

Биохимия с упражнениями и задачами

Библиография Биохимия с упражнениями и задачами [Электронный ресурс] / Северин Е.С., Глухов А.И., Голенченко В.А. и др. / Под ред. Е.С. Северина - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. -

<http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970417362.html>

Авторы Северин Е.С., Глухов А.И., Голенченко В.А. и др. / Под ред. Е.С. Северина

Издательство ГЭОТАР-Медиа

Год издания 2010

Прототип Электронное издание на основе: Биохимия с упражнениями и задачами: учебник + CD. Северин Е.С., Глухов А.И., Голенченко В.А. и др. / Под ред. Е.С. Северина. 2010. - 384 с. - ISBN 978-5-9704-1736-2.

Оглавление

Биохимия с упражнениями и задачами.....	1
Аннотация.....	6
ПРЕДИСЛОВИЕ.....	6
ПРЕДИСЛОВИЕ.....	7
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	8
РАЗДЕЛ 1. СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ.....	11
1.1. СТРУКТУРА АМИНОКИСЛОТ. ПЕПТИДНАЯ СВЯЗь.....	12
1.2. СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ БЕЛКОВ.....	21
1.3. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ.....	33
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ.....	38
1.5. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ.....	52
1.6. ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ БЕЛКОВ.....	56
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ.....	60
РАЗДЕЛ 2. ФЕРМЕНТЫ.....	63
2.1. ОСОБЕННОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА.....	64
2.2. СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ.....	67
2.3. КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ.....	71
2.4. КОФЕРМЕНТНЫЕ ФУНКЦИИ ВИТАМИНОВ.....	75
2.5. КЛАССЫ ФЕРМЕНТОВ.....	79
2.6. РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ.....	87
2.7. ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ.....	95
2.8. ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ В МЕДИЦИНЕ.....	103

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ.....	107
РАЗДЕЛ 3. БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И БЕЛКОВ. ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ.....	111
3.1. СТРОЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ.....	112
3.2. БИОСИНТЕЗ ДНК (РЕПЛИКАЦИЯ)	121
3.3. РЕПАРАЦИЯ ОШИБОК И ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК.....	126
3.4. БИОСИНТЕЗ РНК (ТРАНСКРИПЦИЯ). ПОСТТРАНСКРИПЦИОННЫЕ МОДИФИКАЦИИ РНК.....	128
3.5. БИОСИНТЕЗ БЕЛКА (ТРАНСЛЯЦИЯ).....	139
3.6. ИНГИБИТОРЫ МАТРИЧНЫХ БИОСИНТЕЗОВ	147
3.7. РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА БЕЛКОВ У ЭУКАРИОТ	151
3.8. МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ. ПОЛИМОРФИЗМ БЕЛКОВ. НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ	154
3.9. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК-ТЕХНОЛОГИЙ В МЕДИЦИНЕ.....	157
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ.....	160
РАЗДЕЛ 4. БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ.....	165
4.1. СТРОЕНИЕ И СОСТАВ МЕМБРАН.....	166
4.2. ПЕРЕНОС ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ	171
4.3. УЧАСТИЕ МЕМБРАН В МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ	175
4.4. ТРАНСМЕМБРАННАЯ ПЕРЕДАЧА СИГНАЛОВ.....	176
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ.....	188
РАЗДЕЛ 5. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН	194
5.1. ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ АДФ.....	194
5.2. СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЦЕПИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ	201
5.3. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ И ОБЩИЙ ПУТИ КАТАБОЛИЗМА	213
5.4. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЕ ПИРУВАТА	215
5.5. ЦИТРАТНЫЙ ЦИКЛ.....	219
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ.....	230
РАЗДЕЛ 6. ОБМЕН УГЛЕВОДОВ.....	239
6.1. УГЛЕВОДЫ ПИЩИ	240
6.2. ПЕРЕВАРИВАНИЕ УГЛЕВОДОВ И ТРАНСПОРТ ГЛЮКОЗЫ В КЛЕТКИ	241
6.3. МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ В КЛЕТКАХ.....	247
6.4. ОБМЕН ГЛИКОГЕНА.....	248
6.5. РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА И МОБИЛИЗАЦИИ ГЛИКОГЕНА.....	252
6.6. КАТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ	261
6.7. ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ.....	279

6.8. РЕГУЛЯЦИЯ ГЛИКОЛИЗА И ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗА В ПЕЧЕНИ	287
6.9. ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ ПРЕВРАЩЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ	291
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ.....	294
РАЗДЕЛ 7. ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ	298
7.1. АЗОТИСТЫЙ БАЛАНС. БЕЛКОВОЕ ПИТАНИЕ.....	301
7.2. ПЕРЕВАРИВАНИЕ БЕЛКОВ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ	302
7.3. ТРАНСАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ	307
7.4. ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ	312
7.5. ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ АММИАКА В ТКАНЯХ	321
7.6. СИНТЕЗ МОЧЕВИНЫ (ОРНИТИНОВЫЙ ЦИКЛ КРЕБСА)	326
7.7. ВКЛЮЧЕНИЕ БЕЗАЗОТИСТОГО ОСТАТКА АМИНОКИСЛОТ В ОПК	334
7.8. СИНТЕЗ ЗАМЕНИМЫХ АМИНОКИСЛОТ.....	335
7.9. ОБМЕН ОТДЕЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ. НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ	345
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ.....	376
РАЗДЕЛ 8. ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ.....	382
8.1. БИОСИНТЕЗ И КАТАБОЛИЗМ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ. ГИПЕРУРИКЕМИЯ И ПОДАГРА.....	383
8.2. БИОСИНТЕЗ И КАТАБОЛИЗМ ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ	391
8.3. ОБРАЗОВАНИЕ	393
8.4. ФЕРМЕНТЫ СИНТЕЗА НУКЛЕОТИДОВ КАК МИШЕНИ ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОВИРУСНЫХ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ	395
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ.....	396
РАЗДЕЛ 9. ОБМЕН И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ	400
9.1. СТРОЕНИЕ ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ (ТАГ)	402
9.2. АССИМИЛЯЦИЯ ПИЩЕВЫХ ЖИРОВ	404
9.3. ГИПЕРТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛЕМИЯ I ТИПА, ГИПЕРХИЛОМИКРОНЕМИЯ.....	413
9.4. СИНТЕЗ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ В ПЕЧЕНИ И ЖИРОВОЙ ТКАНИ.....	414
9.5. МОБИЛИЗАЦИЯ ЖИРОВ	427
9.6. ОКИСЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ	428
9.7. УЧАСТИЕ ГОРМОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ПЕЧЕНИ	432
9.8. КЕТОНОВЫЕ ТЕЛА.....	433
9.9. ЭЙКОЗАНОИДЫ	437
9.10. АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ	442
9.11. СТРОЕНИЕ ХОЛЕСТЕРОЛА И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЕГО В ТКАНЯХ.....	449

9.12. АССИМИЛЯЦИЯ ПИЩЕВОГО ХОЛЕСТЕРОЛА	450
9.13. СИНТЕЗ ХОЛЕСТЕРОЛА В ПЕЧЕНИ И ПОСТУПЛЕНИЕ ЕГО В ТКАНИ.....	452
9.14. МЕТАБОЛИЗМ ЛПВП, ИХ РОЛЬ В ОБМЕНЕ ХОЛЕСТЕРОЛА	456
9.15. СИНТЕЗ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ, РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССА. ЖЕЛЧНОКАМЕННАЯ БОЛЕЗНЬ	458
9.16. ГИПЕРХОЛЕСТЕРОЛЕМИЯ. МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА	461
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ.....	467
РАЗДЕЛ 10. ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА	470
10.1. РОЛЬ ГОРМОНОВ В регуляции МЕТАБОЛИЗМА.....	471
10.2. РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ, ЛИПИДОВ И АМИНОКИСЛОТ.....	475
10.3. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ОСНОВНЫХ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ СУБСТРАТОВ	493
10.4. САХАРНЫЙ ДИАБЕТ	497
10.5. РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНО-СОЛЕВОГО ОБМЕНА.....	507
10.6. НАРУШЕНИЯ ВОДНО-СОЛЕВОГО ОБМЕНА	516
10.7. РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА КАЛЬЦИЯ И ФОСФАТОВ.....	518
10.8. ГИПО- И ГИПЕРКАЛЬЦИЕМИЯ	522
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ.....	525
РАЗДЕЛ 11. БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ	529
11.1. ГЛИКОЗАМИНГЛИКАНЫ	531
11.2. КОЛЛАГЕНЫ.....	538
11.3. ЭЛАСТИН.....	549
11.4. АДГЕЗИВНЫЕ БЕЛКИ	551
11.5. МИНЕРАЛИЗОВАННАЯ СОЕДИНИТЕЛЬНАЯ ТКАНЬ	558
11.6. МИНЕРАЛЬНЫЙ СОСТАВ И СТРОЕНИЕ АПАТИТОВ В ТВЕРДЫХ ТКАНЯХ	562
11.7. ОРГАНИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА МИНЕРАЛИЗОВАННЫХ ТКАНЕЙ.....	566
11.8. РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ	590
11.9. РЕГУЛЯЦИЯ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ, РОСТА И РАЗВИТИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ.....	601
11.10. МАРКЕРЫ МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ.....	608
11.11. ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ И МЕТАБОЛИЗМА ТКАНЕЙ ЗУБА	609
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ.....	625
РАЗДЕЛ 12. БИОХИМИЯ СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ	629
12.1. ФОРМИРОВАНИЕ СЛЮННОГО СЕКРЕТА	630
12.2. РЕГУЛЯЦИЯ СЕКРЕЦИИ СЛЮНЫ	635
12.3. НЕОРГАНИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ СЛЮНЫ И РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ.....	640
12.4. БЕЛКИ И ФЕРМЕНТЫ СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ	649

12.5. ОРГАНИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА НЕБЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ	662
12.6. БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА СЛЮНЫ	663
12.7. ЗАЩИТНЫЕ СИСТЕМЫ ПОЛОСТИ РТА.....	668
12.8. ДЕСНЕВАЯ ЖИДКОСТЬ	677
12.9. ОБРАЗОВАНИЕ ЗУБНОГО НАЛЕТА И РАЗВИТИЕ КАРИЕСА.....	685
12.10. ЗУБНОЙ КАМЕНЬ И ВОСПАЛЕНИЕ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА	697
12.11. СЛЮНА КАК ПРЕДМЕТ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ.....	702
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ.....	704
РАЗДЕЛ 13. ИНАКТИВАЦИЯ ЧУЖЕРОДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ.....	710
13.1. СИСТЕМА МИКРОСОМАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ВЕЩЕСТВ И РЕАКЦИИ КОНЬЮГАЦИИ.....	711
13.2. ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ПРОДУКТОВ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА.....	714
13.3. БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ЛЕКАРСТВ В ПЕЧЕНИ	715
13.4. ОСНОВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФАГОЦИТОЗА	720
РАЗДЕЛ 14. МЕТАБОЛИЗМ ГЕМА И ОБМЕН ЖЕЛЕЗА	726
14.1. БИОСИНТЕЗ ГЕМА И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ	727
14.2. ОБМЕН ЖЕЛЕЗА.....	730
14.3. НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЖЕЛЕЗА.....	732
14.4. КАТАБОЛИЗМ ГЕМА	733
14.5. НАРУШЕНИЯ КАТАБОЛИЗМА ГЕМА. ЖЕЛТУХИ	735
РАЗДЕЛ 15. БИОХИМИЯ КРОВИ.....	743
15.1 МЕТАБОЛИЗМ ЭРИТРОЦИТОВ	744
15.2. ОСНОВНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕМОСТАЗА.....	749
15.3. БЕЛКИ ПЛАЗМЫ КРОВИ.....	765
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ.....	766
НАЗВАНИЯ РИСУНКОВ	772

Аннотация

В учебнике, написанном преподавателями кафедры биологической химии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, в доступной форме представлены сложные современные научные данные о молекулярных основах функционирования организма. Издание содержит иллюстративный материал, тестовые задания и ситуационные задачи к каждому из 15 разделов. Все предложенные для самостоятельного решения ситуационные задачи имеют "управляющие" вопросы, которые позволят студентам справиться с их решением. Большинство задач основано на вопросах, рассматриваемых в специальном курсе. Книга дополнена диском, на котором представлены некоторые вопросы курса биологической химии, рисунки, схемы, небольшой объем заданий, не вошедшие в учебник. Предназначен для студентов медицинских вузов, обучающихся по специальности "Стоматология", а также практикующих врачей.

Гриф Гриф УМО по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Книга написана преподавателями кафедры биологической химии Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова. Данный учебник предназначен для студентов медицинских вузов, обучающихся по специальности «Стоматология».

Для понимания патогенеза, профилактики и лечения многих стоматологических заболеваний, в том числе таких распространенных, как кариес, пародонтоз необходимы знания не только по биохимии минерализованных тканей, мягких тканей и жидкости полости рта, но и понимание основных метаболических процессов, протекающих в организме человека, и механизмах их регуляции. Рассматривая основные вопросы фундаментальной биохимии, авторы показали взаимосвязь процессов происходящих в организме и состоянием тканей и секретов ротовой полости.

Для этого, с целью профилирования, в традиционно изучаемые темы курса введен ряд дополнений. Так, в разделах «Белки. Ферменты» дано первое представление о белке межклеточного матрикса коллагене, сведения о некоторых ферментах и белках смешанной слюны или участвующих в метаболизме соединительной ткани - щелочной и кислой фосфатазе, карбангидразе, коллагеназе и др., а также влияние аналогов ацетилхолина на интенсивность слюнной секреции и возникновение ксеростомии после их применения. В разделе «Биосинтез нуклеиновых кислот и белков»

описываются особенности посттрансляционных модификаций белков минерализованных тканей, действие противобактериальных препаратов на состояние микрофлоры полости рта. Рассмотрены причины наследственных нарушений минерализованных тканей. В разделе «Биологические мембраны» при изучении липидов мембран введено понятие «секреторные» фосфолипиды и указана их роль в процессе минерализации и ремоделирования костной ткани. При изучении цитратного цикла в разделе «Энергетический обмен» показана роль цитрата не только в этом процессе, но и его участие на разных стадиях ремоделирования минерализованных тканей.

ПРЕДИСЛОВИЕ

В разделе «Обмен углеводов» подчеркнута роль углеводов, в первую очередь сахарозы, в возникновении кариеса. При рассмотрении вопросов регуляции, обмена кальция и фосфатов описано действие гормона слюнных желез паротина, его влияние на минеральный обмен.

Сложные современные научные данные о молекулярных основах функционирования организма представлены в доступной форме, широко использован иллюстративный материал, тестовые задания и ситуационные задачи. Каждый из 15 разделов учебника имеет рубрику «Тестовые задания и задачи», содержащие также задания по составлению таблиц и метаболических схем. Все предложенные для самостоятельного решения ситуационные задачи имеют «управляющие» вопросы, которые должны позволить студентам справиться с их решением. Большая часть задач построена на ситуациях по материалам разделов специального курса «Соединительная ткань» и «Биохимия смешанной слюны».

Книга дополнена диском, на котором представлены некоторые вопросы курса биологической химии, рисунки, схемы, небольшой объем заданий, не вошедшие в учебник. Также дан расширенный предметный указатель, позволяющий быстро найти интересующую информацию в учебнике.

У студентов большой интерес должны вызвать 24 ситуационные задачи с решениями. На этих примерах авторы учебника хотят показать, как правильно строить ответы на поставленные вопросы, какие следует включать схемы или реакции для объяснения того или иного вопроса.

Пользуясь материалами, представленными на диске, студенту легче будет подготовиться к экзамену по биологической химии, так как помимо

экзаменационных вопросов он содержит 150 экзаменационных тестовых заданий.

Простота изложения вопросов фундаментальной биохимии, специального курса и современных достижений в этой области знаний, а также дополнительный материал диска, очевидно, сделают эту книгу востребованной студентами и врачами.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Ca^{2+} - катион(ы) кальция, ион(ы) кальция;

ионизированный (свободный) кальций

Cl^- - анион(ы) хлора

FAD - флавинадениндинуклеотид

FMN - флавинмонопнуклеотид

Gs - белок (произноят как джи эс) стимулирующий

Gi - белок (произноят как джи и) ингибирующий

Gplc - белок (произноят как джи пи эль си), стимулирующий фосфолипазу C (phospholipase C)

H^+ - ион(ы) водорода, протоны

[K+] - концентрация ионов водорода

$\text{H}_4\text{-БП}$ - $\text{H}_4\text{-биоптерин}$

Kb - гемоглобин

Ig - иммуноглобулин, иммуноглобулины

K^+ - катион(ы) калия

ET - leucotriens, лейкотриены

метНЬ - метгемоглобин

Na^+ - катион(ы) натрия

NAD - никотинамидадениндинуклеотид

NADP - никотинамидадениндинуклеотидфосфат

OPG - остеопротегерин

PG - prostaglandins, простагландины

P_i (K₃PO₄) - фосфат неорганический

PP_i (K₄P₂O₇) - пирофосфат неорганический

PRP - prolin-rich proteins - белки, богатые пролином

RANKL - receptor activator of nuclear factor KB ligand - белок, активирующий остеокласты

R_{RANKL}- рецептор белка RANKL

SAG - S-аденозилгомоцистеин

SAM - S-аденозилметионин

SC - secretory components - секреторный компонент

sIgA - секреторные иммуноглобулины

TNF - tumor necrosis factor, фактор некроза опухолей

VIP - vasoactive intestinal polypeptide - вазоактивный интестинальный (кишечный) пептид

АДГ - антидиуретический гормон (вазопрессин)

АКТГ - адренокортикотропный гормон

АЛТ - аланинаминотрансфераза

цАМФ - циклический аденозин-3',5'-монофосфат

АПФ - ангиотензинпревращающий фермент

АСТ - аспаратаминотрансфераза

АТФ - аденозинтрифосфорная кислота (аденозинтрифосфат)

АЦ - аденилатциклаза

АХАТ - ацилхолестеролацилтрансфераза

ГАГ - гликозамингликаны

ГАП - гидроксиапатиты

ГАМК - γ-аминомасляная кислота

ГАФ - глицеральдегид-3-фосфат

ГТФ - гуанозинтрифосфат

ГЦ - гуанилатциклаза

цГМФ- циклический гуанозин-3',5'-монофосфат

Д - дальтон (после числового значения)

ДАГ - диацилглицерол

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ИФ₃ - инозитол-1,4,5-трифосфат (инозитол-3-фосфат)

кД - килодальтон

КоА - кофермент (коэнзим) А

КоQ - кофермент (коэнзим) Q

ЛДГ - лактатдегидрогеназа ЛП - липопротеины

ЛПВП - липопротеины высокой плотности

ЛП-липаза - липопротеинлипаза

ЛПНП - липопротеины низкой плотности

ЛПОНП - липопротеины очень низкой плотности

ЛППП- липопротеины промежуточной плотности

ЛХАТ - лецитинхолестеролацилтрансфераза

МАО - моноаминооксидаза

ОПК - общий путь катаболизма

ОП - остеопонтин

ОН - остеоонектин

ОК - остеокальцин

ПТГ - паратиреоидный гормон (паратгормон) ПКА - протеинкиназа А ПКС -

протеинкиназа С ПКГ - протеинкиназа G ПФП - пентозофосфатный путь

ПНФ - предсердный натриуретический фактор РНК - рибонуклеиновая

кислота ТАГ - триацилглицеролы Тир-ПК - тирозиновая протеинкиназа УТФ

- уридинтрифосфат ФАФС - 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат ФЛС -

фосфолипаза С ФПФ - фосфопротеинфосфатаза ФРН - фактор роста нервов

ФРЭ - фактор роста эпителия ФС - фосфатидилсерин ХМ - хиломикроны

ЦНС - центральная нервная система ЦПЭ - цепь переноса электронов ЦТК -

цикл трикарбоновых кислот, цикл Кребса ЦТФ - цитидинтрифосфат ЭР - эндоплазматический ретикулум

РАЗДЕЛ 1. СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ



Основные темы раздела:

- 1.1. Структура аминокислот. Пептидная связь.
- 1.2. Структурная организация белков.
- 1.3. Физико-химические свойства белков.
- 1.4. Строение и функционирование гемоглобина.
- 1.5. Строение и функции иммуноглобулинов.
- 1.6. Основные методы разделения и очистки белков

Белки (протеины) - высокомолекулярные азотсодержащие органические соединения структура которых изучалась с середины XVIII в Голландский ученый Г. Мульдер в начале XIX в установил, что белки представляют собой полимеры, построенные из α -аминокислот и предложил термин «протеины»

(от греч. protos - первый) подчеркивая ведущую роль этих соединений в живой природе. Термином «белки» в России стали называть вещества, выделяемые из организма и имеющие сходство с белком куриного яйца.

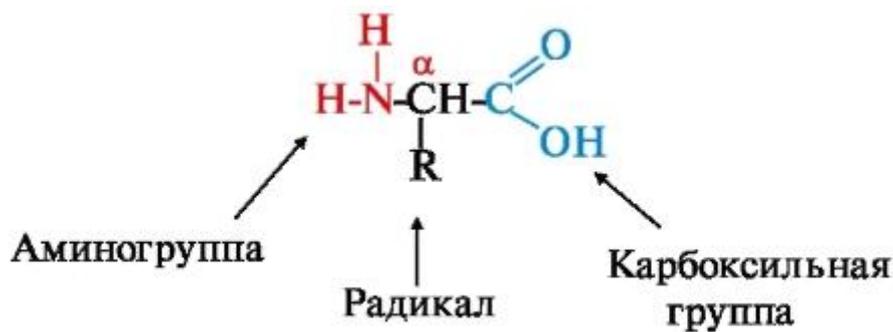
В организме человека на долю белков приходится до $\frac{1}{4}$ его массы тела (около 15 кг). Они составляют основу структуры и жизнедеятельности всех живых клеток. Фенотипические признаки и многообразие функций каждого организма обуславливают именно определенный набор белков.

Известно более 50 000 белков организма человека, выполняющих следующие функции:

- каталитическую - ускорение химических реакций, осуществляют ферменты, составляющие > 50% всех белков;
- защитную - защищают организм от действия бактерий токсинов, чужеродных белков и других макромолекул белки - иммуноглобулины (антитела), система комплемента лизоцим, лактоферрин и др.;
- транспортную - перенос различных веществ по крови с помощью белков, например сывороточного альбумина (транспорт ионов Na^+ жирных кислот и др.), трансферрина (транспорт ионов железа), гемоглобина (транспорт кислорода);
- регуляторную - метаболизм клеток контролируют белковые гормоны (инсулин, глюкагон, вазопрессин и др.);
- сократительную - работа мышц происходит с помощью белков актина и миозина;
- структурную - осуществляют белки нуклеосом (гистоны), белки соединительной ткани (коллаген и эластин), фибрин тромбов, кератин волос и ногтей;
- резервную - формой запасания аминокислот для организма служат белки мышц, альбумин плазмы.

1.1. СТРУКТУРА АМИНОКИСЛОТ. ПЕПТИДНАЯ СВЯЗЬ

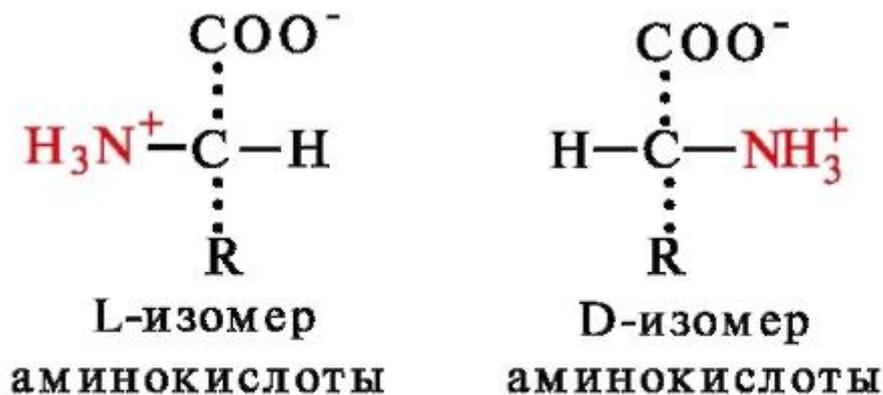
Белки - высокомолекулярные соединения, образованные из α -аминокислот, связанных между собой пептидными связями.



В природе известно более 300 различных аминокислот, но только 20 из них входят в состав белков человека, животных и других высших организмов. Каждая аминокислота имеет карбоксильную группу, аминогруппу в α -положении (у 2-го атома углерода) и радикал (боковую цепь), отличающийся у различных аминокислот.

При физиологическом значении pH (~7,4) карбоксильная группа аминокислот обычно диссоциирует, а аминогруппа протонируется.

Все аминокислоты (за исключением глицина) содержат асимметричный атом углерода, поэтому могут существовать в виде L- и D-стереоизомеров:



Для синтеза белков человека используются только L-аминокислоты. В белках с длительным сроком существования L-изомеры медленно могут приобретать D-конфигурацию, причем это происходит с определенной, характерной для каждой аминокислоты скоростью. Так, белки дентина зубов содержат L-аспартат, который переходит в D-форму при температуре тела человека со скоростью 0,01% в год. Поскольку дентин эмали практически не обменивается и не синтезируется у взрослых людей в отсутствие травмы, по содержанию D-аспартата можно установить возраст человека, что используется в клинической и криминалистической практике.

Радикалы (боковые цепи) аминокислот являются переменной частью пептида и могут содержать различные функциональные группы: полярные (гидрофильные):

- гидроксильную $-OH$;
- карбоксильную $-COOH$;
- аминогруппу $-NH_2$;
- иминогруппу $=NH$;
- амидную $-CO-NH_2$;
- тиольную $-SH$;

неполярные (гидрофобные):

- метильную $-CH_3$;

- фенильную



Химические группы радикалов обладают различными свойствами, которые обуславливают свойства содержащих их пептидов (табл. 1.1). Так, наличие

неполярных групп $-CH_3$,



уси-

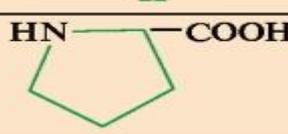
ливает гидрофобность, а обилие полярных групп $-OH$, $-SH$, $-COOH$, $-NH_2$ делает пептиды гидрофильными. Все аминокислоты, входящие в белки, в зависимости от структуры и полярности радикалов можно разделить на 4 группы (см. табл. 1.1).

В состав белков человека входит 19 аминокислот и 1 циклическая иминокислота - пролин, имеющая иминогруппу $-NH-$. Роль гидрофобного радикала в этой молекуле играет насыщенная алифатическая трехуглеродная цепь, образующая 5-членный цикл между α -углеродным атомом и иминогруппой:



Таблица 1.1

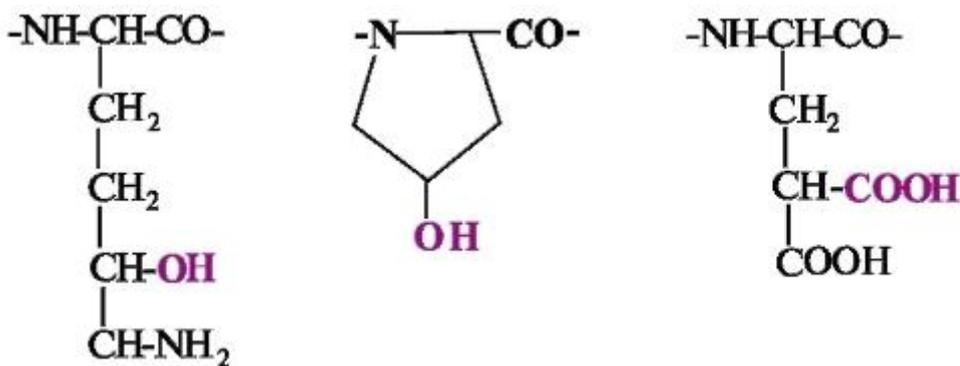
Классификация аминокислот по полярности радикалов

№ п/п	Название		Формула аминокислоты
	полное	сокращенное	
I. Аминокислоты с неполярными радикалами			
1	Глицин	Гли	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
2	Аланин	Ала	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
3	Валин	Вал	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3 \end{array}$
4	Лейцин	Лей	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3 \end{array}$
5	Изолейцин	Иле	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{array}$
6	Метионин	Мет	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3 \end{array}$
7	Фенилаланин	Фен	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$
8	Триптофан	Три	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2 \end{array}$
9	Про		
II. Аминокислоты с полярными незаряженными радикалами			
10	Серин	Сер	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$
11	Треонин	Тре	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{OH} \end{array}$

Окончание таблицы 1.1

12	Тирозин	Тир	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{OH} \end{array}$
13	Цистеин	Цис	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{SH} \end{array}$
14	Аспарагин	Асп	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CO}-\text{NH}_2 \end{array}$
15	Глутамин	Гли	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_2 \\ \\ \text{CO}-\text{NH}_2 \end{array}$
III. Аминокислоты с полярными анионогенными радикалами			
16	Аспарагиновая кислота	Асп	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$
17	Глутаминовая кислота	Глу	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2-\text{COOH} \end{array}$
IV. Аминокислоты с полярными катионогенными радикалами			
18	Лизин	Лиз	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_4 \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
19	Аргинин	Арг	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{C}=\text{NH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
20	Гистидин	Гис	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_4\text{H}_3\text{N}_2 \end{array}$

Некоторые белки содержат аминокислоты с модифицированными радикалами, отсутствующие в других белках. Так, в полипептидную цепь коллагена входит гидроксизин, эластина и коллагена - гидроксипролин. Факторы свертывания крови протромбин, проконвертин, белки костной ткани остеокальцин, сиалопротейн содержат у-карбоксихлутаминовую кислоту:



Гидроксизин Гидроксипролин у-Карбоксихлутаминовая кислота

Модификация радикалов таких аминокислот обычно происходит уже после включения их в полипептидную цепь.

Содержание отдельных аминокислот в белках может варьировать в широких пределах, наиболее часто встречается глицин, реже всего - триптофан. Очень часто в состав белков входят аланин, валин, лейцин, серин, а также глутаминовая кислота и глутамин. Большинство белков по аминокислотному составу сильно не отличаются друг от друга, но существуют белки с уникальным, очень характерным составом. Так, белок соединительной ткани коллаген на 30% состоит из глицина и на 20% - из пролина, белки хромосом гистоны на 30% состоят из катионогенных аргинина и лизина, альбумин плазмы на 30% - из анионогенных аспарагиновой и глутаминовой кислот. Уникальный аминокислотный состав имеют специфические протеины слюны: белки, богатые пролином (PRP) (содержание пролина в них достигает 20-40%), статхерины (богаты тирозином), гистатины (преобладают гистидин и серин), а также цистатины (богаты цистеином).

Пептидная связь

Аминокислоты в полипептидной цепи связаны амидной связью, которая образуется между α -карбоксовой группой одной и α -аминогруппой следующей аминокислоты (рис. 1.1). Образующаяся между аминокислотами

ковалентная связь получила название пептидной связи. Атомы кислорода и водорода пептидной группы при этом занимают трансположение.

