использоваться только в метаболизме этой клетки.

### Метаболизм глюкозо-6-фосфата

Глюкозо-6-фосфат может использоваться в клетке в различных превращениях, основными из которых являются: синтез гликогена, катаболизм с образованием  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  или лактата, синтез пентоз. Распад глюкозы до конечных продуктов служит источником энергии для организма. Вместе с тем промежуточные продукты метаболизма глюкозо-6-фосфата могут использоваться для синтеза аминокислот, нуклеотидов, глицерина и жирных кислот (рис. 8.4).

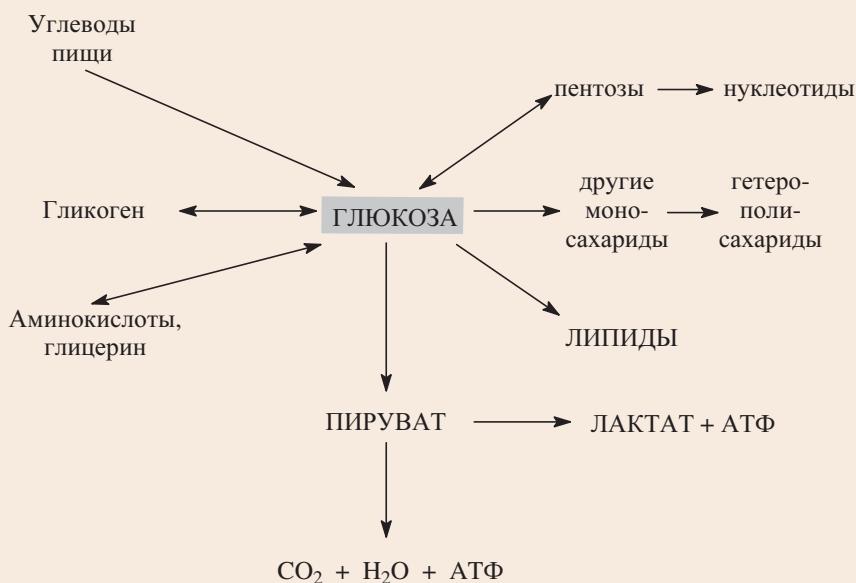


Рис. 8.4. Метаболизм глюкозы в клетках

## 8.4. Метаболизм гликогена

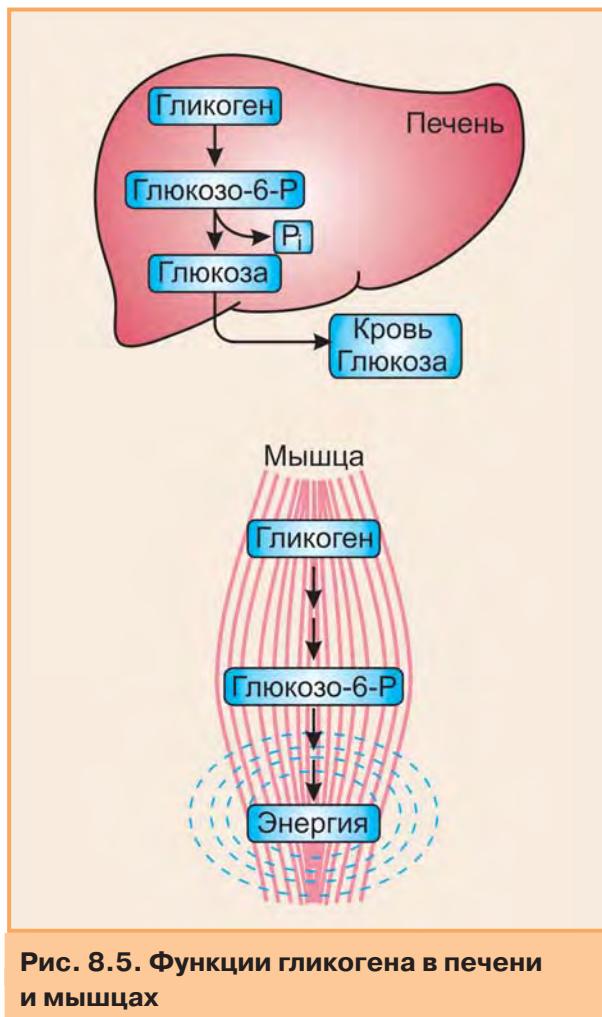
Многие ткани синтезируют в качестве резервной формы глюкозы гликоген (рис. 8.5). Синтез и распад гликогена обеспечивают постоянство концентрации глюкозы в крови и создают депо для ее использования тканями по мере необходимости. Молекула гликогена малорастворима и, следовательно, не влияет на осмотическое давление в клетке. Это обстоятельство объясняет, почему в клетке депонируется гликоген, а не свободная глюкоза.

Гликоген хранится в цитозоле клетки в форме гранул диаметром 10–40 нм. С гранулами связаны и некоторые ферменты, участвующие в метаболизме гликогена, что облегчает их взаимодействие с субстратами. Разветвленная структура гликогена обеспечивает появление большого количества концевых участков. Это способствует работе ферментов, отщепляющих или присоединяющих мономеры при распаде или синтезе гликогена, так как молекулы ферментов могут одновременно работать на нескольких ветвях полисахарида.

Гликоген депонируется главным образом в печени и скелетных мышцах. После приема пищи, богатой углеводами, запас гликогена в печени может составлять примерно 5% от ее массы. Мышицы могут запасать до 1% гликогена, но так как масса мышечной ткани значительно больше, чем в печени, то и

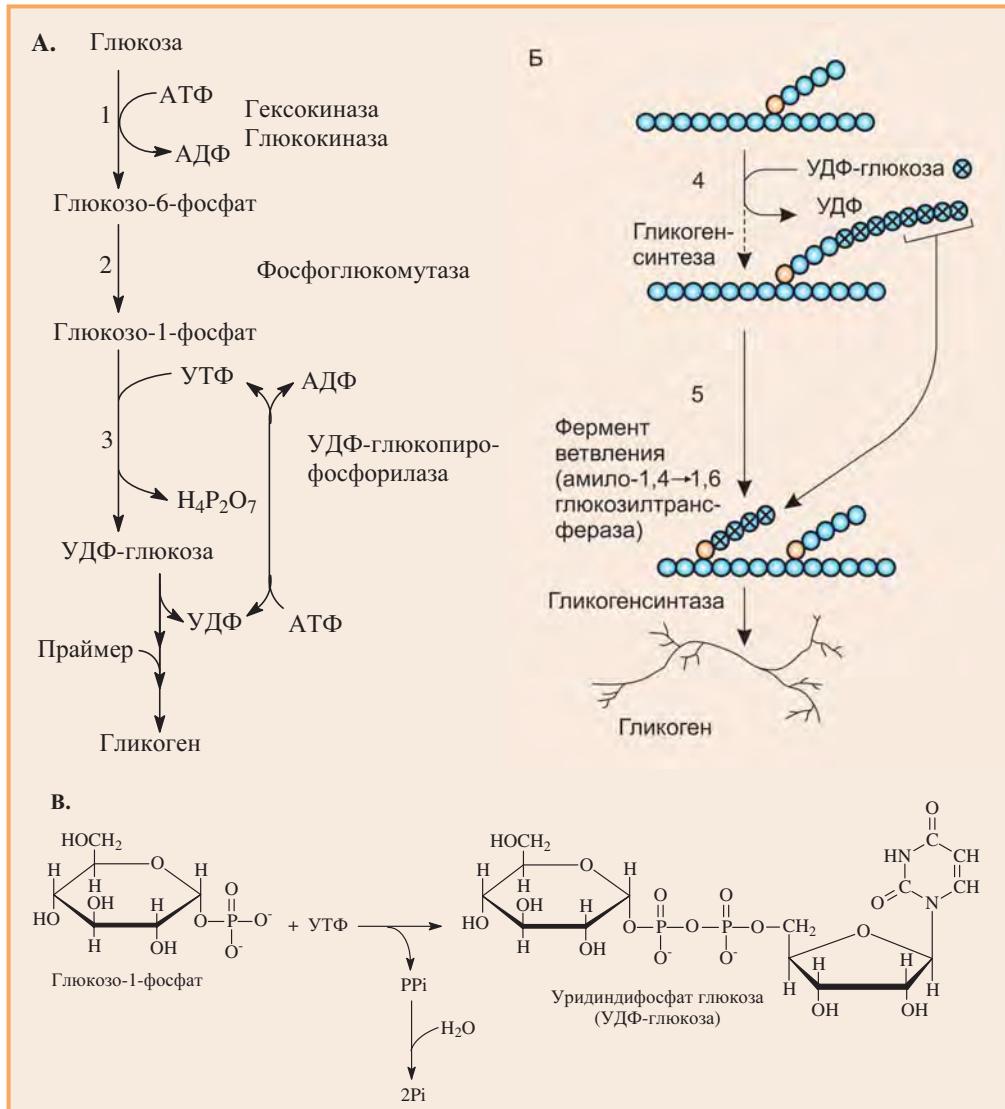
количество гликогена мышц больше. В организме может содержаться до 450 г. гликогена.

Распад гликогена печени служит в основном для поддержания уровня глюкозы в крови в постабсорбтивном периоде. Поэтому содержание гликогена в печени изменяется в зависимости от ритма питания. При длительном голодании оно снижается почти до нуля. Гликоген мышц служит резервом глюкозы, которая является источником энергии при мышечном сокращении. Мышечный гликоген не используется для поддержания уровня глюкозы в крови. Как уже упоминалось ранее, в клетках мышц нет фермента глюкозо-6-фосфатазы, и образование свободной глюкозы невозможно. Расход гликогена в мышцах зависит в основном от физической нагрузки (рис. 8.5).



### Синтез гликогена (гликогеногенез)

Гликоген синтезируется в период пищеварения (1–2 часа после приема углеводной пищи). Следует отметить, что синтез гликогена из глюкозы (рис. 8.6),



**Рис. 8.6. Синтез гликогена:**

- А — синтез гликогена (общая схема);
- Б — полимеризация и ветвление молекулы гликогена;
- В — образование УДФ-глюкозы;
- О, ⊗ — глюкозные остатки; ● — глюкозные остатки в точке ветвления

как всякий анаболический процесс, является эндергоническим, т.е. требующим затрат энергии

Глюкоза, поступающая в клетку, фосфорилируется при участии АТФ (реакция 1). Затем глюкозо-6-фосфат в обратимой реакции превращается в глюкозо-1-фосфат (реакция 2) под действием фермента **fosfogлюкомутазы**. Глюкозо-1-фосфат по термодинамическому состоянию мог бы служить субстратом для синтеза гликогена. Но в силу обратимости реакции глюкозо-6-фосфат $\leftrightarrow$ глюкозо-1-фосфат синтез гликогена из глюкозо-1-фосфата и его распад оказались бы также обратимыми и поэтому неконтролируемыми. Чтобы синтез гликогена был термодинамически необратимым, необходима дополнительная стадия образования уридинифосфатглюкозы из УТФ и глюкозо-1-фосфата (реакция 3). Фермент, катализирующий эту реакцию, назван по обратной реакции: **УДФ-глюкопирофосфорилаза**. Однако в клетке обратная реакция не протекает, потому что образующийся в ходе прямой реакции пирофосфат очень быстро расщепляется пирофосфатазой на две молекулы фосфата.

Реакция образования УДФ-глюкозы обуславливает необратимость всей последовательности реакций, протекающих при синтезе гликогена. Этим же объясняется невозможность распада гликогена путем простого обращения процесса его синтеза.

УДФ-глюкоза далее используется как донор остатка глюкозы при формировании макромолекулы гликогена. Эту реакцию катализирует фермент **гликоген-синтаза (глюкозилтрансфераза)**. Поскольку в данной реакции не используется АТФ, фермент называется синтазой, а не синтетазой.

Так как гликоген в клетке не расщепляется полностью, синтез гликогена осуществляется путем удлинения уже имеющейся молекулы полисахарида, называемой «затравкой», или **праймером**. К «затравке» последовательно присоединяются молекулы глюкозы. Строением молекулы «затравки» как бы предопределяется тип связи, который возникает в реакции трансгликозилирования. В состав «затравки» может входить белок **гликогенин**, в котором к ОН-группе одного из тирозиновых остатков присоединена олигосахаридная цепочка (примерно 8 остатков глюкозы). Глюкозные остатки переносятся гликогенсинтазой на нередуцирующий конец олигосахарида и связываются  $\alpha$ -1,4-гликозидными связями. По окончании синтеза гликогенин остается включенным в гранулу гликогена.

Разветвления в структуре гликогена образуется при участии **амило-1,4 $\rightarrow$ 1,6-глюкозилтрансферазы**, называемой **ферментом «ветвления»** — branching enzyme. Как только гликогенсинтаза синтезирует линейный участок, примерно до 11 глюкозных остатков (реакция 4), фермент ветвления переносит ее концевой блок, содержащий 6–7 остатков, на внутренний остаток глюкозы этой или другой цепи (реакция 5). В точке ветвления концевой остаток глюкозы олигосахарида соединяется с гидроксильной группой в C<sub>6</sub>-положении с образованием  $\alpha$ -1,6-гликозидной связи. Новая точка ветвления может быть образо-

вана на расстоянии не менее 4 остатков от любой уже существующей. Таким образом, по мере синтеза гликогена многократно возрастает число ветвлений. Концы цепей служат точками роста молекулы при ее синтезе и началом при ее распаде.

### Распад гликогена (гликогенолиз)

Распад гликогена, или его мобилизация, происходит в ответ на повышение потребности организма в глюкозе. Гликоген печени распадается в основном в интервалах между приемами пищи или этот процесс ускоряется в печени и мышцах во время физической работы.

Распад гликогена (рис. 8.7) происходит путем последовательного отщепления остатков глюкозы в виде глюкозо-1-фосфата. Гликозидная связь расщепляется с использованием неорганического фосфата, поэтому процесс называется **fosфоролизом**, а фермент **гликогенфосфорилазой**.

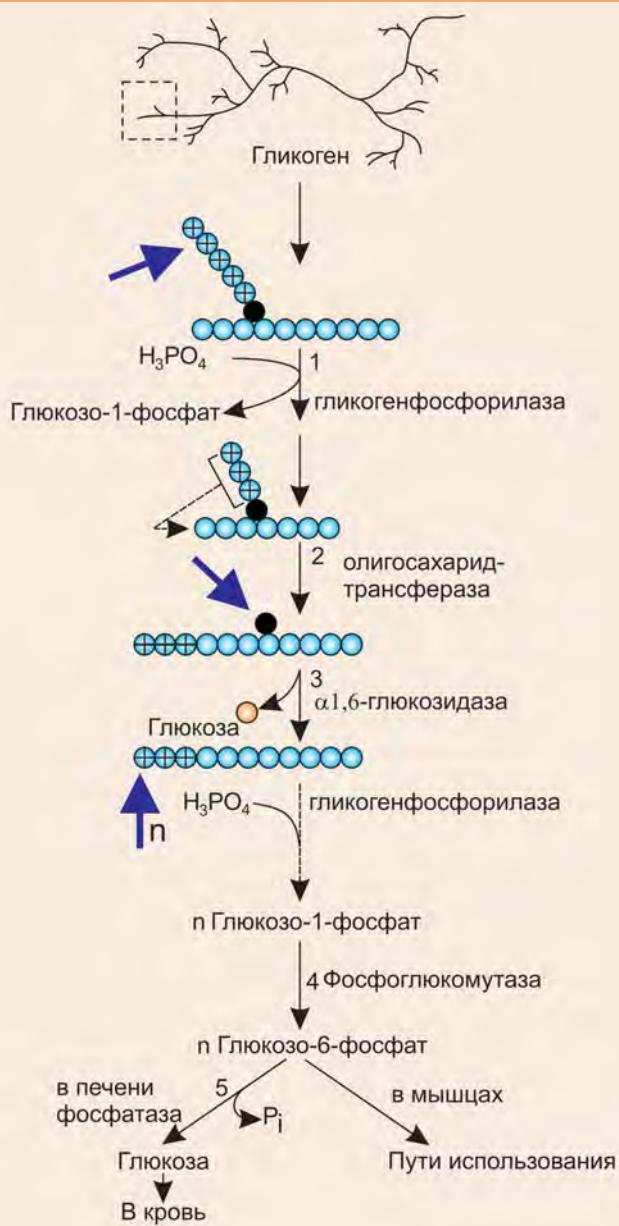
Так же, как и синтез, расщепление гликогена начинается с нередуцирующим концом полисахаридной цепи. При этом наличие разветвленной структуры гликогена облегчает быстрое высвобождение глюкозных остатков, так как чем больше концов имеет молекула гликогена, тем больше молекул гликогенфосфорилазы могут действовать одновременно.

Гликогенфосфорилаза расщепляет только  $\alpha$ -1,4-гликозидные связи (реакция 1). Последовательное отщепление глюкозных остатков прекращается, когда до точки ветвления остается четыре мономера. Подобная особенность в действии гликогенфосфорилазы обусловлена размером и строением ее активного центра.

Дальнейшее расщепление гликогена требует участия двух других ферментов. Сначала три оставшихся до точки ветвления глюкозных остатка переносятся при участии **олигосахаридтрансферазы** (реакция 2) на нередуцирующий конец соседней цепи, удлиняя ее и, таким образом, создавая условия для действия фосфорилазы. Оставшийся в точке ветвления глюкозный остаток гидролитически отщепляется с помощью  **$\alpha$ -1,6-гликозидазы** в виде свободной глюкозы (реакция 3), после чего линейный участок гликогена может вновь атаковаться фосфорилазой.

Перенос трех остатков глюкозы и удаление мономера из точки ветвления (реакция 2 и 3) катализирует один и тот же фермент, который обладает двумя разными ферментативными активностями — трансферазной и гликозидазной. Его называют **деветвящим (debranching enzyme) ферментом**.

Продукт действия гликогенфосфорилазы глюкозо-1-фосфат затем изомеризуется в глюкозо-6-фосфат **фосфоглюкомутазой** (реакция 4). Далее глюкозо-6-фосфат включается в процесс катаболизма или другие метаболические пути. В печени (но не в мышцах) глюкозо-6-фосфат может гидролизоваться с образованием глюкозы, которая выделяется в кровь. Эту реакцию катализирует фермент **глюкозо-6-фосфатаза** (реакция 5).



**Рис. 8.7. Распад гликогена.**

В рамке фрагмент гликогена с точкой ветвления:

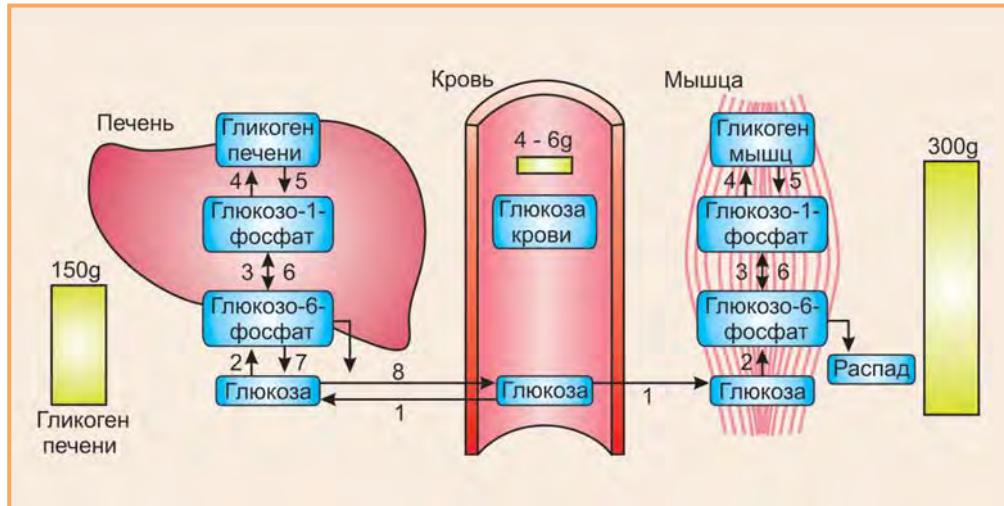
● — глюкозный остаток, связанный  $\alpha 1,6$ -гликозидной связью;

○, ⊗ — глюкозные остатки в линейных участках и боковых ветвях, связанные  $\alpha 1,4$ -гликозидной связью

## Биологическое значение обмена гликогена в печени и мышцах

На рис. 8.8 приведена общая схема синтеза и распада гликогена. Сравнение этих процессов позволяет сделать следующие выводы:

- Синтез и распад гликогена протекают по разным метаболическим путям.
- Печень запасает глюкозу в виде гликогена не столько для собственных нужд, сколько для поддержания постоянной концентрации глюкозы в крови и, следовательно, обеспечивает глюкозой другие ткани. Присутствие в печени глюкозо-6-фосфатазы обуславливает эту главную функцию печени.
- Функция мышечного гликогена заключается в освобождении глюкозо-6-фосфата, потребляемого в самой мышце для окисления и получения энергии.
- Синтез гликогена — процесс эндегронический. Так, на включение одного остатка глюкозы в полисахаридную цепь используется 1 моль АТФ и 1 моль УТФ.
- Распад гликогена до глюкозо-6-фосфата не требует энергии.
- Направление процесса в сторону синтеза или распада гликогена обеспечивается регуляцией.



**Рис. 8.8. Синтез и распад гликогена:**

1–4 — реакции синтеза гликогена в печени и мышцах;

5–6 — реакции мобилизации гликогена в печени и мышцы;

7–8 — реакции дефосфорилирования глюкозо-6-фосфата и поступление глюкозы в кровь. Реакция происходит в печени в отличие от мышц, в которых отсутствует фермент фосфатаза

## 8.5. Регуляция метаболизма гликогена

Процессы накопления глюкозы в виде гликогена и его распад должны быть согласованы с потребностями организма в глюкозе как источнике энергии. Одновременное протекание этих метаболических путей невозможно, так как в этом случае образуется холостой цикл, существование которого приведет только к бесполезной растрате АТФ.

Изменение направления процессов в метаболизме гликогена обеспечивают регуляторные механизмы, в которых участвуют гормоны. Переключение процессов синтеза и мобилизации гликогена происходит при смене абсорбтивного периода на постабсорбтивный или состояния покоя организма на режим физической работы. В переключении этих метаболических путей в печени участвуют гормоны **инсулин, глюкагон и адреналин**, а в мышцах — **инсулин и адреналин**.

### Характеристика гормонов, регулирующих обмен гликогена

Первичным сигналом для синтеза и секреции инсулина и глюкагона является изменение уровня глюкозы в крови. В норме концентрация глюкозы в крови соответствует 3,3—5,5 ммоль/л (60—100 мг/дл).

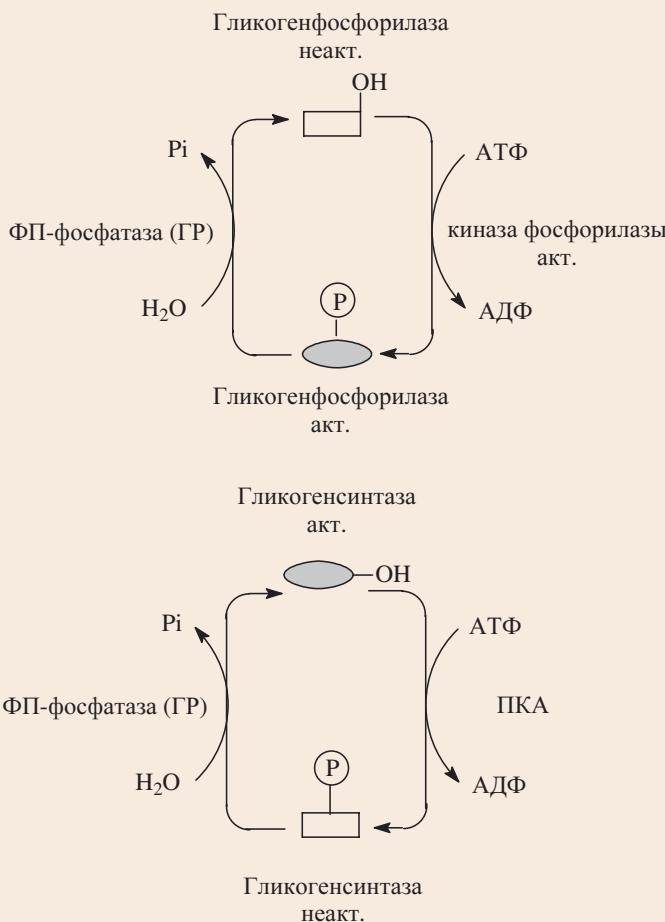
**Инсулин** — белковый гормон, синтезируется и секретируется в кровь  $\beta$ -клетками островков Лангерганса поджелудочной железы.  $\beta$ -клетки чувствительны к изменениям концентрации глюкозы в крови и секретируют инсулин в ответ на повышение ее содержания после приема пищи. Поступление глюкозы в  $\beta$ -клетки обеспечивает транспортный белок (ГЛЮТ-2), который отличается низким сродством к ней. Следовательно, этот белок транспортирует глюкозу в клетку поджелудочной железы лишь после того, как ее содержание в крови будет выше нормального уровня (более 5,5 ммоль/л).

**Глюкагон** — это гормон «голода», который вырабатывается  $\alpha$ -клетками поджелудочной железы в ответ на снижение уровня глюкозы в крови. По химической природе глюкагон является пептидом.

**Адреналин** синтезируется из аминокислоты тирозина и выделяется из клеток мозгового вещества надпочечников в ответ на сигналы нервной системы, идущие из мозга при возникновении экстремальных ситуаций (например, бегство или борьба), требующих срочной мышечной деятельности. Адреналин является сигналом «тревоги». Он должен мгновенно обеспечить мышцы и мозг источником энергии.

### Регуляция активности гликогенфосфорилазы и гликогенсинтазы

Поскольку синтез и распад гликогена протекают по различным метаболическим путям, эти процессы могут контролироваться реципрокно. Влияние гормонов на синтез и распад гликогена осуществляется путем изменения в противоположных направлениях активности двух **ключевых ферментов: гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы**, с помощью фосфорилирования и дефосфорилирования (рис. 8.9).



**Рис. 8.9. Изменение активности гликогенфосфорилазы и гликогенсинтазы.**

Кружками обозначены молекулы фермента: активные — черные, неактивные — белые.  
ФП-фосфатаза (ГР) — фосфопротеинфосфатаза гранул гликогена

**Гликогенфосфорилаза** существует в двух формах: 1) фосфорилированная — активная; 2) дефосфорилированная — неактивная. Фосфорилирование осуществляется путем переноса фосфатного остатка с АТФ на гидроксильную группу одного из сериновых остатков фермента. Следствием этого являются конформационные изменения молекулы фермента и его активация.

Взаимопревращения двух форм гликогенфосфорилазы обеспечиваются действием ферментов **киназы фосфорилазы** и **фосфопротеинфосфатазы** (фермент, структурно связанный с молекулами гликогена). В свою очередь, активность

киназы фосфорилазы и фосфопротеинфосфатазы также регулируется путем фосфорилирования и дефосфорилирования.

**Активация киназы фосфорилазы** происходит под действием протеинкиназы А — ПКА (сАМФ-зависимой). цАМФ сначала активирует протеинкиназу А, которая фосфорилирует киназу фосфорилазы, переводя ее в активное состояние, а та, в свою очередь, фосфорилирует гликогенфосфорилазу. Синтез цАМФ стимулируется адреналином и глюкагоном (см. раздел 5).

**Активация фосфопротеинфосфатазы** происходит в результате реакции фосфорилирования, катализируемой специфической протеинкиназой, которая, со своей стороны, активируется инсулином. Эта протеинкиназа фосфорилирует и тем самым активирует фосфопротеинфосфатазу, которая, в свою очередь, дефосфорилирует и, следовательно, инактивирует киназу фосфорилазы и гликогенфосфорилазу (рис. 8.10).

**Активность гликогенсинтазы** также изменяется в результате фосфорилирования и дефосфорилирования. Однако есть существенные различия в регуляции гликогенфосфорилазы и гликогенсинтазы:

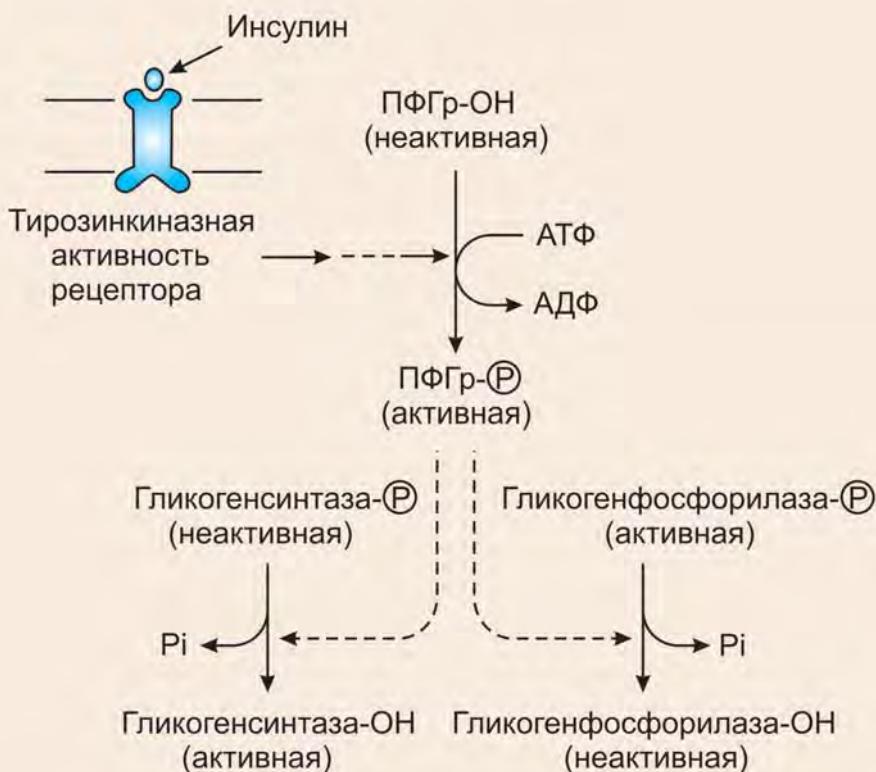
- фосфорилирование гликогенсинтазы катализирует ПКА и вызывает ее инактивацию;
- дефосфорилирование гликогенсинтазы под действием фосфопротеинфосфатазы, наоборот, ее активирует.

### Регуляция метаболизма гликогена в печени

Как уже отмечалось, первичным сигналом для синтеза инсулина и глюкагона является изменение концентрации глюкозы в крови. Инсулин и глюкагон постоянно присутствуют в крови, но при смене абсортивного периода на постабсортивный изменяется их относительная концентрация, что является главным фактором, переключающим метаболизм гликогена в печени. Отношение концентрации инсулина в крови к концентрации глюкагона называется **инсулин-глюкагоновым индексом**.

В постабсортивном периоде инсулин-глюкагоновый индекс снижается и решающим является влияние глюкагона.

**Глюкагон** является для клетки печени внешним сигналом о необходимости выделения в кровь глюкозы за счет распада гликогена — гликогенолиза или синтеза глюкозы из других веществ — глюконеогенеза (этот процесс будет изложен позднее). Гормон связывается с рецептором на плазматической мембране и активирует при посредничестве G-белка аденилатциклазу, которая катализирует образование цАМФ из АТФ (см. раздел 5). Далее следует каскад реакций, приводящий в печени к активации гликогенфосфорилазы и ингибицию гликогенсинтазы (рис. 8.11). Этот механизм приводит к высвобождению из гликогена глюкозо-1-фосфата, который превращается в глюкозо-6-фосфат. Затем под влиянием глюкозо-6-фосфатазы образуется свободная глюкоза, способная выйти из клетки в кровь. Таким образом, глюкагон в печени, стимулируя распад гликогена, способствует поддержанию глюкозы в крови на постоянном уровне.

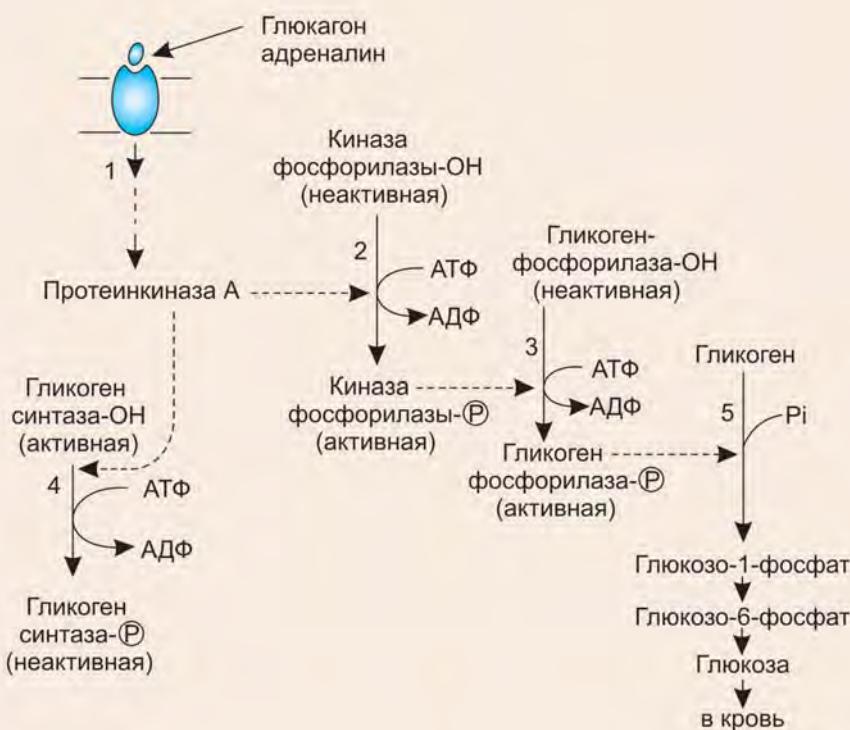


**Рис. 8.10. Влияние инсулина на активность гликогенсинтазы и гликогена фосфорилазы:**

ПФГр — фосфопротеинфосфатаза гранул гликогена

Адреналин имеет сходный с глюкагоном механизм действия. Но в клетках печени возможно включение и другой эффекторной системы передачи сигнала (рис. 8.12). Результатом действия адреналина в печени являются фосфорилирование и активация гликогенфосфорилазы.

Какая система передачи сигнала в клетку будет использована, зависит от типа рецепторов, с которыми взаимодействует адреналин. Так, взаимодействие адреналина с  $\beta_2$ -рецепторами клеток печени включает аденилатциклазную систему. Взаимодействие же адреналина с  $\alpha_1$ -рецепторами приводит в действие инозитолфосфатный механизм трансмембранный передачи гормонального сигнала. Результатом действия обеих систем является фосфорилирование ключевых ферментов и переключение процессов с синтеза гликогена на его распад.



**Рис. 8.11. Регуляция синтеза и распада гликогена в печени глюкагоном и адреналином:**

- 1 — глюкагон и адреналин взаимодействуют со специфическими мембранными рецепторами. Комплекс гормон–рецептор трансформирует сигнал через аденилатциклазную систему на протеинкиназу А, переводя ее в активное состояние;
- 2 — протеинкиназа А фосфорилирует и активирует киназу фосфорилазы;
- 3 — киназа фосфорилазы фосфорилирует гликогенфосфорилазу, переводя ее в активную форму;
- 4 — протеинкиназа А фосфорилирует также гликогенсинтазу, переводя ее в неактивное состояние;
- 5 — в результате ингибирования гликогенсинтазы и активации гликогенфосфорилазы гликоген включается в процесс распада

В период пищеварения преобладающим является влияние **инсулина**, так как инсулин-глюкагоновый индекс в этом случае повышается. В целом инсулин влияет на обмен гликогена противоположно глюкагону. Инсулин снижает концентрацию глюкозы в крови в период пищеварения, действуя на клетки печени следующим образом.

- Снижает уровень цАМФ в клетках.



**Рис. 8.12. Регуляция синтеза и распада гликогена в печени адреналином и  $\text{Ca}^{2+}$ :**

- 1 — взаимодействие адреналина с  $\alpha_1$ -рецептором передает сигнал через инозитолфосфатную систему на фосфолипазу, переводит ее в активное состояние, активирует мобилизацию  $\text{Ca}_{2+}$  из ЭР и активацию протеинкиназы С (ПКС);
- 2 — протеинкиназа С фосфорилирует гликогенсинтазу и переводит ее в неактивное состояние;
- 3 — комплекс  $4\text{Ca}_{2+}$ -кальмодулин активирует киназу фосфорилазы и кальмодулинзависимые протеинкиназы;
- 4 — киназа фосфорилазы фосфорилирует гликогенфосфорилазу и тем самым ее активирует;
- 5 — гликогенфосфорилаза катализирует распад гликогена

- Активирует фосфопротеинфосфатазу гранул гликогена, которая дефосфорилирует гликогенсинтазу и таким образом ее активирует. Кроме того, фосфопротеинфосфатаза дефосфорилирует и, следовательно, инактивирует киназу фосфорилазы и гликогенфосфорилазу.
- Индуцирует синтез глюкокиназы, тем самым ускоряет фосфорилирование глюкозы в клетке. Следует напомнить, что регуляторным фактором в метаболизме гликогена является также величина  $K_m$  глюкокиназы, которая намного выше, чем  $K_m$  гексокиназы. Смысл этих различий понятен: печень не должна потреблять глюкозу для синтеза гликогена, если ее количество в крови в пределах нормы.

Все вместе приводит к тому, что инсулин одновременно активирует гликогенсинтазу и ингибирует гликогенфосфорилазу, переключая процесс мобилизации гликогена на его синтез.

В печени существует и **аллостерическая регуляция гликогенфосфорилазы**, за счет изменения в клетке уровня АТФ, АДФ и АМФ. Замедление утилизации АТФ сопровождается снижением активности гликогенфосфорилазы и уменьшением скорости распада гликогена. Напротив, увеличение расходования АТФ ведет к повышению уровня АМФ, активации гликогенфосфорилазы и ускорению распада гликогена. АТФ и АМФ являются аллостерическими эффекторами по отношению к гликогенфосфорилазе.

### **Регуляция метаболизма гликогена в мышцах**

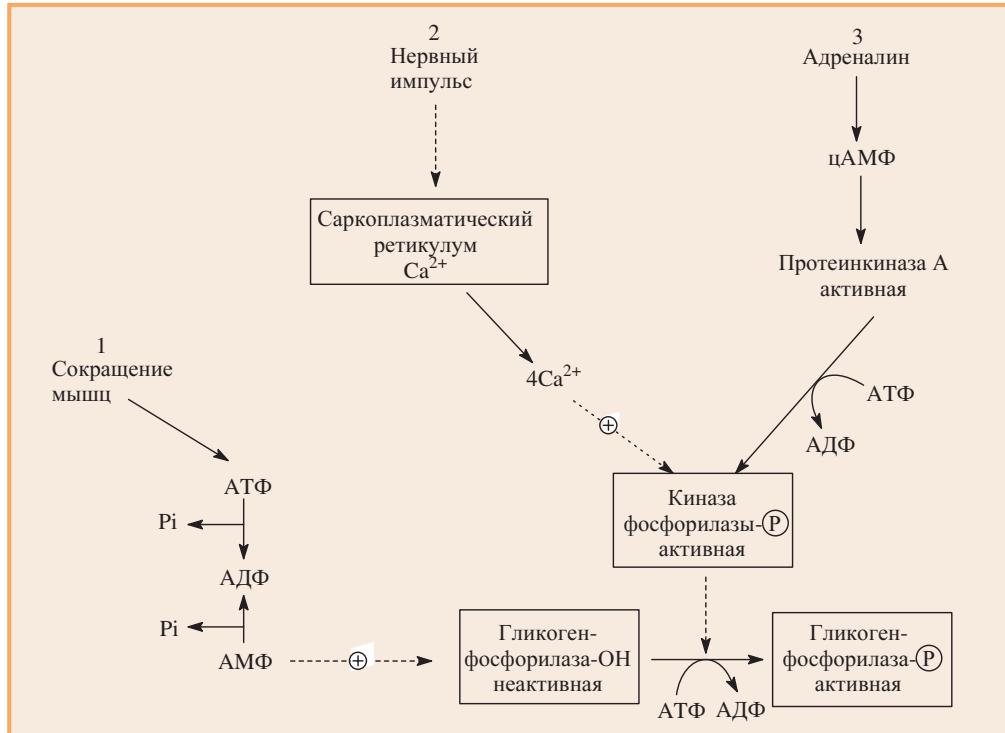
Метаболизм гликогена в мышцах обеспечивает энергетическим материалом, как интенсивную работу мышц (бег или борьба), так и энергозатраты в состоянии покоя.

В **экстремальных ситуациях** в мышечных клетках мобилизация гликогена ускоряется **адреналином**. Связывание адреналина с  $\beta$ -рецепторами, ассоциированными с аденилатциклазной системой, приводит к образованию цАМФ в клетке и последовательному фосфорилированию и активации киназы фосфорилазы и гликогенфосфорилазы (рис. 8.13, путь 3), стимулирующих распад гликогена.

Образованный из гликогена глюкозо-6-фосфата вовлекается в аэробный и анаэробный распад глюкозы и обеспечивает клетки АТФ.

Инактивация гликогенсинтазы под влиянием адреналина в мышечных клетках проходит так же, как в печени.

В **состоянии покоя** при низких концентрациях адреналина в крови гликогенфосфорилаза мышц находится в дефосфорилированном — неактивном — состоянии, но распад гликогена все-таки происходит. Это объясняется тем, что гликогенфосфорилаза активируется способом, не связанным с ее фосфорилированием, так как уровень цАМФ в клетке низкий. В данной ситуации происходит аллостерическая активация гликогенфосфорилазы, активаторами ферmenta являются АМФ и  $H_3PO_4$ , образующиеся в клетке при распаде АТФ (рис. 8.13, путь 1).



**Рис. 8.13. Активация гликогенфосфорилазы мышц.**

Аллостерическая активация гликогенфосфорилазы. В процессе мышечного сокращения происходит использование АТФ с образованием АМФ, который является аллостерическим активатором гликогенфосфорилазы (в дефосфорилированной форме). Нервный импульс инициирует освобождение  $\text{Ca}^{2+}$  из саркоплазматического ретикулума. Ионы  $\text{Ca}^{2+}$  образуют комплекс с кальмодулином, способный активировать киназу фосфорилаз. Активация гликогенфосфорилазы адреналином посредством аденилатциклазной системы

При умеренных мышечных сокращениях, т.е. в ситуации, не требующей включения аденилатной системы, киназа фосфорилазы активируется аллостерически (рис. 8.13, путь 2). В этом случае аллостерическими эффекторами являются ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , концентрация которых резко возрастает при сокращении мышц в ответ на сигнал от двигательного нерва. Активность фермента снижается сразу же, как только концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  в клетке уменьшается после поступления сигнала к расслаблению мышц. Таким образом, роль ионов  $\text{Ca}^{2+}$  заключается не только в инициации мышечного сокращения, но также в обеспечении мышц энергией. Активация киназы фосфорилазы мышц с помощью ионов  $\text{Ca}^{2+}$  опосредована кальмодулином. Кальмодулин в данном случае является прочно связанной субъединицей фермента.

**В мышцах в период пищеварения**, если он совпадает с состоянием покоя, стимулируется синтез гликогена. Мышечная работа во время пищеварения замедляет процесс синтеза гликогена, так как при этом мышцы используют для окисления глюкозу крови, поступающую из кишечника.

В переключении мобилизации гликогена на запасание глюкозы участвует **инсулин**. Как уже говорилось, глюкоза поступает в мышечные и жировые клетки с помощью глюкозных транспортеров **ГЛЮТ-4**. Инсулин стимулирует перемещение ГЛЮТ-4 и встраивание их в мембрану клеток.

Влияние инсулина на скорость синтеза гликогена в мышцах осуществляется посредством изменения активности гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы — ключевых ферментов, о чем уже говорилось при обсуждении влияния инсулина на метаболизм гликогена в печени.

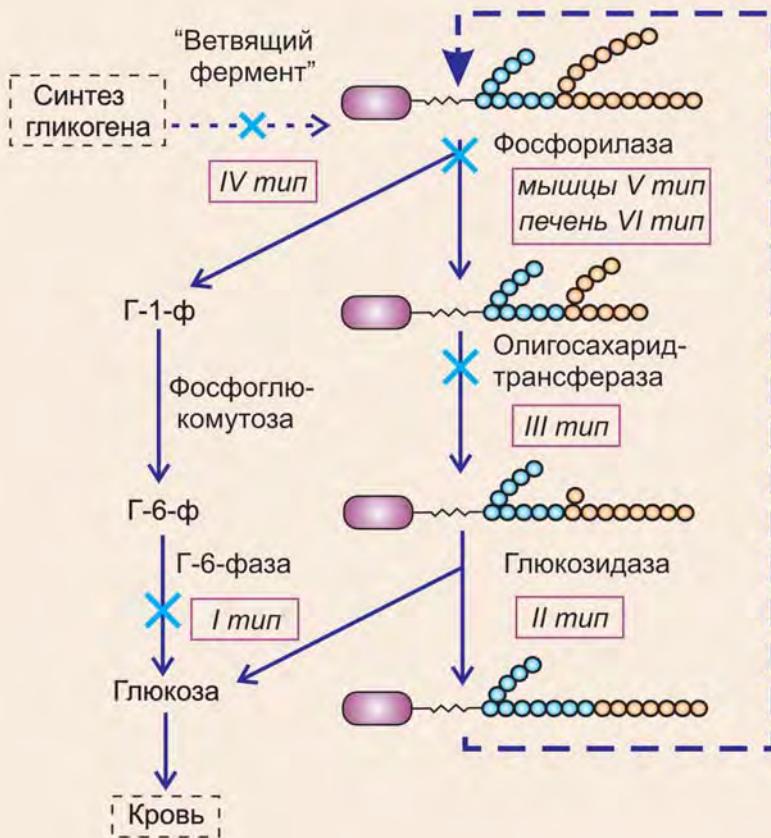
### Нарушения обмена гликогена

**Гликогеновые болезни** — это группа наследственных патологий, причиной которых является снижение или отсутствие активности отдельных ферментов, катализирующих реакции синтеза или распада гликогена или нарушение регуляции этих ферментов.

**Гликогенозы** — заболевания, обусловленные дефектом ферментов, участвующих в распаде гликогена (рис. 8.14). Они проявляются или необычной структурой гликогена, или его избыточным накоплением в печени, сердечной или скелетных мышцах, почках, легких и других органах. В таблице 1 описаны некоторые типы гликогенозов, различающихся характером и локализацией энзимодефекта.

Таблица 8.1

| Тип | Болезнь               | Дефект фермента                     | Структурные и клинические проявления дефекта                        |
|-----|-----------------------|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| I   | Von Gierke's (Гирке)  | Глюкозо-6-фосфатаза                 | Тяжелая постабсорбционная гипогликемия, лактоацидоз, гиперлипидемия |
| II  | Pompe's (Помпе)       | Лизосомальная $\alpha$ -глюказидаза | Гранулы гликогена в лизосомах                                       |
| III | Cori's (Кори)         | Олигосахарид-трансфераза            | Измененная структура гликогена, гипогликемия                        |
| IV  | Andersen's (Андерсен) | «Ветвящий» фермент                  | Измененная структура гликогена                                      |
| V   | McArdle's (Мак-Ардл)  | Мышечная фосфорилаза                | Отложение гликогена в мышцах, судороги при физической нагрузке      |
| VI  | Hers' (Херс)          | Фосфорилаза печени                  | Гипогликемия, но не такая тяжелая, как при I типе                   |



**Рис. 8.14. Дефекты ферментов метаболизма гликогена, приводящие к гликогенозам: Ф — фосфат; Г — глюкоза**

Наиболее изучена болезнь Гирке (гликогеноз 1 типа), при этом заболевании нарушено расщепление гликогена из-за отсутствия фермента глюкозо-6-фосфатазы, структура гликогена сохраняется нормальной. Свободная глюкоза не образуется, а глюкозо-6-фосфат окисляется до лактата. Гипогликемия приводит к активации катаболизма жирных кислот и образованию кетоновых тел.

Термин «гликогеноз» был впервые предложен К.Ф. Кори и Г.Т. Кори, они же предложили систему нумерации этих болезней. Однако в настоящее время преобладает деление гликогенозов на две группы: **печеночные и мышечные**.

**Печеночные формы** гликогенозов ведут к нарушению использования гликогена для поддержания уровня глюкозы в крови. Поэтому общим симптомом для них является гипоглюкоземия в постабсорбтивный период.

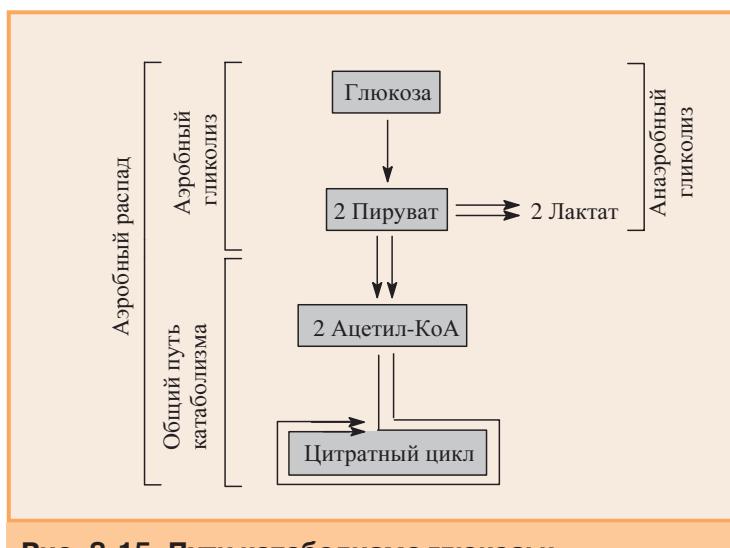
**Мышечные формы гликогенозов** характеризуются нарушением в энергоснабжении скелетных мышц. Эти болезни проявляются при физических нагрузках и сопровождаются болями и судорогами в мышцах, слабостью и быстрой утомляемостью.

### Агликогенозы

Агликогеноз (**гликогеноз 0** по классификации) — заболевание, возникающее в случае дефекта **гликогенсинтазы**. В печени и других тканях больных наблюдается очень низкое содержание гликогена. Это проявляется резко выраженной гипоглюкоземией в постабсорбтивном периоде. Характерным симптомом являются судороги, проявляющиеся особенно по утрам. Болезнь совместима с жизнью, но больные дети нуждаются в частом кормлении.

## 8.6. Катаболизм глюкозы

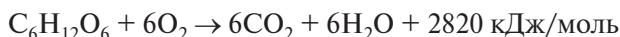
Катаболизм глюкозы является основным поставщиком энергии для процессов жизнедеятельности организма. Пути катаболизма глюкозы представлены на рис. 8.15.



**Рис. 8.15. Пути катаболизма глюкозы:**

2 — стехиометрический коэффициент

**Аэробный распад** (рис. 8.16) глюкозы — это предельное ее окисление до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Этот процесс, являющийся основным путем катаболизма глюкозы у аэробных организмов, может быть выражен следующим суммарным уравнением:

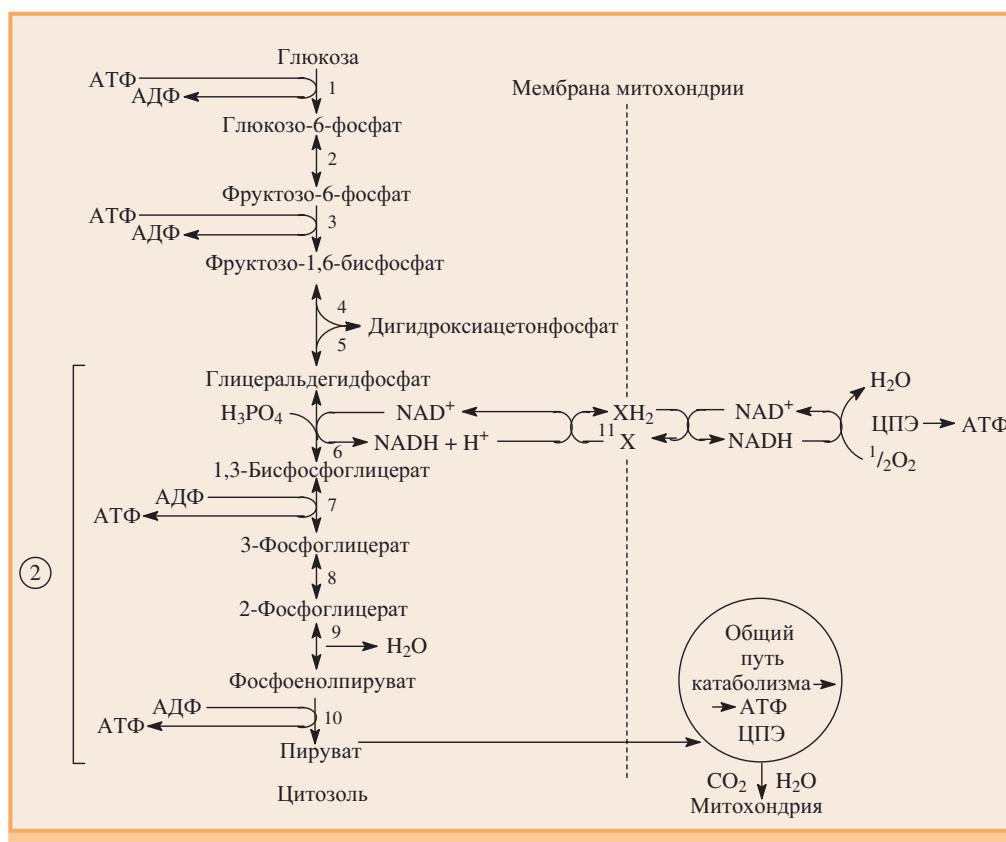


Аэробный распад глюкозы включает несколько стадий:

- аэробный гликолиз — процесс окисления глюкозы с образованием двух молекул пирувата;
- общий путь катаболизма, включающий превращение пирувата в ацетил-СоА и его дальнейшее окисление в цитратном цикле (см. раздел 7);
- цепь переноса электронов на кислород, сопряженная с реакциями дегидрирования, происходящими в процессе распада глюкозы (см. раздел 7);

**Аэробным гликолизом** называют процесс окисления глюкозы до пировиноградной кислоты, протекающий в присутствии кислорода. Этот процесс составляет специфический для глюкозы путь катаболизма.

Таким образом, **аэробный распад глюкозы** до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  включает реакции аэробного гликолиза и последующее окисление пирувата в общих путях катаболизма.



**Рис. 8.16. Аэробный распад глюкозы:**

1–10 — реакции аэробного гликолиза;

11 — цепочный механизм транспорта водорода в митохондрии;

② — стехиометрический коэффициент

**Анаэробный гликолиз** включает те же реакции специфического пути распада глюкозы до пирувата, но с последующим превращением пирувата в лактат (рис. 8.15), т.е. термины «анаэробный распад» и «анаэробный гликолиз» совпадают. Анаэробный гликолиз протекает без использования кислорода, так как в определенных ситуациях обеспечение кислородом тканей может не соответствовать их потребностям.

## Аэробный гликолиз

Все ферменты, катализирующие реакции этого процесса, локализованы в цитозоле клетки.

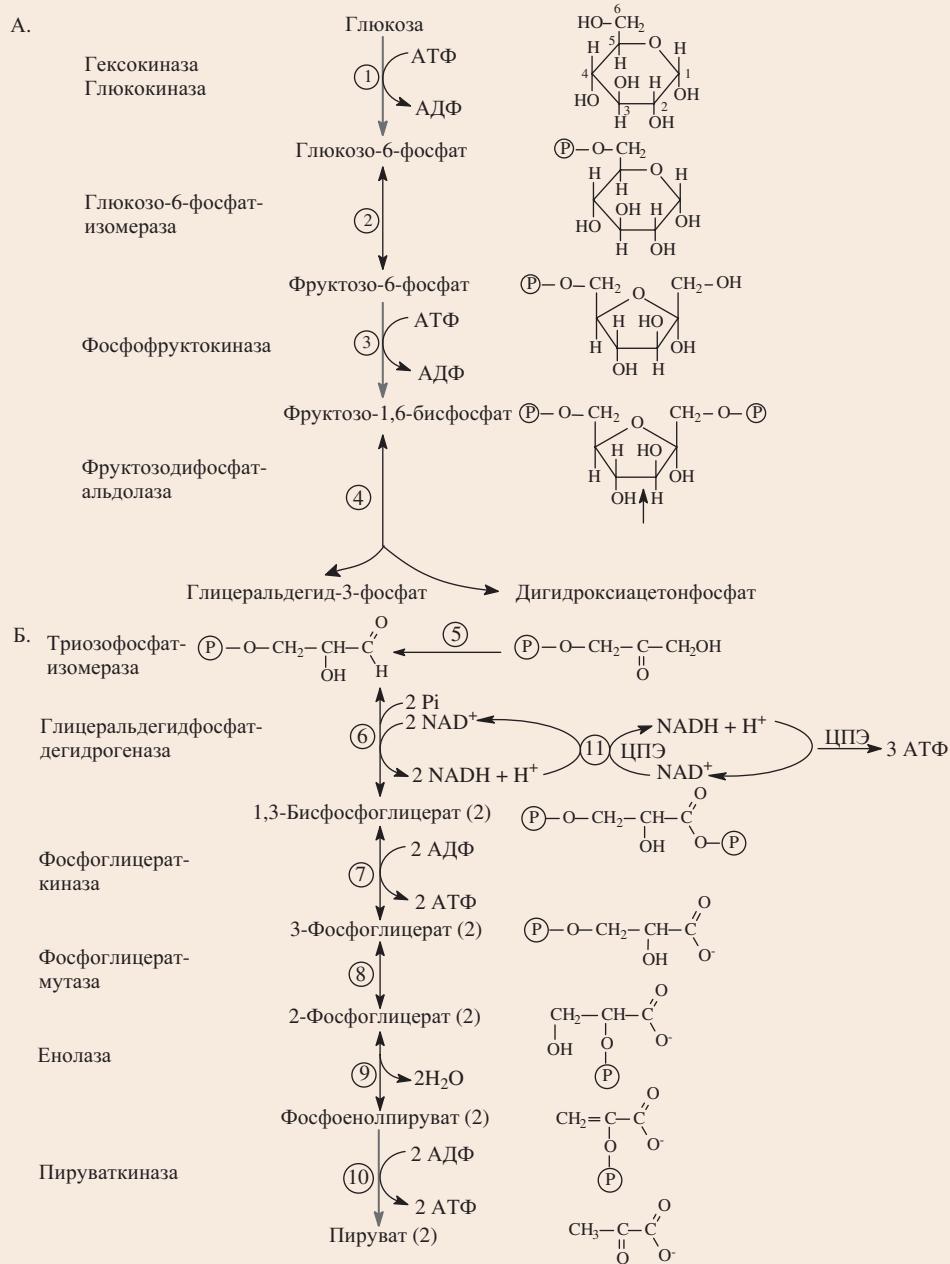
В аэробном гликолизе можно выделить два этапа (рис. 8.17).

А. Подготовительный этап, в ходе которого глюкоза фосфорилируется и расщепляется на две молекулы фосфотриоз. Эта серия реакций протекает с использованием двух молекул АТР. На подготовительном этапе превращениям подвергаются гексозы.

Б. Этап, сопряженный с синтезом АТФ. В результате этой серии реакций фосфотриозы превращаются в пируват. Энергия, высвобождающаяся на этом этапе, используется для синтеза 10 моль АТФ. На этапе превращениям подвергаются триозы, а затем карбоновые кислоты.

### Характеристика аэробного гликолиза:

- большинство реакций обратимо, за исключением трех (реакции 1,3,10);
- все метаболиты находятся в фосфорилированной форме;
- источниками фосфатной группы в реакциях фосфорилирования являются АТФ (реакции 1 и 3) или неорганический фосфат (реакция 6);
- регенерация  $\text{NAD}^+$  (реакции 6,11), являющаяся необходимым условием протекания гликолиза, происходит при аэробном гликолизе посредством дыхательной цепи. В этом случае водород транспортируется в митохондрии с помощью челночного механизма при участии переносчиков. Это происходит потому, что мембрана митохондрий непроницаема для протонов;
- образование АТФ при гликолизе может идти двумя путями: либо субстратным фосфорилированием, когда для фосфорилирования АДФ используется энергия макроэргической связи субстрата (реакции 7,10), либо путем окислительного фосфорилирования АДФ, сопряженного с дыхательной цепью (реакции 6, 11).



**Рис. 8.17. Последовательность реакций аэробного гликолиза:**

А — подготовительный этап (реакции 1–5),

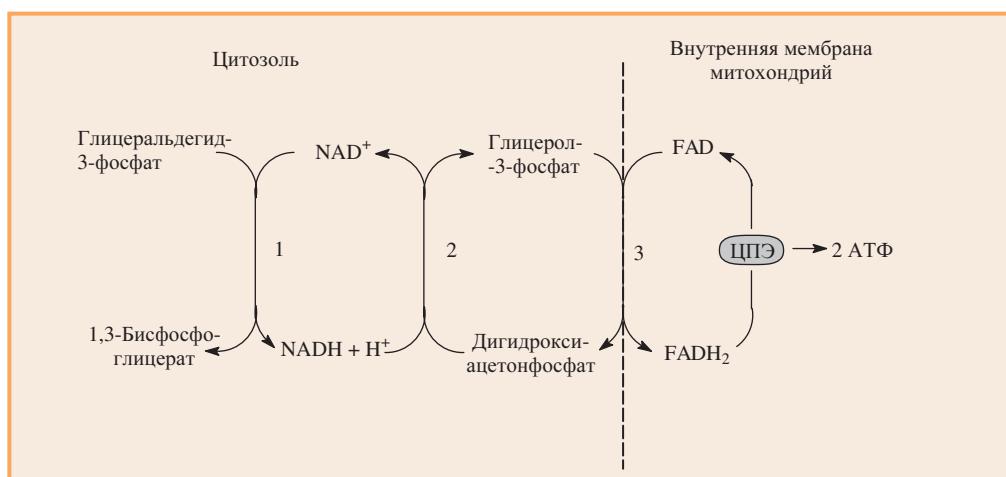
Б — этап, сопряженный с синтезом АТФ (реакции 6–11)

## Окисление цитоплазматического NADH в митохондриальной дыхательной цепи. Челночные системы

NADH, образующийся при окислении глицеральдегид-3-фосфата в аэробном гликолизе, подвергается окислению путем переноса атомов водорода в митохондриальную дыхательную цепь. Однако цитозольный NADH не способен передавать водород на дыхательную цепь, потому что митохондриальная мембрана для него непроницаема. Перенос водорода происходит с помощью специальных систем, называемых **челночными**. В этих системах водород транспортируется через мембрану при участии пар субстратов, связанных соответствующими дегидрогеназами, т.е. с обеих сторон митохондриальной мембранны находится специфическая дегидрогеназа. Известны две ченочные системы: глицерофосфатная (рис. 8.18) и малат-аспартатная (рис. 8.19).

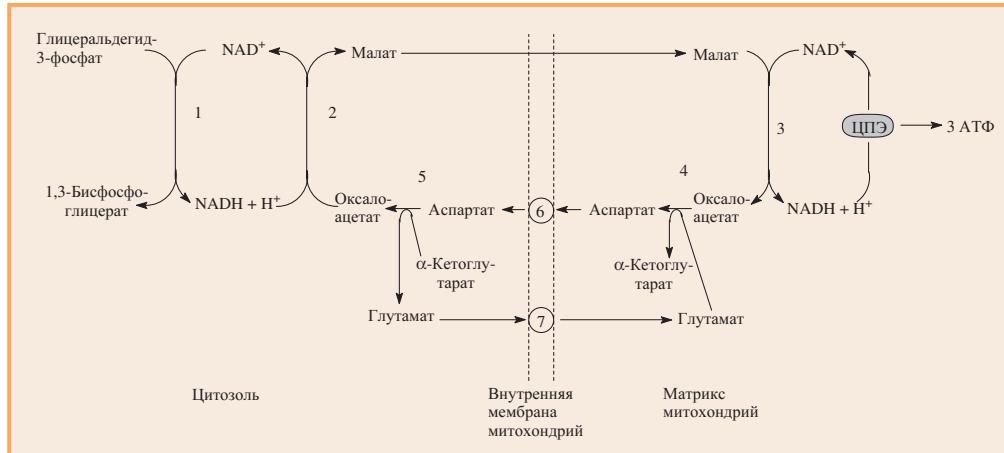
Глицеролфосфатная ченочная система работает в клетках белых мышц, печени. Однако в клетках сердечных мышц митохондриальная глицерол-3-фосфатдегидрогеназа отсутствует. Вторая ченочная система является более универсальной.

Обе ченочные системы существенно отличаются по количеству синтезированного АТФ. В первой системе Р/О равно 2, так как водород вводится в ЦПЭ на уровне КоQ. Вторая система более энергетически эффективна, так как передает водород в ЦПЭ через митохондриальный NAD<sup>+</sup> и отношение Р/О близко к 3.



**Рис. 8.18. Глицерофосфатная ченочная система:**

- 1 — глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа;
- 2 — редуктаза дигидроксиацетонфосфата (цитозольный фермент);
- 3 — глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (митохондриальный фермент)



**Рис. 8.19. Малат-аспартатная челночная система:**

- 1 — глициральдегид-3-фосфатдегидрогеназа;
- 2, 3 — окислительно-восстановительная реакция, протекающая в цитозоле; и в митохондриях в противоположных направлениях;
- 4, 5 — реакция трансаминирования, протекающая в цитозоле; и в митохондриях в противоположных направлениях;
- 6, 7 — транслоказы, обеспечивающие транспорт аспартата, глутамата; и α-кетоглутарата через мембрану митохондрий

### Баланс АТФ при аэробном гликолизе

На образование фруктозо-1,6-бисфосфата из одной молекулы глюкозы требуется 2 молекулы АТФ (реакция 1 и 3 на рис. 8.17). Реакции, связанные с синтезом АТФ, происходят после распада глюкозы на две фосфотриозы, то есть на втором этапе гликолиза. На этом этапе происходят две реакции субстратного фосфорилирования и синтезируется 2 молекулы АТФ (реакции 7 и 10). Кроме того, 1 молекула глициральдегид-3-фосфата дегидрируется (реакция 6), а NADH передает водород в митохондриальную ЦПЭ, где синтезируется 3 молекулы АТФ путем окислительного фосфорилирования. В данном случае количество АТР (3 или 2) зависит от типа челночной системы. Следовательно, окисление до пирувата 1 молекулы глициральдегид-3-фосфата сопряжено с синтезом 5 молекул АТФ. Учитывая, что из глюкозы образуется две фосфотриозы, полученную величину нужно умножить на 2 и затем вычесть 2 молекулы АТР, затраченные на первом этапе. Таким образом, суммарный эффект аэробного гликолиза составляет  $(5 \times 2) - 2 = 8$  АТФ.

### Выход АТР при аэробном распаде глюкозы до конечных продуктов

В результате гликолиза образуется пируват, который далее окисляется до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O в общем пути катаболизма. Теперь можно оценить энергетическую эффективность гликолиза и ОПК, которые вместе составляют процесс аэробного распада глюкозы до конечных продуктов (табл. 8.2).

Таблица 8.2

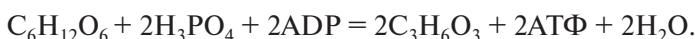
| Этап аэробного распада глюкозы                                             | Количество моль использованного АТР | Количество моль синтезированного АТР |
|----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| I. Аэробный гликолиз<br>Глюкоза → 2 Пируват                                | -2                                  | +10                                  |
| II. Окислительное декарбоксилирование пирувата<br>2 (Пируват → Ацетил-КоА) |                                     | +6                                   |
| III. Цитратный цикл<br>2 (Ацетил-КоА → CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O) |                                     | +24                                  |
| Суммарный выход АТР при окислении 1 моль глюкозы                           |                                     | +38                                  |

Итак, выход АТФ при окислении 1 моль глюкозы до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O составляет 38 моль АТФ.

В процессе аэробного распада глюкозы происходит 6 реакций дегидрирования. Одна из них протекает в гликолизе и 5 в общем пути катаболизма (см. раздел 6). Субстратами для специфических NAD-зависимых дегидрогеназ являются глицеральдегид-3-фосфат, пируват, изоцитрат, α-кетоглутарат, малат. Кроме того, в аэробном распаде глюкозы протекает три реакции, сопряженные с субстратным фосфорилированием АДФ (две реакции в гликолизе и одна в цитратном цикле).

### Анаэробный распад глюкозы (анаэробный гликолиз)

Анаэробным гликолизом называют процесс расщепления глюкозы с образованием в качестве конечного продукта лактата. Этот процесс протекает без использования кислорода и поэтому не зависит от работы митохондриальной дыхательной цепи. АТФ образуется за счет реакций субстратного фосфорилирования. Суммарное уравнение процесса:



### Характеристика реакции анаэробного гликолиза

При анаэробном гликолизе в цитозоле протекают все 10 реакций, идентичных аэробному гликолизу (рис.8.20). Лишь 11 реакция, где происходит восстановление пирувата цитозольным NADH, является специфической для анаэробного гликолиза (рис. 8.21). Восстановление пирувата в лактат катализирует лактатдегидрогеназа (реакция обратимая и фермент назван по обратной реакции). С помощью этой реакции обеспечивается регенерация NAD<sup>+</sup> из

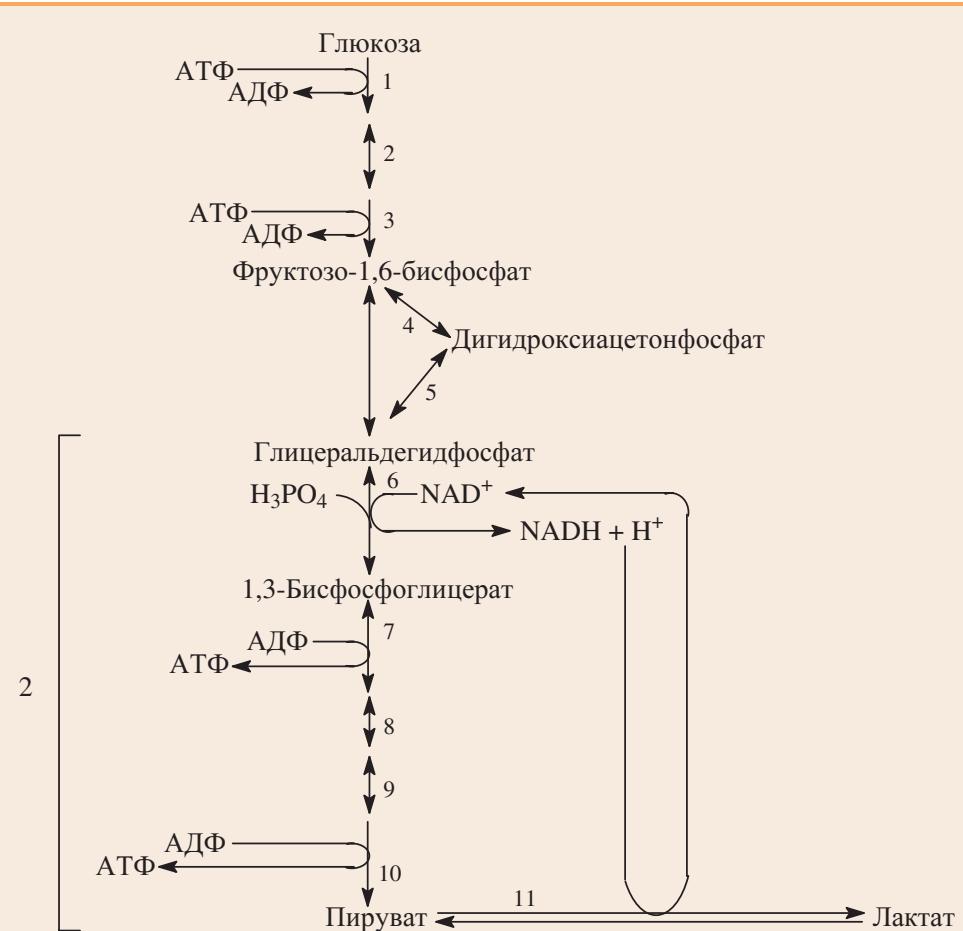


Рис. 8.20. Анаэробный гликолиз

NADH без участия митохондриальной дыхательной цепи в ситуациях, связанных с недостаточным снабжением клеток кислородом. Роль акцептора водорода от NADH (подобно кислороду в дыхательной цепи) выполняет пируват. Таким образом, значение реакции восстановления пирувата заключается не в образовании лактата, а в том, что данная цитозольная реакция обеспечивает регенерацию NAD<sup>+</sup>. К тому же лактат не является конечным продуктом метаболизма, удаляемым из организма. Это вещество выводится в кровь и утилизируется, превращаясь в печени в глюкозу, или при доступности кислорода превращается в пируват, который вступает в общий путь катаболизма, окисляясь до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O.

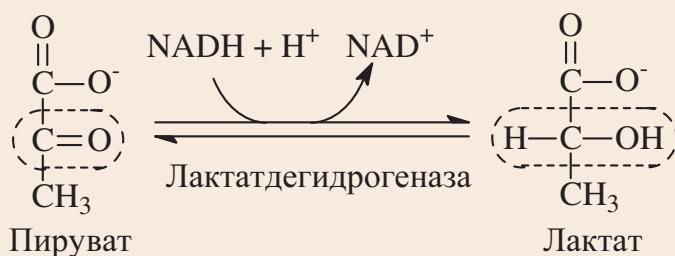


Рис. 8.21. Восстановление пирувата в лактат

### Баланс АТФ при анаэробном гликолизе

Анаэробный гликолиз по сравнению с аэробным менее эффективен. В этом процессе катаболизм 1 моль глюкозы без участия митохондриальной дыхательной цепи сопровождается синтезом 2 моль АТФ и 2 моль лактата. АТФ образуется за счет двух реакций субстратного фосфорилирования (реакции 7 и 10 на рис. 8.20). Поскольку глюкоза распадается на две фосфотриозы, то с учетом стехиометрического коэффициента, равного 2, количество моль синтезированного АТФ равно 4. Учитывая 2 моль АТФ, использованные на первом этапе гликолиза, получаем конечный энергетический эффект процесса, равный 2 моль АТФ. Итак, 10 цитозольных ферментов, катализирующих превращение глюкозы в пируват вместе с лактатдегидрогеназой обеспечивают в анаэробном гликолизе синтез 2 моль АТФ (на 1 моль глюкозы) без участия кислорода.

### Значение катаболизма глюкозы

Основное физиологическое назначение катаболизма глюкозы заключается в использовании энергии, освобождающейся в этом процессе для синтеза АТФ.

Энергия, выделяющаяся в процессе полного распада глюкозы до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  составляет 2880 кДж/моль. Если эту величину сравнить с энергией гидролиза высокоэнергетических связей 38 моль АТФ (50 кДж на моль АТФ), то получим:  $50 \times 38 = 1990$  кДж, что составляет 65% от всей энергии, выделяющейся при полном распаде глюкозы. Аэробный распад глюкозы происходит во многих органах и тканях и служит основным, хотя и не единственным, источником энергии для жизнедеятельности. Некоторые ткани находятся в наибольшей зависимости от катаболизма глюкозы как источника энергии. Например, клетки мозга расходуют до 100 г глюкозы в сутки, окисляя ее аэробным путем. Поэтому недостаточное снабжение мозга глюкозой или гипоксия проявляются симптомами, свидетель-

ствующими о нарушении функций мозга (головокружения, судороги, потеря сознания).

Анаэробный распад глюкозы происходит в мышцах в первые минуты мышечной работы, в эритроцитах (нет митохондрий), а также в разных органах в условиях ограниченного снабжения их кислородом, в том числе в клетках опухолей. Для метаболизма клеток опухолей характерно ускорение как аэробного, так и анаэробного гликолиза. Но преимущественный анаэробный гликолиз и увеличение синтеза лактата является показателем повышенной скорости деления клеток при недостаточной обеспеченности их системой кровеносных сосудов.

Кроме энергетической функции процесс катаболизма глюкозы может выполнять и **анаболические функции**. Метаболиты гликолиза используются для синтеза новых соединений. Так, фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат участвуют в образовании рибозо-5-фосфата — структурного компонента нуклеотидов; 3-фосфоглицерат может включаться в синтез аминокислот, таких, как серин, глицин, цистеин (см. раздел 9). В печени и жировой ткани ацетил-КоА, образующийся из пирувата, используется как субстрат при биосинтезе жирных кислот, холестерина, а дигидроксиацитонфосфат как субстрат для синтеза глицерол-3-фосфата (см. раздел 9).

## Регуляция катаболизма глюкозы

Поскольку основное значение гликолиза состоит в синтезе АТФ, его скорость должна коррелироваться с затратами энергии в организме.

Большинство реакций гликолиза обратимы, за исключением трех, катализируемых **гексокиназой** (или **глюкокиназой**), **фософруктокиназой** и **пируваткиназой**. Регуляторные факторы, изменяющие скорость гликолиза, а значит, и образование АТФ, направлены на необратимые реакции. Показателем потребления АТФ является накопление АДФ и АМФ. Последний образуется в реакции, катализируемой аденилаткиназой:



Даже небольшой расход АТФ ведет к заметному увеличению АМФ. Отношение уровня АТФ к АДФ и АМФ характеризует энергетический статус клетки, а его составляющие служат аллостерическими регуляторами скорости как общего пути катаболизма, так и гликолиза. На рис. 8.22 показана аллостерическая регуляция скорости катаболизма глюкозы в скелетных мышцах.

Существенное значение для регуляции гликолиза имеет изменение активности фософруктокиназы, потому что этот фермент, как упоминалось ранее, катализирует наиболее медленную реакцию процесса.

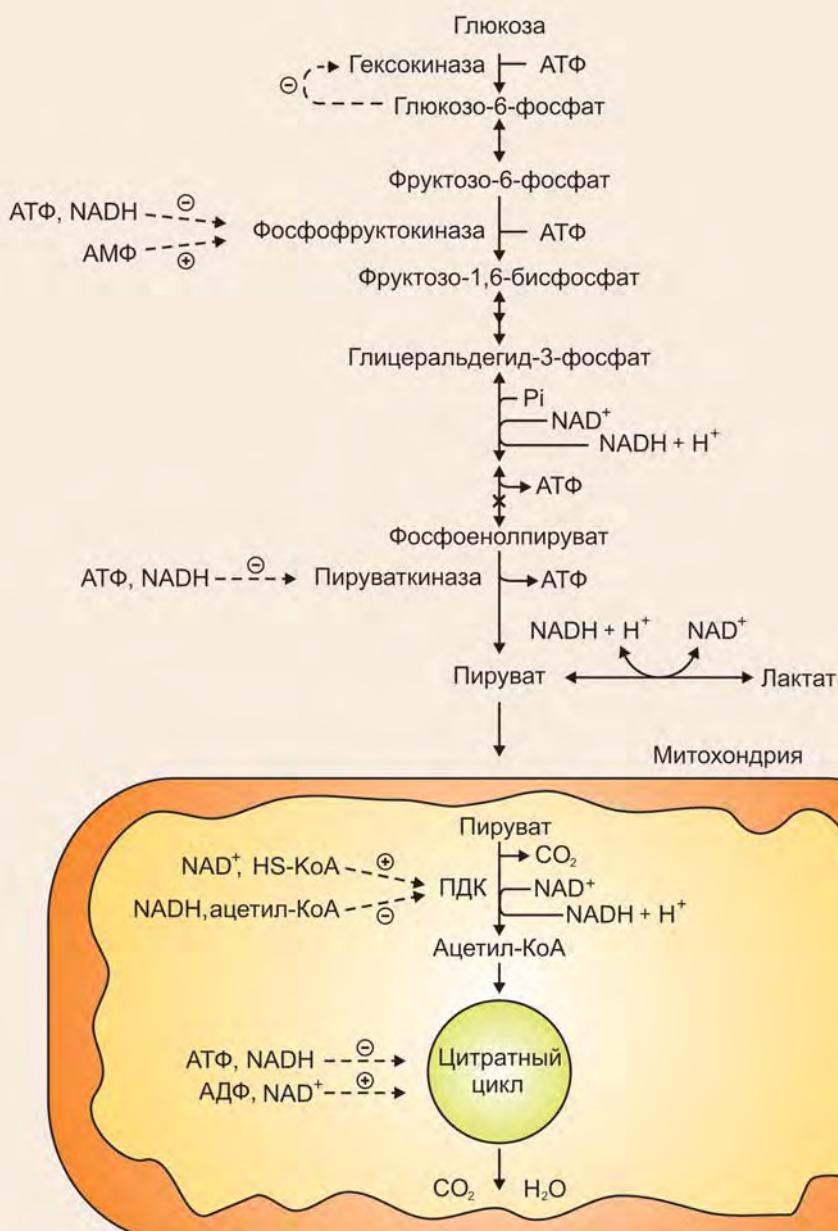


Рис. 8.22. Регуляция катаболизма глюкозы в скелетных мышцах

Фософруктокиназа активируется АМФ, но ингибитируется АТФ. АМФ, связываясь с аллостерическим центром фософруктокиназы, увеличивает сродство фермента к фруктозо-6-фосфату и повышает скорость его фосфорилирования. Эффект АТФ на этот фермент — пример гомотропного аллостеризма, поскольку АТФ может взаимодействовать как с аллостерическим, так и с активным центром, в последнем случае как субстрат.

При физиологических значениях АТФ активный центр фософруктокиназы всегда насыщен субстратами (в том числе АТФ). Повышение уровня АТФ относительно АДФ снижает скорость реакции, поскольку АТФ в этих условиях действует как ингибитор: связывается с аллостерическим центром фермента, вызывает конформационные изменения и уменьшает сродство к его субстратам.

Изменение активности фософруктокиназы способствует регуляции скорости фосфорилирования глюкозы гексокиназой. Снижение активности фософруктокиназы при высоком уровне АТФ ведет к накоплению как фруктозо-6-фосфата, так и глюкозо-6-фосфата, а последний ингибирует гексокиназу. Гексокиназа во многих тканях (за исключением печени и  $\beta$ -клеток поджелудочной железы) ингибируется глюкозо-6-фосфатом.

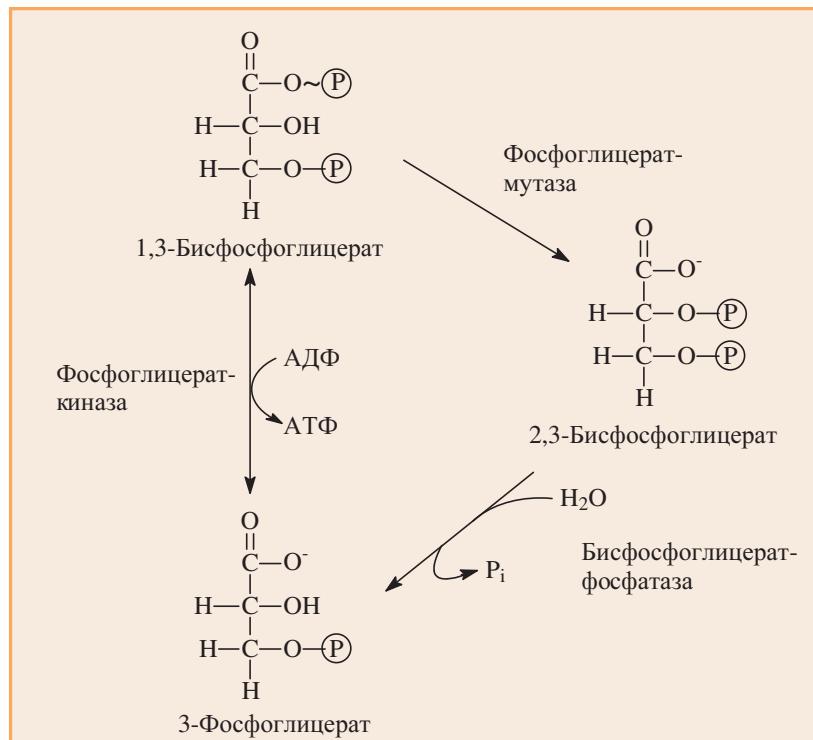
При высоком уровне АТФ снижается скорость цикла лимонной кислоты и дыхательной цепи. В этих условиях процесс гликолиза также замедляется. Следует напомнить, что аллостерическая регуляция ферментов ОПК и дыхательной цепи также связана с изменением концентрации таких ключевых продуктов, как NADH, АТФ и некоторых метаболитов. Так, NADH, накапливаясь в том случае, если не успевает окислиться в дыхательной цепи, ингибирует некоторые аллостерические ферменты цитратного цикла (см. раздел 7).

Физиологическая роль гликолиза в печени и жировой ткани несколько иная, чем в других тканях. В печени и жировой ткани гликолиз в период пищеварения функционирует в основном как источник субстратов для синтеза жиров. Регуляция гликолиза в печени имеет свои особенности и будет рассмотрена позже.

## 2,3-бисfosфоглицератный цикл

В гликолитическом пути может протекать дополнительная реакция, катализируемая бисфосфоглицератмутазой, превращающей 1,3-бисфосфоглицерат в **2,3-бисфосфоглицерат (2,3-БФГ)**, который может при участии 2,3-бисфосфоглицератфосфатазы превращаться в 3-фосфоглицерат — метаболит гликолиза (рис. 8.23).

В большинстве тканей 2,3-БФГ образуется в небольших количествах. В эритроцитах этот метаболит образуется в значительных количествах и выполняет роль аллостерического регулятора функции гемоглобина. 2,3-БФГ, связываясь



**Рис. 8.23. Образование и превращение 2,3 бисфосфоглицерата**

с гемоглобином, понижает его сродство к кислороду, способствует диссоциации кислорода и переходу его в ткани (см. раздел 1).

## 8.7. Синтез глюкозы (глюконеогенез)

Некоторые ткани, например мозг, нуждаются в постоянном поступлении глюкозы. Когда поступление углеводов в составе пищи недостаточно, содержание глюкозы в крови некоторое время поддерживается в пределах нормы за счет расщепления гликогена в печени. Однако запасы гликогена в печени невелики. Они значительно уменьшаются к 6–10 часам голодания и практически полностью исчерпываются после суточного голодания. В этом случае в печени начинается синтез глюкозы *de novo* — глюконеогенез. **Глюконеогенез — это процесс синтеза глюкозы из веществ неуглеводной природы.** Его основной функцией является поддержание уровня глюкозы в крови в период длительного голодания и интенсивных физиче-

ских нагрузок. Процесс протекает в основном в печени и менее интенсивно в корковом веществе почек, а также в слизистой оболочке кишечника. Эти ткани могут обеспечивать синтез 80–100 г глюкозы в сутки. На долю мозга при голодании приходится большая часть потребности организма в глюкозе. Это объясняется тем, что клетки мозга не способны в отличие от других тканей обеспечивать потребности в энергии за счет окисления жирных кислот (см. раздел 9).

Кроме мозга в глюкозе нуждаются ткани и клетки, в которых аэробный путь распада невозможен или ограничен, например эритроциты (они лишены митохондрий), клетки сетчатки, мозгового слоя надпочечников и др.

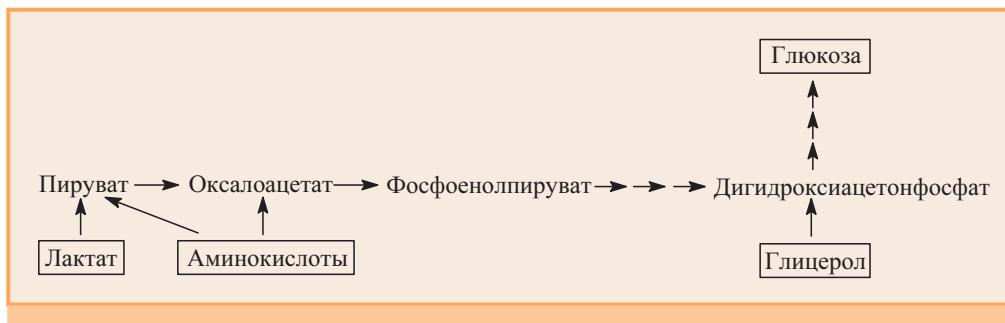
Первичными **субстратами** глюконеогенеза являются лактат, аминокислоты и глицерол. Включение этих субстратов в глюконеогенез зависит от физиологического состояния организма.

- Лактат является продуктом анаэробного гликолиза. Он образуется при любых состояниях организма (эритроциты, работающие мышцы). Таким образом, лактат используется в глюконеогенезе постоянно.
- Глицерол высвобождается при гидролизе жиров в жировой ткани в период голодания или при длительной физической нагрузке.
- Аминокислоты образуются в результате распада мышечных белков и включаются в глюконеогенез при длительном голодании или продолжительной мышечной работе.

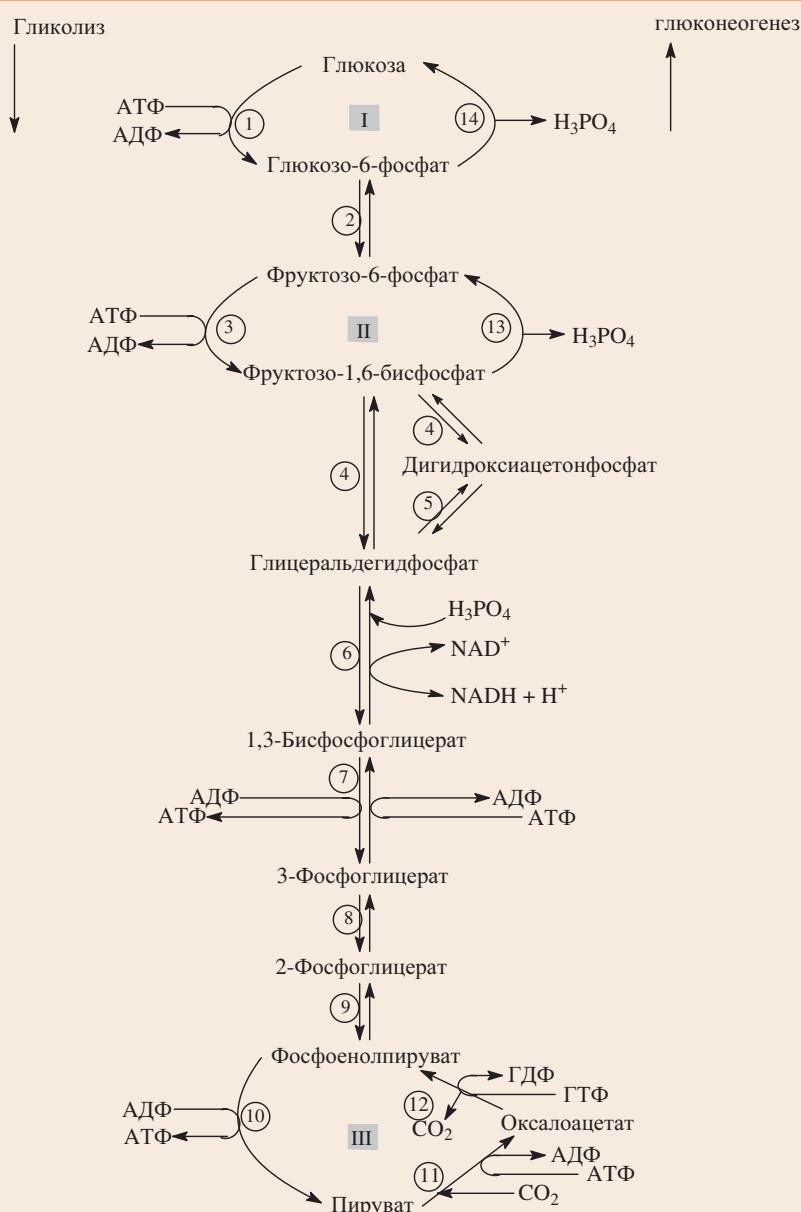
На рис. 8.24 показаны пункты включения первичных субстратов в глюконеогенез.

**Реакции глюконеогенеза.** Большинство реакций глюконеогенеза протекают за счет обратимых реакций гликолиза (рис. 8.25, реакции 9, 8, 7, 6, 5, 4, 2) и катализируются теми же ферментами. Однако три реакции гликолиза термодинамически необратимы. На этих стадиях реакции глюконеогенеза протекают другими путями.

Так, образование фосфоенолпирувата из пирувата происходит в ходе двух реакций (рис. 8.25, реакции 11, 12), первая из которых протекает в митохондриях. Пищеварительный тракт, образующийся из лактата или из некоторых аминокислот, транспортируется в матрикс митохондрий и там карбоксилируется с образованием



**Рис. 8.24. Включение субстратов в глюконеогенез**



**Рис. 8.25. Гликолиз и глюконеогенез.**

Ферменты обратимых реакций гликолиза и глюконеогенеза: 2 — фосфоглюкоизомераза; 4 — альдолаза; 5 — триозофосфатизомераза, 6 — глицеральдегидфосфатдегидрогеназа; 7 — фосфоглицераткиназа; 8 — фосфоглицератмутаза; 9 — енолаза.

Ферменты необратимых реакций глюконеогенеза: 11 — пируваткарбоксилаза; 12 — фосфоенолпируваткарбоксикиназа; 13 — фруктозо-1,6-бисфосфатаза; 14 — глюкозо-6-фосфатаза. I—III — субстратные циклы

оксалоацетата. **Пируваткарбоксилаза**, катализирующая данную реакцию, — митохондриальный фермент, коферментом которого является биотин. Реакция протекает с использованием АТФ. Оксалоацетат транспортируется в цитозоль и включается в глюконеогенез, превращаясь в фосфоенолпириват в ходе реакции, катализируемой **фосфоенол-пируваткарбоксикиназой** — ГТФ-зависимым ферментом. Название фермента дано по обратной реакции.

Превращение пирувата в фосфоенолпириват происходит с использованием двух молекул с макроэргическими связями (АТФ и ГТФ). В пересчете на синтез одной молекулы глюкозы из двух молекул пирувата расход составляет 2 моль АТФ и 2 моль ГТФ или 4 моль АТФ (для удобства рассуждений предлагается считать, что энергозатраты на синтез АТФ и ГТФ равны).

Отщепление фосфатной группы из фруктозо-1,6-бисфосфата и глюкозо-6-фосфата катализируют ферменты фруктозо-1,6-бисфосфатаза и глюкозо-6-фосфатаза. После чего свободная глюкоза выходит из клетки в кровь.

Итак, в печени существует четыре фермента, которые принимают участие только в глюконеогенезе и катализируют обходные реакции необратимых стадий гликолиза. Это **пируваткарбоксилаза**, **фосфоенолпириваткарбоксикиназа**, **фруктозо-1,6-бисфосфатаза** и **глюкозо-6-фосфатаза**.

**Энергетический баланс глюконеогенеза из пирувата.** В ходе этого процесса расходуется 6 моль АТФ на синтез 1 моль глюкозы из 2 моль пирувата. 4 АТФ расходуется на стадии синтеза фосфоенолпиривата из оксалоацетата и еще 2 моль АТФ на стадиях образования 1,3-бисфосфоглицерата из 3-фосфоглицерата.

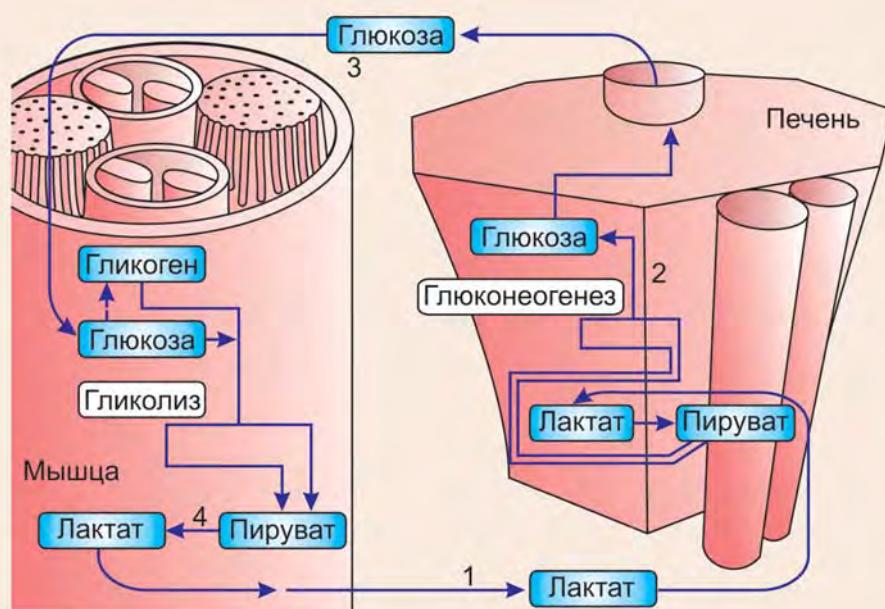
Суммарный результат глюконеогенеза из пирувата выражается следующим уравнением:



### Синтез глюкозы из лактата

**Лактат**, образовавшийся в интенсивно работающих мышцах или в клетках с преобладающим анаэробным способом катаболизма глюкозы, поступает в кровь, а затем в печень. В печени отношение NADH/NAD<sup>+</sup> ниже, чем в сокращающейся мышце, поэтому лактатдегидрогеназная реакция протекает в обратном направлении, т.е. в сторону образования пирувата из лактата. Далее пируват включается в глюконеогенез, а образовавшаяся глюкоза поступает в кровь и поглощается скелетными мышцами. Эта последовательность событий называется **глюкозо-лактатным циклом**, или циклом Кори (рис. 8.26).

Цикл Кори выполняет две важнейшие функции: 1 — обеспечивает утилизацию лактата, часть лактата используется для синтеза глюкозы; 2 — предот-



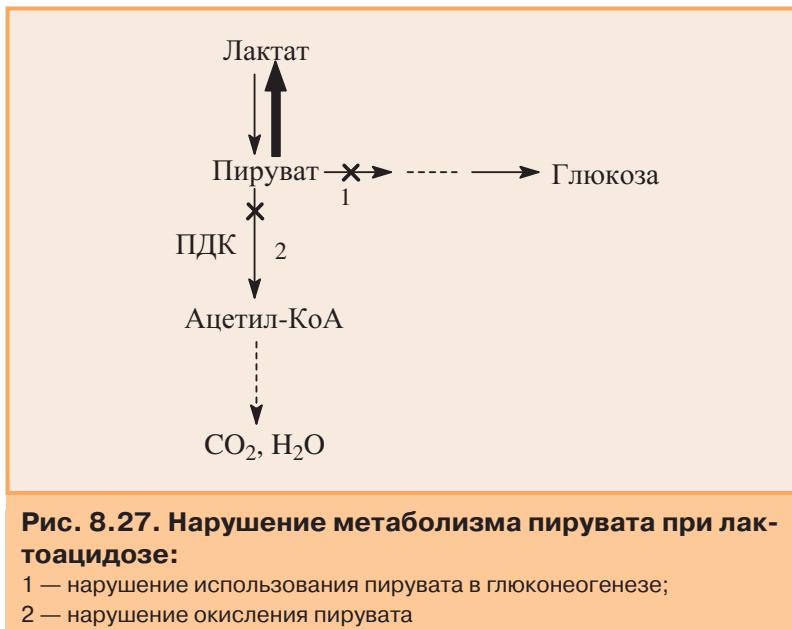
**Рис. 8.26. Цикл Кори (глюкозо-лактатный цикл):**

- 1 — поступление лактата из сокращающейся мышцы с током крови в печень;
- 2 — синтез глюкозы из лактата в печени;
- 3 — поступление глюкозы из печени с током крови в работающую мышцу;
- 4 — использование глюкозы, как энергетического субстрата; сокращающейся мышцей и образование лактата

вращает накопление лактата и как следствие этого опасное снижение рН (лактоацидоз). Другая часть лактата окисляется печенью до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Энергия окисления может использоваться для синтеза АТФ, необходимого для реакций глюконеогенеза.

### Лактоацидоз

При гипоксии, возникающей вследствие нарушения снабжения тканей кислородом или кровью, уменьшается активность ПДК и снижается окислительное декарбоксилирование пирувата. В этих условиях равновесие реакции **пируват  $\leftrightarrow$  лактат** сдвинуто в сторону образования лактата (рис. 8.27). Кроме того, при гипоксии уменьшается синтез АТФ, что, следовательно, ведет к снижению скорости глюконеогенеза — другого пути утилизации лактата. Повышение концентрации лактата и снижение внутриклеточного рН отрицательно влияет на активность всех ферментов, в том числе и пируваткарбоксилазы, катализирующую начальную реакцию глюконеогенеза.



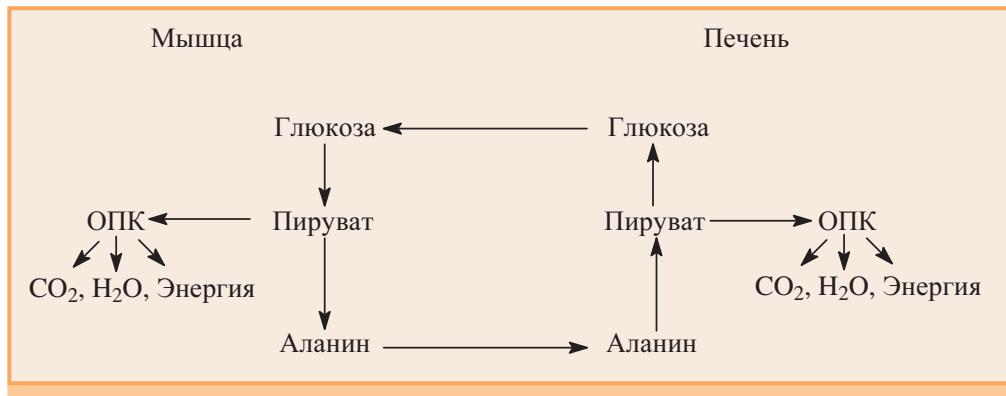
Возникновению лактоацидоза также способствуют нарушения глюконеогенеза при печеночной недостаточности различного происхождения. Кроме того, лактоацидозом может сопровождаться гиповитаминос  $B_1$ , так как производное этого витамина — тиаминдинфосфат выполняет коферментную функцию в составе ПДК при окислительном декарбоксилировании пирувата (см. раздел 6). Дефицит тиамина может возникать, например, у алкоголиков с нарушенным режимом питания.

### Синтез глюкозы из аминокислот

Аминокислоты, которые при катаболизме превращаются в пируват или метаболиты цитратного цикла, могут рассматриваться как потенциальные предшественники глюкозы и гликогена и носят название **гликогенных**. Например, оксалоацетат, образующийся из аспарагиновой кислоты, является промежуточным продуктом как цитратного цикла, так и глюконеогенеза.

Из всех аминокислот, поступающих в печень, примерно 30% приходится на долю аланина. Это объясняется тем, что при расщеплении мышечных белков образуются аминокислоты, многие из которых превращаются в пируват или сначала в оксалоацетат, а затем в пируват. Последний превращается в аланин, приобретая аминогруппу от других аминокислот. Аланин из мышц переносится кровью в печень, где снова преобразуется в пируват, который частично окисляется и частично включается в глюконеогенез. Следовательно, существует сле-

дующая последовательность событий, называемая **глюкозо-аланиновым циклом** (рис. 8.28). Весь цикл не приводит к увеличению количества глюкозы в мышцах, но он решает проблемы транспорта аминного азота из мышц в печень и предотвращает лактоацидоз.



**Рис. 8.28. Глюкозо-аланиновый цикл**

### Синтез глюкозы из глицерола

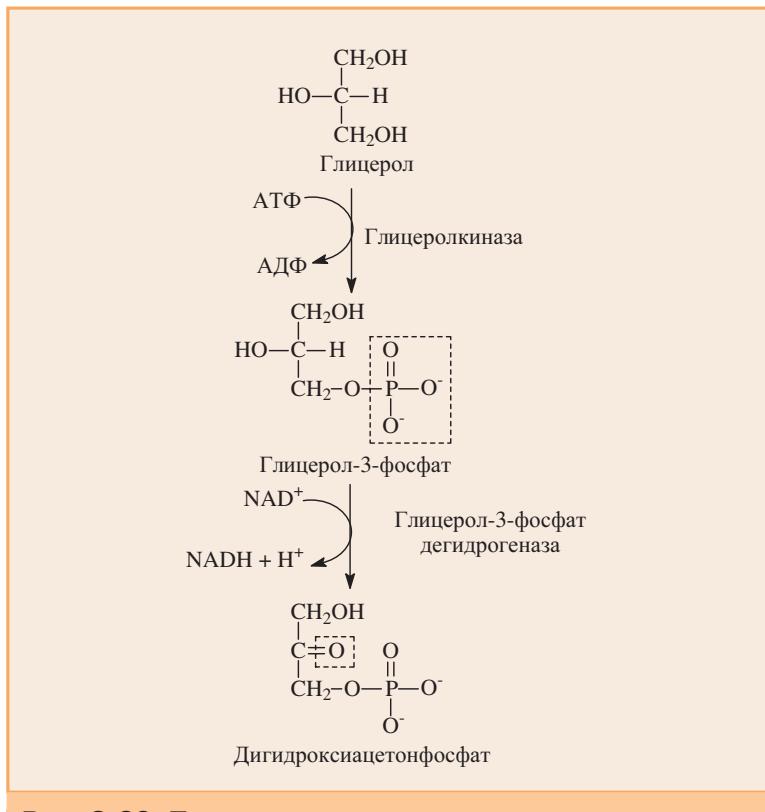
Глицерол могут использовать только те ткани, в которых имеется фермент глицеролкиназа, например печень, почки. Этот АТФ-зависимый фермент катализирует превращение глицерола в  $\alpha$ -глициерофосфат (глицерол-3-fosfat). При включении глицерол-3-фосфата в глюконеогенез происходит его дегидрирование NAD-зависимой дегидрогеназой с образованием дигидроксиацитон-фосфата (рис. 8.29), который далее превращается в глюкозу.

### Регуляция гликолиза и глюконеогенеза в печени

Кроме пары противоположных процессов: синтеза и распада гликогена, в печени могут происходить еще два противоположно направленных процесса — гликолиз и глюконеогенез. В большинстве других органов происходит только гликолиз. Переключение печени с гликолиза на глюконеогенез и обратно происходит с участием инсулина и глюкагона и осуществляется с помощью:

- аллостерической регуляции активности ферментов;
- ковалентной модификации ферментов путем фосфорилирования/дефосфорилирования;
- индукции/репрессии синтеза ключевых ферментов.

Регуляторные воздействия направлены на ферменты, катализирующие **необратимые стадии гликолиза и глюконеогенеза**, сочетание которых называют «**субстратными**» или «**холостыми**» циклами.

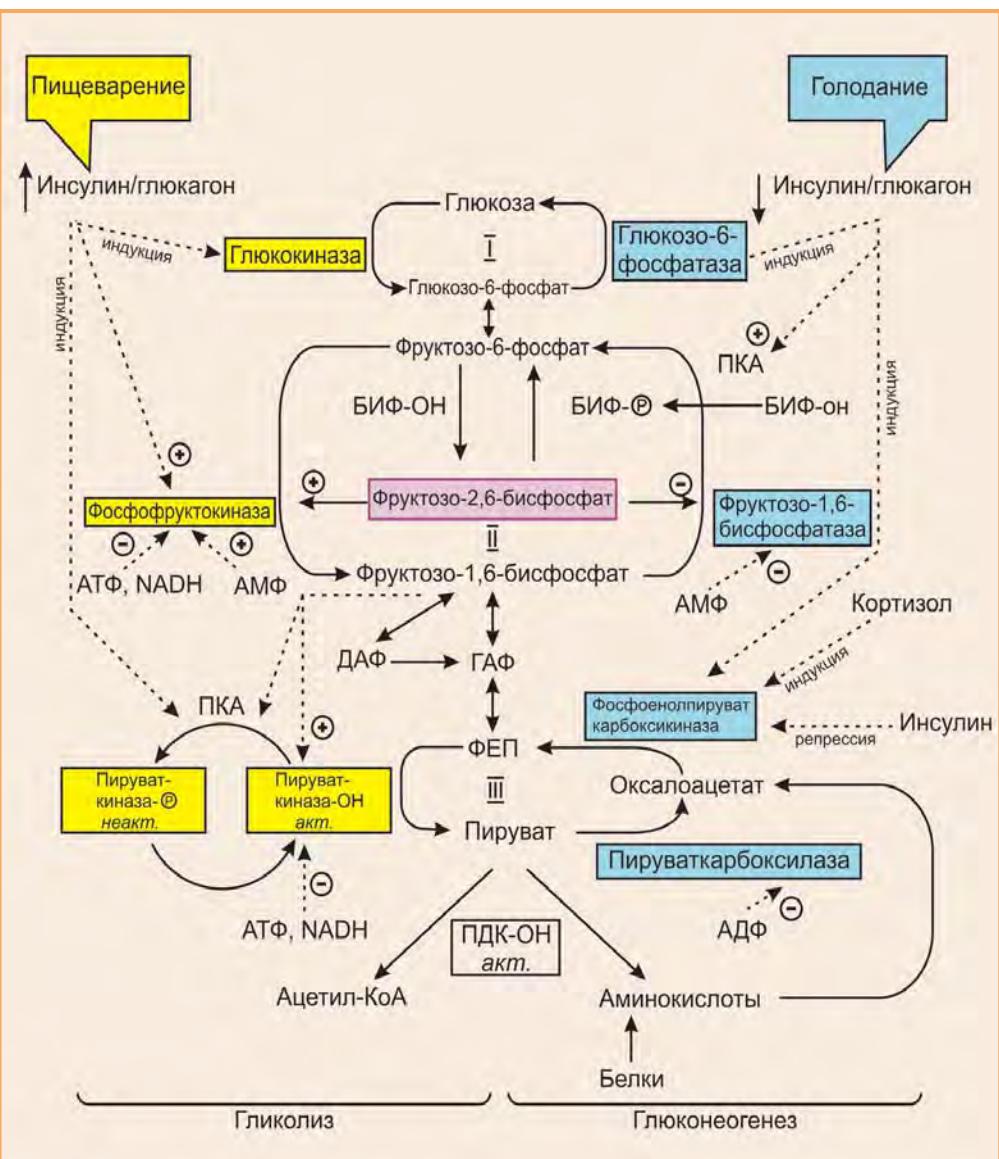


**Рис. 8.29. Превращение глицерола в дигидроксиацетонфосфат**

Название «субстратный» цикл означает объединение реакций синтеза и распада субстрата. Название «холостой» отражает результат работы подобного цикла, заключающийся в бесполезном расходовании АТФ.

Изменение в печени гликолитического направления на глюконеогенез и обратно происходит при смене абсорбтивного состояния на постабсортивное или голодание и осуществляется регуляцией активности ферментов, катализирующих реакции субстратных циклов, обозначенных цифрами I, II, III на рис. 8.30.

**Направление реакции первого субстратного цикла** регулируется главным образом концентрацией глюкозы. При пищеварении концентрация глюкозы в крови повышается (до 8–10 ммоль/л). Активность глюкокиназы в этих условиях максимальна. Вследствие этого ускоряется гликолитическая реакция образования **глюкозо-6-фосфата**. Кроме того, инсулин индуцирует синтез глюкокиназы и ускоряет тем самым фосфорилирование глюкозы. Поскольку глюкокиназа пе-



**Рис. 8.30. Регуляция метаболизма глюкозы в печени:**

БИФ — бифункциональный фермент (фруктозо-2,6-бисфосфатаза/фософрукто-киназа-2); БИФ-ОН — дефосфорилированный фермент; БИФ-Р — фосфорилированный фермент; ПДК-ОН — дефосфорилированный пируватдегидрогеназный комплекс; ПК-ОН — дефосфорилированная пируваткиназа; ПК-Р — фосфорилированная пируваткиназа; ГАФ — глицеральдегидфосфат; ДАФ — дигидроксиацилонфосфат; ФЕП — фосфоенол-пириват; I—III субстратные циклы

чени не ингибируется глюкозо-6-фосфатом (в отличие от гексокиназы мышц), то основная часть глюкозо-6-фосфата в абсорбтивном периоде направляется на синтез гликогена и по гликолитическому пути.

**Направление реакций второго субстратного цикла** зависит от активности фософруктокиназы и фосфатазы фруктозо-1,6-бисфосфата. Активность этих ферментов зависит от концентрации фруктозо-2,6-бисфосфата. **Фруктозо-2,6-бисфосфат** — это метаболит, образующийся из фруктозо-6-фосфата и выполняющий только регуляторные функции. Образование фруктозо-2,6-бисфосфата путем фосфорилирования фруктозо-6-фосфата катализирует **бифункциональный фермент (БИФ)**, который катализирует также и обратную реакцию (рис. 8.31).

В реакции фосфорилирования фруктозо-6-фосфата с использованием АТФ фермент проявляет киназную активность, а при дефосфорилировании образованного фруктозо-2,6-бисфосфата — фосфатазную. Это обстоятельство определило название фермента — бифункциональный.

Киназная активность БИФ проявляется, когда фермент находится в дефосфорилированной форме (БИФ-ОН). Дефосфорилированная форма БИФ характерна для абсорбтивного периода, когда инсулин/глюкагоновый индекс высокий. В этот период количество фруктозо-2,6-бисфосфата увеличивается (рис. 8.32).

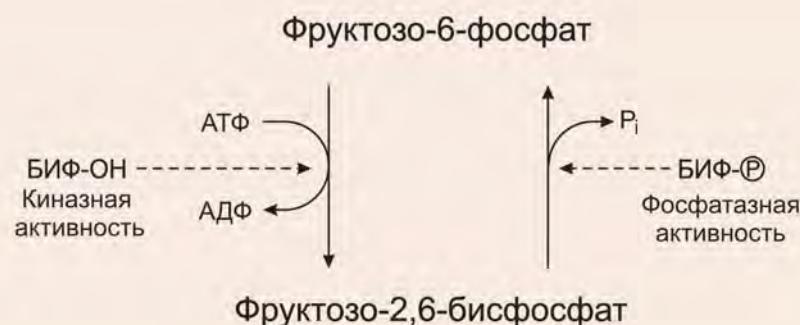
При низком инсулин/глюкагоновом индексе, характерном для периода длительного голодания, происходит фосфорилирование БИФ, и он функционирует как фосфатаза. Результатом является снижение количества фруктозо-2,6-бисфосфата.

Фруктозо-2,6-бисфосфата аллостерически активирует фософруктокиназу (фермент гликолиза). При этом фруктозо-2,6-бисфосфат снижает ингибирующее действие АТФ на этот фермент в абсорбтивном периоде и повышает его сродство к фруктозо-6-фосфату. В то же время фруктозо-2,6-бисфосфат ингибирует фруктозо-1,6-бисфосфатазу (фермент глюконеогенеза). Итак, в абсорбтивном периоде уровень фруктозо-2,6-бисфосфата повышается, что приводит к активации фософруктокиназы и ускорению гликолиза (рис. 8.33).

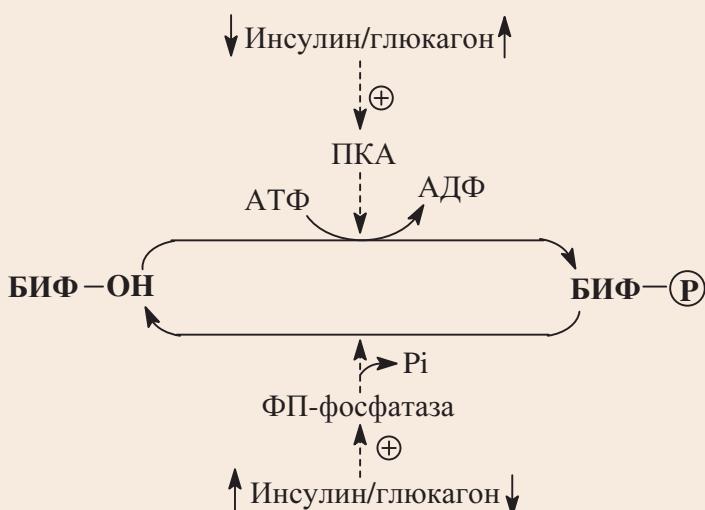
Результатом уменьшения количества фруктозо-2,6-бисфосфата в постабсорбтивном периоде будет снижение активности фософруктокиназы, замедление гликолиза и переключение гликолиза на глюконеогенез.

В регуляции **третьего субстратного цикла** основная роль принадлежит пируваткиназе, фосфорилированная форма которой неактивна, а дефосфорилированная — активна (рис. 8.34).

В период пищеварения инсулин активирует фосфопротеинфосфатазу, которая дефосфорилирует пируваткиназу, переводя ее в активное состояние. Кроме



**Рис. 8.31. Реакции, катализируемые бифункциональным ферментом (БИФ)**



**Рис. 8.32. Регуляция активности БИФ**

того, инсулин в печени влияет на количество ферментов, индуцируя синтез пируваткиназы и репрессируя синтез фосфоенолпириваткарбоксикиназы. Следовательно, гликолитическая реакция **фосфоенолпириват→пириват** ускоряется при пищеварении. Эта же реакция замедляется в постабсортивном состоянии под влиянием глюкагона, который опосредованно через цАМФ-зависимую протеинкиназу фосфорилирует и инактивирует пируваткиназу.

При длительном голодании глюкагон ускоряет глюконеогенез. Это достигается не только путем фосфорилирования пируваткиназы и снижением скорости гликолиза, но и путем индукции синтеза ферментов глюконеогенеза:

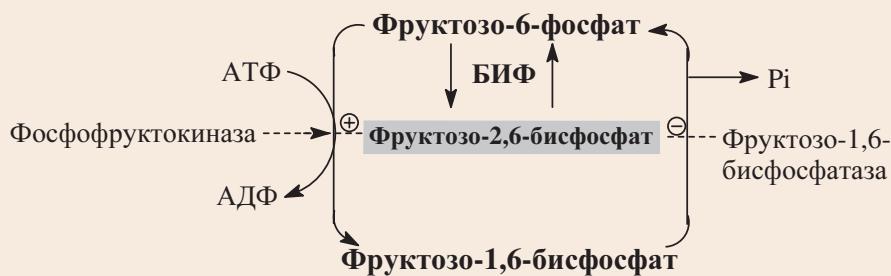


Рис. 8.33. Регуляция активности II субстратного цикла фруктозо-2,6-биофосфатом

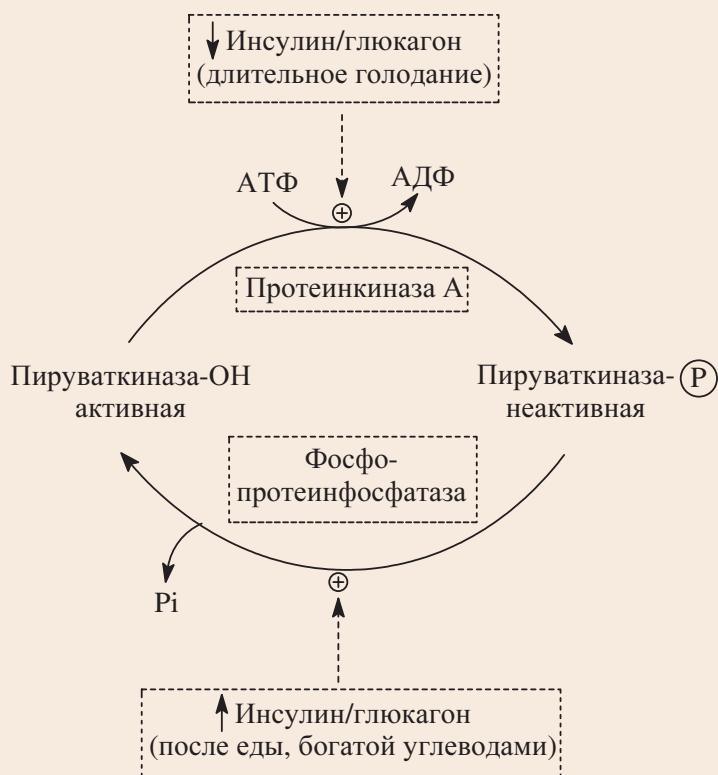


Рис. 8.34. Регуляция пируваткиназы в печени

фосфоенолпирваткарбоксикиназы, фруктозо-1,6-бисфосфатазы и глюкозо-6-фосфатазы. Известно, что глюкагон, фосфорилируя опосредованно транскриptionные факторы, влияет на их активность и таким образом индуцирует синтез этих ферментов глюконеогенеза. Кроме того, синтез фосфоенолпирваткарбоксикиназы при длительном голодании индуцируется кортизолом, однако это происходит в результате включения другого механизма действия, характерного для стероидных гормонов (см. разделы 4, 12).

**Координация скорости реакции II и III субстратных циклов** достигается с помощью **фруктозо-1,6-бисфосфата** — продукта II субстратного цикла (гликолитическое направление), который является **аллостерическим активатором пищеварения**. В период пищеварения вследствие ускорения начальных стадий гликолиза концентрация фруктозо-1,6-бисфосфата повышается, что приводит к дополнительной активации пищеварения.

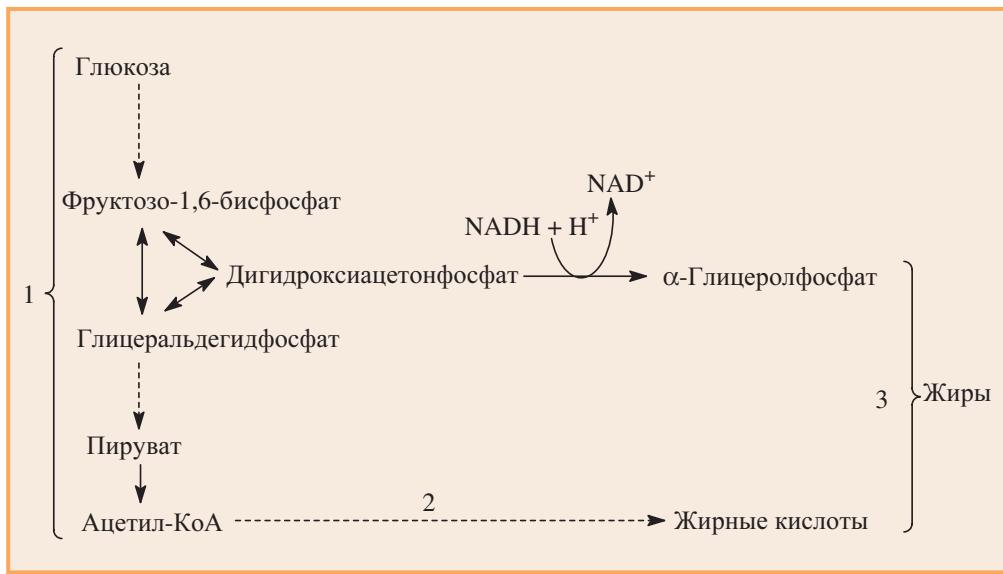
### Значение гликолиза в печени для синтеза жиров

Основным значением ускорения гликолиза в печени в период пищеварения является образование дигидроксиацитонфосфата и ацетил-КоА — исходных веществ для синтеза жира.

В абсортивном периоде ПДК находится в дефосфорилированной (активной) форме, следовательно, декарбоксилирование пирувата ускоряется. Образуемый ацетил-КоА используется в основном двумя путями: для синтеза жирных кислот и в цитратном цикле. В период пищеварения ускоряется образование ацетил-КоА и его использование для синтеза жирных кислот. Необходимый для синтеза жира  $\alpha$ -глицерофосфат образуется в реакции восстановления из дигидроксиацитонфосфата (рис. 8.35). Подробно этот процесс рассматривается в разделе 9.

### Аллостерическая регуляция аэробного распада глюкозы и глюконеогенеза в печени энергетическим статусом клетки

Аллостерическая регуляция скорости гликолиза, зависящая от изменения соотношения АТФ/АДФ, направлена на изменение скорости использования глюкозы непосредственно клетками печени. Глюкоза в клетках печени используется не только для синтеза гликогена и жиров, но также и как источник энергии для синтеза АТФ. Основными потребителями АТФ в гепатоцитах являются процессы трансмембранных переноса веществ, синтез белков, гликогена, жиров, глюконеогенез. От скорости утилизации АТФ в этих процессах зависит скорость его синтеза. АТФР, АДФ и АМФ, а также NAD<sup>+</sup> и NADH являются аллостерическими эффекторами некоторых гликолитических ферментов и ферментов глюконеогенеза. В частности, **АМФ активирует фосфофруктокиназу и ингибирует**



**Рис. 8.35. Синтез жира из углеводов:**

- 1 — окисление глюкозы до пирувата и окислительное декарбоксилирование пирувата приводят к образованию ацетил-КоА;
- 2 — ацетил-КоА является строительным блоком для синтеза жирных кислот;
- 3 — жирные кислоты и  $\alpha$ -глицеролфосфат, образующийся в реакции восстановления дигидроксиацитонфосфата, участвуют в синтезе триацилглицеролов

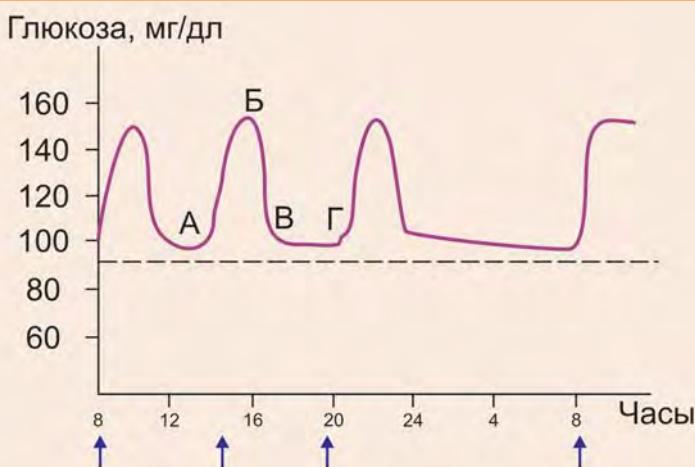
ет фруктозо-1,6-бисфосфатазу. АТФ и NADH ингибируют пируваткиназу, а АДФ активирует пируваткарбоксилазу (рис. 8.32).

Следовательно, при усилении расходования АТФ и снижении его концентрации с одновременным увеличением концентрации АМФ активируется гликолиз и образование АТФ, а глюконеогенез при этом замедляется. Кроме того, от соотношения АТФ/АДФ, АМФ и NAD/NADH зависит скорость реакций общего пути катаболизма (см. раздел 7).

### Регуляция содержания глюкозы в крови

Результатом регуляции метаболических путей превращения глюкозы является постоянство концентрации глюкозы в крови.

**Концентрация глюкозы** в артериальной крови в течение суток поддерживается на постоянном уровне **60–100 мг/дл (3,3–5,5 ммоль/л)**. После приема углеводной пищи уровень глюкозы возрастает в течение примерно 1 часа до 150 мг/дл (~8 ммоль/л, алиментарная гиперглюкоземия), а затем возвращается к нормальному уровню (примерно через 2 часа). На рис. 8.36 представлен график изменений концентрации глюкозы в крови в течение суток при трехразовом приеме пищи.

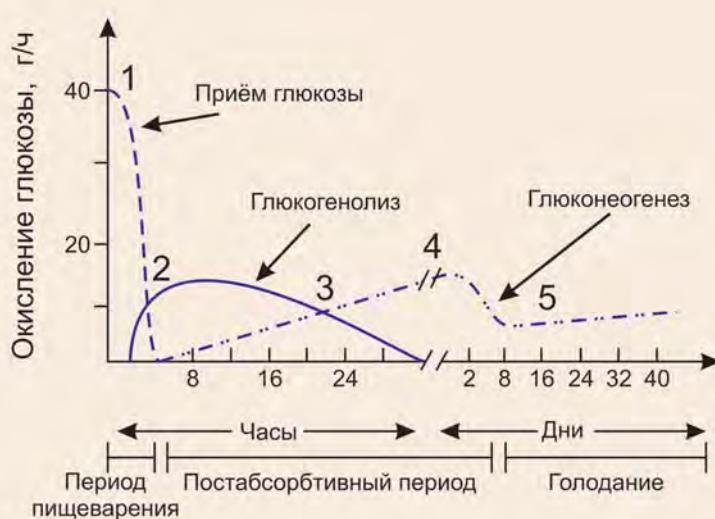


**Рис. 8.36. Изменение концентрации глюкозы в крови в течение суток:**  
А-Б — период пищеварения; В, Г — постабсорбтивный период, стрелкой указано время приема пищи, пунктиром показана нормальная концентрация глюкозы

Для предотвращения чрезмерного повышения концентрации глюкозы в крови **при пищеварении** основное значение имеет потребление глюкозы печенью и мышцами, в меньшей мере — жировой тканью. Следует напомнить, что более половины всей глюкозы (60%), поступающей из кишечника в воротную вену, поглощается печенью. Около 2/3 этого количества откладывается в печени в форме гликогена, остальная часть превращается в жиры и окисляется, обеспечивая синтез АТФ. Ускорение этих процессов инициируется повышением инсулин-глюкагонового индекса. Другая часть глюкозы, поступающей из кишечника, попадает в общий кровоток. Примерно 2/3 этого количества поглощается мышцами и жировой тканью. Это обусловлено увеличением проницаемости мембран мышечных и жировых клеток для глюкозы под влиянием высокой концентрации инсулина. Глюкоза в мышцах откладывается в форме гликогена, а в жировых клетках превращается в жиры. Остальная часть глюкозы общего кровотока поглощается другими клетками (инсулиновнезависимыми).

При нормальном ритме питания и сбалансированном рационе концентрация глюкозы в крови и снабжение глюкозой всех органов поддерживается главным образом за счет синтеза и распада гликогена. Лишь к концу ночного сна, т.е. к концу самого большого перерыва между приемами пищи, может несколько увеличиться роль глюконеогенеза (рис. 8.37).

**Как в период покоя, так и во время продолжительной физической работы** сначала источником глюкозы для мышц служит гликоген, запасенный в самих мышцах, а затем глюкоза крови. Известно, что 100 г гликогена могут обеспечить



**Рис. 8.37. Источники глюкозы в крови в период пищеварения и во время голодания:**

1 — в период пищеварения углеводы пищи являются основным источником глюкозы в крови; 2 — в постабсорбтивный период печень поставляет глюкозу в кровь за счет процессов гликогенолиза и глюконеогенеза, причем в течение 8–12 ч уровень глюкозы в крови поддерживается в основном за счет распада гликогена; 3 — глюконеогенез и гликоген печени участвуют в равной степени в поддержании нормальной концентрации глюкозы; 4 — в течение суток гликоген печени практически полностью исчерпывается и скорость глюконеогенеза увеличивается; 5 — при длительном голодании (1 неделя и более) скорость глюконеогенеза уменьшается, но глюконеогенез остается единственным источником глюкозы в крови

бег примерно в течение 15 минут, а запасы гликогена в мышцах после приема углеводной пищи могут составлять 200–300 г.

Итак, изложенные сведения позволяют сделать вывод о том, что координация скоростей гликолиза, глюконеогенеза, синтеза и распада гликогена с участием гормонов обеспечивает:

- предотвращение чрезмерного повышения концентрации глюкозы в крови после приема пищи;
- запасание гликогена и его использование в промежутках между приемами пищи;
- снабжение глюкозой мышц, потребность которых в энергии быстро возрастает при мышечной работе;
- снабжение глюкозой клеток, которые при голодании в качестве источника энергии используют преимущественно глюкозу (нервные клетки, эритроциты, мозовое вещество почек, семенники).

## 8.8. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы

**Пентозофосфатный путь** (фосфоглюконатный) — альтернативный путь окисления глюкозо-6-фосфата. Пентозофосфатный путь состоит из двух этапов (частей): окислительного и неокислительного.

Пентозофосфатный путь обеспечивает клетки рибозой для синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов и гидрированным коферментом NADPH, который используется в восстановительных процессах.

Ферменты пентозофосфатного пути локализованы в цитозоле.

Наиболее активно пентозофосфатный путь протекает в органах, где происходит синтез липидов, — жировой ткани, печени, коре надпочечников, эритроцитах, молочной железе в период лактации, семенниках.

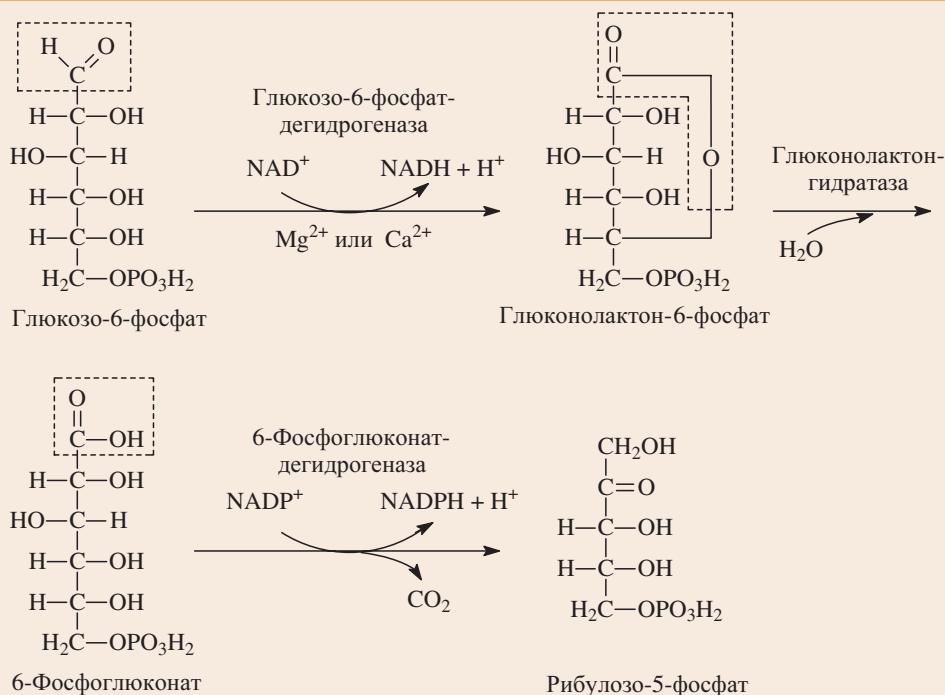
### Окислительный этап

В окислительной части пентозофосфатного пути глюкозо-6-фосфат подвергается дегидрированию NADP<sup>+</sup>-зависимыми дегидрогеназами и декарбоксилированию, в результате которого образуются пентозы (рис. 8.38).

Реакции окислительного этапа являются основным источником NADPH в клетках. NADPH как донор водорода участвует в анаболических процессах, например в синтезе холестерола (раздел 9). NADPH — источник восстановительных эквивалентов для цитохрома Р—450, катализирующего образование гидроксильных групп при синтезе стероидных гормонов, желчных кислот, при катаболизме лекарственных веществ и других чужеродных соединений (см. разделы 9, 11, 12). Высокая активность фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы обнаружена в фагоцитирующих лейкоцитах, где NADPH-оксидаза использует восстановленный NADPH для образования супероксидного иона из молекулярного кислорода. Супероксидный ион образует другие активные формы кислорода, под действием которых и повреждаются молекулы ДНК, белков, липидов бактериальных клеток. Синтез жирных кислот из углеводов в печени является основным путем утилизации NADPH и обеспечивает регенерацию окисленной формы NADP<sup>+</sup>. В печени глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа индуцируется при увеличении соотношения инсулин/глюкагон после приема богатой углеводами пищи.

Образование NADPH регулируется также по механизму отрицательной обратной связи. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа ингибируется NADPH. Таким образом, скорость синтеза NADPH соответствует скорости его использования в клетке.

Несмотря на то что NADPH образуется также при окислении малата (при участии NADP<sup>+</sup>-зависимой малатдегидрогеназы) и дегидрирования изоцитрата (при участии NADP<sup>+</sup>-зависимой изоцитрат-дегидрогеназы), в большинстве случаев потребности клеток в восстановительных эквивалентах удовлетворяются за счет пентозофосфатного пути.



**Рис. 8.38. Окислительный этап пентозофосфатного пути.**

Окислительный этап включает две реакции дегидрирования. Во второй из этих реакций одновременно происходит декарбоксилирование, углеродная часть укорачивается на один атом углерода, получаются пентозы и восстановленный NADP

### Неокислительный этап

Неокислительный этап пентозофосфатного пути включает серию **обратимых** реакций, в результате которых рибулозо-5-фосфат образуется из фруктозо-6-фосфата и глицеральдегид-3-фосфата. В этих превращениях принимают участие ферменты: **эпимераза, изомераза, транскетолаза и трансальдолаза**. Транскетолаза в качестве кофермента использует тиаминдинфосфат. Неокислительный этап пентозофосфатного пути не включает реакции дегидрирования и поэтому используется только для синтеза пентоз (рис. 8.39).

Исходными веществами неокислительного этапа являются пять молекул фруктозо-6-фосфата, в сумме содержащие 30 углеродных атомов. Конечный продукт реакции — шесть молекул рибозо-5-фосфата, в сумме также содержат 30 углеродных атомов. Поскольку исходные вещества (фруктозо-6-фосфат), в свою очередь, образуются из глюкозы, можно сказать, что в этом процессе пять молекул глюкозы превращаются в шесть молекул пентозы.

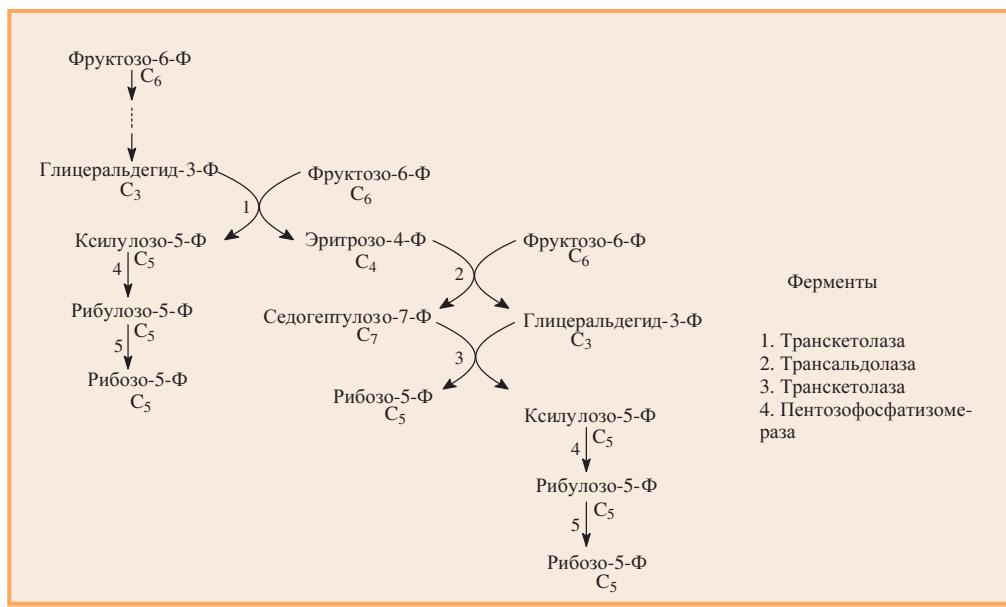
Все реакции неокислительного пути образования пентоз обратимы. Следовательно, можно представить процесс, в котором шесть молекул пентоз превращаются в пять молекул глюкозы, т.е. путь возвращения пентоз в фонд гексоз. Этим способом могут утилизироваться пентозы.

Некоторые метаболиты неокислительного пути являются также и метаболитами гликолиза. Из этого следует, что оба пути тесно связаны и в зависимости от потребности клетки возможны переключения с одного пути на другой. При сбалансированной потребности в NADPH и пентозах в клетке происходит окислительный путь синтеза пентоз. Если потребности в пентозах превышают потребности в NADPH, то образование рибозо-5-фостата может происходить из метаболитов гликолиза — фруктозо-6-фосфата и глицеральдегид-3-фосфата.

В случае если NADPH необходим в большей степени, чем пентозы, то возможны два варианта:

1) при высоком энергетическом статусе клетки излишки пентоз путем обратных реакций неокислительного пути превращаются в фруктозо-6-фосфат и глицеральдегидфосфат, из которых в процессе глюконеогенеза образуется глюкоза;

2) при низком энергетическом статусе клетки из пентоз также образуются глицеральдегидфосфат и фруктозо-6-фосфат, которые затем включаются в гликолиз.



**Рис. 8.39. Неокислительный этап пентозофосфатного пути:**

2 — стехнometрический коэффициент; Ф—fosфат;

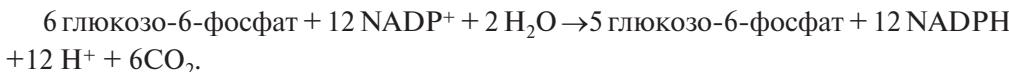
$C_3 - C_6$  — количество углеродных атомов

## Пентозофосфатный цикл

Окислительный этап образования пентоз и неокислительный этап (путь возвращения пентоз в гексозы) составляют вместе **циклический процесс**.



Такой процесс можно описать общим уравнением:



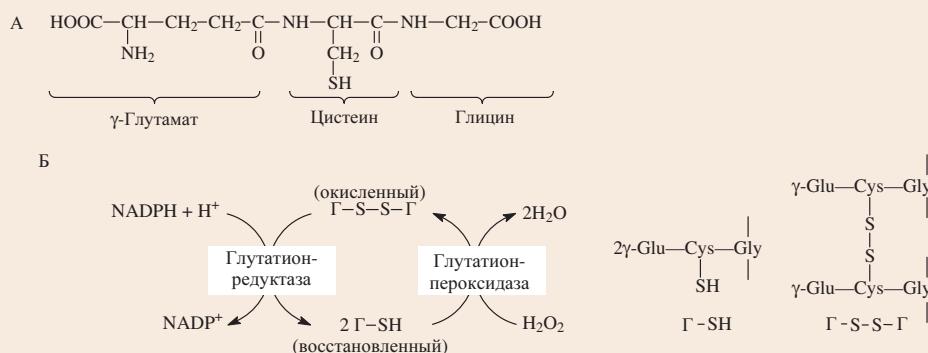
Это означает, что из шести молекул глюкозы образуются шесть молекул рибулозо-5-фосфат (пентозы) и шесть молекул CO<sub>2</sub>. Ферменты неокислительной фазы превращают шесть молекул рибулозо-5-фосфат в пять молекул глюкозы (гексозы). При последовательном проведении этих реакций единственным полезным продуктом является NADPH, образующийся в окислительной фазе пентозофосфатного пути. Такой процесс называется **пентозофосфатным циклом**.

Протекание пентозофосфатного цикла позволяет клеткам продуцировать NADPH, необходимый для синтеза жиров, не накапливая пентозы.

## Дефект глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах

Неферментативное окисление гемоглобина (Fe<sup>2+</sup>) в метгемоглобин (Fe<sup>3+</sup>) приводит к одноэлектронному восстановлению кислорода и появлению супероксида O<sup>2-</sup>, который служит предшественником других активных форм кислорода: пероксида водорода H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и гидроксильного радикала OH<sup>-</sup>. Активные формы кислорода являются сильнейшими окислителями и поэтому способны вызывать серьезные повреждения молекул ДНК, белков, ненасыщенных липидов.

В эритроцитах, как и в большинстве клеток, присутствует тиол-содержащий трипептид-глутатион ( $\gamma$ -глутамил-цистениил-глицин). Восстановленная форма глутатиона (GSH) содержит SH-группу (рис. 8.40), которая может служить донором электронов в реакциях восстановления. Под действием фермента глутатионпероксидазы восстановленный глутатион превращает молекулу пероксида водорода в молекулу воды, а сам переходит в окисленное состояние (GSSG). Регенерацию восстановленного глутатиона обеспечивает глутатионредуктаза,



**Рис. 8.40. Восстановление глутатиона под действием глутатионредуктазы:**

А — строение глутатиона: Б — восстановление глутатиона

используя в качестве донора водорода гидрированный NADPH. Для эритроцитов единственным источником получения NADPH служит пентозофосфатный путь, для других тканей существует альтернативный способ — при участии NADH-зависимой малатдегидрогеназы (малик-фермент).

Взаимодействие восстановленного глутатиона с пероксидом водорода в эритроцитах предохраняет цистеиновые остатки в протомерах гемоглобина от окисления. При генетическом дефекте глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы концентрация восстановленного кофермента NADPH уменьшается, в результате чего резко снижается концентрация восстановленного глутатиона, а в клетке соответственно увеличивается количество активных форм кислорода. В этом случае окисление SH-групп молекул гемоглобина в эритроцитах приводит к образованию перекрестных дисульфидных связей и агрегации протомеров гемоглобина с формированием тел Хайнца (см. раздел 14). В присутствии тел Хайнца пластичность мембранны нарушается, и она теряет способность к деформации при прохождении эритроцитов через капилляры. Это вызывает нарушение целостности мембранны, что приводит к **гемолизу эритроцитов**. Ряд лекарственные вещества, например антималярийный препарат примахин, сульфаниламиды, также снижают способность эритроцитов бороться с активными формами кислорода.

## Обмен липидов

Липиды — разнообразные по химической структуре вещества, объединенные в один класс из-за сходства физико-химических свойств. Все представители этого класса — гидрофобные или амфифильные (содержащие гидрофильные и гидрофобные участки) соединения, выполняющие разнообразные функции.

- Триацилглицеролы (ТАГ) и жирные кислоты являются долговременными поставщиками энергии для организма.
- Фосфолипиды, гликолипиды и холестерол благодаря амфифильности молекул участвуют в образовании клеточных мембран.
- Производные полиненасыщенных жирных кислот: простагландины, тромбоксаны и лейкотриены, являются тканевыми гормонами, участвующими в регуляции концентрации цАМФ, вазо- и бронходилатации и констрикции, свертывании крови, воспалительных и аллергических реакциях.
- Холестерол — не только структурный компонент мембран, но и предшественник стероидных гормонов, желчных кислот и витамина D<sub>3</sub>.

### 9.1. Строение основных липидов организма

**Жиры** или **ТАГ** представляют собой сложные эфиры глицерола и высших жирных кислот (рис. 9.1). У человека жирные кислоты имеют четное число углеродных атомов. Среди них различают:

- **насыщенные**, общая структура которых может быть записана следующим образом:  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ . Нумерация атомов идет от COOH-группы, углеродный атом, входящий в концевую CH<sub>3</sub>-группу, называют  $\omega$ -углеродным атомом. Основными представителями этой группы являются пальмитиновая (C16:0), содержание которой в жирах человека составляет 23–30%, и стеариновая (C18:0) кислоты. Для краткой записи жирных кислот обычно вводят следующие символы: C<sub>n</sub> — число углеродных атомов, через двоето-

чие — число двойных связей, а в скобках с дефисом  $\Delta$  — номера углеродных атомов, при которых находятся двойные связи;

- **мононенасыщенные**: пальмитоолеиновая ( $C16:1 (\Delta 9)$ ) и олеиновая  $C18:1 (\Delta 9)$  кислоты. В ТАГ человека содержание олеиновой кислоты составляет 20–25%;
- **Полиненасыщенные** (или полиеновые) кислоты почти не синтезируются в организме и являются **незаменимыми** или эссенциальными пищевыми факторами. Запись этих кислот осуществляют двояким способом, используя нумерацию от  $\omega$ -атома с указанием номера атома, при котором находится двойная связь, или от  $\text{COOH}$ -группы, как указывалось выше. Совокупность основных эссенциальных высших жирных кислот обозначают как **витамин F**. К ним относятся:
  - линолевая ( $\omega 6$ ) кислота —  $C18:2 (\Delta 9, 12)$ , содержание которой в липидах человека составляет 10–15%, хотя в тканях она совсем не синтезируется;
  - линоленовая ( $\omega 3$ ) кислота —  $C18:3 (\Delta 9, 12, 15)$ , способная синтезироваться в организме животных в очень малых количествах;
  - эйкозаполиеновые кислоты, включающие 20 углеродных атомов. Основной представитель — арахидоновая ( $\omega 6$ ) кислота —  $C20:4 (\Delta 5, 8, 11, 14)$ , частично синтезирующаяся в организме из линолевой кислоты. Ее содержание в составе липидов составляет около 8% от количества всех жирных кислот человека. В рыбьем жире, растительных маслах встречается эйкозапентаеновая ( $\omega 3$ ) кислота с пятью двойными связями.

Триацилглицеролы являются высококонцентрированной формой энергии. При окислении 1 г жира выделяется 9,3 ккал, что почти в два раза больше, чем при окислении такого же количества белков или углеводов. Чаще всего ТАГ содержат разные жирные кислоты в  $\alpha$ - и  $\beta$ - положениях, самая ненасыщенная кислота, как правило, присоединяется в  $\beta$ -положение молекулы. В названиях жиров первоначально перечисляются жирные кислоты с заменой окончания -ат на -ил и указанием спирта — глицерола. Например, ТАГ, включающий в  $\alpha$  положениях пальмитиновую и стеариновую кислоты, а в  $\beta$ -положении олеиновую кислоту, будет называться пальмитоил-олеил-стеариол глицерол.

Фосфо- и гликолипиды, холестерол являются основными компонентами мембран и их строение было описано ранее в разделе 4.