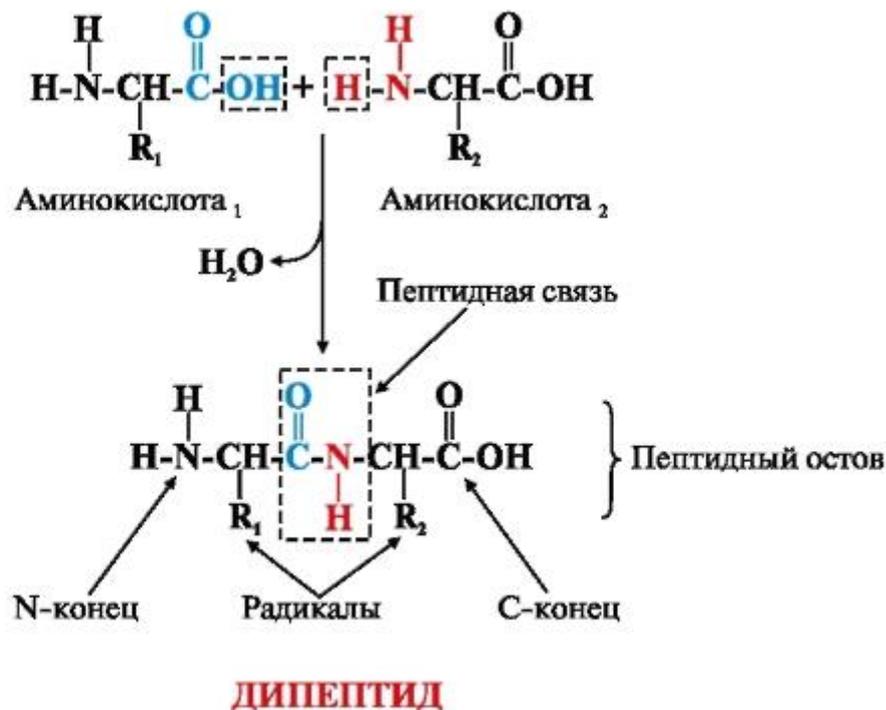


Рис. 1.1. Схема образования пептидной связи

В каждом белке или пептиде можно выделить: N-конец белка или пептида, имеющий свободную α-аминогруппу (-NH₂);

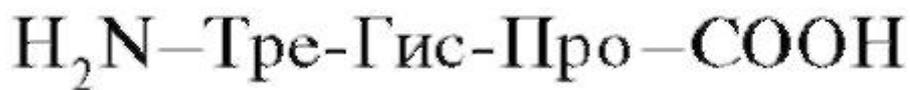
C-конец, имеющий свободную карбоксильную группу

(-COOH);

Пептидный остов белков, состоящий из повторяющихся фрагментов: -NH-CH-CO-;

Радикалы аминокислот (боковые цепи) (R₁ и R₂) - переменные группы.

Сокращенная запись полипептидной цепи, так же как и синтез белка в клетках, обязательно начинается с N-конца и заканчивается C-концом:



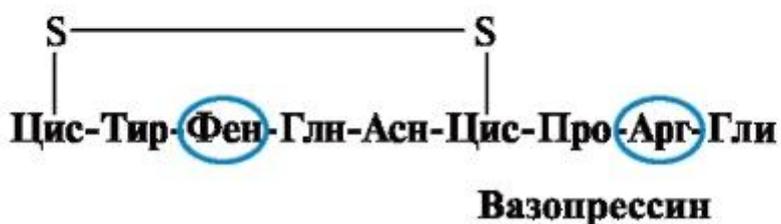
Названия аминокислот, включенных в пептид и образующих пептидную связь, имеют окончания -ил. Например, трипептид, приведенный выше, называется треонил-гистидил-пролин.

Единственной вариабельной частью, отличающей один белок от всех остальных, является сочетание радикалов (боковых цепей) аминокислот, входящих в него. Таким образом, индивидуальные свойства и функции белка обусловлены структурой и порядком чередования аминокислот в полипептидной цепи.

Полипептидные цепи разных белков организма могут включать от нескольких аминокислот до сотен и тысяч аминокислотных остатков. Их молекулярная масса (мол. масса) также колеблется в широких пределах.

Так, гормон вазопрессин состоит из 9 аминокислот, мол. масса 1070 кД; инсулин - из 51 аминокислоты (в 2 цепях), мол. масса 5733 кД; лизоцим - из 129 аминокислот (1 цепь), мол. масса 13 930 кД; гемоглобин - из 574 аминокислот (4 цепи), мол. масса 64 500 кД; коллаген (тропоколлаген) - примерно из 1000 аминокислот (3 цепи), мол. масса ~130 000 кД.

Свойства и функция белка зависят от структуры и порядка чередования аминокислот в цепи, изменение аминокислотного состава может их сильно изменить. Так, 2 гормона задней доли гипофиза - окситоцин и вазопрессин - являются нанопептидами и отличаются 2 аминокислотами из 9 (в положении 3 и 8):



Основной биологический эффект окситоцина заключается в стимуляции сокращения гладкой мускулатуры матки при родах, а вазопрессин вызывает реабсорбцию воды в почечных канальцах (антидиуретический гормон) и обладает сосудосуживающим свойством. Таким образом, несмотря на большое структурное сходство, физиологическая активность этих пептидов и

ткани-мишени, на которые они действуют, отличаются, т.е. замена всего 2 из 9 аминокислот вызывает существенное изменение функции пептида.

Иногда совсем небольшое изменение структуры крупного белка вызывает подавление его активности. Так, фермент алкогольдегидрогеназа, расщепляющий этанол в печени человека, состоит из 500 аминокислот (в 4 цепях). Активность его у жителей Азиатского региона (Япония, Китай и др.) намного ниже, чем у жителей Европы. Это связано с тем, что в полипептидной цепи фермента происходит замена глутаминовой кислоты на лизин в положении 487.

Каждый белок организма функционирует определенный период, а затем подвергается распаду и обновлению. Время жизни разных белков различается очень значительно. Так, растворимые белки печени относятся к короткоживущим и обновляются каждые 20-30 мин, фермент РНК-полимераза - примерно каждые 2,5 ч, глюкокиназа - каждые 12 ч. Короткоживущими являются белки свертывающей системы крови, период их жизни составляет несколько минут или часов, белки эпителия полости рта обновляются каждые 6-12 дней, гемоглобин существует 120 дней, а белок соединительной ткани эластин за 75 лет обменивается только наполовину.

1.2. СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ БЕЛКОВ

Молекулы белка трехмерны и имеют несколько уровней структурной организации.

Первичная структура - порядок чередования (последовательность) аминокислот в полипептидной цепи, образуется пептидными связями, индивидуальна для различных белков (рис. 1.2).

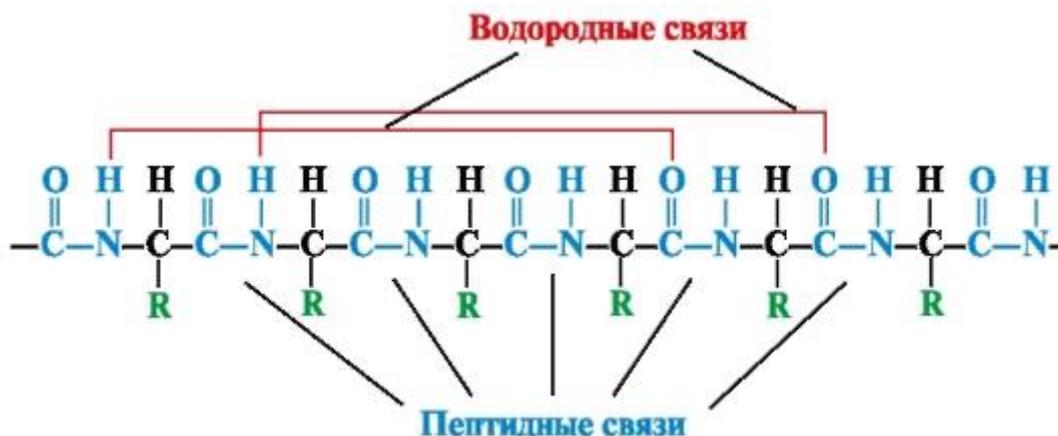


Рис. 1.2. Первичная структура белка

Пептидные связи стабилизируют линейную первичную структуру (выделены синим цветом); Водородные связи формируют трехмерную вторичную структуру белка, образуются между группами $>C=O$ и $>NH$ пептидного остова

Вторичная структура белка - пространственная структура, образованная водородными связями между карбонильной ($>C=O$) и имино ($>N-H$)- группами пептидного остова (см. рис. 1.2).

Водородные связи представляют собой слабые электростатические взаимодействия между одним электроотрицательным атомом (кислорода, азота или др.) и атомом водорода, ковалентно связанным с другим электроотрицательным атомом (рис. 1.3). Водородные связи отличаются малой прочностью, но, образуясь в больших количествах в молекуле белка, обеспечивают ее компактность.

Различают 3 типа вторичной структуры.

α -спираль - в образование водородных связей вовлечены все $>C=O$ - и $-NH$ - группы полипептидного остова, связи образуются очень упорядоченно, формируя спираль, и ориентированы вдоль

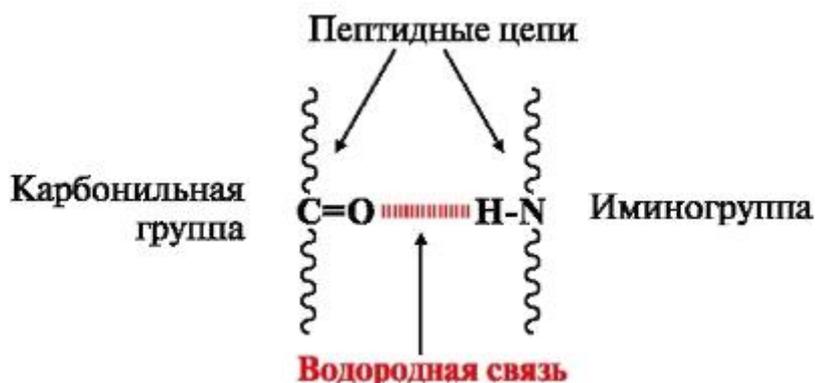


Рис. 1.3. Образование водородных связей между группами пептидного остова ее оси (рис. 1.4). На виток спирали укладывается 3,6 аминокислотных остатка, т.е. водородные связи образуются между 1-й и 4-й аминокислотами, преимущественно с короткими боковыми цепями. Пролин и аминокислоты с длинными радикалами нарушают спиралевидную укладку. α -Спираль представляет собой самый жесткий тип вторичной структуры, преобладает во многих белках.

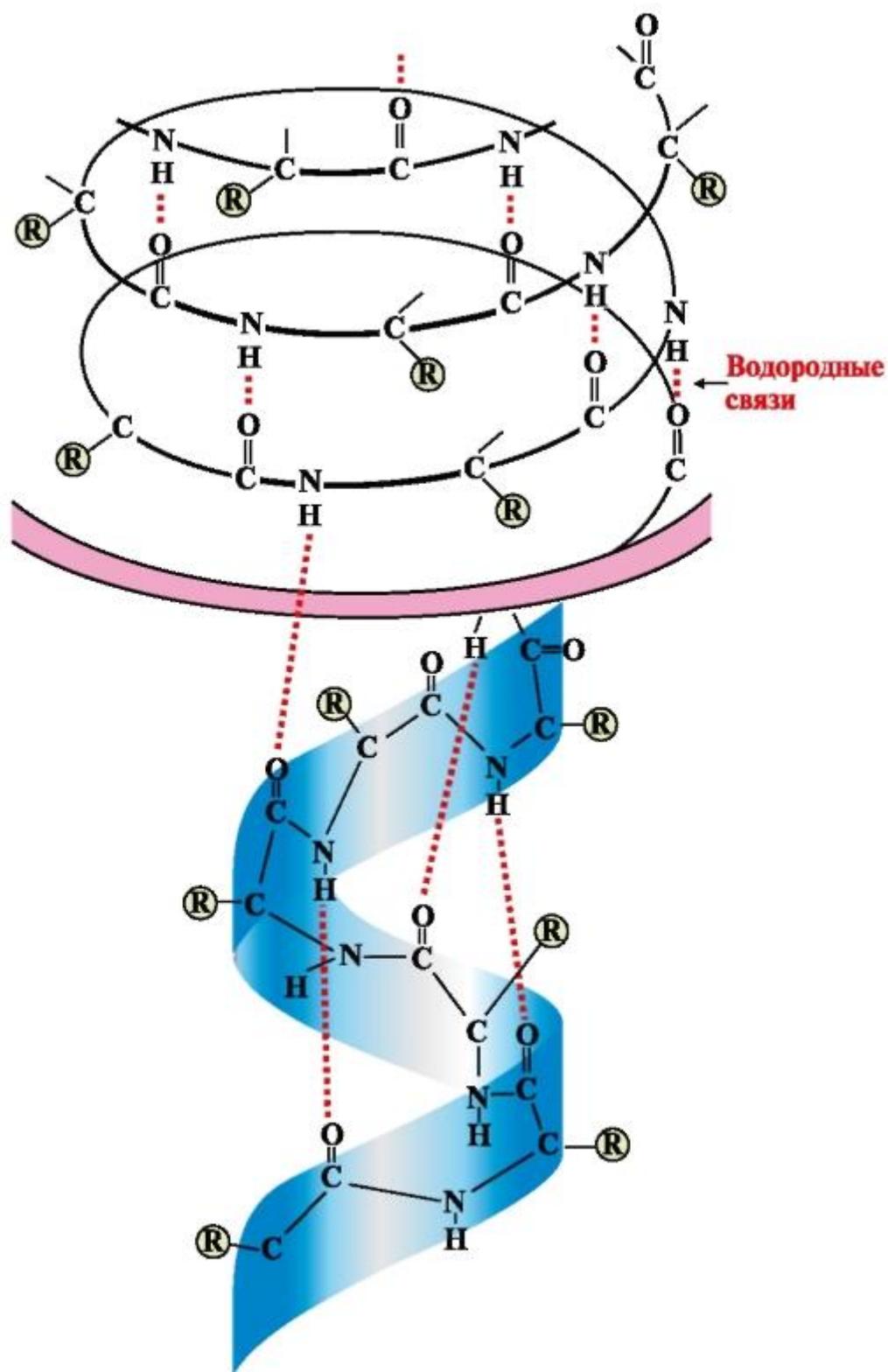


Рис. 1.4. α -Спираль

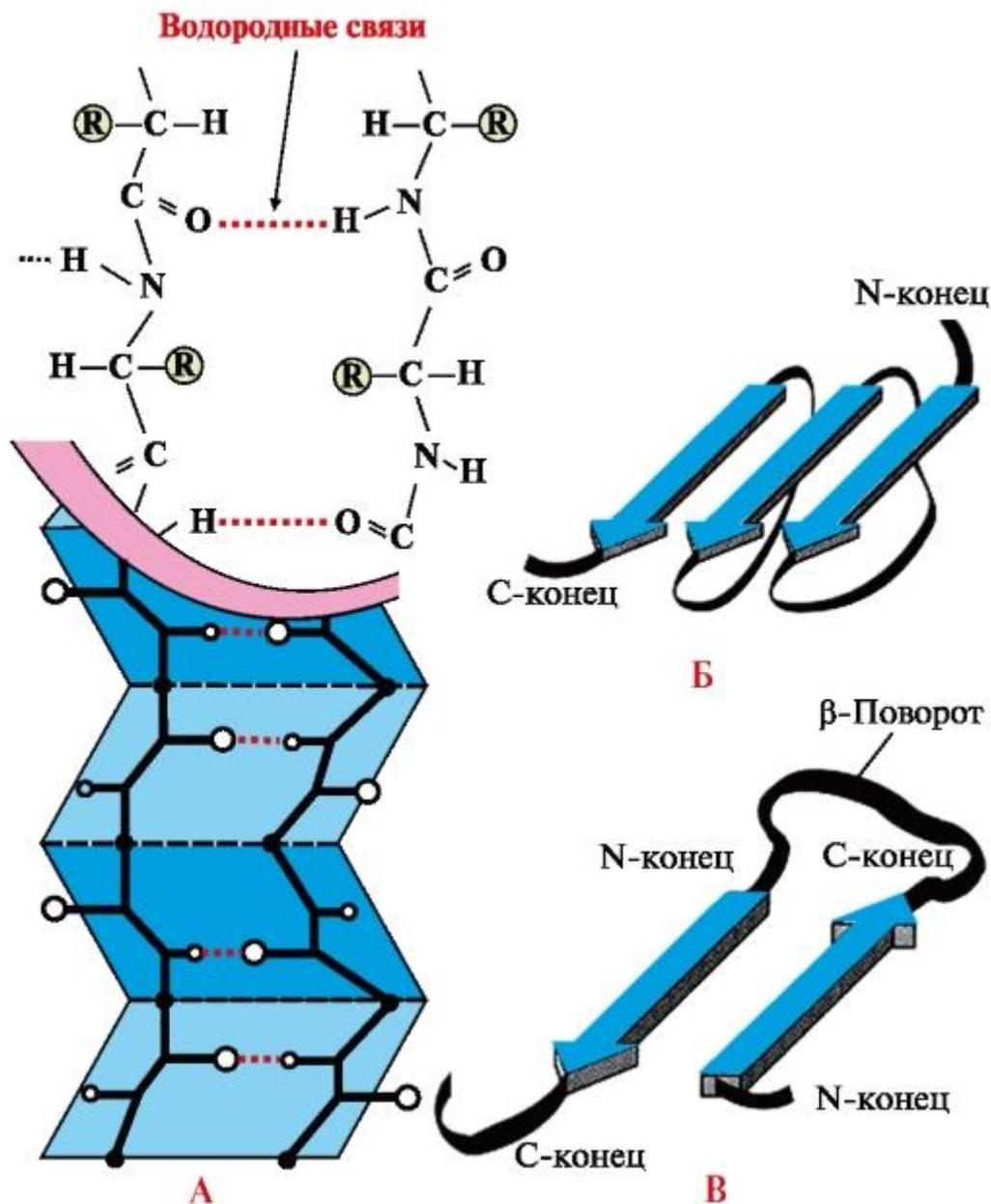


Рис. 1.5. β -Структура белка

А - формирование водородных связей β -структуры;

Б - параллельная β -складчатая укладка;

В - антипараллельная β -складчатая укладка

β -структура - складчатого типа, водородные связи образуются менее системно, формируя гофрированную структуру из полипептидной цепи (рис. 1.5, А). При этом участки цепи идут либо в одном (рис. 1.5, Б), либо в противоположном (рис. 1.5, В) направлении. β -Структура в белках встречается реже, чем α -спираль. На схемах изображается в виде широкой плоской стрелки, отмечающей направление от N- к С-концу цепи.

Беспорядочный клубок не имеет регулярной структуры, водородные связи образуются бессистемно. Участки полипептидной цепи, образующие этот тип вторичной структуры, обычно небольшие, в этом месте молекулы цепь может легко изгибаться, меняя направление.

Содержание участков, имеющих различные типы вторичной структуры, в белках может сильно различаться, что обусловлено первичной структурой полипептидной цепи. Есть белки с выраженным преобладанием α -спирали (гемоглобин и миоглобин, гормон инсулин), в других белках преобладают участки β -структуры (химотрипсин, иммуноглобулины). Чаще же в белках присутствуют все 3 типа вторичной структуры (фермент лактатдегидрогеназа - ЛДГ) (рис. 1.6).

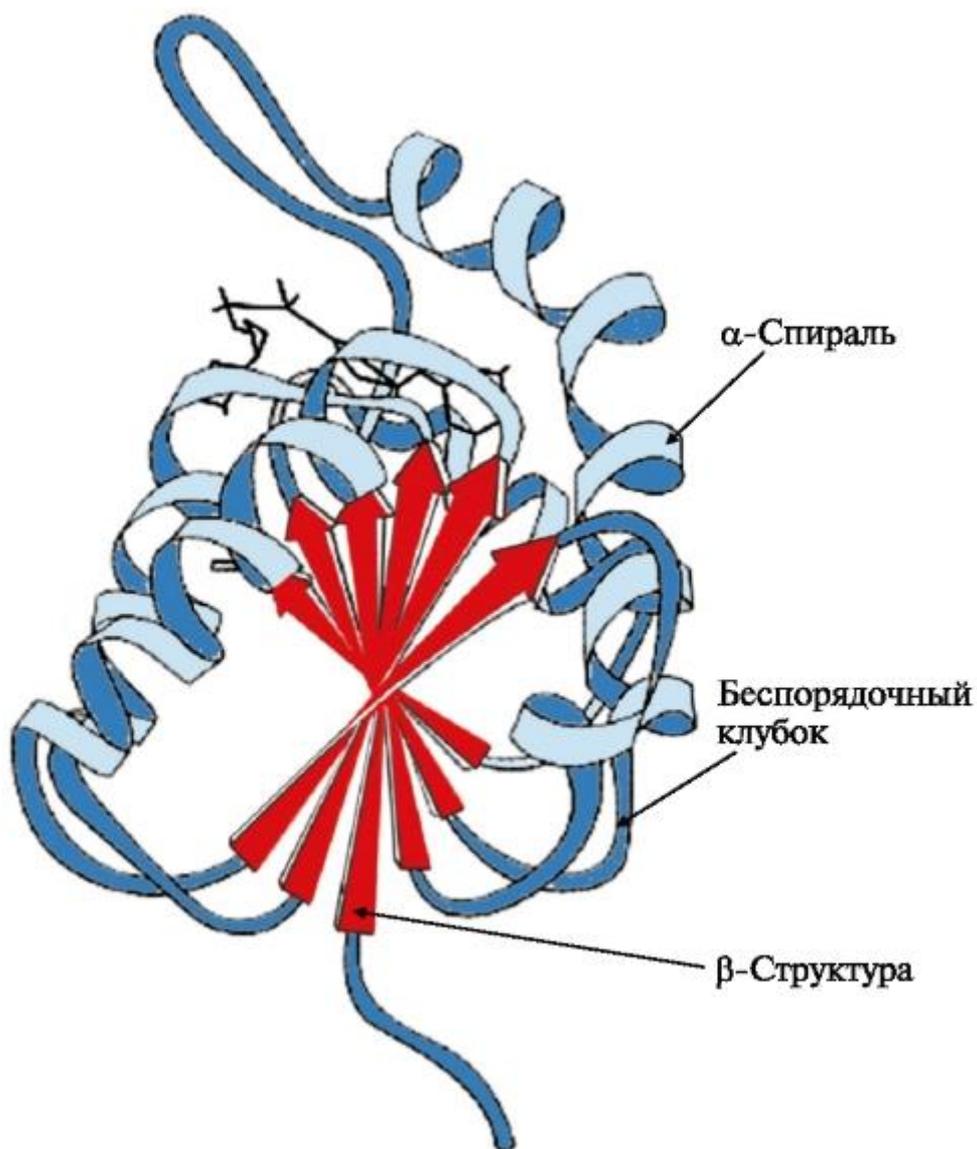


Рис. 1.6. Пространственная структура домена ЛДГ. Сочетание разных типов вторичной структуры

Третичная структура белка - пространственная структура, образованная взаимодействиями между радикалами аминокислот. Третичную структуру формируют 4 типа химических связей: гидрофобная, водородная, ионная, дисульфидная.

Гидрофобные связи возникают между неполярными гидрофобными радикалами (рис. 1.7). Они играют ведущую роль в формировании третичной структуры белковой молекулы.

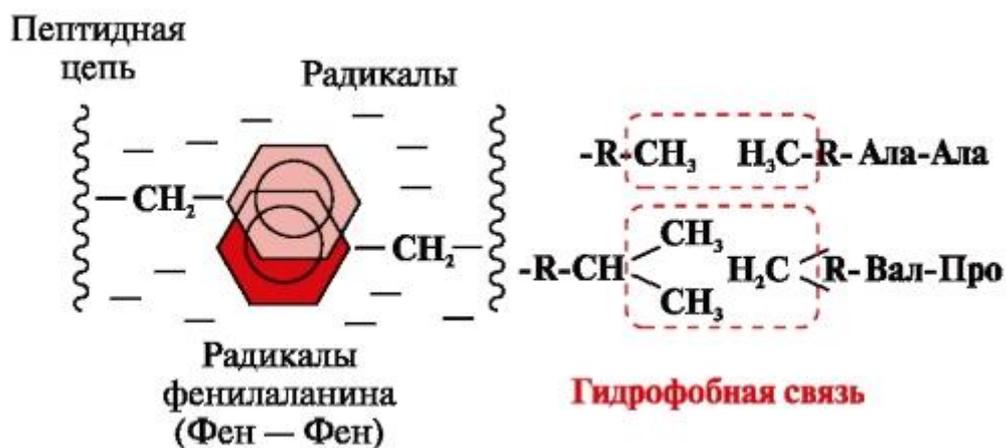


Рис. 1.7. Гидрофобные взаимодействия между радикалами

Неполярные радикалы отталкиваются молекулами воды и прячутся внутри молекулы белка (рис. 1.8, А). Полярные радикалы стремятся наружу, к водной фазе и образуют гидрофильную поверхность. Поэтому большинство белков глобулярной формы хорошо растворяются в воде, несмотря на большую молекулярную массу.

В интегральных белках мембран, расположенных внутри липидного гидрофобного слоя, неполярные радикалы, наоборот, стремятся к гидрофобной среде на поверхности белка, а гидрофильные (полярные) - уходят внутрь белковой молекулы (рис. 1.8, Б). Белок как бы «выворачивается» по сравнению с гидрофильными белками цитоплазмы.

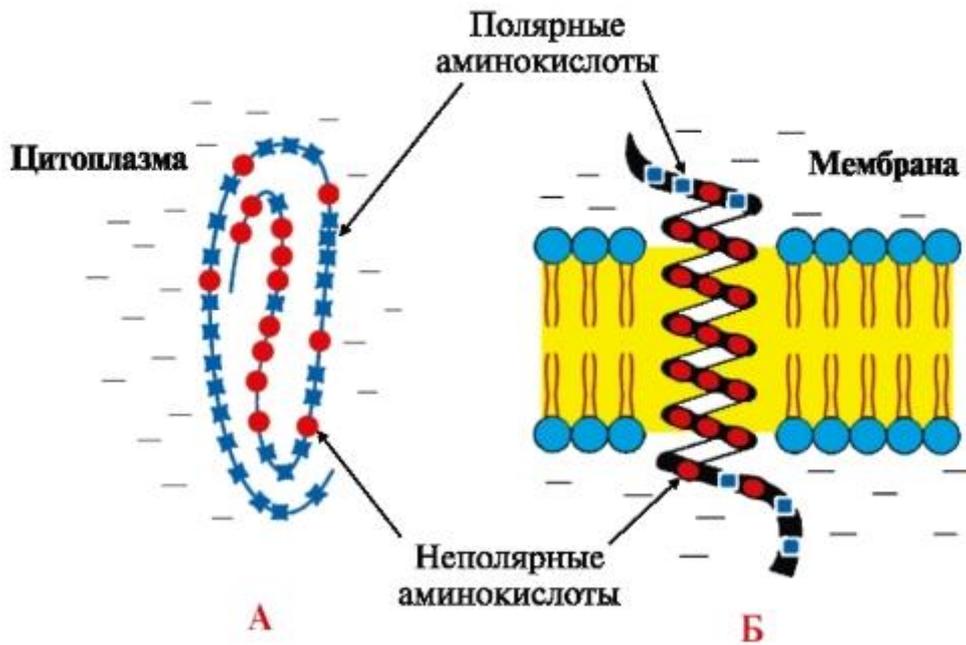


Рис. 1.8. Локализация гидрофобных и гидрофильных радикалов в молекуле белка

А - гидрофильный цитоплазматический белок; Б - гидрофобный мембранный белок. ■ - полярные (гидрофильные) радикалы; • - неполярные (гидрофобные радикалы)

Гидрофильные радикалы внутри белковой глобулы также могут взаимодействовать друг с другом и образовывать слабые водородные или ионные связи.

Водородные связи - образуются между полярными (гидрофильными) незаряженными группами радикалов, имеющими подвижный атом водорода, и группами с электроотрицательным атомом (-Оили -N-) (рис. 1.9).

Ионные связи образуются между полярными (гидрофильными) ионогенными радикалами, имеющими противоположно заряженные группы (рис. 1.10).



Рис. 1.9. Водородные связи между радикалами аминокислот

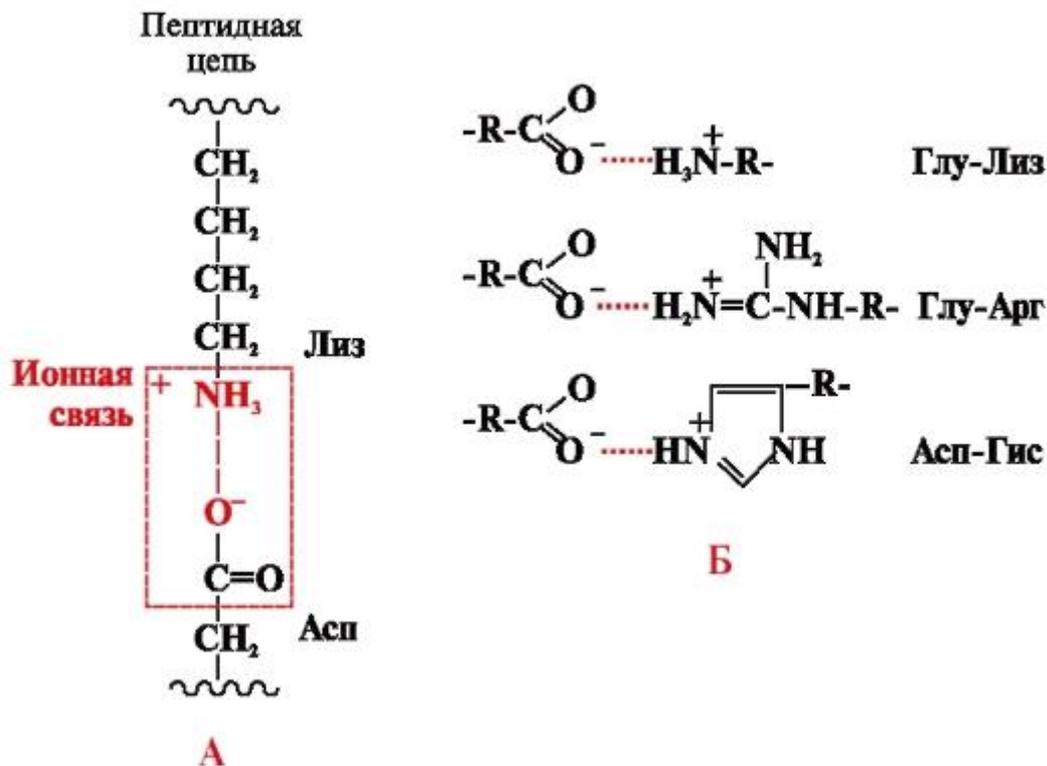


Рис. 1.10. Ионная связь между радикалами лизина и аспарагиновой кислоты (А) и примеры ионных взаимодействий (Б)

Дисульфидная связь - ковалентная, образуется двумя сульфгидрильными (тиольными) группами радикалов цистеина, находящимися в разных местах полипептидной цепи (рис. 1.11). Встречается в таких белках, как инсулин, инсулиновый рецептор, иммуноглобулины и др.

Дисульфидные связи стабилизируют пространственную структуру одной полипептидной цепи или связывают между собой 2 цепи (например, цепи А и В гормона инсулина) (рис. 1.12).

Полипептидная цепь каждого белка обязательно имеет 3 структурных уровня пространственной укладки.

В организме человека белки выполняют важные и разнообразные функции, которые

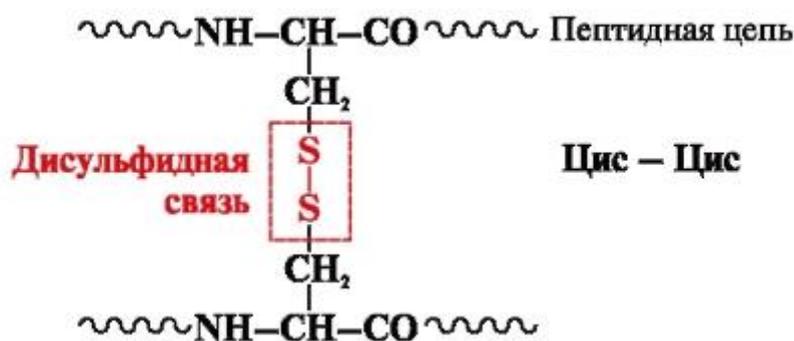


Рис. 1.11. Образование дисульфидной связи

Цистеин, входящий в состав белков, играет важную роль в фолдинге, так как его тиольные группы способны образовывать прочную дисульфидную связь, формирующую третичную структуру белковых молекул. Фолдинг - процесс пространственной укладки синтезированной полипептидной цепи, формирование единственно возможной нативной структуры белка.

Происходит с помощью белков - шаперонов (белков теплового шока)

осуществляются при их взаимодействии с другими веществами. Соединение, с которым взаимодействует белок, называется лигандом. Лигандом может быть как низкомолекулярное, так и высокомолекулярное (макромолекула) вещество, в том числе и другой белок. Лигандами являются субстраты ферментов, кофакторы, ингибиторы и активаторы ферментов, протомеры в олигомерном белке и т.д. Лиганд присоединяется к специальному участку на поверхности белковой молекулы - центру связывания (активному центру).