## 9.2. Переваривание липидов

Суточная потребность человека в жирах составляет 70–80 г, хотя в пищевом рационе их содержание может колебаться от 80 до 130 г. У взрослых людей расщепление пищевых жиров начинается в двенадцатиперстной кишке.

|                              |  |              |
|------------------------------|--|--------------|
| Пальмитиновая<br>16:0        |  | Т.п.<br>63°C |
| Стеариновая<br>16:0          |  | Т.п.<br>70°C |
| Олеиновая<br>18:1(9)         |  | Т.п.<br>14°C |
| Линолевая<br>18:3(9, 12, 15) |  | Т.п.<br>5°C  |

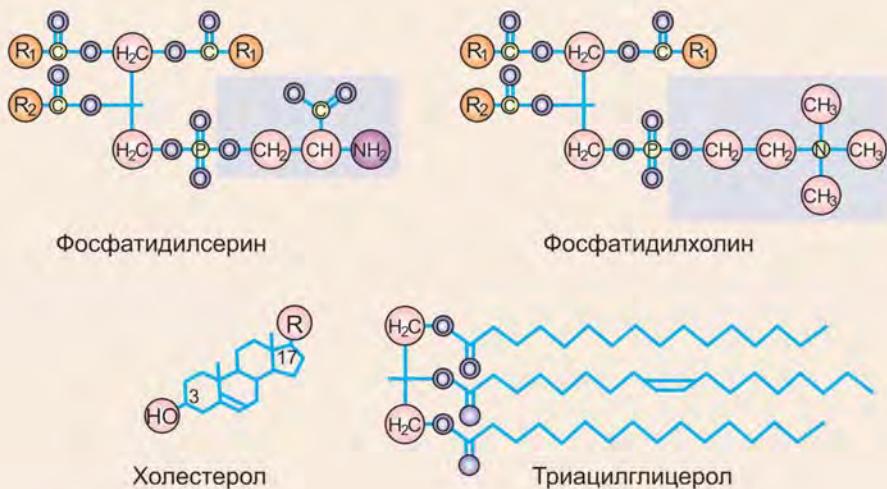
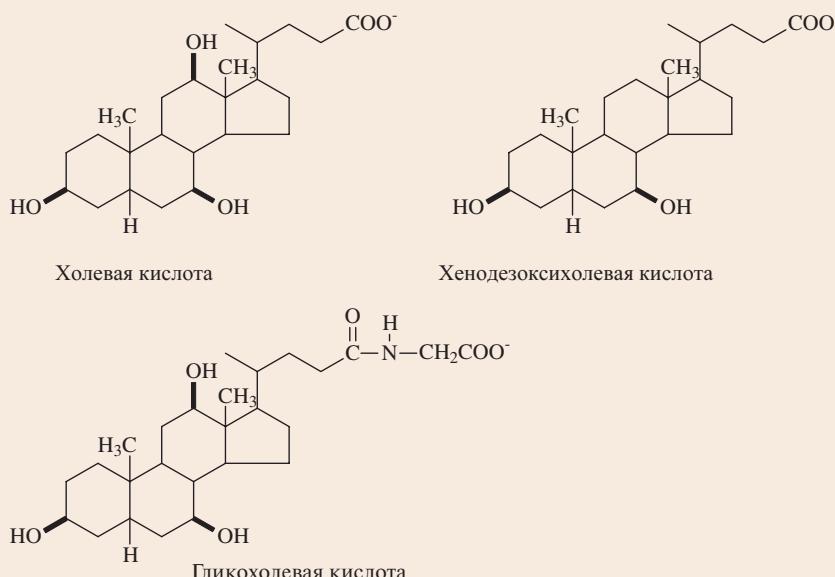


Рис. 9.1. Строение основных липидов тканей человека

Обязательным условием переваривания является **эмульгирование** — снижение поверхностного натяжения на границе раздела вода — жир, так как жиры гидрофобны и содержатся в клетках в виде безводных капель. Основную роль в этом процессе играют желчные кислоты, входящие в состав желчи (рис. 9.2). Будучи амифильными молекулами, они окружают каплю жира и способствуют ее дроблению на множество мелких капелек. Таким образом молекулы жира становятся доступными для действия липаз, содержащихся в соке поджелудочной железы. В эмульгировании пищевого жира помимо мицелл желчи, в состав



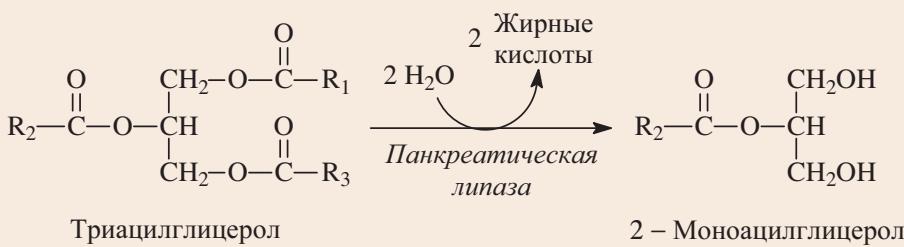
**Рис. 9.2. Строение желчных кислот**

Гидрофильный участок в молекулах образуют –ОН-группы в 3, 7 положениях полициклической структуры и СОО-группа бокового радикала, а в конъюгированных производных — весь участок, начиная с карбонильной группы бокового радикала

которых входят фосфолипиды: желчные кислоты: холестерол в соотношении 1 : 12,5 : 2, участвуют ионы K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, соли высших жирных кислот, СО<sub>2</sub>, бикарбонаты панкреатического сока и перистальтика кишечника. Желчные кислоты, синтезированные в печени, на 2/3 конъюгированы, т.е. образуют производные с молекулами глицина и таурина, что усиливает эмульгирующие свойства этих соединений.

В просвете кишечника происходит активация **панкреатической липазы** за счет присоединения к ферменту белка-активатора **колипазы**, который тоже синтезируется в поджелудочной железе и поступает в кишечник в составе панкреатического сока. Образование комплекса липазы и колипазы изменяет конформацию фермента, активирует его и смешает pH действия с 9,0 до 6,0. Панкреатическая липаза — гидролаза, отщепляющая с высокой скоростью жирные кислоты из α-положений молекулы, поэтому основными продуктами гидролиза ТАГ являются моноацилглицеролы (2-МАГ) и жирные кислоты (рис. 9.3).

В составе сока поджелудочной железы присутствуют и другие гидролазы, участвующие в расщеплении липидов пищи. Это — **холестеролэстераза**, катализирующая расщепление эфиров холестерола до высших жирных кислот и сво-



**Рис. 9.3. Гидролиз ТАГ панкреатической липазой**

бодного холестерола, и набор **фосфолипаз**, расщепляющих фосфолипиды на высшие жирные кислоты, глицерол, остаток фосфорной кислоты и азотистое основание: холин, серин или этаноламин (рис. 9.4).

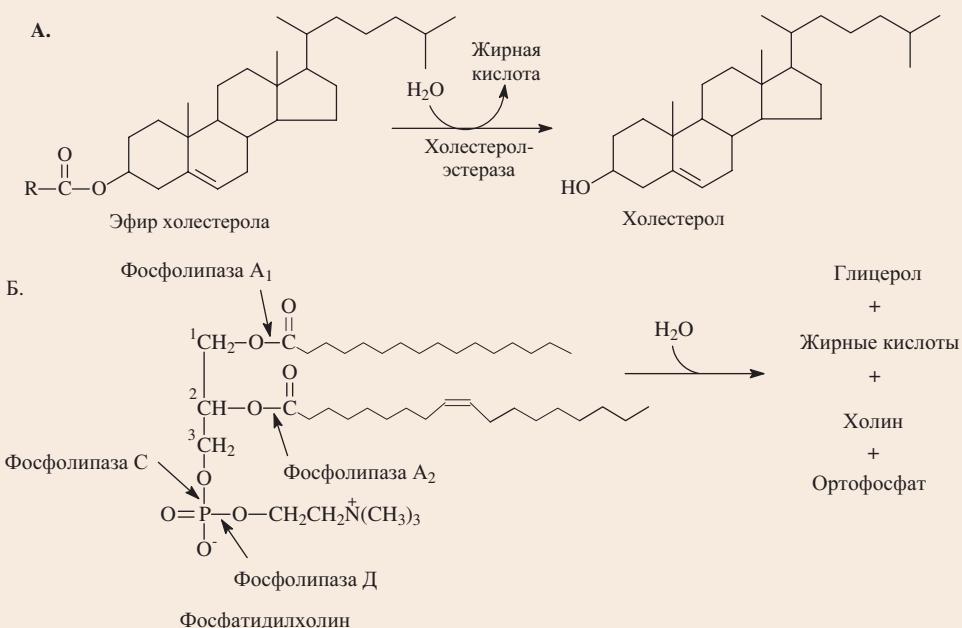
### Переваривание ТАГ молока у грудных детей и детей младшего возраста

В состав ТАГ молока входят жирные кислоты с короткой цепи от 4 до 12 углеродных атомов. В секреторных железах языка и желудка синтезируется липаза, работающая при pH 7,0. Она отщепляет в желудке остаток одной жирной кислоты из  $\alpha$ -положения ТАГ молока. Освободившаяся жирная кислота всасывается в желудке или кишечнике, а диацилглицерол (ДАГ) поступает в кишечник и подвергается гидролизу панкреатической липазой до МАГ и жирной кислоты.

## 9.3. Всасывание продуктов гидролиза липидов

Плохо растворимые в водной среде продукты гидролиза липидов: высшие жирные кислоты, 2-МАГ, холестерол, а также поступившие с пищей жирорастворимые витамины А, Д, Е, К включаются в мицеллы желчи, образуя **смешанные мицеллы**. В такой форме они всасываются клетками слизистой оболочки кишечника. При всасывании этот сложный надмолекулярный комплекс распадается. Желчные кислоты с током крови поступают в печень, а оттуда через желчные протоки в желчный пузырь и затем в составе мицелл желчи снова изливаются в кишечник. Из кишечника около 5% желчных кислот выводится с калом, а основная масса всасывается, циркулируя из печени в желчный пузырь, кишечник и снова в печень. Этот кругооборот желчных кислот получил название **энтерогепатической циркуляции**. Потери желчных кислот в кишечнике восполняются за счет синтеза в печени из холестерола. Глицерол, будучи веществом хорошо растворимым в водных средах, всасывается без участия желчи.

Нарушения, вызванные снижением поступления панкреатической липазы (при панкреатите) или желчи при недостаточном желчеобразовании или за-



**Рис. 9.4. Гидролиз эфиров холестерола и фосфолипидов:**

А. — гидролиз эфиров холестерола

Б. — гидролиз фосфолипида на примере фосфатидилхолина — лецитина

купорке желчных протоков (желчнокаменная болезнь), снижают скорость гидролиза липидов и сопровождаются **стеатореей** — появлением нерасщепленных жиров в составе фекалий. При этом снижается всасывание полиеновых жирных кислот и жирорастворимых витаминов: А, Д, Е, К, что приводит к развитию гиповитаминозов.

## 9.4. Ресинтез экзогенных ТАГ в клетках слизистой кишечника и их транспорт по крови

Из продуктов гидролиза жиров в клетках слизистой кишечника идет синтез ТАГ. Предварительно жирные кислоты активируются при участии **ацил-КоА-сигнатур**, специфичных к длине углеводородного радикала. Существует три вида ферментов: один активирует жирные кислоты, включающие 2–3 углеродных атома, другой специфичен к жирным кислотам со средней длиной цепи в 4–12 углеродных атомов, а третий превращает в ацил-КоА длинноцепочечные жирные кислоты, состоящие из 12–24 углеродных атомов.

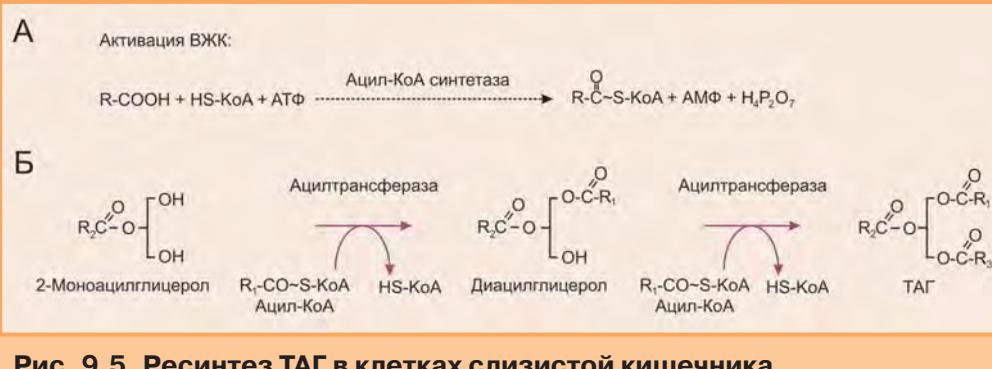


Рис. 9.5. Ресинтез ТАГ в клетках слизистой кишечника

**Ацил-KoA-синтетаза**

Далее активированные жирные кислоты достраивают 2-МАГ до ТАГ при участии ферментов — **трансцилаз** или **ацилтрансфераз** (рис. 9.5).

Гидрофобные ТАГ включаются в водорастворимые надмолекулярные комплексы — **хиломикроны** (рис. 9.6), представляющие собой один из видов липопротеинов, обеспечивающих транспорт жиров по крови. Они являются сферическими частицами, внутреннее содержимое которых образуют ТАГ и эфиры холестерола, а наружную оболочку — фосфолипиды, холестерол и белки: инте-

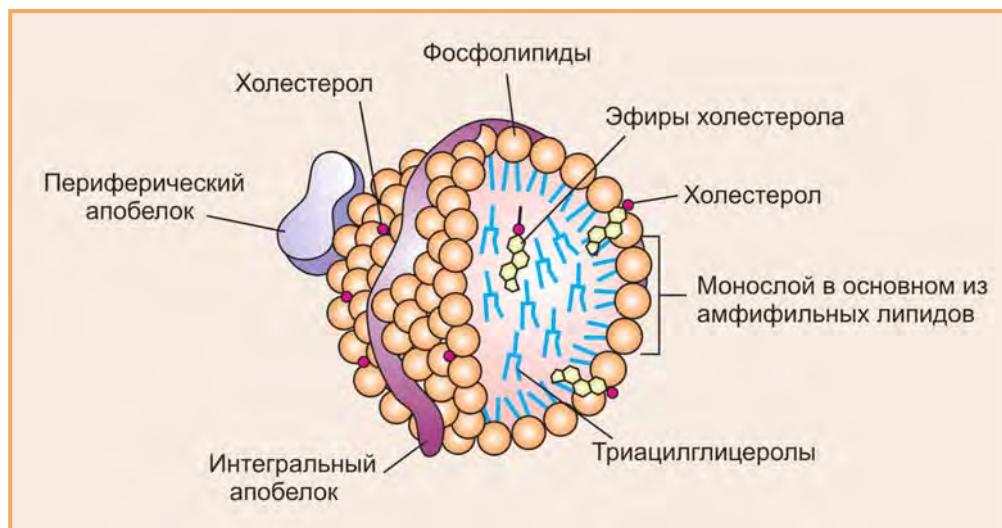


Рис. 9.6. Строение липопротеинов.

Ядро частицы представлено неполярными липидами: ТАГ и эфирами холестерола. ЭХс — эфиры холестерола

гральные (пронизывающие фосфолипидный слой) и периферические (взаимодействующие с наружным слоем мембраны).

В составе хиломикронов (ХМ) экзогенные жиры через лимфатическую систему поступают в кровоток, где помимо ХМ, основной транспортной формы экзогенного жира, присутствуют и другие липопroteины (табл. 9.1). Так:

липопroteины очень низкой плотности (ЛПОНП) транспортируют синтезированные в печени эндогенные жиры и холестерол;

липопroteины промежуточной плотности (ЛППП) образуются из ЛПОНП под действием ЛП-липазы, расположенной на стенках сосудов, и являются предшественниками ЛПНП;

липопroteины низкой плотности (ЛПНП) переносят холестерол к тканям. Липопroteины высокой плотности (ЛПВП) обеспечивают доставку белков на другие липопroteины и перенос холестерола от тканей в печень.

**Таблица 9.1**

**Состав основных липопroteинов крови человека**

| Липопroteины<br>(Состав в % ) | Хиломи-<br>кроны | ЛПОНП | ЛППП | ЛПНП | ЛПВП |
|-------------------------------|------------------|-------|------|------|------|
| ТАГ                           | 85               | 55    | 26   | 7    | 3    |
| Белки                         | 2                | 10    | 11   | 22   | 50   |
| Фосфолипиды                   | 3                | 18    | 23   | 21   | 27   |
| Холестерол (Хс)               | 2                | 7     | 8    | 8    | 4    |
| Эфиры Хс                      | 3                | 10    | 30   | 42   | 10   |

В кровеносном русле ХМ контактируют с ЛПВП и между ними происходит обмен мембранными белками — **аполипопroteинами**. ХМ получают от ЛПВП Апо С<sub>II</sub> и Апо Е, а хиломикроны отдают на ЛПВП Апо А1. Получив Апо С<sub>II</sub> и Апо Е, ХМ из незрелой формы превращаются в **зрелые частицы**, так как эти белки обеспечивают дальнейший метаболизм ХМ. Апо С<sub>II</sub> — активатор ЛП-липазы, фермента, локализованного на эндотелии сосудов. С помощью Апо С<sub>II</sub> ХМ связываются с ЛП-липазой, которая гидролизует находящиеся внутри частиц ТАГ на глицерол и высшие жирные кислоты (ВЖК). ХМ на 85–90 % состоят из ТАГ, поэтому, теряя жиры, они превращаются в **остаточные ХМ**. Последние возвращают Апо С<sub>II</sub> на ЛПВП и удаляются из кровотока с помощью Апо Е. Рецепторы клеток печени связываются с этим белком и поглощают частицы по механизму эндоцитоза (рис. 9.7). В клетках печени эндосомы сливаются с лизосомами, и содержимое остаточных хиломикронов гидролизуют лизосомальные ферменты. Образующиеся продукты используются для внутренних нужд органа.

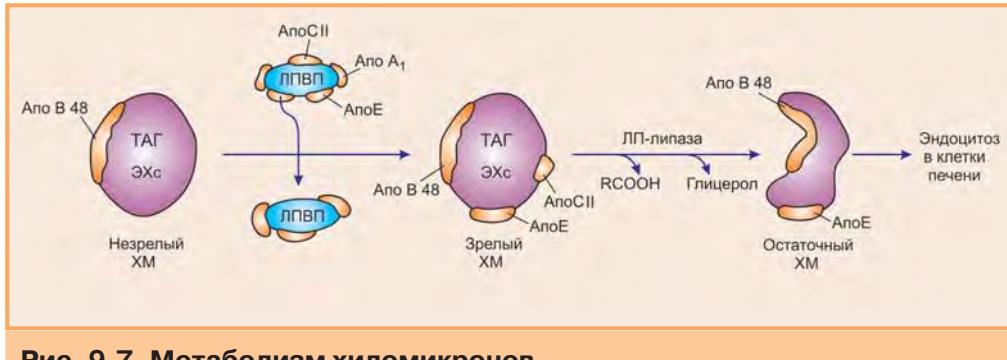


Рис. 9.7. Метаболизм хиломикронов

## 9.5. Эндогенный синтез жиров в период пищеварения

В абсорбтивный период или период пищеварения часть энергоносителей, таких, как глюкоза и жирные кислоты, запасаются в виде ТАГ в специализированных клетках жировой ткани — адипоцитах. В этот период в крови повышается концентрация глюкозы и увеличивается инсулин/глюкагоновый индекс. Инсулин индуцирует синтез ЛП-липазы и ускоряет поступление экзогенных высших жирных кислот в адипоциты, где они используются на синтез ТАГ.

Утилизация глюкозы печенью, мышцами и жировой тканью активируется инсулином, так как он стимулирует включение переносчиков глюкозы ГЛЮТ-4 в мембранны жировой и мышечной тканей и таким образом делает их проницаемыми для глюкозы.

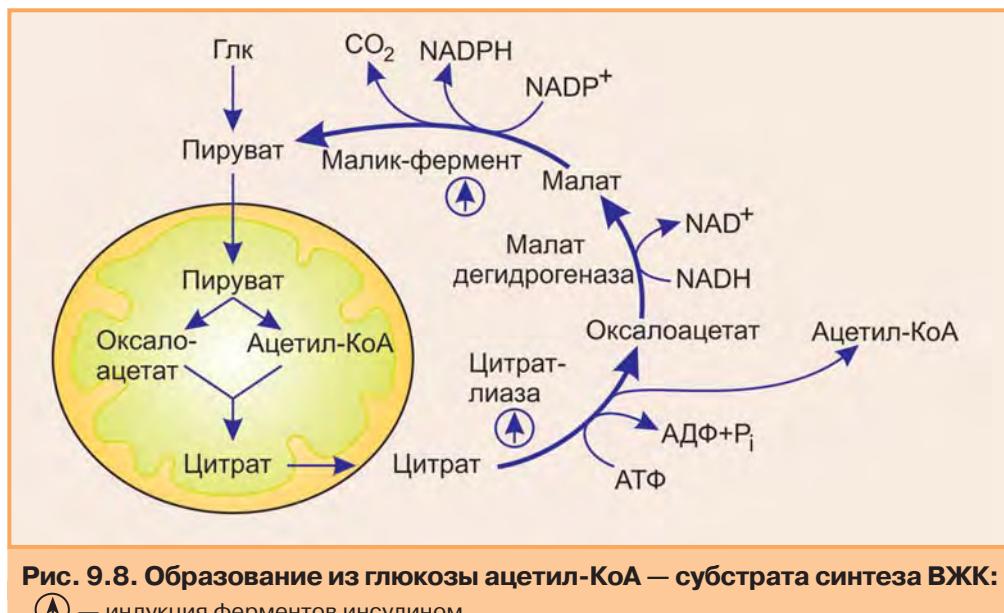
В печени гормон индуцирует синтез глюкокиназы, фософруктокиназы и пируваткиназы, которые часть глюкозы, не использованной на синтез гликогена, окисляют в гепатоцитах до пирувата в процессе аэробного гликолиза. Процесс ускоряется не только за счет увеличения количества этих ферментов, но и благодаря тому, что инсулин, активируя специфическую фосфопротеинфосфатазу, переводит БИФ-фермент и пируваткиназу в дефосфорилированную форму. В этих условиях ускоряется синтез фруктозо-2,6-фосфата — мощного активатора фософруктокиназы и пирувата из фосфоенолпирувата (см. раздел 8).

### Синтез высших жирных кислот

Пируват из цитозоля транспортируется в митохондрии, где частично подвергается окислительному декарбоксилированию ПДК комплексом с образованием ацетил-КоА, и карбоксилируется пируваткарбоксилазой с образованием оксалоацетата.

Оба продукта в реакции, катализируемой ферментом ЦТК — цитратсинтазой, превращаются в цитрат и с помощью соответствующей транслоказы покидают митохондрии (рис. 9.8). Утечка цитрата в цитозоль объясняется тем, что в аб-

сорбтивный период в митохондриях образуются большие количества АТФ и НАДН, которые, являясь аллостерическими ингибиторами изоцитратдегидрогеназы и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса, снижают использование цитрата в цитратном цикле.



**Рис. 9.8. Образование из глюкозы ацетил-КоА — субстрата синтеза ВЖК:**  
↑ — индукция ферментов инсулином

В цитозоле цитрат распадается на оксалоацетат и ацетил-КоА при участии фермента **цитратлиазы**. Ацетил-КоА вовлекается в синтез высших жирных кислот, а оксалоацетат под действием **цитоплазматической малатдегидрогеназы** восстанавливается в малат, который либо с помощью соответствующей транслокации возвращается в митохондрии, либо с помощью малик-фермента подвергается окислению и декарбоксилированию с образованием пирувата и НАДН-донора водорода в реакциях восстановления при синтезе ВЖК.

Инсулин **индуцирует** синтез **цитратлиазы** и **малик-фермента**. Реакция, катализируемая цитратлиазой, идет с затратой молекулы АТФ, энергия которой затрачивается на образование макроэргической связи между остатком ацетила и HS-КоА (рис. 9.9).

Основную регуляторную реакцию синтеза ВЖК катализирует биотин-содержащий фермент — **ацетил-КоА-карбоксилаза**, в ходе которой ацетил-КоА превращается в малонил-КоА (рис. 9.10).

Благодаря ключевому положению этой реакции в синтезе ВЖК активность ацетил-КоА-карбоксилазы может изменяться в широких пределах путем:

- **ассоциации и диссоциации протомеров.** Цитрат стимулирует ассоциацию и повышает активность фермента, а увеличение концентрации ацетил-КоА ускоряет диссоциацию протомеров и снижает активность фермента;

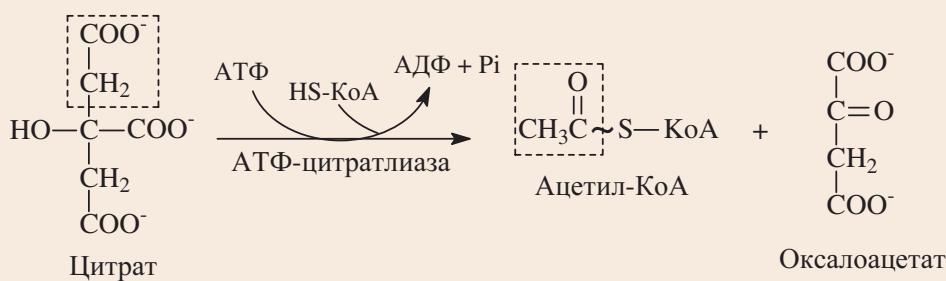


Рис. 9.9. Реакция, катализируемая цитратлиазой

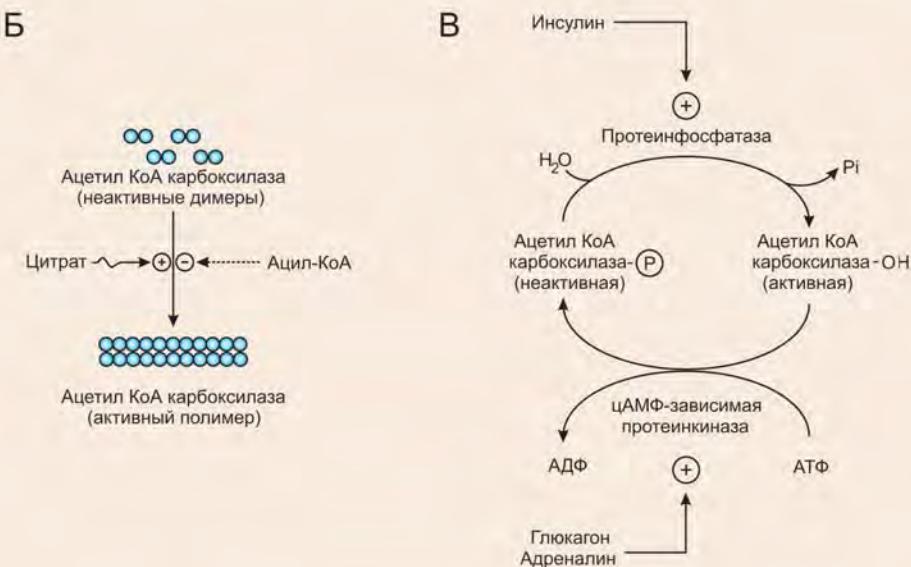
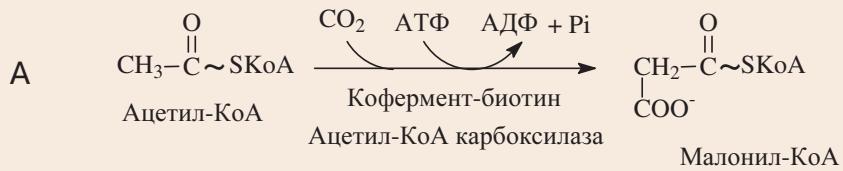


Рис. 9.10. Синтез малонил-KoA и его регуляция:

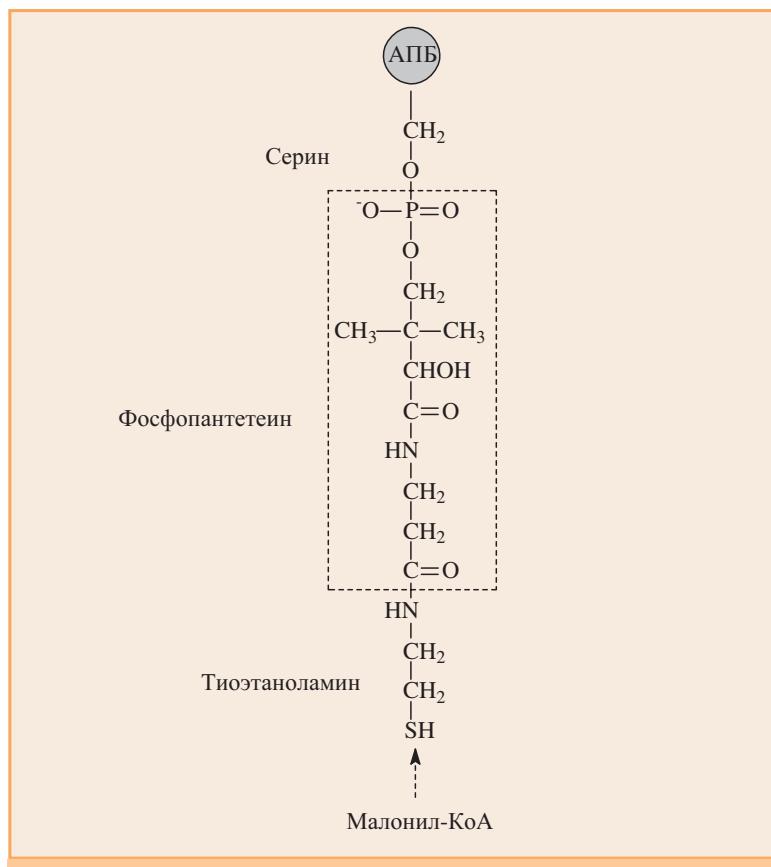
- A — синтез малонил-KoA;  
 Б — ассоциация и диссоциация протомеров ацетил-KoA-карбоксилазы;  
 В — фосфорилирование и дефосфорилирование фермента

– **фосфорилирования и дефосфорилирования.** Инсулин стимулирует дефосфорилирование и повышает активность фермента, а глюкагон и адреналин — фосфорилирование и его инактивацию.

– **индуции синтеза новых молекул фермента** под влиянием инсулина.

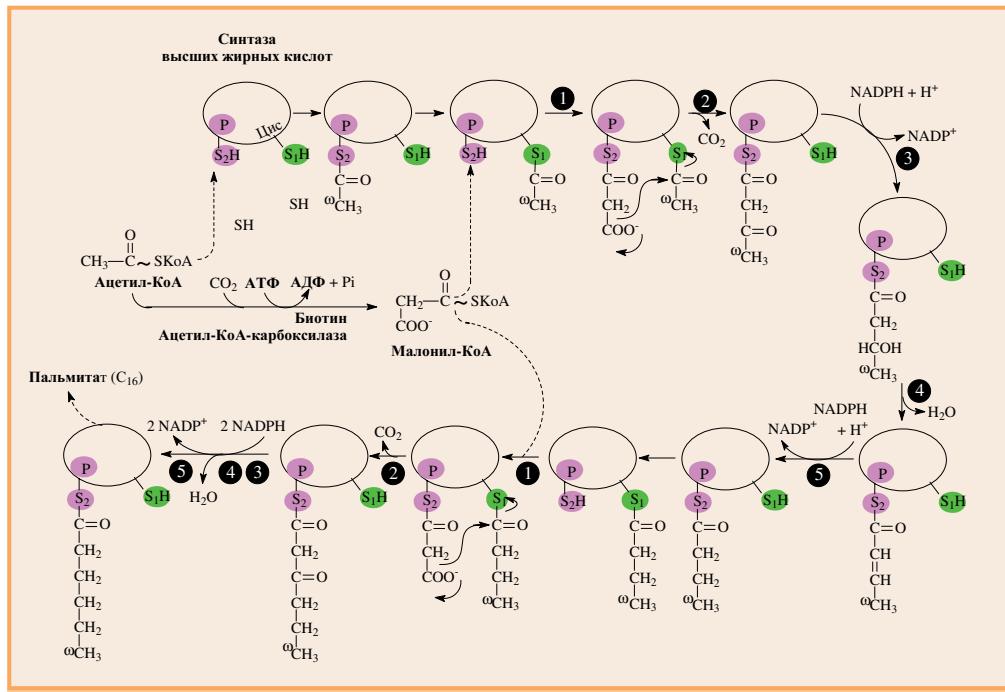
Инсулин индуцирует также синтез полифункционального фермента — **пальмитилсигнатазы**, или **сигнатазы высших жирных кислот**. Семь активных центров этого фермента способны катализировать ряд последовательных реакций. Процесс носит циклический характер, в ходе каждого цикла происходит удлинение жирной кислоты на два углеродных атома. Промежуточные продукты синтеза остаются связанными с ферментом вплоть до образования пальмитиновой кислоты.

Фермент состоит из двух идентичных протомеров, на каждом из которых имеются две функционально активные  $-SH$ -группы: одна принадлежит остатку цистеина  $-S_1H$ , а другая — 4-фосфопантетеинтиоэтаноламину  $-P-S_2H$  (рис. 9.11), который содержит производное витамина  $B_5$  — пантотеновой кислоты и присоединен к радикалу серина в составе фермента.



**Рис. 9.11. Строение фосфопантетеинтиоэтаноламина**

Процесс начинается с переноса ацетильного остатка от ацетил-КоА на H S<sub>1</sub>-группу фермента при участии активного центра, обладающего ацетилтрансферазной активностью (рис. 9.12). Затем центр с активностью малонилтрансферазы присоединяет остаток малонила от малонил-КоА к H S<sub>2</sub>-группе того же протомеря (реакция 1). В реакции 3 катализируемой кетоацилсингтазным центром ацетильный остаток перебрасывается на малонильный остаток на место –COOH-группы, которая вытесняется из молекулы в виде CO<sub>2</sub>. Образуется первый промежуточный продукт синтеза — ацетоацетил-Е (Е — фермент), связанный с S<sub>2</sub>-группой фермента тиоэфирной связью.



**Рис. 9.12. Синтез пальмитиновой кислоты.**

Жирные кислоты могут синтезироваться одновременно на обоих субъединицах фермента, но на схеме представлен процесс, протекающий на одной из них

Последующие реакции направлены на восстановление β-кетогруппы и превращение остатка ацетоацетил-Е в бутирил-Е. При этом субстрат, ковалентно связанный с ферментом, с помощью фосфопантетеинтиоэтаноламиновой «руки» перемещается из одного активного центра в другой, где подвергается соответствующим превращениям. На стадиях восстановления затрачивается 2 молекулы NADPH + H<sup>+</sup>, которые организм получает частично из пентозофосфатного пути, частично за счет работы малик-фермента. Обеспеченность коферментами до-

стигается благодаря тому, что в абсорбтивный период инсулин индуцирует синтез малик-фермента и глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы — первого NADPH-образующего фермента окислительной фазы пентозофосфатного пути.

Конечный продукт первого цикла синтеза бутирил-Е, связанный тиоэфирной связью с S<sub>2</sub> группой фермента, перемещается на H S<sub>1</sub>-группу, а к освободившейся P-S<sub>2</sub>H-группе присоединится новый остаток малонила и начинается следующий цикл синтеза, в ходе которого остаток бутирила удлиняется еще на 2 углеродных атома с образованием шестиуглеродной кислоты. В результате семи оборотов цикла получается пальмитил-Е, который гидролитически отщепляется от пальмитилсингтазы при участии **пальмитилдеацилазы**.

Пальмитат — основной продукт данного фермента, хотя в небольших количествах могут синтезироваться жирные кислоты с более короткой углеводородной цепью. Суммарное уравнение синтеза пальмитата можно записать следующим образом:



### **Синтез жирных кислот с большим чем C<sub>16</sub>, числом углеродных атомов**

Жирные кислоты с числом углеродных атомов больше, чем 16, синтезируются в эндоплазматическом ретикулуме аналогично тому, как это происходит на пальмитилсингтазе. Однако каждую стадию процесса катализируют отдельные ферменты. Удлинение цепи происходит с помощью малонил-КоА, а в реакциях восстановления используется NADPH + H<sup>+</sup>.

Образование **ненасыщенных жирных кислот** — пальмитоолеиновой и олеиновой кислот — происходит на мемbrane эндоплазматического ретикулума (ЭР), двойные связи между C<sub>9</sub> и C<sub>10</sub> возникают за счет работы **оксигеназы жирных кислот**, которая требует для своей работы участия O<sub>2</sub> и NADPH.

### **Синтез триацилглицеролов**

Процесс идет в течение 4 — 5 часов после приема пищи в печени и жировой ткани с использованием экзогенных и эндогенных ВЖК, а также глицерола, поступившего в составе ТАГ пищи или образующегося из дигидроксиацитон-фосфата (ДАФ) — одного из продуктов катаболизма глюкозы. В печени и адипоцитах ДАФ восстанавливается **глицерол-3-фосфатдегидрогеназой** до глицерол-3-фосфата (рис. 9.13).

Свободный глицерол фосфорилируется с помощью АТФ в глицерол-3-фосфат только в печени, кишечнике и почках, поскольку только в этих органах имеется фермент **глицеролкиназа** (рис. 9.14).

Далее глицерол-3-фосфат взаимодействует с активированными формами ВЖК — ацил-КоА с образованием фосфатидной кислоты, которая использует-

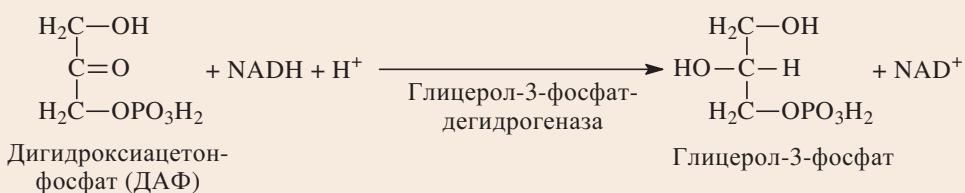


Рис. 9.13. Образование глицерол-3-fosфата из ДАФ

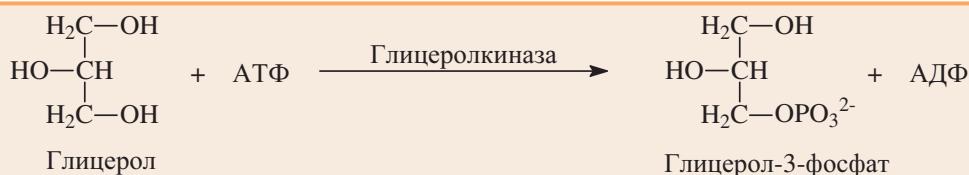


Рис. 9.14. Фосфорилирование глицерола глицеролкиназой печени

ся на синтез ТАГ и образование фосфолипидов (рис. 9.15). Причем, если все клетки, за исключением эритроцитов, способны синтезировать фосфолипиды, то синтез ТАГ протекает главным образом в печени, жировой ткани, лактирующей молочной железе и кишечнике.

В печени ТАГ упаковываются в ЛПОНП и поступают в кровоток, а в жировой ткани депонируются в виде капелек жира. В крови ЛПОНП подобно хиломикронам контактируют с ЛПВП, получают от них белки АпоС<sub>II</sub> и Апо Е и превращаются из незрелой формы в зрелую. Зрелые ЛПОНП взаимодействуют с ЛП-липазой, которая гидролизует в них ТАГ до глицерола и ВЖК (рис. 9.16). ЛПОНП, теряя ТАГ, сначала превращаются в ЛППП, а затем в ЛПНП, основным компонентом которых являются эфиры холестерола (ЭХс).

В абсорбтивный период инсулин индуцирует в адипоцитах синтез ЛП-липазы и таким образом увеличивает поток эндо- и экзогенных ВЖК в жировую ткань для синтеза ТАГ.

В крови при генетических дефектах в структуре ЛП-липазы или активатора этого фермента — Апо С<sub>II</sub> высокое содержание ХМ и ЛПОНП может сохраняться в течение длительного времени, тогда как в норме их концентрация снижается вдвое за 0,5–2,5 часа после появления в крови. У таких пациентов сыворотка крови при стоянии в холодильнике в течение ночи расслаивается, образуя на поверхности пробирки слой жира.

Содержание разных липопротеинов в сыворотке крови оценивают с помощью электрофореза в поликариламидном геле. Через 4–5 часов после приема пищи на липидограмме обнаруживаются все виды липопротеинов, а после ночного голода — только долгоживущие ( $t_{1/2} = 5$ –7 суток) ЛПНП и ЛПВП (рис. 9.17).

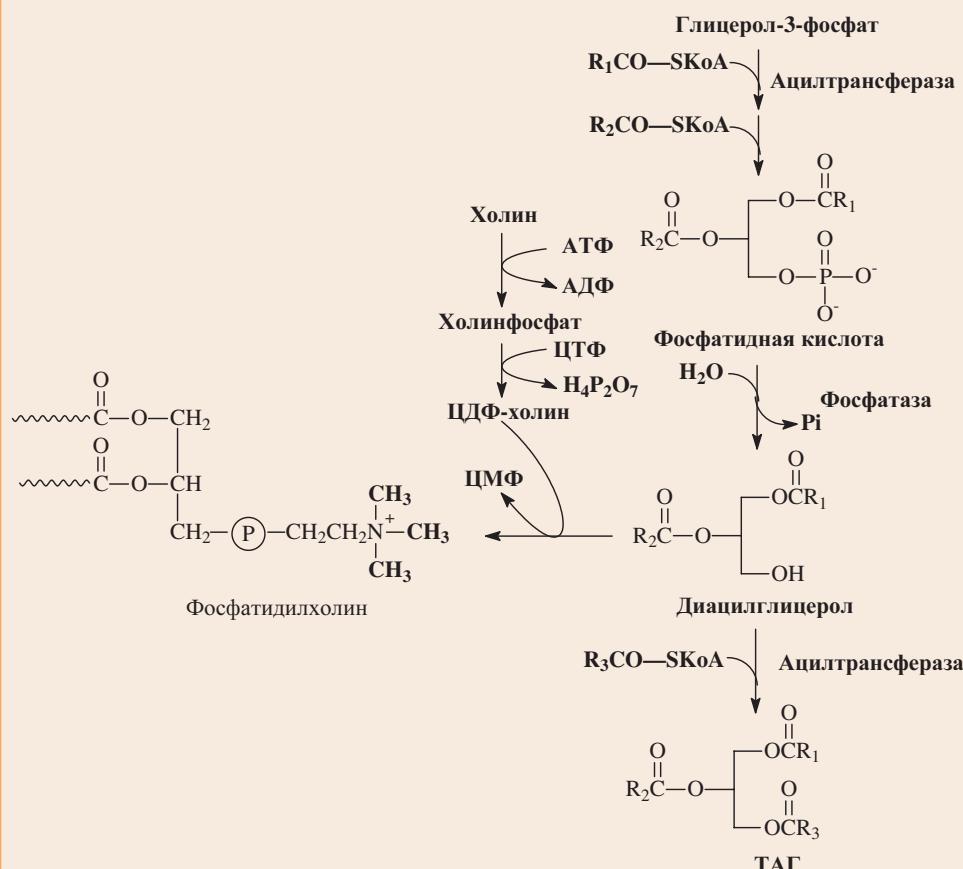


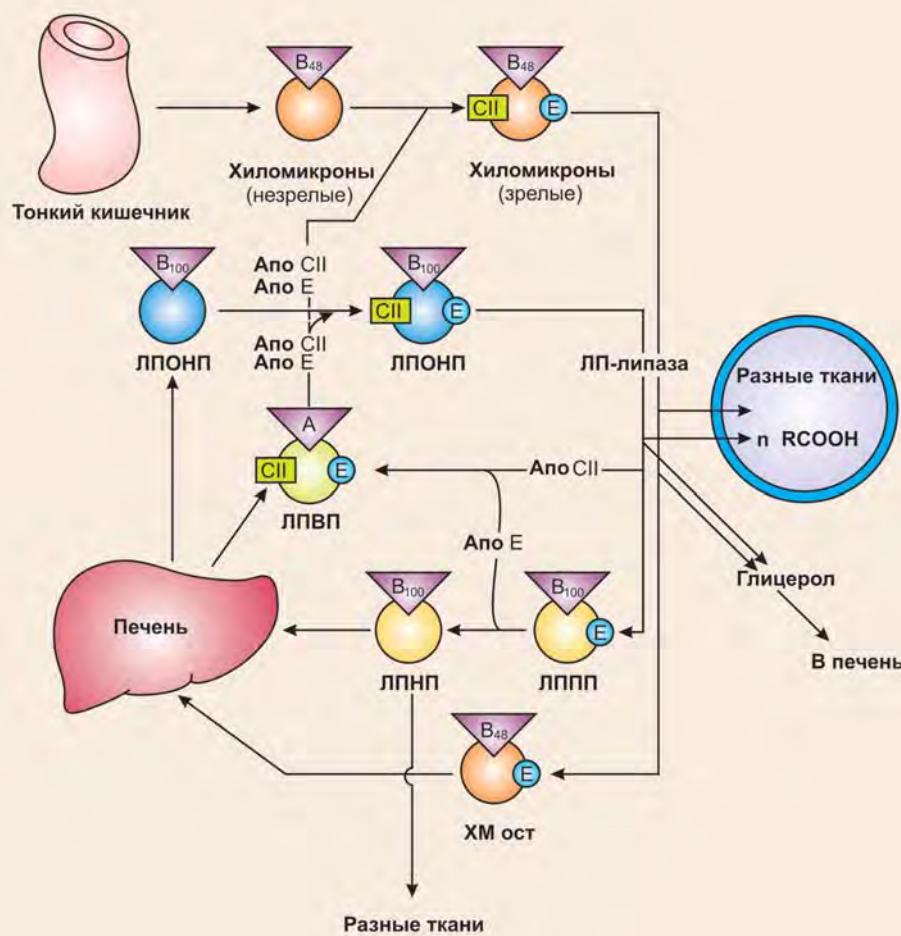
Рис. 9.15. Синтез в печени ТАГ и фосфолипидов

## 9.6. Ожирение

Среди человеческой популяции ожирение представляет собой наиболее частое отклонение в обмене ТАГ. Этую патологию диагностируют у пациентов, масса которых на 20% и более превышает норму. Основными причинами ожирения являются:

- генетические факторы (80% случаев);
- уровень физической активности;
- количество потребляемой пищи;
- эндокринные нарушения.

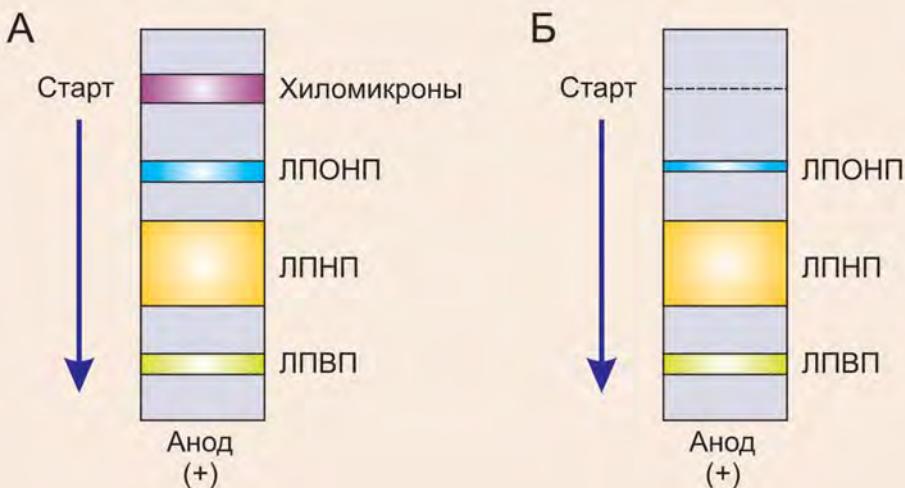
К генетическим факторам относят:



**Рис. 9.16. Судьба ТАГ хиломикронов и ЛПОНП:**

А — интегральные белки ЛПВП — АпоA

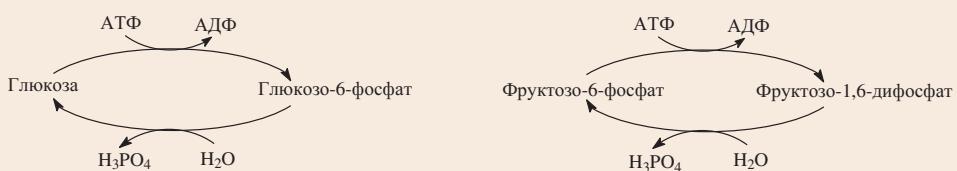
- слабое функционирование бесполезных циклов, в которых имеет место одновременное протекание реакций гликолиза и глюконеогенеза, благодаря чему происходит нецелевое расходование энергии АТФ (рис. 9.18). В результате осуществляется сбережение и преимущественное депонирование энергоносителей, прежде всего жиров;
- прочное сопряжение дыхания и окислительного фосфорилирования, оно препятствует бесполезной трате энергии и сохраняет коэффициент Р/О на высоком уровне
- высокую эффективность работы  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  АТФазы, на долю которой приходится до 30% потребляемой клеткой энергии, это обеспечивает экономичное использование АТФ;



**Рис. 9.17. Липидограммы сыворотки крови:**

А — через 3–4 часа после приема пищи;

Б — через 10–12 часов после приема пищи



**Рис. 9.18. Холостые циклы обмена углеводов**

- мутации в гене *obese*, кодирующем строение белка лептина. Этот белок синтезируется в адипоцитах, секreтируется в кровь и взаимодействует с рецепторами гипоталамуса. Связывание лептина с рецептором ингибирует секрецию нейропептида Y, ответственного за пищевое поведение, поиск и потребление пищи;
- мутации в рецепторе лептина.

Мутации в генах *obese* и рецептора лептина являются наиболее частой причиной ожирения. В последнем случае отмечается высокое содержание лептина в крови, а центр голода в гипоталамусе продолжает синтезировать и секreтировать нейропептид Y.

## 9.7. Использование жиров в качестве источника энергии

Переключение процесса синтеза ТАГ на их окисление происходит при смене периода пищеварения на постабсорбтивное состояние, при стрессовых ситуациях и длительной физической работе. Снижение концентрации глюкозы в крови стимулирует секрецию глюкагона, а стресс и физическая активность сопровождаются выбросом адреналина. Оба гормона, будучи антагонистами инсулина, через аденилатциклазную систему передачи сигнала активируют протеинкиназу А, которая фосфорилирует и таким образом активирует **ТАГ-липазу** или **гормон-чувствительную липазу** адипоцитов. В этих условиях ТАГ-липаза начинает гидролиз жира до глицерола и ВЖК. В расщеплении ТАГ участвуют три липазы:

- первоначально ТАГ-липаза отщепляет одну молекулу жирной кислоты и превращает ТАГ в диацилглицерол (ДАГ);
- ДАГ-липаза продолжает гидролиз жира и освобождает следующую молекулу ВЖК;
- МАГ-липаза завершает расщепление жира до глицерола и ВЖК

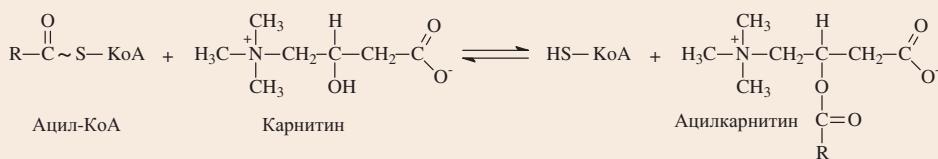
В адипоцитах скорость-лимитирующей стадией липолиза является реакция, катализируемая ТАГ-липазой, поскольку ДАГ- и МАГ-липазы присутствуют в клетках в большом количестве, и, как только ТАГ-липаза активируется, процесс липолиза идет до конца с большой скоростью.

Глицерол, будучи веществом, хорошо растворимым в плазме крови, транспортируется в печень и используется на синтез глюкозы. Жирные кислоты образуют комплексы с альбумином крови, доставляются в разные органы и ткани: мышцы, печень, почки и др., где окисляются с выделением энергии.

### Окисление высших жирных кислот ( $\beta$ -окисление)

Окисление ВЖК протекает в митохондриальном матриксе только в аэробных условиях, так как тесно связано с функционированием цитратного цикла и цепи переноса электронов. Жирные кислоты с короткой длиной цепи (4–10 углеродных атомов) самостоятельно проходят в митохондрии и там активируются.

Ацил-КоА-синтетаза ЭР или наружной мембранны митохондрий превращает ВЖК в ацил-КоА. Затем под действием фермента **карнитинацилтрансферазы I** (КАТ 1) ацильный остаток с ацил-КоА переносится на карнитин с образованием ацилкарнитина (рис. 9.19). Специфическая транслоказа проводит это вещество через внутреннюю мембрану митохондрий. На внутренней поверхности внутренней мембранны митохондрий **карнитинацилтрансфераза II** (КАТ II) расщепляет ацилкарнитин с помощью митохондриального HS-КоА. Ацил-КоА, освобождающийся в матрикс, участвует в реакциях  $\beta$ -окисления (рис. 9.20), а свободный карнитин той же транслоказой возвращается на наружную мембрану.



**Рис. 9.19. Реакция, катализируемая карнитинацилтрансферазой**

Интенсивность поступления ВЖК в матрикс митохондрий зависит от соотношения количества малонил-КоА/ацил-КоА. Чем выше в клетке концентрация малонил-КоА, тем ниже скорость переноса жирных кислот в матрикс митохондрий, так как малонил-КоА — аллостерический ингибитор КАТ1, а ацил-КоА — его активатор.

Попав в матрикс митохондрий, ацильный остаток в циклическом процессе с помощью совокупности ферментов окисляется по  $\beta$ -углеродному атому. Каждый цикл включает четыре последовательные реакции, в результате которых жирная кислота укорачивается на два углеродных атома, которые отщепляются в виде ацетил-КоА. Ацетил-КоА может вступать в цитратный цикл и окисляться до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , а укороченный ацильный остаток будет вовлекаться в следующий цикл  $\beta$ -окисления.

В результате  $\beta$ -окисления ВЖК полностью расщепляются до ацетил-КоА, и суммарное уравнение окисления, например пальмитиновой кислоты (С16) имеет следующий вид:

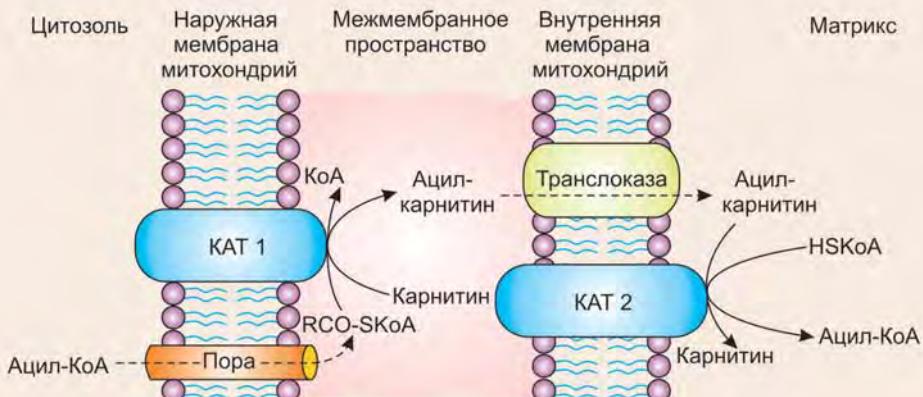
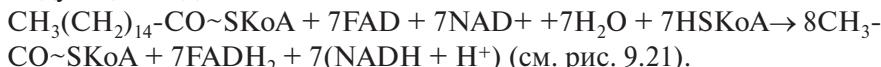


Рис. 9.20. Транспорт ацил-КоА в матрикс митохондрий

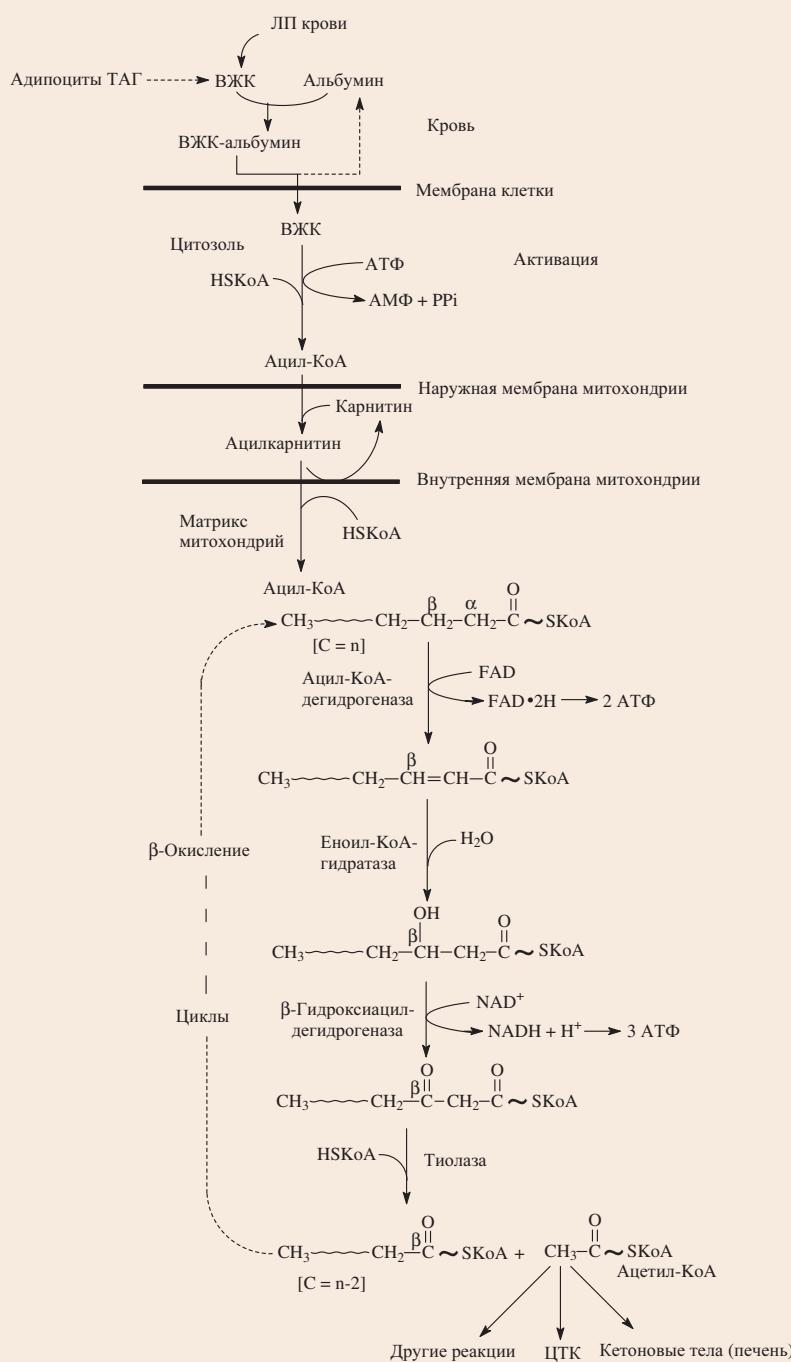


Рис. 9.21.  $\beta$  – Окисление ВЖК в митохондриях клеток

## Выход энергии при $\beta$ -окислении ВЖК

За один цикл  $\beta$ -окисления образуется 1 моль ацетил-КоА, окисление которого в цитратном цикле обеспечивает синтез 12 моль АТФ. Кроме того, в этом процессе восстанавливаются 1 моль  $\text{FADH}_2$  и 1 моль НАДН, окисление которых в дыхательной цепи дает 2 и 3 моль АТФ соответственно.

При окислении пальмитиновой кислоты проходит 7 циклов  $\beta$ -окисления и образуется 8 моль ацетил-КоА, 7 моль  $\text{FADH}_2$  и 7 моль  $\text{NADH}+\text{H}^+$ . Следовательно, выход АТФ составляет 35 АТФ при  $\beta$ -окислении и 96 АТФ в результате цитратного цикла, что в сумме дает 131 моль АТФ. Поскольку активация ВЖК требует затраты 1 АТФ, которая в ходе реакции распадается на АМФ и  $\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , то есть используются две макроэргические связи молекулы, то из 131 следует вычесть 2 моль АТФ. Общая формула для подсчета выхода АТФ при полном окислении насыщенных ВЖК записывается следующим образом:

$$[(n/2 - 1)x 5 + n/2 \times 12] - 2,$$

где  $n$  — число С атомов в молекуле ВЖК;

$n/2 - 1$  — число циклов  $\beta$ -окисления;

5 — выход АТФ в одном цикле  $\beta$ -окисления;

$n/2$  — число ацетильных остатков;

12 — выход АТФ при полном окислении ацетил-КоА в цитратном цикле до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

**Окисление ненасыщенных ВЖК** идет по пути  $\beta$ -окисления до получения жирной кислоты с  $-\text{HC=CH-}$ -связью в положении  $\text{C}_3-\text{C}_4$ . Дополнительные ферменты: **еноил-КоА-изомераза** и **трансфераза** перемещают двойную связь в положение 2–3 и цис-изомер превращают в транс-изомер. Далее  $\beta$ -окисление продолжается с участием ферментов, описанных ранее. При расчете выхода АТФ за счет окисления ненасыщенных ВЖК можно пользоваться формулой для расчета выхода энергии при окислении насыщенных ВЖК, вычитая 2АТФ на каждую двойную связь.

**Окисление ВЖК с нечетным числом углеродных атомов** протекает по механизму  $\beta$ -окисления с образованием определенного количества ацетил-КоА и молекулы пропионил-КоА. В метаболизме последнего участвуют дополнительные ферменты: **пропионил-КоА-карбоксилаза** и **метилмалонил-КоА-мутаза**, работающие с участием биотина и витамина  $\text{B}_{12}$ . В результате пропионил-КоА превращается в сукцинил-КоА, который может поступать в цитратный цикл или участвовать в синтезе гема (рис. 9.22).

**Нарушения процесса  $\beta$ -окисления.** Встречаются патологии, связанные со снижением транспорта ВЖК в матрикс митохондрий. Они могут быть вызваны:

- **дефицитом карнитина** в результате снижения его синтеза, потерями этого вещества при гемодиализе или за счет экскреции с кетоновыми телами;

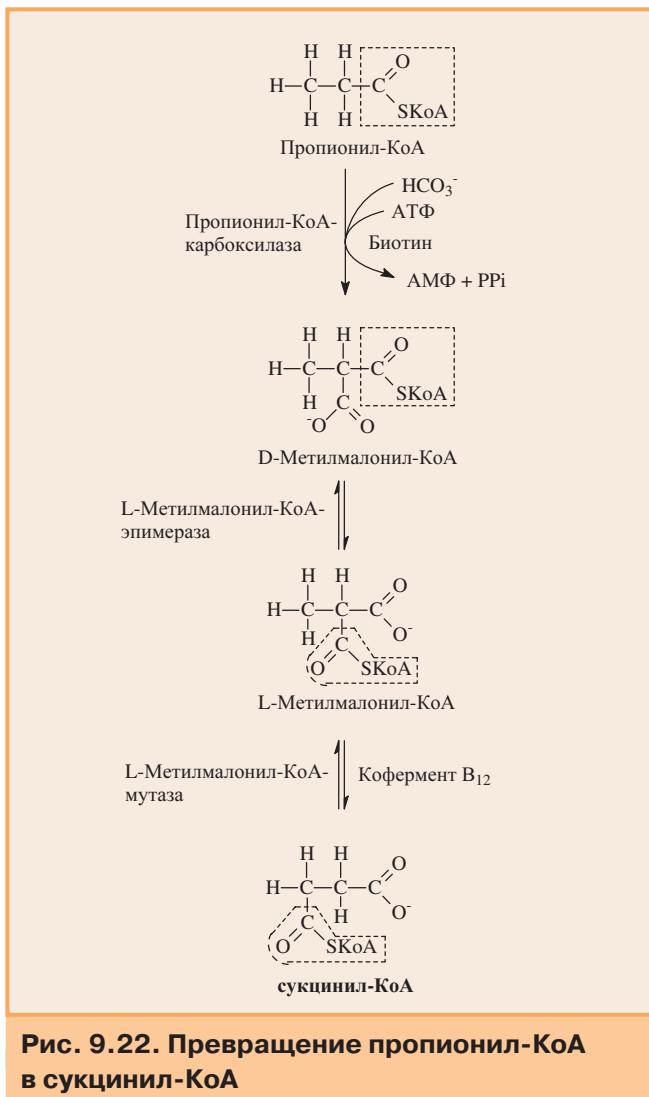


Рис. 9.22. Превращение пропионил-КоА в сукцинил-КоА

— низкой активностью КАТ 1 фермента, связанной с дефектом в структуре гена этого фермента или его ингибирированием некоторыми лекарственными препаратами, например сульфонилмочевиной, которая используется для лечения сахарного диабета.

Среди ферментов  $\beta$ -окисления ацил-КоА-дегидрогеназа представлена несколькими видами, специфичными к длине углеводородного радикала жирной кислоты. Достаточно часто встречается наследственная болезнь, вызванная дефектами в структуре гена ацил-КоА-дегидрогеназы, окисляющей жирные

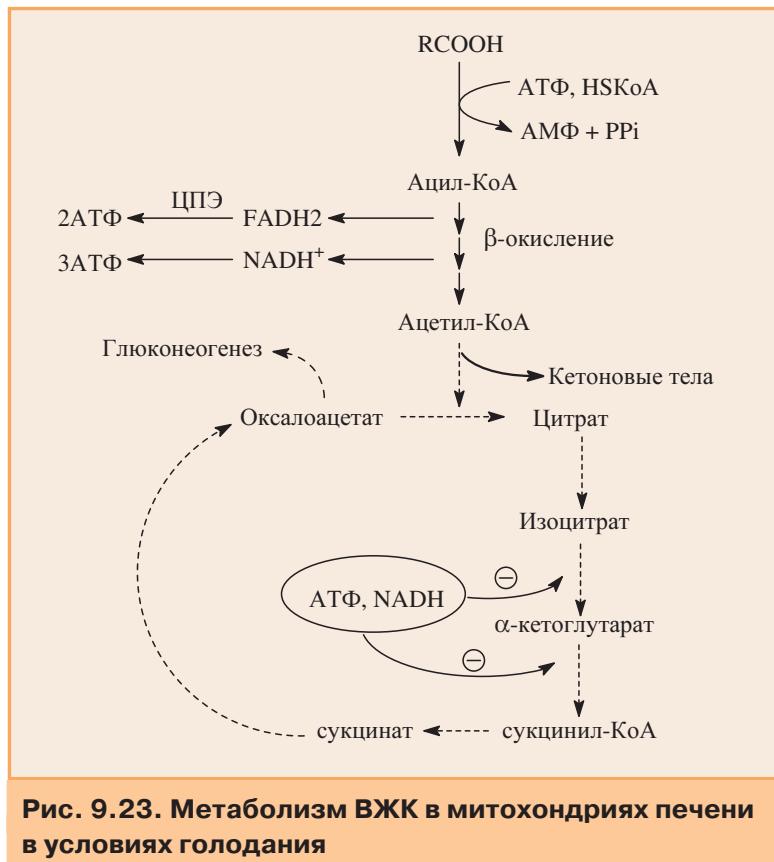
кислоты со средним числом углеродных атомов —  $C_4$  —  $C_{12}$ . Установлено, что смерть каждого десятого новорожденного происходит в результате недостаточности этого фермента. В жирах молока содержится много среднепепечных жирных кислот, которые не могут окисляться у таких детей. Единственным источником энергии для таких больных становятся углеводы, а при сравнительно продолжительных интервалах между кормлениями развивается тяжелая гипогликемия, сопровождающаяся потерей сознания, а иногда и гибелью ребенка.

## 9.8. Синтез и использование кетоновых тел

В постабсорбтивный период и при голодании мобилизация ТАГ сопровождается повышением концентрации ВЖК в сыворотке крови, которые окисляются многими тканями (скелетными мышцами, сердцем и печенью) для получения энергии. Однако мозг и нервная ткань их не используют, так как ВЖК не способны проходить гематоэнцефалический барьер. В этих условиях в печени активно идет  $\beta$ -окисление жирных кислот с образованием восстановленных коферментов  $FADH_2$  и  $NADH + H^+$  и ацетил-КоА. Восстановленные коферменты поступают в ЦПЭ и, окисляясь, используются на синтез АТФ, обеспечивающий энергетические нужды органа, а ацетил-КоА в основном идет на синтез **кетоновых тел** (рис. 9.23, 24). К кетоновым телам относят: **ацетоацетат**,  **$\beta$ -гидроксибутират** и **ацетон**. Будучи водорастворимыми веществами они с кровью поступают в мозг, нервную ткань и другие ткани и, окисляясь, снабжают их энергией в условиях голодания.

Синтез кетоновых тел осуществляется только в митохондриях гепатоцитов с использованием ацетил-КоА, образующегося при  $\beta$ -окислении ВЖК. Слабое окисление ацетильного остатка в цитратном цикле объясняется тем, что  $\beta$  — окисление дает много АТФ и  $NADH + H^+$ , которые ингибируют регуляторные реакции цитратного цикла (изоцитратдегидрогеназу и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс). Оксалоацетат — исходный субстрат для синтеза цитрата, в этих условиях поступает из митохондрий в цитозоль на синтез глюкозы в процессе глюконеогенеза.

Когда концентрация ацетил-КоА в матриксе митохондрий становится высокой, **тиолаза** катализирует обращение последней реакции  $\beta$ -окисления и образование ацетоацетил-КоА из 2 молекул ацетил-КоА. Ацетоацетил-КоА взаимодействует еще с одной молекулой ацетил-КоА и образуется **3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА** (ГМГ-КоА) в реакции, катализируемой **ГМГ-КоА-синтазой**. Затем **ГМГ-КоА-лиаза** расщепляет ГМГ-КоА на ацетоацетат и ацетил-КоА. Ацетоацетат может выходить из митохондрий в кровь или вос-

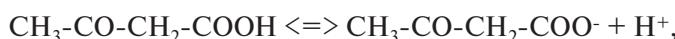


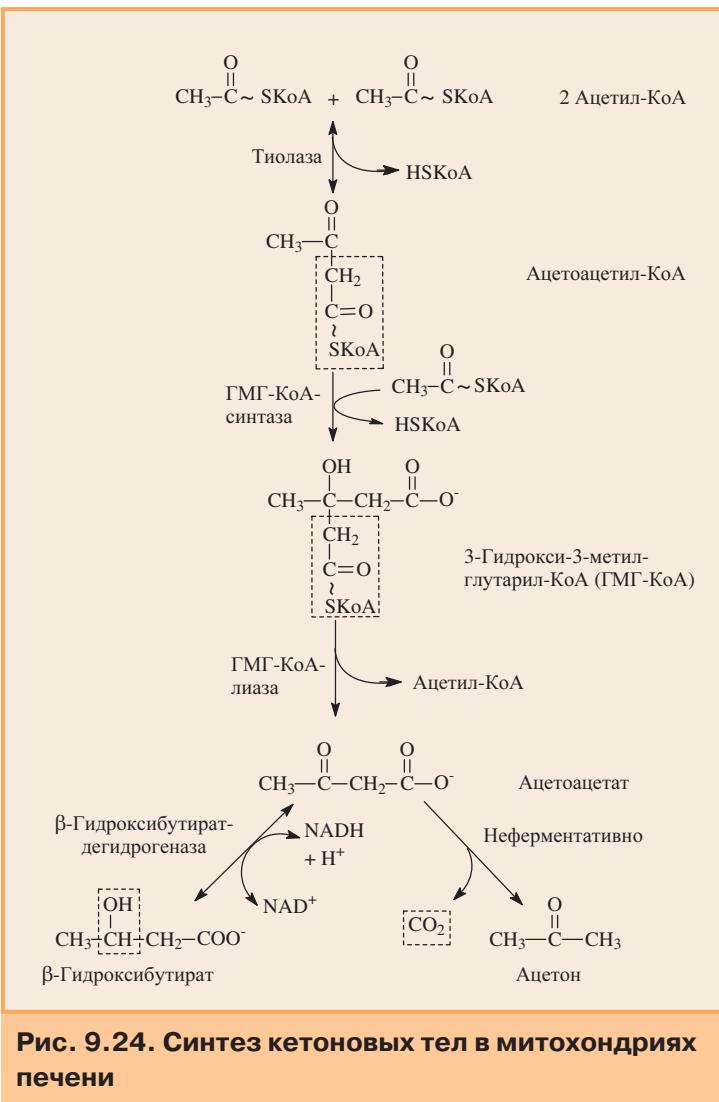
**Рис. 9.23. Метаболизм ВЖК в митохондриях печени в условиях голодания**

становившаяся  **$\beta$ -гидроксибутиратдегидрогеназой** в  $\beta$ -гидроксибутират, который также уходит из клеток в кровь. Эта реакция легко обратима и относительные количества образующихся ацетоацетата и  $\beta$ -гидроксибутирата зависят от соотношения NADH/NAD в матриксе митохондрий. В норме в сыворотке крови соотношение  $\beta$ -гидроксибутирата к ацетоацетату приблизительно равно 1:1.

При более чем 3-дневном голодании и сахарном диабете ацетоацетат способен неферментативно декарбоксилироваться с образованием ацетона и  $\text{CO}_2$ .

Концентрация кетоновых тел повышается после ночного голодания до 1–2 мг/дл, после недельного голодания она составляет 20–30 мг/дл, а при тяжелых формах сахарного диабета может достигать 300–400 мг/дл. Поскольку кетоновые тела являются органическими кислотами ( $\text{pK} \sim 3,5$ ), способными к диссоциации:





**Рис. 9.24. Синтез кетоновых тел в митохондриях печени**

их накопление может приводить к **кетоацидозу** и сопровождаться уменьшением щелочного резерва крови. Опасная ситуация может возникать при сахарном диабете, когда отмечается высокое содержание кетоновых тел, способное вызывать снижение pH крови (некомпенсированный ацидоз).

Кетоновые тела используются :

- в период голодания мышцами, почками, кишечником, мозгом и нервной тканью;
- при длительной физической работе мышечной тканью;

— при сахарном диабете всеми инсулин зависимыми тканями, за исключением печени.

Окисление кетоновых тел — аэробный процесс, происходящий в матриксе митохондрий при участии ферментов, указанных на рис. 9.25.

$\beta$ -Гидроксибутират окисляется  $\beta$ -гидроксибутиратдегидрогеназой до ацетоацетата, который активируется, получая остаток —КоА от сукцинил-КоА-промежуточного продукта цитратного цикла. Затем ацетоацетил-КоА расщепляется на две молекулы ацетил-КоА, которые вовлекаются в цитратный цикл и полностью окисляются до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Печень не способна использовать кетоновые тела, поскольку лишена фермента — **сукцинил-КоА-ацетоацетат-КоА-трансферазы**, катализирующего активацию ацетоацетата.

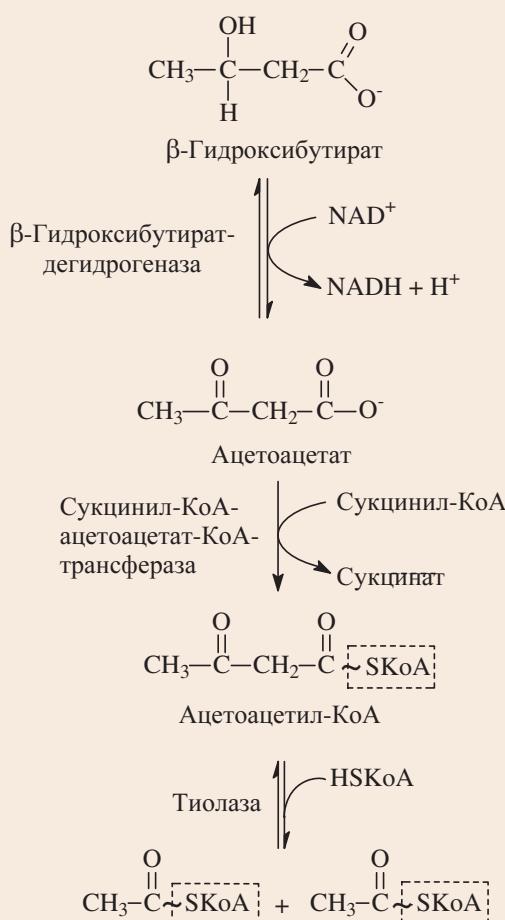


Рис. 9.25. Окисление кетоновых тел

Кетоновые тела относятся к энергоносителям: при окислении ацетоацетата выход энергии равен 23 молям АТФ на 1 моль субстрата ( $2\text{ ацетил-КоА} \rightarrow 24\text{ АТФ} - 1\text{ АТФ}$  на активацию) и 26 моль АТФ на 1 моль  $\beta$ -гидроксибутиратса за счет участия в процессе окисления  $\beta$ -гидроксибутиратдегидрогеназы.

## 9.9. Метаболизм эйкозаноидов

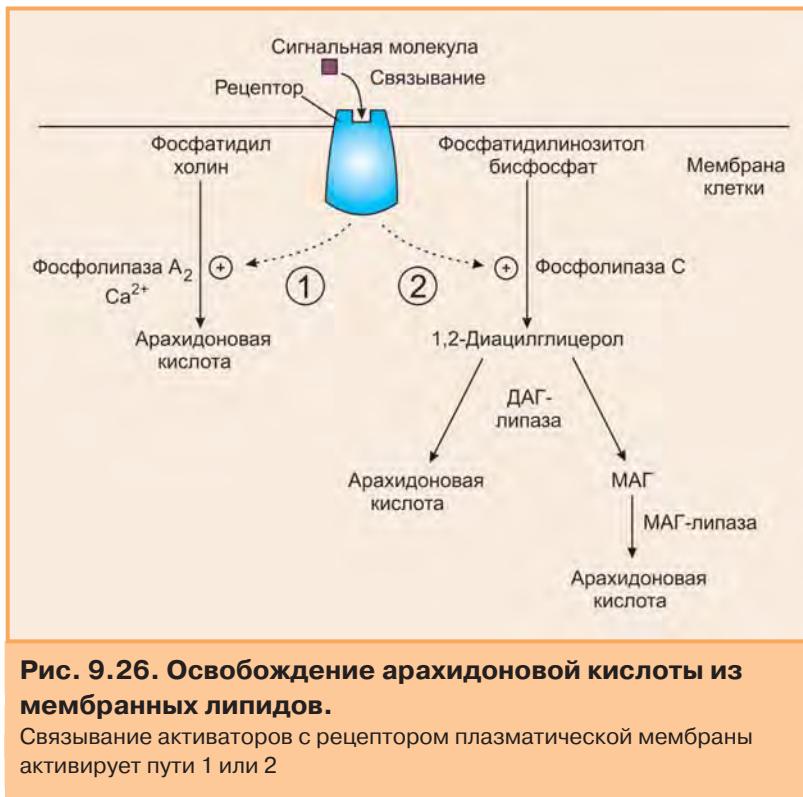
**Эйкозаноиды** — это группа сигнальных молекул местного действия, которые синтезируются практически во всех дифференцированных клетках из полиненасыщенных жирных кислот с 20 углеродными атомами (eicosa в переводе с греческого означает 20). Они имеют очень короткий полупериод жизни и действуют на продуцирующую их клетку по аутокринному, а на соседние клетки по паракринному механизму. Эйкозаноиды участвуют во многих процессах в организме: в воспалительных реакциях после повреждения ткани или инфекционного поражения, регулируют тонус гладкомышечных клеток, секрецию воды и натрия, бронхоконстрикцию и дилатацию, давление крови, тромбообразование и ряд других функций.

Основным субстратом для синтеза эйкозаноидов является арахидоновая ( $\omega$ -6-эйкозатетраеновая) кислота, содержащая 4 двойные связи при углеродных атомах ( $\Delta 5, 8, 11, 14$ ). Она может поступать с пищей или синтезироваться из линолевой кислоты. В небольших количествах для синтеза эйкозаноидов могут использоваться  $\omega$ -6-эйкозатриеновая кислота с тремя двойными связями ( $\Delta 5, 8, 11$ ) и  $\omega$ -3-эйкозапентаеновая кислота, в составе которой имеется 5 двойных связей в положениях  $\Delta 5, 8, 11, 14, 17$ . Обе минорные эйкозановые кислоты либо поступают с пищей, либо синтезируются из олеиновой и линоленовой кислот соответственно.

Полиненасыщенные жирные кислоты первоначально включаются в состав мембранных фосфолипидов, а затем освобождаются из них под действием фосфолипазы A<sub>2</sub> или фосфолипазы C, которые активируются при поступлении соответствующего сигнала на receptor плазматической мембраны (рис. 9.26).

В разных тканях арахидоновая и другие эйкозановые кислоты могут использоваться по трем основным направлениям:

- циклооксигеназный путь ведет к образованию простагландинов и тромбоксанов;
- липоксигеназа превращает арахидоновую кислоту в лейкотриены, липоксины и гидроксиэйкозатетраеноаты (ГЭТЕ);
- система окисления с участием цитохрома P450 ответственна за синтез эпоксидов.



**Рис. 9.26. Освобождение арахидоновой кислоты из мембранных липидов.**

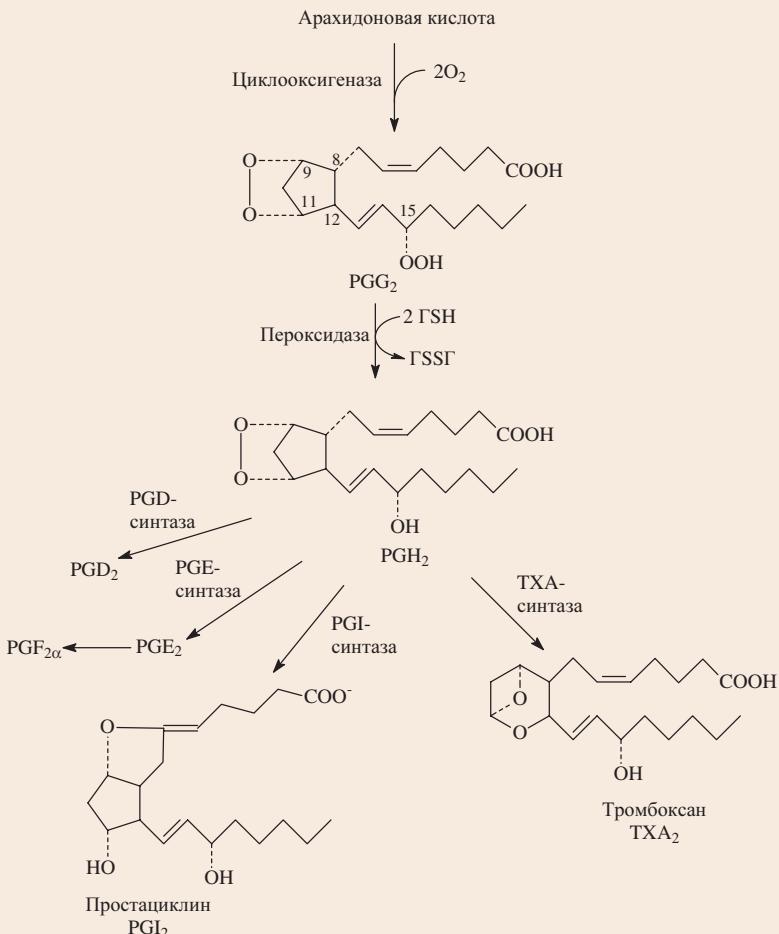
Связывание активаторов с рецептором плазматической мембраны активирует пути 1 или 2

Простагландины, образующиеся под действием циклооксигеназы и пероксидазы, содержат 5-членное кольцо, в состав которого входят атомы углерода с C<sub>8</sub> по C<sub>12</sub> эйкозановой кислоты, гидроксильную группу у C<sub>15</sub> и от одной до трех двойных связей в боковых цепях (рис. 9.27). В C<sub>9</sub>- и C<sub>11</sub>-позициях кольца находятся заместители — это обычно кето- или гидроксильные группы.

Номенклатура простагландинов включает следующие обозначения: PG от слова простагландин, следующие заглавные буквы A, E, D и т.д. указывают на характер заместителей в 5-членном кольце, а нижний индекс — число двойных связей в боковых радикалах. Количество двойных связей зависит от типа эйкозановой кислоты, которая была субстратом для синтеза простагландинов. Эйкозатриеновая кислота образует семейство PG с 1 двойной связью между C<sub>13</sub> и C<sub>14</sub> (например, PGE<sub>1</sub>), арахидоновая — семейство простагландинов с 2 двойными связями в положениях C<sub>5</sub> = C<sub>6</sub> и C<sub>13</sub> = C<sub>14</sub> (PGE<sub>2</sub>), а эйкозапентаеновая — семейство с 3 двойными связями в участках C<sub>5</sub> = C<sub>6</sub>, C<sub>13</sub> = C<sub>14</sub> и C<sub>17</sub> = C<sub>18</sub> боковых цепей (PGE<sub>3</sub>).

Основным общим предшественником простагландинов и тромбоксанов из семейства арахидоновой кислоты является PGH<sub>2</sub>, который синтезируется во

всех тканях. Дальнейшие превращения этого соединения тканеспецифичны и зависят от типа клеток. Так, в гладкой мускулатуре PGH<sub>2</sub> может превращаться в PGE<sub>2</sub> или PGD<sub>2</sub>, а в тромбоцитах — под действием TXA-синтазы в тромбоксан TXA<sub>2</sub>. Тромбоксаны в отличие от простагландинов образуют не 5-, а 6-членное кольцо, в состав которого входит атом кислорода. Дополнительный атом кислорода присоединен к C<sub>9</sub>- и C<sub>11</sub>-атомам 6-членного кольца. Будучи физиологиче-



**Рис. 9.27. Пути использования арахидоновой кислоты на синтез эйкозаноидов.**

PG от английского слова prostaglandins — простагландины, следующие за ними заглавные буквы A, H, E, D, F и т.д. указывают характер заместителей в 5-членном кольце простагландинов, нижний индекс — число двойных связей в боковых радикалах; TX от англ. — тромбоксаны

ски очень активными веществами, тромбоксаны стимулируют агрегацию тромбоцитов, обнаруживают сосудосуживающее и бронхоконстрикторное действие.

В клетках эндотелия сосудов при участии PGI-синтазы  $\text{PGH}_2$  превращается в PG I<sub>2</sub> или простациклин, являющийся антагонистом TXA<sub>2</sub>, он препятствует агрегации тромбоцитов и расширяет сосуды.

Другой путь превращений арахидоновой кислоты катализируют **липоксигеназы** — группа ферментов, присоединяющих молекулу кислорода к углеродному атому, принадлежащему двойной связи. В результате такой оксигенации двойная связь перемещается на один углеродный атом от пероксидной группы и ее конформация изменяется с цис- на трансформу. Затем нестабильная пероксидная группа может:

- восстанавливаться до —OH группы и образовывать группу 5-, 12- и 15-гидроксиэйказатетраеновых (ГЭТЕ) кислот;
- превращаться в эпоксиды;
- служить субстратом для получения лейкотриенов — соединений, содержащих последовательность из 3 сопряженных двойных связей (отсюда название этой группы), хотя общее количество двойных связей может быть больше 3.

Лейкотриены участвуют в аллергических реакциях, липоксины вызывают хемотаксис и стимулируют продукцию супероксидных ионов в лейкоцитах, которые необходимы для разрушения частиц, попадающих в клетки в результате фагоцитоза.

Под влиянием монооксигеназ, работающих с участием цитохромов Р 450, образуются эпоксиды, некоторые виды ГЭТЕ, оказывающие воздействие на офтальмологическую, сосудистую, эндокринную и почечную системы организма. Некоторые из них ингибируют  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  АТФазу.

Все виды эйказаноидов образуются в очень малых количествах и имеют короткий полупериод жизни, от нескольких секунд до нескольких минут. В разных тканях эйказаноиды обладают разными, а иногда прямо противоположными свойствами (табл. 9.2).

Эйказаноиды действуют на клетки-мишени по ауто- или паракринному механизму через специфические мембранные рецепторы. Присоединение эйказаноида к рецептору включает аденилатциклазную или инозитолфосфатную систему передачи сигнала, вызывая повышение внутриклеточной концентрации вторичных вестников сигнала: цАМФ, цГМФ, или ИФЗ и  $\text{Ca}^{2+}$ .

Одним из центральных эффектов эйказаноидов является участие в развитии воспалительной реакции, которая иногда становится продолжительной и приносит физические страдания людям. Для уменьшения воспаления используют ингибиторы синтеза простагландинов — **нестероидные противовоспалительные соединения (НПВС)**: аспирин, ацетаминофен, индометацин, диклофенак и др. Все препараты этой группы ингибируют циклооксигеназу: аспирин — необра-

тимо, и поэтому для восстановления синтеза простагландинов требуется синтез новых молекул фермента (~ 48 часов), а ипопрофен, индометацин, фенилбутазон — обратимо по конкурентному типу. НПВС не действуют на синтез лейкотриенов, образование которых может увеличиться при ингибиции циклоксигеназного пути использования арахидоновой кислоты, поэтому в ряде случаев использование этих препаратов может вызвать приступ бронхиальной астмы («аспириновую» астму).

Таблица 9.2

| Биологические функции эйкозаноидов                                     |                                                                                 |                                                                                                                      |
|------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Эйкозаноиды                                                            | Место синтеза                                                                   | Основная биологическая активность                                                                                    |
| PGE <sub>2</sub>                                                       | В большинстве тканей (сердце, почки, селезенка)                                 | Вазодилатация, стимуляция родовой деятельности, агрегация тромбоцитов                                                |
| PGF <sub>2α</sub>                                                      | Большинство тканей                                                              | Сужение сосудов, бронхо- и вазоконстрикция, сокращение гладкомышечных клеток                                         |
| PGI <sub>2</sub>                                                       | Эндотелий сосудов сердца                                                        | Расширяет сосуды, предотвращает агрегацию тромбоцитов, в клетках ↑ [цАМФ]                                            |
| TXA <sub>2</sub>                                                       | Тромбоциты                                                                      | Стимулирует агрегацию тромбоцитов, суживает сосуды и бронхи, в клетках ↓ [цАМФ]                                      |
| LTB <sub>4</sub>                                                       | Моноциты, базофилы, нейтрофилы, тучные клетки, эйзинофилы, эпителиальные клетки | Индуцирует хемотаксис и агрегацию лейкоцитов, увеличивает проницаемость сосудов                                      |
| Лейкотриены:<br>LTC <sub>4</sub> , LTD <sub>4</sub> , LTE <sub>4</sub> | Лейкоциты, макрофаги                                                            | Расширяют сосуды и увеличивают их проницаемость, являются компонентами «медленно реагирующей» субстанции анафилаксии |

Широкое применение в качестве противовоспалительных препаратов нашли кортизол и его синтетические аналоги. В тканях они индуцируют синтез группы белков **липокортины**, которые ингибирывают фосфолипазу A<sub>2</sub> и снижают скорость отщепления полиеновых кислот из C<sub>2</sub>-положения фосфолипидов плазматической мембранны. В отсутствие субстратов синтез всех типов эйкозаноидов снижается.

## 9.10. Обмен холестерола

Холестерол — основной стероид организма животных. У взрослого человека содержание холестерола составляет 140—150 г. Около 93% стероида входит в состав мембран и 7% находится в жидкостях организма. Холестерол увеличивает микровязкость мембран и снижает их проницаемость для  $H_2O$  и водорастворимых веществ. В крови он представлен в виде свободного холестерола, входящего в оболочку липопротеинов, и его эфиров, которые вместе с ТАГ составляют внутреннее содержимое этих частиц. Содержание холестерола и его эфиров в составе хиломикронов составляет ~ 5 %, в ЛПОНП ~10%, в ЛПНП ~ 50 — 60% и в ЛПВП ~ 20—30 %. Концентрация холестерола в сыворотке крови взрослого человека в норме равна ~ 200 мг/дл или 5,2 ммоль/л, что соответствует холестериновому равновесию, когда количество холестерола, поступающего в организм, равно количеству холестерола выводимому из организма. Если концентрация холестерола в крови выше нормы, то это указывает на задержку его в организме и является фактором риска развития атеросклероза.

Холестерол является предшественником всех стероидов животного организма:

- желчных кислот, содержание которых у взрослого человека составляет около 5 г;
- стероидных гормонов: кортикостероидов, образующихся в корковом слое надпочечников, андрогенов — в семенниках и эстрогенов — в яичниках, синтез общего количества которых не превышает 40 мг/с (с — сутки);
- витамина  $D_3$ , синтезирующегося в коже под действием УФО в количестве 10 мг/с.

Холестериновое равновесие поддерживается благодаря тому, что с одной стороны холестерол поступает с пищей (~ 0,3 — 0,5 г/с) и синтезируется в печени или других тканях (~ 0,5 г/с), а с другой — выводится с калом в виде желчных кислот, холестерола желчи, продуктов катаболизма стероидных гормонов, с кожным салом, в составе мембран слущенного эпителия (~ 1,0 г/с).

### Путь поступления экзогенного холестерола

Холестерол содержится только в жирах животного происхождения в свободном виде и в виде эфиров. В растительных маслах его нет. Усвоение экзогенного холестерола происходит аналогично усвоению других липидов пищи через:

- эмульгирование пищи мицеллами желчи;
- гидролиз эфиров холестерола холестеролэстеразой панкреатического сока и кишечника;
- всасывание продуктов гидролиза в составе смешанных мицелл.

В энteroцитах часть холестерола снова этерифицируется. Этот процесс включает две стадии: активацию жирной кислоты под действием ацил-КоА-сингтетазы

и перенос ацильного остатка с ацил-КоА на НО-группу холестерола в реакции, катализируемой **ацил-холестерол-ацилтрансферазой (АХАТ)** (рис. 9.28).

В этерификации, как правило, участвуют моно- или полиненасыщенные высшие жирные кислоты. Холестерол и его эфиры включаются в состав хиломикронов: эфиры холестерола — в ядро частиц, а свободный холестерол — в мембрану.

ХМ из энтероцитов через лимфу поступают в кровь, где идет созревание частиц за счет контакта и обмена белками с ЛПВП. ЛПВП передают на ХМ Апо С<sub>II</sub> и Апо Е, а ХМ на ЛПВП — АпоA<sub>1</sub> и АпоA<sub>2</sub>. Апо С<sub>II</sub> активирует ЛП-липазу, которая гидролизует ТАГ этих частиц. Образуются ХМост, они улавливаются из кровяного русла печенью по механизму эндоцитоза с помощью рецепторов к Апо Е. Эндосомы сливаются с лизосомами, гидролитические ферменты которых расщепляют все компоненты ХМост кроме холестерола. Последний включается в общий фонд этого стероида в печени, снижая при этом синтез эндогенного холестерола и ЛНП-рецепторов.



**Рис. 9.28. Образование эфиров холестерола:**

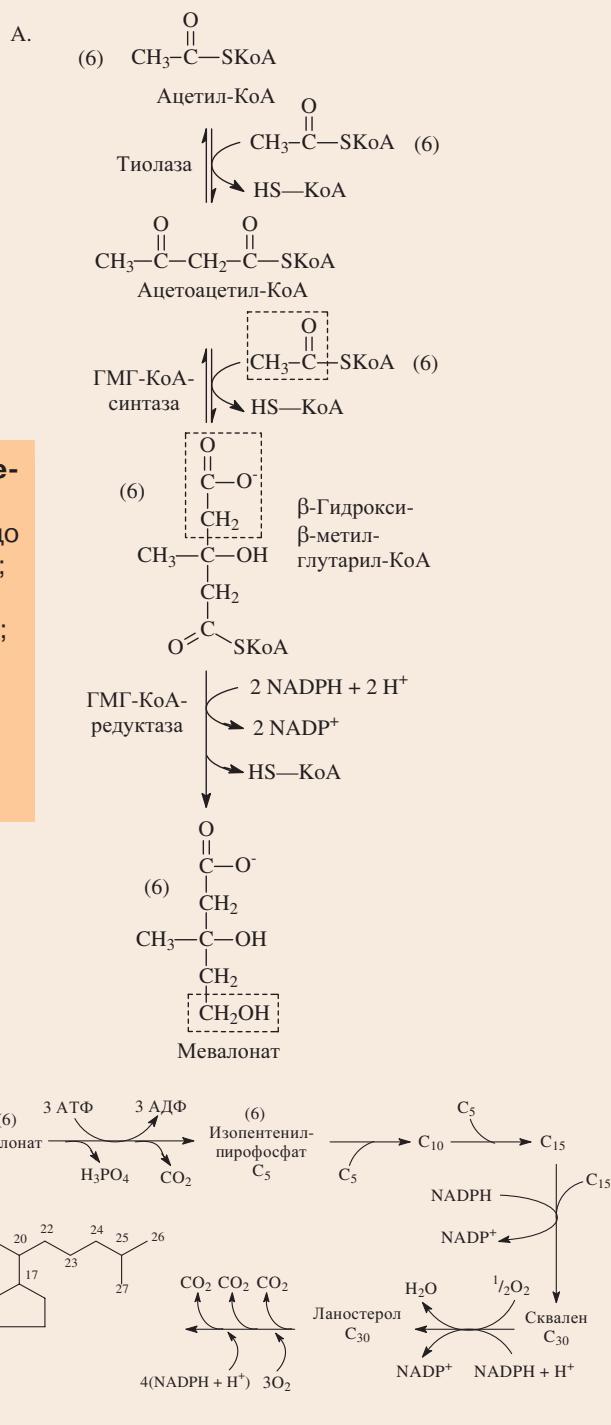
АХАТ — ацилхолестеролацилтрансфераза

### Синтез холестерола de novo

Ферменты синтеза холестерола имеются практически во всех клетках организма, но поскольку его концентрация в крови достаточно высока, а он способен репрессировать свой собственный синтез, то с заметной скоростью образование холестерола идет лишь в печени (~ 80%), слизистой кишечника (~ 10%), коре надпочечников, яичниках, семенниках и коже (~ 10%). В абсорбтивный период субстрат синтеза ацетил-КоА поступает из митохондрий в форме цитрата, когда в тканях образуется много АТФ, NADPH и ацетил-КоА в результате окисления глюкозы и жирных кислот. Первые стадии синтеза идут в цитозоле клеток, а более поздние на мембранах ЭПР (рис. 9.29).

На первых стадиях процесса 18 молекул ацетил-КоА участвуют в синтезе 6 молекул ГМГ-КоА, в реакциях, сходных с реакциями синтеза кетоновых тел. Далее фермент ЭПР **ГМГ-КоА-редуктаза** восстанавливает ГМГ-КоА в **мевалоновую**

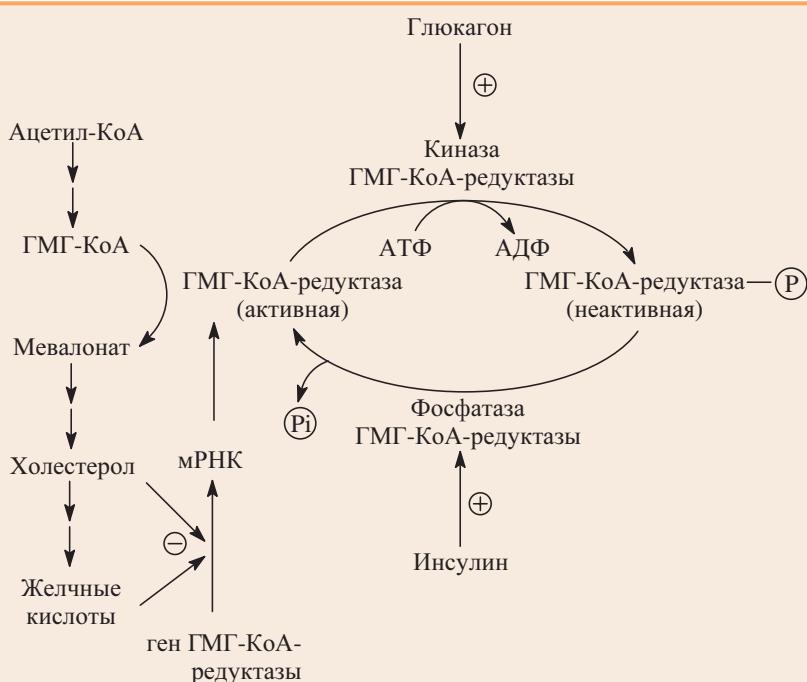
**Рис. 9.29. Синтез холестерола:**  
 А — реакции процесса до образования мевалоната;  
 Б — превращение мевалоната в холестерол;  
 $C_{10}$  — геранилпирофосфат;  
 $C_{15}$  — фарнезилпирофосфат



кислоту с затратой 2 молекул NADPH на каждый остаток ГМГ-КоА. Молекулы мевалоната фосфорилируются с помощью АТФ, декарбоксилируются и образуют 6 пятиуглеродных производных изопрена — **изопентенилпироfosфаты**. При последовательной конденсации этих соединений возникает симметричная линейная 30-углеродная молекула **сквалена**, которая через ряд стадий приобретает тетрациклическую структуру **ланостерола**. Дальнейшие превращения ланостерола сопровождаются потерей трех метильных групп в виде  $\text{CO}_2$  и образованием холестерола, содержащего 27 углеродных атомов, из которых 8 образуют углеводородную боковую цепь, два входят в метильные группы, а остальные 17 образуют циклопентантпергидрофенантреновую структуру.

**Ключевой регуляторный фермент — ГМГ-КоА-редуктаза**, активность которого в печени регулируется троекратным способом (рис. 9.30):

- на уровне транскрипции гена ГМГ-КоА-редуктазы. Корепрессорами процесса, снижающими скорость синтеза фермента, являются холестерол, желчные кислоты и кортикостероидные гормоны, а индукторами — инсулин и тиреоидные гормоны —  $T_3$  и  $T_4$ ;
- путем фосфорилирования и дефосфорилирования, которое также регулируется гормонами. Дефосфорилирование стимулирует инсулин, который



**Рис. 9.30. Регуляция активности ГМГ-КоА-редуктазы в печени**

за счет активации протеинфосфатазы переводит фермент в дефосфорилированную активную форму, а глюкагон через аденилатциклазную систему обеспечивает механизм его фосфорилирования и инактивации;

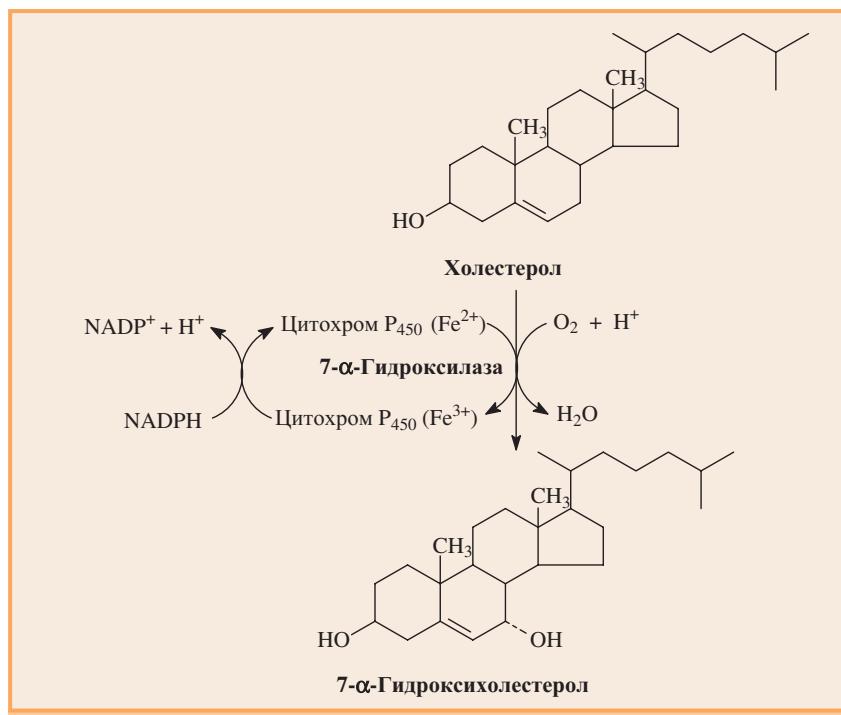
- уменьшением количества фермента за счет протеолиза молекул, который стимулируют холестерол и желчные кислоты.

Часть вновь синтезированного холестерола этерифицируется с образованием эфиров. Эту реакцию, как и в энteroцитах, катализирует АХАТ, присоединяя к холестеролу остатки линолевой или олеиновой кислот. Эфиры холестерола (ЭХс) — гидрофобны, образуют в цитозоле капли, которые рассматривают как способ запасания стероида в клетках. Особенно интенсивно синтез и гидролиз эфиров холестерола протекают в коре надпочечников — месте синтеза стероидных гормонов.

Печень — основной поставщик холестерола другим органам и тканям.

### Синтез и функции желчных кислот

В печени ежесуточно около 0,5 г холестерола используется на синтез желчных кислот, которые благодаря амфи菲尔ности молекул являются высокоеффективными детергентами. Синтез начинается с введения  $\alpha$ -ОН-группы в 7 положение В-кольца холестерола. Эта реакция — скорость лимитирующая, регуляторная, катализируется ее ферментом **7- $\alpha$ -гидроксилаза** (рис.9.31).



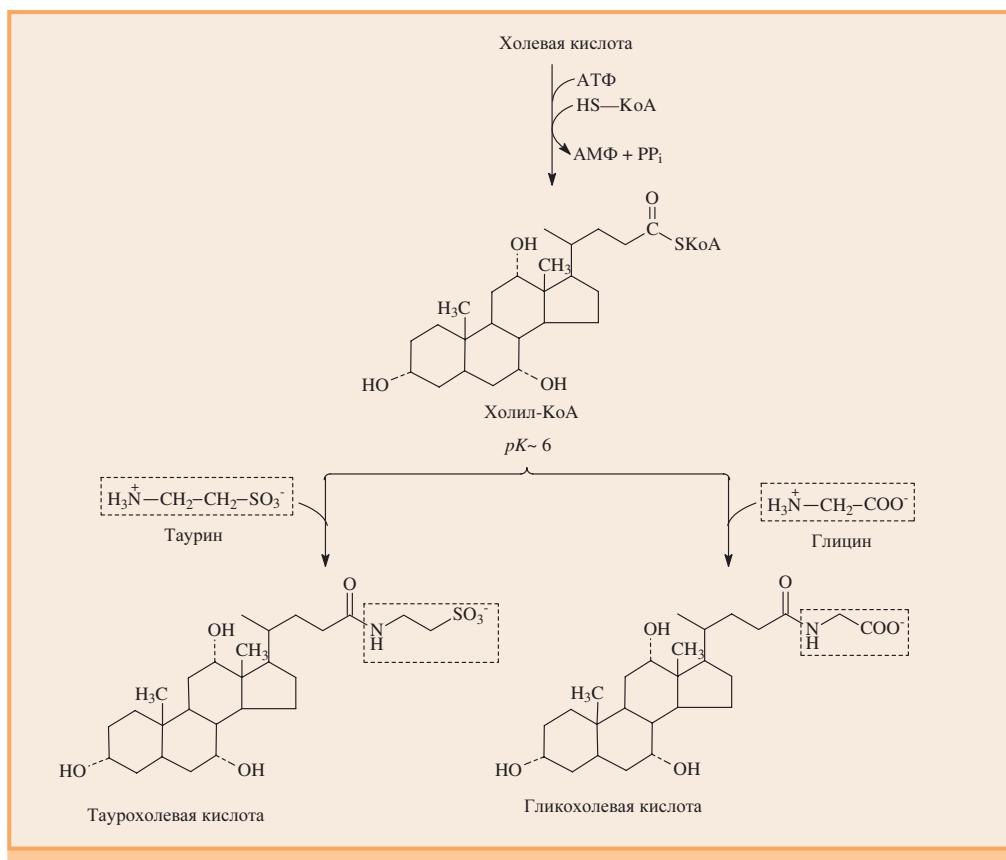
**Рис. 9.31. Реакция образования 7- $\alpha$ -холестерола**

Затем происходит восстановление двойной связи В-кольца и часть молекул подвергается дополнительному гидроксилированию в 12 положение полициклического. Боковой радикал холестерола окисляется и укорачивается, превращаясь в 5-членный остаток с COOH-группой на конце. Это обеспечивает получение двух видов соединений, один из которых содержит гидроксильные группы в 3,7,12 положениях и представляет собой производные **холевой кислоты**, а другой имеет OH-группы в 3 и 7 положениях и является производным **хенодезоксихолевой кислоты**.

Активность 7- $\alpha$ -гидроксилазы регулируется:

- фосфорилированием и дефосфорилированием, фермент активен в фосфорилированной форме при снижении индекса инсулин / глюкагон;
- изменением количества фермента, экспрессию гена стимулируют холестерол и тиреоидные гормоны, а репрессируют желчные кислоты и эстрогены.

Желчные кислоты образуют производные с **глицином** или **таурином**. Конъюгация усиливает амфи菲尔ность молекул и их эмульгирующие свойства (рис. 9.32).



**Рис. 9.32. Конъюгация желчных кислот**

Свободные и парные или конъюгированные желчные кислоты, синтезирующиеся печенью, называют **первичными желчными кислотами**.

Из печени желчные кислоты поступают в желчные протоки, в составе желчи хранятся в желчном пузыре и изливаются в кишечник в процессе пищеварения. Они участвуют в эмульгировании пищевых жиров и всасывании продуктов переваривания липидов.

Под действием ферментов кишечной микрофлоры первичные желчные кислоты деконъюгируются и отщепляют OH-группу из 7 положения. Таким образом возникают **вторичные желчные кислоты**: из холевой — **дезоксихолевая**, а из хенодезоксихолевой — **литохолевая**.

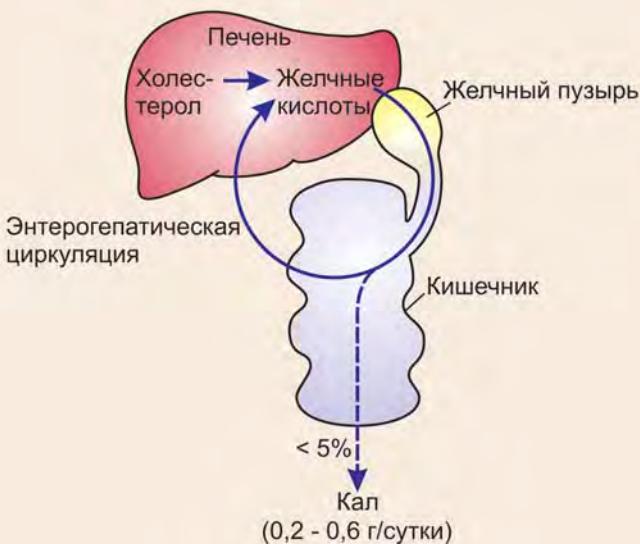
Более 95% желчных кислот всасывается из просвета кишечника, кровью воротной вены доставляется в печень и снова используется на образование желчи, участвуя в **энтерогепатической циркуляции**. Общее количество желчных кислот в организме составляет 2–4 г, за сутки они проходят энтерогепатический круг 6–8 раз. С калом в день выводится 0,2–0,6 г желчных кислот и примерно 0,5–0,6 г холестерола (рис. 9.33).

Снижение синтеза желчных кислот или увеличение образования холестерола в организме может приводить к относительному избытку холестерола в составе мицелл желчи и стимулировать образование холестериновых камней в желчном пузыре и протоках, т.е. к развитию **желчнокаменной болезни**.

### Транспорт холестерола по крови в составе липопротеинов

В транспорте холестерола и его эфиров по крови участвуют все липопротеины. Так, хиломикроны переносят холестерол из кишечника через кровь в печень в составе ХМост. В печени холестерол вместе с эндогенными жирами и фосфолипидами упаковывается в ЛПОНП и секретируется в кровь. В кровотоке ЛПОНП незрелые получают от ЛПВП мембранные белки АпоC<sub>II</sub> и АпоE и становятся зрелыми, т.е. способными взаимодействовать с ЛП-липазой, которая гидролизует ТАГ в составе ЛПОНП до ВЖК и глицерола. Частицы, теряя жиры, уменьшаются в размере, но возрастают по плотности и превращаются сначала в ЛППП, а затем в ЛПНП.

ЛПНП — долгоживущие частицы и, контактируя в крови с липопротеинами, возвращают АпоC<sub>II</sub>, а иногда и АпоE на ЛПВП. Основными компонентами этих частиц являются холестерол и его эфиры (~ 60%), которые ЛПНП доставляют в разные органы и ткани. Поступление ЛПНП в ткани осуществляется в помощь **ЛНП-рецепторов**, количество которых на клетку может варьировать от 15 000 до 70 000. Рецепторы располагаются в области белка **клатрина**, выстилающего специальные участки клеточной мембраны, называемые **«окаймленными ямками»**. При присоединении ЛПНП к рецептору окаймленная ямка втягивается в клетку, образуя эндосому. За счет кислой среды эндосомы комплекс



**Рис. 9.33. Энтерогепатическая циркуляция желчных кислот**

ЛНП—рецептор диссоциирует, и рецептор возвращается в мембрану. Эндосома сливаются с лизосомой, содержимое ЛПНП расщепляется гидролитическими ферментами, а холестерол поступает в общий фонд холестерола клетки и используется ею на собственные нужды или запасается в виде липидных капель ЭХс.

Важную роль в обмене холестерола играют ЛПВП. Они синтезируются в печени в виде дискогенных частиц-предшественниц, содержащих много белков, фосфолипидов, но очень мало холестерола и ТАГ. Их называют **ЛПВП-незрелыми**. В кровотоке они выполняют двоякую функцию:

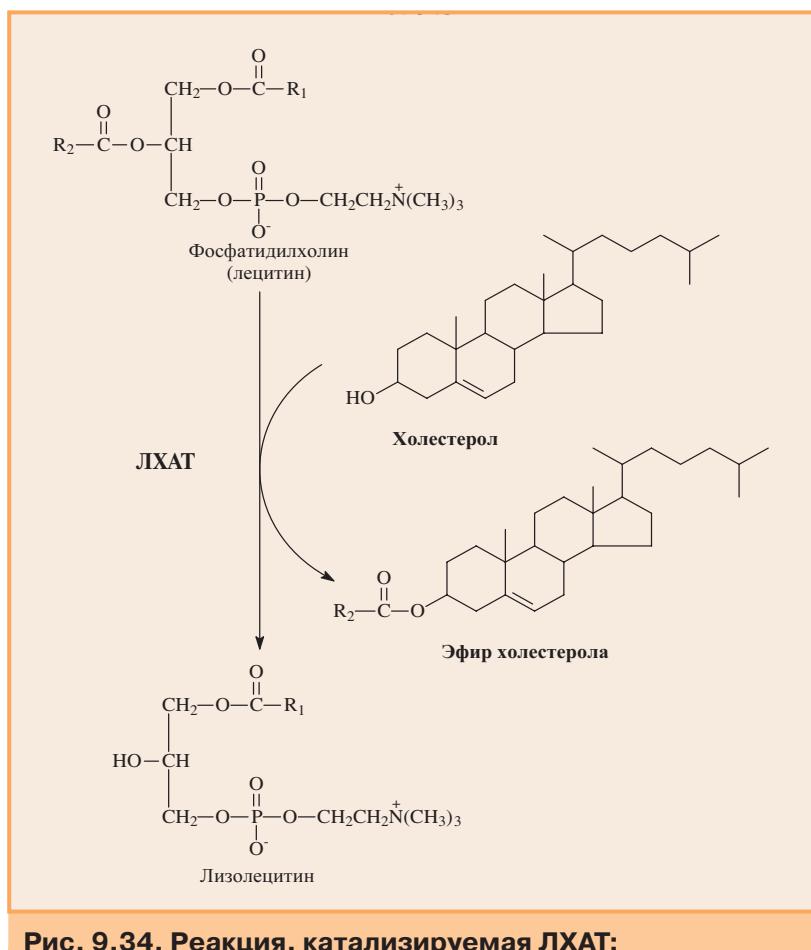
- обеспечивают «созревание» ХМ и ЛПОНП, отдавая на эти частицы АпоC<sub>II</sub> и АпоE;
- участвуют в «обратном транспорте холестерола», удаляя этот стероид из ЛП и клеточных мембран.

Осуществление последней функции обусловлено присутствием в мемbrane этих частиц фермента **лецитинхолестеролацилтрансферазы (ЛХАТ)**, катализирующего этерификацию молекул холестерола остатками высшей жирной кислоты, входящей в  $\beta$ -положение фосфатидилхолина (лецитина) (рис. 9.34).

ЛХАТ активируется белком Апо A-1, который присутствует в составе белков ЛПВП, а также поступает от ХМ и ЛПОНП в процессе обмена белками. ЭХс, образующиеся в результате этой реакции, погружаются в центральную область частицы. Места, освободившиеся в поверхностном слое, занимают новые моле-

кулы холестерола, поступающие путем простой диффузии из ЛПНП и клеточных мембран. По мере накопления эфиров холестерола в ядре частицы ЛП приобретают сферическую форму и их называют **зрелыми ЛПВП** или **ЛПВП<sub>3</sub>**.

Второй продукт реакции — лизолецитин связывается с альбумином крови и удаляется с поверхности частиц. С помощью специального глипид-связывающего белка ЛПВП<sub>3</sub> участвуют в обмене липидами с ХМост, ЛПОНП, ЛППП и ЛПНП. ЛПВП<sub>3</sub> отдают на ЛП часть эфиров холестерола, а от ЛП-частиц получают лецитин и TAG, белки Апо С П и Апо Е. Это позволяет ЛПВП продолжать накопление ЭХс и образовывать более крупные частицы, которые обозначают как ЛПВП<sub>2</sub>. Последние под действием ЛП-липазы могут снова превращаться в ЛПВП<sub>3</sub> либо поступать в печень с помощью рецепторов, узнавающих Апо Е или Апо А<sub>1</sub>.



**Рис. 9.34. Реакция, катализируемая ЛХАТ:**  
ЛХАТ — лецитинхолестеролацилтрансфераза

В организме ХМ и ЛПОНП с помощью ЛП-липазы обеспечивают поступление глицерола и жирных кислот в ткани. ЛПНП поставляют тканям холестерол (атерогенные частицы), а ЛПВП препятствуют их холестеринизации, удаляя излишки холестерола из клеток и направляя их в печень (антиатерогенные частицы). Поглощение ЛПНП тканями регулируется за счет изменения количества рецепторов ЛПНП. Повышение концентрации холестерола в крови вызывает репрессию транскрипции гена, кодирующего структуру рецептора, и снижение количества этого белка в мембранах.

В организме взрослого человека через 4–6 часов после приема пищи в сыворотке крови присутствуют все основные ЛП. Через 10–12 часов после еды (утром натощак) отсутствуют ХМ, ЛПОНП составляют не более 15% от всех ЛП, а на долю ЛПНП и ЛПВП приходится ~ 60% и 25% от общего содержания липопroteинов крови соответственно (рис.9.35)

### Гиперлипидемии и атеросклероз

В норме общая концентрация холестерола (свободный Хс + ЭХс) составляет  $200 \pm 40$  мг/дл, а ТАГ —  $100 \pm 90$  мг/дл. Повышение содержания липопротеинов крови — **гиперлипопротеинемии** или **гиперлипидемии** могут сопровождаться:

- **гипертриацилглициломеремией** (повышением концентрации ХМ или ЛПОНП);

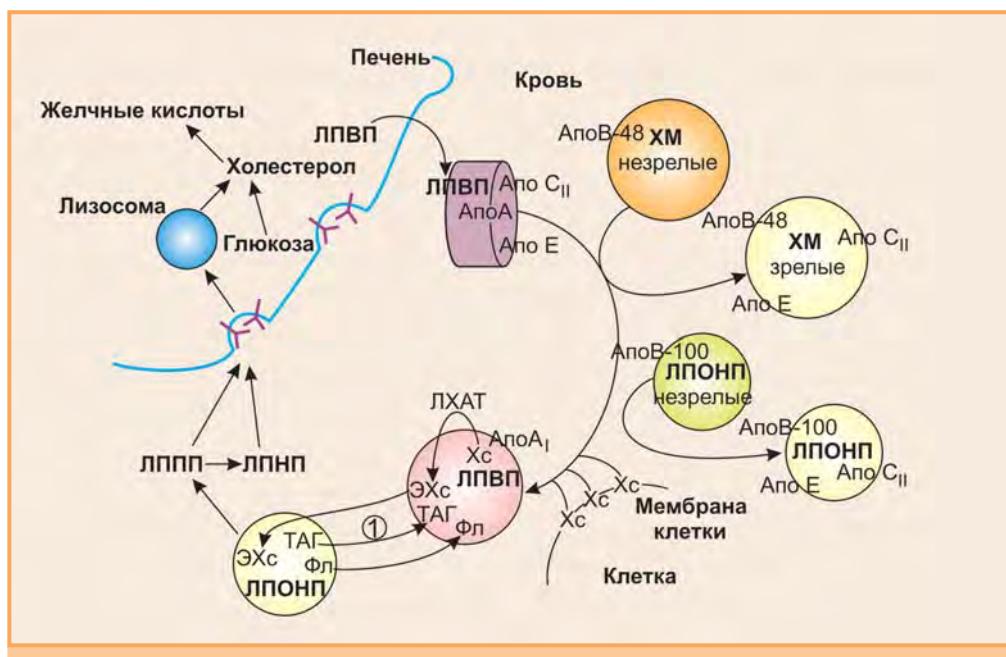


Рис. 9.35. Участие ЛПВП в транспорте холестерола

- **гиперхолестеролемией** (повышением концентрации ЛПНП);
- **смешанной формой:** совместным повышением концентрации Хс и ТАГ.

Гиперлипидемии относятся к наиболее распространенным нарушениям обмена веществ, от которого страдает примерно каждый десятый человек. Они могут быть вызваны изменениями в генетическом аппарате клеток или являются следствием хронических заболеваний: сахарного диабета, гепатитов, алкоголизма, поражений почек (табл. 9.3).

Таблица 9.3

| Типы гиперлипопротеинемий                      |                                                                               |                                                                                                                          |
|------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Название                                       | Причина                                                                       | Проявление                                                                                                               |
| Тип I (семейный дефицит ЛП-липазы)             | а) дефект в структуре ЛП-липазы;<br>б) дефект в структуре Апо С <sub>II</sub> | Высокое содержание в сыворотке крови ХМ и ЛПОНП, нет риска развития атеросклероза                                        |
| Тип II (семейная гиперхолестеролемия)          | а) дефект рецепторов ЛПНП или мутация в гене Апо В-100                        | ↑ концентрации ЛПНП, ксантоматоз гиперхолестеролемия, ранний атеросклероз                                                |
| Тип III (смешанная гиперлипидемия)             | Дефект в структуре Апо Е, нарушение удаления остаточных ЛП из крови           | ↑ концентрации ХМост, ЛПОНП, ЛППП, ЛПНП, гиперхолестеролемия, гипертриацилглицеролемия, ранний атеросклероз, ксантоматоз |
| Тип IV и V (семейная гипертриацилглицеролемия) | Гиперпродукция ЛПОНП, вызванная гиперинсулинемией                             | ↑ концентрации ХМост, ЛПОНП, ЛПНП, повышен риск болезней сердца                                                          |

Гиперхолестеринемия провоцирует развитие атеросклероза. Вероятность развития болезни тем выше, чем выше концентрация ЛПНП и ниже концентрация ЛПВП. Для выявления предрасположенности пациента к заболеваниям, вызванным атеросклеротическими изменениями сосудов, определяют коэффициент атерогенности:

$$K = \frac{Xc \text{ общий} - Xc \text{ лпвп}}{Xc \text{ лпвп}} \text{ или натощак } K \approx \frac{Xc \text{ лпнп}}{Xc \text{ лпвп}}; \text{ в норме у взрослого человека}$$

этот показатель не должен превышать 3–4.

Развитию атеросклероза благоприятствует продолжительный полупериод жизни ЛПНП ( $t_{1/2} = 2\text{--}6$  суток). Экзо- и эндогенные факторы могут нарушать структуру ЛПНП и их рецепторов, снижая эффективность взаимодействия между ними в результате:

- перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот в составе фосфолипидов мембран активными формами кислорода ( $O_2^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^{\cdot}$ );
- денатурации или частичного протеолиза белковой части;
- гликозилирования белков;
- десиалирования гликопротеинов мембран путем отщепления концевых остатков сиаловой кислоты от олигосахаридных цепей;
- образования комплексов между измененными ЛП и антителами.

В результате длительной циркуляции по крови образуются **множественно модифицированные ЛПНП** (ммЛПНП), которые удаляются из кровотока с помощью макрофагов, имеющих на мемbrane рецепторы к измененным компонентам крови — **скавенджер-рецепторы**. Макрофаги, накапливая липиды, превращаются в «пенистые клетки», содержащие капли ЭХс в цитоплазме. Они проходят под слой эндотелия, причем наиболее интенсивно в области поврежденного эндотелия. Сюда же поступают тромбоциты. Макрофаги и тромбоциты выделяют цитокины, стимулирующие пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток во внутреннюю оболочку сосуда.

Атеросклеротические бляшки представляют собой скопления ЭХс и остатков разрушенных клеток, окруженные капсулой, которую образуют гладкомышечные клетки из меди артериальной стенки. Между бляшками артерий и ЛП крови происходит постоянный обмен холестеролом. Бляшки могут изъязвляться, кальцифицироваться, вызывая сужение и нарушение моторики сосудов, вплоть до полной их закупорки. Это становится причиной ишемической болезни сердца, инфарктов миокарда, инсультов, облитерирующего эндоартериита.

Методы лечения и профилактики атеросклероза направлены на усиление оттока Хс из сосудов в ЛП. С этой целью назначают:

- диету, содержащую мало Хс;
- ингибиторы ПОЛ, например витамины Е, С, А, обладающие антиоксидантными свойствами;
- препараты, содержащие  $\omega$ -3-полиненасыщенные жирные кислоты, которые препятствуют тромбообразованию и способствуют выведению Хс из организма;
- секвестранты — вещества, связывающие в кишечнике желчные кислоты и усиливающие их выведение из организма;
- ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы — регуляторного ферmenta синтеза Хс (мевакор, ловастатин, правастатин и др.);
- фибрараты (клофибрарат, фенофибрарат и др.), активирующие ЛП-липазу и снижающие образование ЛПОНП.

В тяжелых случаях применяют сорбционные методы.

# Метаболизм азотсодержащих соединений

## 10.1. Метаболизм аминокислот

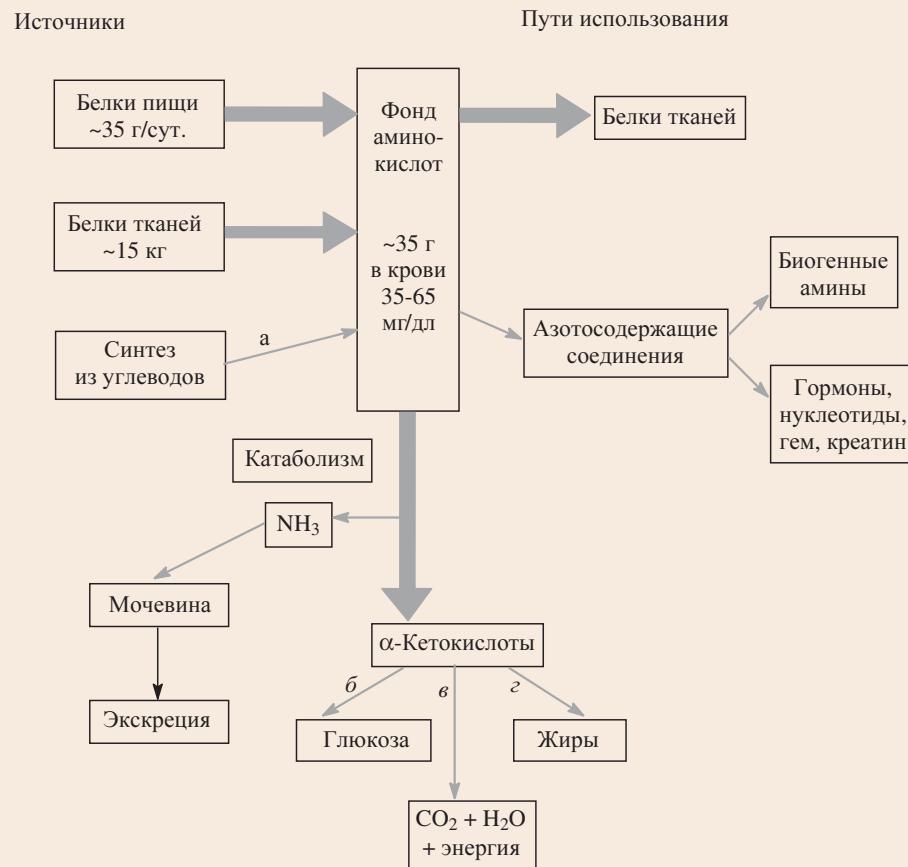
Основным экзогенным источником аминокислот являются белки пищи. Белки переводятся в доступную для организма форму при переваривании под действием протеолитических ферментов, входящих в состав желудочно-кишечных соков. Свободные аминокислоты всасываются и после транспорта кровью включаются в клетках в различные метаболические пути, главным из которых является синтез собственных белков. Кроме того, аминокислоты используются для синтеза других азотсодержащих соединений, например таких, как тироксин, адреналин, гистамин, выполняющих специфические функции. Аминокислоты служат также источником энергии, включаясь в путь катаболизма. Источники аминокислот и пути их использования представлены на рис. 10.1.

Распад тканевых белков (~ 400 г в сутки) не обеспечивает затрат аминокислот, необходимых при использовании их как исходных веществ для катаболизма или синтеза других азотсодержащих соединений. Синтез аминокислот из углеводов также не обеспечивает всех потребностей организма, так как из углеводов возможен синтез лишь углеродной части аминокислот, называемых заменимыми. Следовательно, **основным источником аминокислот являются белки пищи**.

### Азотистый баланс

Азотистый баланс — это разница между количеством азота, поступающего с пищей, и количеством выделяемого азота (в основном в составе мочевины). 95% всего азота в организме приходится на долю аминокислот. Следовательно, азотистый баланс характеризует состояние белкового и аминокислотного обмена.

**Азотистое равновесие** (количество выводимого азота равно количеству поступающего) характерно для здорового человека с нормальным ритмом питания.



**Рис. 10.1. Источники и пути использования аминокислот:**

а — синтез из углеводов (возможен только для группы заменимых аминокислот). Выбор одного из метаболических путей (б, в, г) зависит от строения аминокислоты, физического состояния организма и регуляции

**Положительный азотистый баланс** (выводится азота меньше, чем поступает) имеет место в период роста организма или при выздоровлении после истощающих заболеваний.

**Отрицательный азотистый баланс** (выводится азота больше, чем поступает) характерен для течения истощающих заболеваний, состояния голодаания, старения.

### Переваривание белков

Белки представляют собой высокомолекулярные полимеры, образованные 20 аминокислотами, соединенными пептидными связями. В желудочно-кишечном тракте белки подвергаются гидролитическому расщеплению до

аминокислот-мономеров, которые всасываются и затем поступают в клетки тканей.

**Переваривание пищевых белков** начинается в желудке и завершается в тонком кишечнике под действием протеолитических ферментов (пептидгидролаз, пептидаз, протеаз — названия-синонимы). В соответствии с механизмом действия эти ферменты делят на две группы: эндо- и экзопептидазы. **Эндопептидазы: пепсин, трипсин и химотрипсин**, расщепляют пептидные связи, расположенные во внутренних участках полипептидной цепи. Они синтезируются в виде неактивных предшественников проферментов. Таким способом секретирующие клетки защищают свои собственные белки от разрушения этими ферментами. После секреции проферменты активируются в просвете желудка или кишечника путем частичного протеолиза (табл. 10.1). В норме слизистая оболочка желудка и кишечника защищена от действия протеаз слоем слизи. Кроме того, поверхностный полисахаридный слой плазматической мембраны также предохраняет клетку от действия протеаз.

Таблица 10.1

### Эндопептидазы желудочно-кишечного тракта

| Профермент       | Место синтеза          | Место и механизм активации                                                                                                         | Активатор                        |
|------------------|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| Пепсиноген       | Главные клетки желудка | Полость желудка.<br>Отщепление N-концевой части (42 остатка аминокислот)                                                           | HCl, пепсин, аутоактивация       |
| Трипсиноген      | Поджелудочная железа   | Полость тонкого кишечника. Отщепление N-концевого гексапептида                                                                     | Энтеропептидаза клеток кишечника |
| Химотрипсинаоген | Поджелудочная железа   | Полость тонкого кишечника. Расщепление 3 пептидных связей с образованием трех пептидных цепей, соединенных дисульфидными мостиками | Трипсин                          |

### Переваривание белков в желудке

Большинство нативных пищевых белков имеют структуру компактной глобулы и поэтому значительная часть пептидных связей недоступна для гидролитических ферментов. Отсюда возникает необходимость в предварительной денатурации белка, которая происходит в желудке, содержимое которого имеет pH ~ 2 благодаря секреции обкладочными клетками слизистой HCl. В кислой среде нарушаются многие слабые связи, стабилизирующие белковую глобулу, она разворачивается, делая доступными связи для протеолиза. Кроме того, соляная кислота выполняет и другие функции:

- создает барьер, препятствующий попаданию патогенных бактерий в кишечник;
- участвует в активации пепсиногена.

**Пепсиноген** в присутствии HCl приобретает частичную протеолитическую активность вследствие протонирования некоторых групп и изменения конформации. Активированный таким образом пепсиноген катализирует отщепление от другой молекулы пепсиногена N-концевой части, содержащий 42 аминокислоты, переводя фермент в активную форму. Образованный пепсин катализирует превращение других молекул пепсиногена. Таким образом, продукт реакции — пепсин ускоряет свое собственное образование. Подобный тип активации называется аутоактивацией.

При многих заболеваниях желудочно-кишечного тракта нарушается секреция HCl и пепсиногена. Изменение концентрации HCl и пепсина в желудочном соке используется для диагностики некоторых заболеваний желудка.

### Переваривание белков в кишечнике

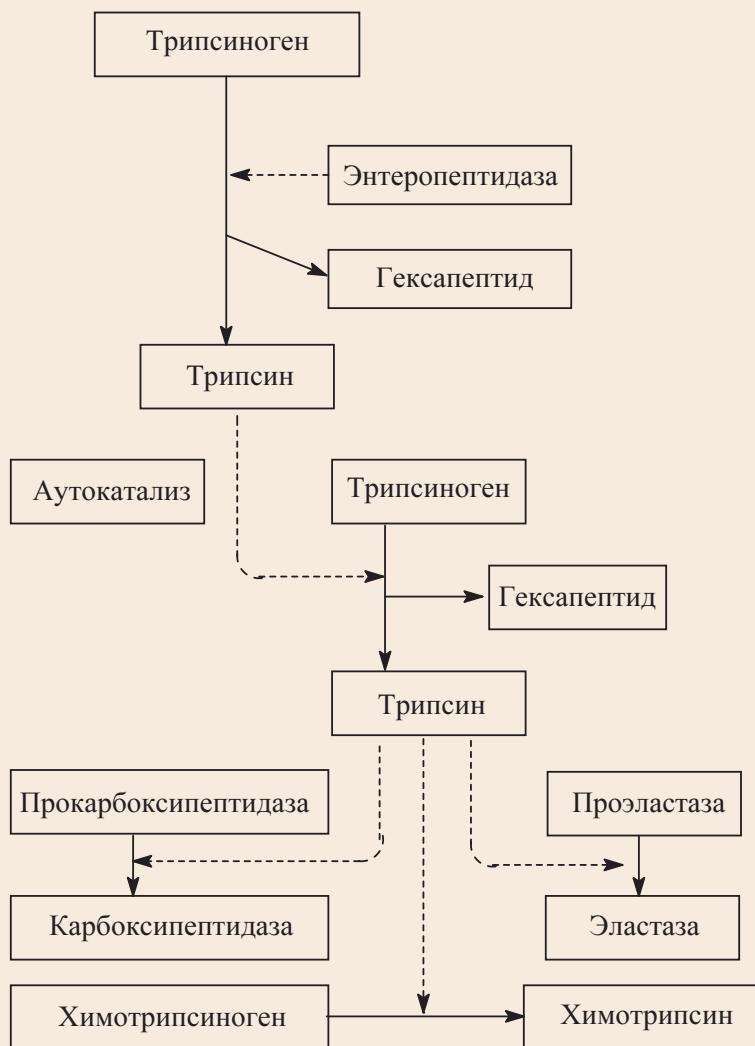
Частично переваренная в желудке пища (химус) далее попадает в двенадцатиперстную кишку. Кислый химус стимулирует выделение клетками кишечника в кровь гормонов секретина и холецистокинина, которые, в свою очередь, стимулируют секрецию панкреатического сока. Ионы  $\text{HCO}_3^-$ , содержащиеся в панкреатическом соке, нейтрализуют желудочный сок, повышая pH до ~7, и создают оптимальную среду для действия панкреатических ферментов трипсина и химотрипсина.

**Активация трипсиногена** происходит под действием фермента **энтеропептидазы**, синтезируемой клетками кишечника. Этот фермент отщепляет N-концевой гексапептид трипсиногена, что сопровождается изменением конформации и образованием активного фермента. Энтеропептидаза катализирует образование лишь небольшого количества трипсина. Основное количество трипсина образуется из трипсиногена в результате аутоактивации.

Другие проферменты поджелудочной железы: **химотрипсиноген, прокарбоксипептидаза, проэластаза**, активируются трипсином путем частичного протеолиза (рис. 10.2).

Действие эндопептидаз на белки различается по **субстратной специфичности**. Эти ферменты гидролизуют с наибольшей скоростью пептидные связи, образованные определенными аминокислотами.

**Экзопептидазы.** **Карбоксипептидазы и аминопептидазы** гидролизуют пептиды, отщепляя аминокислоты соответственно от C- и N- конца пептида. Дипептидазы расщепляют пептидную связь в дипептидах. Карбоксипептидаза синтезируется в поджелудочной железе в виде прокарбоксипептидазы и активируется в кишечнике под действием трипсина. Амино- и дипептидазы синтезируются в клетках тонкого кишечника. Все кишечные экзопептидазы функционируют в основном внутриклеточно в щелочной каемке эпителия, хотя могут в неболь-



**Рис. 10.2. Активация панкреатических протеаз**

шом количестве выделяться в просвет кишечника. Эндопептидазы и экзопептидазы в совокупности завершают гидролиз белков образованием аминокислот (рис. 10.3, 10.4).

**Пищевая ценность белка** зависит от его аминокислотного состава и способности усваиваться организмом. В табл. 10.2 указаны **незаменимые аминокислоты**, присутствие которых в белках пищи обязательно, так как их синтез в организме невозможен; **частично заменимые аминокислоты**, которые в небольших

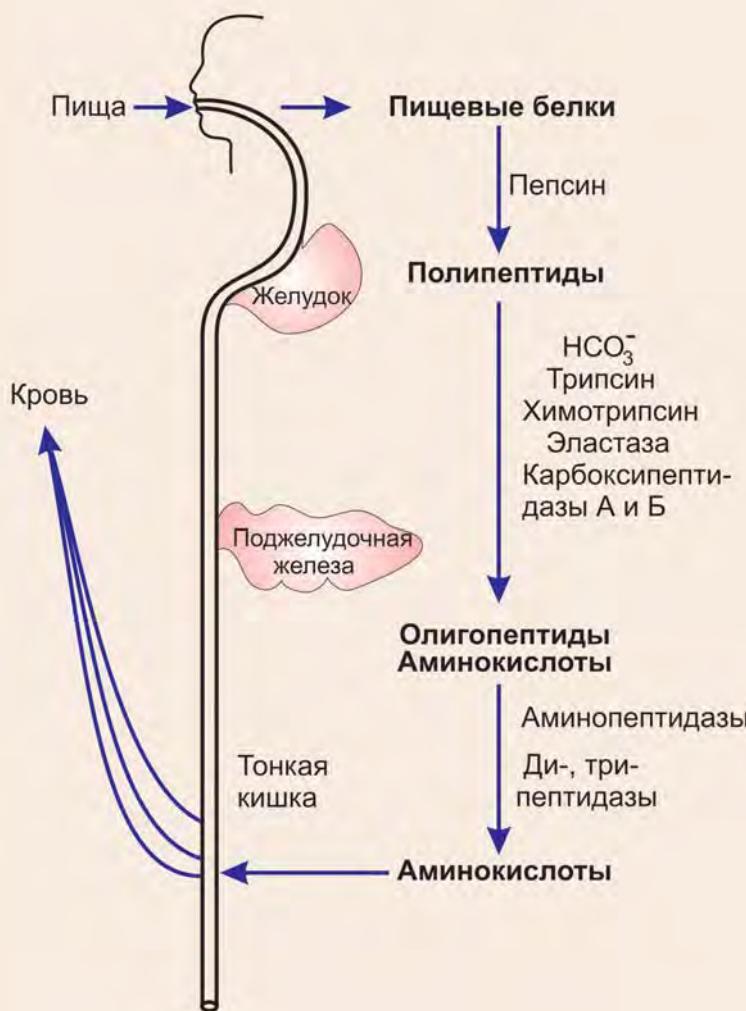


Рис. 10.3. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте

количествах синтезируются в организме; **условно заменимые аминокислоты**, для образования которых необходимы незаменимые аминокислоты, и, наконец, **заменимые аминокислоты**, потребность в которых может быть восполнена синтезом из других веществ. Присутствие в белках всех незаменимых аминокислот говорит о его полноценности. Чем выше содержание незаменимых аминокислот, тем больше пищевая ценность белка. **Норма белков в питании** составляет примерно 100 г в сутки.

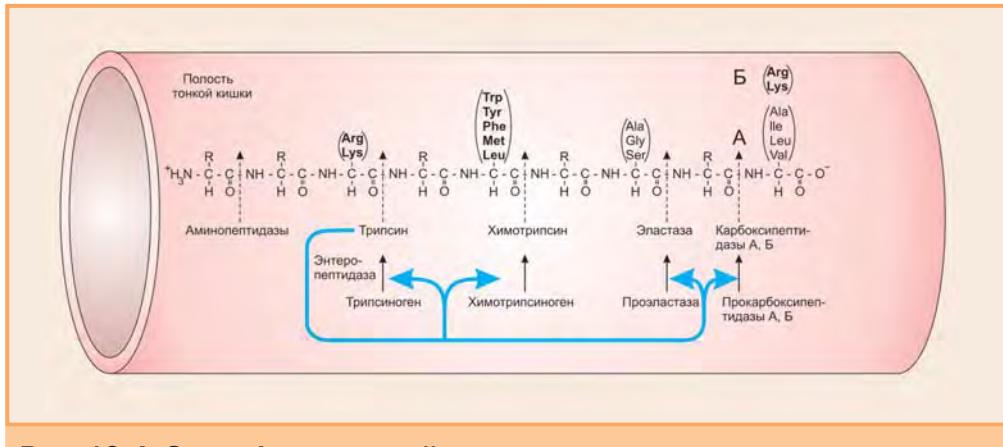


Рис. 10.4. Специфичность действия экзо- и эндопептидаз в кишечнике

Недостаток в течение длительного времени пищевых белков, богатых незаменимыми аминокислотами, приводит к заболеванию. Чтобы восполнить недостающие аминокислоты, ткани начинают гидролизовать свои собственные белки с помощью тканевых протеиназ. Белковая недостаточность проявляется у детей нарушением развития и функций организма.

Таблица 10.2

| Незаменимые | Условно заменимые | Частично заменимые | Заменимые |
|-------------|-------------------|--------------------|-----------|
| Триптофан   | Тирозин           | Гистидин           | Глицин    |
| Фенилаланин | Цистеин           | Аргинин            | Аланин    |
| Лизин       |                   |                    | Серин     |
| Треонин     |                   |                    | Глутамат  |
| Метионин    |                   |                    | Глутамин  |
| Лейцин      |                   |                    | Аспартат  |
| Изолейцин   |                   |                    | Аспарагин |
| Валин       |                   |                    | Пролин    |

**Транспорт аминокислот из кишечника в кровяное русло** осуществляется в два этапа. Сначала аминокислоты, образовавшиеся в результате гидролиза белков, проходят через мембрану щеточной каймы внутрь эпителиальной клетки с помощью переносчиков путем  $\text{Na}^+$ -зависимого симпорта, подобно переносу глюкозы (см. раздел 8). Далее специфические транслоказы по механизму облегченной диффузии переносят аминокислоты в кровь.

## Распад тканевых белков

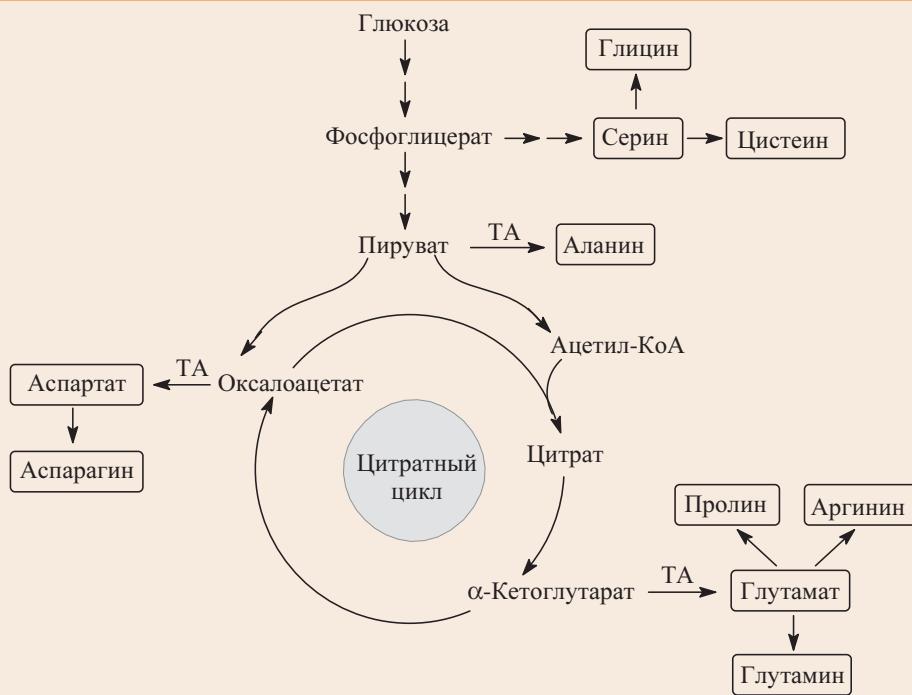
Белки тканей гидролизуются и в норме в целях их обновления, но процессы гидролиза и синтеза белков тканей в этом случае уравновешены. Основными причинами распада тканевых белков являются:

- денатурация белков, которая происходит в организме непрерывно;
- старение клеток или их повреждение внешними факторами (излучения, токсины);
- частичный протеолиз, сопровождаемый отщеплением части пептидной цепи, которая гидролизуется до аминокислот;
- гидролиз белков и ферментов, содержащихся в пищеварительных соках. Все эти белки (~ 100 г в сутки) перевариваются с образованием аминокислот;
- разрушение белков (гормонов, ферментов), участвующих в регуляции — индукции и репрессии синтеза белков.

## 10.2. Биосинтез аминокислот

Растения и многие виды бактерий содержат ферментные системы, необходимые для синтеза всех требуемых  $\alpha$ -кетокислот. Животные утратили способность синтезировать некоторые  $\alpha$ -кетокислоты. Эти кетокислоты соответствуют незаменимым аминокислотам. Некоторые  $\alpha$ -кетокислоты (соответствующие заменимым аминокислотам) могут образовываться в результате метаболизма веществ других классов, в основном глюкозы (рис. 10.5).

Заключительной реакцией в синтезе аминокислот из  $\alpha$ -кетокислот является **реакция трансаминирования**, в ходе которой аминогруппа переносится от донорной аминокислоты к акцепторной  $\alpha$ -кетокислоте. В результате получается  $\alpha$ -кетокислота из донорной аминокислоты и новая аминокислота. Реакцию катализируют ферменты **аминотрансферазы** (трансаминазы) с участием **кофермента пиридоксальфосфата** (производное витамина  $B_6$ ). Эта реакция легко обратима. Любые аминокислоты, которых в пище недостаточно, можно получить за счет имеющихся в избытке при наличии соответствующих кетокислот (рис. 10.5, 10.6). Исключением являются лизин и треонин, которые не участвуют в реакциях трансаминирования. Трансаминирование происходит практически во всех органах. Промежуточные продукты некоторых метаболических путей являются кетокислотами и могут включаться в трансаминирование (рис. 10.5). Многие аминотрансферазы предпочтительно используют  $\alpha$ -кетоглутарат как акцептор аминогруппы. При этом образуется глутамат. Пара  $\alpha$ -кетоглутарат и глутамат широко участвуют в метаболических превращениях аминокислот. Например, с помощью реакций трансаминирования осуществляется «переброска» аминного азота из мышц в печень. В работающей мышце происходит образование алани-



**Рис. 10.5. Синтез заменимых аминокислот:**

ТА — трансаминирование

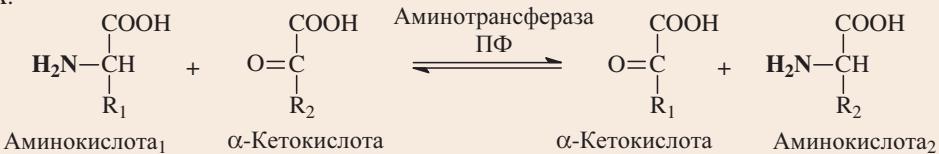
на из пировиноградной кислоты путем трансамигрирования с глутаматом. Аланин поступает в кровь и затем поглощается печенью. В печени происходит обратная реакция, в результате которой образуется пируват, используемый в глюконеогенезе. Глюкоза может поступать в работающую мышцу. Создается глюкозо-аланиновый цикл, который служит для переноса из мышц в печень пирувата и аминного азота (рис. 10.7).

Трансамигрирование может быть использовано как для синтеза аминокислот (заключительная реакция), так и для катаболизма аминокислот. Замещение аминогруппы в аминокислоте на кетогруппу является первой стадией в катаболизме некоторых аминокислот.

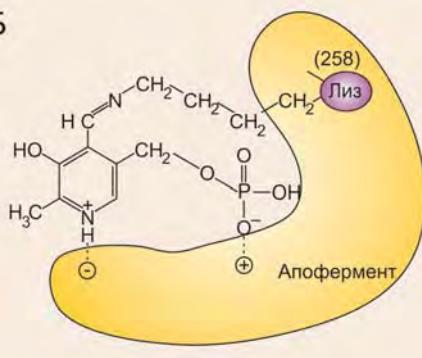
### 10.3. Катаболлизм аминокислот

Катаболлизм аминокислот включает два этапа: 1) дезамигрирование, заключающееся в отщеплении аминогруппы с образованием кетокислоты; 2) катаболлизм кетокислот — безазотистых остатков аминокислот. Катаболлизм аминокислот в орга-

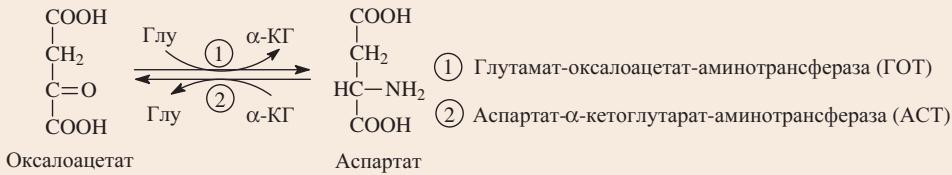
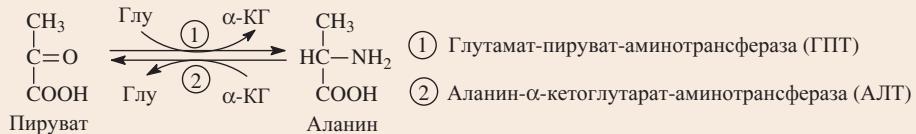
А.



Б



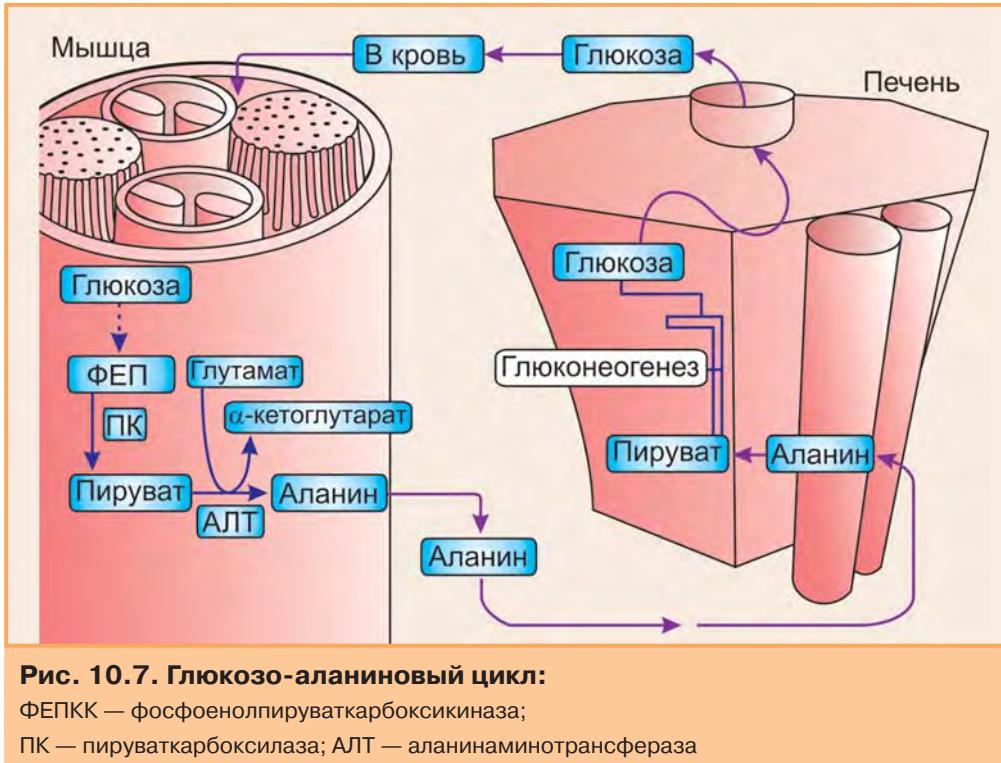
В.