Центр связывания белка (активный центр) - участок белковой молекулы, состоящий из аминокислотных остатков, сближенных при

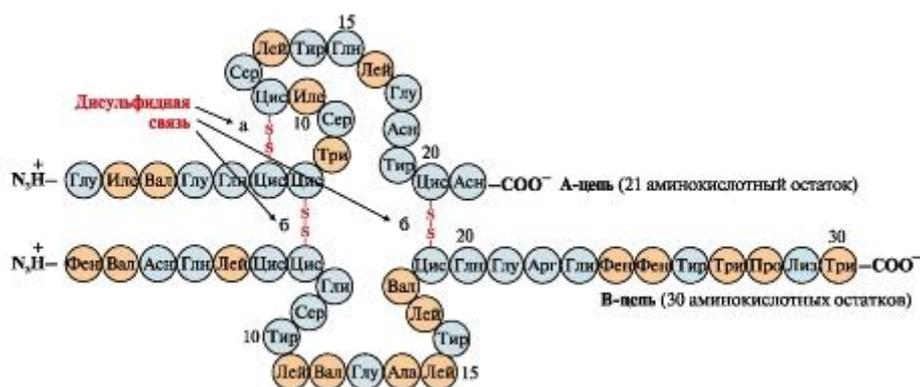


Рис. 1.12. Дисульфидные связи в молекуле инсулина

Дисульфидные связи: между остатками цистеина одной цепи А (а), между цепями А и В (б). Цифры - положение аминокислот в полипептидных цепях



Рис. 1.13. Взаимодействие лиганда с центром связывания белка

формировании третичной структуры и отвечающий за специфическое взаимодействие с лигандом; часто находится в гидрофобном углублении на поверхности белковой глобулы (рис. 1.13).

Взаимодействие лиганда с центром связывания осуществляется по принципу комплементарности («ключ к замку»). Комплементарность - это геометрическое (пространственное) и химическое соответствие лиганда и центра связывания белка. При их взаимодействии чаще всего образуются нековалентные связи: ионные, водородные, гидрофобные.

Белки с длинными полипептидными цепями (более 200 аминокислотных остатков) часто создают доменные структуры. Домен - это часть

полипептидной цепи, образующая подобие глобулы, которая может быть связана с другими

доменами (глобулами) этой же цепи. Одна цепь может образовать несколько доменов (например, белок мышц актин), причем домены могут различаться по структуре и функции (рис. 1.14).

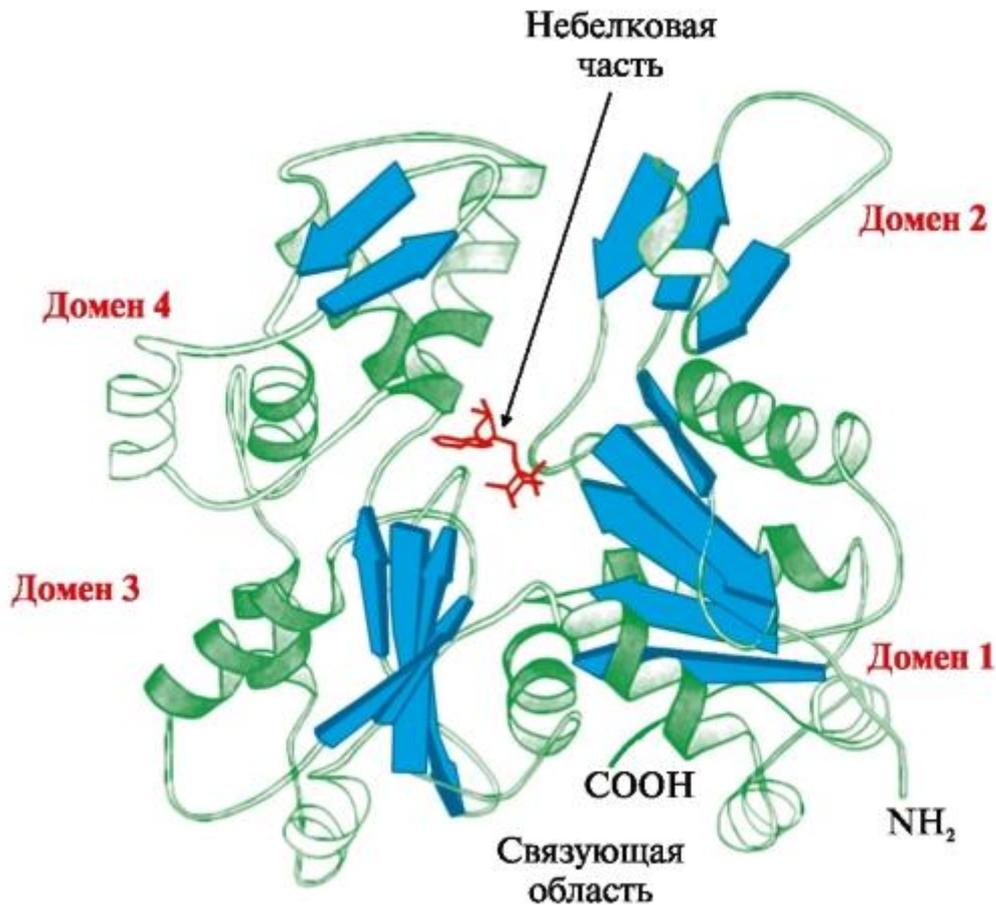


Рис. 1.14. Доменная структура белка актина

Четвертичная структура белка

В организме существуют белки, состоящие из нескольких одинаковых или разных полипептидных цепей. Каждая цепь имеет 3 уровня структурной организации и называется протомером (субъединицей). Четвертичная (IV)

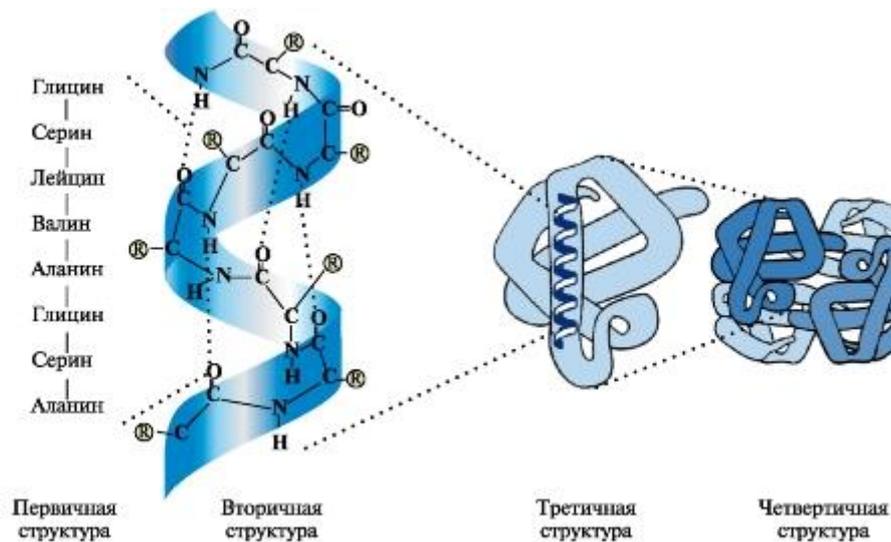


Рис. 1.15. Структурные уровни белковой молекулы

структура белка - пространственное взаиморасположение нескольких полипептидных цепей (протомеров или субъединиц). Белок, имеющий IV структуру, называется олигомерным (рис. 1.15). Число протомеров в олигомере зависит от его функции и может составлять от двух (фермент гексокиназа) до нескольких десятков или даже сотен (пируватдегидрогеназный комплекс).

Взаимодействие контактных поверхностей протомеров в олигомерном белке происходит строго по принципу комплементарности. При этом между радикалами 2 протомеров образуются только слабые нековалентные связи (гидрофобная, водородная, ионная). Олигомерные белки при определенных условиях могут диссоциировать.

Все молекулы одного и того же нативного белка (nature - природа) имеют одинаковую пространственную структуру, так как информация обо всех уровнях пространственной укладки закодирована в первичной структуре белковой молекулы.

Совокупность всех пространственных уровней укладки (II, III и IV структур) получила название конформации белка. Слабые химические связи, стабилизирующие пространственную структуру, очень чувствительны к изменениям температуры, рН среды или воздействиям специфических лигандов. Их разрыв вызывает изменение конформации белка, которое обычно бывает обратимо. Такая изменчивость пространственной структуры получила название конформационной лабильности.

1.3. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ

Физико-химические свойства белков и пептидов (заряд, масса, растворимость) определяются его аминокислотным составом.

Суммарный заряд пептида складывается из зарядов радикалов ионогенных аминокислот, входящих в него, поскольку в растворе они способны ионизироваться:

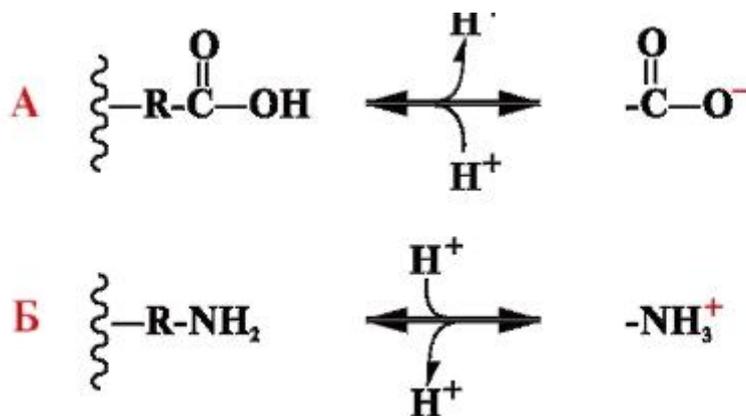
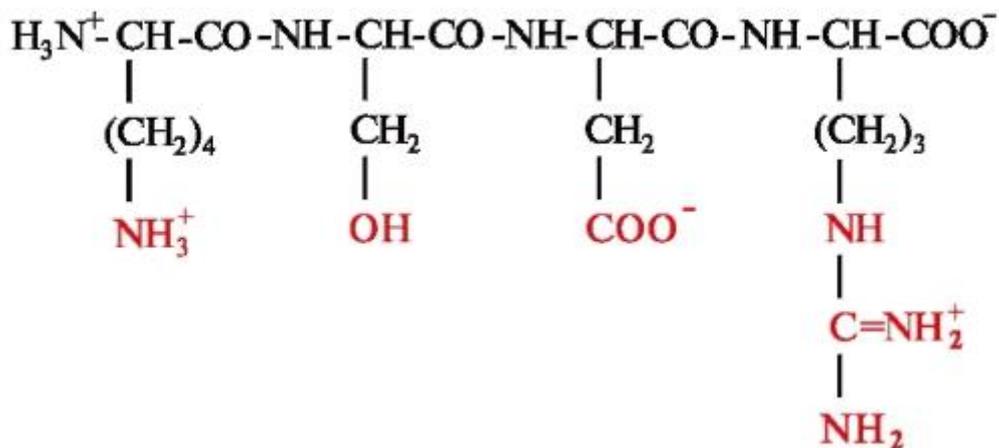


Рис. 1.16. Ионизация полярных заряженных групп радикалов аминокислот в растворе

А - карбоксильная группа в растворах при рН 7,0 депротонируется и приобретает отрицательный заряд; при рН < 7,0 происходит образование незаряженной формы;

Б - аминогруппа и другие катионогенные группы в растворе при рН 7,0 протонируются и приобретают положительный заряд; при рН >7,0 они становятся неионизированными

Заряды концевых свободных амино- и карбоксильных групп в цепях обычно компенсируют друг друга и не влияют на суммарный заряд белка. Например, суммарный заряд тетрапептида Лиз-Сер-Асп-Арг при рН 7,0 равен +1, так как складывается из заряда двух катионогенных (Лиз и Арг) и одной анионогенной (Асп) аминокислот, входящих в его состав:



Белки - высокомолекулярные соединения, их растворы обладают высокой вязкостью, способностью набухать, подвижностью в электрическом поле. В растворе диполи воды образуют гидратную оболочку вокруг молекул белка, имеющих заряд. Если белок теряет заряд, диполи воды покидают молекулу, гидратная оболочка разрушается, образуются конгломераты белковых молекул и выпадает осадок. Таким образом, растворимость белка зависит от массы и заряда его молекулы.

Заряд белковой молекулы изменяется в зависимости от рН среды, так как при этом меняется степень ионизации групп радикалов. Например, белок сыворотки крови альбумин имеет высокий суммарный отрицательный заряд, так как в его состав входит много дикарбоксильных аминокислот. При изменении значения рН раствора альбумина от щелочного (рН >7,0) до сильнокислого (рН <<7,0) ионизация карбоксильных групп радикалов аспарагиновой и глутаминовой кислот будет изменяться, влияя не только на заряд, но и на растворимость белка (рис. 1.17).

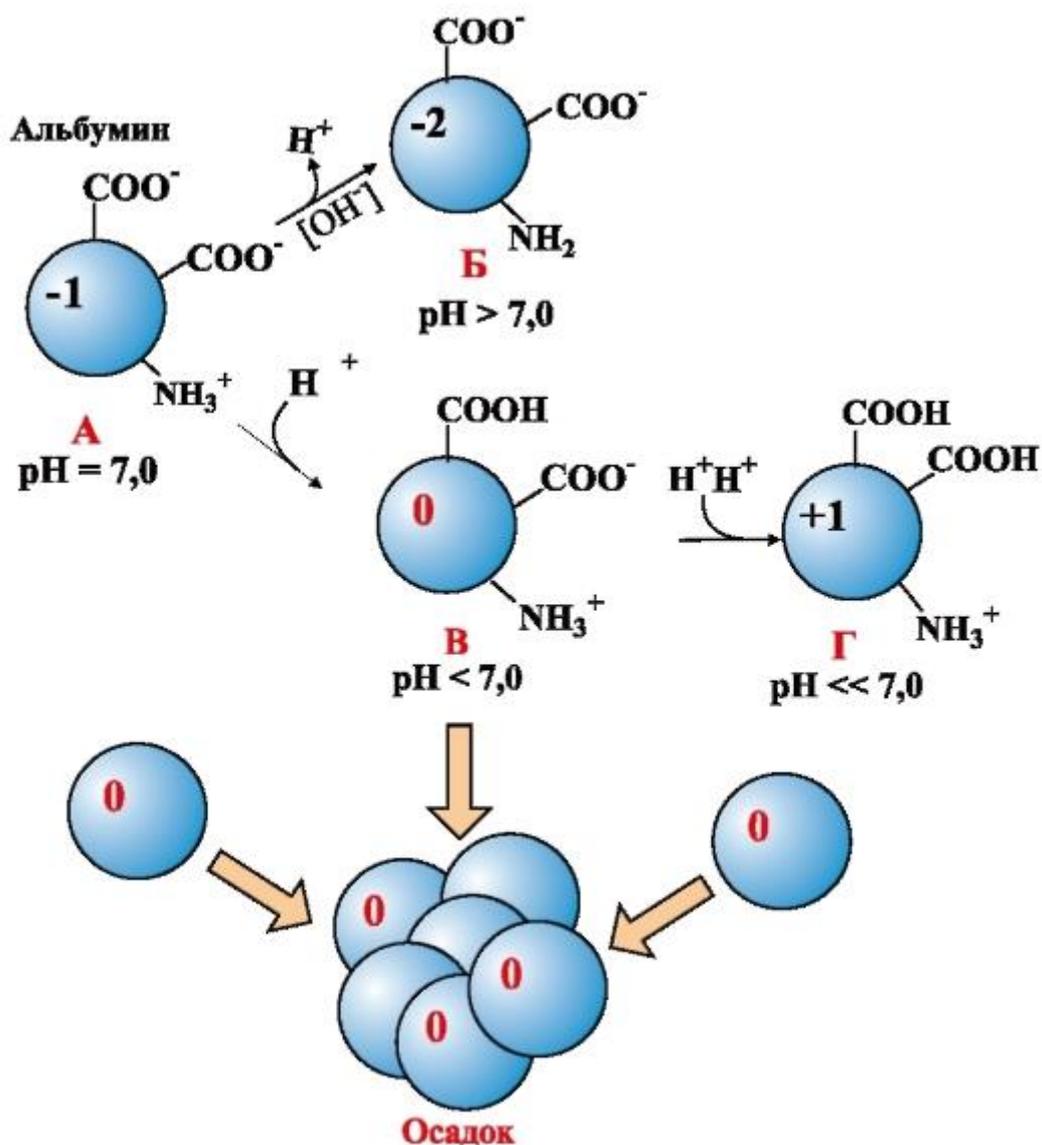


Рис. 1.17. Заряд и растворимость альбумина при разных значениях рН среды

А - в нейтральной среде заряд равен -1;

Б - в щелочной среде заряд молекулы альбумина равен -2;

В - в слабокислой среде заряд молекулы альбумина равен 0 (изоэлектрическое состояние), альбумин выпадает в осадок;

Г - в сильнокислой среде заряд молекулы равен +1, осадок растворяется, альбумин переходит в раствор

При определенном значении рН заряд белковой молекулы компенсируется ионами среды и молекула белка становится электронейтральной; такое состояние белка называется изоэлектрическим состоянием. Белок теряет гидратную оболочку и выпадает в осадок. Изоэлектрическая точка (рI) - такое

значение рН среды, при котором молекула белка находится в изоэлектрическом состоянии (ее заряд равен 0). Так, для сывороточного альбумина изоэлектрическая точка находится при $pH < 7,0$ ($pI = 5,6$).

pI большинства протеинов лежит в слабокислой среде, т.е. в них преобладают анионогенные аминокислоты (пепсин, альбумин), но есть и основные белки (цитохром С, лизоцим, гистоны).

На растворимость полипептида влияет также форма молекулы. Большинство белков имеют округлую, шаровидную (или приближенную к ней) форму глобулы (рис. 1.18, А), они обычно хорошо растворимы в воде. Глобулярные белки преобладают в организме, к ним относится большинство ферментов, гемоглобин, миоглобин и т.д. Реже формируются белки вытянутой, нитевидной формы - фибриллярные (рис. 1.18, Б). Например, коллаген - основной компонент соединительной ткани, выполняющий структурную функцию; кератины, содержащиеся в эпидермисе кожи, волос, ногтей. Фибриллярных белков в организме меньше, они имеют выраженные гидрофобные свойства.



Рис. 1.18. Глобулярный (А) и фибриллярный (Б) белки

Слабые химические связи, формирующие пространственную структуру белка, могут разрушаться при воздействиях различных факторов и соединений (высокая температура, ионизирующая радиация, концентрированные кислоты и щелочи, мочевины, спирты, фенол, формальдегид, соли тяжелых металлов и т.д.). Это явление получило название денатурации белка. Первичная структура при этом сохраняется, так как

стабилизируется ковалентными (прочными) пептидными связями. Молекулы денатурированного белка приобретают случайную конформацию (рис. 1.19). Биологическая активность при денатурации обычно полностью утрачивается, так как изменение структуры (II, III уровней) приводит к разрушению активного центра белка.

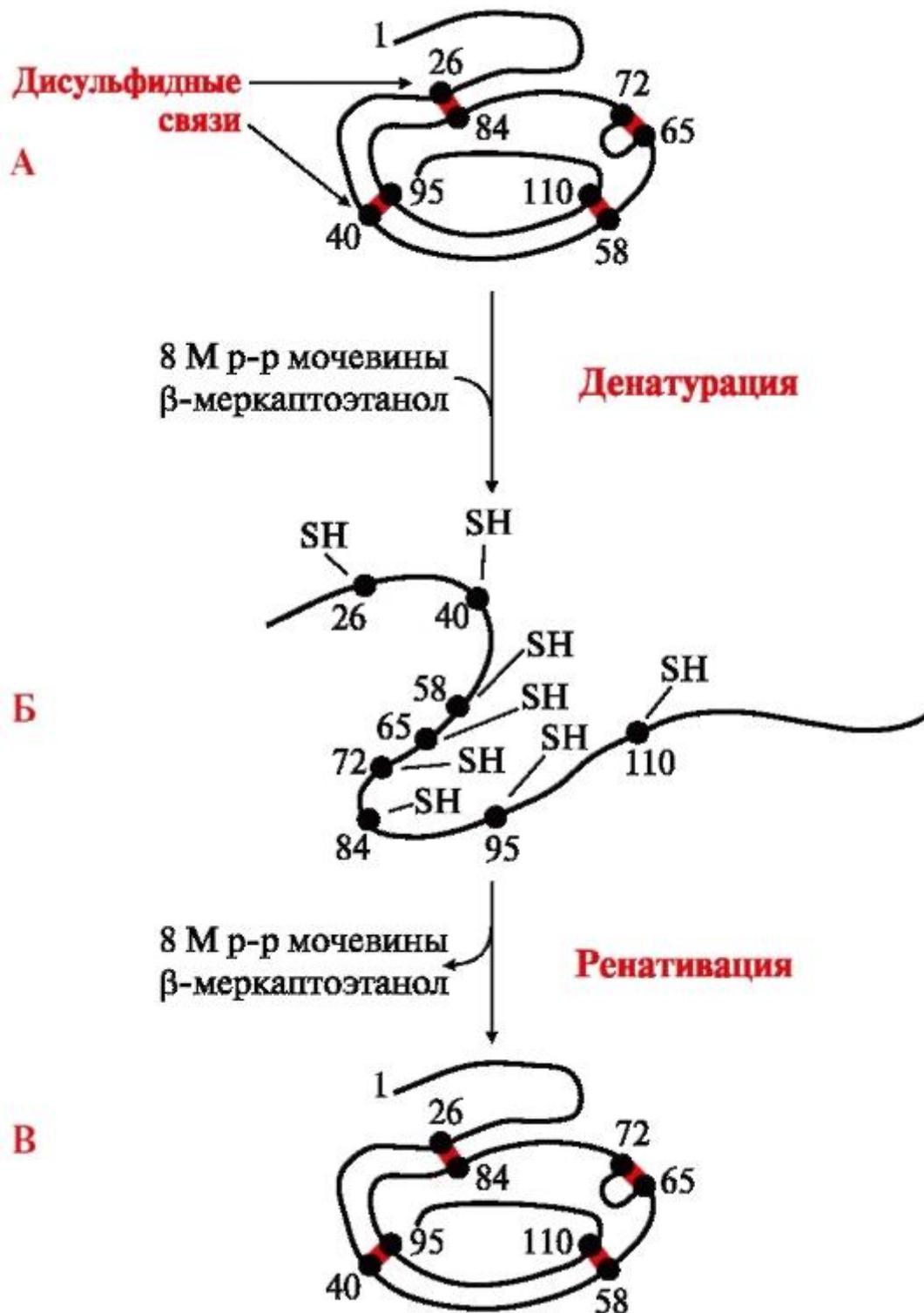


Рис. 1.19. Денатурация и ренативация рибонуклеазы

А - нативная конформация белка с высокой активностью.

Б - денатурированный фермент с низкой активностью.

В - регенерированная нативная конформация и высокая активность

Известен белок рибонуклеаза, который *in vitro* после денатурации мочевиной и последующего удаления денатурирующего фактора восстанавливает конформацию - ренативируется (см. рис. 1.19). Это подтверждает главную роль первичной структуры полипептидной цепи как источника информации для пространственной организации белковой молекулы.

В клетках (*in vivo*) полную денатурацию предотвращают шапероны (белки теплового шока),

синтез которых увеличивается при повышении температуры. Кроме ренативации, шапероны обеспечивают фолдинг (формирование пространственной структуры) белка при его синтезе (см. раздел 3).

Сложные белки

Все белки можно разделить на простые и сложные. Простые состоят только из аминокислот и называются апопротеинами. Сложные белки - холопротеины - состоят из белковой части (апопротеина) и небелковой (простетической группы). При утрате простетической группы холопротеин теряет свою активность.

Простетическими группами могут служить ионы металлов, H_3PO_4 , гем, углеводы (моно- и олигосахариды), нуклеотиды и нуклеиновые кислоты, витамины и их производные. Между апопротеином и простетическими группами образуются как ковалентные (прочные), так и нековалентные связи. Сложными белками, играющими важную роль в организме, являются гемоглобин, миоглобин, иммуноглобулины, а также многие ферменты и другие белки.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Установите соответствие.

Характеристика радикала:

А. Обладает гидрофобностью. Б. Содержит серу.

В. При рН 7,0 имеет отрицательный заряд. Г. В состав входит шестичленный цикл.

Д. Имеет -NH-группу, которая может присоединять H⁺. Аминокислота:

1. Ала.

2. Глу.

3. Гис.

2. Напишите трипептид из аминокислот, перечисленных в задании 1.

а) укажите N- и C-концы пептида, переменные группы, пептидный остов;

б) определите суммарный заряд, объясните, при каких значениях рН (7,0, < 7,0, > 7,0) растворимость пептида будет снижаться и он выпадет в осадок;

в) объясните, что нужно сделать, чтобы он опять перешел в растворимое состояние, представьте соответствующую схему.

3. Напишите формулами C-концевые трипептиды окситоцина и вазопрессина.

а) укажите, в чем различие этих фрагментов;

б) охарактеризуйте радикалы этих трипептидов по полярности и заряду;

в) объясните, какой из белков - окситоцин или вазопрессин - имеет более высокий заряд и почему.

4. Напишите формулами фрагмент пептида -Глу-Мет-Лиз-Тир-.

а) определите суммарный заряд пептида при рН 7,0, укажите, в какой среде лежит его изоэлектрическая точка;

б) допишите еще 2 аминокислоты, чтобы суммарный заряд пептида был:

- отрицательный,
- нейтральный,
- положительный;

в) на примере одного из написанных пептидов пунктиром покажите один виток α -спирали, назовите связь, стабилизирующую его и группы, которые ее образуют;

Простетическими группами могут служить ионы металлов, H₃PO₄, гем, углеводы (моно- и олигосахариды), нуклеотиды и нуклеиновые кислоты,

витамины и их производные. Между апопротеином и простетическими группами образуются как ковалентные (прочные), так и нековалентные связи. Сложными белками, играющими важную роль в организме, являются гемоглобин, миоглобин, иммуноглобулины, а также многие ферменты и другие белки.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Установите соответствие.

Характеристика радикала:

А. Обладает гидрофобностью. Б. Содержит серу.

В. При рН 7,0 имеет отрицательный заряд. Г. В состав входит шестичленный цикл.

Д. Имеет -NH-группу, которая может присоединять H⁺. Аминокислота:

1. Ала.

2. Глу.

3. Гис.

2. Напишите трипептид из аминокислот, перечисленных в задании 1.

а) укажите N- и C-концы пептида, переменные группы, пептидный остов;

б) определите суммарный заряд, объясните, при каких значениях рН (7,0, < 7,0, > 7,0) растворимость пептида будет снижаться и он выпадет в осадок;

в) объясните, что нужно сделать, чтобы он опять перешел в растворимое состояние, представьте соответствующую схему.

3. Напишите формулами C-концевые трипептиды окситоцина и вазопрессина.

а) укажите, в чем различие этих фрагментов;

б) охарактеризуйте радикалы этих трипептидов по полярности и заряду;

в) объясните, какой из белков - окситоцин или вазопрессин - имеет более высокий заряд и почему.

4. Напишите формулами фрагмент пептида -Глу-Мет-Лиз-Тир-.

а) определите суммарный заряд пептида при рН 7,0, укажите, в какой среде лежит его изоэлектрическая точка;

б) допишите еще 2 аминокислоты, чтобы суммарный заряд пептида был:

- отрицательный,
- нейтральный,
- положительный;

в) на примере одного из написанных пептидов пунктиром покажите один виток α -спирали, назовите связь, стабилизирующую его и группы, которые ее образуют;

г) из написанных пептидов выберите пары аминокислот, способные образовывать связи между радикалами, укажите тип связи, назовите, какой структурный уровень они стабилизируют.

5. Установите соответствие.

Тип связи:

А. Ионная.

Б. Дисульфидная.

В. Пептидная. Г. Водородная. Д. Гидрофобная

Межрадикальное взаимодействие:

1. Фен-Мет.

2. Сер-Асп.

3. Арг-Асп.

6. Выберите правильные ответы. Центр связывания белка:

А. Является участком полипептидной цепи.

Б. Формируется на уровне третичной структуры.

В. Находится в углублении на поверхности белка.

Г. Взаимодействует с лигандом. Д. Отвечает за функцию белка.

7. Выберите правильные ответы. Олигомерный белок:

А. Содержит несколько протомеров, связанных слабыми связями.

Б. Стабилизируется дисульфидными связями.

В. Может иметь только один центр связывания. Г. Имеет 4 уровня пространственной укладки. Д. Образован водородными связями между

группами пептидного остова.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Для обработки инфицированных корневых каналов используют ватные тампоны, пропитанные формальдегидом. Объясните целесообразность применения формальдегида, если известно, что он проникает в дентинные каналы корня и взаимодействует с альбумином. Для этого:

а) объясните, что такое денатурация белка, укажите, какие структурные уровни белка изменяются при этом;

б) перечислите типы связей, которые разрушаются при денатурации, приведите примеры аминокислот, образующих такие связи;

в) назовите, какой участок белка отвечает за его функцию, дайте определение;

г) объясните, изменится ли биологическая активность альбумина после его взаимодействия с формальдегидом и почему.

2. Большие слюнные железы синтезируют и секретируют в слюнный проток белок муцин. Благодаря наличию в молекуле большого количества олигосахаридных цепей, связанных с ОН-группами серина, муцин имеет высокий отрицательный заряд. Белок удерживает много молекул воды и придает смешанной слюне вязкость. Почему при снижении рН слюны муцин адсорбируется на поверхности эмали? Для ответа на вопрос:

а) укажите, является ли муцин сложным белком и почему;

б) напишите, какие функциональные группы обеспечивают высокий отрицательный заряд молекул муцина;

в) объясните, как изменятся заряд этих групп и растворимость муцина при снижении рН;

г) предположите, будет ли происходить адсорбция муцинов на поверхности эмали в присутствии микроорганизмов ротовой полости, которые могут отщеплять отрицательно заряженные группы олигосахаридов.

3. Фермент алкогольдегидрогеназа расщепляет этанол в печени и построен из 500 аминокислотных остатков. Белок незначительно отличается по структуре у европейцев и жителей Азиатского региона. Замена аминокислоты Глу в положении 487 на Лиз делает фермент неактивным и повышает

чувствительность людей к токсическому действию этанола. Объясните причины снижения активности фермента. Для этого:

а) напишите формулу фрагмента полипептидной цепи алкогольдегидрогеназы;

487

—Вал—Глу—Сер—Асн—

б) укажите свойства радикалов аминокислот, входящих в тетрапептид, и связи, которые они могут образовать;

в) напишите формулу мутантного фрагмента, содержащего Лиз, и поясните, как изменятся свойства пептида и как это повлияет на пространственную структуру белка, его активность.

1.4. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ГЕМОГЛОБИНА

Гемоглобин (НЬ) - сложный олигомерный белок, состоящий из 4 протомеров двух типов (2α и 2β), включающих 574 аминокислотных остатка. Содержится в эритроцитах, на его долю приходится до 90% массы белков клетки.

Гемоглобин обеспечивает перенос кислорода из легких в ткани и удаление диоксида углерода из тканей.