**Рис. 10.6. Трансаминирование аминокислот:**

А — общая реакция; Б — пиридоксальфосфат в активном центре фермента;

В — примеры реакции трансаминирования

низме животных происходит в двух различных ситуациях. В **нормальных условиях**, когда в диете присутствует избыточное количество белка, и, следовательно, после переваривания и всасывания избыточные аминокислоты дезаминируются, а углеродный скелет (кетокислота) или используется для конверсии в гликоген и жир, или окисляется для получения энергии. При **голодании** разрушаются белки тканей, и получающиеся после дезаминирования кетокислоты могут служить для синтеза глюкозы в процессе для глюконеогенеза, или для окисления, и извлечения энергии.



**Рис. 10.7. Глюкозо-аланиновый цикл:**

ФЕПК — фосфоенолпируваткарбоксикиназа;

ПК — пируваткарбоксилаза; АЛТ — аланинаминотрансфераза

**Дезаминирование** — это превращение аминокислот в соответствующие  $\alpha$ -кетокислоты в результате отщепления аминогруппы в виде аммиака. С наибольшей скоростью дезаминируется глутаминовая кислота. Реакция сопровождается окислением, поэтому называется **окислительным дезаминированием**. Окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты катализирует NAD-зависимая дегидрогеназа (рис. 10.8).

Эта реакция обратима, но ее основная роль заключается в дезаминировании, хотя в некоторых органах она может протекать в сторону синтеза глутаминовой кислоты. В ходе дезаминирования глутамата аминогруппа сразу превращается в ион аммония, поэтому эта реакция называется **прямым окислительным дезаминированием**. Большинство аминокислот дезаминируются непрямым путем, включающим два этапа: 1) трансаминирование с  $\alpha$ -кетоглутаратом с образованием глутамата; 2) окислительное дезаминирование глутамата (рис. 10.9).

**Глутаматдегидрогеназа** — ключевой фермент катаболизма аминокислот. Она аллостерически ингибируется АТФ, ГТФ NADH — показателями высокого энергетического статуса клетки. Высокие концентрации АДФ активируют глутаматдегидрогеназу, при участии которой аминокислоты превращаются в кетокислоты, далее поступающие в цитратный цикл как энергетические субстраты.

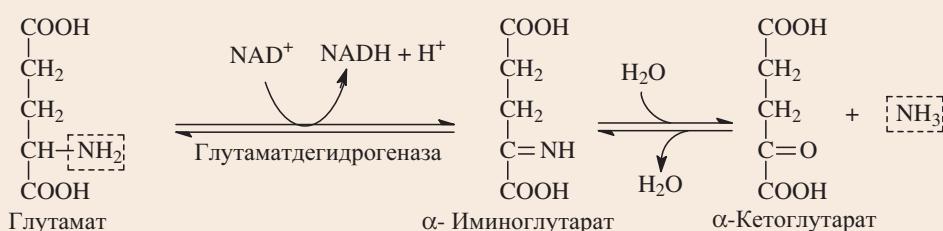


Рис. 10.8. Окислительное дезаминирование глутамата

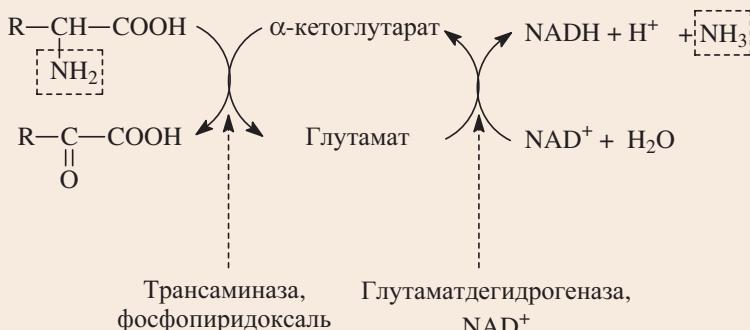


Рис. 10.9. Непрямое дезаминирование аминокислот

### Дезаминирование гистидина, серина и треонина

Гистидин и серин могут дезаминироваться непрямым путем, но для них существует также другой путь, называемый неокислительным дезаминированием (рис. 10.10). Поскольку треонин не участвует в реакциях трансаминирования, то для него возможен только путь неокислительного дезаминирования.

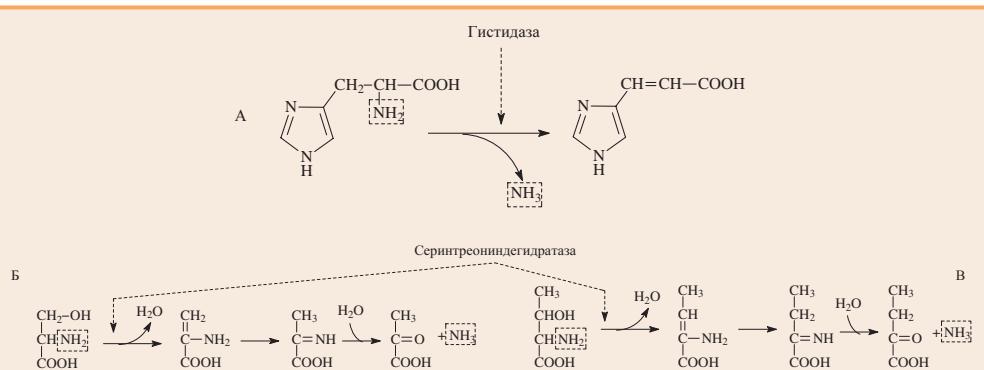


Рис. 10.10. Дезаминирование гистидина (А), серина (Б), треонина (В)

**Катаболизм безазотистых остатков**, полученных в результате дезаминирования аминокислот, приводит к образованию либо ацетил-КоА или к образованию метаболитов, способных включаться в глюконеогенез. Кроме того, все кетокислоты способны окисляться в цитратном цикле до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  с выделением энергии (рис. 10.11). Безазотистые остатки большинства аминокислот при катаболизме проходят стадию образования оксалоацетата или пировиноградной кислоты, превращаясь в них непосредственно либо опосредованно через промежуточные продукты цитратного цикла. Такие аминокислоты называются **гликогенными**, так как пируват и оксалоацетат являются субстратами глюконеогенеза. Аминокислоты лейцин и лизин в ходе катаболизма превращаются не в пируват, а в ацетил-КоА и называются **кетогенными**, хотя в норме ацетил-КоА, образованный из аминокислот для синтеза кетоновых тел, не используется (см. раздел 9).

Тирозин, фенилаланин, изолейцин и триптофан являются одновременно и кетогенными и гликогенными, так как часть углеродного скелета этих аминокислот образует гликогенный продукт (опосредованно метаболитами цитратного цикла), а другая часть образует ацетил-КоА (рис. 10.12).

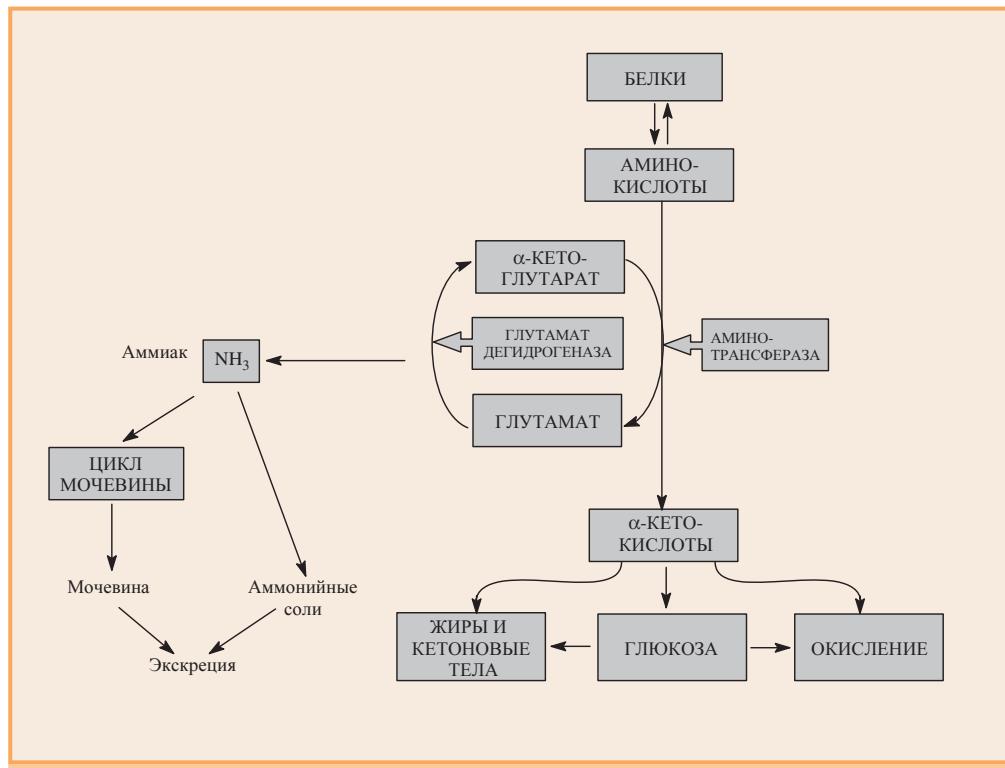
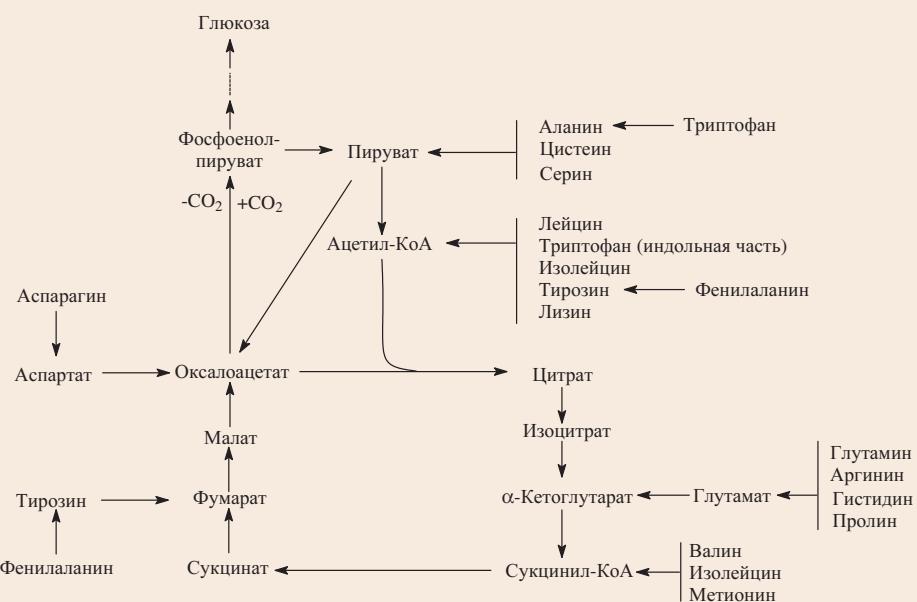


Рис. 10.11. Судьба продуктов дезаминирования аминокислот



**Рис. 10.12. Включение аминокислот в общий путь катаболизма и глюконеогенез**

## 10.4. Обмен аммиака

В результате дезаминирования аминокислот в различных органах освобождается большое количество аммиака. Аммиак также образуется при дезаминировании биогенных аминов и нуклеотидов. Концентрация аммиака в жидкостях и тканях организма человека низкая (в крови 25–40 мкмоль/л). При более высоких концентрациях аммиак токсичен. Низкая концентрация аммиака обеспечивается реакциями его связывания с образованием нетоксичных соединений.

### Обезвреживание (связывание) аммиака

Аммиак может обезвреживаться несколькими способами:

- 1) восстановительное аминирование  $\alpha$ -кетоглутаратата с образованием глутамата при участии глутаматдегидрогеназы (обратная реакция окисления глутамата):  

$$\alpha\text{-кетоглутарат} + \text{NH}_3 + \text{NADH} + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{Глутамат} + \text{NAD}^+$$
.

Эта реакция протекает в малом объеме и не имеет большого значения, для обезвреживания аммиака, хотя используется для образования глутаминовой кислоты;

- 2) образование амида глутаминовой кислоты — глутамина при участии глутаминсинтетазы:



Эта реакция протекает во многих тканях, но наиболее важна для нервной ткани, особенно чувствительной к токсическому действию аммиака. Глутаминсинтетаза обладает высоким сродством к аммиаку. Благодаря этому свойству фермент обеспечивает поддержание концентрации аммиака на низком уровне — 25–40 мколь/л (0,4–0,7 мг/л). Этот уровень содержания аммиака для организма нетоксичен.

Реакция образования глутамина происходит в митохондриях клеток. В реакции участвуют кофактор-ионы  $\text{Mg}^{2+}$ . Глутаминсинтетаза — регуляторный фермент. Его аллостерическим ингибитором является АМФ. Глутамин также участвует в анаболических процессах, являясь донором азота в синтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, аспарагина, аминосахаров;

3) **образование карбамоилфосфата** путем конденсации  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$  и АТФ, катализируемое **карбамоилфосфатсинтетазой I** (фермент действует в митохондриях). Эта реакция происходит в печени и является начальной стадией синтеза мочевины — конечного продукта метabolизма азота:



### **Биосинтез мочевины (орнитиновый цикл)**

Количество синтезируемой мочевины зависит от количества белков в пищевом рационе. Если человек потребляет ~100 г белков, то в сутки синтезируется примерно 25–30 г мочевины. В этом количестве мочевины содержится 90% всего выводимого из организма азота.

Синтез мочевины — циклический процесс (рис. 10.13), состоит из пяти реакций, катализируемых пятью отдельными ферментами. Суммарное уравнение:



Из анализа процесса синтеза мочевины (рис. 10.13) следует:

- **включение азота происходит в двух реакциях.** Один из атомов азота поступает в форме  $\text{NH}_3$  в реакции I и является продуктом дезаминирования аминокислот, а другой включается в составе аспартата (реакция 3). Этот второй азот может поступать в аспартат из любой аминокислоты путем трансаминирования с оксалоацетатом (реакция 7). Следовательно, атомы азота в мочевине имеют разное происхождение;
- **орнитиновый цикл связан с цитратным циклом**, так как оксалоацетат, необходимый для трансаминирования, образуется из фумарата в реакциях цитратного цикла, протекающего в митохондриях клетки (реакция 6);
- **процесс эндергонический**, требующий 3 моль АТФ для синтеза одной молекулы мочевины (реакции 1, 3). Затраты энергии в этом процессе могут быть компенсированы реакцией окислительного дезаминирования глутамата, протекание которой сопряжено с дыхательной цепью и синтезом АТФ. Синтез мочевины происходит в печени. Причем синтез карбамоил-

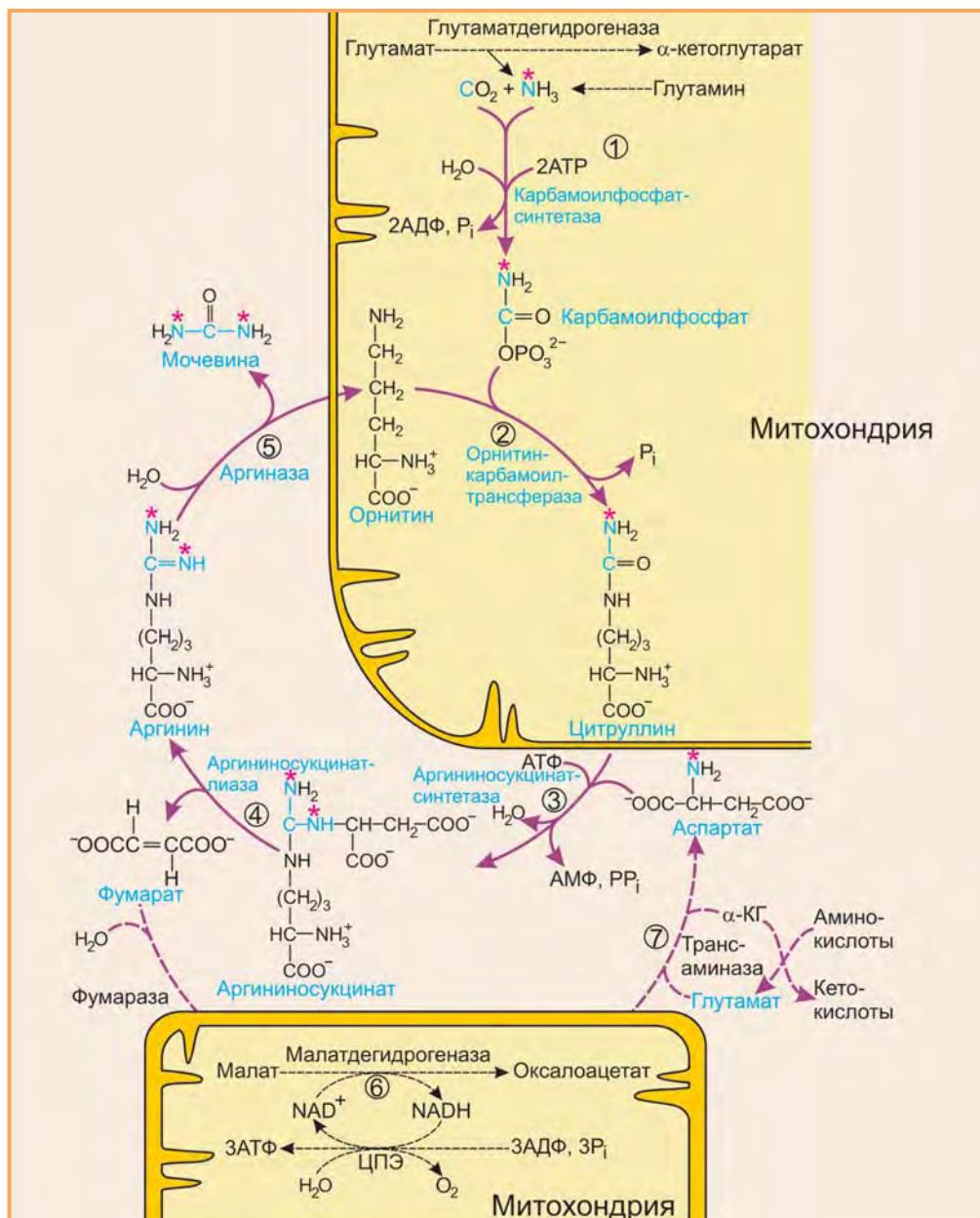


Рис. 10.13. Орнитиновый цикл.

Окислительное дезаминирование глутамата, синтез карбамоилфосфата и цитрулина (реакция 1, 2) происходят в митохондриях, а все остальные реакции цикла — в цитозоле. Перенос цитрулина из митохондрий в цитозоль, а орнитина, образованного из аргинина в реакции 5, в митохондрии осуществляется с помощью специфической транслоказы.  
\* — происхождение атомов азота в молекуле мочевины

фосфата и цитрулина протекает в митохондриях так же, как образование оксалоацетата из фумарата. Остальные реакции происходят в цитозоле клетки.

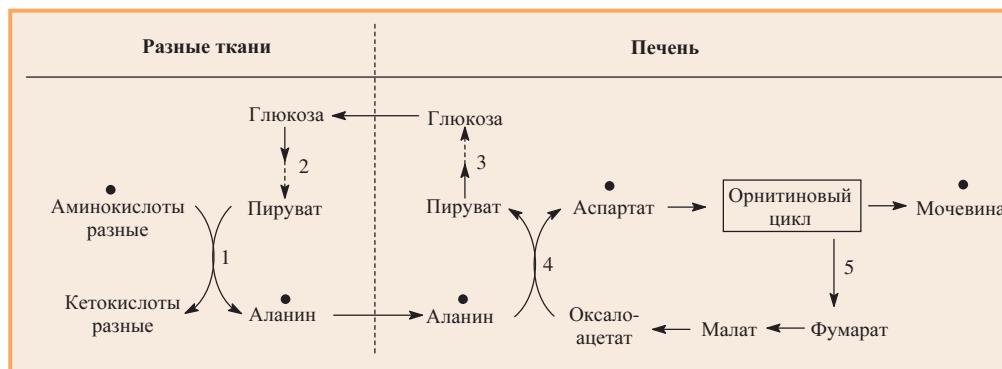
В норме орнитиновый цикл имеет запас мощности, так как он функционирует на 60%. Поэтому при колебаниях количества белков в диете процесс выведения аммиака в виде мочевины не нарушается.

### Транспорт азота аминокислот из тканей в печень

Так как синтез мочевины происходит только в печени, транспорт аминного азота — продукта катаболизма аминокислот из разных тканей в печень — осуществляется в составе **глутамина, аланина и аммиака**.

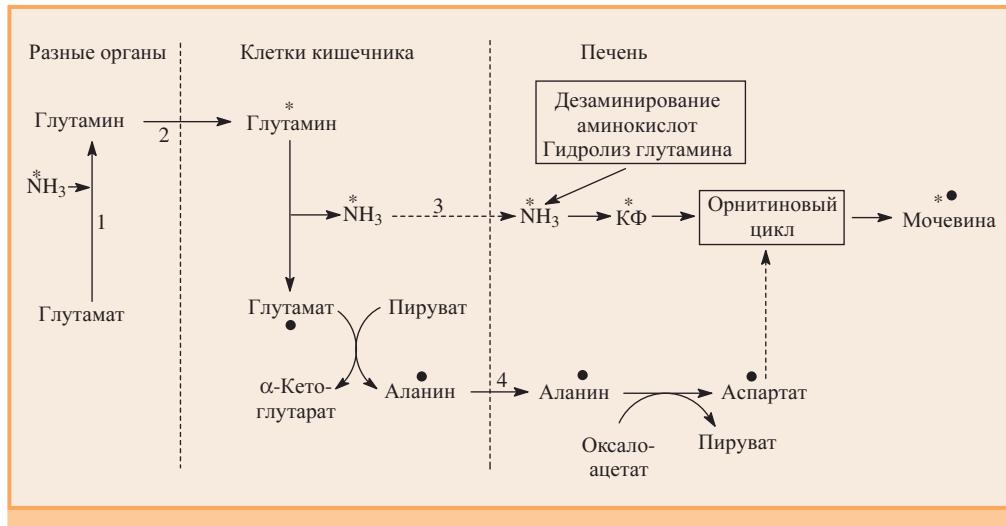
**Аланин** образуется при трансаминировании пирувата с разными аминокислотами (источником пирувата является глюкоза или безазотистые остатки аминокислот). В форме аланина в печень транспортируется аминный азот для синтеза мочевины и углеродный скелет для синтеза глюкозы, т.е. осуществляется глюко-аланиновый цикл (рис. 10.7). Роль аланина представлена на рис. 10.14. Первоначальным источником азота может быть любая аминокислота.

**Глутамин** не только связывает и обезвреживает аммиак, но также служит его транспортной формой, так как легко проходит через мембранны и поступает из клеток в кровь, затем в основном в кишечник (рис. 10.15). В энтероцитах



**Рис. 10.14. Участие аланина в транспорте азота аминокислот для синтеза мочевины и безазотистого остатка для синтеза глюкозы**

- — источники и переносчики азота аминокислот;
- 1 — трансаминирование, перенос аминогруппы на пируват;
- 2 — гликолиз, образование пирувата;
- 3 — глюконеогенез из пирувата;
- 4 — трансаминирование, образование аспартата — донора азота для синтеза мочевины;
- 5 — регенерация оксалоацетата в цитратном цикле;
- 1, 2, 3, 4 — глюкоаланиновый цикл

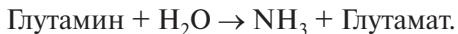


**Рис. 10.15. Транспорт азота аминокислоты в виде глутамина и аммиака в печень:**

- связывание аммиака — продукта дезаминирования аминокислот в разных тканях;
  - транспорт глутамина в клетки кишечника;
  - отщепление аминного азота и транспорт его в виде аммиака в печень;
  - перенос аминного азота в состав аланина;
- \* — путь азота в составе  $\text{NH}_3^*$  — продукта дезаминирования аминокислот;
- — путь азота в составе аланина — продукта трансаминирования аминокислот

отщепляется амидная группа глутамина в виде аммиака, который с кровью воротной вены, оттекающей от кишечника, поступает в печень и там участвует в синтезе карбамоилфосфата. Аминная группа глутамата — продукта гидролиза глутамина, переносится на пируват, затем в составе аланина поступает в печень и, как показано выше, участвует в синтезе аспартата.  $\alpha$ -кетоглутарат, образовавшийся из глутамата, окисляется и служит источником энергии для эндоцитов.

**Аммиак.** Часть аммиака для синтеза мочевины поступает в печень по воротной вене из кишечника. Кроме того, некоторое количество аммиака образуется в гепатоцитах в результате дезаминирования аминокислот или отщепления амидной группы глутамина при участии **глутаминазы**:



### Роль аммиака в почках

В почках аммиак образуется в результате гидролиза глутамина (реакцию катализирует глутаминаза) и дезаминирования глутамата при участии глутаматдегидрогеназы. Выходит аммиак в виде ионов аммония в составе аммонийных солей. Ионы аммония образуются в результате взаимодействия с протонами:  $\text{NH}_3 + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{NH}_4^+$ .

Образование и экскреция ионов аммония почками обеспечивают выведение протонов. При ацидозе увеличивается потребление глутамина почками и происходит ускорение глутаминазной реакции, по-видимому, за счет индукции синтеза глутаминазы. Ускорение образования  $\text{NH}_4^+$  служит для выведения кислот при ацидозе. Благодаря этому сберегаются ионы  $\text{Na}^+$ , которые могли бы выводиться с анионами кислот.

### Гипераммониемия

Это состояния, возникающие вследствие нарушений функционирования орнитинового цикла — главного пути удаления азота из организма человека. Причиной гипераммониемии могут быть как генетические дефекты ферментов орнитинового цикла, так и вторичные поражения функций печени. Следствием дефекта фермента является накопление субстрата данного фермента и его предшественников, оказывающих токсическое действие на организм. Например, недостаточность карбамоилфосфатсинтетазы I ведет к накоплению аммиака. Повышение концентрации аммиака может вызывать припадки с потерей сознания, судороги, возбуждение, неукротимую рвоту. Наследственная гипераммониемия сопровождается нарушением умственного развития.

Токсичность аммиака при повышении его концентрации возможно связана с тем, что:

- в нервной ткани стимулируется синтез глутамина из глутамата. Накопление глутамина может привести к повышению осмотического давления и отеку мозга. Результатом снижения концентрации глутамата может быть нарушение синтеза  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК) — тормозного медиатора, вследствие чего могут возникать судороги;
- ускоряется реакция восстановительного аминирования  $\alpha$ -кетоглутарата, а следствием уменьшения концентрации  $\alpha$ -кетоглутарата являются: 1) гипоэнергетическое состояние как результат снижения скорости цитратного цикла, метаболитом которого  $\alpha$ -кетоглутарат является; 2) угнетение реакций трансаминирования и, следовательно, синтеза некоторых медиаторов;
- сдвигается pH крови в щелочную сторону — алкалоз. В щелочной среде увеличивается сродство гемоглобина к кислороду. Следствием этого является гипоксия, которая, в свою очередь, приводит к гипоксии тканей, нарушению энергетического обмена, накоплению  $\text{CO}_2$ ;
- увеличивается концентрация в крови ионов аммония, которые практически не проходят через мембранны клеток. Ионы аммония конкурируют с  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  за ионные каналы, что влияет на трансмембранный перенос  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  и проведение нервных импульсов.

Для **диагностики** гипераммониемии используется определение: концентрации аммиака в крови; метаболитов орнитинового цикла в крови и в моче, а также активности ферментов этого цикла в биоптатах печени.

Для **лечения** используются препараты, связывающие аммиак, и назначение малобелковой диеты.

## 10.5. Трансметилирование и метаболизм одноуглеродных фрагментов

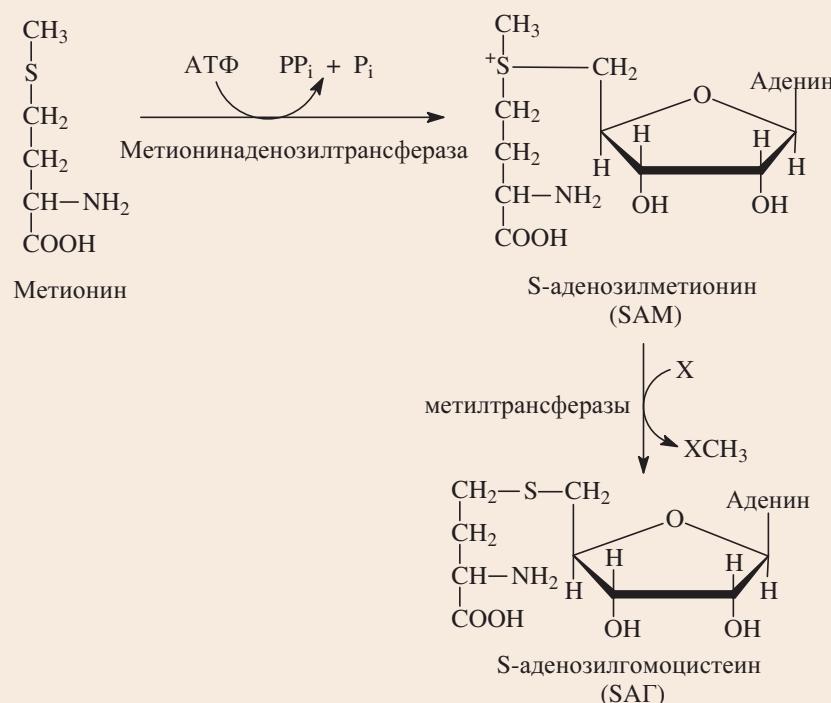
В клетках осуществляются превращения, включающие перенос одноуглеродных групп, таких, как  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CHON}$ ,  $-\text{CHO}$ ,  $-\text{CH}_2$  и т.д. Реакция, в которой переносится метильная группа ( $-\text{CH}_3$ ), называется реакцией метилирования, и она протекает с участием **метионина**. Метионин — это незаменимая аминокислота.

Донором метильной группы служит **S-аденозилметионин (SAM)**.

Это соединение является активной формой метионина в реакциях метилирования (рис. 10.16).

Реакции метилирования катализируют метилтрансферазы. Они используются для:

- синтеза ряда веществ (адреналина, ацетилхолина, карнитина, креатина, фосфатидилхолина и т.д.);



**Рис. 10.16. Образование S-аденозилметионина и его участие в реакциях трансметилирования:**

X — акцептор метильной группы

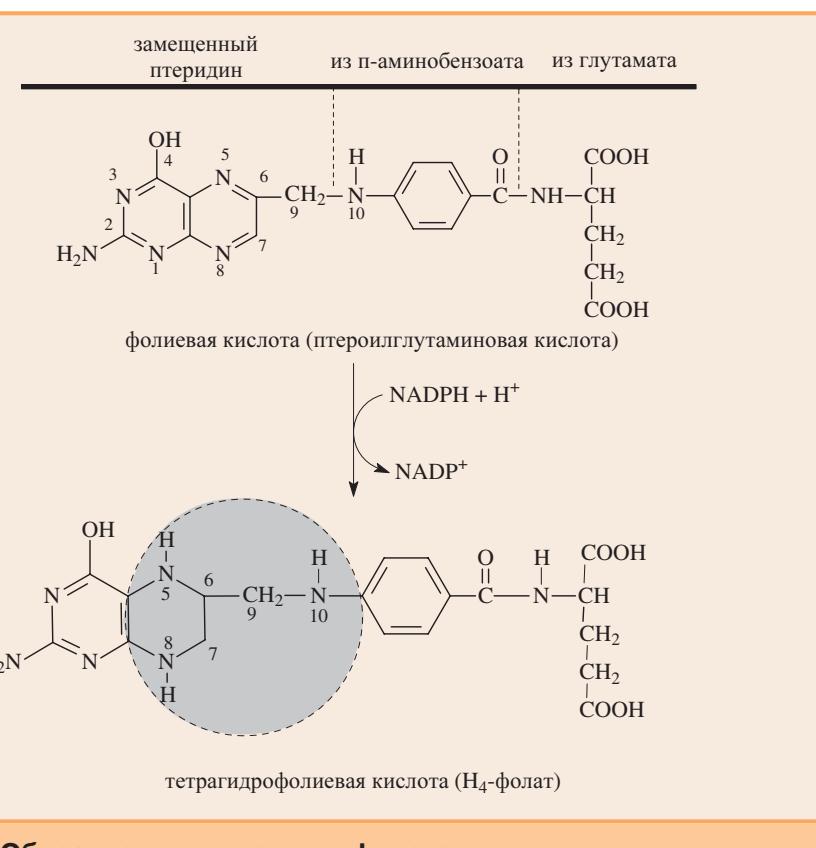
- инактивации метаболитов (гормонов, биогенных аминов), ксенобиотиков, в том числе лекарств;
- метилирования азотистых оснований.

В ходе реакции метилирования SAM превращается в S-аденозилгомоцистеин (SAG). Гомоцистеин может вновь превращаться в метионин, т.е. метионин может регенерировать, но для этого нужен донор и переносчик метильной группы.

Все ферменты, катализирующие перенос одноуглеродных групп, нуждаются в коферменте, роль которого выполняет **тетрагидрофолат** (ТГФК или  $\text{H}_4\text{-фолат}$ ), образующийся из фолиевой кислоты — витамина  $\text{B}_9$  (рис. 10.17).

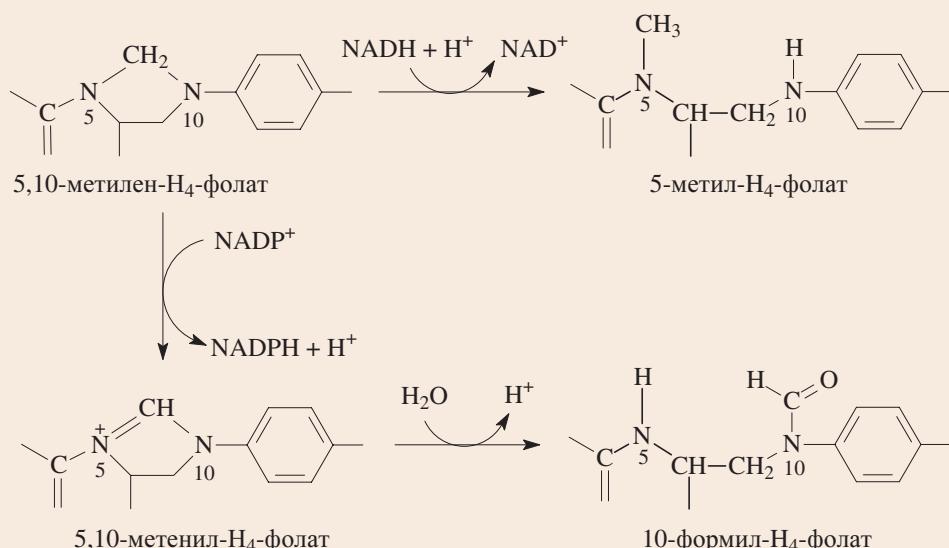
Тетрагидрофолат способен связывать одноуглеродные группы с атомами азота в положении № 5 и 10, образуя разные формы в зависимости от степени окисленности одноуглеродных производных (рис. 10.18).

**Донорами одноуглеродных фрагментов могут быть серин и глицин.** Серин — заменимая кислота. Углеродная часть серина образуется из глюкозы (рис. 10.19А), а аминогруппа поступает с помощью реакции трансаминирования из другой



**Рис. 10.17. Образование тетрагидрофолата.**

В кружке акцепторный участок



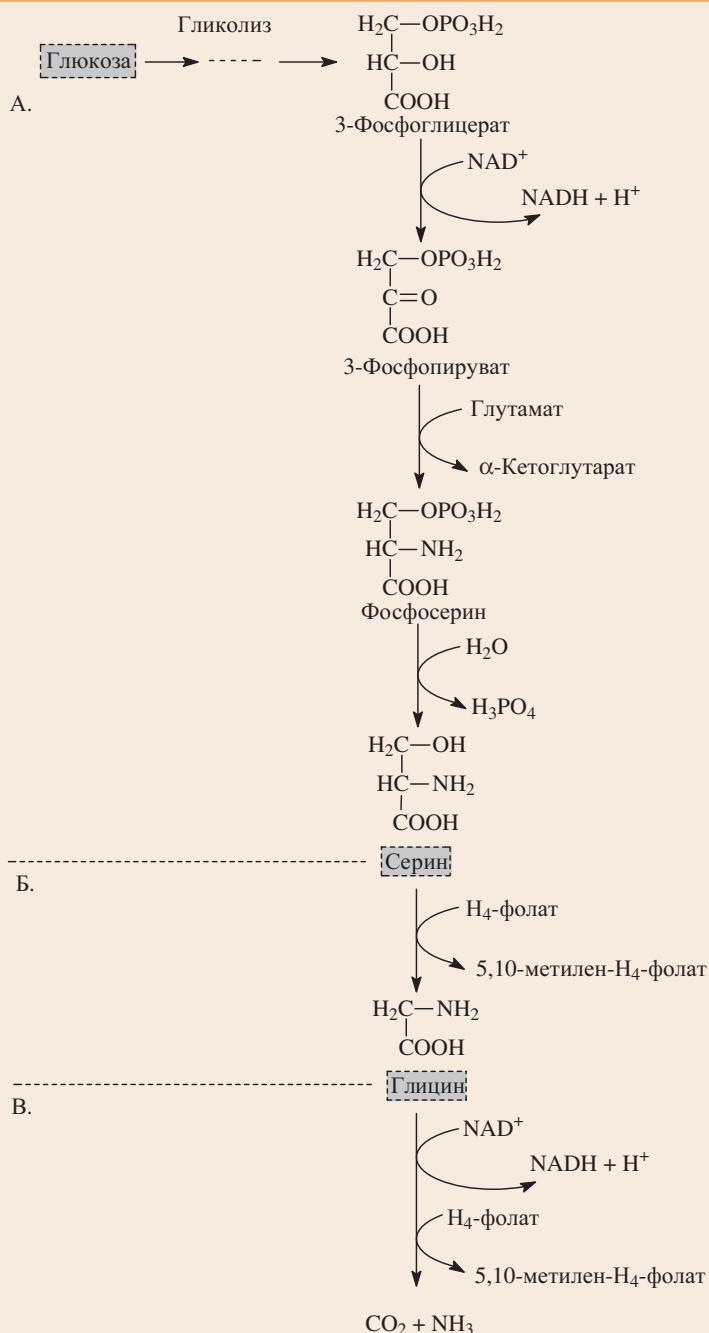
**Рис. 10.18. Строение производных тетрагидрофолата**

аминокислоты. **Глицин** может синтезироваться из серина в реакции, катализируемые серин-оксиметилтрансферазой, которая переносит оксиметильную группу с серина на кофермент- $\text{H}_4$ -фолата (рис. 10.19Б). Катаболизм глицина происходит также с участием  $\text{H}_4$ -фолат (рис. 10.19В).

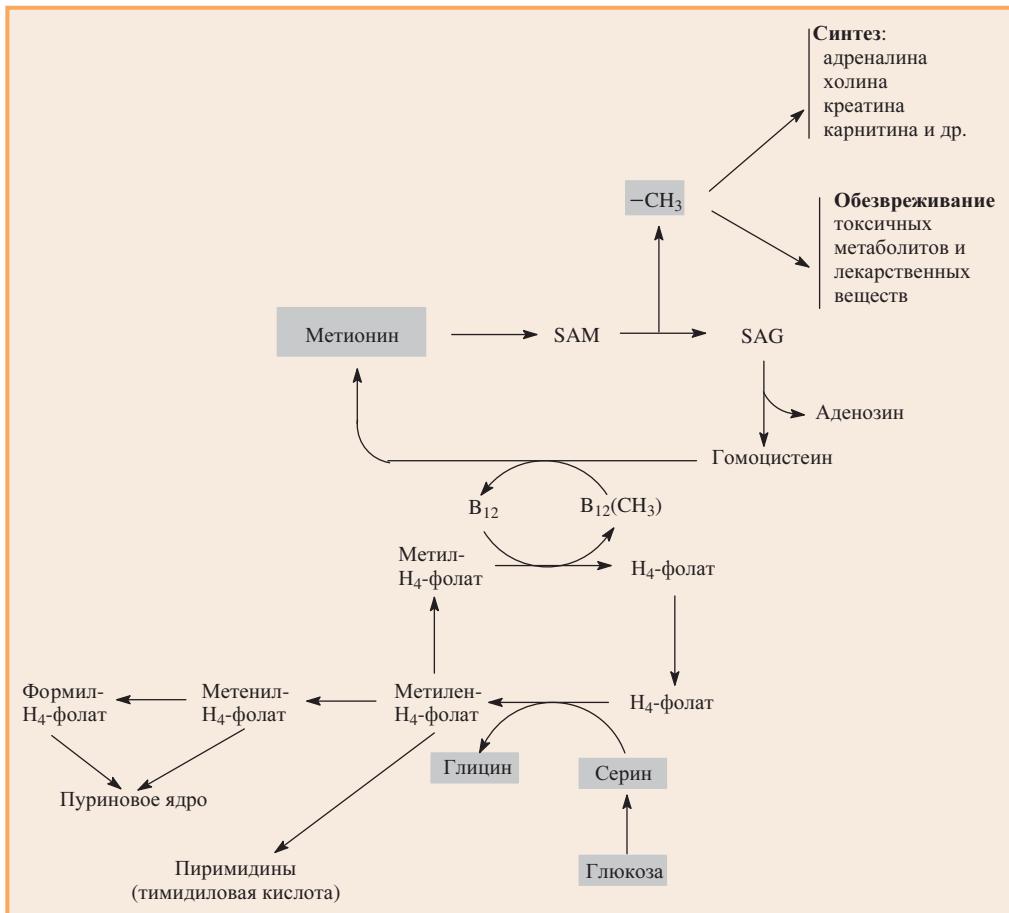
Дальнейшие метаболические превращения преобразуют группу  $-\text{CH}_2-$  в другие одноуглеродные производные и определяют пути их использования. Метильная группа необходима для превращения гомоцистеина в метионин, а метиленовые, метенильные и формильные группы участвуют в биосинтезе всех пуриновых и одного из пиримидиновых (ДТМФ) нуклеотидов.

На рис. 10.20 представлен путь одноуглеродных групп от глюкозы — первичного источника углерода — и от серина, который образуется из углеродных атомов глюкозы до использования этих групп различными акцепторами.

Участие ТГФК в синтезе тимидиловых и пуриновых нуклеотидов объясняет применение **сульфаниламидных препаратов** как антибактериостатических средств. Эти препараты подавляют в клетках микроорганизмов образование фолиевой кислоты, которая не является для прокариотов витамином и может ими синтезироваться. Сульфаниламиды — это структурные аналоги *n*-амино-бензоата (компоненты фолиевой кислоты), поэтому действуют как конкурентные ингибиторы синтеза фолата и тем самым препятствуют росту клеток микроорганизмов.



**Рис. 10.19. Синтез серина из глюкозы (А), образование глицина из серина (Б) и катаболлизм глицина (В)**



**Рис. 10.20. Взаимосвязь обмена метионина, серина, глицина и путей использования одноуглеродных фрагментов**

### Недостаточность фолиевой кислоты

Проявлением дефицита фолиевой кислоты является **мегалобластная (макроцитарная) анемия**, которая характеризуется снижением в крови концентрации гемоглобина, количества эритроцитов, увеличением их размера. Причиной этих симптомов является нарушение синтеза нуклеиновых кислот (прежде всего ДНК) в клетках кроветворной ткани. Клетки этой ткани относятся к быстroredеляющимся и поэтому дефицит фолиевой кислоты, приводящий к дефициту H<sub>4</sub>-фолата, прежде всего отражается на эритропозе. Нарушается участие производных H<sub>4</sub>-фолата в синтезе timidilicовой кислоты других пуриновых нуклеотидов, а следовательно, снижается скорость образования ДНК и РНК в кроветворных клетках. Недостаточность фолиевой кисло-

ты чаще всего сопровождается дефицитом витамина В<sub>12</sub>. Снижение синтеза коферментов — производных витаминов В<sub>9</sub> и В<sub>12</sub> объясняется несколькими причинами:

- неправильным питанием, когда в пище мало зеленых овощей и мясных продуктов. В этом случае одновременно с дефицитом Н<sub>4</sub>-фолата возникает дефицит метионина и холина, что усугубляет нарушения в обмене одноуглеродных групп;
- нарушением всасывания при энтеритах или других заболеваниях кишечника, приводящих к гиповитаминозу;
- заболеваниями печени. При гепатите или циррозе печени может снижаться активность фолатредуктазы, которая катализирует превращение фолата в Н<sub>4</sub>-фолат.

## 10.6. Обмен фенилаланина и тирозина

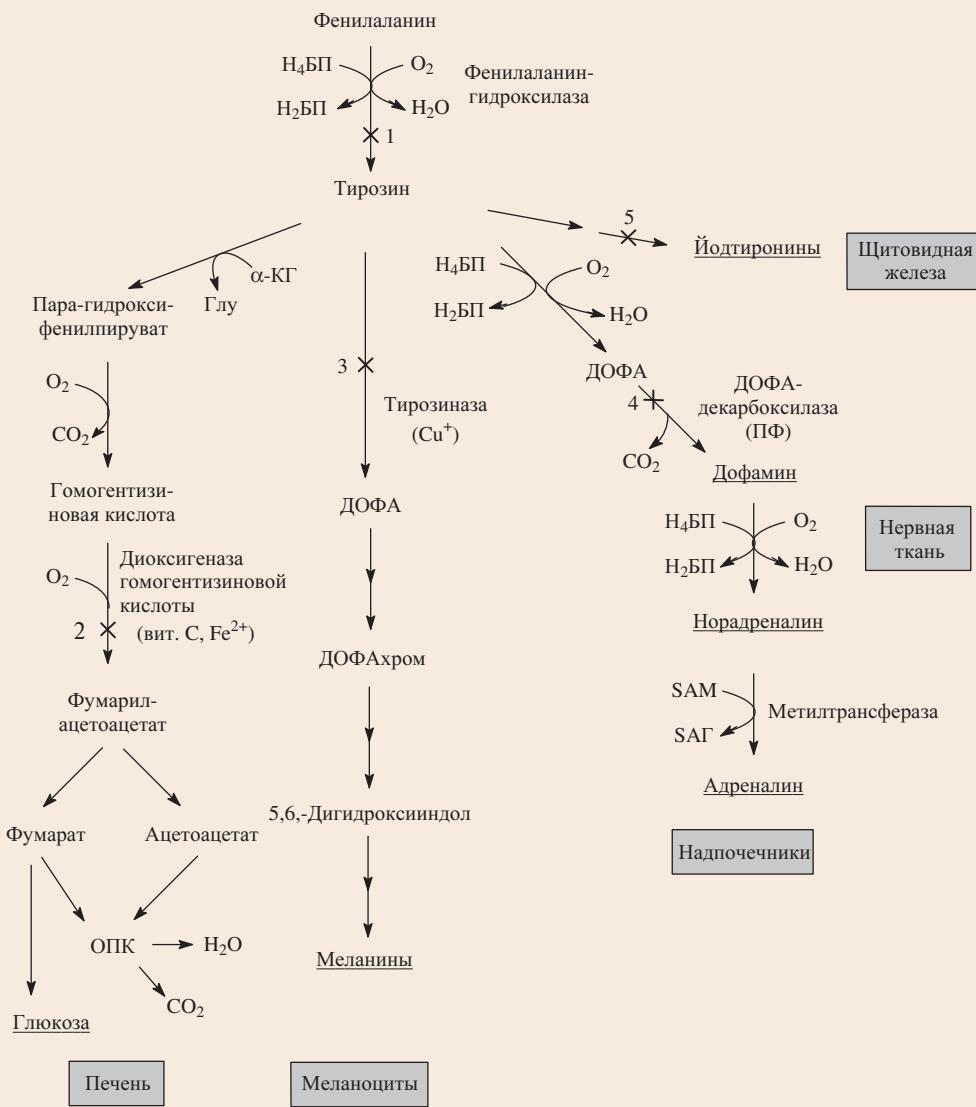
**Фенилаланин** — незаменимая аминокислота и поступает в организм в составе пищи. Фенилаланин в основном используется для синтеза тканевых белков и **тиrozина** — условно заменимой аминокислоты. Тирозин также включается в синтез белков и участвует в синтезе других соединений (cateхоламинов, тироксина, меланинов). Кроме того, тирозин, а значит, и фенилаланин посредством тирозина могут включаться в катаболизм, окисляясь до СО<sub>2</sub> и Н<sub>2</sub>O.

Пути обмена фенилаланина и тирозина представлены на рис. 10.21.

Изучение обмена фенилаланина и тирозина показало, что нарушение превращений этих аминокислот ведет к ряду заболеваний.

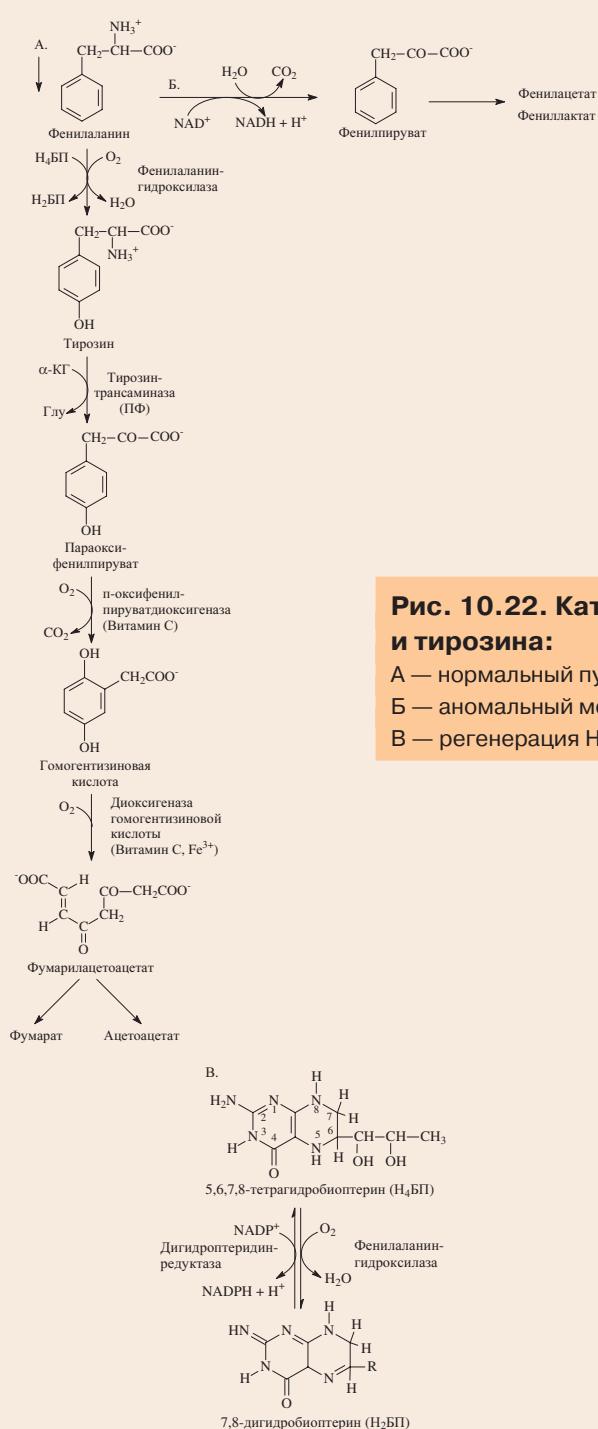
### Катаболизм фенилаланина и тирозина

Весь фенилаланин, не использованный в синтезе тканевых белков, в норме превращается в тирозин (рис. 10.22). Эта реакция катализируется **фенилаланингидроксилазой**, коферментом которой служит **тетрагидробиоптерин** (Н<sub>4</sub>БП). Известно сравнительно часто встречающееся заболевание, причиной которого является генетический дефект фенилаланингидроксилазы или реже дефицит редуктазы тетрагидробиоптерина — фермента, обеспечивающего восстановление Н<sub>2</sub>БП в Н<sub>4</sub>БП. Накапливающийся при этом фенилаланин подвергается дезаминированию и образует метаболит — фенилпируват, который в норме образуется в очень малых количествах. При заболевании фенилпируват превращается в фениллактат и фенилацетат — токсичные продукты, которые выводятся с мочой. Этот дефект метаболизма фенилаланина проявляется как заболевание **фенилкетонурия-ФКУ**. Заболевание проявляется рано и сопровождается резким нарушением умственного и физического развития ребенка вследствие токсического влияния высоких концентраций фенилаланина и фенилкетоновых тел.



**Рис. 10.21. Пути обмена фенилаланина и тирозина. Заболевания, возникающие при нарушении метаболизма этих аминокислот:**

1 — фенилкетонурия; 2 — алkapтонурия; 3 — альбинизм; 4 — болезнь Паркинсона;  
 5 — микседема; PiF — пиридоксальфосфат;  
 H<sub>4</sub>BP — тетрагидробиоптерин; ОПК — общий путь катаболизма



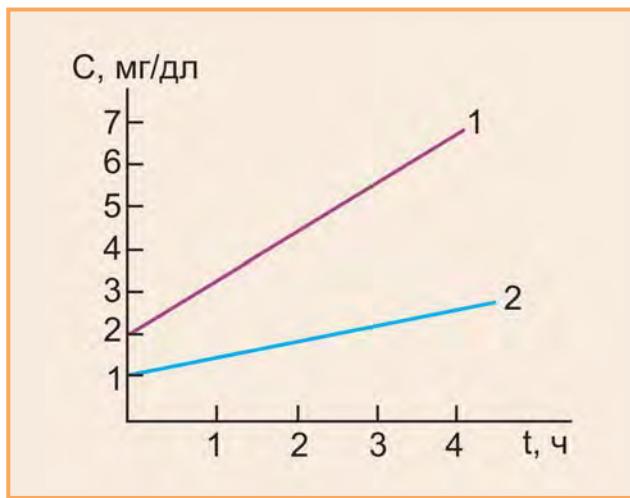
**Рис. 10.22. Катаболизм фенилаланина и тирозина:**

А — нормальный путь катаболизма;  
 Б — аномальный метаболизм фенилаланина;  
 В — регенерация H<sub>4</sub>-биоптерина

Для диагностики этого заболевания используют тест на толерантность к фенилаланину. Для этого исследуют концентрацию тирозина в крови через часовые интервалы после дачи натощак обследуемому ~10 г фенилаланина (рис. 10.23).

Для лечения детей с ФКУ назначают диету, бедную фенилаланином, но содержащую достаточное количество тирозина. Это позволяет уменьшить токсическое действие фенилаланина и его производных.

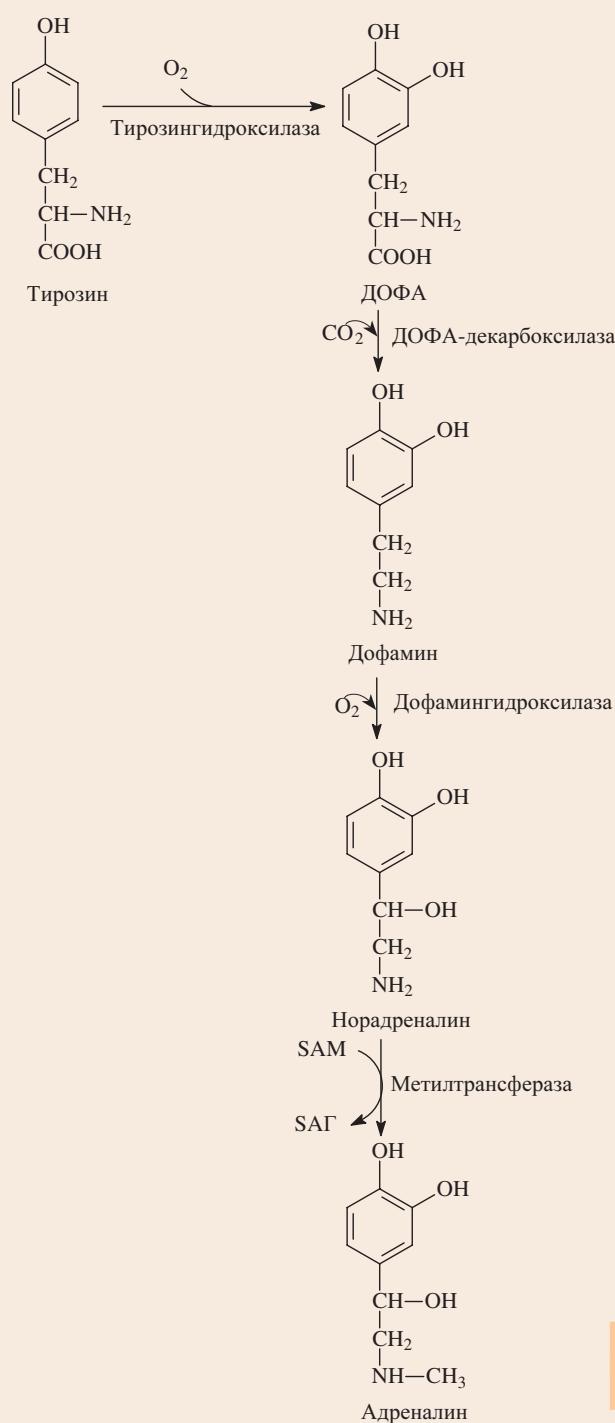
Известно еще одно генетическое отклонение — **алкаптонурия**, причиной которого является нарушение пути катаболизма фенилаланина и тирозина на стадии превращения гомогентизиновой кислоты в фумарилацетоацетат, катализируемый **диоксигеназой гомогентизиновой кислоты** (рис. 10.22). Вследствие дефекта этого фермента накапливается гомогентизиновая кислота, которая выводится с мочой, но, окисляясь кислородом воздуха, образует черный пигмент и придает моче черный цвет. Проявлениями алкаптонурии являются также пигментация соединительной ткани, называемая охронозом, и артриты.



**Рис. 10.23. Изменение концентрации тирозина в крови после фенилаланиновой нагрузки в норме (1) и при дефиците фенилаланингидроксилазы у гетерозиготов по ФКУ (2)**

### Синтез катехоламинов

Тирозин является предшественником для синтеза катехоламинов — **дофамина и норадреналина в нервной ткани и адреналина в мозговом веществе надпочечников** (рис. 10.24). Дофамин и норадреналин выполняют функции медиаторов в синаптической передаче нервного импульса, а адреналин является гормоном.



**Рис. 10.24. Синтез катехоламинов**

Нарушение синтеза дофамина в черной субстанции мозга проявляется как **болезнь Паркинсона**. При этой патологии снижена активность **ДОФА-декарбоксилазы**. Заболевание сопровождается скованностью движений (акинезия), напряжением мышц (риgidность) и непроизвольным дрожанием конечностей (тремор). Заместительная терапия не имеет эффекта, так как дофамин не проходит гематоэнцефалический барьер. Поэтому используют в качестве лекарств предшественник дофамина — производные ДОФА. Кроме того, существуют препараты, подавляющие инактивацию дофамина и тем самым способствующие его накоплению в клетках. Так как инактивация катехоламинов происходит путем их окисления под действием **моноаминооксидазы (МАО)** (рис. 10.26В), следовательно, используемые препараты действуют как **ингибиторы** этого фермента.

### Синтез меланинов

Синтез пигментов меланинов происходит в меланоцитах и предшественником меланинов является тирозин (рис. 10.25). Тирозин при участии тирозиназы окисляется в ДОФА, из которого в результате разветвленного процесса образуются черно-коричневые пигменты (эумеланины) и красно-коричневые или желтые пигменты (феомеланины). В разных сочетаниях эти типы меланинов содержатся в составе волос, кожи, сетчатке глаза, обуславливая их окраску.

**Генетический дефект тирозиназы** в меланоцитах или отсутствие меланоцитов проявляется как заболевание — альбинизм. Клинически эта патология проявляется отсутствием пигментации кожи и волос, светобоязнью, снижением остроты зрения.

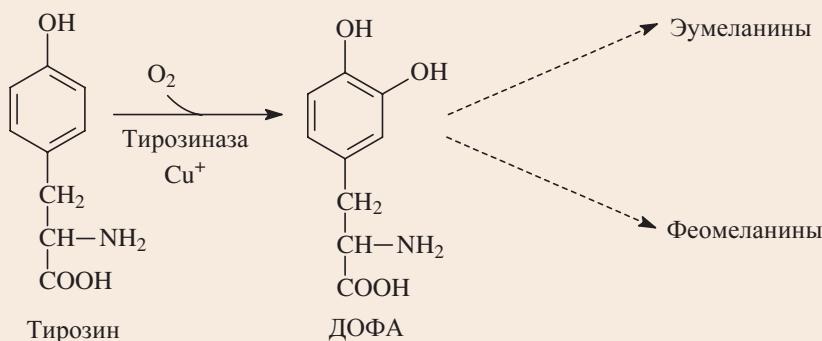
## 10.7. Декарбоксилирование аминокислот и метаболизм биогенных аминов

В результате отщепления  $\alpha$ -карбоксильной группы аминокислот образуются амины (рис. 10.26А). Реакцию катализируют декарбоксилазы, коферментом которых является фосфопиридоксаль. Продукты декарбоксилирования обладают высокой биологической активностью и с этим связано их название — биогенные амины.

**Гистамин** образуется из гистидина в тучных клетках. Выделяется в ответ на присутствие аллергена. Кроме того, является сильным сосудорасширяющим фактором, вызывает сокращение гладкой мускулатуры, в клетках слизистой желудка стимулирует секрецию соляной кислоты.

**$\gamma$ -аминомасляная кислота (ГАМК)** образуется из глутамата в ткани головного мозга, выполняет функции тормозного нейромедиатора.

**Серотонин** образуется из триптофана в нейронах гипоталамуса. Функционирует как нейромедиатор и тканевой гормон.

**Рис. 10.25. Синтез меланинов**

**Дофамин** образуется из тирозина в почках, надпочечниках, синаптических ганглиях, нервах. Является медиатором ингибирующего типа, функционирует в черной субстанции верхнего отдела ствола мозга. В других клетках является предшественником норадреналина и адреналина.

**Норадреналин** образуется в результате гидроксилирования дофамина в клетках нервной ткани, мозговом веществе надпочечников. Функционирует как медиатор в синаптической передаче нервных импульсов.

**Адреналин** — продукт метилирования норадреналина в клетках мозгового вещества надпочечников. Выполняет функции гормона.

**Инактивация биогенных аминов** происходит двумя способами:

- 1) дезаминированием и окислением;
- 2) метилированием.

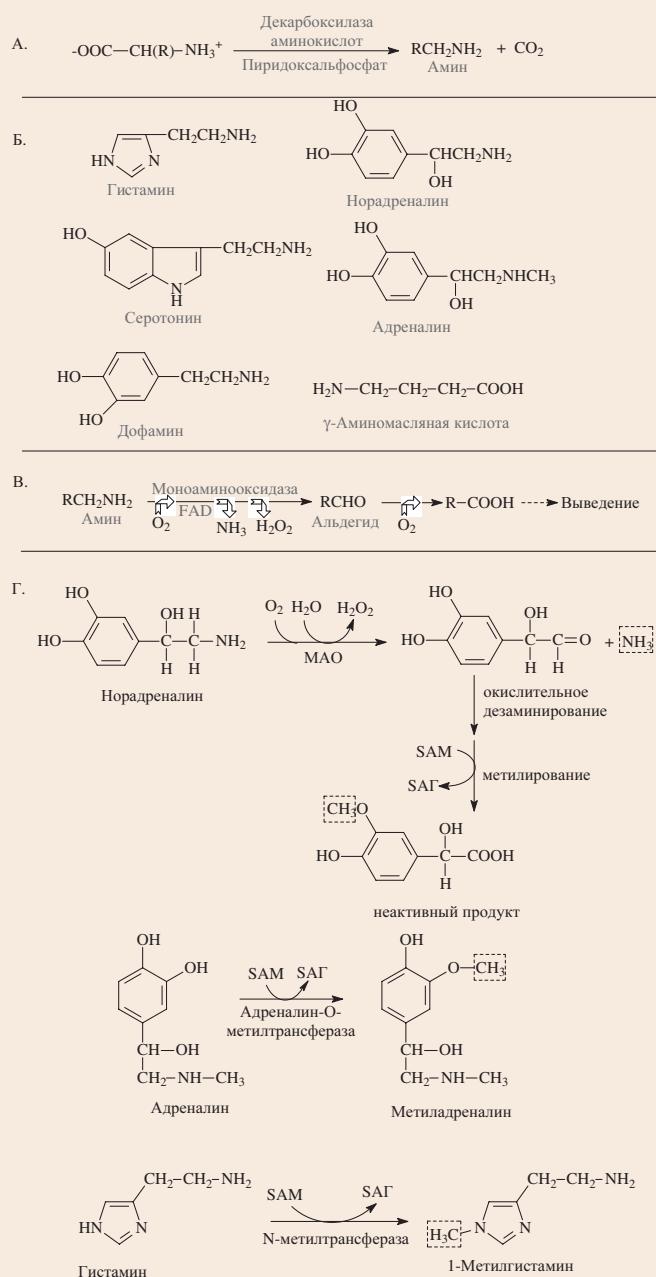
Реакцию дезаминирования и окисления (рис. 10.26В) катализирует **FAD-зависимаяmonoаминооксидаза (МАО)**. Monoаминооксидаза может быть точкой воздействия некоторых лекарств, ингибирующих или активирующих этот фермент, так как изменение концентрации биогенных аминов является причиной ряда патологических состояний. Например, при паркинсонизме наблюдается уменьшение количества дофамина, и одним из способов лечения является снижение скорости инактивации дофамина под влиянием веществ — ингибиторов МАО.

Инактивация биогенных аминов путем их метилирования протекает с участием метилтрансфераз и SAM как донора метильной группы (рис. 10.26Г).

## 10.8. Обмен нуклеотидов

Нуклеотиды и их производные используются в организме в качестве:

- субстратов синтеза ДНК, РНК и нуклеотидных коферментов;
- источников энергии;



**Рис. 10.26. Синтез и обезвреживание биогенных аминов:**

А — реакция декарбоксилирования аминокислот;

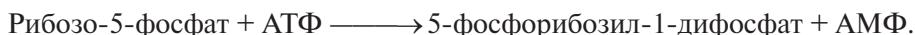
Б — строение некоторых биогенных аминов;

В — инактивация биогенных аминов с участием МАО; Г — примеры инактивации

- участников синтеза гомо- и гетерополисахаридов, липидов и белков, а также универсальной системы детоксикации, обеспечивающей выведение чужеродных веществ и некоторых собственных метаболитов из организма.
- вторичных вестников сигнала гормонов, факторов роста, нейромедиаторов и других регуляторных молекул в клетки.

В организме почти все клетки способны к синтезу нуклеотидов. Продукты расщепления нукleinовых кислот тканей и пищи используются повторно лишь в незначительной степени.

Центральное место в синтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов занимает фосфорибозилдифосфат (ФРДФ) или фосфорибозилпирофосфат, который образуется из рибозо-5-фосфата и АТФ в реакции, катализируемой **ФРДФ-синтетазой**:



Источниками рибозо-5-фосфата для этой реакции могут быть пентозофосфатный путь превращения глюкозы или пентозы, образующиеся в тканях при распаде нукleinовых кислот и нуклеотидов.

**Биосинтез пуриновых нуклеотидов.** Образование пуринового гетероциклического основания идет на остатке рибозо-5-фосфата при участии простых предшественников: глицина,  $\text{CO}_2$ , амидного азота глутамина,  $\alpha\text{-NH}_2$  — группы аспартата и одноуглеродных производных  $\text{H}_4\text{-фолата}$  (рис. 10.27). Сначала формируется 5-членное кольцо, а затем 6-членное с образованием первого пуринового нуклеотида — инозинмонофосфата или ИМФ. Все четыре атома азота пурина поступают из аминокислот: два из Гли, один из Асп и 1 из Гли. Два из

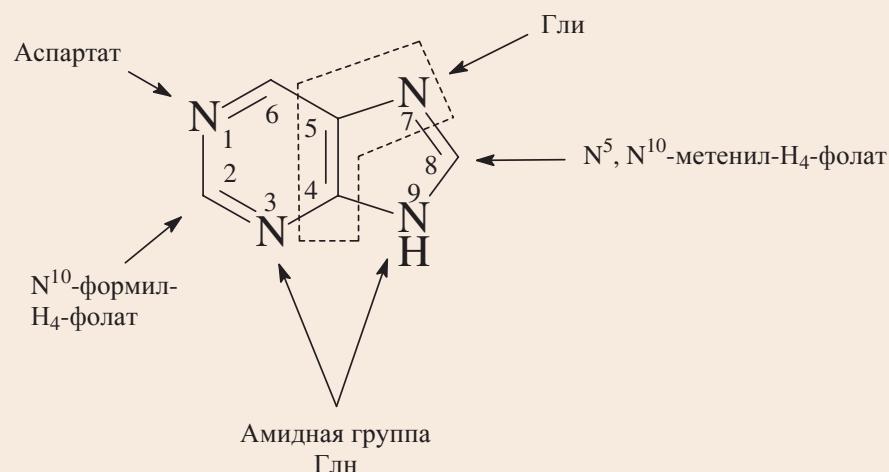
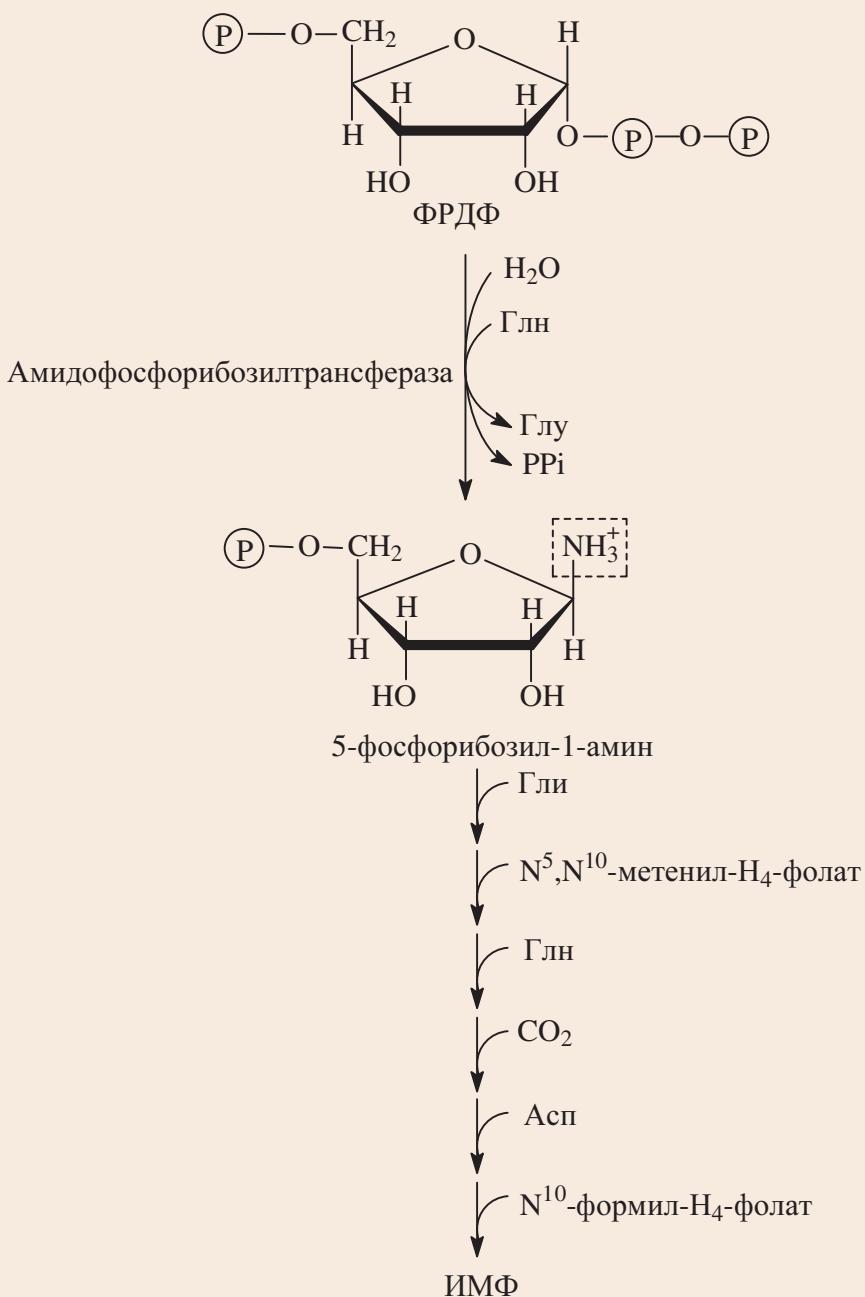


Рис. 10.27. Происхождение атомов С и N в пуриновом основании



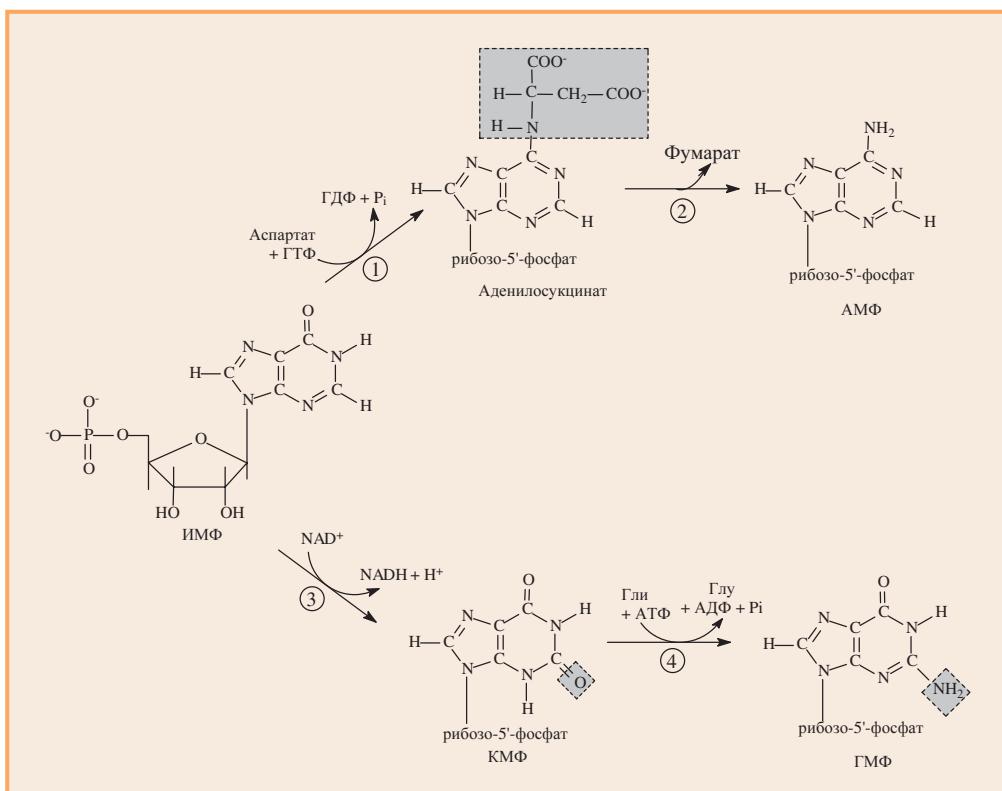
**Рис. 10.28. Синтез инозин-5'-моноfosфата (ИМФ)**

пяти углеродных атомов принадлежат Гли, два других — производным Н<sub>4</sub>-фолата и последний СО<sub>2</sub>.

Скорость-лимитирующей и регуляторной стадией процесса является образование 5-фосфорибозил-1-амина, которую катализирует **амидофосфорибозилтрансфераза** (рис. 10.28). В ходе этой реакции амидная группа Гли замещает пирофосфатный остаток ФРДФ. Образуется N-C-связь, которая затем в нуклеотиде станет N-гликозидной связью между пурином и пентозой.

Синтез первого пуринового нуклеотида — ИМФ включает 10 стадий и идет с затратой 6 молей АТФ. Все реакции протекают в цитозоле клетки. АМФ и ГМФ образуются из ИМФ в каждом случае в ходе двух последовательных реакций (рис. 10.29).

Нуклеозидди- и трифосфаты синтезируются при участии АТФ и ферментов: **нуклеозидмонофосфаткиназ** (**НМФ-киназ**) и **нуклеозиддифосфаткиназ** (**НДФ-киназ**).



**Рис. 10.29. Синтез АМФ и ГМФ из ИМФ.**

АМФ синтезируется при участии ферментов:

1 — аденилосукцинатсинтетазы и 2-аденилосукциназы, а ГМФ:

3 — ИМФ-дегидрогеназы и 4 — ГМФ-синтетазы

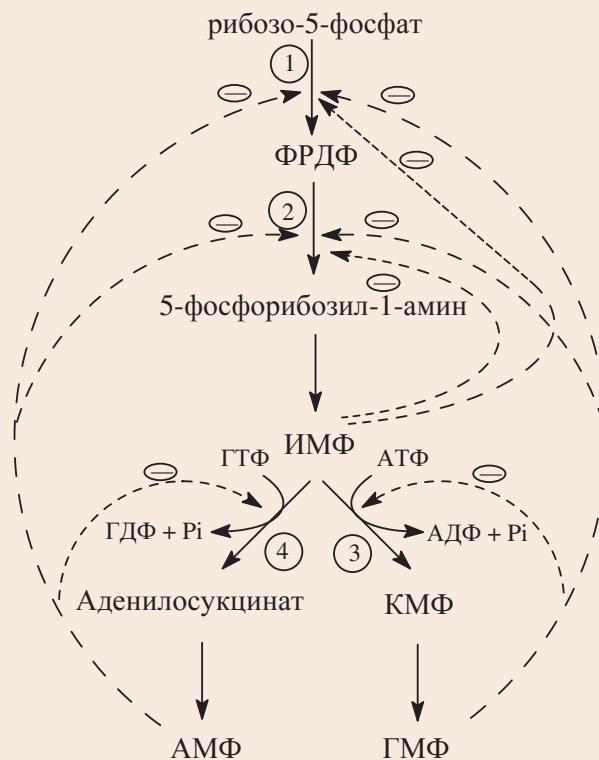
киназ). АДФ и ГДФ образуются в реакциях, катализируемых аденилаткиназой и гуанилаткиназой соответственно:



а НДФ-киназа осуществляет синтез НТФ, в частности превращает ГДФ в ГТФ:  
 $\text{ГДФ} + \text{АТФ} \rightarrow \text{ГТФ} + \text{АДФ}$

Образование АТФ из АДФ в основном происходит за счет окислительного фосфорилирования или частично в реакциях субстратного фосфорилирования, которые встречаются в гликолизе, цитратном цикле или при использовании креатинфосфата в мышцах.

Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов осуществляется аллостерически по механизму отрицательной обратной связи (рис. 10.30).



**Рис. 10.30. Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов:**

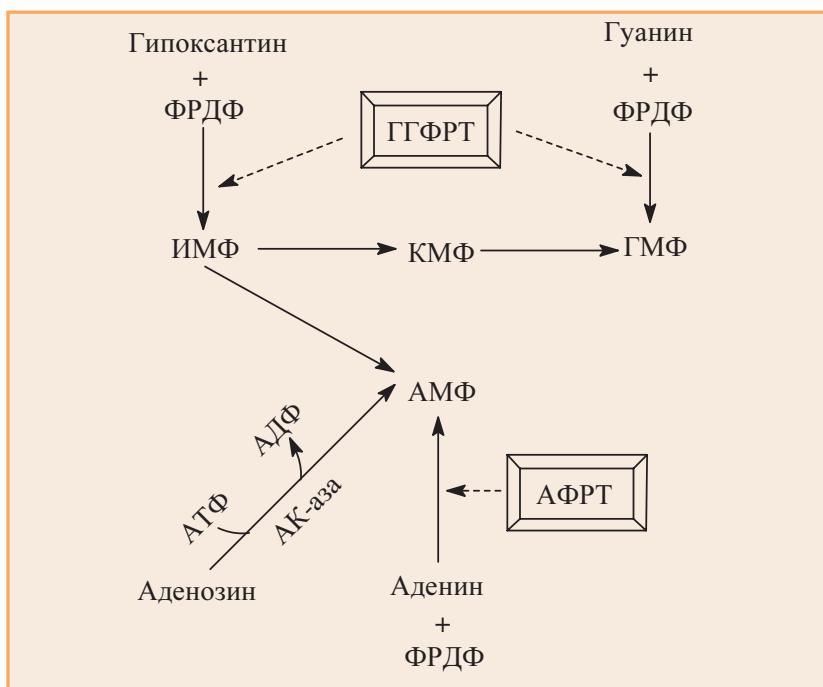
1 — ФРДФ-синтетаза; 2 — амилофосфорибозилтрансфераза;

3 — ИМФ-дегидрогеназа; 4 — аденилосукцинатсинтетаза

АМФ, ГМФ и ИМФ ингибируют ключевые реакции своего синтеза. Два фермента: ФРДФ-синтетаза и амидофосфорибозилтрансфераза ингибируются лишь при одновременном повышении концентрации АМФ и ГМФ, тогда как активность аденилосукцинатсинтетазы и ИМФ-дегидрогеназы снижается лишь при увеличении количества конечного продукта, образующегося в каждой из ветвей метаболического пути. АМФ ингибирует превращение ИМФ в аденилосукцинат, а ГМФ — превращение ИМФ в ксантоzin-5'-монофосфат (КМФ), обеспечивая таким образом сбалансированное содержание адениловых и гуаниловых нуклеотидов.

«Запасные» пути синтеза пуриновых нуклеотидов играют заметную роль в периоды активного роста тканей, когда основной путь синтеза из простых предшественников не способен полностью обеспечить нуклеиновые кислоты субстратами (рис. 10.31). При этом возрастает активность:

- гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы (ГГФРТ), катализирующющей превращение азотистых оснований: гипоксантина и гуанина в ну-



**Рис. 10.31. «Запасные» пути синтеза пуриновых нуклеотидов:**

ГГФРТ — гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза;

АФРТ — аденинфосфорибозилтрансфераза; АКаза — аденоzinкиназа

клеотиды –ИМФ и ГМФ с использованием ФРДФ в качестве донора фосфорибозы;

- аденинфосфорибозилтрансферазы (АФРТ), синтезирующей АМФ из аденина и ФРДФ;
- аденоzinкиназы (АКаза), превращающей аденоzin в АМФ за счет переноса  $\gamma$ -фосфатного остатка АТФ на 5'-гидроксильную группу рибозы нуклеозида.

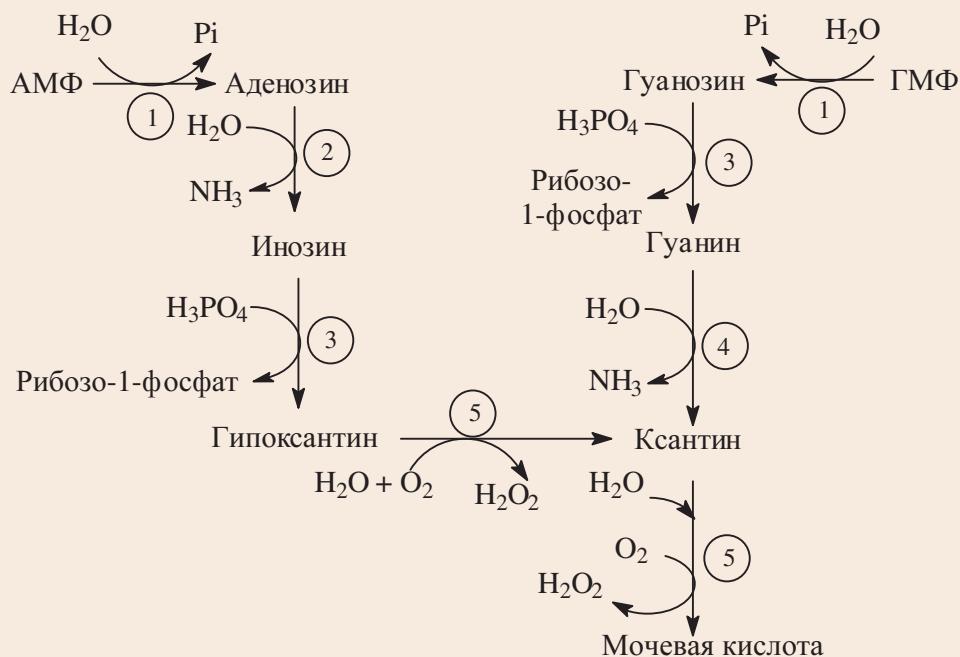
### **Катаболизм пуриновых нуклеотидов. Гиперурикемия и подагра**

У человека катаболизм пуриновых нуклеотидов заканчивается образованием **мочевой кислоты**. Первоначально нуклеотиды гидролитически теряют фосфатный остаток в реакциях, катализируемых фосфатазами или нуклеотидазами. Аденозин дезаминируется **аденозиндезаминазой** с образованием иноцина. **Пуриннуклеозидфосфорилаза** расщепляет нуклеозиды до свободных оснований и рибозо-1-фосфата. Затем **ксантиноксидаза** — аэробная оксидоредуктаза, простетическая группа которой включает ионы железа ( $Fe^{3+}$ ), молибдена и FAD, превращает азотистые основания в мочевую кислоту. Фермент в значительных количествах обнаруживается в печени и кишечнике и окисляет пурины молекулярным кислородом (рис. 10.32). Мочевая кислота удаляется из организма человека главным образом с мочой и немного с фекалиями. Она является слабой кислотой и в биологических жидкостях находится в недиссоциированной форме в комплексе с белками или в виде мононатриевой соли — урата. В норме в сыворотке крови ее концентрация составляет 0,15–0,47 ммоль/л или 3–7 мг/дл. Из организма ежесуточно выводится от 0,4 до 0,6 г мочевой кислоты и уратов.

Частым нарушением катаболизма пуринов является **гиперурикемия**, которая возникает, когда в плазме крови концентрация мочевой кислоты превышает норму. Из-за плохой растворимости этого вещества на фоне гиперурикемии развивается **подагра** — заболевание, при котором кристаллы мочевой кислоты и уратов откладываются в суставных хрящах, связках и мягких тканях с образованием подагрических узлов или тофусов, вызывая воспаление суставов и нефропатию. Подагрой страдает от 0,3 до 1,7 % населения земного шара. У мужчин сывороточный фонд уратов в два раза выше, чем у женщин, поэтому они болеют подагрой в 20 раз чаще, чем женщины. Заболевание генетически детерминировано и вызывается:

- дефектами ФРДФ-синтетазы, связанными с гиперактивацией, либо устойчивостью фермента к ингибиции конечными продуктами синтеза;
- частичной потерей активности гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы, которая обеспечивает повторное использование пуринов.

При полной потере активности гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы развивается тяжелая форма гиперурикемии — **синдром**



**Рис. 10.32. Катаболизм пуриновых нуклеотидов:**

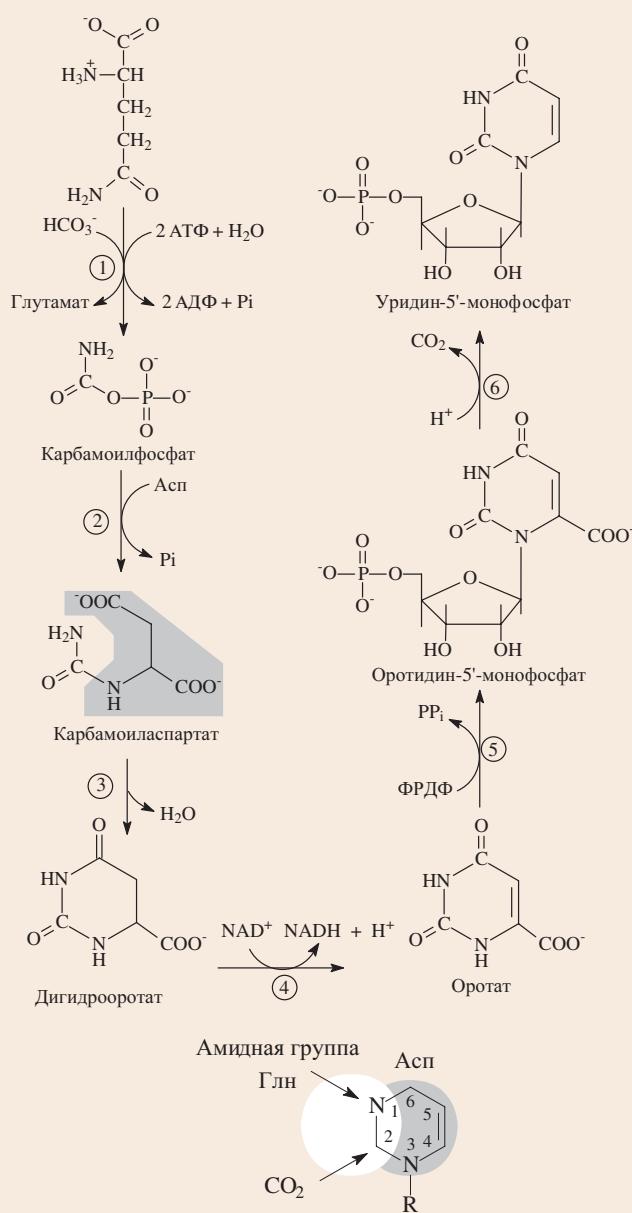
- 1 — нуклеотидаза или фосфатаза; 2 — аденоиндезаминаза;  
3 — пуриннуклеозидфосфорилаза; 4 — гуаназа; 5 — ксантиноксидаза

**Леша—Найхана**, при котором наблюдаются неврологические и психические отклонения. Болезнь наследуется как рецессивный признак, сцепленный с X-хромосомой и встречается только у мальчиков.

Лечат подагру **аллопуринолом** — структурным аналогом гипоксантина. Ксантиноксидаза окисляет препарат в оксипуринол, который прочно связывается с активным центром фермента и останавливает катаболизм пуринов на стадии гипоксантина, который в 10 раз лучше растворим в жидкостях организма, чем мочевая кислота.

### Биосинтез и катаболизм пиримидиновых нуклеотидов. Оротацидурия

В отличие от синтеза пуриновых нуклеотидов, при котором азотистое основание формируется на остатке рибозо-5'-фосфата, пиримидиновое кольцо первоначально собирается из простых предшественников: глутамина, аспартата и  $\text{CO}_2$ . Затем оно взаимодействует с ФРДФ и превращается в **уридин-5'-монофосфат** — УМФ (рис. 10.33).



**Рис. 10.33. Происхождение атомов пиридинового кольца и синтез УМФ:**

I — КАД-фермент: 1 — карбамоилфосфатсинтетаза П; 2 — аспартаттранскарбамоилаза;

3 — дигидрооротаза; 4 — Дигидрооротатдегидрогеназа;

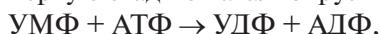
II — УМФ-синтаза: 5 — оротатфосфорибозилтрансфераза, 6 — ОМФ-декарбоксилаза

Синтез УМФ протекает в цитозоле клеток и включает 6 стадий, катализируемых 3 ферментами, два из которых полифункциональны. На первой стадии идет синтез карбамоилфосфата из Глн и  $\text{CO}_2$  с использованием 2 молекул АТФ. При присоединении к карбамоилфосфату Асп и отщеплении  $\text{H}_2\text{O}$  образуется циклическое соединение — **дигидрооротат**, который является продуктом первого полифункционального белка — **КАД-фермента**. Название КАД складывается из начальных букв ферментативных активностей, которыми обладают отдельные каталитические домены:

**карбамоилфосфатсинтетазы П (КФС П), аспартаттранскарбамоилазы и дигидрооротазы.** Дигидрооротат далее окисляется в **оротат** под действием **NAD-зависимой дигидрооротатдегидрогеназы** и при участии второго бифункционального фермента — **УМФ-синтазы** превращается в УМФ.

УМФ образует УТФ в две стадии:

первую стадию катализирует **УМФ-киназа**,



в вторую — **НДФ-киназа** с широкой субстратной специфичностью



ЦТФ образуется из УТФ под действием **ЦТФ, синтетазы**, которая, используя энергию АТФ, замещает кетогруппу урацила на амидную группу Глн:



Регуляция синтеза пиримидиновых нуклеотидов осуществляется аллостерически по механизму отрицательной обратной связи:

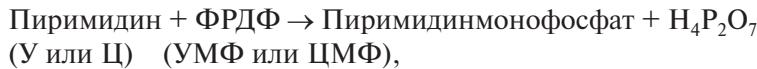
- УТФ ингибирует активность КФС П в составе КАД-фермента;

- УМФ и ЦМФ подавляют активность второго полифункционального фермента — УМФ-синтазы;

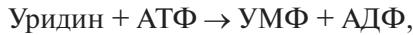
- накопление ЦТФ снижает активность ЦТФ синтетазы.

Запасные пути в синтезе пиримидиновых нуклеотидов не играют столь существенной роли, что в синтезе пуриновых нуклеотидов, хотя в клетках обнаружены:

**пиримидинфосфорибозилтрансфераза**, катализирующая реакцию:



**уридинкиназа**, превращающая нуклеозид в нуклеотид:



и **уридининфосфорилаза**, способная обращать реакцию деградации нуклеозида: урацил + рибозо-1-фосфат  $\rightarrow$  уридин +  $\text{H}_3\text{PO}_4$ .

В процессе катаболизма цитидиловые нуклеотиды гидролитически теряют аминогруппу и превращаются в УМФ. Когда от УМФ и дТМФ отщепляются неорганический фосфат с помощью нуклеотидазы или фосфатазы и рибоза при участии фосфорилаз, то остаются азотистые основания — урацил и тимин. Оба гетероцикла могут подвергаться гидрированию с участием NADPH-зависимой дигидропиримидиндегидрогеназы и гидролитическому расщеплению с образованием из дигидроурацила —  $\beta$ -уреидопропионовой, а из дигидротими-

на —  $\beta$ -уреидомасляной кислот. Дальнейшее гидролитическое расщепление уреидопроизводных заканчивается образованием  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_4$  и  $\beta$ -аланина или  $\beta$ -аминомасляной кислоты.

Среди нарушений обмена пириимидиновых нуклеотидов описано лишь одно редкое наследственное заболевание — **оротацидурия**, которое возникает в результате мутации в гене второго полифункционального фермента — УМФ-синтазы. В этом случае нарушается превращение оротата в УМФ, большие количества оротата (до 1,5 г в сутки) выводятся с мочой. Развивается недостаточность пириимидиновых нуклеотидов. Для лечения этого заболевания используют уридин или цитидин в дозах от 0,5 до 1 г в сутки, которые с помощью нуклеозидкиназы превращаются в УМФ или ЦМФ в обход нарушенной реакции.

### Образование дезоксирибонуклеотидов

Обычно внутриклеточная концентрация дезоксирибонуклеотидов очень низка, но в S-фазу клеточного цикла она возрастает, обеспечивая синтез ДНК субстратами. В образовании дезоксирибонуклеотидов участвуют два ферментных комплекса: **рибонуклеотидредуктазы** и **тимидилатсинтазы**.

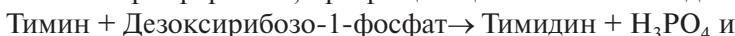
Восстановление всех рибонуклеотидов в дезоксипроизводные катализирует рибонуклеотидредуктазный комплекс, который включает собственно **рибонуклеотидредуктазу**, белок-восстановитель — **тиоредоксин** и фермент — **тиоредоксинредуктазу**, участвующий в регенерации тиоредоксина с помощью NADPH (рис. 10.34).

Рибонуклеотидредуктаза — аллостерический фермент, активность которого зависит от концентрации отдельных дНТФ, причем дАТФ является ингибитором восстановления всех рибонуклеотидов. Это обстоятельство объясняет возникновение тяжелейших форм **иммунодефицитов** при снижении активности ферментов катаболизма пуринов: **аденозиндезаминазы** или **пуриннуклеозидфосфорилазы** (рис. 10.32). Недостаточность этих ферментов приводит к накоплению в В- и Т-лимфоцитах дАТФ и дГТФ, которые аллостерически ингибируют рибонуклеотидредуктазу и лишают ДНК предшественников. Синтез ДНК снижается, и клетки перестают делиться.

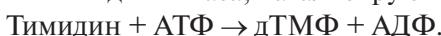
Синтез тимидиловых нуклеотидов катализирует тимидилатсинтазный комплекс, в который входит **тимидилатсинтаза**, катализирующая включение одноуглеродного радикала в молекулу дУМФ, **дигидрофолатредуктаза**, обеспечивающая восстановление  $\text{H}_2\text{-фолата}$  в  $\text{H}_4\text{-фолат}$  с участием NADPH, и **серин-оксиметилтрансфераза**, осуществляющая перенос оксиметильной группы Сер на  $\text{H}_4\text{-фолат}$  с образованием  $\text{N}^5\text{N}^{10}\text{-метилен-}\text{H}_4\text{-фолата}$  (рис. 10.35). В организме человека дУМФ образуется из дЦДФ путем дефосфорилирования и последующего гидролитического дезаминирования.

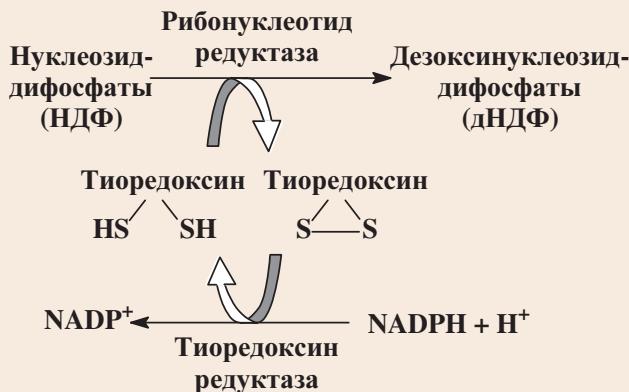
Среди «запасных» путей синтеза определенное значение имеют:

- тиминфосфорилаза, превращающая тимин в тимидин:



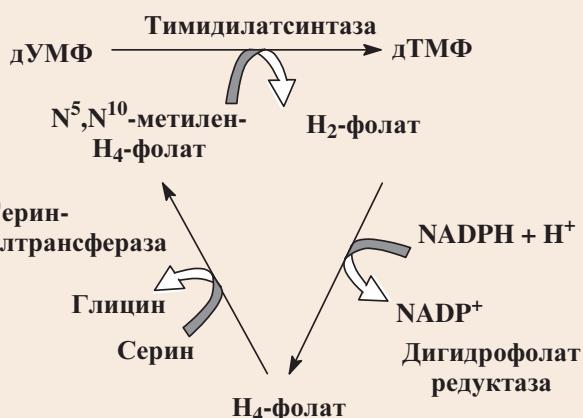
- тимидинкиназа, катализирующая фосфорилирование тимидина.





**Рис. 10.34. Восстановление рибонуклеозиддифосфатов в дезоксипроизводные.**

Восстановителем рибонуклеотидов в форме НДФ является тиоредоксин, сульфгидрильные группы которого окисляются в ходе этой реакции. Окисленный тиоредоксин восстанавливается тиоредоксинредуктазой с участием NADPH



**Рис. 10.35. Синтез тимидин-5'-монофосфата.**

Тимидилатсинтаза не только переносит метиленовую группу N<sup>5</sup>N<sup>10</sup>-метилен-H<sub>4</sub>-фолата в 5-е положение пиримидинового основания дУМФ, но и восстанавливает ее в метильный радикал, забирая два атома водорода от H<sub>4</sub>-фолата, поэтому восполнение запасов N<sup>5</sup>N<sup>10</sup>-метилен H<sub>4</sub>-фолата нуждается в работе еще двух ферментов: дигидрофолатредуктазы и сериноксиметилтрансферазы

## Использование ингибиторов синтеза нуклеотидов в качестве противовирусных и противоопухолевых препаратов

Аналоги азотистых оснований, нуклеозидов и нуклеотидов широко используются в медицинской практике в качестве лекарственных препаратов (табл. 10.3). Они могут:

- ингибировать определенные ферменты, участвующие в синтезе нуклеотидов или нукleinовых кислот;
- включаться в растущие цепи РНК или ДНК и останавливать рост цепей.

**Таблица 10.3**

### Некоторые противоопухолевые и противовирусные препараты

| Соединения                                                             | Механизм действия                                                                                                                                 | Область применения                                                    |
|------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| 5-Фторурацил                                                           | Превращается в рибо- и дезоксирибонуклеотиды, которые ингибируют тимиодинатсинтазу и рост цепей РНК                                               | Лечение солидных опухолей желудка, ЖКТ, молочной железы, легких и др. |
| Метотрексат                                                            | Структурный аналог фолиевой кислоты, ингибирует дигидрофолатредуктазу, нарушает синтез пуриновых нуклеотидов и превращение ДУМФ в ДТМФ            | Химиотерапия опухолей                                                 |
| Тиогуанин                                                              | Антиметаболит, нарушает синтез ДНК и митоз в опухолевых клетках                                                                                   | Лечение острых лейкозов и хронического миелолейкоза                   |
| Ацикловир<br>(ацикло-гуанозин)                                         | Превращается в соответствующий НТФ и останавливает синтез вирусной ДНК                                                                            | Лечение герпесных инфекций                                            |
| Цидовудин<br>(аналог тимицидина)<br>Зальцитабин (аналог 2'-д-цитидина) | Фосфорилируются в клетках организма с образованием д-НТФ, ингибируют обратную транскриптазу и блокируют репликацию вируса иммунодефицита человека | Лечение СПИДа и профилактика инфекций, вызванных ВИЧ                  |

# Раздел 11

## Интеграция метаболизма

Интеграция метаболизма углеводов, жиров и белков обеспечивается:

- наличием в метаболических путях общих промежуточных продуктов;
- возможностью взаимопревращений веществ через общие метabolиты;
- использованием общих коферментов;
- существованием общего пути катаболизма и единой системы освобождения и использования энергии (дыхательная цепь);
- использованием сходных механизмов регуляции.

На рис. 11.1 представлена общая схема основных метаболических путей углеводов, белков и жиров, описанных в предыдущих главах.

### 11.1. Комpartmentализация и регуляция метаболических путей

Существенную роль в контроле метаболизма играет разделение метаболических процессов по отдельным отсекам (комpartmentам) клеток (табл. 11.1).

Таблица 11.1

#### Комpartmentализация основных метаболических путей

| Комpartment | Метаболический процесс                                                                                     |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Цитозоль    | Гликолиз<br>Глюконеогенез<br>Пентозофосфатный путь<br>Биосинтез липидов<br>Биосинтез пуринов и пиримидинов |
| Митохондрия | Цитратный цикл<br>$\beta$ -окисление жирных кислот<br>Синтез кетоновых тел<br>Дыхательная цепь             |

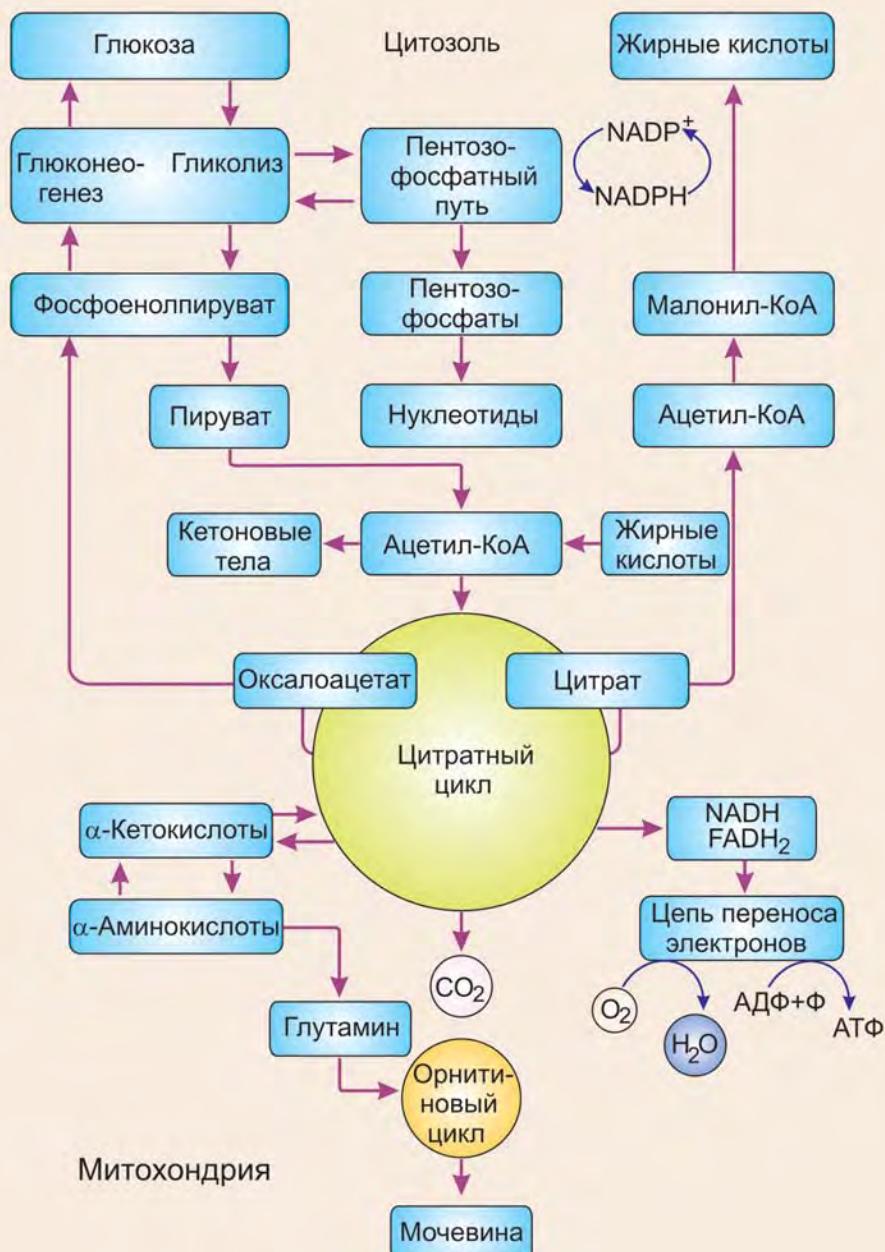


Рис. 11.1. Интеграция метаболизма

При рассмотрении таблицы 11.1 можно сделать следующие выводы:

- метаболические процессы, связанные с биосинтезом и взаимопревращениями веществ, в основном связаны с цитозолем. NADPH, необходимый для реакций восстановления, образуется также в цитозоле в результате окислительной стадии пентозофосфатного пути превращения глюкозы;
- окислительные реакции в процессе катаболизма связаны с дыханием, протекают в митохондриях и используют в качестве коферментов  $\text{NAD}^+$  и флавопротеины.

Интеграция метаболических путей обеспечивает жизнедеятельность организма, а это:

- производство энергии в процессе окислительного распада пищевых веществ (механизмы высвобождения и использования энергии описаны ранее);
- биосинтез веществ и структурно-функциональных компонентов клетки. Образование ключевых метаболитов и восстановленных коферментов, необходимых для биосинтеза.

**Ключевые метаболиты**, находящиеся в точках разветвления метаболических путей, обеспечивают переключение метаболизма с одного пути на другой в зависимости от потребностей организма. Эти вопросы частично рассматривались ранее, поэтому приведем лишь некоторые примеры.

**Глюкозо-6-фосфат** образуется в точке соединения и разветвления таких процессов, как депонирование глюкозы — синтез гликогена, использование запасенного энергетического материала — распад гликогена, пентозофосфатный путь, обеспечивающий образование NADPH, аэробный распад глюкозы, дающий организму энергию.

**Пируват** начинает путь общий катаболизма для углеводов, белков и жиров и открывает для них вход в цитратный цикл, где образуются метаболиты, используемые для глюконеогенеза и синтеза ряда аминокислот. Пируват тоже может быть субстратом для этих синтезов.

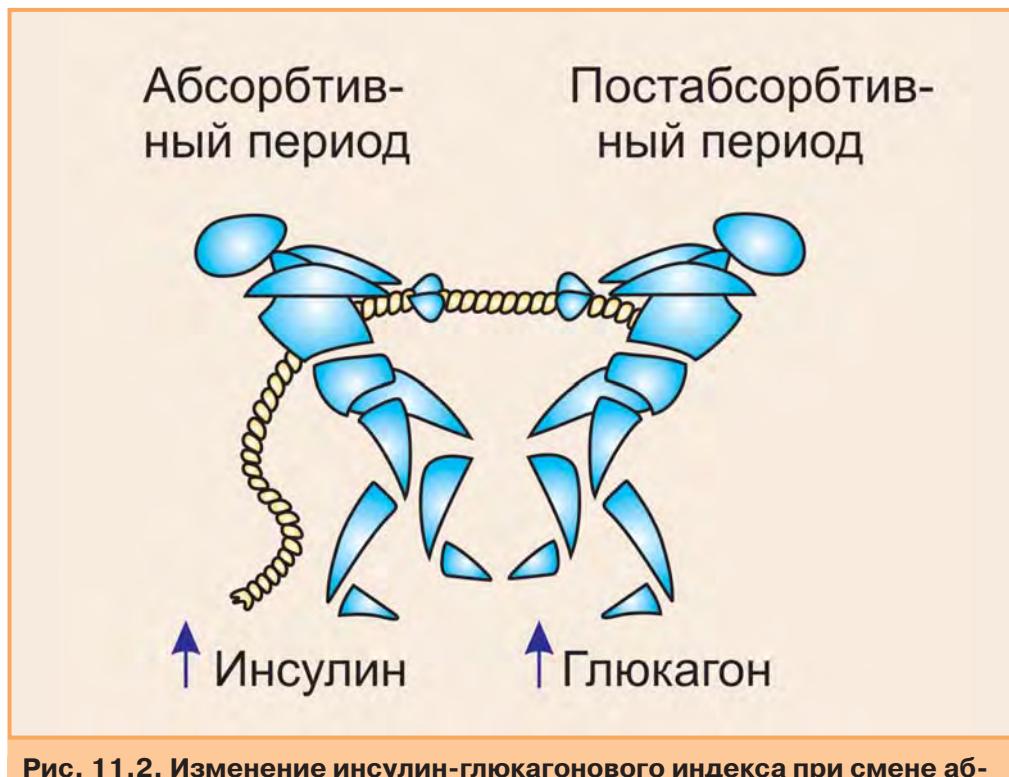
**Ацетил-КоА** включает белки, жиры и углеводы в первую реакцию цитратного цикла. Он также служит субстратом для синтеза кетоновых тел. Кроме того, в период пищеварения ацетил-КоА экспортируется в цитозоль в форме цитрата и используется для синтеза жирных кислот и холестерола. Превращение пирувата в ацетил-КоА необратимо и, следовательно, невозможно превратить жирные кислоты в глюкозу.

**Регуляторные механизмы** переключения одного метаболического пути на другой частично рассматривались ранее. Регуляция может осуществляться путем изменения: концентрации ферментов; активности ферментов; концентрации субстратов, продуктов, а также кофакторов. Рассмотрим регуляцию метаболизма углеводов, жиров и белков под влиянием гормонов. Переклю-

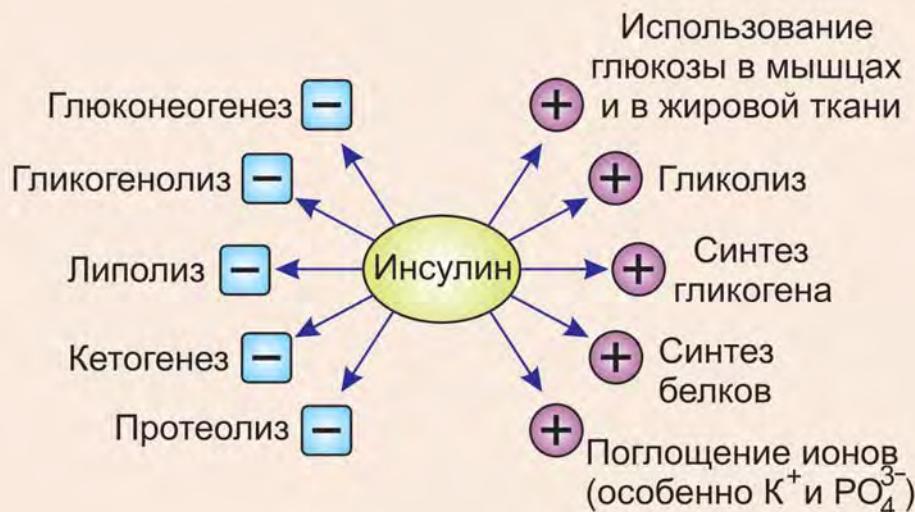
жение метаболических путей под влиянием гормонов происходит постоянно в зависимости от ритма питания, состава пищи и физиологической активности организма.

**Инсулин и глюкагон** играют главную роль в регуляции метabolизма при смене абсорбтивного и постабсорбтивного периодов. Главным переключающим фактором в печени является **инсулин-глюкагоновый индекс** (рис. 11.2), отражающий относительную концентрацию этих гормонов при смене абсорбтивного состояния организма на постабсорбтивное. Характеристика строения и механизма действия инсулина и глюкагона даны в разделах 4 и 8.

В **период пищеварения** влияние гормонов направлено на запасание веществ-энергоносителей для использования их в последующем. После всасывания из кишечника концентрация глюкозы в крови увеличивается, и это является стимулом для секреции **инсулина**. Последний стимулирует процессы депонирования всех мономеров, образовавшихся в результате переваривания. Так, инсулин ускоряет синтез гликогена в печени и мышцах, синтез липидов и белков. Инсулин увеличивает поглощение глюкозы некоторыми клетками и таким образом ускоряет пути ее использования (рис. 11.3).



**Рис. 11.2. Изменение инсулин-глюкагонового индекса при смене абсорбтивного периода на постабсорбтивный**



**Рис. 11.3. Действие инсулина на метаболические процессы** + — стимуляция процесса, — — угнетение процесса

Эффекты инсулина на метаболические процессы можно разделить на 3 группы (табл. 11.2).

1. Эффекты, проявляющиеся в течение секунд, — влияние на транспорт глюкозы в клетки мышечной и жировой ткани, на транспорт натрия, кальция, жирных кислот.

2. Эффекты, проявляющиеся в течение минут, — изменение активности ферментов путем фосфорилирования и дефосфорилирования.

3. Медленные эффекты, проявляющиеся от минут до часов, — индукция и препрессия синтеза ферментов.

Очень быстрые эффекты инсулина обусловлены влиянием на локализацию и конформацию белков мембран. Например:

а) перемещение белков—переносчиков глюкозы — ГЛЮТов из цитозоля в мембрану;

б) перемещение фосфодиэстеразы из мембраны в цитозоль с последующим снижением концентрации цАМФ в клетке, поскольку повышение концентрации цАМФ повышает активность протеинкиназы А и ускоряет фосфорилирование  $\beta$ -субъединиц рецептора инсулина по остаткам серина и треонина, снижая его сродство к инсулину.

Таблица 11.2

## Влияние инсулина на некоторые регуляторные ферменты

| Печень                                                                                                                                                                                                         | Мышцы                                                                                                                    | Жировая ткань                                                                         |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Активация ферментов путем дефосфорилирования</b>                                                                                                                                                            |                                                                                                                          |                                                                                       |
| 1. Фосфодиэстераза<br>2. Фософруктокиназа<br>3. Пиruваткиназа<br>4. Пиruватдегидрогеназа<br>5. Фосфатаза гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы<br>6. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа.<br>Ацетил-КоА-карбоксилаза | 1. Фосфодиэстераза<br>2. Фософруктокиназа<br>3. Пиruваткиназа<br>4. Пиruватдегидрогеназа<br>5. Фосфатаза гликогенсинтазы | 1. ЛП-липаза<br>2. Фософруктокиназа<br>3. Пиruваткиназа<br>4. Ацетил-КоА-карбоксилаза |
| <b>Индукция синтеза ферментов</b>                                                                                                                                                                              |                                                                                                                          |                                                                                       |
| 1. Глюкокиназа<br>2. Цитратлиаза<br>3. Ацетил-КоА-карбоксилаза<br>4. Пальмитатсинтаза<br>5. Глюкозо-6- фосфатдегидрогеназа<br>6. Пиruваткиназа                                                                 |                                                                                                                          | 1. Пальмитатсинтаза<br>2. Глюкозо-6- фосфатдегидрогеназа                              |
| <b>Репрессия синтеза ферментов</b>                                                                                                                                                                             |                                                                                                                          |                                                                                       |
| 1. Фоfoенолпируват-карбоксикиназа                                                                                                                                                                              |                                                                                                                          |                                                                                       |

В постабсорбтивный период концентрация глюкозы снижается. В результате этого снижается секреция инсулина и уменьшается поглощение глюкозы всеми тканями, кроме нервной. Низкая концентрация глюкозы в крови является сигналом для секреции глюкагона.

Глюкагон ускоряет распад гликогена и усиливает мобилизацию триацилглицеролов, переключая окисление тканями преимущественно глюкозы на окисление жирных кислот и кетоновых тел. Оба — глюкагон и кортизол — ускоряют глюконеогенез из аминокислот и глицерола для поддержания концентрации глюкозы в крови на постоянном уровне. Это необходимо для энергоснабжения мозга, нервной ткани, эритроцитов и других тканей, активно использующих глюкозу в качестве основного субстрата окисления (рис. 11.4).

К контринаулярным гормонам принадлежат адреналин и кортизол. Они обеспечивают повышение концентрации глюкозы.

Адреналин. Стимулом для выделения в кровь гормона является острая стрессовая ситуация и (тяжелая) интенсивная физическая работа. Он синтезируется вместе с норадреналином в клетках мозгового слоя надпочечников из тирозина, запасает-

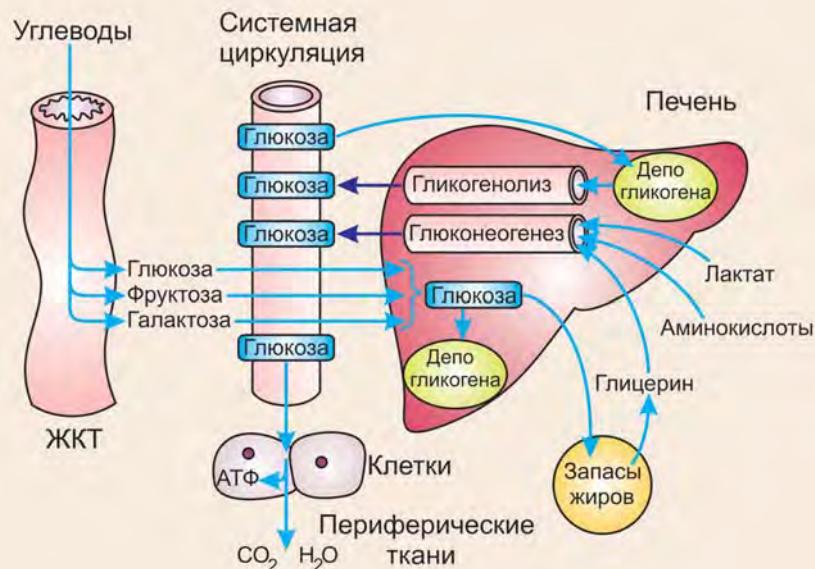


Рис. 11.4. Гомеостаз глюкозы

ся в гранулах и секретируется из них путем экзоцитоза.  $T_{1/2}$  адреналина составляет 10-30 с. За это время он достигает клеток-мишеней и передает сигнал с помощью  $\alpha$ - и  $\beta$ -адреноергических рецепторов. Взаимодействие гормона с  $\beta$ -рецепторами активирует аденилатциклазную систему, тогда как связывание с  $\alpha_2$ -рецептором ее ингибитирует. Связывание адреналина с  $\alpha_1$ -рецептором сопровождается активацией фосфолипазы С и включением инозитолфосфатной системы передачи сигнала.

Основными органами-мишениями для адреналина являются печень, мышцы и жировая ткань. Под влиянием гормона происходит мобилизация энергоресурсов организма: мобилизация гликогена в печени и мышцах, гидролиз жиров в жировой ткани.

Расщепление гликогена ускоряется за счет фосфорилирования и активации гликогенфосфорилазы с одновременным снижением активности гликогенсинтазы (см. раздел 8).

В жировой ткани фосфорилируется и тем самым активируется гормончувствительная ТАГ-липаза. В кровь поступают жирные кислоты и глицерол (см. раздел 8).

**Кортизол.** Сигналом для увеличения концентрации кортизола в крови служит широкий спектр стимулов: снижение концентрации глюкозы в крови, эмоциональное состояние, инфекции, травмы, боль, охлаждение и многое другое. Эти сигналы действуют непосредственно не на надпочечники, а реализуются

через гипоталамус-гипофизарную систему. Первоначально они стимулируют в клетках гипоталамуса синтез и секрецию кортикотропин-либерина, который по отросткам нейронов поступает в гипофиз, где ускоряет секрецию в кровь кортикотропина или адренокортикотропного гормона (АКТГ). Последний улавливается рецепторами клеток коры надпочечников и через аденилатциклазную систему активирует ферменты, участвующие в синтезе кортизола из холестерола, который, в свою очередь, образуется *de novo* из ацетил-КоА либо поступает в клетки в составе ЛПНП.

Органами-мишениями гормона служат печень, мышцы, соединительная и лимфоидная ткань. Передача сигнала кортизола в ткани осуществляется через внутриклеточные рецепторы, расположенные в цитозоле клеток путем регуляции транскрипции определенных генов.

В печени гормон стимулирует синтез белков, главным образом ферментов, участвующих в глюконеогенезе из аминокислот: тирозинаминотрансферазы, серинреониндегидратазы, ФЕР-карбоксикиназы.

В то же время кортизол тормозит синтез белков в мышцах, соединительной и лимфоидной тканях, тем самым повышая концентрацию в крови аминокислот. Они поступают в основном в печень и становятся субстратами синтеза глюкозы и мочевины. При этом концентрация глюкозы возрастает даже при отсутствии запасов гликогена в печени.

**Болезнь Иценко–Кушинга** (стериодный диабет) возникает при избыточном образовании кортикостероидов (прежде всего кортизола), которое может быть вызвано опухолями надпочечников, гипофиза или нарушением образования либеринов в гипоталамусе, а также опухолями в бронхах, тимусе, поджелудочной железе, выделяющими кортикотропинподобные вещества.

Характерными признаками заболевания являются:

- снижение толерантности к глюкозе и **гиперглюкоземия**. Концентрация глюкозы может превышать почечный барьер, и это сопровождается **глюкозурией**;
- **азотемия** сопутствует этому состоянию и возникает как результат повышенного синтеза мочевины;
- **остеопороз**, вызванный нарушением образования соединительной ткани, а точнее, коллагена и гликозамингликанов;
- **гипертония** сопровождает это заболевание и обусловлена повышенной продукцией альдостерона и самого кортизола, которые обеспечивают задержку NaCl и H<sub>2</sub>O.

В клинике в зависимости от первопричины гиперкортицизма различают собственно **болезнь Иценко–Кушинга**, вызванную опухолями гипофиза. Для лечения этой патологии эффективен дексаметазол — структурный аналог кортизола, способный подавлять секрецию АКТГ. Все остальные причины гиперкортицизма объединяют под названием **синдром Иценко–Кушинга**, для лечения которого дексаметазон не эффективен.

В табл. 11.3 показаны строение, механизм действия и основные эффекты инсулина, глюкагона, андреналина и кортизола на органы-мишени.

Таблица 11.3

**Строение, механизм действия и основные эффекты гормонов, регулирующих метаболизм углеводов, белков и жиров**

| Гормон и место его синтеза                      | Строение             | Сигнал для секреции                                           | Органы—мишени           | Механизм передачи сигнала      | Изменение метаболизма в клетках-мишениях                                               |
|-------------------------------------------------|----------------------|---------------------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Инсулин, $\beta$ -клетки поджелудочной железы   | Белок                | ↑ Концентрация глюкозы в крови                                | Печень                  | Через мембранные рецепторы     | ↑ Синтез гликогена<br>↑ Синтез белка<br>↓ Глюконеогенез                                |
|                                                 |                      |                                                               | Мышцы                   |                                | ↑ Синтез гликогена<br>↑ Синтез белка<br>↑ Транспорт глюкозы в клетку                   |
|                                                 |                      |                                                               | Жировая ткань           |                                | ↑ Синтез жиров из глюкозы<br>↑ Транспорт глюкозы в клетку                              |
| Глюкагон, $\alpha$ -клетки поджелудочной железы | Пептид               | ↓ Концентрация глюкозы в крови                                | Печень<br>Жировая ткань | Через мембранные рецепторы     | ↑ Распад гликогена<br>↑ Глюконеогенез<br>↑ Липолиз                                     |
| Адреналин, клетки коркового слоя надпочечников  | Производное тирозина | Сигнал ЦНС                                                    | Печень<br>Мышцы         | Через мембранные рецепторы     | ↑ Распад гликогена<br>↑ Распад гликогена<br>↑ Липолиз                                  |
|                                                 |                      |                                                               | Жировая ткань           |                                |                                                                                        |
| Кортизол, клетки коркового слоя надпочечников   | Стероид              | Концентрация глюкозы в крови, опосредованная кортико-тропином | Печень                  | Через плазматические рецепторы | ↑ Глюконеогенез<br>Индукция синтеза ферментов глюконеогенеза и катаболизма аминокислот |
|                                                 |                      |                                                               | Мышцы                   |                                | ↑ Катаболизм аминокислот<br>↓ Поступление аминокислот в клетку                         |

## 11.2. Сахарный диабет

Сахарный диабет (*Diabetes mellitus*) — широко распространенное заболевание, которое наблюдается при абсолютном или относительном дефиците инсулина. Нехватка этого пептидного гормона отражается главным образом на обмене углеводов и липидов. Сахарный диабет встречается в двух формах. При диабете I типа (инсулинзависимом сахарном диабете) уже в раннем возрасте происходит гибель инсулиnsинтезирующих клеток в результате аутоиммунной реакции. Менее тяжелый диабет II типа (инсулиннезависимая форма) обычно проявляется в более пожилом возрасте. Он может быть вызван различными причинами, например пониженной секрецией инсулина или нарушением функций рецептора инсулина.

### Биосинтез инсулина

Инсулин синтезируется в  $\beta$ -клетках островков Лангерганса поджелудочной железы. Как и многие секреторные белки, предшественник гормона (препроинсулин) содержит сигнальный пептид, который направляет пептидную цепь внутрь эндоплазматического ретикулума, где после отщепления сигнального пептида и замыкания дисульфидных мостиков образуется проинсулин. Последний поступает в аппарат Гольджи и депонируется в клеточных везикулах,  $\beta$ -гранулах. В этих гранулах путем отщепления *C-пептида* образуется зрелый инсулин, который сохраняется в форме цинксодержащего гексамера вплоть до секреции (рис. 11.5).

### Последствия дефицита инсулина

Недостаточность инсулина ведет к глубоким нарушениям промежуточного метаболизма, что и наблюдается у больных сахарным диабетом.

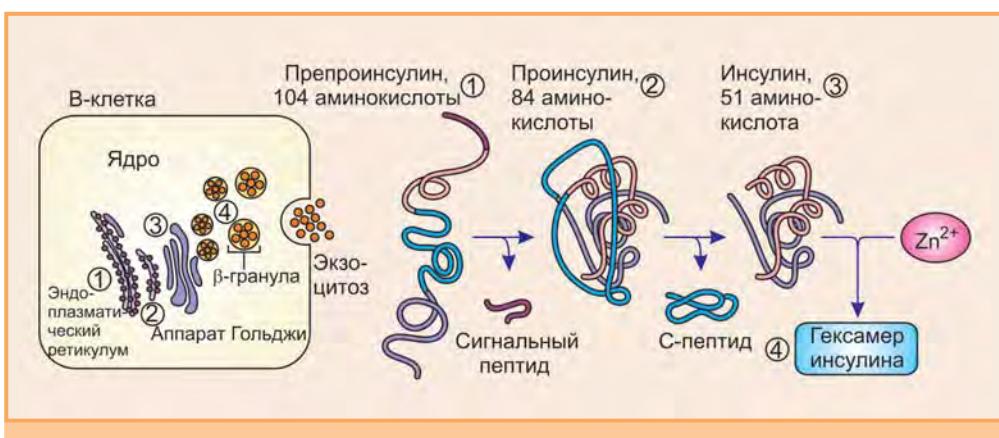


Рис. 11.5. Биосинтез инсулина

Характерный признак заболевания — повышение концентрации глюкозы в крови с 5 мМ (90 мг/дл) до 9 мМ (160 мг/дл) и выше (гипергликемия, повышенный уровень глюкозы в крови). В мышцах и жировой ткани, двух наиболее важных потребителях глюкозы, нарушаются процессы усвоения и утилизации глюкозы в результате исчезновения из состава мембран ГЛЮТ-4 (их появление в мембранах зависит от инсулина). В связи с дефицитом инсулина печень также утрачивает способность использовать глюкозу крови на синтез гликогена и ТАГ. Одновременно в связи с повышением в крови концентрации глюкагона и кортизола повышается глюконеогенез и усиливается протеолиз в мышцах. При сахарном диабете инсулин-глюкагоновый индекс снижен. Это связано не только с уменьшением секреции инсулина, но и с увеличением секреции глюкагона (инсулин ингибирует секрецию глюкагона). В результате ослаблена стимуляция процессов складирования и усиlena стимуляция мобилизации запасов, усиlena настолько, что печень, мышцы, жировая ткань даже после приема пищи функционируют в режиме постабсорбтивного состояния. В этой драматической коллизии продукты переваривания, а также их метаболиты вместо того, чтобы складироваться в форме гликогена и жиров, циркулируют в крови. Для всех форм сахарного диабета характерна сниженная толерантность к глюкозе, т.е. гиперглюкоземия после приема пищи или даже натощак.

Это еще более увеличивает уровень глюкозы в крови. Нарушение реабсорбции глюкозы в почках при концентрации в плазме 9 мМ (180 мг/дл) и выше, приводит к ее выведению с мочой (глюкозурия).

Особенно серьезные последствия имеет повышение скорости катаболизма жиров. Накапливающиеся в больших количествах жирные кислоты частично используются в печени в синтезе липопротеинов, в основном ЛОНП (гиперлипидемия), остальные распадаются до ацетил-КоА. Избыточные количества ацетил-КоА, возникающие в результате неспособности цитратного цикла полностью его утилизировать, превращаются в кетоновые тела. Кетоновые тела — ацетоуксусная и  $\beta$ -гидроксимасляная кислоты — повышают концентрацию протонов и снижают рН крови. Вследствие этого может возникать тяжелый метаболический ацидоз (диабетическая кома). Образующийся ацетон придает дыханию больных характерный запах. Кетоновые тела удаляются с мочой (кетонурия).

При неадекватном лечении сахарный диабет может приводить к долгосрочным осложнениям: изменению состояния кровеносных сосудов (диабетические ангиопатии), повреждению почек (нефропатии), нервной системы и глаз, например хрусталика (катаракта) (рис. 11.6).

**Коматозные состояния (острые осложнения) при диабете развиваются в результате нарушения обмена глюкозы и жиров.**

Коматозные состояния при сахарном диабете могут быть разного патогенеза. Различают три основные формы:

1. Кетоацидотическая кома.
2. Гиперосмолярная кома.
3. Лактатацидотическая кома с выраженной гипоксией.

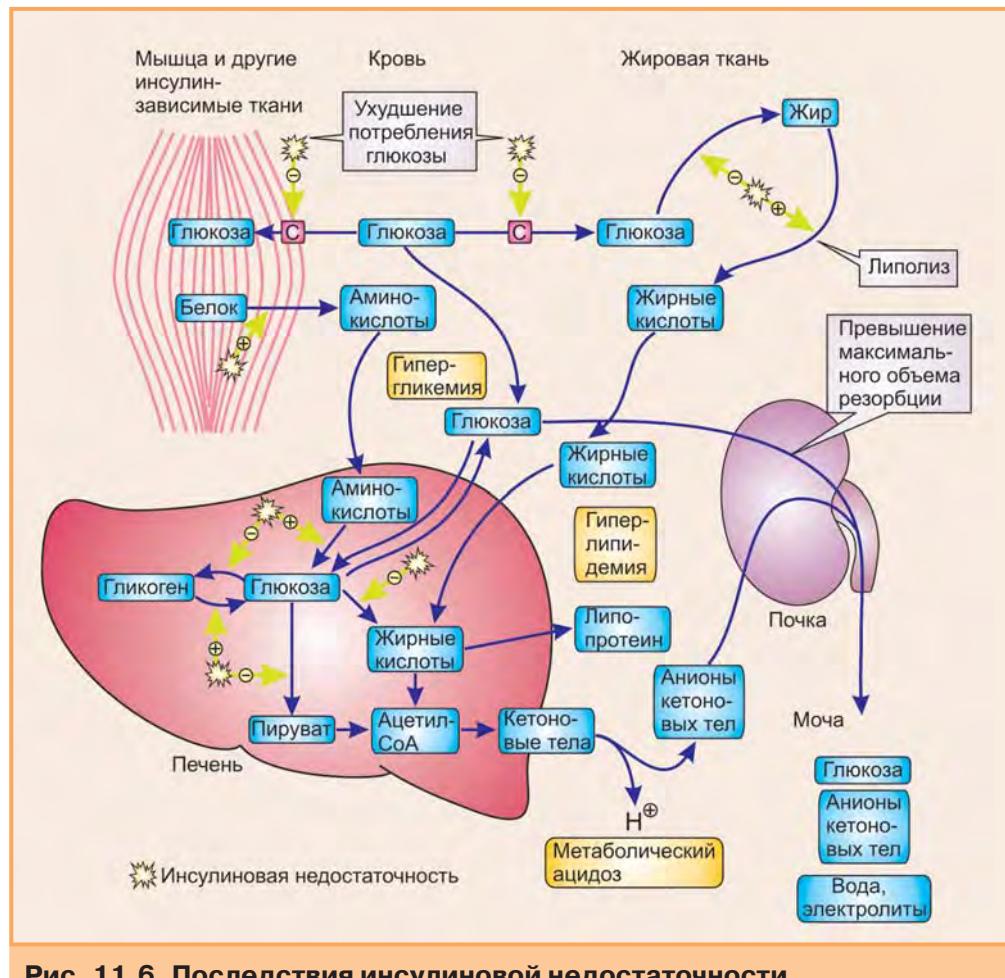


Рис. 11.6. Последствия инсулиновой недостаточности

Кроме того, при инсулинотерапии сахарного диабета может быть гипогликемическая кома, связанная с передозировкой инсулина. Первые три основные формы коматозного состояния практически никогда не встречаются в чистом виде, однако обычно преобладают проявления какой-нибудь одной из форм (часто — гиперосмолярной).

Первичной причиной кетоацидоза является инсулиновая недостаточность: в период комы С-пептид, отщепляющийся от молекулы проинсулина, и иммuno-реактивный инсулин (ИРИ) в крови не определяются. Гипергликемия отмечается всегда: 20–30 ммоль/л, а иногда и более. Ацидоз при диабетической коме является следствием накопления кетоновых тел, а также лактата и пирувата. Концентрация кетоновых тел достигает 2 ммоль/дл (в 200 раз больше нормы); она повышается не только вследствие синтеза в печени, но и потому, что снижа-

ется экскреция кетоновых тел с мочой, которая часто отмечается при коме. Снижение рН крови наблюдается всегда до 7 и ниже (норма 7,4).

Развивается дегидратация, дефицит воды может быть до 10% от общей массы тела. Количество циркулирующей жидкости уменьшается на 25–30%, в результате снижается кровяное давление.

Кислородное и энергетическое голодание миокарда, уменьшение объема крови ведут к сердечно-сосудистой недостаточности.

Диабетическая кома развивается, как правило, медленно, в течение нескольких дней, но иногда может возникнуть за несколько часов. Диабетическая кома требует немедленного лечения, которое включает следующие мероприятия:

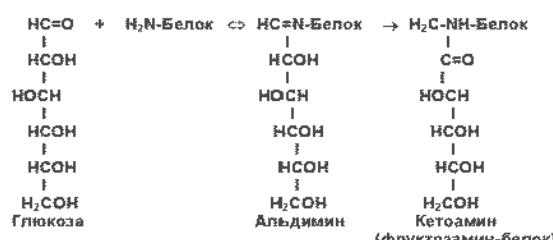
- ликвидацию инсулиновой недостаточности путем введения инсулина в дозах, обеспечивающих постепенное снижение концентрации глюкозы в крови до уровня, близкого к нормальному, регидратацию организма путем введения жидкости;
- восстановление нормального солевого состава и рН жидкостей организма путем введения соответствующих солевых растворов;
- восстановление запасов гликогена в организме.

Проявления комы обычно ликвидируются в течение 2–3 дней при непрерывно продолжающемся лечении, причем лечение в первые несколько часов имеет решающее значение для спасения жизни больного.

До развития методов лечения диабета инсулином больные умирали вскоре после начала болезни от диабетической комы. Но и теперь кома наблюдается нередко. В частности, первое проявление болезни в 15–30% случаев сопровождается кетоацидозом и комой. Смертность от диабетической комы остается высокой — от 1 до 30%. Но основной причиной смерти больных диабетом в настоящее время являются поздние осложнения.

### **Гликирование белков — одна из главных причин поздних осложнений сахарного диабета.**

Поздние осложнения сахарного диабета связаны прежде всего с повреждением кровеносных сосудов (диабетические ангиопатии). Основной механизм повреждения тканей — гликирование (гликозилирование) белков, неферментативная реакция глюкозы со свободными аминогруппами белковой молекулы (Лиз, Арг, N-концевая аминокислота):



При этом образуется нестабильная альдиминовая группировка, которая может превращаться в ряд других, более стабильных соединений («ранние продукты гликозилирования»). Понятно, что при этом функции белка могут быть нарушены в результате изменения заряда белковой молекулы, ее конформации или блокирования активного центра.

Гликозилирование — медленная реакция, в тканях здоровых людей обнаруживаются лишь небольшие количества гликозилированных белков. При гипергликемии реакция существенно ускоряется. Например, у больных диабетом в состоянии гипергликемии содержание одного из гликозилированных гемоглобинов — HbA<sub>1c</sub> — в течение 2–3 недель увеличивается в 2–3 раза. В крови человека содержится ряд гликозилированных гемоглобинов. Обычно определяют HbA<sub>1c</sub>, который содержится в наибольшей концентрации — в норме около 5% от всего гемоглобина; при диабете концентрация увеличивается в 2–3 раза. HbA<sub>1c</sub> определяют не только для диагностики, но и для контроля эффективности компенсации гликемии при инсулиновой терапии.

Степень гликозилирования разных белков неодинакова; в основном она зависит от скорости обновления данного белка. В медленно обменивающихся белках накапливается больше модифицированных аминогрупп. Кроме того, в таких белках происходят дальнейшие изменения углеводных остатков — перестройки структуры, окислительные превращения, в результате которых образуются разнообразные «поздние продукты гликозилирования» (ППГ), часто коричневого цвета, флуоресцирующие, и некоторые из них обладают высокой реакционной активностью и способностью дополнительно повреждать белки, в том числе образовывать поперечные сшивки между молекулами белков. К медленно обменивающимся белкам относятся многие белки соединительной ткани, базальных оболочек, межклеточного матрикса, базальных мембран. К тому же белки этих структур непосредственно контактируют с межклеточной жидкостью, в которой концентрация глюкозы такая же, как в крови (в клетках она обычно гораздо ниже в результате использования глюкозы в метаболических процессах). В этих структурах ППГ накапливается с возрастом, и накопление сильно ускоряется при сахарном диабете.

### Диабетические ангиопатии

Первичные проявления ангиопатий связаны с повреждением базальных мембран сосудов. Базальные мембранны (БМ) представляют собой пленки, на которых «растут» все клетки организма, кроме клеток соединительной ткани и крови: по одну сторону располагаются клетка или слой клеток, а другой стороной БМ контактирует с межклеточным матриксом. Эндотелий кровеносных сосудов, в том числе капилляров, тоже располагается на базальных мембранах. В отличие от всех прочих органов в капиллярах почечного клубочка БМ трехслойна, а клетки располагаются по обе стороны.

*Диабетические макроангиопатии.* Поражения крупных и средних сосудов сердца, мозга, нижних конечностей обычно имеют форму атеросклероза, однако развиваются в гораздо более раннем возрасте, чем у лиц, не страдающих диабетом. Смертность от сердечно-сосудистых заболеваний при диабете примерно втрое больше, чем при других формах сердечно-сосудистых заболеваний.

Большинство патологических изменений артерий происходит в интиме. Повреждение в результате гликирования может начинаться с БМ интимы, в результате изменяется реактивность клеток (эндотелиальных, гладкомышечных, макрофагов) и начинается поглощение липопротеинов и образование бляшки. Этому способствует хронически повышенное содержание ЛОНП (атерогенные ЛП) в крови больных диабетом.

Возможен и другой механизм повреждения артериальной стенки при сахарном диабете — гликирование белков, в частности коллагена и эластина, в среднем (media) и наружном (adventitia) слоях. Механические свойства упорядоченных сетевых структур, построенных из коллагена и эластина, имеют решающее значение для функционирования артерий.

### **Диагностика и лечение сахарного диабета**

Диагноз сахарного диабета часто можно поставить уже на основе жалоб больного на полиурию, полидипсию, полифагию, ощущение сухости во рту. Однако нередко необходимы специальные исследования, в том числе лабораторные.

*Тolerантность* к глюкозе определяют по ее концентрации натощак и после сахарной нагрузки. Когда концентрация глюкозы в плазме венозной крови в пределах нормы, т.е. не превышает 6,4 ммоль/л (у детей 7,2 ммоль/л) и возвращается к норме через 1,2–2 часа, то это является показателем здоровья пациента. Если концентрация глюкозы натощак больше 7,8 ммоль/л, то это свидетельствует о сахарном диабете, и в этом случае нет необходимости проводить тест толерантности к глюкозе.

Это возможно потому, что концентрация гликозилированного гемоглобина пропорциональна усредненной концентрации глюкозы в крови за последние несколько недель.

*Альбуминурия.* В норме с мочой выводится за сутки в среднем 8 мг альбумина. Состояние, когда суточное выведение альбумина достигает 30–300 мг, называют микроальбуминурией; при этом концентрация альбумина в моче равна 20–200 мг/л. При ИЗСД микроальбуминурия редко бывает в период 5–10 лет после постановки диагноза диабета, а появившись — непрерывно увеличивается на 15–40% в год. Микроальбуминурия является предвестником диабетической нефропатии, которая развивается через 6–12 лет после начала микроальбуминурии.

Основные традиционные методы лечения ИЗСД — это диетотерапия, инсулинотерапия, а также специфические методы лечения осложнений.

К диете при лечении диабета предъявляют строгие требования: 4–5-кратный прием пищи в течение суток, исключение легкоусвояемых («быстрых») углево-

дов (сахара, пива, спиртных напитков, сиропов, соков, сладких вин, пирожных, печенья, бананов, винограда и подобных им продуктов). Иногда соблюдение диеты можно использовать как единственный метод лечения. Однако гораздо чаще приходится прибегать и к другим методам, прежде всего к инсулиновой терапии. Инсулиновая терапия остается основным методом лечения. Она имеет целью поддерживать концентрацию инсулина в крови и препятствовать нарушениям складирования энергоносителей, в основном гликогена и жиров.

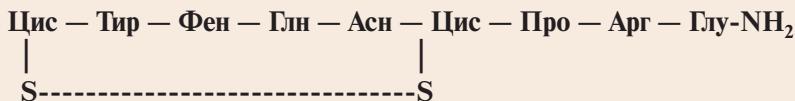
Сахаропонижающие препараты наиболее широко и эффективно применяются для лечения ИНСД. Они представляют собой производные сульфонилмочевины или бигуаниды. Механизм действия этих лекарств, найденных эмпирически, до сих пор остается не вполне ясным. Общим для них является то, что они снижают концентрацию глюкозы в крови.

### 11.3. Регуляция водно-солевого обмена

У человека массой 70 кг на долю воды приходится около 42 л, из них 28 л — это внутриклеточная, а 14 л — внеклеточная жидкость, из которых кровь составляет ~ 3,5 л. Среди веществ, растворенных в водных средах организма, ведущее место принадлежит ионам  $\text{Na}^+$ , обеспечивающим 95% осмотического давления плазмы и интерстициальной жидкости. Резкие изменения в количестве воды и растворенных в ней солей опасно для жизни, поэтому в организме существуют механизмы, обеспечивающие поддержание этих параметров практически на постоянном уровне. Объем жидкости и концентрация  $\text{NaCl}$  регулируются:

- антидиуретическим гормоном (АДГ), или вазопрессином;
- ренин-ангиотензин-альдостероновой системой;
- предсердным натрийуретическим фактором (ПНФ).

**Антидиуретический гормон (АДГ)** представляет собой нонапептид (рис. 11.7).



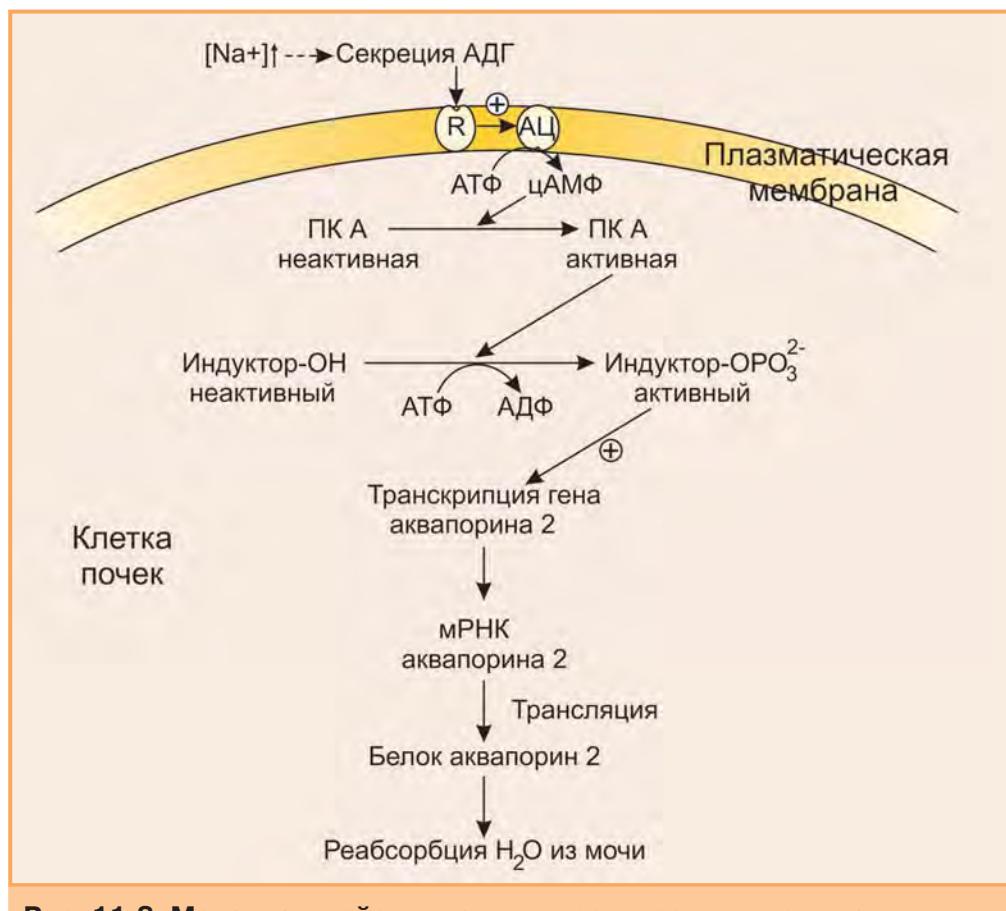
**Рис. 11.7. Строение антидиуретического гормона (АДГ), или вазопрессина**

Гормон синтезируется в виде прогормона в нейронах гипоталамуса, транспортируется в заднюю долю гипофиза, где хранится в составе комплекса с белком **нейрофизином**. В кровь секретируется при поступлении соответствующего сигнала. Первоначально АДГ был назван вазопрессином из-за способности су-

живать сосуды и повышать кровяное давление при введении в организм в фармакологических дозах.

Сигналом для секреции гормона является повышение осмотического давления тканевой жидкости. Для АДГ существует два типа рецепторов:  $V_1$  и  $V_2$ . Рецепторы  $V_2$  локализованы только на эпителиальных клетках почек и передают сигнал гормона через аденилатциклазную систему. Внутриклеточное фосфорилирование белков сопровождается активацией факторов транскрипции, участвующих в синтезе мРНК, кодирующущей строение белка **аквапорина-2**. Будучи синтезирован, этот белок встраивается в мембрану клеток почечных канальцев, образует водные каналы и обеспечивает реабсорбцию воды (рис. 11.8).

В результате осмотическое давление внеклеточной жидкости уменьшается и устраняется стимул, вызвавший выделение АДГ из аксонов задней доли гипофиза в кровь.



**Рис. 11.8. Механизм действия антидиуретического гормона:**

Индуктор-OPO<sub>3</sub><sup>2-</sup> — белок, стимулирующий экспрессию гена аквапорина 2

Все внепочечные рецепторы принадлежат к V<sub>1</sub>-типу. Они работают через инозитолфосфатную систему передачи сигнала и за счет увеличения концентрации внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> обеспечивают вазоконстрикторное действие гормона на стенки сосудов.

В результате травм, инфекций, опухолей гипоталамуса или гипофиза, нарушений передачи сигнала АДГ в клетки почек синтез и секреция гормона снижается. Это сопровождается увеличением экскреции разбавленной мочи — **полиуреей** (в тяжелых случаях до 10 л в сутки) и компенсаторным возникновением у больных чувства жажды. Патология получила название — **несахарный диабет**.