В мышцах внутриклеточный транспорт и кратковременное депонирование кислорода осуществляет другой белок - миоглобин (Mb). Он не является олигомером, так как состоит только из одной полипептидной цепи, конформация которой очень похожа на пространственную структуру β -цепи гемоглобина (рис. 1.20). Большую часть молекулы

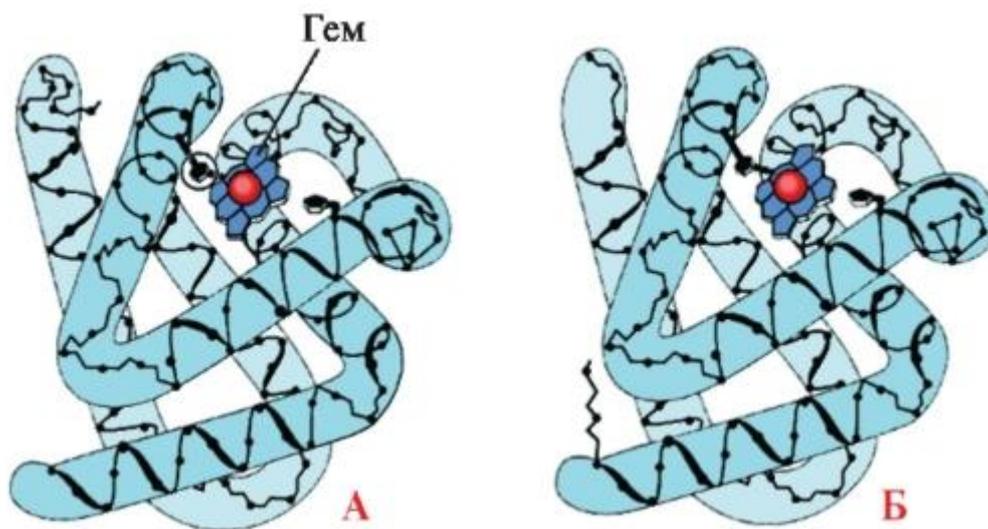


Рис. 1.20. Структура миоглобина и β -цепи гемоглобина

А - миоглобин; Б - β -цепь гемоглобина

Мб и протомеров Нб составляют 8 α -спиральных участков, образующих глобулу с гидрофобным углублением, в котором находится центр связывания с кислородом (активный центр). При этом полипептидные цепи миоглобина и протомеров гемоглобина идентичны всего на 20%.

Оба белка являются холопротеинами, простетическая группа - гем, который находится в активном центре и участвует во взаимодействии с кислородом (рис. 1.21). Гем(ферропротопорфирин) представляет собой органическое соединение с плоской молекулой, включающей 4 пиррольных цикла и ион железа Fe^{2+} . Он является окрашенным соединением и придает красный цвет гемоглобину, эритроцитам (красные кровяные тельца) и крови.

Гем присоединяется к неполярным радикалам активного центра своими пиррольными циклами, а также к радикалу гистидина с помощью атома Fe. Пиррольные кольца гема расположены в одной плоскости, а ион Fe^{2+} в неоксигенированном состоянии Нб выступает над плоскостью на 0,6 А. При присоединении кислорода ион железа погружается в плоскость колец гема (рис. 1.22). В результате сдвигается и участок полипептидной цепи, нарушаются слабые связи в молекуле Нб и изменяется конформация всей глобулы. Таким образом, присоединение кислорода вызывает изменение пространственной структуры молекулы миоглобина или протомеров гемоглобина.

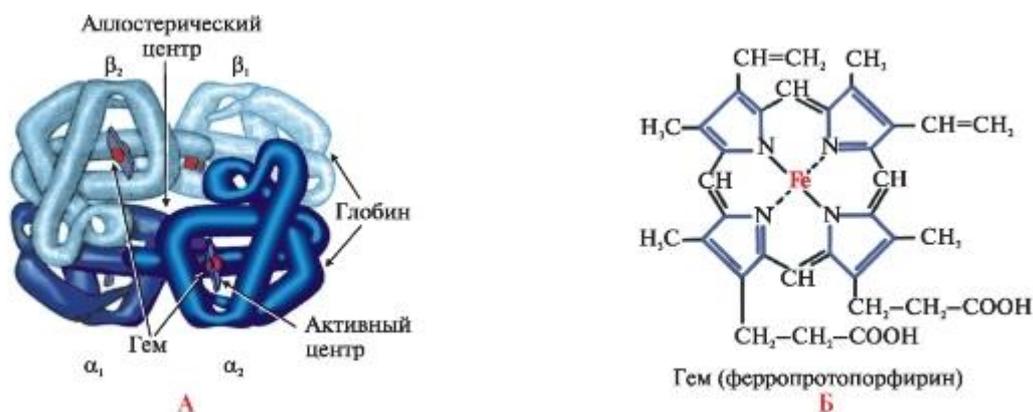


Рис. 1.21. Строение гемоглобина и гема

А - гемоглобин - сложный белок, олигомер, состоит из 2 α - и 2 β -субъединиц глобина, каждая имеет центр связывания, где располагается небелковая часть молекулы - гем. Он участвует в присоединении молекулы кислорода. Между протомерами образуется аллостерический центр для присоединения регуляторного лиганда гемоглобина 2,3-бисфосфоглицерата;

Б - гем - простетическая группа гемоглобина, миоглобина и других гемопroteинов. Связывается с глобином гидрофобными связями между пиррольными циклами и гидрофобными радикалами аминокислот. В центре молеку-

2+

лы расположен ион железа (Fe^{2+}), который образует 6 координационных связей: 4 - с атомами азота пиррольных колец гема, 1 - с азотом радикала гистидина цепей глобина, 1 - с молекулой кислорода. В присоединении O_2 к гему участвует еще один радикал гистидина цепи глобина

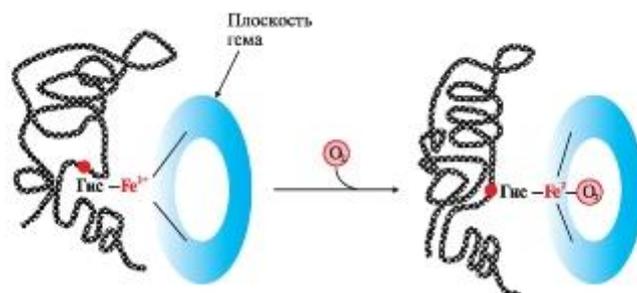
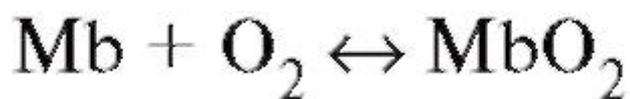


Рис. 1.22. Взаимодействие кислорода с гемом в миоглобине и гемоглобине

Молекула миоглобина может присоединять только 1 молекулу кислорода в свой активный центр:



Гемоглобин является олигомерным белком и имеет ряд особенностей функционирования, характерных для всех олигомерных белков. Молекула гемоглобина состоит из 4 протомеров и имеет 4 центра связывания O_2 (активные центры). Гемоглобин может существовать как в свободной (дезоксигемоглобин), так и в оксигенированной форме, присоединяя до 4 молекул кислорода. Взаимодействие с кислородом 1-го протомера вызывает изменение его конформации, а также кооперативные конформационные изменения остальных протомеров (рис. 1.23, А). Сродство к кислороду возрастает, и присоединение O_2 к активному центру 2-го протомера происходит легче, вызывая дальнейшую конформационную перестройку всей молекулы. В результате еще сильнее изменяется структура оставшихся протомеров и их активных центров, взаимодействие с O_2 еще больше облегчается. В итоге 4-я молекула кислорода присоединяется к Hb примерно в 300 раз легче, чем 1-я (рис. 1.23, Б). Так происходит в легких при высоком парциальном давлении кислорода. В тканях, где содержание кислорода ниже, наоборот, отщепление каждой молекулы O_2 облегчает освобождение последующих.

Таким образом, взаимодействие олигомерного белка гемоглобина с лигандом (O_2) в одном центре связывания приводит к изменению конформации всей молекулы и других, пространственно удаленных центров, расположенных на других субъединицах (принцип «домино»). Подобные взаимосвязанные изменения структуры белка называют кооперативными конформационными изменениями. Они характерны для всех олигомерных белков и используются для регуляции их активности.

Взаимодействие обоих белков (Mb и Hb) с кислородом зависит от его парциального давления в тканях. Эта зависимость имеет разный характер, что связано с их особенностями структуры и функционирования (рис. 1.24).

Гемоглобин имеет S-образную кривую насыщения, которая показывает, что субъединицы белка работают кооперативно, и чем больше кислорода они отдают, тем легче идет освобождение остальных молекул O_2 . Этот процесс зависит от изменения парциального давления кислорода в тканях.

График насыщения миоглобина кислородом имеет характер простой гиперболы, т.е. насыщение Mb кислородом происходит быстро и отражает его функцию - обратимое связывание с

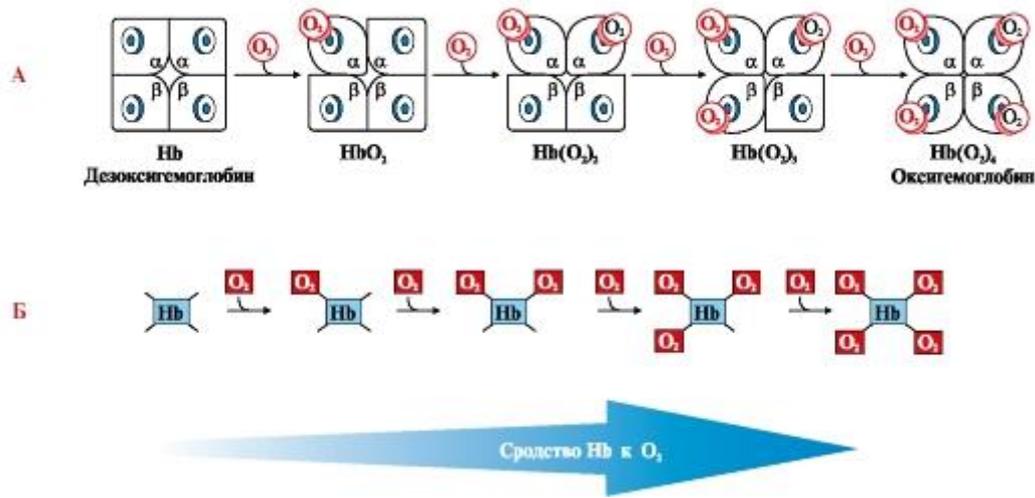


Рис. 1.23. Кооперативные изменения конформации молекулы гемоглобина при взаимодействии с кислородом

А - при взаимодействии молекулы дезоксигемоглобина Нb с O_2 происходят кооперативные конформационные изменения, которые сопровождают присоединение каждой последующей молекулы кислорода; Б - в результате изменения конформации активного центра возрастает сродство Нb к кислороду, 4-я молекула кислорода присоединяется к оксигенированному гемоглобину $[Нb(O_2)_3]$ в 300 раз легче, чем 1-я

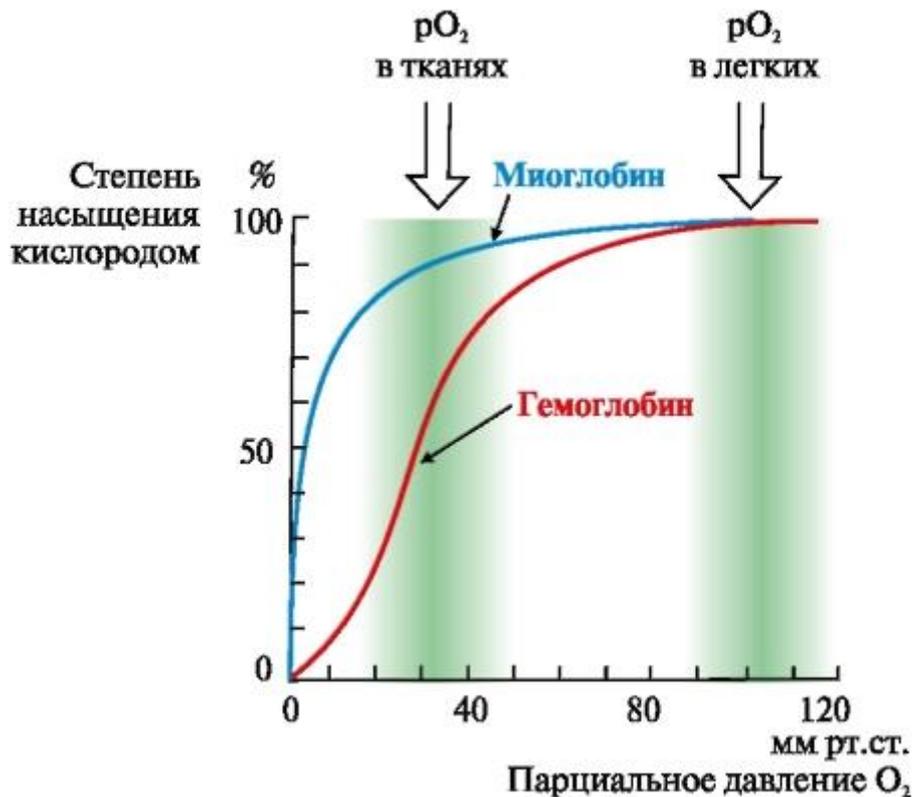


Рис. 1.24. Кривые насыщения миоглобина и гемоглобина кислородом кислородом, высвобождаемым гемоглобином, и освобождение в случае интенсивной физической нагрузки.

Изменение сродства гемоглобина к O₂ обеспечивает быстрое насыщение крови кислородом в легких, а также освобождение и передачу его в ткани. Миоглобин обладает более высоким сродством к O₂, поэтому связывает и передает в митохондрии клеток кислород, транспортируемый НЬ в мышцы.

Гемоглобин доставляет в сутки до 600 л (850 г) O₂ в ткани и способствует удалению из них ~ 500 л (1000 г) CO₂. Движущей силой этих потоков является градиент концентраций O₂ между альвеолярным воздухом и межклеточной жидкостью. Парциальное давление O₂ в альвеолярном воздухе составляет 100 мм рт.ст. Парциальное давление O₂

в тканях намного ниже (~ 40 мм рт.ст.), что обусловлено поступлением и использованием кислорода митохондриями клеток, где он превращается в H₂O. Таким образом O₂ поглощается клетками.

Обмен O₂ и CO₂ происходит в капиллярах: в легких O₂ переходит из альвеолярного воздуха в эритроциты, а CO₂ - в обратном направлении; в капиллярах тканей O₂ из эритроцитов перемещается в клетки тканей, а CO₂ - в обратном направлении (рис. 1.25).

Изменение функциональной активности белка при взаимодействии с другими лигандами вследствие конформационных изменений называется аллостерической регуляцией, а соединения-регуляторы - аллостерическими лигандами. Способность к аллостерической регуляции характерна, как правило, для олигомерных белков, т.е. для проявления аллостерического эффекта необходимо взаимодействие протомеров. При воздействии аллостерических лигандов белки меняют свою конформацию (в том числе и активного центра) и функцию.

Молекула гемоглобина способна связываться с несколькими лигандами: O_2 , H^+ , CO_2 , 2,3-бис- фосфоглицератом (БФГ). H^+ , CO_2 и БФГ являются аллостерическими регуляторами активности гемоглобина и присоединяются к участкам (аллостерическим центрам), пространственно удаленным от активного центра.

Концентрация аллостерических лигандов снижает сродство гемоглобина к кислороду, а миоглобин и отдельные субъединицы гемоглобина нечувствительны к изменениям концентрации H^+ , CO_2 и БФГ, т.е. аллостерические свойства гемоглобина возникают только в результате взаимодействия субъединиц.

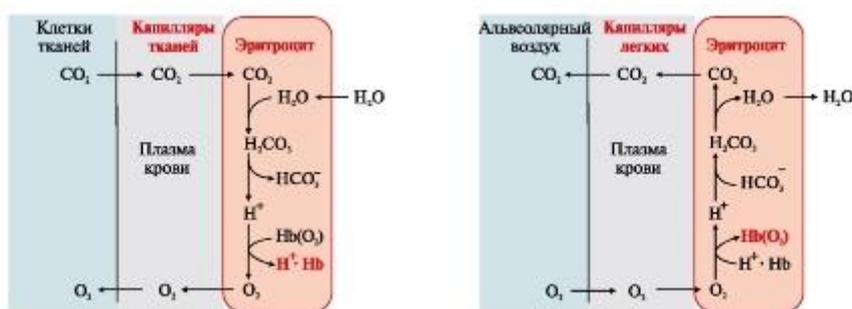


Рис. 1.25. Перенос кислорода и диоксида углерода гемоглобином. Эффект Бора

БФГ образуется из глюкозы в эритроцитах и является одним из регуляторов работы гемоглобина. Его молярная концентрация в крови близка к молярной концентрации Hb . В центре молекулы гемоглобина полипептидные цепи 4 протомеров образуют полость (аллостерический центр), причем величина ее увеличивается в дезоксигемоглобине и уменьшается в оксигемоглобине. БФГ поступает в полость дезоксигемоглобина, связываясь с положительно заряженными группами на β -протомере (рис. 1.26). При этом его сродство к O_2 снижается в 26 раз. В результате происходит высвобождение кислорода в капиллярах ткани при низком парциальном давлении O_2 .

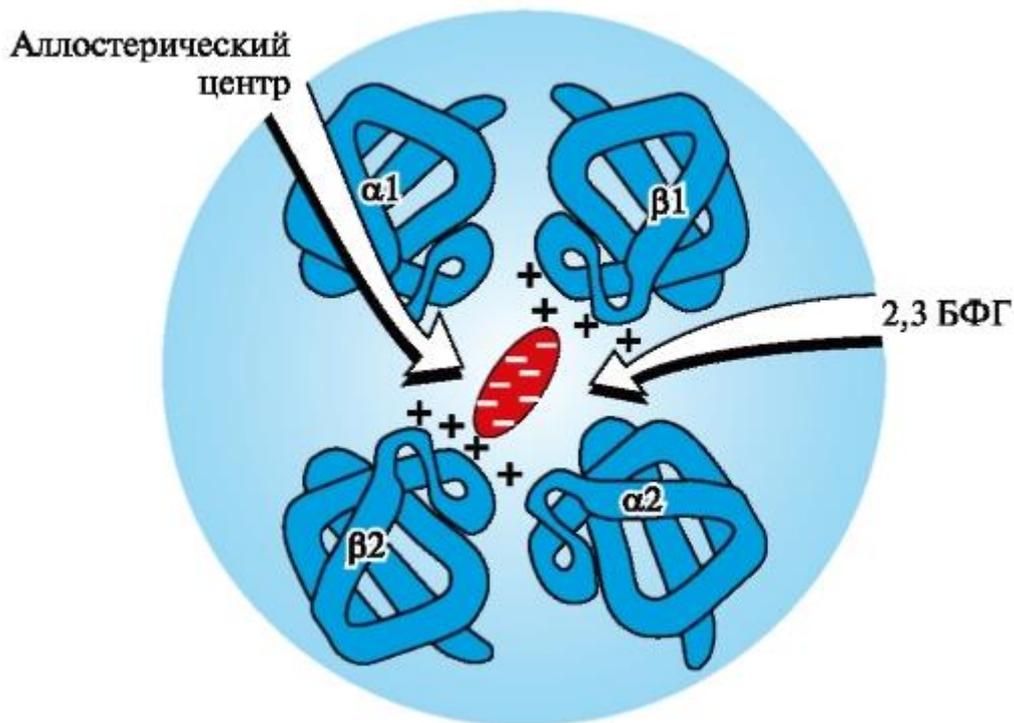


Рис. 1.26. Связывание БФГ с дезоксигемоглобином

Центр связывания БФГ находится в положительно заряженной полости между 4 протомерами гемоглобина. Взаимодействие БФГ с центром связывания изменяет конформацию α - и β -протомеров НЬ и их активных центров. Сродство НЬ к молекулам O_2 снижается и кислород высвобождается в ткани. В легких при высоком парциальном давлении O_2 активные центры гемоглобина насыщаются за счет изменения конформации и БФГ вытесняется из аллостерического центра

В легких высокое парциальное давление O_2 , наоборот, приводит к оксигенированию НЬ и освобождению БФГ.

Содержание БФГ в крови человека соответствует содержанию гемоглобина и повышается при понижении содержания кислорода в воздухе (гипоксии) или затруднении дыхания при заболеваниях легких. Понижение его концентрации ухудшает снабжение тканей кислородом.

Это важно учитывать при переливании крови и сохранять необходимую концентрацию БФГ при консервации. Переливание донорской крови с пониженным содержанием БФГ может привести к гипоксии и гибели больных.

В регуляции работы гемоглобина основная роль принадлежит протонам H^+ . • В ткани НЬ поступает преимущественно в виде $Hb(O_2)_4$. Но при низком парциальном давлении O_2 происходит отщепление части кислорода.

Увеличение содержания не полностью оксигенированных форм НЬ облегчает высвобождение O_2 .

В мышцах образуется много CO_2 , который под действием карбоангидразы превращается в угольную кислоту H_2CO_3 , диссоциирующую на H^+ и бикарбонат-ион:

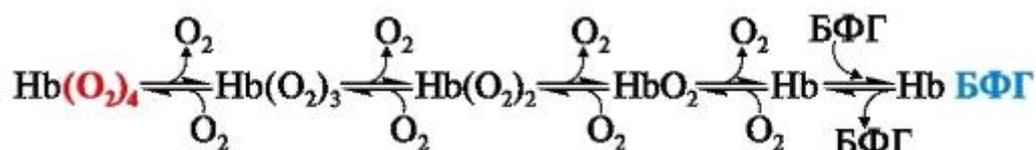


Повышение концентрации H^+ вызывает протонирование ионогенных групп НЬ, что приводит к снижению его сродства к O_2 :



Далее с дезоксигемоглобином взаимодействует

БФГ:



В легкие поступает кровь с высоким содержанием дезоксигемоглобина, протонированного, связанного с БФГ или CO_2 . В такой форме гемоглобин имеет пониженное сродство к O_2 .

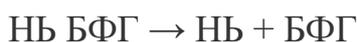
Из капилляров диффундирует CO_2 , освобождающийся в результате реакции:



Это стимулирует депротонирование гемоглобина:



Высокое парциальное давление O_2 приводит к оксигенированию НЬ, при этом вытесняется БФГ:



Частичное оксигенирование гемоглобина повышает его сродство к кислороду, все реакции, приведенные выше, происходят в обратном порядке.

Зависимость сродства гемоглобина к кислороду от концентрации ионов водорода (H^+) получила название эффекта Бора по имени датского физиолога, изучавшего функционирование гемоглобина (см. рис. 1.25).

Таким образом, количество транспортируемого гемоглобином в ткани кислорода регулируется и повышается при увеличении содержания CO_2 и H^+ в крови (например, при интенсивной физической работе); при сдвиге рН крови в щелочную сторону (алкалозе) доставка кислорода в ткани понижается.

1.5. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

В организме существуют гомологичные белки, имеющие близкую конформацию, но отличающиеся по структуре полипептидных цепей как, например миоглобин и гемоглобин. Они возникли в ходе эволюции при замене отдельных аминокислотных остатков в цепи. Их конформация содержит обычно одинаковое количество α -спиралей и β -структур, имеет одинаковые повороты и изгибы полипептидных цепей. Гомологичные белки довольно многочисленны, и их объединяют в семейства белков (иммуноглобулины, сериновые протеазы, семейство гемоглобина, семейство альбумина и т.д.).

Самое многочисленное суперсемейство составляют иммуноглобулины.

Иммуноглобулины (антитела) - белки (Y-образные гликопротеины), которые вырабатываются В-лимфоцитами в ответ на поступление в организм чужеродных структур (антигенов) и обеспечивают их обезвреживание. Антигенами называются обычно вещества, которые вызывают иммунный ответ, например чужеродные белки или другие макромолекулы, бактерии, вирусы, грибы и др. Организм человека вырабатывает более 10^7 видов иммуноглобулинов, причем каждый из них производится своим клоном В-лимфоцитов. Антитела локализованы на поверхности иммунных клеток или находятся в свободном виде в плазме крови. Они взаимодействуют с антигенами в крови, лимфе, межклеточной жидкости, слюне и других секретах желез. Функция иммуноглобулинов осуществляется в два этапа: узнавание и связывание соответствующего комплементарного антигена при помощи

антигенсвязывающих участков; запуск процесса, в результате которого антиген инактивируется и разрушается (активация системы комплемента).

Особенности строения иммуноглобулинов

Молекулы иммуноглобулинов имеют характерную Y-образную форму, два конца которой связывают антиген (рис. 1.27). Каждая молекула состоит из 4 полипептидных цепей: 2 идентичных тяжелых (H-цепей, мол. масса 50 000) и

2 легких (L-цепей, мол масса 25 000 кД). Цепи связаны между собой 4 дисульфидными связями. Тяжелые цепи делятся на 5 типов, специфичных для каждого класса иммуноглобулинов, а легкие - на 2 типа, присутствующие во всех классах.

Легкие цепи состоят из двух доменов: переменного (V_L) и константного (C_L), тяжелые цепи формируют 4 домена: один переменный (V_H) и три константных (C_{H1} , C_{H2} , C_{H3}). Все домены имеют β -складчатую структуру и стабилизируются дисульфидными связями между остатками цистеина.

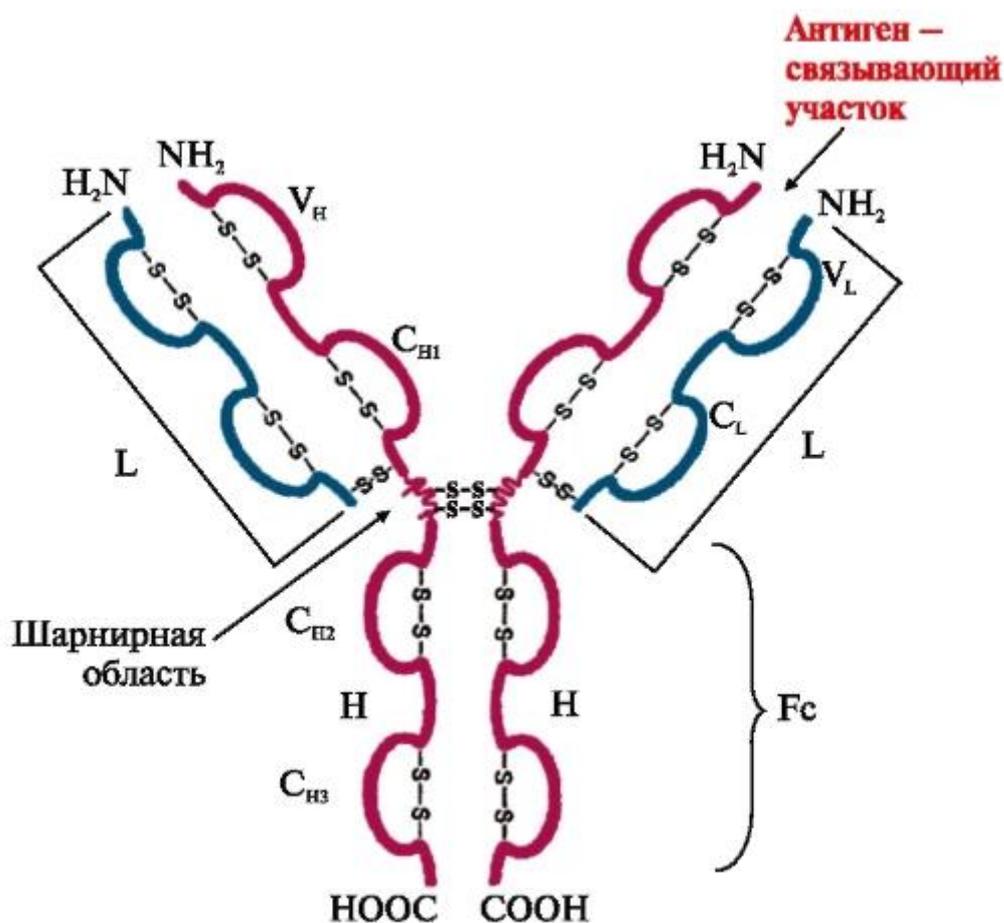


Рис. 1.27. Схема строения мономера иммуноглобулина

H - тяжелая цепь; L - легкая цепь;

V_L , V_C - переменные участки тяжелой и легкой цепей;

C_L , C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} - константные участки тяжелой и легкой цепей;

Fc - фрагмент, отвечающий за связывание с другими компонентами иммунной системы

Тяжелая цепь содержит много остатков пролина между доменами C_{H1} и C_{H2} , препятствующих формированию вторичной структуры и взаимодействию цепей на этом фрагменте. Этот участок называется шарнирным, поскольку придает иммуноглобулинам внутримолекулярную подвижность.

Центр связывания антигена образуется переменными участками Н- и L-цепей. Взаимодействие с антигеном осуществляется за счет нековалентных связей. Уникальная способность каждого клона антител распознавать и связывать соответствующий антиген определяется гиперпеременной участком, расположенным на переменных доменах Н- и L-цепей и состоящим из 20-30 аминокислот. Всего возможно существование 25^{20} комбинаций из этого количества аминокислот, т.е. за счет замены аминокислот в гиперпеременных частях тяжелой и легкой цепей в организме человека может существовать практически неограниченное количество различных иммуноглобулинов.

Классы иммуноглобулинов, особенности строения и функционирования

Имуноглобулины человека делят на 5 классов (A, D, E, G, M), отличающихся строением тяжелых цепей (α , δ , ϵ , γ , μ). Эти различия обуславливают характерную для каждого класса конформацию и физиологическую функцию (рис. 1.28). Связывание антигена вызывает изменение конформации константных доменов иммуноглобулина, это определяет дальнейший путь его уничтожения. Легкие цепи имеют два типа (κ и λ), которые присутствуют во всех классах иммуноглобулинов. Иммуноглобулины М (IgM) - секретируются на ранних стадиях первичного иммунного ответа. Существуют в двух формах.

- Мономерная форма - (ранняя) связана с поверхностью В-лимфоцитов, служит рецептором, распознающим антиген. Состоит из 1 мономера, имеющего на С-конце тяжелых цепей гидрофобный участок, обеспечивающий встраивание его в мембрану В-лимфоцита.
- Секреторная форма - (более поздняя) состоит из 5 мономеров, связанных дополнительной J-цепью, имеет 10 участков связывания с антигеном (см. рис. 1.28). Секретируется в кровь при первичном иммунном ответе и наиболее эффективна против вирусов и бактерий. Повторное введение того же антигена приводит к массивной секреции IgG. Это свойство иммунной системы называется иммунной памятью. После рождения ребенка

уровень IgM повышается, так как новорожденный подвергается антигенному стимулированию.

Иммуноглобулины G (IgG) - основной класс иммуноглобулинов, секретируемых при вторичном иммунном ответе, составляют до 75% всех иммуноглобулинов крови. IgG являются мономерной формой, не имеющей гидрофобного фрагмента на С-конце, и не встраиваются в мембраны клеток. Они служат основным противоифекционным иммуноглобулином, нейтрализуют бактериальные токсины и, связываясь с микроорганизмами, усиливают фагоцитоз. Единственный класс антител, проникающих через плацентарный барьер и обеспечивающих внутриутробную защиту плода и пассивный иммунитет новорожденных в первые недели жизни.

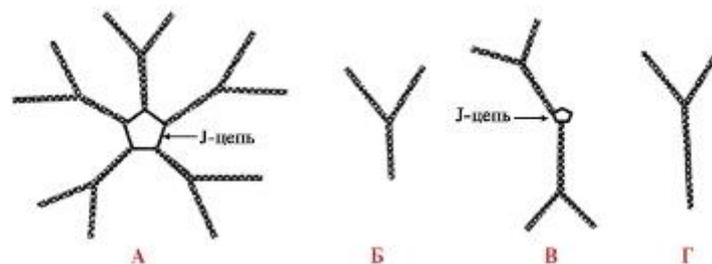


Рис. 1.28. Строение иммуноглобулинов разных классов

А - IgM, секреторная форма (пентамер, имеет связующую J-цепь); Б - IgG (мономер);

В - IgA (ди-, а также тетрамер, имеют связующую J-цепь); - IgE (мономер)

Иммуноглобулины А (IgA) - основной класс антител в секретах (слюна, слезы, респираторные, желудочные, мочеполовые секреты, молоко), является первой линией защиты. Состоят из 2, 3 или 4 мономеров, связанных J-цепью. Микроорганизмы, покрытые IgA, не могут прикрепляться к поверхности слизистых оболочек и участвовать в заражении. В слюне содержится специфическая секреторная форма - sIgA, обеспечивающая иммунитет полости рта человека.

Иммуноглобулины Е (IgE) - антитела, связывающиеся после секреции с соответствующими рецепторами на поверхности тучных клеток и эозинофилов. Взаимодействие с мембраной клеток происходит с помощью специфического гидрофобного конца, как и у мономерных IgM. Присоединение антигена стимулирует секрецию клеткой гистамина, отвечающего за развитие воспалительной реакции; при аллергии содержание

гистамина повышено. Роль IgE у здоровых людей - обеспечение противопаразитарного иммунитета.