**Ренин-Ангиотензин-альдостероновая система (РААС).** В регуляции давления и электролитного состава крови главенствующая роль принадлежит ренин-ангиотензин-альдостероновой системе (рис. 11.9). Активация этой системы происходит при снижении объема и давления крови, которое регистрируют барорецепторы почек. В ответ на поступивший сигнал в юкстагломеруллярном аппарате почек синтезируется протеолитический фермент — **ренин**. Он секретируется в кровь, где взаимодействует с синтезированным в печени бел-

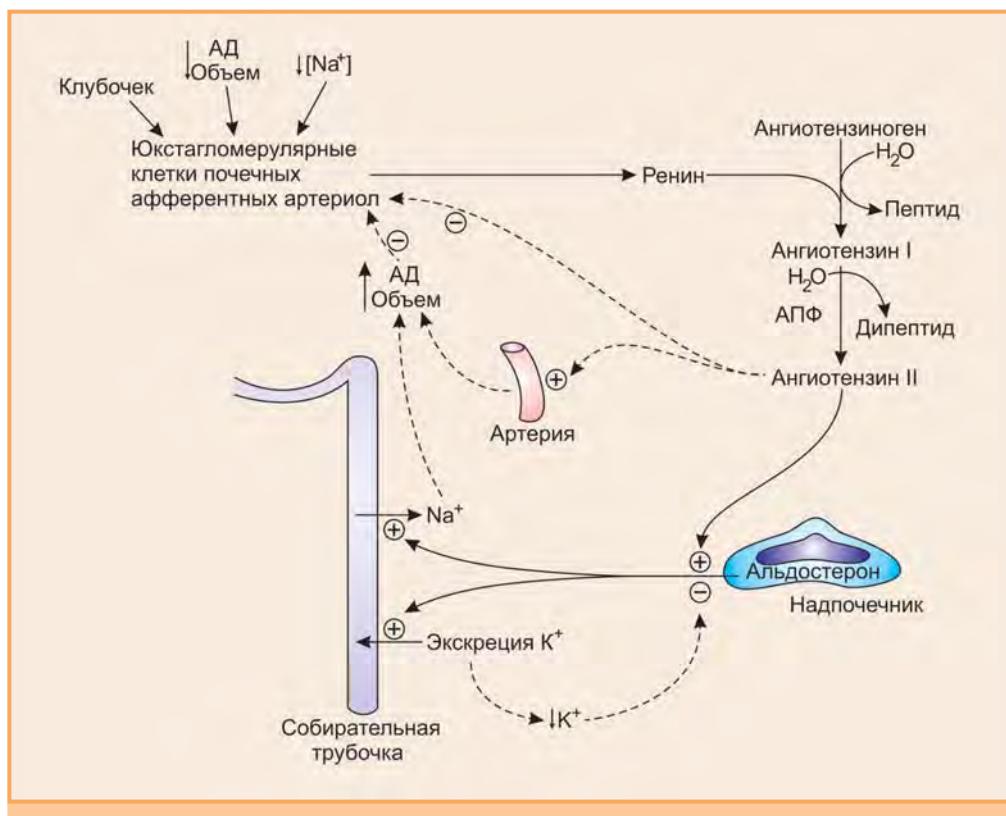


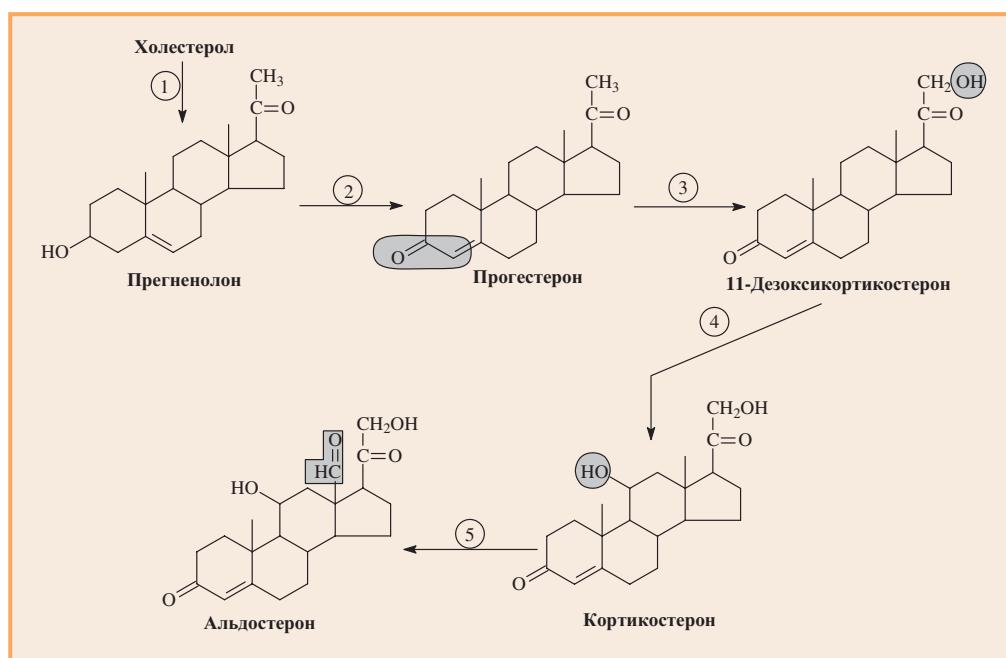
Рис. 11.9. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система

ком — **ангиотензиногеном** и отщепляет от него с N-конца декапептид — **ангиотензин I**.

Этот пептид подвергается дополнительному гидролизу под действием другой протеазы — **ангиотензин превращающего фермента (АПФ)**? или карбоксидипептидилпептидазы. АПФ синтезируется в легких и обнаруживается в плазме крови и эндотелиальных клетках. Он отщепляет от ангиотензина I дипептид с C-конца и образуется октапептид — **ангиотензин II**, обладающий высокой физиологической активностью. Рецепторы к ангиотензину II имеются на гладкомышечных клетках, клетках коры надпочечников и канальцев нефрона. Передача сигнала в клетки мишени осуществляется через инозитолфосфатную систему.

Ангиотензин II представляет собой самое сильное из существующих в организме сосудосуживающих средств. Сужая сосуды, он повышает артериальное давление, вызывает жажду и обуславливает питьевое поведение, стимулирует синтез и секрецию **альдостерона** и таким образом увеличивает осмотическое давление крови.

Альдостерон — гормон коры надпочечников, синтезируется из холестерола (рис. 11.10).



**Рис. 11.10. Синтез альдостерона:**

- 1 — цитохром Р450 — отщепляющий боковую цепь фермент;
- 2 —  $3\beta$ -гидроксистероид дегидрогеназа +  $\Delta^{5,4}$ -изомераза;
- 3 — 21 гидроксилаза;
- 4 —  $11\beta$  — гидроксилаза;
- 5 — 18-гидроксилаза + 18-гидроксидегидрогеназа

Его органами-мишенями являются клетки извитых канальцев нефронов (рис.11.11). Будучи стероидным гормоном, альдостерон действует через внутриклеточные рецепторы, стимулируя синтез:

- белков — переносчиков  $\text{Na}^+$ , которые обеспечивают реабсорбцию ионов из первичной мочи в клетки;
- белков — переносчиков  $\text{K}^+$ , осуществляющих экскрецию этих ионов в мочу;
- $\text{Na}^+/\text{K}^+$  АТФазы, поддерживающей разность концентрации ионов на плазматической мембране клеток;
- ферментов цитратного цикла, обеспечивающих образование АТФ, необходимого для энергообеспечения органа.

Вызванное альдостероном повышение осмотического давления крови является сигналом для секреции АДГ и задержки воды в организме. Возросшие давление и объем крови по механизму отрицательной обратной связи выключают работу РААС, что сопровождается снижением секреции ренина, уровня ангиотензина II и альдостерона, вазодилатацией и увеличением экскреции  $\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{NaCl}$  с мочой.

Включение РААС является экстренной мерой организма на уменьшение объема жидкости при кровопотерях, диарее, обильной рвоте, потении. Однако и при нормальном объеме и давлении включение системы может произойти в

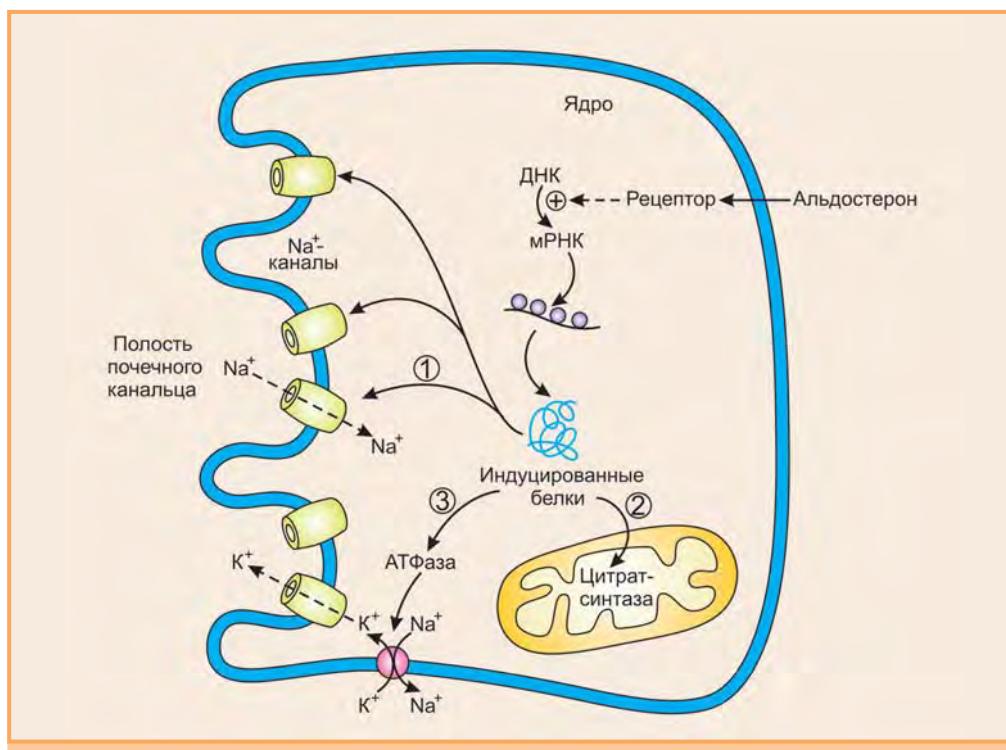


Рис. 11.11. Роль альдостерона в регуляции осмотического давления крови

результате стеноза (сужения) почечной артерии. В результате давление крови возрастает выше нормы и развивается почечная форма гипертонии. Гипертонию может вызвать и гиперпродукция альдостерона (гиперальдостеронизм), которая возникает вследствие гипертрофии клеток клубочковой зоны почек, вырабатывающей альдостерон, или аденомы надпочечников. Реабсорбция ионов  $\text{Na}^+$  и повышение их концентрации в плазме крови служат сигналом для секреции АДГ и задержки воды. Одновременно отмечаются гипокалиемия, дефицит ионов  $\text{Mg}^{2+}$  и мышечная слабость.

**Предсердный натрийуретический фактор (ПНФ)** представляет собой совокупность двух пептидов, состоящих из 28 аминокислотных остатков (**атриопептин I**) и меньшего числа аминокислот (**атриопептин II**) и содержащих одну дисульфидную связь. Эти гормоны являются антагонистами ангиотензина II. Они синтезируются и хранятся в кардиомиоцитах предсердий.

Факторами, вызывающими их секрецию, являются: повышение артериального давления, увеличение осмолярности плазмы, увеличение частоты сердцебиений, повышение концентрации катехоламинов и глюкокортикоидов. Тканями-мишениями служат клубочки почек и периферические артерии. Reцепторы ПНФ имеют доменное строение. Гормоны связываются с доменом, расположенным на наружной поверхности мембранны и, изменяя конформацию рецептора, переводят домен, обладающий гуанилатциклазной активностью в активную форму. Из ГТФ образуется цГМФ, который активирует протеинкиназу G и снижает содержание ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в клетках.

Атриопептины подавляют секрецию АДГ, ренина, альдостерона, расширяют сосуды и, действуя на стадии образования первичной мочи, увеличивают экспрецию воды и  $\text{NaCl}$ .

## 11.4. Регуляция обмена кальция и фосфатов

В организме человека  $\sim 1$  кг кальция: 99% находится в костях в форме гидроксиапатита —  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , являющегося структурным компонентом скелета, а 1% кальция присутствует в плазме крови в трех формах:

- свободных ионов  $\text{Ca}^{2+}$ ;
- в виде комплексов с белками (главным образом с альбумином),
- в составе солей с цитратом, сульфатом или фосфатом.

В плазме крови ионизированный кальций, концентрация которого поддерживается в довольно узких пределах — 2,12–2,6 ммоль/л или 9–11 мг/дл, является биологически активной фракцией, которая участвует в процессах мышечных сокращений, свертывания крови, активации ряда ферментов, мышечной и нервной возбудимости, передачи сигнала гормонов.

В организме между всеми фондами кальция происходит активный обмен, который регулируется паратгормоном, кальцитонином и 1,25-дигидроксихолекальциферолом (или кальцитриолом).

**Паратгормон (ПТГ)** секретируется в кровь при снижении концентрации кальция и способствует увеличению содержания ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в внеклеточных жидкостях. Гормон синтезируется на рибосомах шероховатого ретикулума клеток парашитовидных желез в виде препрогормона, состоящего из 115 аминокислотных остатков. В процессе транспорта в секреторные гранулы подвергается частичному протеолизу с образованием зрелой молекулы гормона, которая состоит из одной полипептидной цепи, включающей 84 аминокислоты. Полупериод жизни ПТГ ( $t_{1/2}$ ) — около 10 мин и зависит от концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ : при низкой концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  скорость деградации гормона снижается, а при высокой — увеличивается.

Органами—мишениями гормона являются кости и почки. ПТГ связывается с рецепторами, локализованными на плазматической мемbrane этих тканей и передает сигнал через аденилатциклазную систему. В костной ткани рецепторы к гормону находятся на остеобластах. При поступлении сигнала они секрецируют инсулиноподобный фактор 1 и цитокины, вызывающие повышение метаболической активности остеокластов, резорбцию костной ткани и освобождение  $\text{Ca}^{2+}$  и фосфатов во внеклеточную жидкость. В почках ПТГ усиливает реабсорбцию ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из мочи и выведение фосфатов. Кроме того, в почках ПТГ индуцирует синтез 1-гидроксилазы, участвующей в синтезе кальцитриола, который стимулирует всасывание  $\text{Ca}^{2+}$  в кишечнике (рис. 11.12).

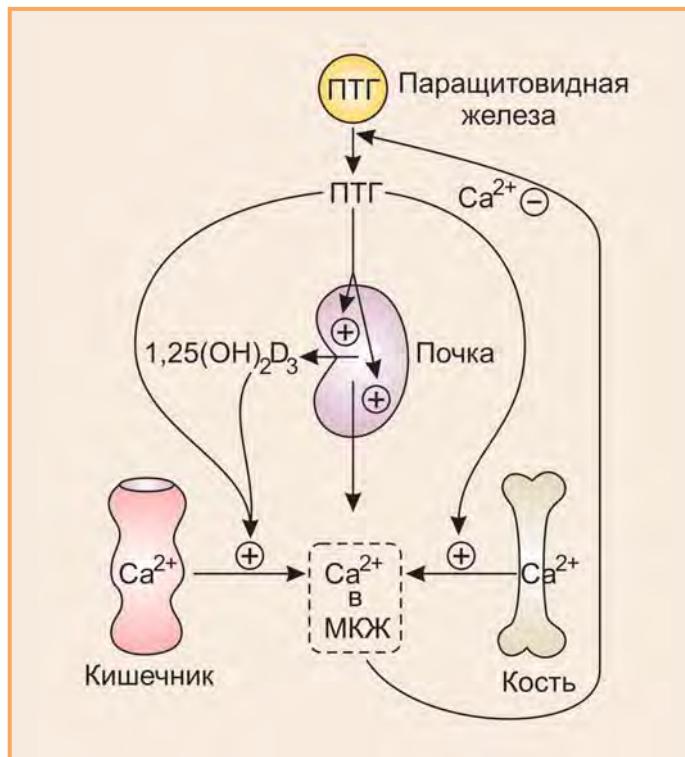
В результате в крови восстанавливается концентрация ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , а это по механизму отрицательной обратной связи вызывает прекращение секреции гормона.

Гиперплазия или опухоли парашитовидных желез являются причиной **гиперпаратиреоза**, при котором наблюдается избыточная секреция паратгормона и как следствие — **гиперкальциемия**. При этом наблюдаются снижение нервно-мышечной возбудимости и кальцификация мягких тканей. У больных отмечается общая мышечная слабость, быстрая утомляемость, учащаются случаи переломов костей и почечно-каменной болезни.

При **гипопаратиреозе**, как правило, возникающем в результате повреждения парашитовидных желез в ходе операций на щитовидной железе, наблюдается снижение концентрации кальция крови. У пациентов отмечается снижение порога возбуждения нервных и мышечных клеток, гиперрефлексы, судороги, ларингоспазмы, неврологические и офтальмологические нарушения.

**Кальцитриол** — стероидный гормон, являющийся синергистом ПТГ. Синтезируется в организме из холестерола или витамина  $D_3$ , поступающего в составе животной пищи. Образование эндогенного кальцитриола начинается в коже, где холестерол первоначально окисляется в 7-дегидрохолестерол, а затем под действием УФО превращается в витамин  $D_3$  — **холекальциферол**. Витамин поступает в печень, где гидроксилируется с помощью  $25\alpha$ -гидроксилазы с образованием кальцидиола. Из печени он транспортируется в почки и снова гидроксилируется под действием  $1\alpha$ -гидроксилазы с образованием кальцитриола (рис. 11.13).

Рецепторы кальцитриола имеются в клетках кишечника, костной ткани и почек. Гормон через внутриклеточные рецепторы индуцирует синтез  $\text{Ca}^{2+}$ -



**Рис. 11.12. Роль паратгормона в регуляции обмена кальция:**

1,25(OH)-D<sub>3</sub> — 1,25-дигидроксихолекальциферол — кальцитриол; МКЖ — межклеточная жидкость

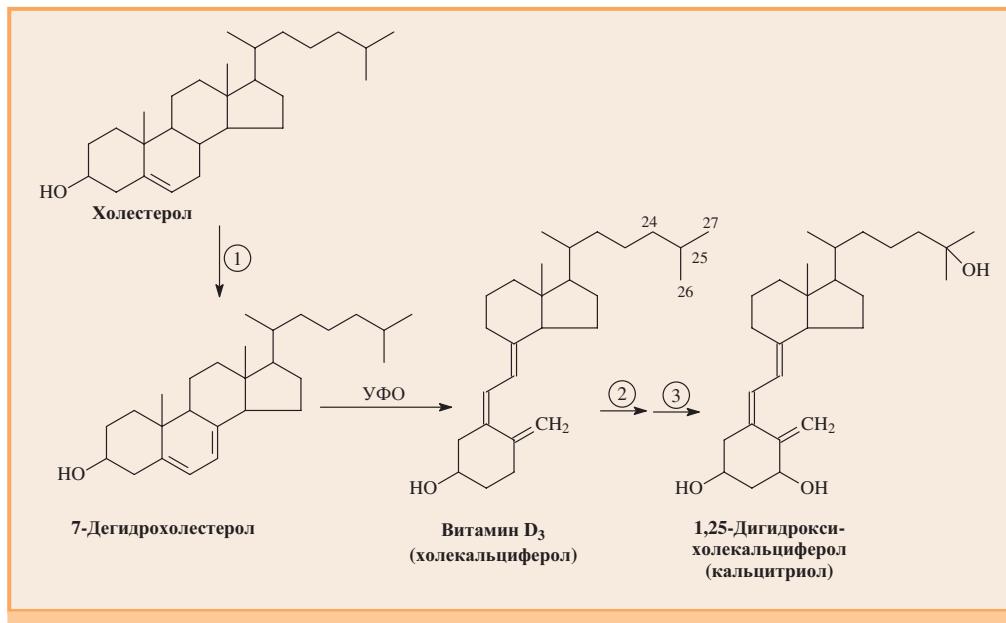
переносящих белков, которые обеспечивают всасывание ионов Са<sup>2+</sup> из кишечника и реабсорбцию их в почках.

Таким образом во внеклеточной жидкости повышается концентрация Са<sup>2+</sup> до уровня, способного обеспечить минерализацию органического матрикса костной ткани. Это основная функция кальцитриола. Однако если с помощью этих механизмов концентрация Са<sup>2+</sup> остается низкой, гормон стимулирует реабсорбцию кости. Такой же эффект наблюдается при передозировке витамина D<sub>3</sub>.

Наиболее частым нарушением в обмене кальция, который наблюдается у детей раннего возраста, является **рахит**. Заболевание развивается при недостаточности витамина D<sub>3</sub> в организме и является следствием нарушения минерализации костей. Костная ткань не имеет необходимой жесткости и у детей обнаруживаются различные деформации скелета.

Причинами заболевания могут быть:

- недостаточность витамина D<sub>3</sub> в пищевом рационе;



**Рис. 11.13. Синтез кальцитриола:**

1 — 7-холестеролдегидрогеназа; 2 — 25-гидроксилаза печени; 3 — 1-гидроксилаза почек

- нарушение всасывания жирорастворимых компонентов пищи в кишечнике;
- низкий уровень синтеза эндогенного витамина D<sub>3</sub> в организме из-за недостаточного пребывания ребенка на солнце;
- дефекты в структуре 25 $\alpha$ -или 1 $\alpha$ -гидроксилаз, нарушающие превращение витамина D<sub>3</sub> в кальцитриол.

**Кальцитонин** — пептидный гормон. Синтезируется в К-клетках щитовидной железы и С-клетках парашитовидных желез, как все белковые гормоны, в виде высокомолекулярного предшественника. Гормон является антагонистом ПТГ и освобождается в кровь при повышении концентрации кальция в крови. Reцепторы к кальцитонину обнаружены на клетках костной ткани и почек. Реализация действия гормона осуществляется через аденилатциклазную систему. Кальцитонин снижает активность остеокластов, ингибирует освобождение Ca<sup>2+</sup> из костной ткани и стимулирует экскрецию кальция с мочой.

У женщин в постменопаузе наблюдается снижение секреции кальцитонина, поскольку синтез и секреция этого гормона зависит от продукции эстрогенов. Следствием этого является развитие остеопороза.

Влияние основных гормонов на метаболизм клеток приведено в табл. 11.3.

# Раздел 12

## Обезвреживание метаболитов и обмен чужеродных соединений в печени

Печень — самый крупный орган в организме человека и животных; у взрослого человека ее масса 1,5 кг. Хотя печень составляет 2-3% массы тела, она поглощает от 20 до 30% потребляемого организмом кислорода.

### Функции печени

Важнейшими функциями печени являются метаболическая, депонирующая, барьерная, экскреторная и гомеостатическая (рис. 12.1).

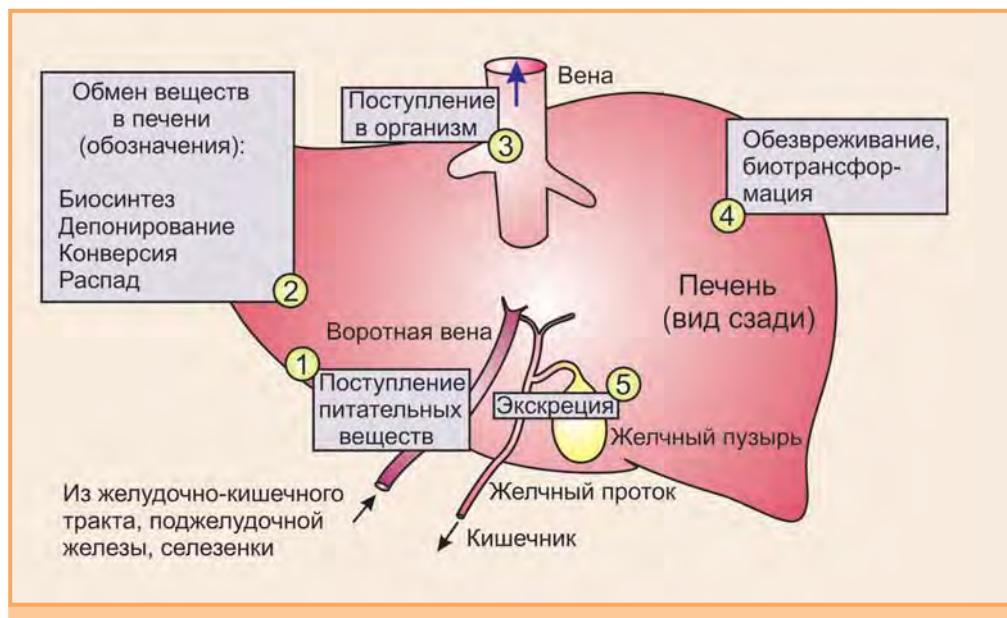


Рис. 12.1. Обмен веществ в печени

**Метаболическая.** Продукты расщепления питательных веществ поступают в печень из пищеварительного тракта через воротную вену. В печени протекают сложные процессы обмена белков и аминокислот, липидов, углеводов, биологически активных веществ (гормонов, биогенных аминов и витаминов), микроэлементов. В печени синтезируются многие вещества (например, глюкоза, холестерин и желчные кислоты), необходимые для функционирования других органов.

**Депонирующая.** В печени происходит накопление гликогена. Из печени в организм постоянно поступают макроэргические соединения и структурные блоки, необходимые для синтеза сложных макромолекул.

**Барьерная.** В печени осуществляется обезвреживание (биохимическая трансформация) чужеродных и токсичных соединений, поступивших с пищей или образовавшихся в кишечнике, а также токсических веществ экзогенного происхождения.

**Экскреторная.** Из печени различные вещества эндо- и экзогенного происхождения либо поступают в желчные протоки и выводятся с желчью (более 40 соединений), либо попадают в кровь, откуда выводятся почками.

**Гомеостатическая.** Печень выполняет важные функции по поддержанию постоянного состава крови (гомеостаза), обеспечивая синтез и поступление в кровь различных метаболитов, а также поглощение, трансформацию и экскрецию многих компонентов плазмы крови.

### Обмен веществ в печени

Печень принимает участие в метаболизме почти всех классов веществ (рис. 12.2).



Рис. 12.2. Функции печени

**Метаболизм углеводов.** Глюкоза и другие моносахариды поступают в печень из плазмы крови. Здесь они превращаются в глюкозо-6-фосфат и другие продукты гликолиза. Затем глюкоза депонируется в виде резервного полисахарида гликогена или превращается в жирные кислоты. При снижении уровня глюкозы печень начинает поставлять глюкозу за счет мобилизации гликогена. Если запас гликогена оказывается исчерпанным, глюкоза может синтезироваться в процессе глюконеогенеза из таких предшественников, как лактат, пируват, глицерол или углеродный скелет аминокислот.

**Метаболизм липидов.** Жирные кислоты синтезируются в печени из ацетильных блоков. Затем они включаются в состав жиров и фосфолипидов, которые поступают в кровь в форме липопротеинов. В то же время жирные кислоты поступают в печень из крови. Для энергообеспечения организма большое значение имеет свойство печени конвертировать жирные кислоты в кетоновые тела, которые затем вновь поступают в кровь.

В печени идет синтез холестерола из ацетил-КоА. Затем холестерол в составе липопротеинов транспортируется в другие органы. Избыток холестерола превращается в желчные кислоты и выводится из организма с желчью.

**Метаболизм аминокислот и белков.** Уровень аминокислот в плазме крови регулируется печенью. Избыточные аминокислоты расщепляются, аммиак связывается в цикле мочевины, мочевина переносится в почки. Углеродный скелет аминокислот включается в промежуточный метаболизм как источник для синтеза глюкозы (глюконеогенез) или как источник энергии. Кроме того, в печени осуществляются синтез и расщепление многих белков плазмы крови.

**Биохимическая трансформация.** Стероидные гормоны и билирубин, а также лекарственные вещества, этанол и другие ксенобиотики поступают в печень, где они инактивируются и превращаются в полярные соединения.

**Депонирование.** Печень служит местом депонирования энергетических резервов организма (содержание гликогена может достигать 20% массы печени). В печени также депонируются многие минеральные вещества, микроэлементы, ряд витаминов, в том числе железо (около 15% всего железа, содержащегося в организме), ретинол, витамины A, D, K, B<sub>12</sub> и фолиевая кислота.

## Компенсаторные функции печени

Ткани высших организмов нуждаются в постоянном притоке богатых энергией веществ и предшественников для синтеза более сложных макромолекул. Потребности организма обеспечиваются за счет питания, однако оно бывает нерегулярным и неравномерным. Перерывы в поступлении питательных веществ компенсируются печенью, которая вместе с другими тканями, прежде всего жировой тканью, выполняет компенсаторные функции.

В биохимии питания принято различать фазу абсорбции и фазу постабсорбции, которая охватывает состояния организма во время разгрузочных дней (в том числе при соблюдении поста), вплоть до полного голодания. Переход между эти-

ми двумя фазами определяется концентрацией богатых энергией соединений в плазме крови и регулируется гормонами и вегетативной нервной системой.

### Фаза абсорбции

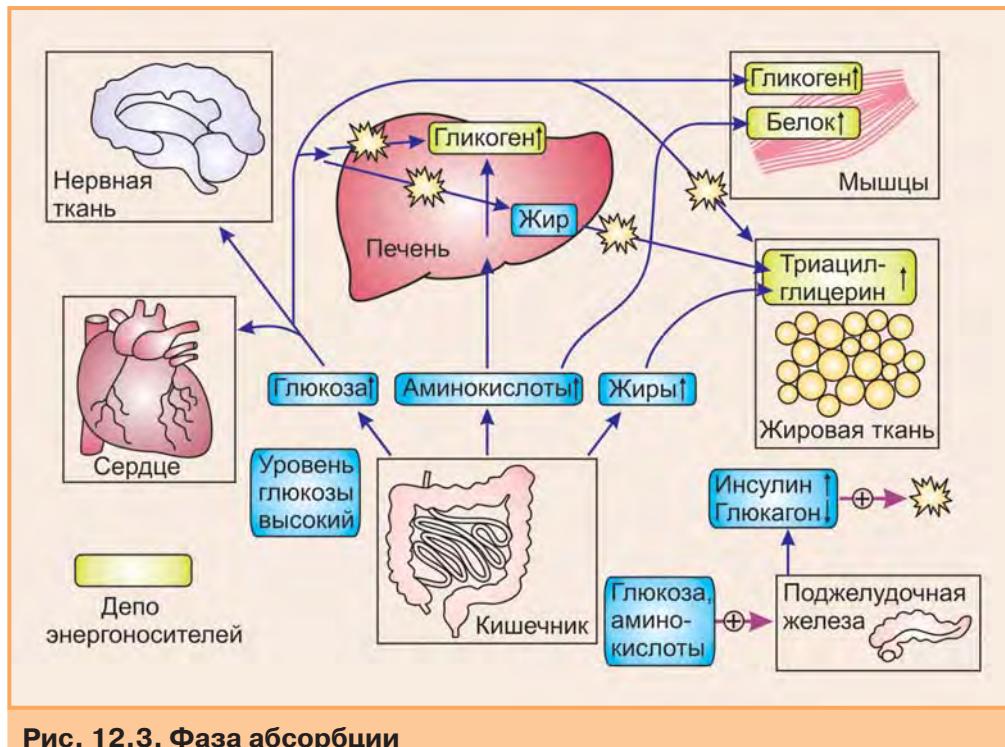


Рис. 12.3. Фаза абсорбции

Фаза абсорбции (утилизации и депонирования) начинается непосредственно с приема пищи и длится примерно 2–4 часа. За счет переваривания пищи в плазме крови временно увеличивается концентрация глюкозы, аминокислот и жиров (триацилглицеролов) (рис. 12.3).

Поджелудочная железа отвечает на это изменением выброса гормонов: увеличением секреции инсулина и уменьшением секреции глюкагона. Увеличение соотношения инсулин/глюкагон в сочетании с богатыми энергией субстратами стимулирует переход тканей (особенно печени, мышечной и жировой тканей) в анаболическую фазу.

В печени из поступающих субстратов синтезируются гликоген и жиры. Гликоген депонируется в печени, жиры в виде липопротеинов очень низкой плотности [ЛПОНП (VLDL)] поступают в кровь. В мышечной ткани также за счет глюкозы пополняется запас гликогена, а из аминокислот синтезируются белки. В жировую ткань жиры поступают из печени и желудочно-кишечного тракта

(в составе хиломикронов и ЛПОНП), а затем депонируются в виде жировых капель. Сердце и нервная ткань используют глюкозу в качестве источника энергии. Клетки сердечной мышцы являются в известном смысле «вседрядными», так как они могут получать энергию и из других субстратов.

### Фаза постабсорбции

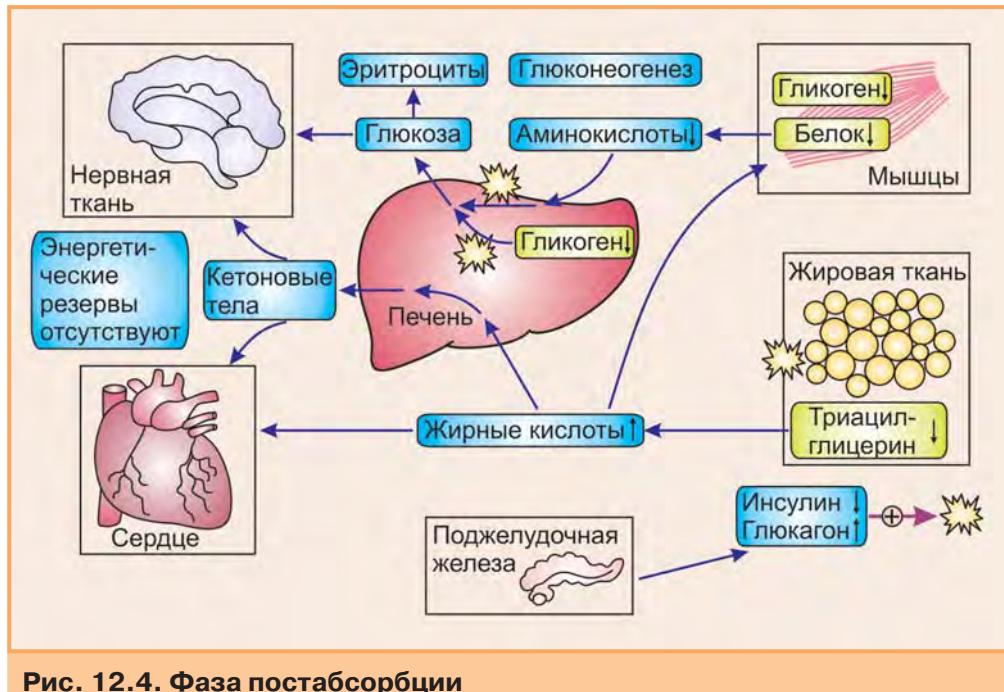


Рис. 12.4. Фаза постабсорбции

При прекращении поступления пищи вскоре начинается фаза постабсорбции. Эта стадия начинается с изменения секреции гормонов поджелудочной железы: теперь  $\alpha$ -клетки секретируют больше глюкагона, а  $\beta$ -клетки прекращают секрецию инсулина. Низкое соотношение инсулин/глюкагон в плазме крови запускает процесс промежуточного метаболизма в обратном направлении. Теперь организм должен вернуться к использованию собственных энергетических резервов. В организме начинается расщепление запасных веществ — гликогена, жиров, белков, и начинается синтез богатых энергией веществ в печени (рис. 12.4).

В печени происходит мобилизация гликогена (гликогенолиз). Полученная глюкоза используется для обеспечения других тканей, прежде всего мозга, коры надпочечников и эритроцитов, не располагающих собственными резервами глюкозы. Если спустя несколько часов резервы глюкозы в печени окажутся исчерпанными, усиливается процесс глюконеогенеза. Субстраты поступают из мышц (аминокислоты) и жировой ткани (глицерол). Высвободившиеся жирные

кислоты используются печенью для синтеза кетоновых тел (кетогенез), которые направляются в кровь и служат важнейшим источником энергии в постабсорбтивной фазе.

В мышцах резервы глюкозы в виде гликогена используются исключительно для собственных нужд. Аминокислоты, образующиеся за счет медленного расщепления белков, поступают в печень и утилизируются в процессе глюконеогенеза.

В жировой ткани гормоны инициируют липолиз с образованием глицерола и жирных кислот. Жирные кислоты служат источником энергии во многих тканях (за исключением мозга и эритроцитов). Важным приемником жирных кислот является печень, где они используются для синтеза кетоновых тел.

## Метаболизм углеводов

Глюкоза наряду с жирными кислотами и кетоновыми телами является важнейшим источником энергии. Уровень глюкозы в крови поддерживается постоянным 4–6 мМ (0,8–1,0 г/л) благодаря тонкой регуляции процессов ее поступления и потребления. Глюкоза поступает из кишечника (за счет переваривания пищи). При этом печень выполняет функцию «глюкостата»: в фазе абсорбции глюкоза поступает в печень из крови и накапливается в виде гликогена. При дефиците глюкозы (фаза постабсорбции, голодание) печень, напротив, поставляет глюкозу, которая образуется за счет процессов гликогенолиза и глюконеогенеза.

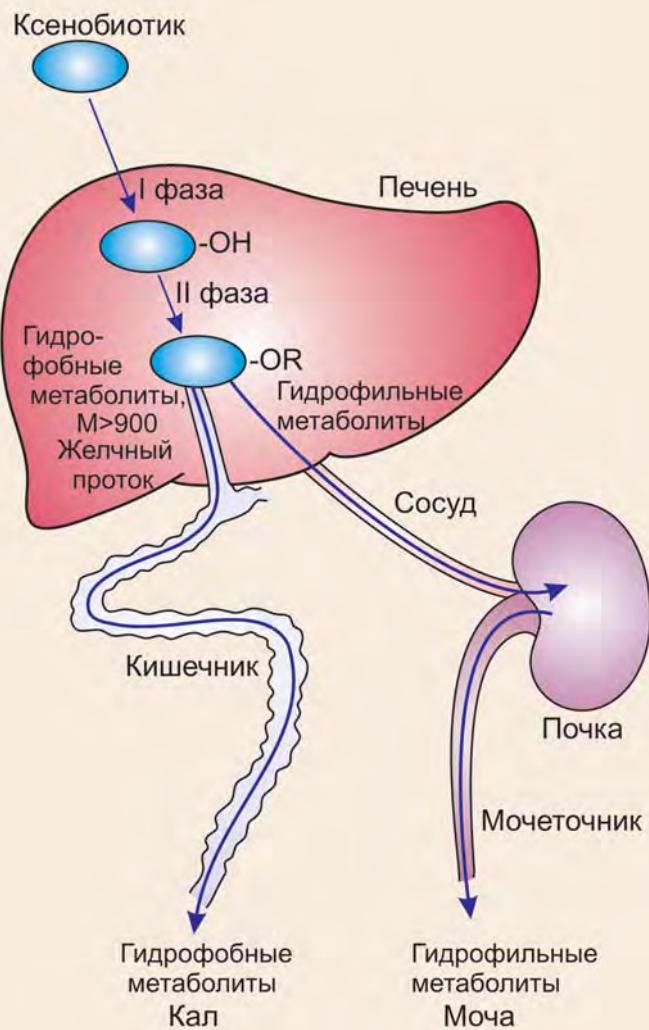
Печень обладает свойством синтезировать глюкозу из других сахаров, например фруктозы и галактозы, или из других продуктов промежуточного метаболизма. Превращение лактата в глюкозу в цикле Кори и аланина в глюкозу в цикле аланина играет особую роль в обеспечении энергией эритроцитов и мышечных клеток.

Необходимыми условиями активного углеводного обмена в печени являются обратимый транспорт сахаров через плазматическую мембрану гепатоцитов (при отсутствии контроля инсулином) и наличие фермента глюкозо-6-фосфатазы, высвобождающего глюкозу из глюкозо-6-фосфата.

## Механизмы обезвреживания токсических веществ в печени

Вещества, не используемые организмом, называются чужеродными веществами (ксенобиотиками). Они, как правило, подвергаются химической модификации (детоксикации) и удаляются из организма. Эти вещества могут попадать в организм с пищей, через кожу или путем вдыхания. Обезвреживанию подвергаются вещества, образующиеся в организме:  $\text{NH}_3$ , пептидные и стероидные гормоны, катехоламины, продукты катаболизма гема, продукты гниения аминокислот в кишечнике. Лекарственные вещества могут выводиться из организма в неизмененном или модифицированном виде.

Обезвреживание токсичных веществ происходит путем химической модификации в две фазы. В I фазе вещество чаще всего подвергается гидроксили-



**Рис. 12.5. Метаболизм и выведение ксенобиотиков из организма:**

R — радикал, используемый при конъюгации (глутатион, глюкуронил и др.); M — молекулярная масса

рованию. Во II фазе происходит реакция конъюгации, продукт, как правило, хорошо растворим и легко удаляется из организма (рис. 12.5).

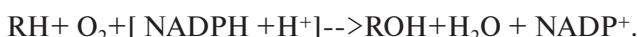
В мембранах эндоплазматического ретикулума (ЭР) практически всех тканей локализована система микросомального (монооксигеназного) окисления, отвечающая за течение I фазы обезвреживания. Эта система наиболее актив-

на в печени. В клетках некоторых тканей (например, в коре надпочечников) окислительная система локализована в мембранах митохондрий.

Основные ферменты, участвующие в окислительной системе: цитохром P450-редуктаза — flavопротеин (кофермент FAD или FMN), цитохром P450

Цитохром P450 может связывать в активном центре липофильное вещество RH и молекулу кислорода. Один атом кислорода принимает 2 и переходит в форму  $O_2^-$ . Донором электронов и протонов является NADPH+H<sup>+</sup>, который окисляется цитохромом P450-редуктазой.  $O_2^-$  взаимодействует с протонами:  $O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O$ , и образуется вода. Второй атом молекулы кислорода включается в гидроксильную группу вещества RH.

Суммарное уравнение реакции гидроксилирования вещества RH ферментами микросомального окисления:



В результате гидроксилирования возможны повышение растворимости гидрофобного соединения, потеря молекулой ее биологической активности или образование более активного соединения, чем вещество, из которого оно образовалось (рис. 12.6).

Цитохром P<sub>450</sub> не обладает абсолютной специфичностью, известно много изоформ этого белка, каждая форма имеет много субстратов. Этими субстратами могут быть эндогенные липофильные вещества, а их модификация входит в путь нормального метаболизма этих соединений. Цитохром P<sub>450</sub> воздействует и на многие гидрофобные чужеродные соединения, в том числе лекарства.

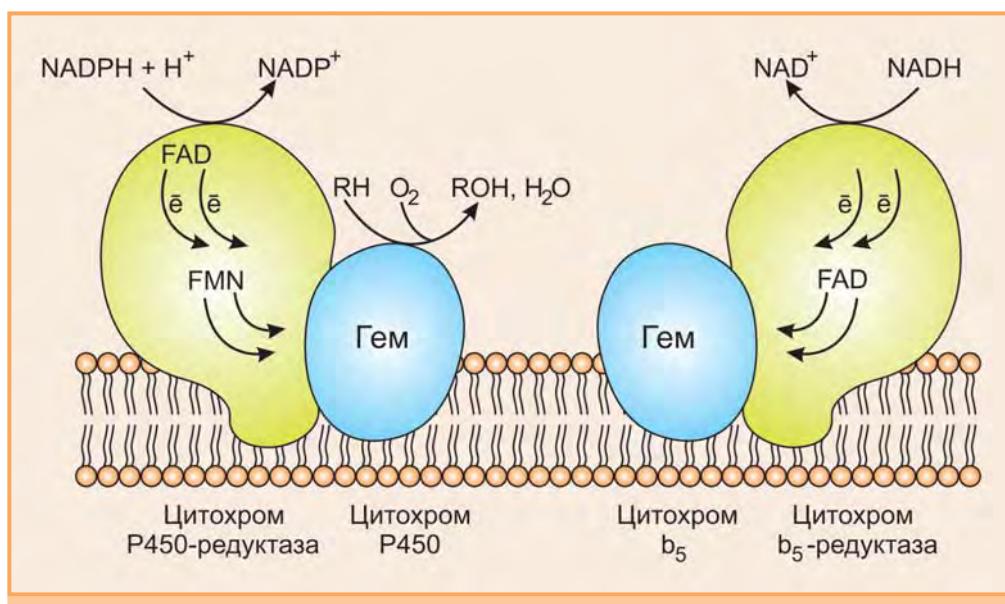
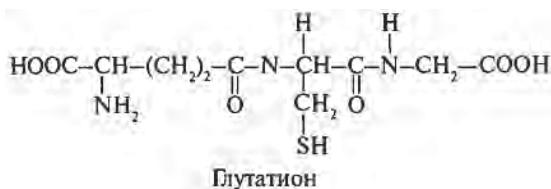


Рис. 12.6. Положение белковmonoоксигеназной системы в мемbrane

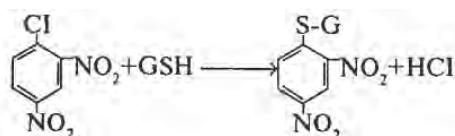
Особое место среди ферментов, участвующих в обезвреживании ксенобиотиков, нормальных метаболитов и лекарств, занимают глутатионтрансферазы. Известно множество изоферментов глутатионтрансферазы с различной субстратной специфичностью. Для работы ферментов требуется глутатион (GSH). GSH — это трипептид Глу—Цис—Гли (остаток глутаминовой кислоты присоединен к цистеину карбоксильной группой радикала).



Глутатионтрансферазы — универсальные ферменты, функционирующие у всех животных и человека и имеющиеся во всех тканях. Эти ферменты играют важную роль в обезвреживании собственных метаболитов: некоторых стероидных гормонов, простагландинов, билирубина, желчных кислот, продуктов перекисного окисления липидов. Обезвреживание ксенобиотиков с участием глутатионтрансфераз происходит тремя путями:

- конъюгацией остатка субстрата R с глутатионом (GSH):  
 $\text{R}+\text{GSH} \rightarrow \text{GSRH};$
- нуклеофильными замещениями:  $\text{RX}+\text{GSH} \rightarrow \text{GSR}+\text{HX}.$

Например, 1-хлор-2,4-динитробензол обезвреживается следующим образом:



- восстановлением органических пероксидов до спиртов:  
 $\text{R}-\text{HC-O-OH}+2 \text{GSH} \rightarrow \text{R}-\text{HC-OH}+\text{GSSG}+\text{H}_2\text{O}$   
 ООН — гидроперокисная группа, где GSSG — окисленный глутатион.

Обезвреживание ксенобиотиков с участием цитохрома P450 иногда приводит к образованию не менее, а более токсичных метаболитов, чем исходные. Эти токсичные вещества обезвреживаются глутатионтрансферазами. Глутатионтрансфераза — индуцируемый фермент.

### Обезвреживание нормальных метаболитов

В ретикулоэндотелиальной системе клеток селезенки, костного мозга, а также печени происходит распад гемоглобина при участии ферментов гемоксигеназной системы.

## Образование билирубина при катаболизме гемоглобина



Образующийся билирубин, непрямой, или неконъюгированный, не дающий прямой реакции с диазореактивом, поступает в кровь. Он плохо растворим в воде и крови и поэтому транспортируется в печень в комплексе с альбумином.

Концентрация билирубина в крови здорового человека 1,7–17 мкмоль/л. Билирубин поступает в гепатоциты по механизму облегченной диффузии. В печени под действием УДФ-глюкуронилтрансферазы (фермента эндоплазматического ретикулума) образуется конъюгированный билирубин.



Глюкуронирование происходит в два этапа, образуется смесь моно- и диглюкуронидов. Активность УДФ-глюкуронилтрансферазы может индуцироваться некоторыми лекарственными препаратами, например фенобарбиталом. Секреция конъюгированного билирубина в желчь идет с помощью механизма активного транспорта, т.е. против градиента концентрации.

В составе желчи прямой билирубин секретируется в двенадцатиперстную кишку. В кишечнике под действием гидролаз бактерий происходит деконъюгация, образуются непрямой билирубин и глюкуроновая кислота.



Непрямой билирубин под действием бактерий превращается в уробилиноген. Образованные продукты в основном выводятся с калом и небольшая часть — с мочой. Под влиянием различных факторов в организме может нарушаться выведение билирубина и продуктов его метаболизма. Повышение содержания билирубина в крови ведет к отложению его в тканях, в том числе в слизистых оболочках и коже, вызывая их окрашивание в желтый цвет.

## Метаболизм лекарств

Действие на организм большинства лекарств прекращается через определенное время после их приема. Прекращение действия может происходить потому, что лекарство выводится из организма в неизмененном виде (это характерно для гидрофильных соединений) или в виде продуктов его химической модификации (биотрансформации). Результатом биотрансформации лекарственных веществ являются:

- инактивация лекарственных веществ, т.е. снижение их фармакологической активности (фенобарбитал, нитриты, эфедрин и др.);
- повышение активности лекарственных веществ (бутадион, метилдофа, норморфин и др.);
- появление метаболитов, оказывающих токсическое действие на организм (фенацетин, сульфаниламиды).

Инактивация лекарственных веществ происходит в два этапа. Первый этап — химическая модификация под действием ферментов монооксигеназ-

ной системы эндоплазматического ретикулума (микросомального окисления), например:



Второй этап — конъюгация (связывание) лекарственных веществ (как подвергшихся каким-либо превращениям на первом этапе, так и нативных препаратов) с глицином, глутаматом и ацетил-КоА. Глицин может присоединяться по карбоксильной группе, глюкуроновая кислота — по OH-группе, а ацетильный остаток — по NH<sub>2</sub>-группе. Реакции конъюгации катализируют соответствующие ферменты класса трансфераз.

Дозы некоторых лекарств при систематическом приеме необходимо увеличивать, так как их действие на организм ослабляется. Это происходит потому, что эти лекарства, как и другие чужеродные соединения, индуцируют синтез ферментов монооксигеназной системы и реакций конъюгации.

### Химический канцерогенез

В основе химического канцерогенеза лежат повреждения ДНК под действием химических канцерогенов. Полициклические ароматические углеводороды, ароматические амины (например, 2-нафтиламин), нитрозамины, афлатоксины, которые содержатся в каменноугольной смоле, табачном дыме, загрязненном

воздухе больших городов и пищевых продуктах, подвергнутых обжариванию на углях или копчению, не являются канцерогенами, но превращаются в них, подвергаясь в печени «обезвреживанию» ферментами монооксигеназной системы. Наиболее часто встречающиеся проканцерогены приведены в табл. 12.1.

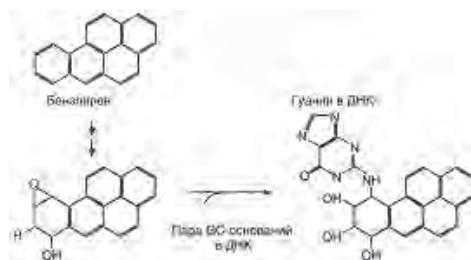
Таблица 12.1

| Класс соединений                           | Представитель                                       | Источник                                                                                                                                    |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Полициклические ароматические углеводороды | Бензантрацен, метилхолантрен, бензол                | Выхлопные газы, продукты горения, табачный дым, коксохимическое производство                                                                |
| Ароматические амины<br>Диоксины            | Метиламинобензол, нафтиламин, тетрахлорбензодиоксин | Производство красителей. Производство рефолиантов и ростовых веществ, целлюлозно-бумажная промышленность, хлорирование воды, горячие свалки |
| Микотоксины<br>Нитрозамины                 | Афлатоксин В, диметилнитрозоамин, диэтилнитрозоамин | Плесневые грибы. Образуются при употреблении нитросодержащих продуктов                                                                      |

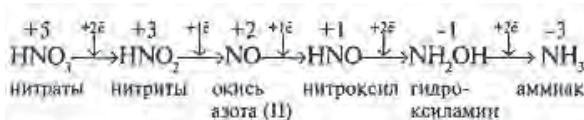
Известны сотни генов, мутации в которых могут способствовать превращению нормальной клетки в опухолевую, — этоprotoонкогены. Protoонкоген — ген, содержащий информацию о белке, регулирующем нормальную пролиферацию клеток, и способный в результате изменения структуры превращаться в онкоген. Онкоген — ген, экспрессия которого приводит к неконтролируемой пролиферации. Для превращения protoонкогена в онкоген требуются изменения в его регуляторной или структурной части.

Канцерогенами могут быть как органические, так и неорганические молекулы, т.е. канцерогенность не связана с какой-либо определенной структурной особенностью.

Например, бензпирен в организме подвергается гидроксилированию, в качестве промежуточного продукта образуется эпоксид, который является канцерогеном. Ковалентная модификация гуанина приводит к разрыву водородной связи между GC в цепях ДНК и нарушению взаимодействия ДНК с белками.

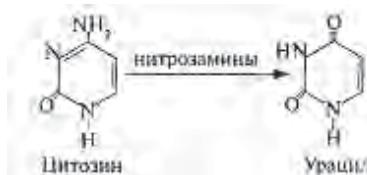


Примером канцерогена неорганической природы могут быть нитраты. Эти соединения широко распространены в воде и почве, попадая туда из различных источников, в том числе в составе удобрений. В организм человека они поступают с пищей (молоко, консервы, фрукты, овощи) и в виде лекарств. Нитраты являются сильными окислителями. В процессе катаболизма азот нитратов, превращаясь в  $\text{NH}_3$ , присоединяет в ходе последовательных реакций 8 электронов.



Окисляемыми субстратами могут быть все железосодержащие гемопротеины: Hb, цитохромы цепи переноса электронов, цитохромы монооксигеназной системы эндоплазматического ретикулума. Нитраты и промежуточные продукты их катаболизма снижают активность некоторых ферментов антиоксидантной защиты, что приводит к накоплению активных форм кислорода и активации перекисного окисления липидов.

В организме из азотистой кислоты ( $\text{HNO}_2$ ) и соединений структуры  $\text{R}_2\text{NH}$  образуются нитрозамины  $\text{R}_2\text{N}-\text{N}=0$ , которые являются достаточно сильными мутагенами. Нитрозамины превращают остаток цитозина в цепи ДНК в урацил, и пара GC превращается в UC.



В ходе репликации мутантной ДНК против U в комплементарной цепи будет присоединен A с образованием комплементарной пары UA, которая в ходе второй репликации преобразуется в пару AT. Если мутация произошла вprotoонкогене, например ответственном за регуляцию клеточного цикла, то это может привести к нарушению структуры этого белка, неконтролируемому делению клеток, т.е. к развитию опухоли.

# Раздел 13

## Биохимия крови

### Функции крови

1. Транспортная функция. Циркулируя по сосудам, кровь транспортирует множество соединений — среди них газы, питательные вещества и др.
2. Дыхательная функция. Эта функция заключается в связывании и переносе кислорода и углекислого газа.
3. Трофическая (питательная) функция. Кровь обеспечивает все клетки организма питательными веществами: глюкозой, аминокислотами, жирами, витаминами, минеральными веществами, водой.
4. Экскреторная функция. Кровь уносит из тканей конечные продукты метаболизма: мочевину, мочевую кислоту и другие вещества, удаляемые из организма органами выделения.
5. Терморегуляторная функция. Кровь охлаждает внутренние органы и переносит тепло к органам теплоотдачи.
6. Поддержание постоянства внутренней среды. Кровь поддерживает стабильность ряда констант организма.
7. Обеспечение водно-солевого обмена. Кровь обеспечивает водно-солевой обмен между кровью и тканями. В артериальной части капилляров жидкость и соли поступают в ткани, а в венозной части капилляра возвращаются в кровь.
8. Защитная функция. Кровь выполняет защитную функцию, являясь важнейшим фактором иммунитета или защиты организма от живых тел и генетически чуждых веществ.
9. Гуморальная регуляция. Благодаря своей транспортной функции кровь обеспечивает химическое взаимодействие между всеми частями организма, т.е. гуморальную регуляцию. Кровь переносит гормоны и другие физиологически активные вещества.

## Синтез гема и его регуляция

Гем в составе гемоглобина синтезируется клетками костного мозга на этапе преобразования эритробластов в ретикулоциты, а затем в эритроциты.

Гем является простетической группой гемоглобина, миоглобина, цитохромов, каталазы и пероксидазы. Гем синтезируется во всех клетках, но наиболее активно синтез идет в печени и костном мозге. Эти ткани нуждаются в больших количествах гема, необходимого для образования гемоглобина и цитохромов. Ключевой реакцией синтеза порфиринов является реакция образования аминолевулиновой кислоты. Эту реакцию катализирует пиридоксальфосфатзависимый фермент митохондрий эритробластов аминолевулинатсингтаза (рис. 13.1).

Активность аминолевулинатсингтазы регулируется аллостерически и на уровне транскрипции гена фермента. Гем и гемоглобин являются аллостерическими ингибиторами и репрессорами синтеза аминолевулинатсингтазы. Стероидные гормоны и некоторые лекарства (барбитураты, диклофенак, сульфаниламиды,

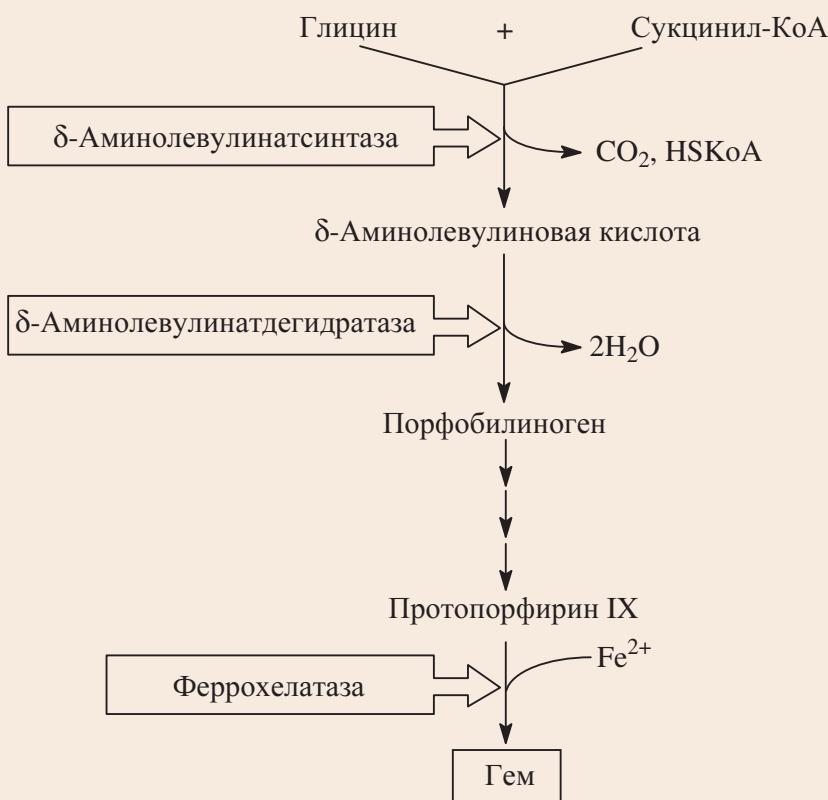


Рис. 13.1. Схема синтеза гема

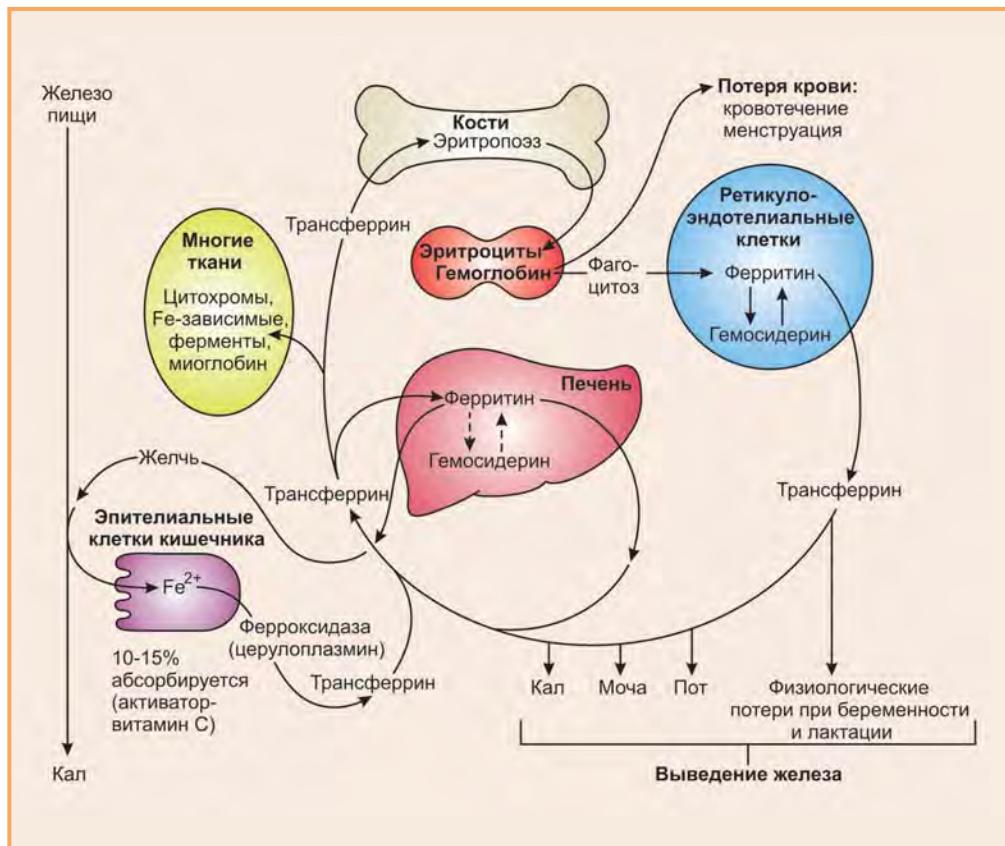
эстрогены, прогестины) являются индукторами синтеза аминолевулинатсингтазы. В результате генетических дефектов или нарушения регуляции ферментов, участвующих в биосинтезе гема, развиваются порфирии. Первичные порфирии обусловлены генетическими дефектами ферментов синтеза гема, вторичные связаны с нарушениями регуляции реакций синтеза гема. При этих заболеваниях накапливаются промежуточные метаболиты синтеза гема порфириногены, которые оказывают токсическое действие на нервную систему и вызывают нервно-психические нарушения. Порфириногены на свету превращаются в порфирины, которые при взаимодействии с кислородом образуют активные радикалы, повреждающие клетки кожи.

## Обмен железа

Железо входит в состав гемсодержащих белков, а также металлофлавопротеинов, железосерных белков, трансферрина и ферритина. Источниками железа при биосинтезе белков, содержащих железо, являются пищевые продукты. Обычно всасывается не более 10% железа пищи. Железо, освобождающееся при постоянном распаде эритроцитов в клетках печени и селезенки, может повторно использоваться для синтеза железосодержащих белков.

Кислая среда желудка и присутствие в пище аскорбиновой кислоты способствуют высвобождению железа из органических солей пищи. Поступление железа из энteroцитов в кровь зависит от скорости синтеза в них белка апоферритина. Апоферритин улавливает железо в клетках слизистой оболочки кишечника и превращается в ферритин, который остается в энteroцитах. Это снижает поступление железа в капилляры крови из клеток кишечника. Когда потребности в железе невелики, скорость синтеза апоферритина повышается. Слущивание клеток слизистой оболочки кишечника освобождает организм от излишков железа. При недостатке железа в организме апоферритин в энteroцитах почти не синтезируется. Фермент ферроксидаза (церулоплазмин) окисляет железо, оно связывается с гликопротеином крови трансферрином и транспортируется к тканям. Трансферрин взаимодействует со специфическими рецепторами и поступает в клетки. Количество рецепторов трансферрина зависит от содержания железа в клетках и регулируется на уровне транскрипции гена белка-рецептора. При снижении содержания железа в клетках скорость синтеза рецепторов повышается, и наоборот (рис. 13.2).

Белок ферритин играет роль депо железа в клетках печени, селезенки и kostного мозга. Избыток железа аккумулируется в печени и других тканях в составе гранул гемосидерина. Гемосидерин представляет собой комплекс белков, полисахарида и  $Fe^{3+}$ , который плохо растворим и содержит до 3% железа. Накопление гранул гемосидерина в ретикулоэндотелиоцитах печени и селезенки (гемохроматоз) может привести к повреждению функций этих органов. При недостаточном поступлении или нарушении утилизации железа развивается железодефицитная анемия.



**Рис. 13.2. Метаболизм железа.**

Железо поступает с пищей, транспортируется в крови в форме трансферрина, запасается в виде ферритина и используется для синтеза цитохромов, железосодержащих ферментов, гемоглобина и миоглобина. Организм теряет железо с мочой, калом, потом и при кровотечениях. Гемосидерин является комплексом гликопroteина и  $\text{Fe}^{3+}$ , который кумулирует избыток железа

### Особенности метаболизма эритроцитов и фагоцитирующих лейкоцитов

В результате дифференцировки прешественники эритроцитов эритробласты теряют ядро, рибосомы, митохондрии и эндоплазматический ретикулум и преобразуются сначала в ретикулоциты, а затем в эритроциты. Метаболизм глюкозы в эритроцитах представлен анаэробным гликолизом и пентозофосфатным путем катаболизма (рис. 13.3).

Высокое содержание кислорода в эритроцитах вызывает повышение скорости образования супероксидного анион-радикала,  $\text{H}_2\text{O}_2$  (пероксида водорода) и  $\text{OH}^*$  (гидроксил-радикала).

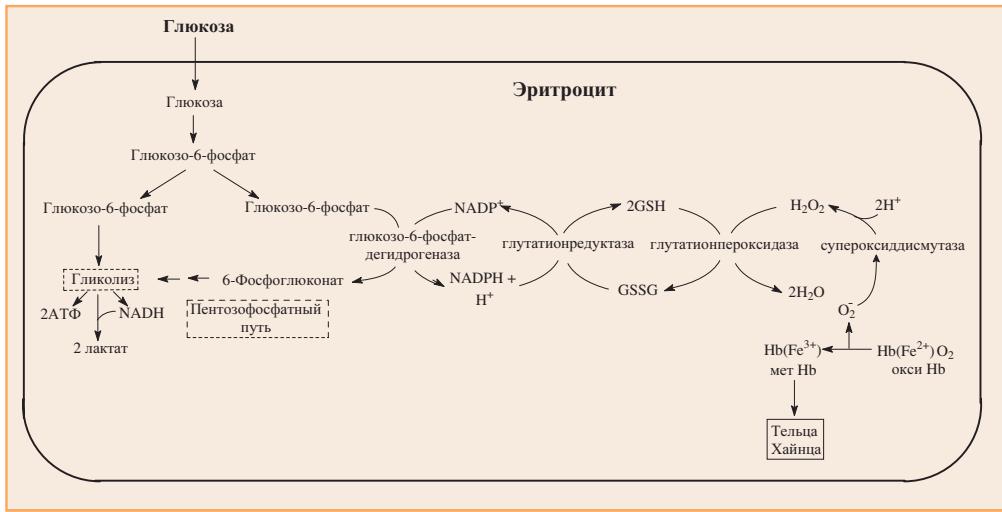


Рис. 13.3. Метаболизм эритроцитов

Постоянным источником активных форм кислорода в эритроцитах является неферментативное окисление гемоглобина:  $\text{Hb}(\text{Fe}^{2+}) + \text{O}_2 \rightarrow \text{MetHb}(\text{Fe}^{3+}) + \text{O}_2^-$ .

Активные формы кислорода могут вызвать гемолиз эритроцитов. Эритроциты содержат ферментную систему, предотвращающую токсическое действие радикалов кислорода и разрушение мембран эритроцитов. Гликолиз обеспечивает синтез АТФ и восстановление НАД. АТФ необходима для работы ионных насосов. НАДН является коферментом метгемоглобинредуктазы, катализирующей восстановление метгемоглобина до гемоглобина. Супероксидный анион супероксиддисмутазой превращается в пероксид водорода, который под действием глутатионпероксидазы или каталазы превращается в  $\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{O}_2$ . Донором водорода для глутатионпероксидазы является восстановленный глутатион (GSH). Окисленный глутатион (GSSG) восстанавливается ферментом глутатионредуктазой, кофермент которого НАДФН образуется в пентозофосфатном пути катаболизма глюкозы.

При генетическом дефекте глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и приеме некоторых лекарств, являющихся сильными окислителями, потенциала глутатионовой защиты может оказаться недостаточным, что приводит к увеличению содержания в клетках активных форм кислорода, вызывающих окисление SH-групп молекул гемоглобина. Образование дисульфидных связей между протомерами гемоглобина и метгемоглобина приводит к их агрегации — образованию телец Хайнца. Последние способствуют разрушению эритроцитов при попадании их в мелкие капилляры. Активные формы кислорода и сами разрушают мембранны, вызывая перекисное окисление липидов мембран.

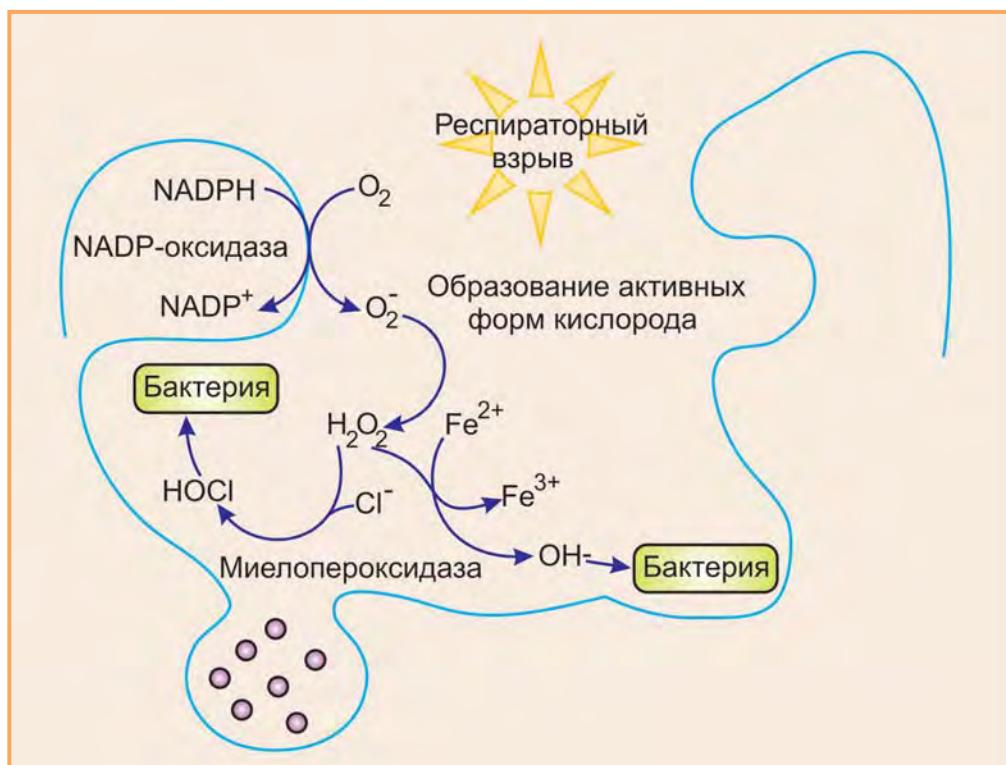
## Основные механизмы фагоцитоза

В ответ на попадание в организм патогенной микрофлоры и ксенобиотиков в гранулематозных клетках происходит респираторный взрыв. Он является главным источником супероксидного аниона,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , гидроксильных радикалов, гипохлорита ( $\text{HOCl}$ ), оксида азота ( $\text{NO}$ ) (рис. 13.4).

Активация NADPH-оксидазы, локализованной на наружной мембране клетки, вызывает образование супероксидного аниона. При фагоцитозе мембрана впичивается, затем образуется эндосома, и супероксид вместе с бактериальной клеткой оказывается в эндосоме. Супероксидный анион генерирует образование других активных молекул, включая  $\text{H}_2\text{O}_2$  и гидроксильные радикалы.

Миелопероксидаза — гемсодержащий фермент; находится в гранулах нейтрофилов, секretируется в эндосому, где образует  $\text{HOCl}$  и другие хлориды. В результате мембранны и другие структуры бактериальной клетки разрушаются.

Этот процесс, продолжающийся 30—40 минут, сопровождается резким повышением поглощения кислорода и поэтому называется респираторным взрывом.



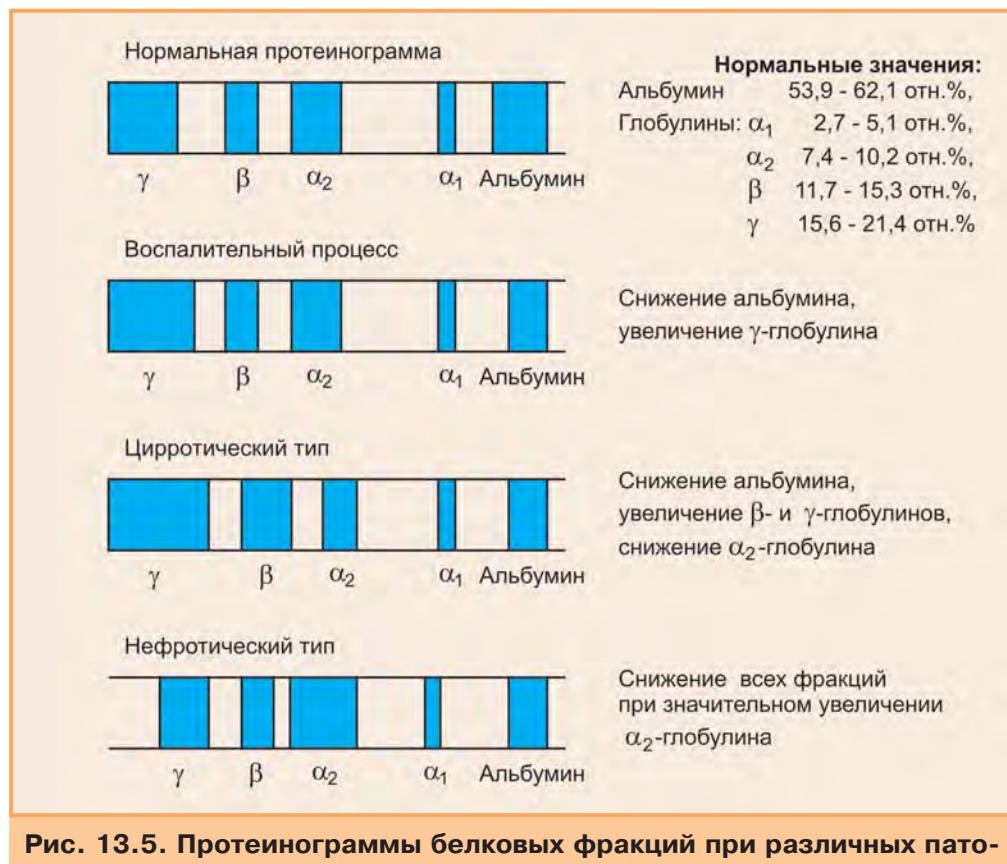
**Рис. 13.4. Образование активных форм кислорода активированными макрофагами, нейтрофилами и эозинофилами в процессе респираторного взрыва**

## Основные свойства белковых фракций крови и их диагностическое значение

Содержание общего белка плазмы крови составляет 60–80 г/л, альбумина — 40–60 г/л, глобулинов — 20–30 г/л. Обычно при лабораторном анализе крови методом электрофореза обнаруживают 5 белковых фракций: альбумин (55–65%),  $\alpha_1$ -глобулины (2–4%),  $\alpha_2$ -глобулины (6–12%),  $\beta$ -глобулины (8–12%) и  $\gamma$ -глобулины (12–22%). Альбумин имеет наибольшую, а  $\gamma$ -глобулины — наименьшую подвижность в электрическом поле.

Альбумин синтезируется в печени и составляет большую часть белков плазмы крови (рис. 13.5).

Благодаря высокому содержанию дикарбоновых аминокислот альбумин удерживает катионы, главным образом  $\text{Na}^+$ , и играет основную роль в сохранении коллоидно-осмотического давления. Кроме того, альбумин транспортирует некоторые гидрофобные метаболиты, например жирные кислоты, билирубин, альдостерон.