Иммуноглобулины D (IgD) обнаруживаются на очень малом количестве В-лимфоцитов (~1,5%), имеют мономерную структуру, играют роль поверхностного рецептора для узнавания антигена.

1.6. ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ БЕЛКОВ

Изучение физико-химических свойств, химического состава и структуры возможно только при исследовании очищенного белкового препарата. Для выделения и фракционирования индивидуальных белков используются: высаливание, осаждение органическими растворителями, гельфильтрация, электрофорез, ионообменная хроматография, аффинная хроматография.

Высаливание белков основано на зависимости растворимости белка от свойств среды. В дистиллированной воде протеины растворяются хуже, чем в слабых растворах солей, так как низкие концентрации ионов поддерживают их гидратные оболочки. Но при высоких концентрациях соли молекулы белка теряют гидратные оболочки, агрегируют и образуется осадок. После удаления соли белки вновь переходят в раствор, сохраняя нативные свойства и конформацию.

Изменение растворимости при различных концентрациях соли и pH среды используется для выделения индивидуальных белков. Чаще всего для высаливания белков используют растворы сульфата аммония разной концентрации.

Осаждение белков из раствора без их денатурации осуществляют с помощью дегидрирующих агентов - органических растворителей (этанол, ацетон).

Гель-фильтрация основана на разделении белков по величине и форме молекулы. Разделение проводят в хроматографических колонках, заполненных гранулами пористого геля (сефадекса, агарозы), в буферном растворе с определенным значением pH. Гранулы геля проницаемы для белков благодаря внутренним каналам (порам) с определенным средним диаметром, размер которого зависит от типа геля (сефадекс G-25, G-200 и т.д.). Смесь белков вносят в колонку и затем вымывают (элюируют) буферным раствором с определенным значением pH. Крупные молекулы белка не проникают в поры геля и перемещаются с высокой скоростью вместе с растворителем. Мелкие молекулы низкомолекулярной примеси

(соли) или другого белка удерживаются гранулами геля и вымываются из колонки медленнее (рис. 1.29). На выходе колонки раствор (элюат) собирают в виде отдельных фракций.

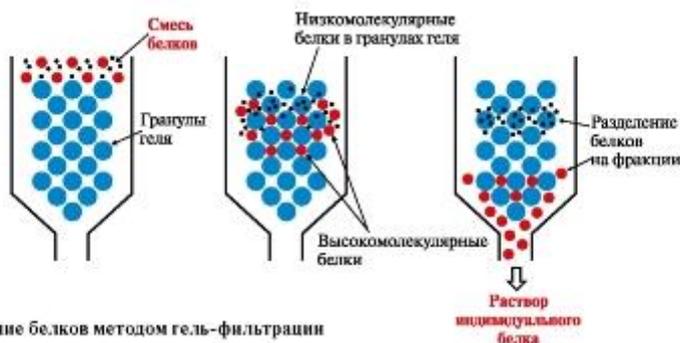


Рис. 1.29. Разделение белков методом гель-фильтрации

Рис. 1.29. Разделение белков методом гель-фильтрации

Электрофорез основан на свойстве заряженных молекул белка перемещаться в электрическом поле со скоростью, пропорциональной их суммарному заряду. Белки, имеющие при данном значении рН суммарный отрицательный заряд, двигаются к аноду, а положительный - к катоду. Электрофорез проводят на разных носителях: бумаге, крахмальном геле, полиакриламидном геле и др. Скорость перемещения зависит от заряда, массы и формы молекул белка. После завершения электрофореза зоны белков на носителе окрашивают специальными красителями (рис. 1.30, А).

Разрешающая способность электрофореза в геле выше, чем на бумаге, так при электрофорезе белков сыворотки крови на бумаге выделяют 5 фракций (альбумины, α_1 -, α_2 -, β -, γ -глобулины), а в полиакриламидном геле - до 18 фракций (рис. 1.30, Б).

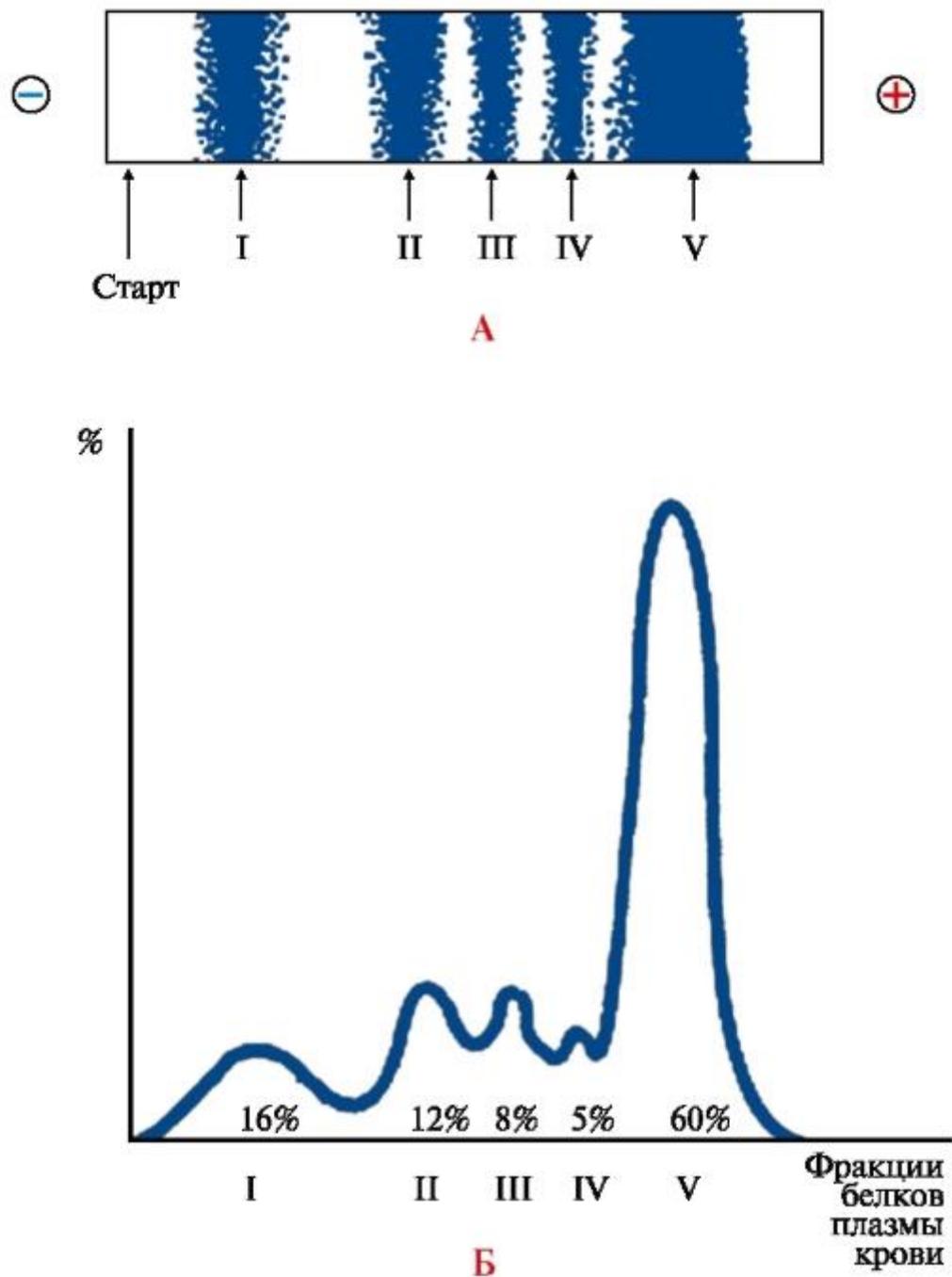


Рис. 1.30. Электрофореграмма белков сыворотки крови здорового человека

А - электрофореграмма белков сыворотки крови на бумаге;

Б - количество белков плазмы разных фракций.

I - γ -глобулины; II - β -глобулины; III - α_2 -глобулины;

IV - α_1 -глобулины; V - альбумины

Ионообменная хроматография основана на разделении белков, отличающихся суммарным зарядом. Раствор белка с определенным

значением рН пропускают через хроматографическую колонку, заполненную твердым пористым сорбентом, при этом часть белков задерживается в результате электростатического взаимодействия. В качестве сорбента используют ионообменные вещества: анионообменники (содержащие катионные группы) для выделения кислых белков; катионообменники (содержащие анионные группы) для выделения основных белков.

При пропускании белка через колонку прочность его связывания с ионообменником зависит от величины заряда, противоположного заряду сорбента. Адсорбированные на ионообменном сорбенте белки элюируют буферными растворами с различной концентрацией соли и рН, получая разные фракции белков.

Аффинная хроматография основана на специфичности связывания белка с лигандом, присоединенным к твердому носителю. В качестве лиганда используются субстраты ферментов, простетические группы холопротеинов, антигены и т.д. При пропускании через колонку смеси белков к лиганду присоединяется только комплементарный протеин (рис. 1.31, А), все остальные выходят вместе с раствором. Адсорбированный белок элюируется раствором с другим значением рН (рис. 1.31, Б). Этот метод высокоспецифичен и позволяет получать белковые препараты высокой степени очистки.

Выделение и очистка белка обычно проходят в несколько стадий с использованием различных методов. Последовательность стадий подбирается эмпирическим путем и может различаться для разных протеинов. Высокая степень очистки белков очень важна как при использовании их в качестве лекарственных препаратов (гормон инсулин и т.д.), так и при диагностике различных заболеваний по изменению белкового состава тканей, крови, слюны и др.

Набор белков в клетках различных органов взрослого человека индивидуален и поддерживается относительно постоянным на протяжении жизни. Специализированные ткани могут содержать специфические белки, например гемоглобин в эритроцитах, актин и миозин в мышцах, родопсин в сетчатке глаза, разные типы коллагена в костной и соединительной тканях. Некоторые белки содержатся во многих тканях, но в разных количествах. Отдельные изменения состава

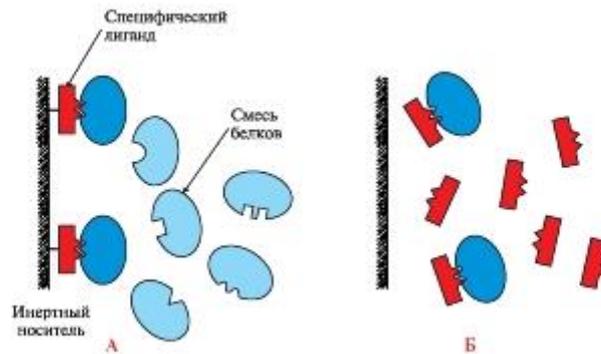


Рис. 1.31. Разделение белков методом аффинной хроматографии

А - связывание выделяемого белка со специфическим лигандом, присоединенным к нейтральному носителю; Б - получение раствора индивидуального белка

белков тканей и крови возможны и связаны прежде всего с режимом питания, составом пищи, физической активностью человека.

При заболеваниях белковый состав крови и клеток тканей может существенно изменяться, часто развивается недостаточность какого-либо белка либо снижение его активности - протеинопатия. Поэтому определение выраженных изменений белкового состава крови и тканей используется для диагностики различных заболеваний в клинических исследованиях.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выберите правильный ответ. Гем:

- А. Участвует во взаимодействии с БФГ.
- Б. Содержится в полости между протомерами олигомерного белка.
- В. Имеет пептидную природу.
- Г. Является протетической группой гемоглобина.
- Д. Служит аллостерическим регулятором гемоглобина

2. Выберите правильный ответ. Гемоглобин и миоглобин:

- А. Являются холопротеинами.
- Б. Являются олигомерными белками.
- В. Регулируются БФГ.
- Г. Содержатся в эритроцитах. Д. Подвергаются кооперативным изменениям при взаимодействии с O_2 .

3. Установите соответствие.

А. IgM. Б. IgA.

В. IgD Г. IgG Д. IgE.

1. Отвечает за первичный иммунный ответ.

2. Образуется в форме димера.

3. Отвечает за вторичный иммунный ответ.

4. Выберите правильные ответы. Иммуноглобулины:

А. Являются олигомерами. Б. Имеют 2 типа H-цепей.

В. Синтезируются в В-лимфоцитах.

Г. Взаимодействуют с макромолекулами,

поступающими в организм. Д. Имеют один центр связывания антигена.

5. Установите соответствие.

А. Высаливание. Б. Электрофорез.

В. Гель-фильтрация.

Г. Аффинная хроматография.

Д. Ионообменная хроматография.

1. Используется для очистки от низкомолекулярных примесей.

2. Основана на подвижности молекул в электрическом поле.

3. Основана на специфическом взаимодействии с лигандом.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Содержание БФГ в крови увеличивается с 4,5 до 7,0 мМ/л при пребывании в течение 2 дней на высоте 4,5 км над уровнем моря. При спуске на равнину концентрация БФГ возвращается к исходному уровню. Объясните значение подобных изменений.

Для этого:

а) объясните механизм функционирования гемоглобина;

б) укажите, как называется центр, к которому присоединяется БФГ, и где он расположен в молекуле гемоглобина;

в) с какой формой гемоглобина будет взаимодействовать БФГ (оксигемоглобин или дезоксигемоглобин) и как изменяется сродство НЬ к O_2 при его присоединении.

2. Мутация, приводящая к замене аминокислоты Глу на Вал в положении 6 β -цепей гемоглобина вызывает тяжелое наследственное заболевание - серповидноклеточную анемию, делающее невозможными интенсивные физические нагрузки. Эритроциты людей с таким заболеванием имеют форму серпа. Объясните молекулярные механизмы возникновения этого заболевания.

Для этого:

а) дайте определение понятию «первичная структура белка»;

б) охарактеризуйте все уровни пространственной организации гемоглобина;

в) напишите формулы аминокислот, находящихся в положении 6 НЬА (норма) и НЬS (патология) и укажите их свойства;

Г) объясните, как повлияет введение Вал на свойства и функцию молекулы гемоглобина.

3. Кислород необходим клеткам для процессов окисления веществ и получения энергии. Недостаток кислорода, так же как и его избыток, губителен для тканей. Каким образом регулируется количество O_2 , доставляемого в ткани в точном соответствии с клеточными потребностями?

При ответе объясните:

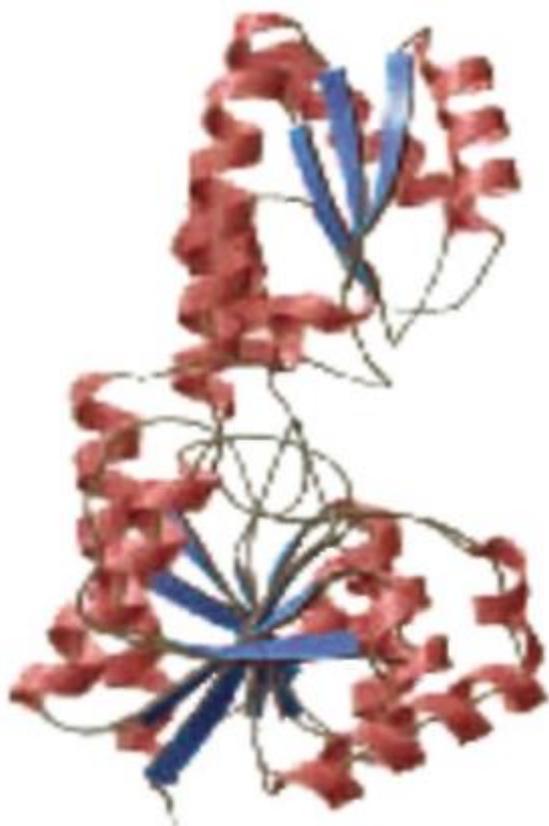
а) механизм функционирования гемоглобина;

б) что такое эффект Бора;

в) как связан этот эффект с метаболической активностью тканей;

г) как изменится количество поступающего в ткани O_2 при алкалозе.

РАЗДЕЛ 2. ФЕРМЕНТЫ



Основные темы раздела:

2.1. Особенности ферментативного катализа.

2.2. Свойства ферментов.

2.3. Кинетика ферментативных реакций.

2.4. Коферментная функция витаминов.

2.5. Классы ферментов.

2.6. Регуляция активности ферментов.

2.7. Ингибиторы ферментов.

2.8. Применение ферментов в медицине.

Преобразования различных молекул в клетках организма катализируют ферменты. В условиях, характерных для живого организма, без участия ферментов эти реакции протекали бы очень медленно, поэтому практически все они идут с участием биологических катализаторов.

Каждый фермент способен катализировать лишь очень небольшое число реакций, часто только одну. Ферменты - это белки, имеющие специфическую первичную, вторичную, третичную, а иногда и четвертичную структуру. Они могут быть простыми или сложными белками. Если фермент - сложный белок, то его небелковую часть называют кофактором, или коферментом, а белковую - апоферментом. Апофермент с коферментом образует активную форму катализатора - холофермент:

Апофермент + Кофактор → Холофермент. (кофермент)

Активность ферментов, способность ускорять реакции зависит от степени сохранности нативной структуры белка. При нарушении нативной конформации, например при нагревании, резком изменении рН, воздействии денатурирующих агентов, они теряют каталитические свойства. Большинство ферментов проявляет активность в водных растворах при физиологических значениях рН и температуры.

2.1. ОСОБЕННОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА

Ферменты обладают высокой специфичностью и повышают скорость строго определенных биохимических реакций. Ферменты не влияют на положение равновесия ускоряемых ими реакций, в ходе реакции они не расходуются и не претерпевают необратимых изменений (рис. 2.1).

Каталитическая мощность ферментов (отношение скорости реакции в присутствии катализатора к скорости реакции без катализатора) обычно лежит в диапазоне от 10^6 до 10^{14} , поэтому ферменты обеспечивают проведение нервных импульсов, сердечное сокращение и другие быстротекущие процессы.

Этапы ферментативного катализа

Превращение субстрата (S) в продукт (P) протекает через переходное состояние с более высокой энергией, чем энергия субстрата или продукта:



Переходное состояние соответствует вершине энергетического (активационного) барьера (рис. 2.2).

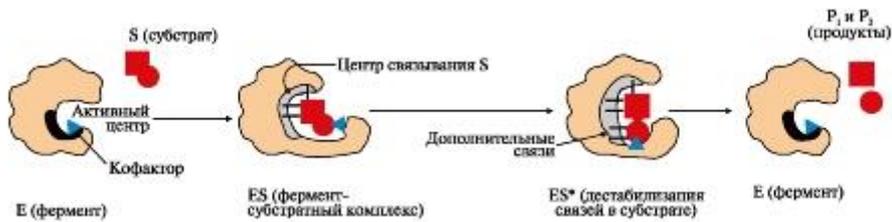


Рис.2.1. Превращение субстрата (S) в продукты (P₁ и P₂) под действием фермента (E)

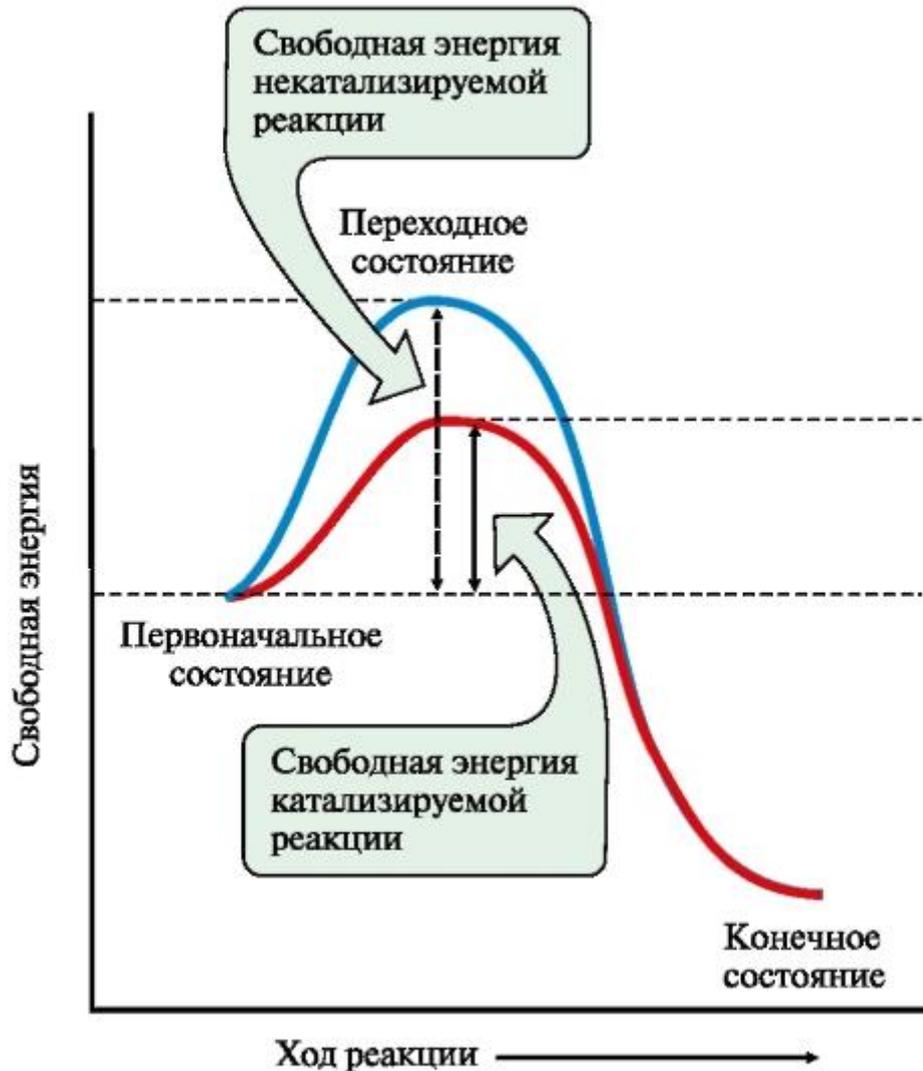


Рис. 2.2. Гипотетические энергетические кривые для химических реакций в присутствии и отсутствии катализатора

Ферменты ускоряют реакции путем снижения энергии активации (энергетический или активационный барьер), не влияя при этом на полное изменение свободной энергии в ходе реакции и состояние равновесия.

Переходное состояние соответствует вершине энергетического (активационного) барьера

Существуют два основных пути увеличения скорости химической реакции. Первый путь - повышение температуры, приводящий к ускорению теплового движения молекул и увеличению их содержания в точке переходного состояния. Как правило, повышение температуры на 10°C вызывает ускорение химической реакции приблизительно в 2 раза.

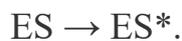
Второй путь ускорения химической реакции - участие фермента в образовании ES-комплексов, позволяющих молекулам преодолевать активационный барьер на более низком энергетическом уровне. Молекулы S, перед тем как превратиться в продукт реакции, проходят ряд промежуточных этапов, что обеспечивает протекание реакции по другому, обходному пути.

- На первом этапе фермент взаимодействует с субстратом с образованием нового соединения - ES



В ходе этого этапа ферментативного катализа происходит установление комплементарного соответствия между E и S, которое сопровождается небольшими изменениями конформации фермента. Переходному состоянию вещества ES соответствует более низкая энергия активации по сравнению с переходным состоянием вещества S в реакции, идущей без катализатора. Таким образом, ферменты как катализаторы повышают скорость реакций путем снижения активационного барьера. При взаимодействии фермента (E) с субстратом (S) реакция протекает по новому механизму, характеризующемуся более низким уровнем энергии переходного состояния, чем реакции, протекающие в отсутствие фермента.

- Второй этап катализа характеризуется дестабилизацией связей в субстрате (S*):



- В ходе третьего этапа происходит превращение S* в продукт P:



и высвобождение продукта из комплекса с ферментом.

Часто, опуская второй этап, уравнение ферментативного катализа записывают так:



2.2. СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ

Взаимодействие субстрата с ферментом происходит в центре связывания (активном центре) и сопровождается образованием множественных связей между ними.

Активный центр - это участок на молекуле белка, в котором происходит взаимодействие фермента с субстратом. Он формируется на уровне третичной структуры белка, располагается в углублении, как правило, гидрофобном кармане, или щели, и таким образом предохраняет субстрат от контакта с окружающей фермент водной фазой. В активном центре присутствуют радикалы аминокислот, сближенные в процессе формирования третичной структуры и принадлежащие разным участкам полипептидной цепи белка (рис. 2.3).

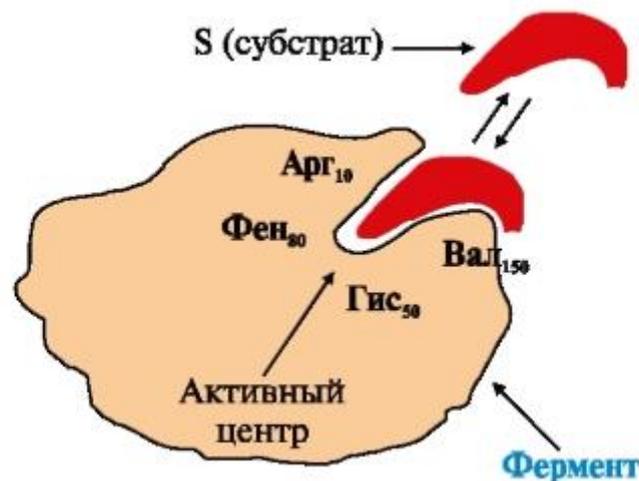


Рис. 2.3. Связывание субстрата в активном центре фермента

Арг₁₀, Фен₈₀, Гис₅₀, Вал₁₅₀ - аминокислотные остатки, радикалы которых принимают участие в формировании активного центра фермента

Кофакторы ферментов

Небелковые составляющие ферментов могут быть представлены:

- Ионами металлов: Zn^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} и т.д. Механизмы участия ионов металлов в ферментативных реакциях различны. Металл может являться частью активного центра фермента и участвовать в катализе. Он может быть связующим звеном между ферментом и субстратом, может проявлять координирующее свойство, благодаря которому субстрат оказывается в активном центре фермента;

- Коферментами - сложными органическими веществами, в состав которых часто входят витамины, которые не синтезируются в организме и должны поступать с пищей.

Коферменты в свою очередь делят на две группы:

- органические соединения с низкой молекулярной массой, обладающие способностью обратимо связываться с апоферментом, например никотинамидадениндинуклеотид (NAD^+), никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADP^+), кофермент А (HS-CoA), тетрагидрофолиевая кислота (H_4 -фолат);
- простетические группы - прочно присоединенные к апоферменту, например флавинадениндинуклеотид (FAD), флавинмононуклеотид (FMN), пиридоксальфосфат (ПФ) и др.

Коферменты принимают участие в связывании и превращении субстратов, поэтому в их отсутствии фермент теряет свою каталитическую активность.

Свойства ферментов как биологических катализаторов

Одной из важных характеристик ферментов является их высокая специфичность. Она заключается в том, что каждый фермент катализирует превращение определенного субстрата или группы субстратов, сходных по своей структуре. Специфичность действия ферментов обуславливает направленный обмен веществ в организме.

Существует несколько видов специфичности ферментов.

- Абсолютная специфичность. Ферменты, обладающие абсолютной специфичностью, катализируют превращение только одного субстрата. Например, фермент уреазы расщепляет единственное соединение - мочевину и не действует на другие соединения, в том числе и на производное самой мочевины - тиомочевину (рис. 2.4).

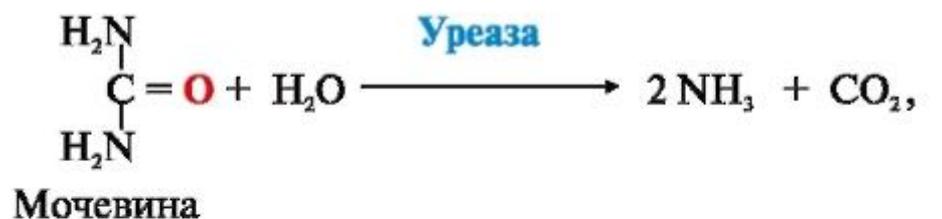


Рис. 2.4. Абсолютная специфичность действия уреазы

- Групповая специфичность. Ферменты могут воздействовать на ряд соединений сходных по строению. Например, липаза панкреатического сока, гидролизующая триацилглицеролы (ТАГ) с разным составом жирных кислот до 2-моноацил-глицеролов (2-МАГ) и жирных кислот, расщепляет сложноэфирные связи в различных пищевых жирах (рис. 2.5).



Рис.2.5. Гидролиз ТАГ под действием панкреатической липазы

- Стереоспецифичность. Фермент катализирует превращение только одной стереоизоформы субстрата. Например, фумараза может катализировать превращение фумаровой кислоты, представляющей собой транс-изомер, и не действует на ее цис-изомер - малеиновую кислоту (рис. 2.6).

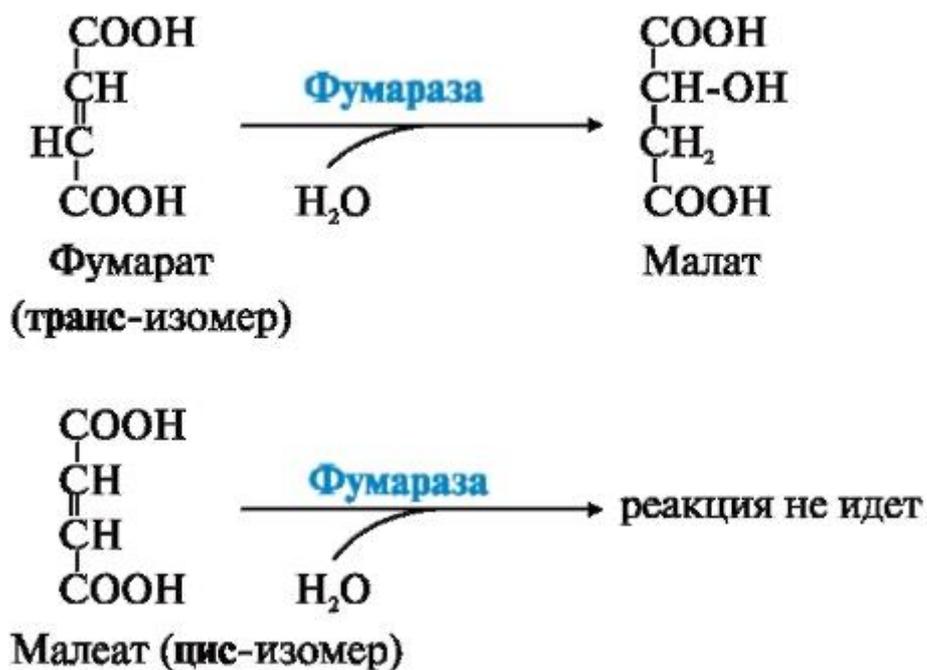


Рис. 2.6. Стереоспецифичность фумаразы

- Специфичность путей превращения заключается в том, что один субстрат под действием разных ферментов может превращаться в продукты, различающиеся по структуре и роли в метаболизме (рис. 2.7).

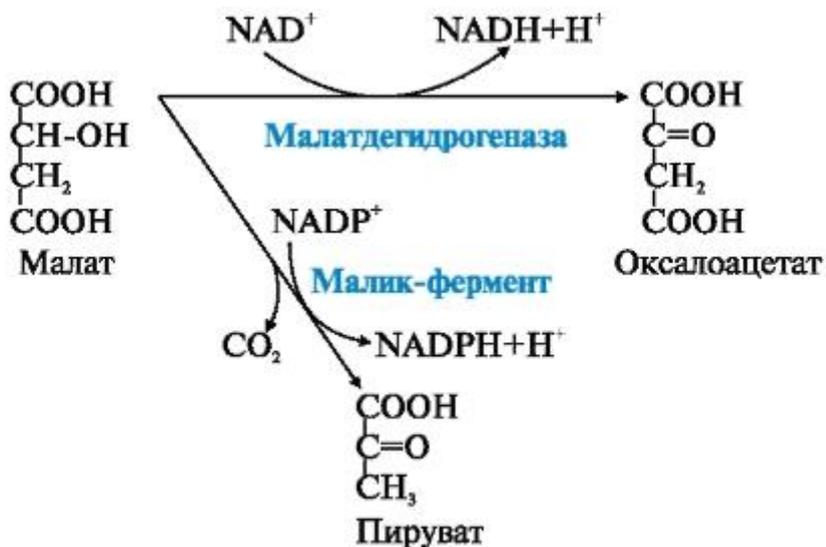


Рис. 2.7. Превращения малата под действием малатдегидрогеназы и малик-фермента

2.3. КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

При оптимальных условиях активность фермента зависит от:

- количества субстрата (S);
- количества продукта (P);
- количества фермента (E);
- концентрации кофактора;
- присутствия активаторов или ингибиторов.

Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата.
Константа Михаэлиса

Скорость ферментативной реакции может быть измерена по убыли субстрата S или по увеличению количества образованного продукта P за единицу времени. При постоянной концентрации фермента скорость ферментативной реакции во многом определяется количеством субстрата. По мере увеличения концентрации субстрата нарастает скорость образования продукта, которая постепенно достигает максимальной величины (V_{max}), при которой весь фермент насыщен субстратом и, следовательно, находится в виде фермент-субстратного комплекса (ES). Дальнейшее повышение концентрации субстрата не приводит к увеличению образования продукта, поэтому скорость реакции не возрастает. График зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата имеет вид гиперболы (рис. 2.8).

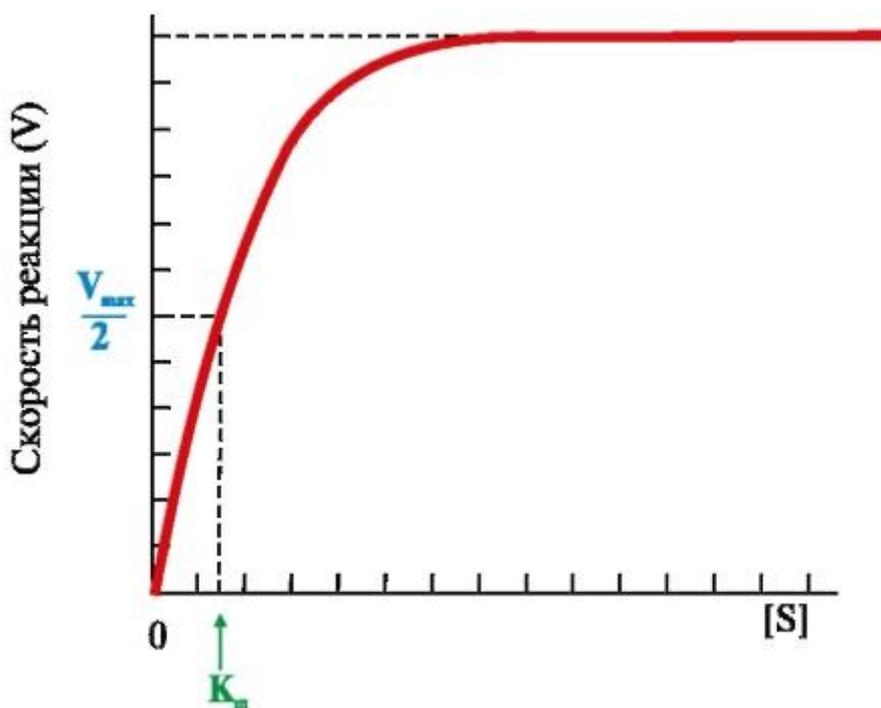


Рис. 2.8. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата

При увеличении концентрации субстрата скорость ферментативной реакции возрастает до тех пор, пока не достигнет максимального значения (V). Это соответствует концентрации субстрата, при которой все молекулы фермента находятся в комплексе ES, ES* или EP. Концентрация субстрата, при которой скорость реакции составляет половину максимальной, численно равна K_m (константе Михаэлиса-Ментен)

Когда половина молекул фермента находится в комплексе с молекулами субстрата, скорость реакции равна $\frac{1}{2} V_{max}$. Концентрация субстрата, при которой скорость реакции составляет половину максимальной (V_{max}), называется константой Михаэлиса-Ментен (K_m). Величина K_m характеризует сродство фермента к субстрату:

чем ниже значение K_m фермента, тем выше его сродство к субстрату, и наоборот.

Единицы измерения активности фермента

Оценить активность фермента можно по убыли (расходу) субстрата или появлению (образованию) продукта при определенных значениях pH, температуры и концентрации субстрата, приближающейся к насыщающей.

Обычно за единицу активности фермента принимают такое количество фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата (1 мкмоль = 10^{-6} моль) за 1 мин в оптимальных условиях проведения данной ферментативной реакции.

Активность фермента = мкмоль (S или P)/мин.

Удельной активностью фермента называют число единиц ферментативной активности в расчете на 1 мг белка (фермента). Удельная активность является количественной характеристикой чистоты ферментного препарата. В процессе очистки фермента удельная активность увеличивается, становится максимальной и постоянной для очень хорошо очищенного (гомогенного) фермента.

Удельная активность фермента = мкмоль (S или P)/(мин·мг).

Влияние температуры на скорость ферментативной реакции

Ферментативные реакции, подобно другим химическим реакциям, ускоряются при повышении температуры, и их кинетика согласуется с правилом Вант-Гоффа. Для биологических катализаторов, которые являются белками, этот закон действует только в строго определенном температурном интервале. Температурный оптимум для большинства ферментов человека составляет 37-38°C. При увеличении температуры выше 40°C происходит денатурация фермента, сопровождающаяся изменением конформации белка (рис. 2.9).

Снижение температуры замедляет броуновское движение молекул, взаимодействие фермента с субстратом, а значит, и образование продукта реакции идет с низкой скоростью. При 0°C ферменты сохраняют слабую активность, но в процессе замораживания клеток биохимические реакции приостанавливаются. После оттаивания, если соблюдаются определенные условия, ферментативные процессы могут возобновиться.

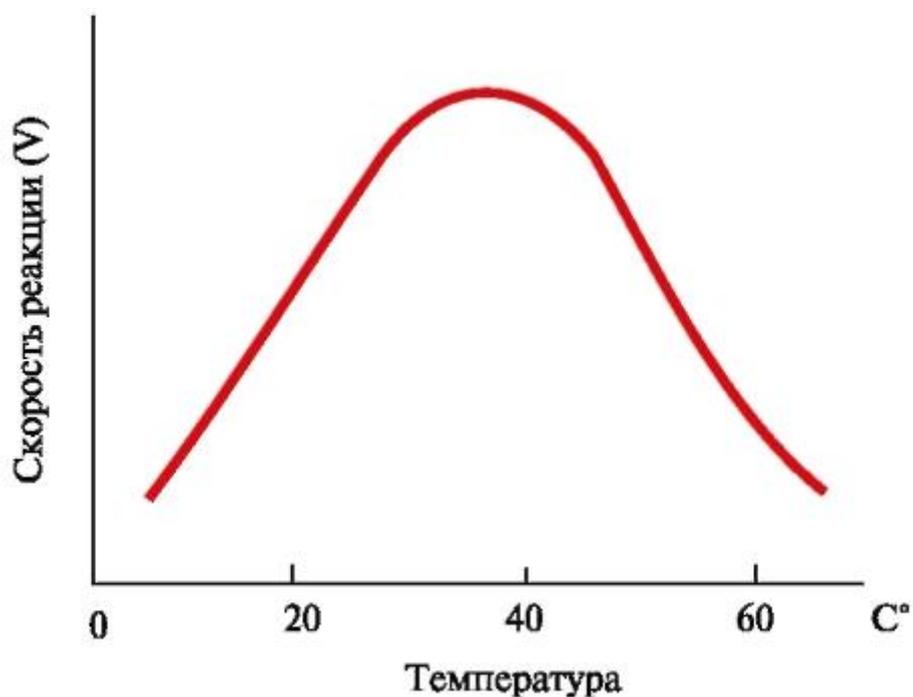


Рис. 2.9. Кривая зависимости скорости ферментативной реакции (V) от температуры (t)

При температуре выше оптимальной ($t_{\text{опт}}$) происходит разрыв слабых водородных связей, стабилизирующих вторичную и третичную структуры фермента, наступает частичная или полная денатурация и, следовательно, изменяется конформация фермента и его активного центра; нарушается комплементарность активного центра и субстрата; снижается скорость ферментативной реакции

Влияние pH на активность ферментов

Ионы водорода (H^+) оказывают влияние на ферментативную активность различными путями. Они изменяют степень ионизации субстрата, продукта и самого фермента. Особое значение имеет ионизация функциональных групп активного центра фермента и фермент-субстратного комплекса, определяющих скорость реакции.

При оптимальном для каждого фермента значении pH конформация активного центра фермента комплементарна субстрату. При изменении pH относительно оптимальных значений изменяется конформация фермента, активного центра, нарушается комплементарность и снижается скорость реакции.

Зависимость ферментативной активности от pH среды имеет вид колоколообразной кривой

(рис. 2.10).

Кислая и щелочная фосфатаза катализируют реакции дефосфорилирования фосфопротеинов или других органических молекул.



Эти ферменты участвуют в процессе ремоделирования костной ткани.

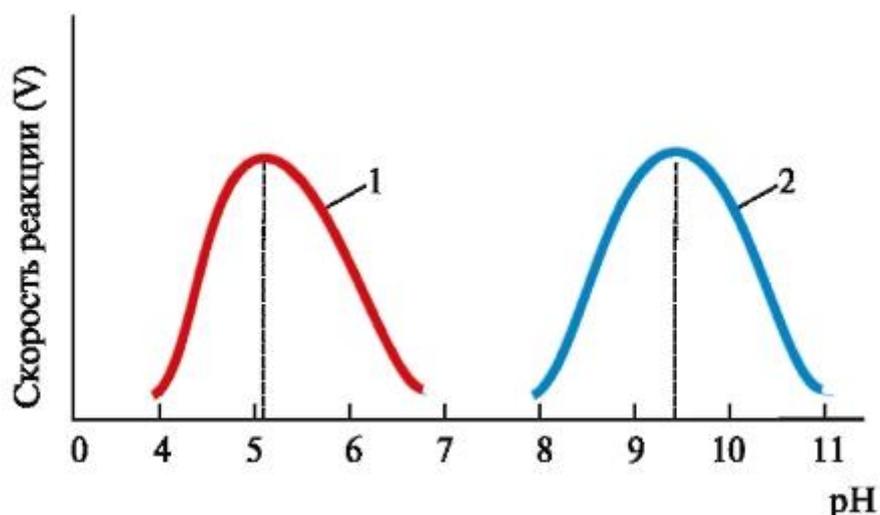


Рис. 2.10. Кривые зависимости активности кислой (1) и щелочной (2) фосфатаз от pH

Отклонение pH среды от оптимального вызывает изменение: ионизации функциональных групп фермента, а иногда и субстрата; заряда фермента и его конформации; конформации активного центра фермента; сродства фермента к субстрату; скорости ферментативной реакции

2.4. КОФЕРМЕНТНЫЕ ФУНКЦИИ ВИТАМИНОВ

Витамины или их производные являются коферментами.

Витамин PP (никотинамид) входит в состав двух коферментов - NAD^+ и NADP^+ , близких по структуре соединений. NADP^+ отличается

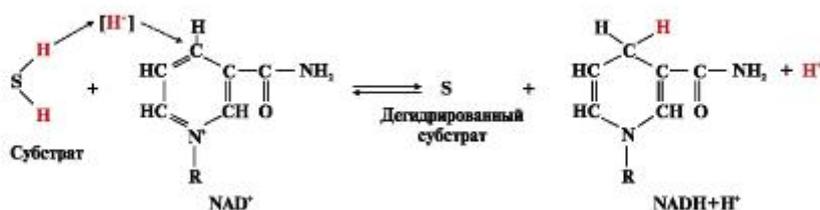


Рис. 2.11. Восстановление NAD^+

R - остальная часть кофермента

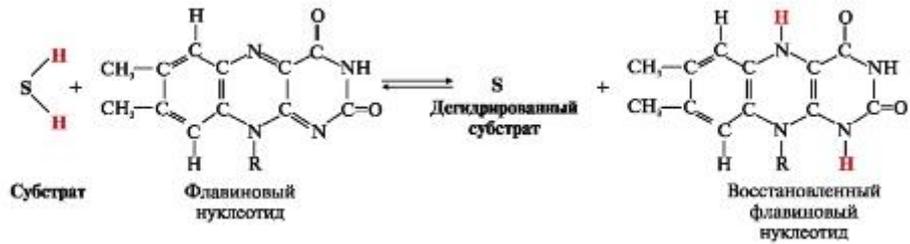


Рис. 2.12. Восстановление FAD или FMN

R - остальная часть кофермента.

от NAD^+ наличием в молекуле дополнительной фосфатной группы. Эти коферменты могут находиться как в окисленной (NAD^+ и NADP^+), так и в восстановленной (NADH и NADPH) формах. При окислении субстрата NAD^+ присоединяет протон (H^+) и два электрона ($2e^-$) (рис. 2.11).

Витамин B_2 (рибофлавин) входит в состав двух коферментов - FAD и FMN (рис. 2.12). Эти коферменты прочно связаны с ферментами и функционируют в качестве простетических групп флавиновых дегидрогеназ, принадлежащих классу оксидоредуктаз (см. главу 2.5).

Из витамина B_6 (пиридоксина) в организме образуется кофермент пиридоксаль-5-фосфат (рис. 2.13). Пиридоксальфосфат является простетической группой ферментов, участвующих в превращениях аминокислот: в реакциях трансаминирования между amino- и keto-кислотами и декарбоксилировании аминокислот.

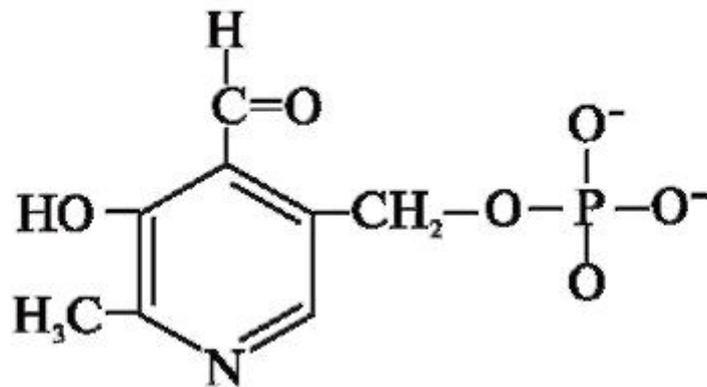


Рис. 2.13. Пиридоксаль-5-фосфат

Пирофосфорный эфир витамина B_1 (тиамина) представляет собой тиаминпирофосфат (ТПФ). Ферменты, содержащие ТПФ, участвуют в превращениях α -кето кислот и кетосахаров.

Примером может служить реакция декарбоксилирования α -кетоглутарата под действием α -кетоглутаратдекарбоксилазы (в составе α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса).

Биотин (витамин Н), входит в состав биоцитина - простетической группы ряда ферментов, катализирующих реакции карбоксилирования. Биоцитин представляет собой биотин, связанный амидной связью с ϵ -аминогруппой лизина в активном центре фермента (рис.2.14). Он участвует во многих реакциях карбоксилирования, которые катализируют ферменты класса лигаз.

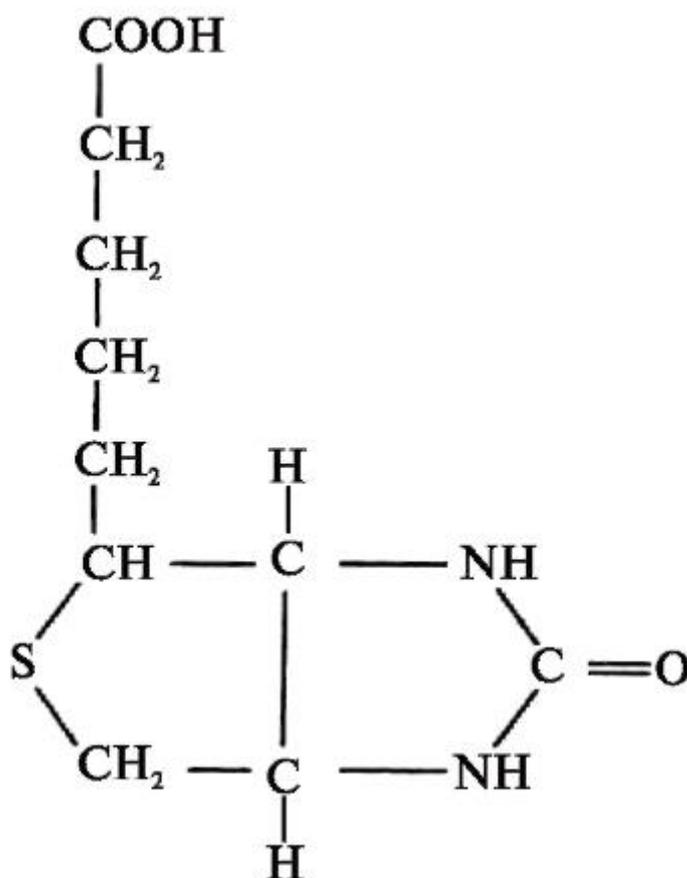


Рис. 2.14. Биотин

С участием биотина, например, идет реакция карбоксилирования ацетил-КоА под действием ацетил-КоА-карбоксилазы (см. рис. 2.20).

Аскорбиновая кислота (витамин С) легко превращается в дегидроаскорбиновую, участвуя в окислительно-восстановительных реакциях как донор водорода (рис. 2.15).

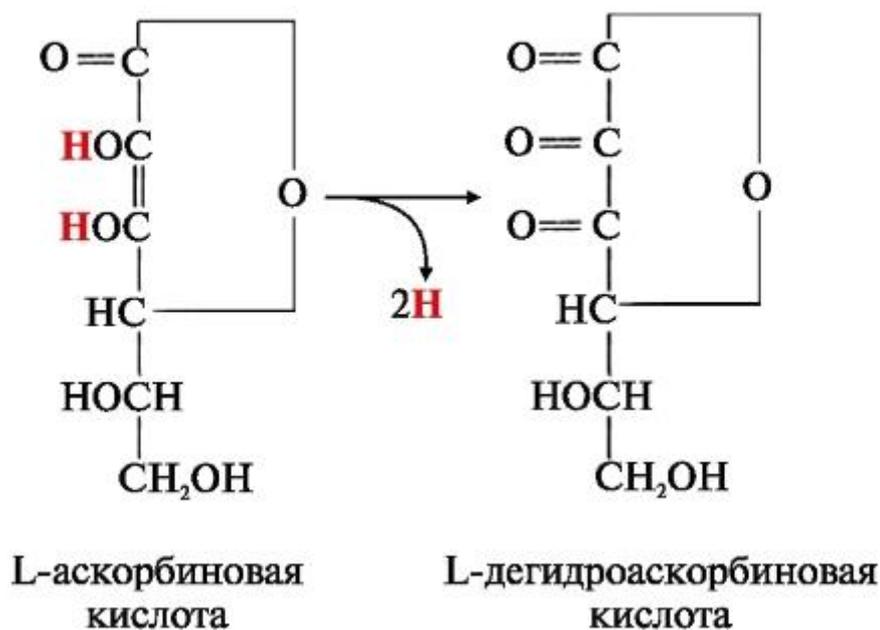


Рис. 2.15. Реакция окисления аскорбиновой кислоты

В коллагене - белке соединительной ткани - содержатся остатки гидроксипролина, которые образуются из пролина под действием пролилгидроксилазы. Этот фермент содержит в активном центре ион железа (Fe^{2+}), для сохранения восстановленного состояния которого требуется аскорбиновая кислота. При недостатке витамина С снижаются активность пролилгидроксилазы и содержание остатков гидроксипролина в цепях коллагена. Такой коллаген не образует нормальные по структуре волокна, что приводит к ломкости стенок сосудов (характерному признаку цинги), поражению кожи и нарушению структуры минерализованных тканей (кости, эмали, дентина, цемента).

Фолиевая кислота широко распространена в пище животного и растительного происхождения. Она ферментативно восстанавливается в печени в тетрагидрофолиевую кислоту (ТГФК или H_4 -фолат), выполняющую роль переносчика одноуглеродных групп в сложных ферментативных реакциях (см. раздел 7). Недостаток фолиевой кислоты приводит к развитию анемии.

Пантотеновая кислота входит в состав HS-КоА, который является коферментом лигаз и трансфераз, участвующих в обмене жирных и других органических кислот.

2.5. КЛАССЫ ФЕРМЕНТОВ

Название ферментам в течение долгого времени давали путем добавления окончания -аза к названию субстрата, который участвует в данной ферментативной реакции. Так, ферменты, гидролизующие белки, были названы протеазами, а ферменты, гидролизующие жиры, -липазами. В настоящее время, согласно международному соглашению, ферменты подразделяются на 6 основных классов, включающих несколько подклассов. Классификация ферментов проводится в соответствии с типом катализируемой химической реакции. Название ферментов при этом складывается из названия субстрата (первая часть названия), типа катализируемой реакции (вторая часть названия) и окончания -аза. Например, ферменты, переносящие аминогруппы, называются аминотрансферазами, а переносящие фосфатную группу - фосфотрансферазами.

Оксидоредуктазы катализируют окислительно-восстановительные реакции, характеризующиеся переносом электронов и протонов.

В один из подклассов данного класса входят ферменты, превращающие СН-ОН-группы в С=О группу. Примером может служить малатдегидрогеназа, катализирующая превращение малата в оксалоацетат с использованием кофермента NAD^+ , являющегося производным витамина РР (рис. 2.16, А).

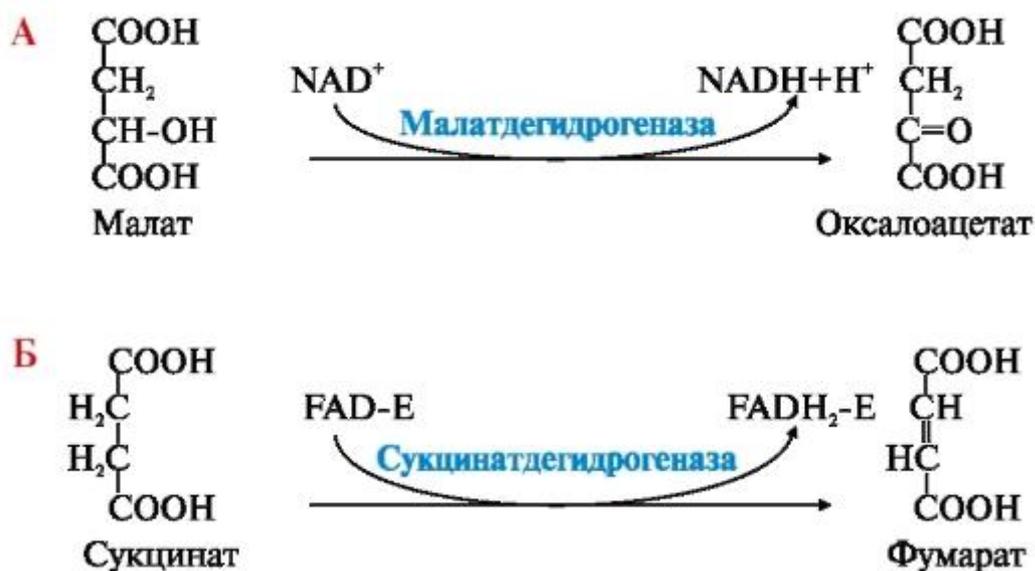


Рис. 2.16. Примеры реакций, катализируемых NAD -зависимыми (А) и FAD -зависимыми (Б) дегидрогеназами

Данный кофермент взаимодействует с апоферментом только в момент реакции и может отделяться от него в восстановленной форме (NADH), превращаясь в свободный донор водорода.

В другую подгруппу входят ферменты, катализирующие образование ненасыщенных соединений, например, превращающих -CH-C₂- последовательности в -HC=CH-группу.

Сукцинатдегидрогеназа катализирует превращение сукцината в фумарат при участии простетической группы FAD, являющейся производным витамина В₂ (рис. 2.16, Б). В данном случае FAD всегда прочно связан с апоферментом, в отличие от кофермента NAD⁺. Помимо дегидрогеназ, в класс оксидоредуктаз входят оксидазы, пероксидазы и оксигеназы.

Трансферазы катализируют перенос тех или иных групп (метильных, гликозильных, фосфатных, алкильных, амино-) от одного субстрата S₁ (донора) к другому S₂ (акцептору).



Рис. 2.17. Реакция трансаминирования

В зависимости от строения переносимых групп различают несколько подклассов трансфераз, например аминотрансферазы катализируют реакции переноса аминогруппы с α-аминокислоты на α-кетокислоту (трансаминирование). Результатом реакции является образование новой аминокислоты и новой кетокислоты (рис.2.17). Простетической группой аминотрансфераз является пиридоксальфосфат - производное витамина В₆.

Фосфотрансферазы (киназы) катализируют реакции переноса фосфатных групп от АТФ на субстрат:



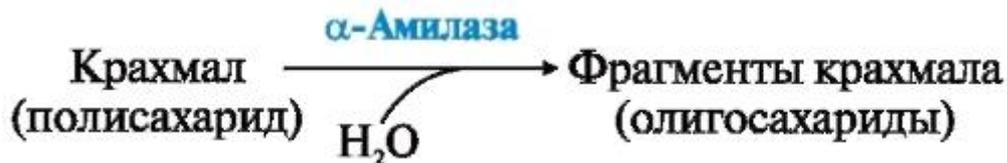
К данному классу относятся трансальдолазы, транскетолазы, метилтрансферазы, ацилтрансферазы, гликозилтрансферазы и др.

Гидролазы гидролизуют пептидные, гликозидные и эфирные связи кислотных ангидридов, связи C=C, C-галоген. В реакциях гидролиза присоединение H₂O идет по месту разрыва связи в молекуле субстрата.

В зависимости от типа гидролизуемой связи класс гидролаз включает несколько подклассов: эстеразы, фосфатазы, пирофосфатазы, гликозидазы. Один из ферментов костной ткани - пирофосфатаза - гидролизует пирофосфат:



α -Амилаза (гликозидаза), вырабатываемая большими слюнными железами, катализирует гидролиз крахмала в ротовой полости:



Лиазы катализируют расщепление связей C-C, C-O, C-N, C-S без присоединения H₂O по месту разрыва, например превращение диоксифенилаланина в нейромедиатор дофамин (рис. 2.18).

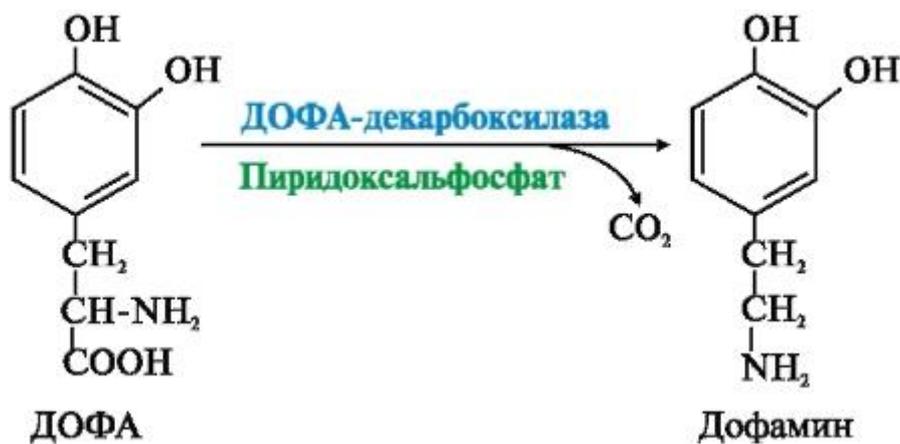


Рис. 2.18. Образование дофамина

К этому же классу принадлежат ферменты, катализирующие отщепление простых молекул H₂O, H₂S образованием в продукте двойной связи или присоединение этих молекул по двойной связи.

Изомеразы осуществляют взаимопревращения оптических и геометрических изомеров, перенос групп внутри молекул (мутазы) (рис. 2.19).

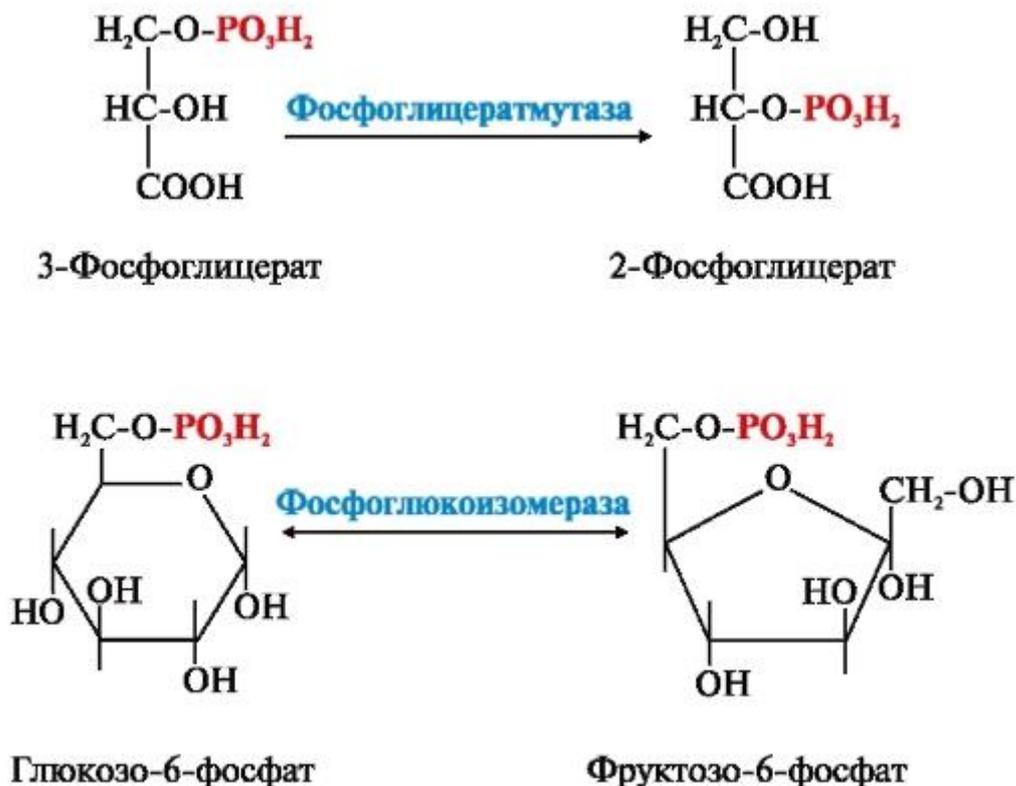


Рис. 2.19. Реакции, катализируемые изомеразами

Лигаза катализируют реакции соединения двух молекул в более сложные соединения, в ходе которых образуются связи C-O, C-N, C-C и C-S. Такие превращения сопряжены с гидролизом макроэргической связи АТФ, ГТФ или другого макроэргического субстрата и освобождением энергии, используемой для синтеза.



Рис. 2.20. Реакция карбоксилирования ацетил-КоА

К лигазам относятся аминоксил-тРНК-синтетазы, играющие важную роль на начальных стадиях синтеза белков клетки, ДНК-лигазы, участвующие в процессах синтеза и репарации ДНК. Карбоксилазы катализируют реакции включения молекулы CO₂ в специфические субстраты (рис. 2.20).

Простетической группой этих ферментов является биотин (витамин Н).

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Установите соответствие.

А. Связывается в активном центре.

Б. Представляет собой фермент-субстратный комплекс.

В. Имеет центр для связывания субстрата. Г. Обеспечивает связывание фермента с

субстратом. Д. Не имеет сродства к ферменту.

1. Субстрат

2. Продукт.

3. Фермент.

2. Выберите правильные ответы.

Скорость ферментативной реакции зависит от:

А. Локализации фермента в клетке. Б. рН среды.

В. Температуры

Г. Концентрации субстрата. Д. Присутствия кофактора.

3. Выполните «цепное задание».

а) активность фермента снижается при:

А. Повышении температуры до 37 °С. Б. Отклонении рН от оптимального.

В. Увеличении концентрации субстрата. Г. Повышении концентрации кофактора. Д. Нагревании инкубационной среды

от 0° до 5 °С.

б) это вызывает:

А. Изменение ионизации функциональных групп фермента.

Б. Образование фермент-субстратного комплекса.

В. Разрыв дисульфидных связей.

Г. Снижение скорости движения молекул. Д. Формирование структуры холофермента.

в) следствием этого события является:

- А. Повышение скорости ферментативной реакции.
- Б. Снижение вероятности столкновения молекул фермента с субстратом.
- В. Образование комплекса фермент- кофермент-субстрат.
- Г. Изменение конформации активного центра фермента.
- Д. Повышение сродства фермента к субстрату.

г) в результате такого явления:

- А. Образуется прочная связь между апоферментом и коферментом.
- Б. Возрастает содержание продукта в инкубационной среде.
- В. Снижается скорость образования продукта.
- Г. Формируется прочная связь между ферментом и субстратом.
- Д. Повышается вероятность взаимодействия субстрата с ферментом. 4.

Выполните «цепное» задание».

а) активность фермента щелочной фосфатазы снижается при:

- А. Увеличении количества фермента. Б. Температуре 37°-38 °С.
- В. Увеличении количества субстрата. Г. Изменении содержания кофермента NAD⁺.-

Д. Повышении в среде концентрации Н⁺ :

б) это вызывает:

- А. Разрыв ковалентных связей в молекуле фермента.
- Б. Образование фермент-субстратного комплекса.
- В. Повышение скорости образования продукта.
- Г. Изменение ионизации функциональных групп фермента и субстрата. Д. Снижение скорости движения молекул.

в) следствием этого события является:

- А. Повышение скорости ферментативной реакции
- Б. Увеличение образования продукта.
- В. Изменение заряда фермента и его конформации.
- Г. Образование комплекса фермент- кофермент-субстрат.

Д. Повышение сродства фермента к субстрату.

г) поэтому:

А. Увеличивается образование Р.

Б. Снижаются сродство Е к субстрату и скорость ферментативной реакции.

В. Образованный продукт остается в активном центре Е.

Г. Формируется прочная связь между ферментом и субстратом. Д.

Повышается вероятность взаимодействия субстрата с

ферментом. 5. Используя материалы разделов 2, 5, 7, впишите в таблицу 2.1 формулы коферментов и заполните графы.

Таблица 2.1

Кофермент (формула рабочей части)	Витамин- предшественник	Тип реакции	Роль кофер- мента в этой реакции
	РР (никотиновая кислота)		
	В ₁ (тиамин)		
	В ₂ (рибофлавин)		
	В ₅ (пантотеновая кислота)		
	В ₆ (пиридоксин)		
	В ₉ (фолиевая кислота)		
	С (аскорбиновая кислота)		
	Биотин (витамин Н)		

6. Установите соответствие.

Тип реакции, в которой участвует кофермент:

А. Карбоксилирование.

Б. Окисление-восстановление

В. Декарбоксилирование кетокислот. Г. Трансаминирование.

Д. Ацилирование.

Кофермент:

1. Биотин.
2. Пиридоксальфосфат.
3. NAD^+ .

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Карбоангидраза II повышает скорость образования угольной кислоты в эритроцитах в 1500- 2000 раз по сравнению с аналогичной реакцией, протекающей в плазме крови, не содержащей карбоангидразы: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$.

Объясните, как ферменты ускоряют реакции и от чего зависит направление данной реакции. Для этого:

- а) опишите этапы ферментативного катализа;
- б) представьте кривые, объясняющие роль фермента (карбоангидразы II) в этом превращении;
- в) укажите направление этой реакции в капиллярах легких и капиллярах тканей.

2. Студент-кружковец получил образцы крови больного для определения активности щелочной и кислой фосфатазы. Для проведения анализа он составил 2 инкубационные смеси, которые включали:

1. субстраты фермента;
2. плазму крови (содержащую ферменты);
3. буфер для поддержания pH плазмы крови (7,36).

По истечении времени инкубации студент сделал соответствующие измерения и рассчитал удельную активность ферментов. Какие результаты мог получить студент? Для ответа:

- а) приведите схему реакции, которую катализируют эти ферменты, назовите их класс;

- б) напишите формулу для расчета удельной активности ферментов;
- в) проанализируйте правильность составления инкубационной смеси студентом;
- г) укажите, заниженные или завышенные результаты получил студент при расчете удельной активности.

3. Белки пищи перевариваются (гидролизуются) ферментом желудочного сока пепсином. В норме оптимум рН пепсина 1,5-2,0. Почему у больных с гипоацидным гастритом, при котором повышается рН желудочного сока, нарушается переваривание белков в желудке ? Для ответа на вопрос:

- а) укажите, какие связи расщепляет пепсин в белках пищи, и класс ферментов, к которому он относится;
- б) нарисуйте график зависимости активности пепсина от рН, объясните, какие белки будут быстрее перевариваться в желудочнокишечном тракте денатурированные или нативные.

2.6. РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Важным свойством ферментов является способность проявлять активность, соответствующую потребностям клетки и всего организма. Это возможно благодаря существованию специальных механизмов, позволяющим ферментам реагировать на изменение метаболизма в клетке и воспринимать сигналы из окружающей среды.

Повышение или понижение скорости отдельных реакций осуществляется путем изменения количества фермента (для этого требуются часы) или его активности (это происходит очень быстро) либо используются оба механизма. Существует несколько способов регуляции активности ферментов.

Фосфорилирование и дефосфорилирование - обратимая ковалентная модификация

Фосфорилирование белков осуществляют ферменты протеинкиназы, относящиеся к классу трансфераз. Они катализируют образование сложноэфирной связи между фосфатной группой и НО-группой аминокислотных остатков серина, треонина или тирозина. Донором фосфатной группы чаще всего является АТФ (рис. 2.21).

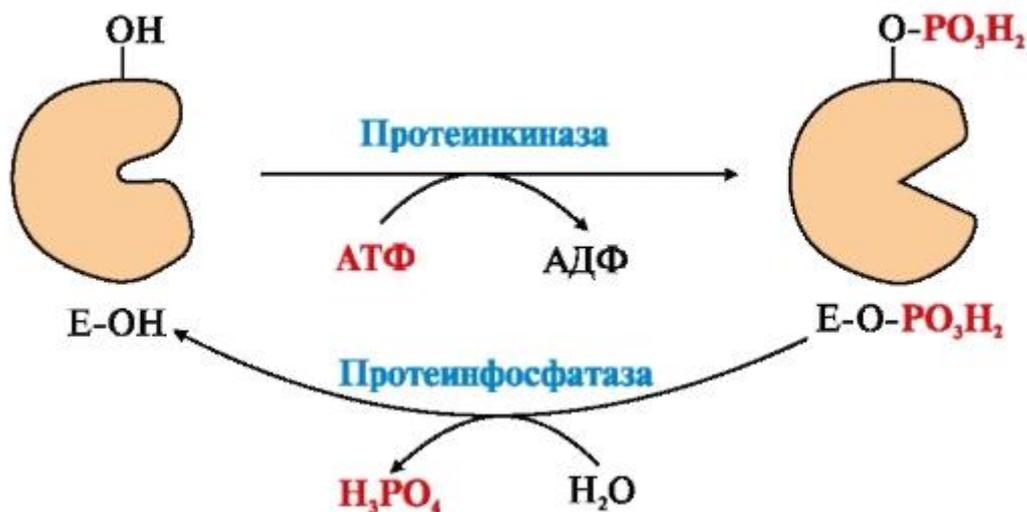


Рис. 2.21. Фосфорилирование и дефосфорилирование ферментов

Дефосфорилирование - реакцию, обратную фосфорилированию, катализируют ферменты протеинфосфатазы, относящиеся к классу гидролаз.

Активность протеинкиназ и протеинфосфатаз регулируется, как правило, гормонами

Активация ферментов фосфорилированием

Триацилглицерол-липаза (ТАГ-липаза) - внутриклеточный фермент жировой ткани. В дефосфорилированной форме фермент неактивен.

Под действием специфической протеинкиназы А (ПКА) фермент фосфорилируется и переходит в активную форму (рис. 2.22).



Рис. 2.22. Фосфорилирование и активация ТАГ-липазы

В результате фосфорилирования происходят изменение заряда, конформации фермента; конформации активного центра фермента. Повышается сродство фермента к субстрату и возрастает скорость ферментативной реакции.

Активация ферментов дефосфорилированием

Для некоторых ферментов, обеспечивающих метаболизм глюкозы, холестерина, гликогена, фосфорилированная форма является неактивной. Например, фермент пируваткиназа, участвующий в катаболизме глюкозы,

переходит в активную форму только после отщепления фосфорного остатка. Поэтому в данном случае фосфорилирование вызывает снижение активности, а дефосфорилирование - повышение активности фермента (рис. 2.23).

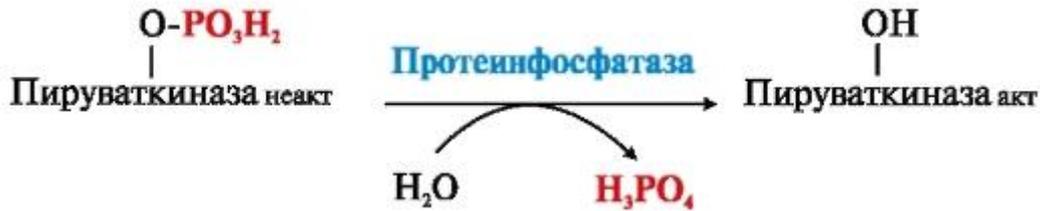


Рис. 2.23. Активация фермента с помощью дефосфорилирования

Частичный протеолиз

Целый ряд ферментов вырабатывается клетками организма в каталитически неактивной форме в виде проферментов, или зимогенов. Активация профермента происходит путем отщепления от него пептида - частичного протеолиза (рис. 2.24).

В результате частичного протеолиза (отщепления пептида) изменяются первичная структура, молекулярная масса, конформация фермента и его активного центра, повышаются сродство к субстрату (S) и скорость ферментативной реакции.

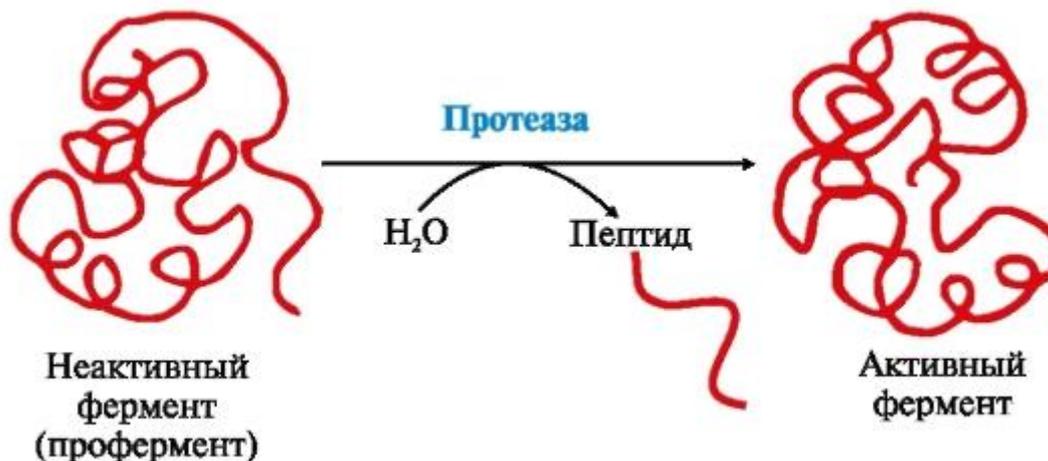
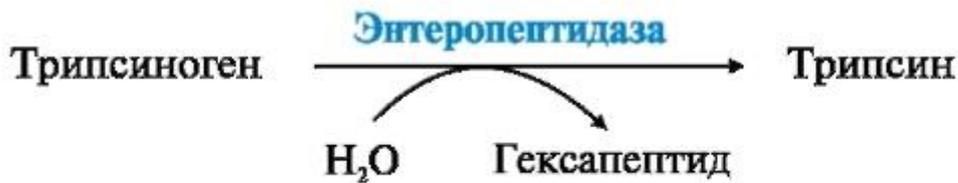


Рис. 2.24. Регуляция активности фермента посредством частичного протеолиза

Например, трипсин в поджелудочной железе синтезируется в форме неактивного предшественника трипсиногена. В кишечнике происходит отщепление с N-конца молекулы трипсиногена гексапептида под действием энтеропептидазы. Фермент из неактивной формы переходит в активную.



Синтез пептидаз в неактивной форме предотвращает их разрушающее действие на клетки органов, в которых они образуются. Данный процесс регуляции активности носит необратимый характер.

Регуляция активности ферментов путем ассоциации-диссоциации протомеров

В тканях присутствуют ферменты, которые в неактивной форме представлены отдельными комплексами, состоящими из нескольких протомеров. При увеличении в клетке концентрации специфических регуляторных молекул они присоединяются к определенным центрам протомеров. Изменение их конформации, вызванное присоединением лигандов, повышает их сродство друг к другу и стимулирует ассоциацию, т.е. образование активной формы фермента (рис. 2.25.).



Рис. 2.25. Регуляция путем ассоциации-диссоциации протомеров ацетил-КоА карбоксилазы

Веществом, которое изменяет конформацию комплексов, является цитрат. При повышении его концентрации в цитозоле клетки 3 тетрамера объединяются в олигомер из 12 протомеров - активную форму ацетил-КоА карбоксилазы. Регуляция обратимая.

Другим примером этого типа регуляции может служить активация протеинкиназы А. В неактивной форме фермент состоит из 4 протомеров - 2 каталитических (C_2) и 2 регуляторных (R_2). R-протомеры имеют по 2 центра связывания для молекул регуляторного лиганда - циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Молекулы цАМФ при

повышении их концентрации в клетке присоединяются к специфическим центрам R-протомеров. Это приводит к изменению их конформации и потере сродства к C-протомерам.

Отделившиеся каталитические протомеры (протеинкиназа А) проявляют протеинкиназную активность и фосфорилируют белки по аминокислотным остаткам Сер и Тре (рис. 2.26). В отсутствие цАМФ R₂-протомеры взаимодействуют с C₂-протомерами, образуя неактивный комплекс R₂C₂.

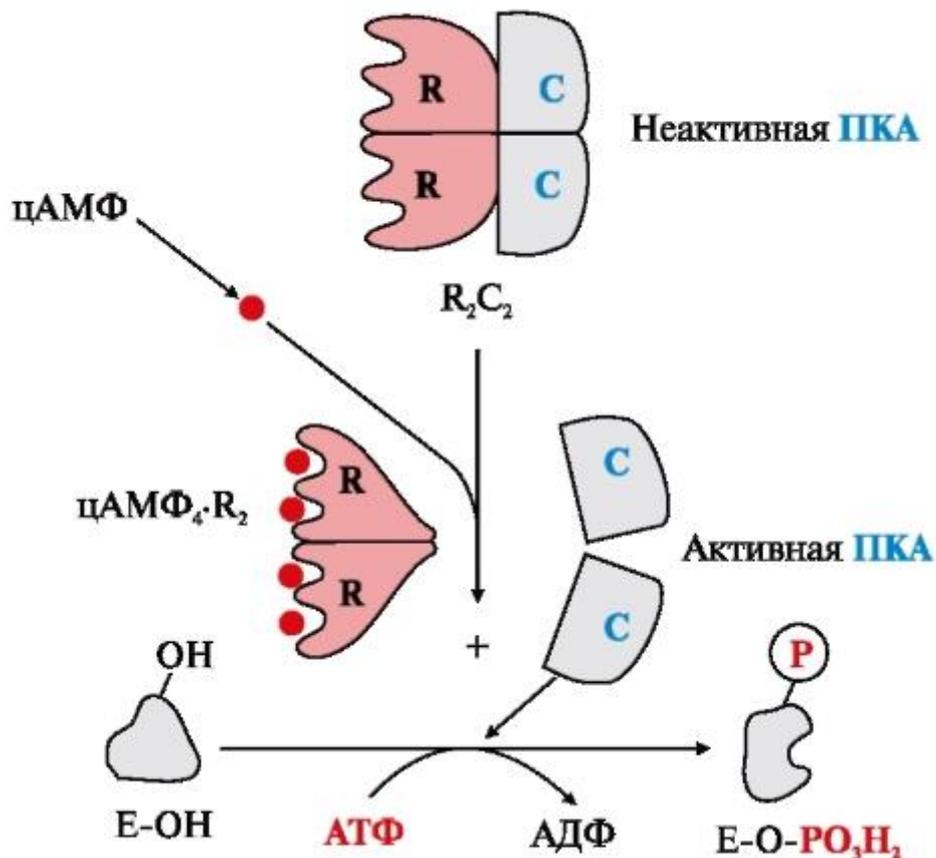


Рис. 2.26. Регуляция активности протеинкиназы А

При повышении уровня цАМФ в клетке возрастает скорость связывания цАМФ с регуляторными центрами R-протомеров; изменяется конформация R-протомеров и снижается их сродство к каталитическим субъединицам C; происходит диссоциация комплекса R₂C₂ на (цАМФ)₄ «R₂ и активные каталитические субъединицы C + C; повышается скорость фосфорилирования белков и ферментов под действием каталитических субъединиц протеинкиназы А.

Синтез молекул цАМФ из АТФ катализирует фермент аденилатциклаза, а превращение цАМФ в АМФ - фермент фосфодиэстераза. Активность этих ферментов регулируется гормонами.

Рис. 2.27. Функционирование аллостерического фермента

Если в аллостерическом центре связывается эффектор (активатор), повышается связывание субстрата в активном центре и возрастает скорость реакции, которую катализирует этот фермент.

При увеличении в клетке концентрации активатора возрастает скорость его связывания в аллостерическом центре; изменяется конформация регуляторной субъединицы фермента; происходят кооперативные конформационные изменения в ферменте; изменяется конформация активного центра фермента; повышается сродство фермента к субстрату и скорость ферментативной реакции. Данный тип регуляции носит обратимый характер, следовательно, при понижении концентрации аллостерического активатора снижается скорость связывания регуляторного лиганда в аллостерическом центре; изменяется конформация регуляторной субъединицы; происходят кооперативные конформационные изменения в ферменте; изменяется конформация активного центра; снижается сродство к субстрату и понижается скорость реакции.

Если же эффектором является ингибитор, то сродство фермента к субстрату и скорость превращения его в продукт снижаются.

Аллостерические ферменты, как правило, регулируют скорость метаболических путей, которые представляют собой последовательность взаимосвязанных реакций, катализируемых разными ферментами (рис. 2.28).

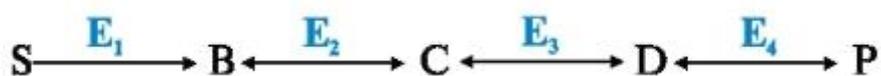


Рис. 2.28. Метаболический путь превращения вещества S в продукт P

Вещество S превращается в продукт P в результате 4 последовательных ферментативных реакций. Продукт одной реакции служит субстратом следующей. Первая реакция данного метаболического пути является необратимой

Аллостерические ферменты катализируют, как правило:

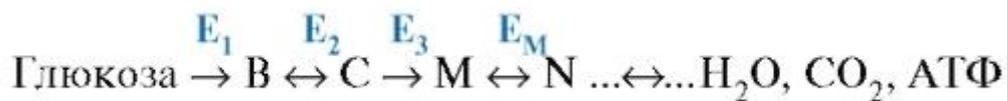
- необратимые (-) или частично обратимые (\rightleftharpoons) реакции;
- самые медленные, ключевые реакции;

- реакции в местах разветвления метаболического пути.

Регуляторными молекулами (эфффекторами) этих ферментов могут быть:

- конечные продукты метаболических путей;
- субстраты метаболических путей;
- промежуточные метаболиты или специфические молекулы.

Например, катаболизм глюкозы до CO_2 и H_2O (аэробное окисление глюкозы) регулируется аллостерически:



Значение данного процесса состоит в синтезе АТФ в клетке за счет катаболизма глюкозы. При увеличении отношения АТФ/АДФ скорость реакций данного метаболического пути снижается.

Из представленной выше последовательности ферментативных реакций аллостерическим является E_3 , так как он катализирует необратимую и самую медленную реакцию данного метаболического пути.

При повышении уровня АТФ в клетке:

- АТФ взаимодействует с аллостерическим центром фермента E_3 ;
- происходят кооперативные конформационные изменения фермента E_3 ;
- снижается сродство E_3 к субстрату (С);
- понижается активность и замедляется реакция, катализируемая ферментом E_3 ;
- понижается скорость метаболического процесса.

Поскольку аллостерическая регуляция носит обратимый характер, при понижении отношения АТФ/АДФ повышается активность фермента E_3 и как следствие скорость данного метаболического пути.

2.7. ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ

Ингибиторы (от лат. ингеберс - сдерживать, останавливать) - это природные или синтетические вещества, полностью подавляющие или снижающие активность ферментов. Выяснение строения активных центров ферментов, механизмов их действия, расшифровка многих биохимических процессов, а также понимание фармакологического действия лекарственных веществ стали возможными благодаря исследованию ингибиторов ферментов. Эти вещества могут иметь разную химическую природу.

Они взаимодействуют с ферментом в области активного центра или в другом месте, изменяют конформацию фермента, активного центра и снижают его активность. В зависимости от прочности взаимодействия ингибитора с ферментом различают обратимые и необратимые ингибиторы (рис. 2.29).



Рис. 2.29. Типы ингибиторов

Обратимые ингибиторы связываются с ферментом посредством образования слабых нековалентных связей. Фермент восстанавливает свою нативную конформацию и активность после диссоциации ингибитора. Обратимые ингибиторы бывают двух типов: конкурентные и неконкурентные.

Обратимые конкурентные ингибиторы являются структурными аналогами субстратов. Они связываются в активном центре фермента, но не могут превращаться в продукт. Обратимые конкурентные ингибиторы (I) конкурируют с субстратом (S) за активный центр фермента (E)

(рис. 2.30).

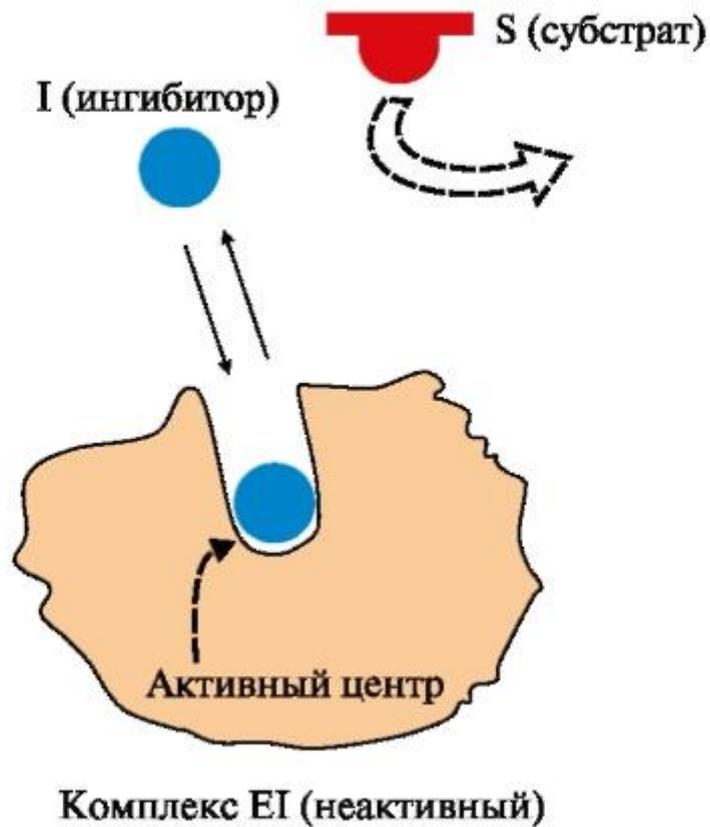


Рис. 2.30. Действие конкурентного обратимого ингибитора

При повышении концентрации субстрата он вытесняет ингибитор из активного центра фермента. Например, малоновая кислота (малонат), очень близкая по структуре к янтарной кислоте (сукцинату), конкурирует с последней за активный центр фермента сукцинатдегидрогеназы, катализирующего превращение сукцината

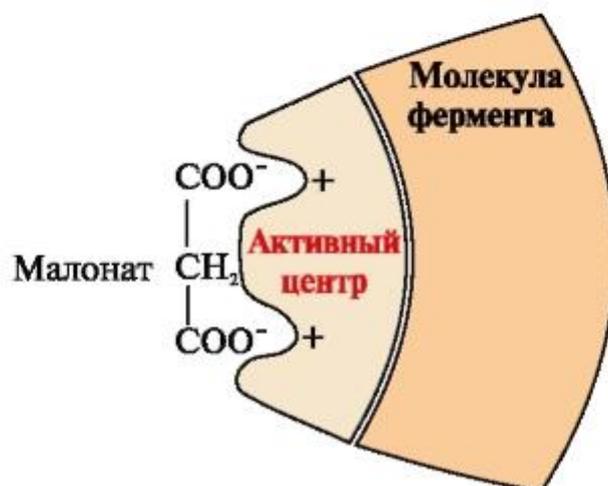
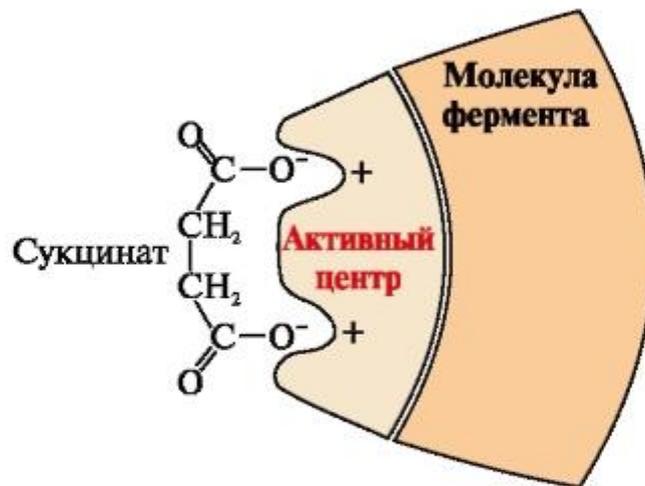


Рис. 2.31. Конкурентное ингибирование сукцинатдегидрогеназы малонатом

А - превращение сукцината в фумарат под действием сукцинатдегидрогеназы;

Б - связывание сукцината и малоната в активном центре фермента

в фумарат (рис. 2.31А). Субстрат и ингибитор (малонат) взаимодействуют с одними и теми же положительно заряженными группами каталитического центра фермента, так как обе кислоты при физиологических значениях рН имеют две отрицательно заряженные карбоксильные группы (рис. 2.31Б).

Малоновая кислота может быть вытеснена из активного центра фермента большими концентрациями сукцината.

Неконкурентные ингибиторы присоединяются к ферменту не в активном центре, а в другом месте, вызывая изменение конформации фермента и его активного центра. Следовательно, обратимое неконкурентное ингибирование фермента не может быть устранено повышением концентрации субстрата. Неконкурентный ингибитор может

связываться обратимо как со свободным ферментом (E), так и с фермент-субстратным комплексом (ES). При снижении концентрации ингибитора он диссоциирует из комплексов EI, ESI, и происходит постепенное восстановление ферментативной активности. (рис. 2.32):

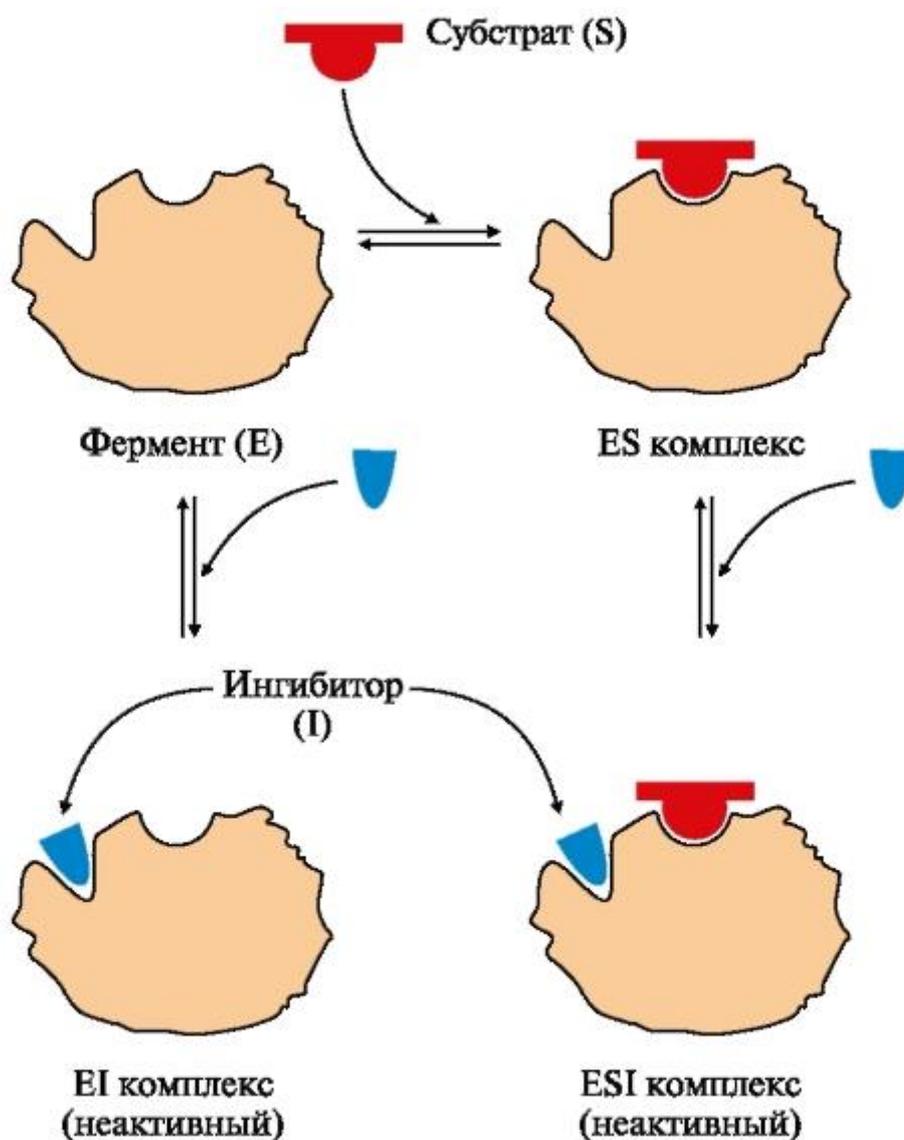


Рис. 2.32. Действие обратимого неконкурентного ингибитора

Необратимые специфические ингибиторы ковалентно связываются или разрушают функциональнозначимую группу молекулы активного центра фермента, необходимую для проявления его каталитической активности.

Примером такого ингибирования может быть действие производных фторфосфатов. Диизопропилфторфосфат (ДФФ) образует прочную ковалентную связь с ОН-группой серина в активном центре фермента ацетилхолинэстеразы (рис. 2.33). Она является сериновой гидролазой и катализирует расщепление ацетилхолина до ацетата и холина. При связывании с ингибитором ацетилхолинэстераза не гидролизует ацетилхолин, блокируется процесс деполяризации мембраны и проведение нервного импульса.