**Рис. 13.5. Протеинограммы белковых фракций при различных патологических состояниях**

Таблица 13.1

**Транспорт эндогенных метаболитов, лекарств и витаминов  
белками сыворотки крови**

| Белковая фракция          | Белок                                                                | Транспорт                                                     |                                                             |
|---------------------------|----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
|                           |                                                                      | эндогенных метаболитов                                        | лекарственных веществ и витаминов                           |
| Альбумин                  | Альбумин                                                             | Ca <sup>2+</sup> , жирные кислоты, билирубин, альдостерон     | Пенициллин, сульфаниламиды, салицилаты                      |
|                           |                                                                      |                                                               | Ретинол (витамин А), гидрокортизон, витамин B <sub>12</sub> |
| α <sub>1</sub> -глобулины | Ретинолсвязывающий, тироксинсвязывающий, транскортин, транскобаламин | Тироксин, кортизол                                            |                                                             |
| α <sub>2</sub> -глобулины | Церупоплазмин, гаптоглобин, липопротеины                             | C <sup>2+</sup> , Cu, гемоглобин, холестерин, жиры, фосфатиды | Витамины D, K, E                                            |
| β-глобулины               | Трансферрин                                                          | Fe <sup>3</sup>                                               | —                                                           |

**Свертывающая система крови.  
Этапы образования фибринового сгустка**

Повреждение кровеносного сосуда вызывает каскад молекулярных процессов, в результате которых образуется сгусток крови — тромб, прекращающий вытекание крови. В этом процессе основную роль играют тромбоциты и некоторые белки плазмы крови.

В остановке кровотечения выделяют три фазы:

I фаза — сокращение кровеносного сосуда;

II фаза — образование тромбоцитарной пробки (белый тромб): к месту повреждения прикрепляются тромбоциты, которые, наслаживаясь друг на друга, могут закупорить небольшой кровеносный сосуд;

III фаза — формирование фибринового тромба, заключается в превращении растворимого белка плазмы крови фибриногена в нерастворимый белок фибрин, который откладывается между тромбоцитами. Такой тромб содержит эритроциты, поэтому называется красным тромбом.

## Превращение фибриногена в фибрин

Фибриноген — это гликопротеин, который синтезируется в печени и содержится в плазме крови в концентрации 8,02–12,9 мкмоль/л (0,3 г/л). Молекула фибриногена состоит из 6 полипептидных цепей, которые связаны друг с другом дисульфидными связями.

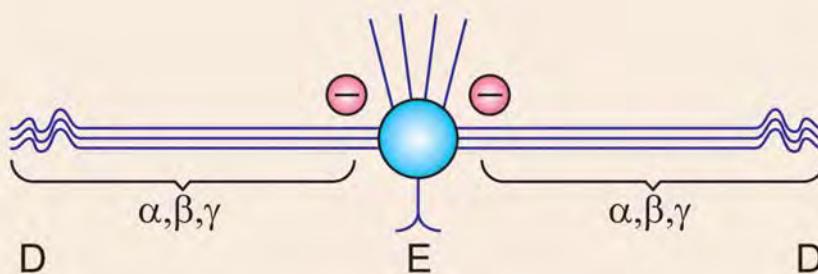
Полипептидные цепи молекулы принято обозначать  $\text{A}\alpha_2$ ,  $\text{B}\beta_2$ ,  $\gamma_2$ . Буквами  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  обозначают те участки, которые отщепляются под действием тромбина при превращении фибриногена в фибрин. Области А цепи  $\text{A}\alpha$  и области В цепи  $\text{B}\beta$  содержат большое количество остатков аспартата и глутамата, что создает сильный отрицательный заряд на концах молекулы фибриногена.

Молекула фибриногена состоит из 3 глобулярных доменов, по одному на каждом конце молекулы (домены D) и один в середине (домен E). Домены отделены друг от друга участками полипептидных цепей, имеющими стержнеобразную конфигурацию. Из центрального глобулярного домена E выступают N-концевые участки цепей  $\text{A}\alpha$  и  $\text{B}\beta$ , являющиеся фрагментами А и В этих цепей (рис. 13.6).

Превращение фибриногена в фибрин можно разделить на четыре этапа.

Освобождение молекулы фибриногена от отрицательно заряженных фибринопептидов А и В и образование мономера фибрина. Превращение фибриногена (фактор I) в фибрин (фактор  $\text{I}\alpha$ ) катализирует фермент тромбин (фактор  $\text{II}\alpha$ ). Тромбин является сериновой протеазой и разрывает 4 пептидные связи аргинил—глицил в фибриногене, 2 из которых соединяют области А и  $\alpha$  в цепях  $\text{A}\alpha$ , 2 другие — В и  $\beta$  в цепях  $\text{B}\beta$ . Таким образом фибриноген превращается в мономер фибрина, имеющий структуру  $(\alpha, \beta, \gamma)_2$ .

Образование нерастворимого полимерного фибринового сгустка — геля фибрина. В результате превращения фибриногена в фибрин-мономер в последнем открываются центры связывания, причем домен E является носителем центров агрегации, активирующихся только после частичного протеолиза тромбином, домены D — носителями постоянных центров агрегации. Первичная агрегация обеспечивается взаимодействием центров связывания на домене E одной молекулы с комплементарными им участками на доменах D других молекул с образованием электростатических, водородных и гидрофобных связей между молекулами



**Рис. 13.6. Строение фибриногена: D, E — домены молекулы фибриногена**

фибрин-мономера. Самосборка фибрина включает два этапа. Сначала образуются двунитчатыеprotoфибриллы, в которых молекулы фибрина смещены относительно друг друга на 1/2 длины. В образовании protoфибрилл участвуют центры связывания в доменах Е и D. Происходит удлинение при сохранении поперечника, равного сумме поперечников 2 мономерных единиц. При достижении protoфибриллами определенной критической длины начинается латеральная ассоциация protoфибрилл, ведущая к образованию толстых фибриновых волокон.

Стабилизация полимера фибринаОсуществляется ферментом трансглутамидазой (XIII $\alpha$ ). Фактор XIII активируется тромбином путем отщепления пептида с N-конца его молекулы.

Сжатие геля. Фактор тромбоцитов — сократительный белок тромбостенин, обладающий АТФазной активностью и по своим свойствам похожий на актомиозин мышц, обеспечивает сжатие (ретракцию) геля фибринаПри этом тромбостенин связывает ионизированные группы фибринопептидов, что способствует дальнейшему сокращению геля.

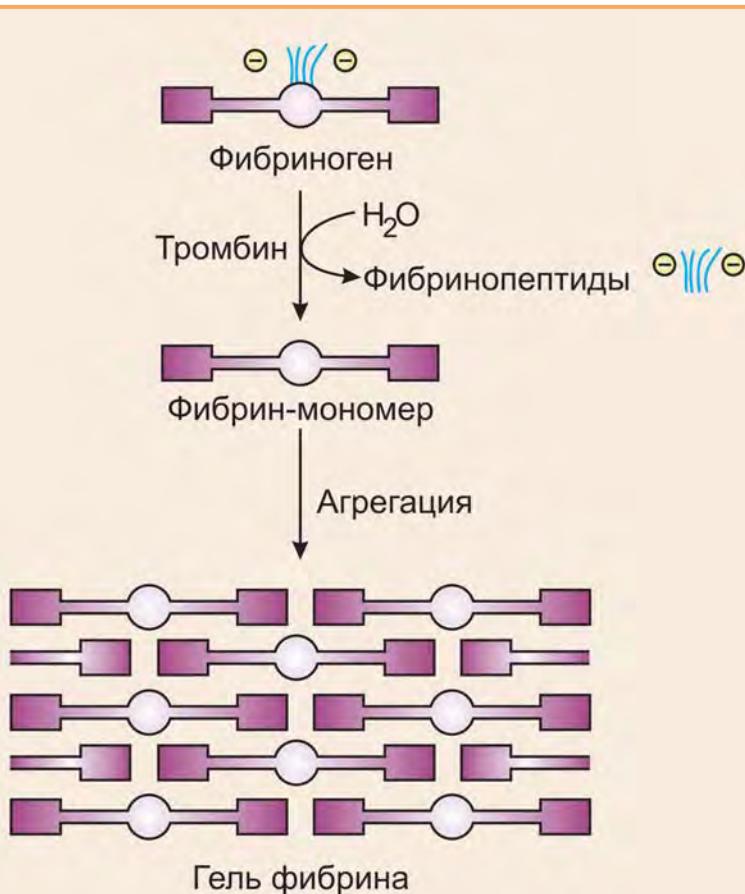


Рис. 13.7. Образование геля фибринаПри этом тромбостенин связывает ионизированные группы фибринопептидов, что способствует дальнейшему сокращению геля.

## Прокоагулянтный путь свертывания

Прокоагулянтный путь занимает центральное место в свертывании крови. В циркулирующей крови содержатся проферменты протеолитических ферментов: фактор VII (проконвертин), фактор IX (Кристмаса), фактор X (Стюарта) и фактор II (протромбин).

Циркулирующие в крови факторы VIII $\alpha$  и V $\alpha$ , а также мембранный белок (тканевый фактор) выполняют роль белков-активаторов этих ферментов. При повреждении сосуда включается каскадный механизм активации ферментов с последовательным образованием 3 связанных с клеточной мембраной тромбоцитов комплексов. Каждый комплекс состоит из протеолитического фермента, белка-активатора и ионов Ca $^{2+}$ . Комплекс X $\alpha$ —V $\alpha$ —Ca $^{2+}$  (протромбиназный комплекс) активирует протромбин (фактор II), и каскад завершается образованием фибрина (рис. 13.8).

Активация ферментов каскада включает три основных механизма.

- **Частичный протеолиз.** Все ферменты прокоагулянтного пути являются сериновыми протеазами, синтезируются в печени в виде неактивных проферментов и в такой форме циркулируют в крови. В процессе реализации тромбогенного сигнала проферменты путем частичного протеолиза превращаются в активные ферменты. Таким образом, например, активируется протромбин. Путем частичного протеолиза активируются также и факторы VIII и V, превращаясь в факторы VIII $\alpha$  и V $\alpha$ . Тканевый фактор в протеолитической модификации не нуждается.
- **Взаимодействие с белками-активаторами.** Тканевый фактор, фактор VIII $\alpha$  и фактор V $\alpha$  имеют центры связывания ферментов VII $\alpha$ , IX $\alpha$  и X $\alpha$  соответственно. При связывании с белками-активаторами активность этих ферментов повышается в результате конформационных изменений.
- **Взаимодействие с клеточными мембранами.** Все ферменты прокоагулянтного пути (II, VII, IX, X) содержат  **$\gamma$ -карбоксиглутаминовую кислоту** — продукт посттрансляционного превращения глутамата в реакции карбоксилирова-

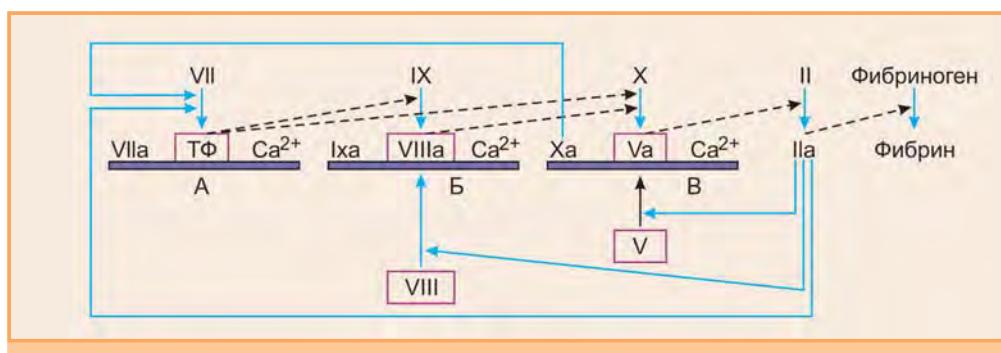


Рис. 13.8. Прокоагулянтный путь свертывания крови:

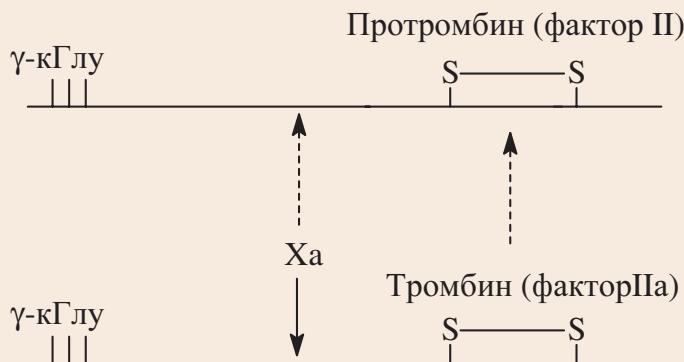
хирной чертой подчеркнуты ферментные комплексы, связанные с мембранами; непрерывные стрелки — положительные обратные связи; в прямоугольниках — белки-активаторы

ния при участии **витамина К** (в гидрохинонной форме он выполняет роль кофермента). С помощью ионов  $\text{Ca}^{2+}$  отрицательно заряженные участки молекул этих ферментов связываются с отрицательно заряженными фосфолипидами клеточной мембраны и белками-кофакторами. В отсутствие ионов  $\text{Ca}^{2+}$  кровь не свертывается (рис. 13.9).

Тканевый фактор представляет собой интегральный мембранный белок. Домен этого белка, экспонированный на наружной поверхности мембраны, представляет собой рецептор фактора VII. Тканевый фактор обнаруживается в плазматической мембране большинства клеток, в том числе эндотелиальных и тромбоцитов.

В отличие от тканевого фактора факторы VIII и V — это белки плазмы крови; образующиеся из них в результате частичного протеолиза активные факторы  $\text{VIII}\alpha$  и  $\text{V}\alpha$  присоединяются к мембране ионными и гидрофобными связями. В результате образуются 3 активных ферментных комплекса, каждый из которых содержит мембрану клетки, фермент,  $\text{Ca}^{2+}$  и белок-активатор.

Активация ферментов комплекса является результатом взаимодействия всех его компонентов. Если факторы IX, X и II требуют активации, то фактор VII обладает невысокой протеолитической активностью. В результате повреждения или реализации какого-либо тромбогенного сигнала возможно образование на поверхности клеточной мембраны модифицированных фосфолипидных участков и как следствие этого формирование первого активного комплекса А. Этот комплекс активирует факторы IX и X, что приводит к образованию комплексов Б и В. При этом фактор  $\text{X}\alpha$  протеолитически активирует фактор V, а комплекс В не только превращает протромбин в тромбин, но и активирует фактор VII, про-теолитическая активность которого в комплексе  $\text{VII}\alpha$  — тканевый фактор —  $\text{Ca}^{2+}$



**Рис. 13.9. Протеолитическая активация протромбина:**

$\gamma\text{-кГлу}$  — остатки карбоксиглутаминовой кислоты; штриховые стрелки указывают положение гидролизуемых пептидных связей

в 10 000 выше, чем в комплексе VII—тканевый фактор- $\text{Ca}^{2+}$ . Таким образом, комплекс В по принципу положительной обратной связи усиливает реакции, в результате которых он образовался.

Тромбин катализирует частичный протеолиз фибриногена и фактора XIII (фермент трансглутамидаза) и по механизму положительной обратной связи протеолитически активирует факторы V, VII и VIII. В процессе свертывания крови действуют два механизма усиления сигнала: каскад реакций, в котором каждое ферментативное звено обеспечивает усиление сигнала, и положительные обратные связи.

Контактная фаза свертывания (внутренний путь) содержит проферменты (фактор XII, прекалликреин, фактор XI), которые активируются частичным протеолизом. Они образуют мембранные-связанные комплексы с высокомолекулярным кининогеном (ВМК) (рис. 13.10).

Контактная фаза является независимой от **витамина K**, так как участвующие в ней ферменты не содержат  **$\gamma$ -карбоксиглутаминовую кислоту**. Фактор XI активирует фактор IX прокоагулянтного пути. Контактная фаза не является абсолютно необходимой для инициации свертываемости крови. Это подтверждает тот факт, что ни одна известная мутация белков контактной фазы не приводит к нарушению свертывания. Вероятно, контактная фаза служит для сопряжения системы гемкоагуляции с различными регуляторными системами организма.

### Основные механизмы фибринолиза

В организме существует мощная фибринолитическая система, обеспечивающая возможность растворения (фибринолиз) сформировавшихся кровяных сгустков — тромбов.

Ретрагированный сгусток фибрина в организме человека и животных под влиянием протеолитического фермента плазмы крови плазмина подвергается

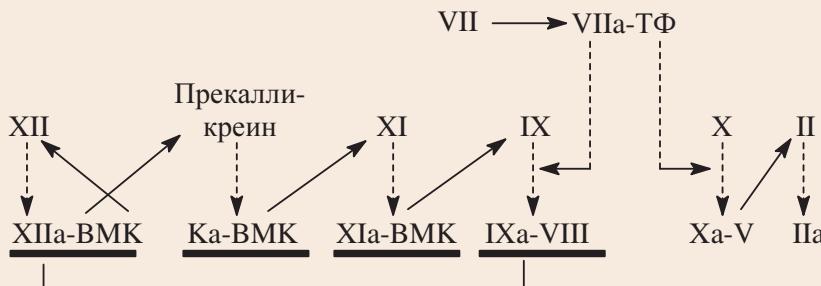


Рис. 13.10. Контактная фаза и прокоагулянтный путь свертывания:

BKM — высокомолекулярный кининоген; Ка — калликреин



постепенному рассасыванию с образованием ряда растворимых в воде продуктов гидролиза — пептидов. В норме плазмин находится в крови в форме неактивного предшественника — плазминогена. Превращение плазминогена в плазмин сопровождается отщеплением от полипептидной цепи 25% аминокислотных остатков. Катализируется эта реакция как активаторами крови, так и активаторами тканей. Ведущая роль в этом процессе принадлежит кровяным активаторам. В норме активность кровяных активаторов плазминогена очень низкая, т.е. они находятся в основном в форме проактиваторов. Весьма быстрое превращение кровяного проактиватора в активатор плазминогена происходит под влиянием тканевых лизокиназ, а также стрептокиназы. Стрептокиназа вырабатывается гемолитическим стрептококком и в обычных условиях в крови отсутствует. Однако при стрептококковой инфекции возможно образование стрептокиназы в большом количестве, что иногда приводит к усиленному фибринолизу и развитию геморрагического диатеза.

Необходимо также иметь в виду, что наряду с фибринолитической системой крови человека имеется и система антифибринолитическая. Она состоит из различных антикиназ, антиплазмина и других антиактиваторов.

В практической медицине в лечебных целях ферментные препараты и их ингибиторы широко используются при нарушении свертывающей и противосвертывающей системы крови. Так, при тромбоэмбической болезни применяют ферменты, способствующие либо лизису образовавшегося тромба, либо снижению повышенной свертываемости крови. При состояниях, сопровождающихся развитием фибринолиза, используются ингибиторы ферментов.

Исследования последних лет дают основание считать, что введение плазмина в сочетании с гепарином (антитромбином) может быть эффективным не только при лечении тромбоза легочной артерии, тромбофлебитов, но и при лечении инфаркта миокарда, если вводить эти препараты в первые часы после начала болезни. В качестве фибринолитических препаратов при инфаркте миокарда можно использовать также активаторы плазминогена — урокиназу и стрептокиназу.

Новое перспективное направление — использование иммобилизованных ферментов (стрептодеказа и др.). Такие формы ферментов полностью сохраняют каталитическую активность, действие их в организме более длительно, а антигеннность снижена.

Следует помнить, что терапия тромболитическими препаратами требует хорошо организованного лабораторного контроля, так как протеолитическое действие плазмина не является строго специфическим только для фибрин — основного компонента тромба: введение плазмина может вызвать нежелательное расщепление многих важных для свертывания крови веществ, что, в свою очередь, может привести к серьезным осложнениям, в частности к развитию геморрагического диатеза.

Фибрин тромба гидролизуется с образованием растворимых пептидов под действием сериновой протеазы плазмы крови плазмина. Протеолитический фермент — тканевый активатор плазмина (ТАП) путем частичного протеолиза превращает неактивный плазминоген в активный плазмин. ТАП синтезируется в эндотелии сосудов всех тканей, кроме печени.

Растворение фибринового сгустка осуществляется при взаимодействии фибрина, плазминогена и ТАП (рис. 13.11).

Построение сети фибриновых волокон при образовании тромба сопровождается сорбцией на ней плазминогена и его активаторов. В молекуле плазмина и плазминогена есть участки, комплементарные доменам фибрина, причем одна молекула плазмина может связывать несколько молекул фибрина. Молекула ТАП также имеет центр связывания с фибрином. Образующийся в результате взаимодействия плазминогена и ТАП плазмин гидролизует фибрин. Растворение



Рис. 13.11. Растворение фибринового сгустка

фибринового сгустка приводит к освобождению из него плазмина и ТАП, которые попадают в кровоток и ингибируются специфическими ингибиторами.

### Противосвертывающая система крови

Физиологические ингибиторы ферментов свертывания крови ограничивают распространение тромба и сохраняют кровь в жидком состоянии.

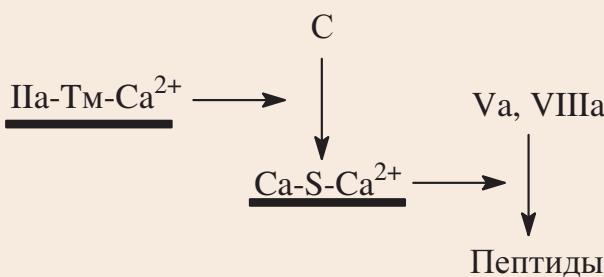
Антитромбин III инактивирует ряд сериновых протеаз кровь: тромбин, факторы IX $\alpha$ , X $\alpha$ , XII $\alpha$ , плазмин, урокиназу, калликреин. Факторы, не относящиеся к сериновым протеазам, не инактивируются антитромбином. Гепарин является активатором антитромбина III.

$\alpha_2$ -макроглобулин образует комплексы с сериновыми протеазами, инактивируя их.

Антиконвертин специфически взаимодействует с ферментным комплексом тканевый фактор-VII $\alpha$ —Ca $^{2+}$ . Он является доменным белком, причем один домен взаимодействует с VII $\alpha$ , а другой — с тканевым фактором. Антиконвертин ингибирует не отдельные ферменты, а образованный на мемbrane ферментный комплекс, поэтому его называют связанным с липопротеинами ингибитором коагуляции.

Антикоагулянтный путь устроен по тому же принципу, что и коагулянтный. Антикоагулянтный путь — это короткий каскад реакций, в котором участвуют тромбин (II $\alpha$ ), тромбомодулин (Tm), белок C, белок-активатор S и факторы V $\alpha$  и VIII $\alpha$ . В результате этого каскада разрушаются факторы V $\alpha$  и VIII $\alpha$ , необходимые для прокоагулянтного пути (рис. 13.12).

Тромбомодулин — это интегральный белок плазматической мембраны, обнаруживается только в эндотелиальных клетках. Он не нуждается в протеолитической активации и служит рецептором тромбина. Белок C — профермент, содержит остатки карбоксиглутаминовой кислоты, активируется путем частичного протеолиза комплексом II $\alpha$ -тромбомодулин. Активированный белок C образует с белком-активатором S мембрально-связанный комплекс, который расщепляет в факторах V $\alpha$  и VIII $\alpha$  2 пептидные связи, инактивируя их.



**Рис . 13.12. Антикоагулянтный путь:**

Tm — тромбомодулин; Ca — активированный белок C; S — белок-кофактор

## Биохимия соединительной ткани

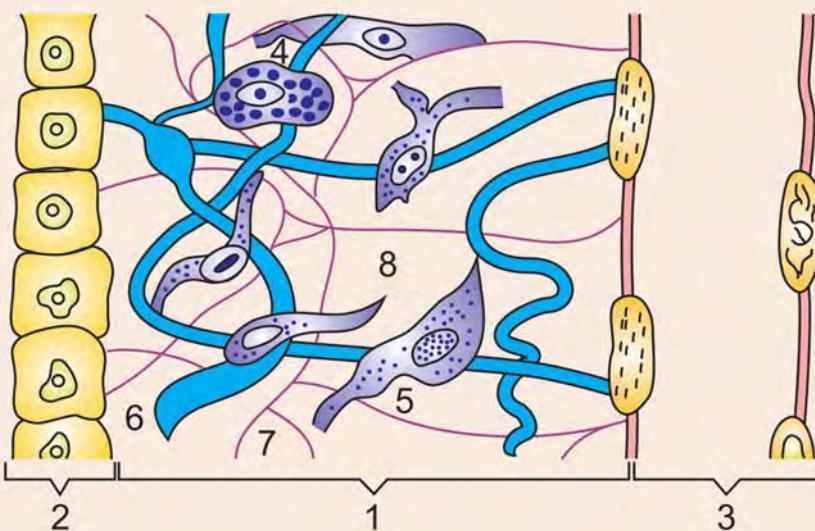
Соединительная ткань имеет мезенхимальное происхождение и состоит из клеток и межклеточного материала, образованного главным образом фибрillярными белками и протеогликанами и гликопротеинами.

Соединительная ткань есть во всех органах. В некоторых тканях ее значение весьма велико не только в структурном, но и функциональном плане. К этим тканям относятся сухожилия, хрящи, кости, кожа и стенки крупных кровеносных сосудов (рис. 14.1).

Белки в основном представлены коллагеном и эластином. Коллаген образует нити (фибриллы) различной толщины. Расположение нитей определяет их функцию, которая состоит в основном в придании тканям прочности на разрыв. Коллагеновые нити образованы субъединицами, называемыми тропоколлагеном, которые расположены регулярным образом и взаимно ориентированы как в продольном, так и поперечном направлении. Молекула тропоколлагена состоит из трех цепей двух видов:  $\alpha$  и  $\alpha_2$ , которые образуют тройную спираль. Каждая цепь образована примерно из 1000 остатков аминокислот, среди которых присутствуют оксипролин и оксилизин. Суперсемейство коллагенов включает по крайней мере 19 разных белков — собственно коллагенов и еще 10 белков, содержащих коллагеноподобные домены. Наиболее распространенные коллагены образуют в межклеточном матриксе фибриллы (коллагены типов I, II, III, V, XI) и сетевидные структуры (коллагены IV, VIII и X). Функции других коллагенов более разнообразны.

Известно свыше 400 мутаций в генах разных коллагенов, связанных с болезнями человека — несовершенный остеогенез, хондродисплазии, некоторые формы остеопороза и остеоартритов, болезнь почек, известная под названием синдром Альпорта, и др.

Коллаген синтезируют и секретируют в межклеточную среду многие клетки (если не все), но в количественном отношении главными продуcentами коллагена являются клетки фибробластного ряда соединительной ткани (в соответствии с большой массой межклеточного вещества в этой ткани).



**Рис. 14.1. Клетки соединительной ткани, фибриллярные белки (коллаген, эластин), а также протеогликаны и гликопротеины заполняют пространство между паренхиматозными клетками и кровеносными капиллярами:**

1 — соединительная ткань; 2 — паренхиматозные клетки; 3 — капилляры и элементы крови; 4 — тучные клетки; 5 — фибробизты и фибробласти; 6 — волокно коллагена; 7 — волокно эластина; 8 — основной материал (матрикс)

В отличие от коллагена эластин образует структуры с характерными резиновоподобными свойствами. Это объясняется особой трехмерной упаковкой мономеров эластина (проэластина), которые соединены поперечными ковалентными связями. Они возникают в результате конденсации боковых цепей лизина в составе двух—четырех мономеров проэластина с образованием полифункциональных аминокислот десмозина и изодесмозина. Эти связи настолько прочны, что не разрушаются даже при кислотном гидролизе. Считается, что на пространственную организацию субъединиц проэластина в волокне влияют структурные гликопротеины.

Протеогликаны образованы соединениями, получившими название гликозаминогликаны (ГАГ). В тканях эти соединения не существуют в свободном виде, а присоединены ковалентной связью к белкам, превращаясь в протеогликаны. В водном растворе они образуют гели и в ткани заполняют пространство между клетками. Они сильно гидратированы и содержат много ионов  $\text{Na}^+$ . К ГАГ относятся гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат, гепарансульфат, дерматансульфат и кератансульфат. Они представляют собой линейные полимеры, по-

строенные из разных дисахаридных единиц, образованных уроновыми кислотами (глюкуроновой, галактуроновой и идуроновой), N-ацетилгексозаминами (N-ацетилглюкозамином и N-ацетилгалактозамином) и нейтральными сахарамидаами (галактозой, маннозой и ксилозой). В некоторых случаях гидроксильные группы сахаридов этирифицированы серной кислотой. Свободные карбоксильные и сульфогруппы, несущие отрицательный заряд, распределены более или менее равномерно по всей макромолекуле и определяют биологические свойства этих соединений (рис. 14.2).

Еще одним компонентом соединительной ткани являются гликопротеины, которые представляют собой сложные белки с различным числом ковалентно присоединенных олигосахаридных цепей. Эти цепи обычно связаны с остатками Сер (Тре) или Асн и содержат 10–20 остатков моносахаров (галактозы, маннозы, N-ацетилглюкозамина, N-ацетилгалактозамина), последовательность которых зависит от типа гликопротеина. Концевое положение в олигосахариде обычно занято N-ацетилнейраминовой кислотой, реже — фукозой. Биологические свойства гликопротеинов (ферментативные, гормональные и иммунные активности) зависят от характера белкового и углеводного компонентов.

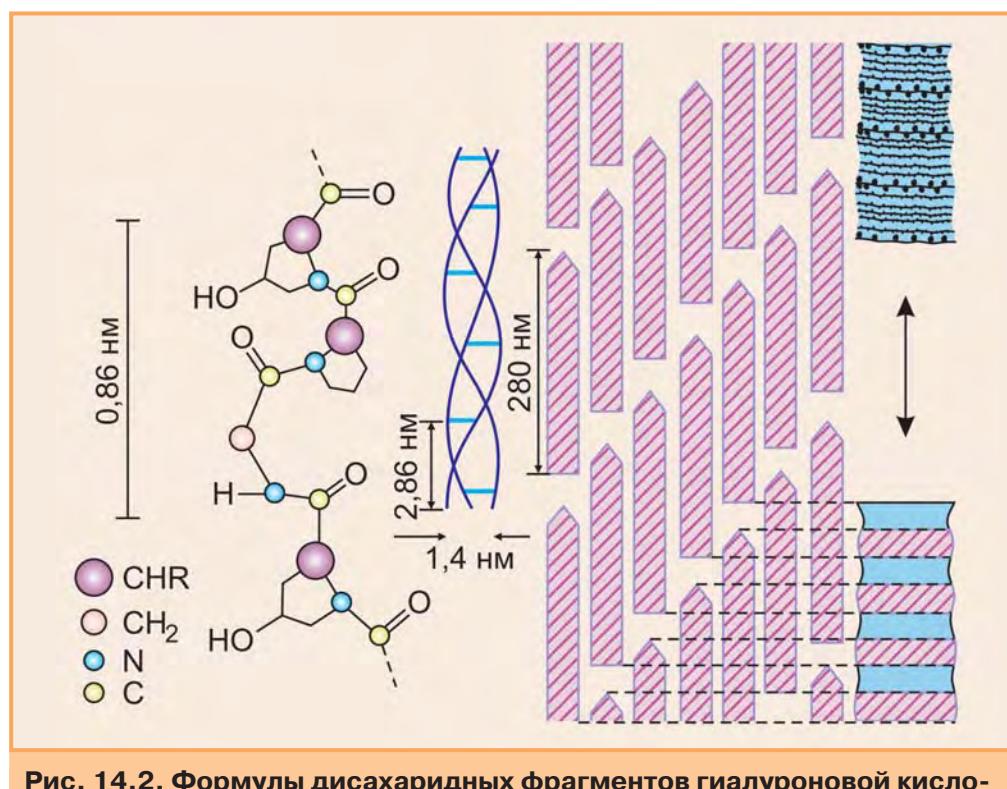


Рис. 14.2. Формулы дисахаридных фрагментов гиалуроновой кислоты и дерматансульфата

Основными низкомолекулярными компонентами соединительной ткани являются вода и ионы натрия. Последние нейтрализуют отрицательный заряд ГАГ, а основная часть воды в соединительной ткани образует гидратную оболочку ионов.

В соединительной ткани полимерные компоненты интегрированы и образуют единую структуру, стабильность которой является следствием межмолекулярных взаимодействий отдельных макромолекул.

ГАГ ковалентно связаны с гликопротеинами, и в зависимости от природы гликопротеина образуются различные протеогликаны. Связь между ГАГ и белком чаще всего ковалентная и осуществляется через трисахаридный фрагмент Гал-Гал-Хил-(Сер). Более высокоорганизованные структуры мономерных протеогликанов ориентированы вдоль молекул гиалуроновой кислоты. В формировании этого комплекса участвуют так называемые связывающие гликопротеины. Взаимодействия между коллагеном и протеогликанами имеют обычно ионную природу и приводят к образованию коллагеновых фибрилл. Состав и количество протеогликанов являются факторами, определяющими образование, форму, направление и свойства волокон.

Кость представляет собой особый тип соединительной ткани, поскольку, кроме обычных макромолекулярных компонентов (органический костный матрикс), она содержит большое количество апатитов (гидроксилапатит, карбонатапатит). Апатиты образуют кристаллы, которые присоединены к поверхности коллагеновых волокон кости таким образом, что длинная ось кристалла ориентирована параллельно длинной оси коллагена. Кристаллы гидроксилапатита располагаются только в некоторых центрах на поверхности коллагеновых фибрилл определенного типа, что объясняет высокую степень организации костного материала, которая, в свою очередь, лежит в основе функционирования костей.

Для метаболизма компонентов соединительной ткани характерен ряд особенностей. Биосинтез основных макромолекул происходит внутри клеток соединительной ткани обособленно. Только после выхода этих макромолекул в межклеточное пространство между ними возникают взаимодействия (образуются протеогликаны, а также комплексы между коллагеном и протеогликанами и коллагеновые волокна). Среди отдельных компонентов соединительной ткани период полужизни минимальен для ГАГ (несколько дней или недель) и максимальен для коллагена (несколько месяцев). Эластин образуется только во время развития плода. В зрелом возрасте он не трансформируется, а лишь распадается.

## Структура и биосинтез коллагена

Коллаген является основным структурным белком межклеточного матрикса. Это фибрillлярный белок, отличающийся от других белков рядом особенностей своего состава и структуры:

- пептидная цепь коллагена содержит около 1000 аминокислотных остатков, из которых каждая третья аминокислота — глицин, 20% составляют пролин и гидроксипролин, 10% — аланин, оставшиеся 40% — другие аминокислоты;

- первичная структура коллагена — это повторяющиеся участки Гли-х-у, где х — часто пролин; у — гидроксипролин;
- при формировании вторичной структуры полипептидная цепь коллагена укладывается в более развернутую левозакрученную спираль (на один виток приходится 3 аминокислотных остатка);
- третичная структура коллагена — это правозакрученная суперспираль из 3 сс-цепей, при формировании которой остаток глицина оказывается в ее центре, что способствует образованию линейной молекулы тропоколлагена с последующим включением ее в волокно.

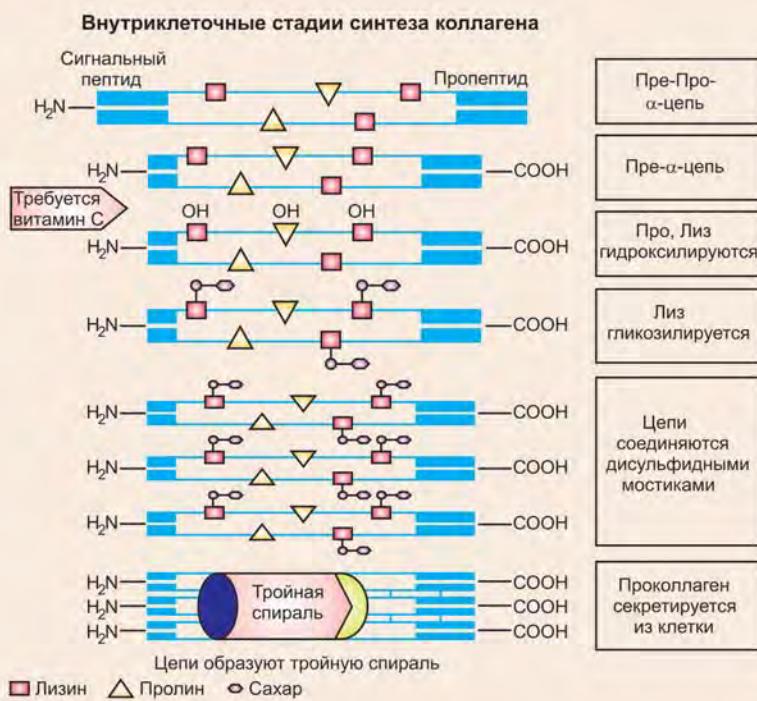
Синтез и созревание коллагена представляют собой сложный многоэтапный процесс, который начинается в клетке, а завершается во внеклеточном пространстве. Он включает в себя ряд посттрансляционных изменений: гидроксилирование пролина и лизина, гликозилирование гидроксилизина, отщепление N- и C-концевых пептидов. Благодаря этим изменениям появляются дополнительные возможности для стабилизации цепей в молекуле тропоколлагена:

- в образовании водородных связей участвуют не только NH- и CO-группы пептидного остова, но и OH-группы гидроксипролина;
- гидроксипролин и пролин, являясь «жесткими» молекулами, ограничивают вращение полипептидного стержня.

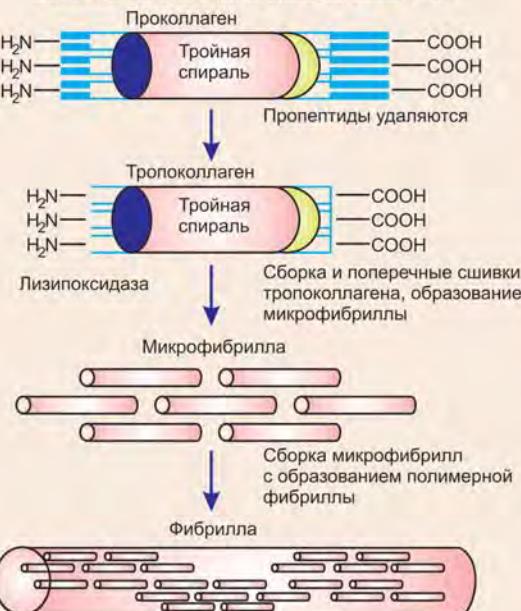
Определенную роль в синтезе коллагена играют белки—шапероны, которые обеспечивают «контроль качества» коллагена: они способствуют правильному синтезу молекул коллагена и их транспорту по секреторным путям, а также «отслеживают» неправильно собранные молекулы коллагена, которые затем разрушаются.

Синтез тропоколлагена происходит в фибробластах на поверхности гранул эндоплазматического ретикулума. Каждый тип цепи в коллагене связан с определенным геном, с которого транскрибуируется мРНК. Синтез пептидной цепи протекает далее в соответствии с общим механизмом, но имеет некоторые особенности. Отдельные цепи коллагена образуются вначале в виде предшественников (называемых  $\alpha_1$ -проколлагеном или проколлагеном<sub>1</sub>). Их молекулярная масса выше, чем у соответствующих цепей коллагена (120 000 по сравнению со 100 000), вследствие большей длины цепи N-концевой части молекулы. По аминокислотному составу проколлагены содержат в N- и C-концевых цистеин и кислые аминокислоты. Остатки цистеина образуют дисульфидные мостики между цепями, что считают одной из причин, вызывающих постепенное скручивание цепей в трехспиральную структуру (рис. 14.3).

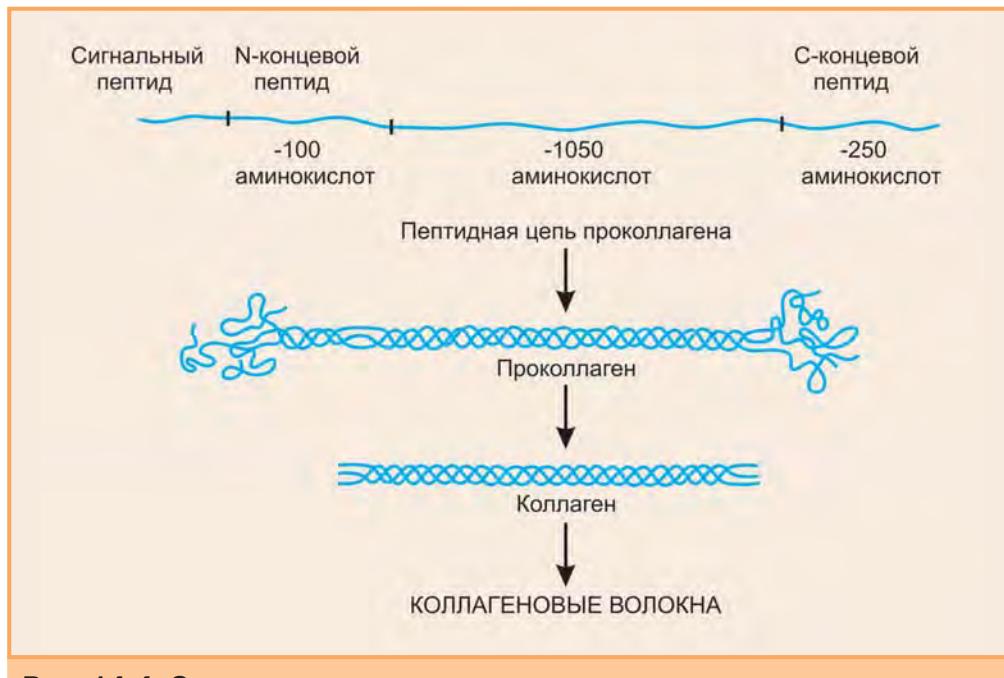
Молекулы тропоколлагена не соприкасаются, так что между ними остается небольшая щель. Параллельные соседние молекулы слегка перекрывают друг друга. В целом существование щелей и перекрытий приводит к образованию темных и светлых полос. Если считать, что длина молекулы коллагена больше его диаметра в 4,4 раза, то ширина щелей составляет 0,6 от его длины, а перекрытий — 0,4. Тройная спираль тропоколлагена стабилизуется водородными связями между отдельными цепями. Это объясняет высокую прочность молекулы на разрыв (рис. 14.4).



#### Внеклеточные стадии синтеза коллагена



**Рис. 14.3. Исчерченность среза, видимая методом электронной микроскопии, соответствует образованию волокон из молекул тропоколлагена длиной 280 нм, которые ориентированы параллельно в продольном направлении с постоянным сдвигом примерно на 1/4 длины (69 нм)**



**Рис. 14.4. Синтез и созревание коллагена**

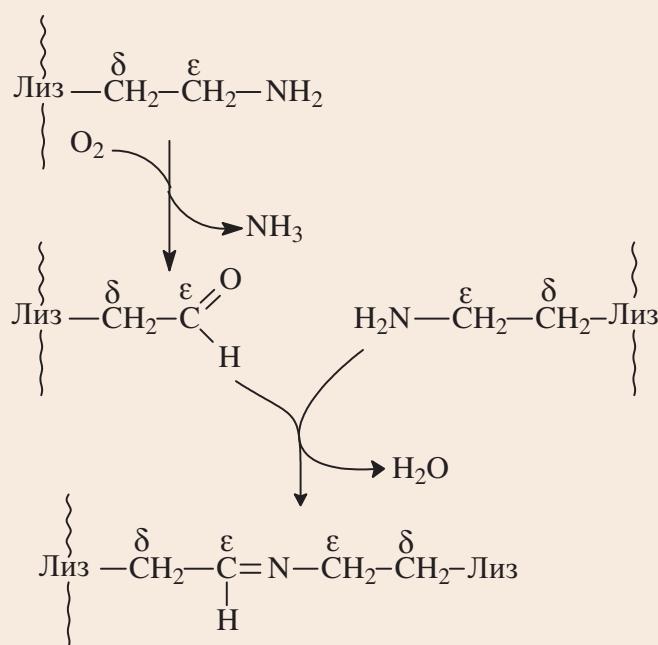
Некоторые остатки лизина и пролина гидроксилируются с образованием оксилизина и оксипролина.

Эта реакция катализируется ферментами проколлаген-лизингидроксилазой и проколлаген-пролингидроксилазой. В этой реакции происходит фиксация атмосферного кислорода при участии  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\alpha$ -кетоглутарата и аскорбиновой кислоты. Выбор аминокислотного остатка при гидроксилировании определяется предшествующей последовательностью — в случае лизина это Gly-X-Lys-Gly-His, где X = Met, Phe или Ile.

После гидроксилирования происходит гликозилирование, в результате которого к оксигруппам О-гликозидной связью присоединяются галактоза или 2O-3-глюкопиранозил-O-3- $\beta$ -галактопираноза. Реакцию катализируют UDP-галактоза-коллагенгалактозилтрансфераза и UDP-глюкоза-коллагенглюкозилтрансфераза. И гидроксилирование, и гликозилирование происходит в структурах агранулярного эндоплазматического ретикулума, и их продуктом является проколлаген. В процессе транспорта через плазматическую мембрану во внеклеточное пространство (экзоцитоза) он превращается в тропоколлаген. Под действием проколлаген-пептидазы, локализованной в мемbrane, отщепляется N-концевой пептид, и образовавшийся тропоколлаген выходит из клетки и образует микрофибриллы. Со временем между отдельными молекулами тропоколлагена образуются сшивки. Этот процесс катализируется лизиноксидазой, которая окисляет E-NH<sub>2</sub>-группу

лизина в альдегидную с образованием аллизина. Последний образует основание Шиффа с расположенной рядом  $\text{NH}_2$ -группой лизина, в результате чего отдельные цепи соединяются прочными ковалентными связями.

Более толстые нити образуются при взаимодействии коллагеновых фибрill с протеогликанами разного типа. Молекулы коллагенов I, II, III, V, XI образованы тремя полипептидными цепями, каждая из которых скручена в левую спираль, а эти спиральные цепи скручены вместе в правую суперспираль. Спиральный домен коллагена I содержит около 1000 аминокислотных остатков (330 повторов Гли-X-Y). Глицин повторяющейся последовательности Гли-X-Y обязателен для образования такой структуры, поскольку радикал любой другой аминокислоты не помещается между тремя пептидными цепями в центре тройной спирали. В последовательности Гли-X-Y позиция X часто занята пролином, а позиция Y — оксипролином. Эти две аминокислоты ограничивают вращение полипептидной цепи. Тройная спираль стабилизирована водородными связями и водными мостиками, многие из которых образуются с участием оксипролина. Радикалы аминокислот в позициях X и Y находятся на поверхности тройной спирали. Порядок распределения кластеров гидрофобных и заряженных радикалов по длине молекулы обеспечивает самосборку многомолекулярных коллагеновых структур с упорядоченным расположением молекул.



**Рис. 14.5. Дезаминирование остатков лизина в коллагене и образование межмолекулярных сшивок**

Коллаген I содержится в тканях (в наибольших количествах) и в разных органах. Распространение других коллагенов более избирательно.

Синтез коллагена включает стадии трансляции, внутриклеточной посттрансляционной модификации и внеклеточной модификации, завершающейся образованием коллагеновых волокон.

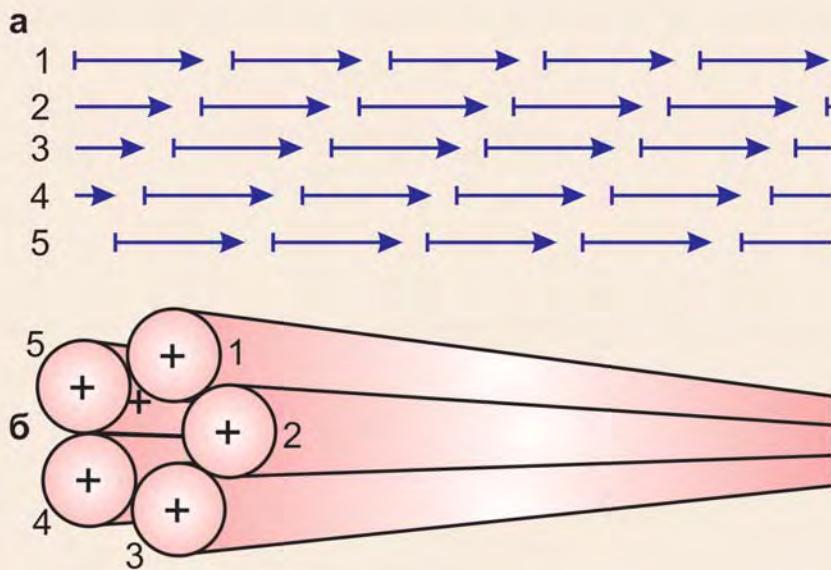
Пептидные цепи коллагена образуются на полирибосомах, связанных с мембранными эндоплазматическим ретикулумом. Одновременно с трансляцией происходит гидроксилирование пролиновых и лизиновых остатков в растущих пептидных цепях. В этой реакции используются кислород и  $\alpha$ -кетоглутарат; в качестве кофакторов участвуют ион  $Fe^{2+}$  и аскорбиновая кислота (витамин С). Один из двух атомов кислорода расходуется на образование гидроксильной группы в аминокислоте, а другой — на образование карбоксильной группы в янтарной кислоте. Аскорбиновая кислота легко окисляется в дегидроаскорбиновую кислоту.

Обратное превращение происходит в ферментативном процессе за счет восстановленного глутатиона. В качестве кофермента гидроксилаз аскорбиновая кислота, вероятно, выполняет роль восстановителя, способствующего сохранению иона железа в двухвалентном состоянии.

Гидроксилирование пролина необходимо для образования на последующих этапах стабильной трехспиральной структуры коллагена. Гидроксилированные остатки лизина (наряду с негидроксилированными) участвуют в образовании ковалентных связей между молекулами коллагена при сборке коллагеновых фибрилл. При цинге — болезни, вызванной недостатком витамина С, синтез коллагена нарушен на стадии гидроксилирования пролиновых и лизиновых остатков. В результате неполного гидроксилирования пептидных цепей образуются менее стабильные и прочные коллагеновые волокна. С этим связаны ломкость кровеносных сосудов при цинге и возникновение множественных точечных кровоизлияний.

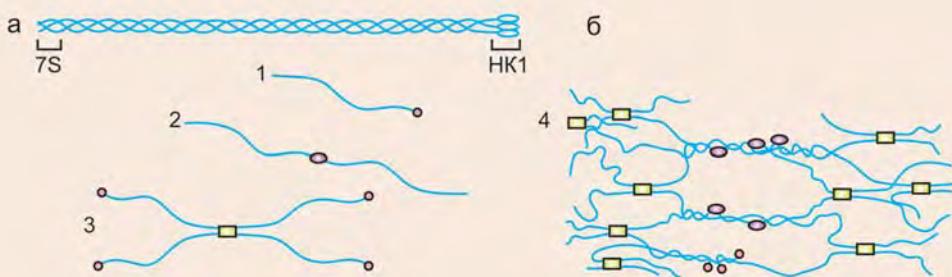
По мере роста пептидных цепей они с помощью гидрофобного сигнального участка на N-конце проникают через мембрану в полость эндоплазматического ретикулума, где происходит гликозилирование пептидных цепей и их объединение в трехспиральные молекулы проколлагена: в правильной ориентации цепей участвуют концевые пропептиды. В ходе этих превращений проколлаген перемещается из эндоплазматического ретикулума в пластинчатый комплекс, включается в секреторные гранулы и секретируется. Уже в межклеточном пространстве при действии группы специальных протеолитических ферментов от проколлагена отщепляются концевые пропептиды, и образуется коллаген (tronоколлаген). В коллагене базальных мембран концевые пептиды могут и не отщепляться.

Образование коллагеновых фибрилл — это в основном процесс самосборки, но структуры, получающиеся в результате самосборки, закрепляются путем образования межмолекулярных ковалентных сшивок. В межклеточном матриксе есть фермент лизилоксидаза, который отщепляет  $\epsilon$ -аминогруппу остатков лизина и гидроксилизина с образованием альдегидной группы (получается аллизин) (рис. 14.5).



**Рис. 14.6. Образование и строение коллагеновых фибрилл.**

Молекулы тропоколлагена агрегируют, образуя микрофибриллы и фибриллы. Микрофибриллы обычно состоят из пяти спирализованных волокон (1–5) и возникают в результате линейной и боковой агрегации молекул тропоколлагена, смещенных на четверть их длины. Эти микрофибриллы вместе с различными гликопротеинами (фибронектином,  $\alpha_1$ -гликопротеином, протеогликанами) образуют фибриллы. Молекулы гликопротеинов обычно находятся на поверхности фибрилл и защищают их от действия коллагеназы



**Рис. 14.7. Сетевидная структура, образованная коллагеном IV:**

а — тройная спираль мономера коллагена IV: 7S — N-конец; HK1 — C-конец; 1 — мономер; 2 — димер, образованный соединением мономеров в области доменов HK1; 3 — тетramer, образованный соединением мономеров в области доменов 7S; 4 — образование сетчатой структуры из олигомерных форм коллагена IV

Далее остаток аллизина одной молекулы коллагена реагирует с аминогруппой остатка лизина другой молекулы коллагена с образованием ковалентной сшивки. Возможно образование связи и между двумя остатками аллизина.

Альтернативный сплайсинг пре-мРНК некоторых коллагенов увеличивает разнообразие молекул коллагена. Некоторые из ферментов, участвующих в пострансляционной модификации коллагена, рассматриваются как перспективные мишени лекарств (ингибиторов) для предотвращения избыточной фиброзной реакции при многих болезнях (рис. 14.6).

**Коллагены, образующие сетевидные структуры.** Наиболее распространенным белком этой группы является коллаген IV типа, основной структурный белок базальных мембран. В геноме человека имеется шесть локусов, кодирующих шесть различающихся пептидных цепей, из которых строятся трехцепочечные молекулы коллагена IV. Пептидные цепи коллагена IV не подвергаются протеолитической модификации после секреции и сохраняют концевые глобулярные домены. Чаще всего коллаген IV содержит цепи  $\alpha_1(IV)$  и  $\alpha_2(IV)$  в составе гетеротримеров  $[\alpha_1(IV)]2\alpha_2(IV)$ . Взаимодействуя глобулярными С-концевыми доменами, молекулы образуют димеры, а при взаимодействии N-концевыми доменами — тетрамеры. Далее к этим взаимодействиям конец в конец добавляются латеральные взаимодействия трехцепочечных спиральных доменов, в том числе с образованием суперспиралей. В результате получается сетевидная трехмерная структура с гексагональными ячейками размером 170 нм.

Многие из коллагенов, не образующих фибрилл (коллагены типов IX, XII, XIV, XVI, XIX и некоторые другие), связаны с фибриллами и оказывают влияние на структуру (в частности, на толщину) и ориентацию фибрилл (рис. 14.7).

### Структура эластина

То, что называется эластичными волокнами и эластичными мембранами, представляет, по существу, многокомпонентную систему. Одним из компонентов являются тонкие, прямые и легкоокрашиваемые фибриллы толщиной 11–12 нм. По составу это гликопротеины, которые, по-видимому, участвуют при эмбриональном развитии в образовании волокон эластина и влияют на их размер и пространственную организацию.

Гибкость эластина связана со свойствами его субъединиц, названных после их выделения  $\alpha$ -эластином. На электронно-микроскопическом изображении они представляются глобулами диаметром около 3 нм. Их молекулярная масса около 74 000. В  $\alpha$ -эластине преобладают Gly, Ala, Val и Pro. На их долю приходится примерно 70% от общего аминокислотного состава белка. Цистеин отсутствует. Из-за малого содержания кислых и основных аминокислот молекула мономерного эластина практически неполярна, а изоэлектрическая точка смещена в слабокислую область, поскольку существует преобладание кислых групп. В водной среде цепи эластина принимают форму глобул, гидрофобные аминокислоты спрятаны внутри молекулы, окруженной водой (рис. 14.8).

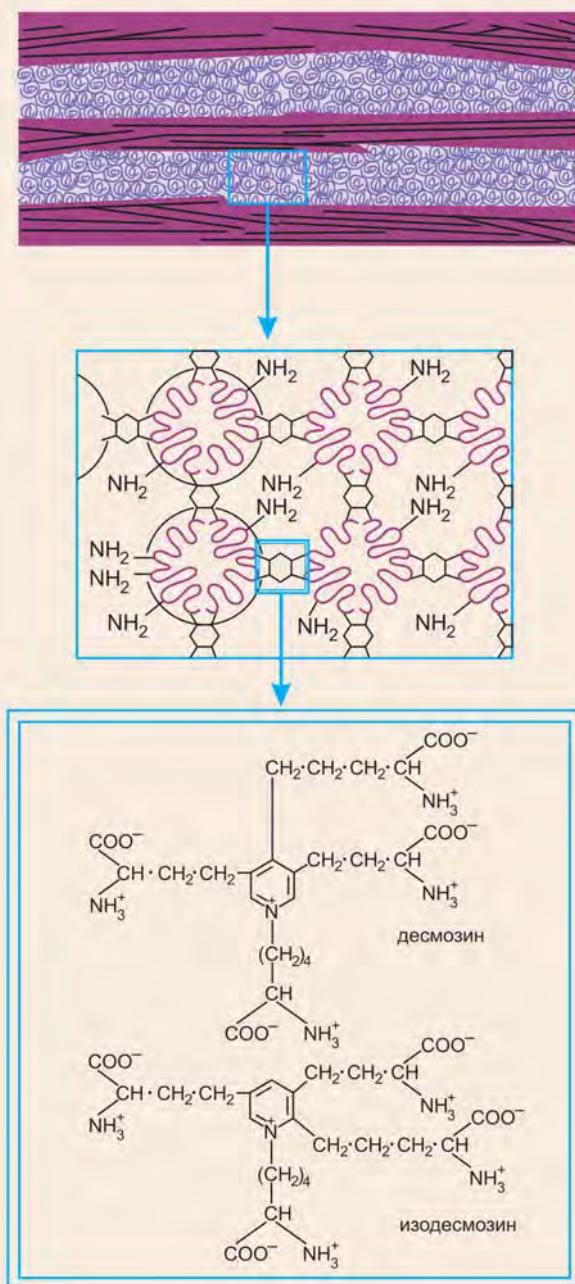
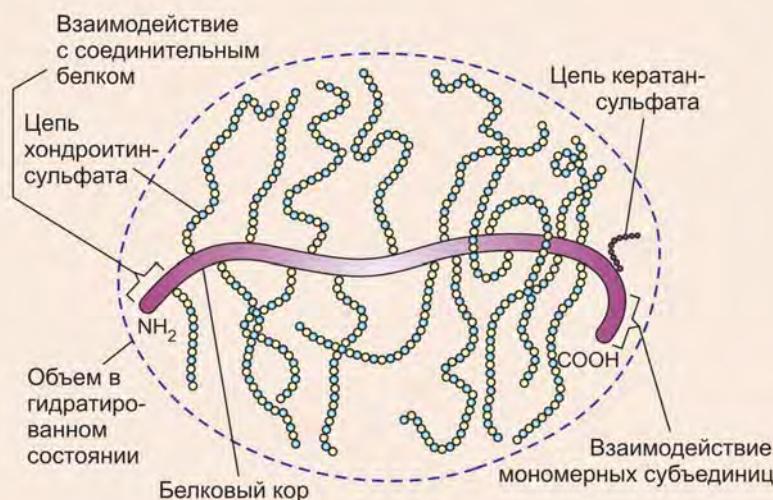


Рис. 14.8. Схема образования связей между протомерами эластина

Некоторые субъединицы эластина образуют сетчатую структуру с помощью соединений, называемых десмозинами (десмозин и изодесмозин). Это гетероциклические вещества, образованные при окислении лизиновых остатков мономерного эластина до  $\delta$ -полуальдегида аминоадипиновой кислоты (аллизин). В результате его циклизации с участием нескольких нестабильных промежуточных соединений (например, меродесмозина) образуются гетероциклические соединения с характерным максимумом поглощения при 275 нм. Молекулы десмозинов образуют прочные связи между протомерами эластина. Эти связи расположены на значительном расстоянии друг от друга, видимо, для поддержания гибкости структуры.

Эластичные (вязкоэластичные) свойства нерастворимого полимерного эластина (волокна могут растягиваться в два и более раза и сохраняют высокую прочность на разрыв даже в полностью растянутом состоянии; сокращение происходит самопроизвольно, и после снятия нагрузки длина волокон восстанавливается до первоначальной величины) объясняются структурным расположением мономеров. При растяжении разрушаются гидрофобные взаимодействия, и изменяется расположение молекул воды. После снятия нагрузки самопроизвольно восстанавливается исходное состояние. Прочность нитей связана с ковалентным характером связей между мономерами эластина.

Эластин образуется только фибробластами эмбриона. На форму и пространственное расположение нитей эластина влияют структурные гликопротеины (рис. 14.9).



**Рис. 14.9. Особенности строения различных гликозаминогликанов**

## Состав и структура гликозаминогликанов

Гликозаминогликаны хорошо растворимы в воде и образуют вязкие растворы. Величина вязкости связана с формой и размером молекул. Наибольшей вязкостью обладают растворы гиалуроновой кислоты, вытянутые молекулы которой имеют молекулярную массу до  $7 \times 10^6$ . Это означает, что даже при очень низкой концентрации (в ткани 0,02–0,3%) гиалуроновая кислота образует гелеобразные структуры, что и соответствует в ряде случаев функциональным требованиям (эндолимфа, синовиальная жидкость). Молекулярная масса хондроитинсульфатов (ХС-4 и ХС-6) значительно меньше ( $14 \times 10^3$ – $18 \times 10^3$ ), поэтому вязкость их растворов ничтожна. В отличие от гиалуроновой кислоты они не встречаются в ткани в свободной форме, а лишь в виде димеров, связанных с белком, и образуют протеогликаны.

Подобную же функцию, по-видимому, выполняют и кератансульфаты. Одной из принципиальных особенностей этих соединений является их способность плотно заполнять все доступное пространство, вытесняя другие макромолекулы к периферии. Их собственные структуры легко пропускают воду и низкомолекулярные вещества. Благодаря высокому содержанию отрицательных зарядов они удерживают много ионов  $\text{Na}^+$ .

Гепарин не является типичным компонентом соединительной ткани. Он существует в форме одиночных полисахаридных цепей или в форме протеогликанов — белков, содержащих несколько полисахаридных цепей. Гепарин синтезируется в тучных клетках, располагающихся вдоль стенок кровеносных сосудов; участвует в регуляции свертывания крови.

## Мономерный протеогликан

В мономере протеогликана ( $M \sim 2,5 \times 10^6$ ) углеводы составляют 93%, а белок 7% молекулы. Пептидная цепь расположена в центре мономера и называется коровым, или акцептирующим, белком. В ней преобладают Ser, Gly, Glu и Ala. К этой пептидной цепи ковалентно через трисахарид (Ser)-Xyl-Gal-Gal-… присоединены молекулы хондроитинсульфатов и кератансульфатов (рис. 14.10).

## Участие гиалуроновой кислоты в образовании высокоорганизованных структур

Гиалуроновая кислота может участвовать в образовании надмолекулярных компонентов. При этом гиалуроновая кислота занимает центральную вытянутую часть комплекса, на которой перпендикулярно продольной оси с интервалом, соответствующим примерно 10 моносахаридным звеньям, расположены молекулы протеогликанов. Молекулы гиалуроновой кислоты, связывающего гликопротеина и корового белка удерживаются вместе связями многих типов: ионными, водородными и S—S-дисульфидными (рис. 14.11).



**Рис. 14.10. Структура мономерного протеогликана**

### Биосинтез сахаридов — предшественников протеогликанов

Исходным веществом для образования протеогликанов служит глюкоза. Из нее двумя различными путями образуются два основных компонента протеогликанов, а именно, уроновая кислота и аминосахара. Они далее реагируют в виде УДФ-производных, которые обычно образуются следующим образом: гексозо-1-фосфат + УТФ  $\rightarrow$  УДФ-гексоза + PPi.

УДФ-идuronовая кислота образуется из УДФ-глюкуроновой в результате эпимеризации в положении C-5 (рис. 14.12).

При реакции декарбоксилирования УДФ-глюкуроновой кислоты необратимо образуется УДФ-ксилоза. Для синтеза важно, чтобы даже пентоза была в пиранозной форме. Синтез большинства промежуточных соединений происходит в цитоплазме фибробластов. Сульфогруппы вводятся в молекулы протеогликанов сульфотрансферазами с участием фосфоаденозилосульфата (ФАФС). Предполагается, что в синтезе хондроитинсульфата участвуют два таких фермента: один из них катализирует присоединение сульфогруппы к C-4, а другой — к C-6 гексозаминов.

### Биосинтез протеогликанов

Процесс синтеза протеогликанов на рибосомах активных фибробластов начинается с образования пептидной части (так называемого корового белка). Глюкоминогликан соединяется с остатком Ser белка через трисахарид — Xyl-Gal-Gal.

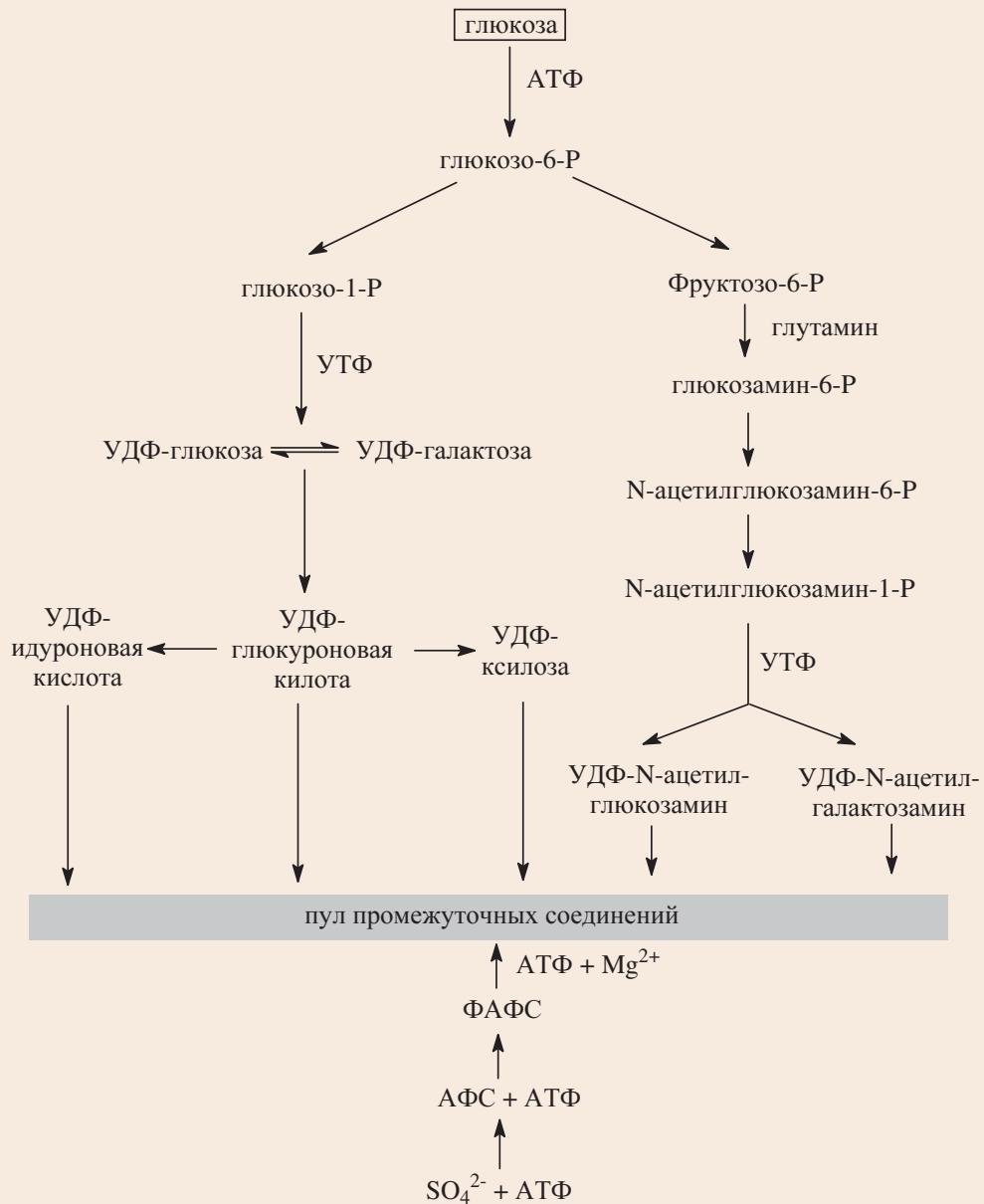


Рис. 14.11. Участие гиалуроновой кислоты в образовании надмолекулярных компонентов

Этот процесс протекает в несколько стадий в структурах гранулярного эндоплазматического ретикулума. Только затем присоединяется первая молекула глюкуроновой кислоты. Дальнейший синтез продолжается до присоединения 30–50 дисахаридных звеньев. После образования цепи длиной около 90 звеньев начинают работать сульфотрансферазы, которые вводят в молекулу сульфогруппы.

Сначала происходит концентрирование протеогликанов в форме секреторных гранул, которые затем сливаются с цитоплазматической мембраной и отдают содержимое во внеклеточное пространство.

Протеогликан синтезируется медленнее, чем его пептидная часть. Синтез обычного пептида происходит за несколько минут, тогда как синтез протеогликана (в зависимости от размера глюказамино-гликановых цепей) может занимать несколько часов.

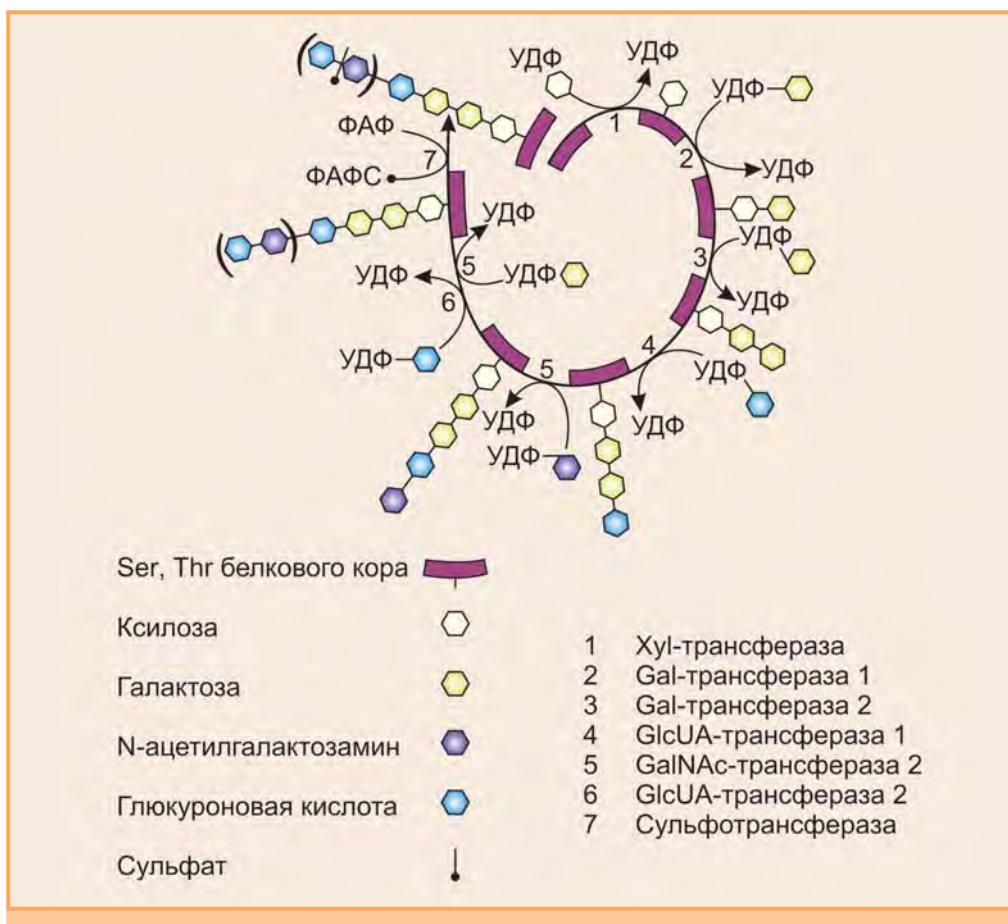


Рис. 14.12. Биосинтез сахаридов — предшественников протеогликанов

## Костный материал

По составу и структуре материал кости напоминает гидроксиапатит  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . В части кристаллов две гидроксильные группы замещены на карбонатные (карбонатапатит), а в дентине на фтор (фторапатит) (рис. 14.13).

Кристаллы гидроксиапатита в кости связаны с поверхностью коллагеновых нитей, но только в определенных центрах. *In vivo* гидроксиапатит синтезируется в две стадии. На первой образуется аморфный осадок фосфата кальция, а на второй происходит кристаллизация. Замещение  $\text{Ca}^{2+}$  на другие ионы из окружающей среды ( $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ra}^{2+}$ ,  $\text{Y}^{3+}$ ) обычно протекает на первой стадии. После кристаллизации замещение  $\text{Ca}^{2+}$  в кристаллической решетке практически не происходит.

### Условия для минерализации

Образованию нерастворимой формы фосфата кальция благоприятствует высокая концентрация  $\text{Ca}^{2+}$ . Физиологически это, по-видимому, достигается быстрым высвобождением  $\text{Ca}^{2+}$  из матрикса окостеневающей ткани, который может связывать кальция в 100 раз больше, чем содержится в сыворотке крови.

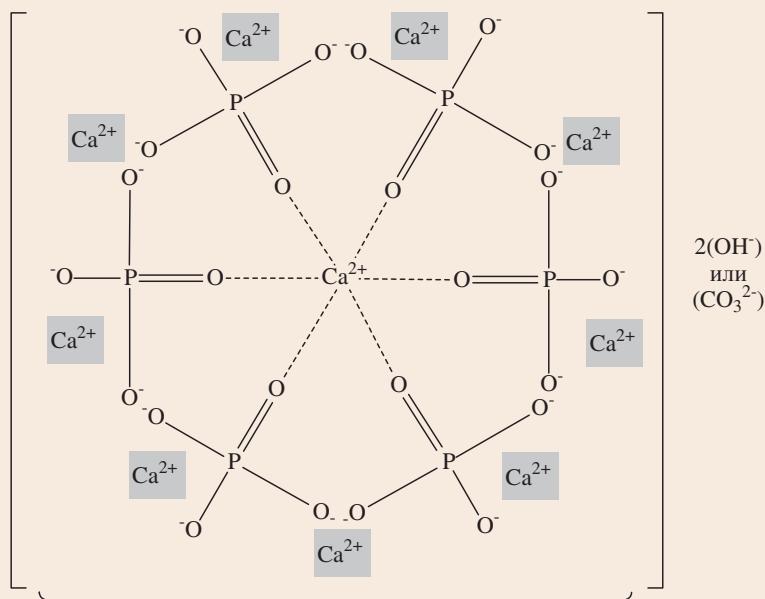


Рис. 14.13. Кристаллы гидроксиапатита в кости

К кальцийсвязывающим белкам принадлежат протеогликаны, сиалогликопротеины и остеокальцин, содержащий в своей молекуле (мол. масса 6500) четыре остатка  $\gamma$ -карбоксиглутаминовой кислоты.  $\gamma$ -карбоксиглутаминовая кислота образуется карбоксилированием глутаминовой кислоты в присутствии витамина K. При патологии минерализация может происходить в любой ткани при повышении в ней концентрации ионов кальция.