К группе фторфосфатов относятся нервнопаралитические яды и инсектициды. При поступлении больших количеств этих веществ в

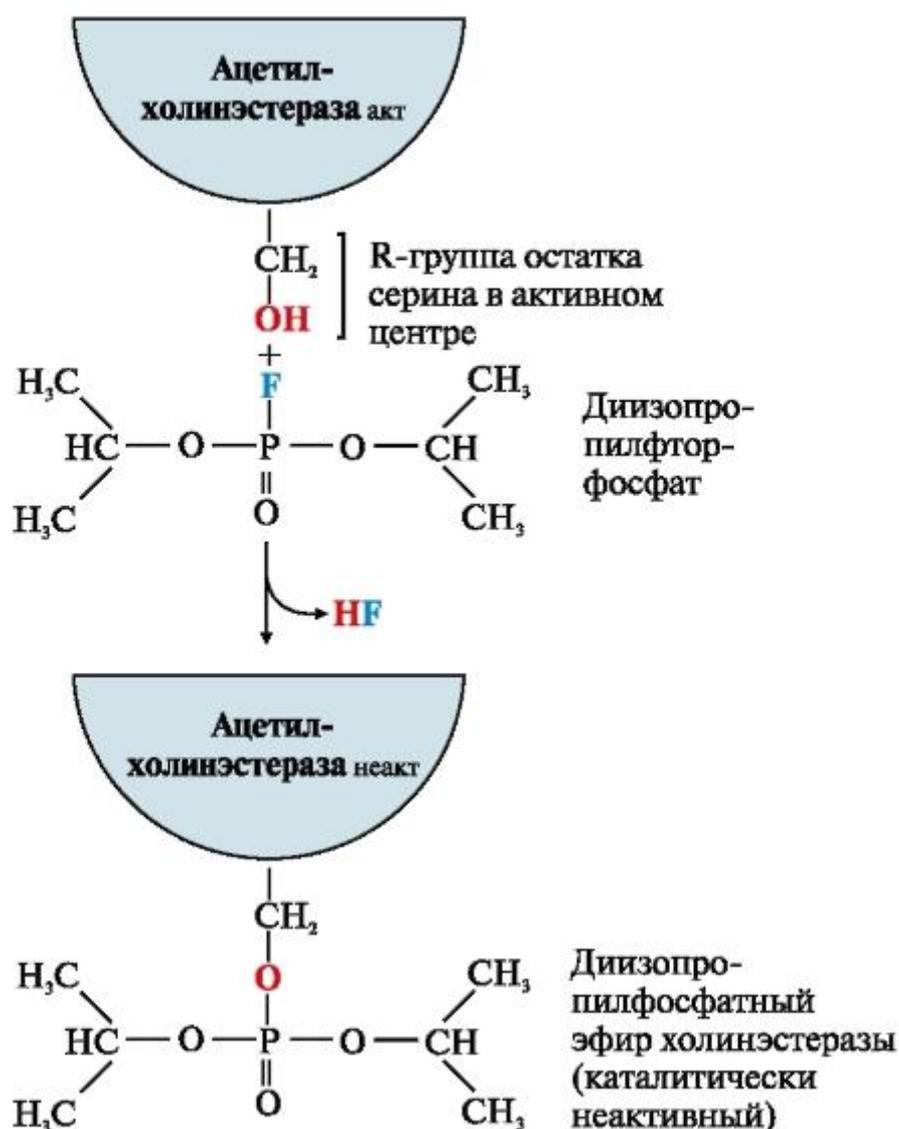


Рис. 2.33. Необратимое ингибирование ацетилхолинэстеразы диизопропилфторфосфатом

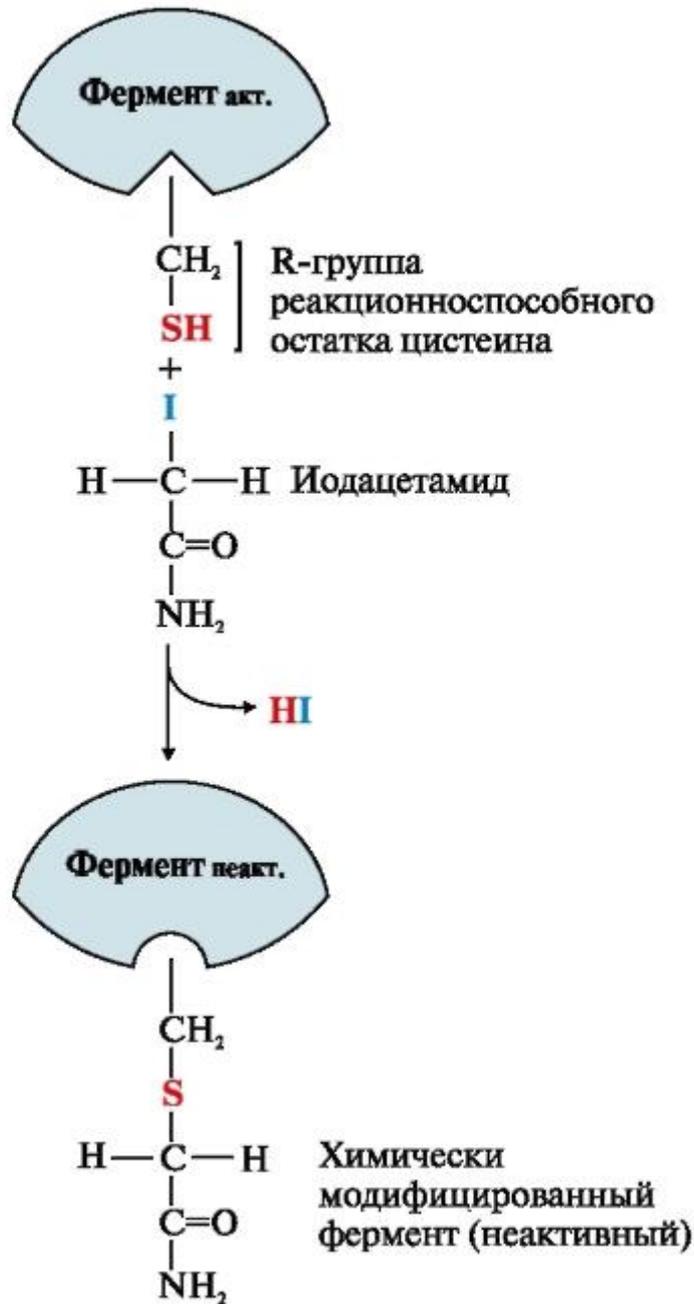


Рис. 2.34. Необратимое ингибирование иодацетамидом

организм может наступить паралич. Кроме того, Дфф может необратимо ингибировать сериновые протеазы - пищеварительные ферменты трипсин, химотрипсин, эластазу, а также присутствующие в слюне катепсины В, Н и L.

Другой необратимый специфический ингибитор - йодацетамид - может взаимодействовать с SH-группами остатка цистеина, находящегося в

активном центре некоторых ферментов, многие из них являются цистеиновыми протеазами, например один из ферментов смешанной слюны катепсин А (рис. 2.34).

Необратимыми неспецифическими ингибиторами являются сероводород (H_2S), соли свинца, серебра, ртути. Эти вещества связываются с белковой молекулой фермента вне активного центра и образуют плохо растворимые комплексы. При этом необратимо изменяются конформация всей молекулы фермента и как следствие конформация активного центра.

Использование ингибиторов ферментов в качестве лекарственных средств

В основе действия многих лекарственных препаратов лежит механизм обратимого конкурентного ингибирования ферментов. При воспалении поджелудочной железы - панкреатите -

происходит преждевременная активация протеолитических ферментов, в частности трипсина. Активный трипсин вызывает протеолиз белков ткани поджелудочной железы и пронизывающих ее сосудов (самопереваривание). Одна из мер защиты поджелудочной железы от протеолитического действия синтезируемых ею ферментов - присутствие в секрете железы небольшого белка - панкреатического ингибитора трипсина (рис. 2.35).

При лечении панкреатита используют структурные аналоги этого ингибитора, например апротинин, входящий в состав лекарственных препаратов трасилола и гордокса, и являющийся конкурентным ингибитором трипсина.

При миастении (мышечная слабость) используется препарат прозерин, представляющий собой структурный аналог ацетилхолина. Миастения является аутоиммунным заболеванием, при котором у больных снижается количество рецепторов ацетилхолина на постсинаптической мембране и нарушается проведение нервного импульса. Прозерин вызывает временное

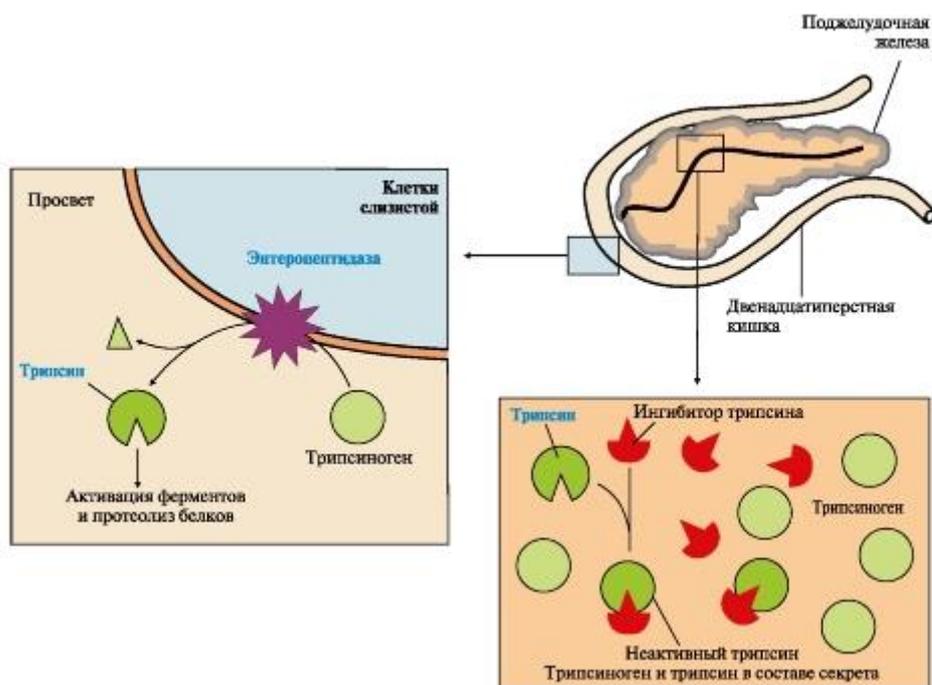


Рис. 2.35. Природные ингибиторы трипсина

(обратимое) ингибирование ацетилхолинэстеразы (рис. 2.36). Введение прозерина больным миастенией снижает скорость гидролиза ацетилхолина, повышает его концентрацию в синаптической щели, улучшает проведение нервного импульса и состояние больных. Концентрация ацетилхолина постепенно возрастает, и он, как истинный субстрат, вытесняет конкурентный ингибитор (прозерин) из активного центра фермента.

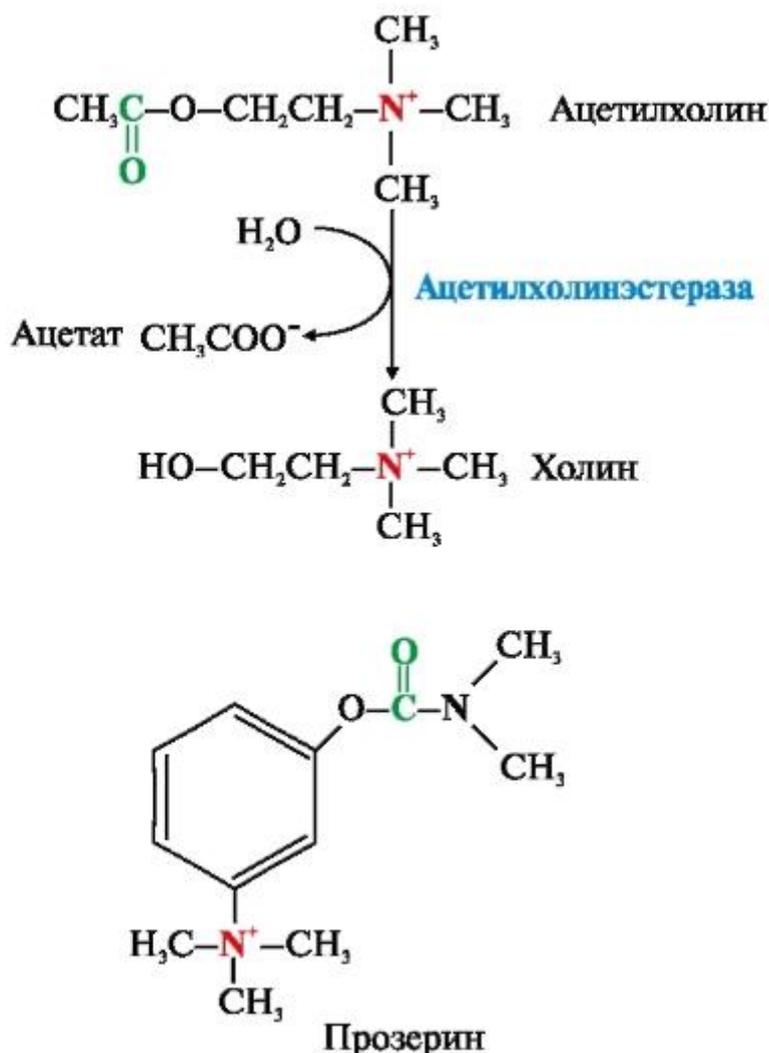


Рис. 2.36. Структура ацетилхолина - субстрата ацетилхолинэстеразы и ее конкурентного ингибитора прозерина

2.8. ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ В МЕДИЦИНЕ

В последнее время ферменты все чаще используются в медицинской практике в целях диагностики как аналитические реактивы и лекарственные средства.

Энзимодиагностика

Важная особенность ферментов, используемых в диагностике, состоит в том, что можно определить активность каждого из них в природном биоматериале без предварительного фракционирования: в крови, моче, спинномозговой жидкости, слюне, желудочном и кишечном соке и др.

К ферментам, используемым в энзимодиагностике, предъявляют следующие требования:

- органоспецифичность (тканеспецифичность) фермента;

- выход фермента в кровь при повреждении органа или ткани;
- низкая активность фермента в крови в норме. При этом условно различают:
- Неспецифические ферменты, которые присутствуют во всех тканях в разных количествах;
- тканеспецифические ферменты, присутствующие только в данной конкретной ткани.

Неспецифические ферменты могут быть представлены в тканях различными изоформами. По изоформе фермента можно судить, за счет поражения какого органа увеличилась активность данного фермента в крови. Например, существует 5 изоформ лактатдегидрогеназы ЛДГ, катализирующей превращение пирувата в лактат (рис. 2.37).

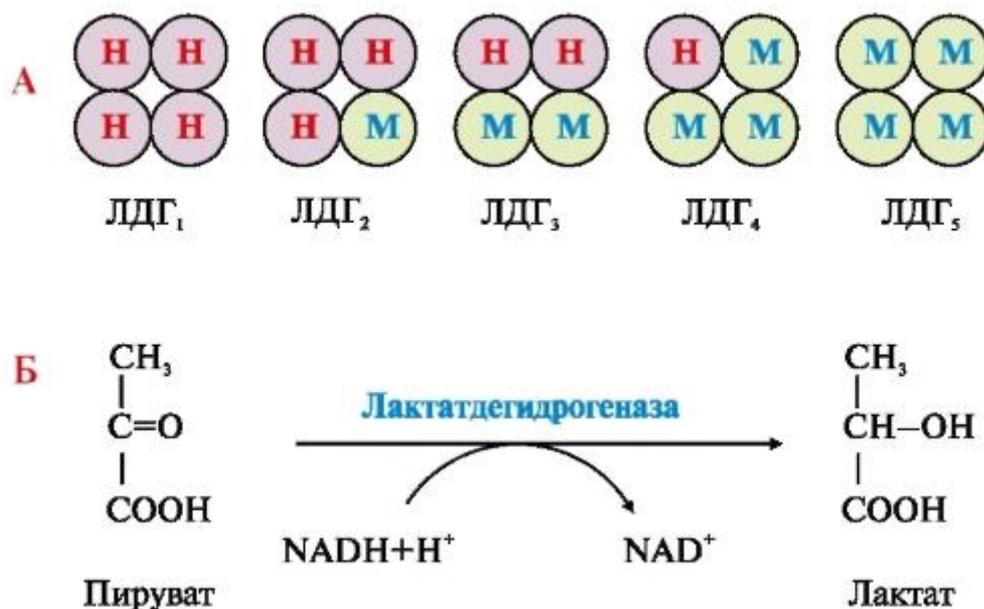


Рис. 2.37. Строение и функционирование лактатдегидрогеназы

А - изоформы лактатдегидрогеназы;

Б - превращение пирувата в лактат под действием ЛДГ

Фермент состоит из 4 субъединиц двух разных типов - Н (сердечного) и М (мышечного), которые кодируются различными генами.

Активная ЛДГ представляет собой одну из комбинаций:

Н₄ (изоформа ЛДГ₁);

Н₃М (изоформа ЛДГ₂);

Н₂М₂ (изоформа ЛДГ₃);

НМ₃ (изоформа ЛДГ₄);

М₄ (изоформа ЛДГ₅).

Изоформы ЛДГ различаются по молекулярной массе, заряду, электрофоретической подвижности, органоспецифичности. При поражении печени

в крови повышается активность ЛДГ₅, а при инфаркте миокарда - ЛДГ₁.

При карциноме простаты, патологии костной ткани, метастатических карциномах определяют активность кислой фосфатазы, щелочной фосфатазы, холинэстеразы и некоторых других органоспецифических ферментов в сыворотке крови.

Весьма существенным в энзимодиагностике является знание особенностей внутриклеточной локализации ферментов. Внутри клетки они, как правило, локализованы в определенном ее отделе (компарменте). Различают цитоплазматические, митохондриальные, ядерные, лизосомные ферменты. Например, при воспалительных процессах повышается проницаемость клеточных мембран и в крови обнаруживаются цитоплазматические ферменты. При некрозе (омертвлении) ткани, который сопровождается разрушением всех клеточных структур, в крови определяют митохондриальные ферменты.

Энзимотерапия

Одним из важных направлений медицинской энзимологии является энзимотерапия - использование ферментов в качестве лечебных средств. Сейчас ферментативные препараты применяются в хирургии, терапии, акушерстве и гинекологии, урологии, стоматологии, отоларингологии и многих других областях медицины.

Для лечения очень широко используются протеазы. Известно, что трипсин и химотрипсин практически не атакуют живые клетки, а легко расщепляют белки мертвых клеток. На этом основано их применение для очистки гнойных и некротических ран, лечения сильных ожогов, отморожений, пролежней, гангренозных поражений на почве диабета и атеросклероза, гнойных заболеваний мочевого пузыря и др. Наряду с наружным применением оба фермента стали использовать, вводя их в плевру (в бронхи) аэрозольным способом при лечении эмфизем легких, гематом грудной полости.

Дезоксирибонуклеазу, гидролизующую ДНК вирусов и бактерий, используют для ингаляций в виде аэрозолей при гнойном бронхите, бронхиальной астме, абсцессах легких.

Ферменты крови плазмин, урокиназу применяют для предотвращения тромбообразования, так как они быстро разрушают тромб.

Заместительную энзимотерапию проводят при отсутствии ферментов в организме (наследственном или приобретенном). Например, применение пепсина, трипсина, химотрипсина, амилаз при лечении различных заболеваний желудочнокишечного тракта, сопровождающихся снижением их синтеза.

Гиалуронидаза гидролизует компонент межклеточного матрикса - гиалуроновую кислоту, повышая проницаемость ткани и сосудистых стенок. Она широко применяется вместе с препаратами для местной анестезии, ускоряя действие и снижая расход анестезирующего вещества.

Ферменты используют и в онкологии, например, для замедления развития лейкозов. Известно, что в лейкозных клетках отсутствует фермент, катализирующий синтез аспарагина. Они получают эту аминокислоту из крови. Внутривенное введение фермента аспарагиназы, катализирующего гидролиз аспарагина (рис. 2.38), снижает его концентрацию в крови. При этом в лейкозных клетках на фоне дефицита аспарагина замедляется синтез белков, приводящий к нарушению метаболизма этих клеток.

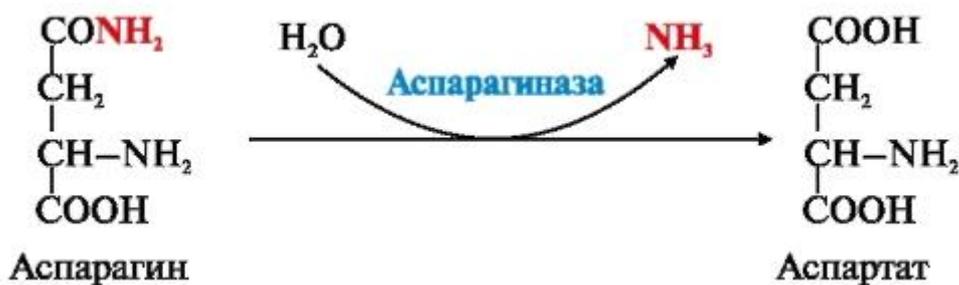


Рис. 2.38. Реакция гидролиза аспарагина аспарагиназой

Развитие нанотехнологий, разработка методов нанокапсулирования ферментов и их направленной доставки к органам-мишеням (включая опухоли) существенно повысят эффективность энзимотерапии различных заболеваний.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Установите соответствие.

А. Стимулирует секрецию фермента в кровь. Б. Сопровождается изменением количества

протомеров в белке.

В. Изменяет первичную структуру белка. Г. Снижает заряд и изменяет конформа-

цию фермента. Д. Уменьшает количество фермента в клетке.

1. Частичный протеолиз.

2. Ассоциация - диссоциация.

3. Дефосфорилирование.

2. Установите порядок событий.

В результате частичного протеолиза профермента:

А. Повышается его сродство к субстрату (S). Б. Изменяется конформация.

В. Повышается его активность.

Г. Изменяется первичная структура. Д. Изменяется конформация активного центра.

3. Установите порядок событий.

При аллостерической регуляции повышение концентрации в клетке конечного продукта метаболического пути приводит к:

А. Кооперативным конформационным изменениям в ферменте.

Б. Повышению скорости связывания продукта в регуляторном центре аллостерического фермента.

В. Снижению сродства фермента к субстрату.

Г. Изменению конформации активного

центра фермента. Д. Снижению скорости ферментативной реакции.

Е. Изменению конформации регуляторной субъединицы фермента.

4. Установите соответствие

А. Участвует в реакциях фосфорилирования.

Б. Катализирует фосфорилирование протеинкиназы А

В. Регулирует активность протеинкиназы А. Г. Превращается в цАМФ под действием

фосфодиэстеразы. Д. Образуется из цАМФ. Нуклеотиды:

1. цАМФ

2. АТФ.

3. АМФ.

5. Установите соответствие. Механизм действия:

А. Вызывает фосфорилирование сериновых гидролаз

Б. При повышении концентрации субстрата вытесняется из активного центра.

В. При повышении концентрации взаимодействует с комплексом ES.

Г. Вызывает частичный протеолиз фермента.

Д. Ковалентно связывается с функциональной группой в активном центре фермента. Тип ингибитора:

1. Обратимый конкурентный.

2. Обратимый неконкурентный.

3. Необратимый специфический.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. На рисунке представлена схема метаболизма цАМФ:



Опишите метаболизм цАМФ и его функцию в клетках. Для этого:

а) укажите ферменты E₁ и E₂, участвующие в этом процессе, и их класс;

б) назовите фермент, активность которого регулирует цАМФ;

- в) нарисуйте строение этого фермента, опишите его структурно-функциональные особенности;
- г) укажите, как изменяются уровни структурной организации фермента при его активации цАМФ;
- д) объясните, ингибиторы какого фермента надо использовать, чтобы в клетке в течение длительного времени сохранялась повышенная концентрация цАМФ.

2. Отравление инсектицидами, которые являются производными ДФФ, опасно для организма, так как они могут вызвать паралич дыхательных мышц и смерть. В этих случаях в качестве антидота применяют пралидоксим. Это вещество присоединяется к ингибитору (ДФФ), который ковалентно связан в активном центре ацетилхолинэстеразы. Вследствие этого связь между ферментом и соединением ДФФ-антидот ослабевает и затем разрывается (рис. 2.39). Активный центр ацетилхолинэстеразы освобождается от ингибитора. Почему применение этого антидота (препарата) улучшает состояние больных? Для ответа на вопрос:

- а) напишите реакцию, которую катализирует ацетилхолинэстераза и объясните ее роль в проведении нервного импульса;



Рис. 2.39. Механизм действия пралидоксима

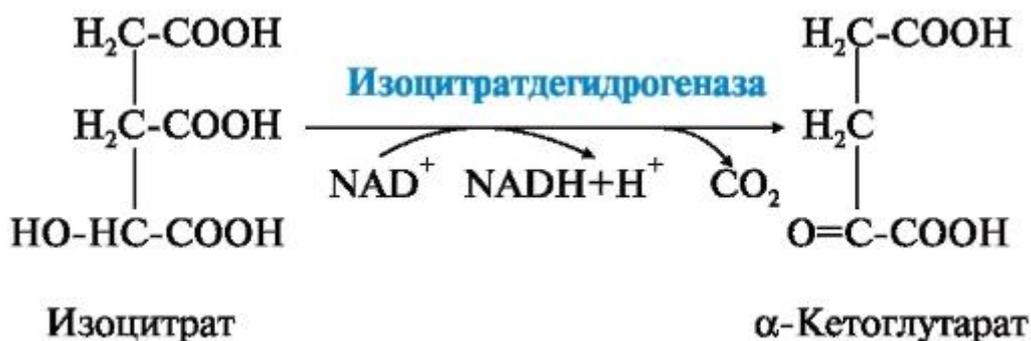
- б) представьте схему реакции ингибирования ацетилхолинэстеразы производными ДФФ, укажите тип ингибирования;
- в) объясните последствия, к которым приводит снижение активности ацетилхолинэстеразы и задержка с введением антидота.

3. Варфарин является структурным аналогом витамина К и применяется в клинике как антикоагулянт для профилактики тромбозов. Жирорастворимый

витамин К участвует в реакции карбоксилирования глутамата. Остатки карбоксиглутаминовой кислоты γ -Глу, которые содержатся в ферментах свертывающей системы крови, играют важную роль в образовании тромба (см. раздел 15). Какие осложнения могут возникнуть в связи с удалением зуба или хирургическим вмешательством в ротовой полости у больных, принимающих варфарин? Для ответа на вопрос:

- напишите схему реакции, скорость которой снижает варфарин (см. раздел 11);
- объясните механизм действия этого препарата; представьте соответствующую схему;
- поясните, какое влияние оказывает это лекарство на свертываемость крови.

4. Студент изучал влияние различных концентраций АТФ и АДФ на скорость реакции, которую катализирует фермент изоцитратдегидрогеназа:

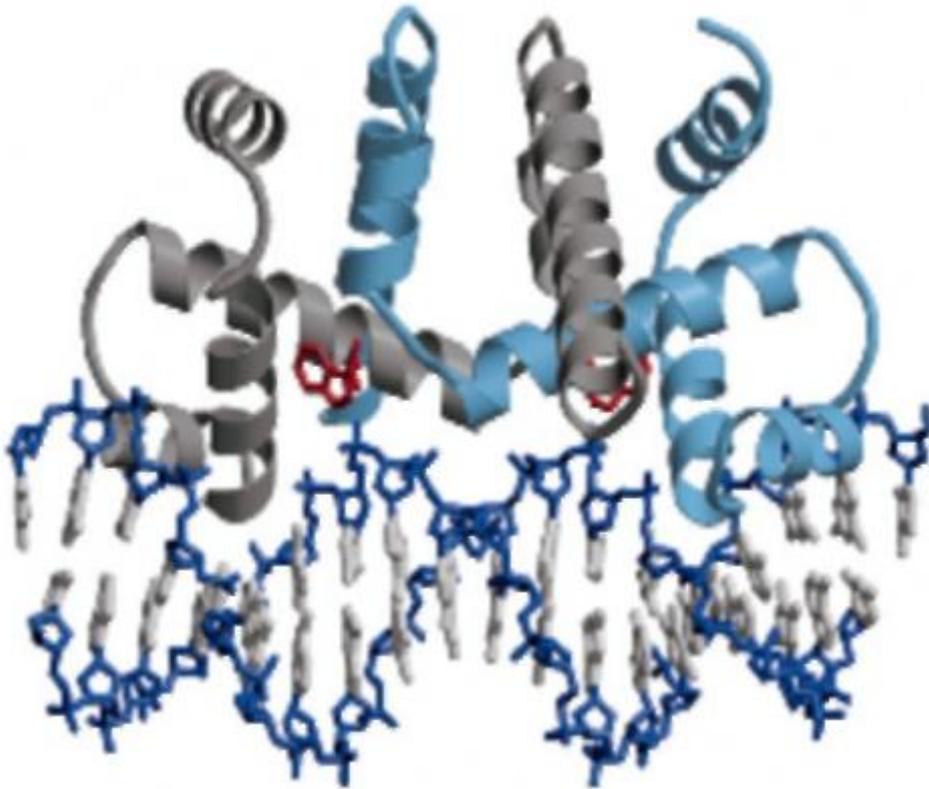


Это самая медленная реакция метаболического пути - цикла трикарбоновых кислот (ЦТК), имеющего энергетическое значение (синтез АТФ)

и протекающего во всех клетках организма. Преподаватель попросил студента объяснить, почему повышение концентрации АТФ снижает скорость данной реакции, а увеличение концентраций АДФ приводит к активации фермента? Для ответа он предложил студенту:

- представить схему строения изоцитратдегидрогеназы и описать механизм влияния на активность фермента АТФ и АДФ;
- указать особенности такого способа регуляции метаболических путей.

РАЗДЕЛ 3. БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И БЕЛКОВ. ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ



Основные темы раздела:

3.1. Строение нуклеиновых кислот.

3.2. Биосинтез ДНК (репликация).

3.3. Репарация ошибок и повреждений.

3.4. Биосинтез РНК (транскрипция). Посттранскрипционные модификации РНК.

3.5. Биосинтез белка (трансляция).

3.6. Ингибиторы матричных биосинтезов.

3.7. Регуляция биосинтеза белков у эукариот.

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

3.9. Использование ДНК-технологий в медицине.

Нуклеиновые кислоты и белки представляют собой информационные молекулы. ДНК - это хранитель генетической информации. У эукариот она локализована главным образом в ядре и немного в митохондриях. В геноме - совокупности всех молекул ДНК клетки - зашифровано строение всех белков и молекул РНК данного организма. В процессе синтеза ДНК (репликации) происходит образование новых молекул ДНК на матрице ДНК родительской клетки. При делении дочерние клетки получают полный набор генов, идентичный набору генов материнской клетки. Репарация исправляет изменения в генетическом материале, происходящие в ходе рекомбинаций (обмена генетическим материалом между хромосомами) и нарушений в структуре ДНК. Хотя механизмы репарации устраняют большинство повреждений в ДНК,

но некоторые из них сохраняются и могут стать причиной мутаций, которые приводят к наследственным или онкологическим заболеваниям.

Согласно центральной догме биологии, поток информации поступает от ДНК через РНК на белок. Реализация этой информации в клетках включает два процесса: транскрипцию (синтез РНК) и трансляцию (синтез белков). В ходе транскрипции в ядре на матрице ДНК синтезируются матричные, транспортные и рибосомные РНК. Из ядра эти молекулы поступают в цитоплазму и участвуют в синтезе белков. Таким образом в процессе трансляции информация о структуре белка, зашифрованная в ДНК и переписанная на мРНК, реализуется в аминокислотную последовательность белков. 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 в свою очередь 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).

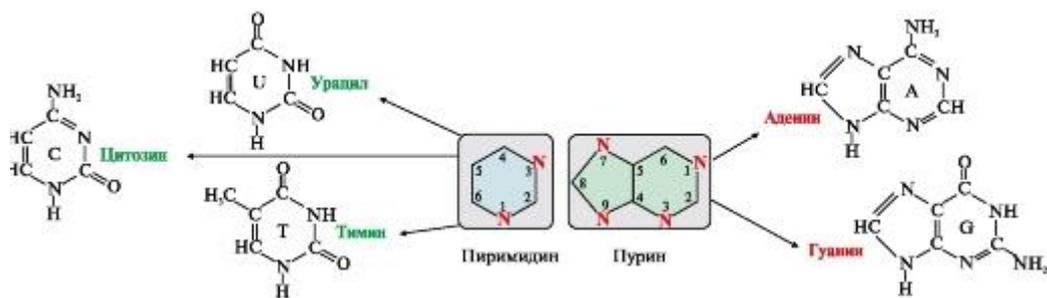


Рис. 3.1. Азотистые основания, входящие в состав нуклеиновых кислот

Пурины: аденин и гуанин входят в состав ДНК и РНК, пиримидины: цитозин и тимин - в состав ДНК, цитозин и урацил - в состав РНК.

В нуклеиновые кислоты входят два вида пентоз: β -D-рибоза в РНК и β -D-2-дезоксирибоза в молекулу ДНК (рис. 3.2)

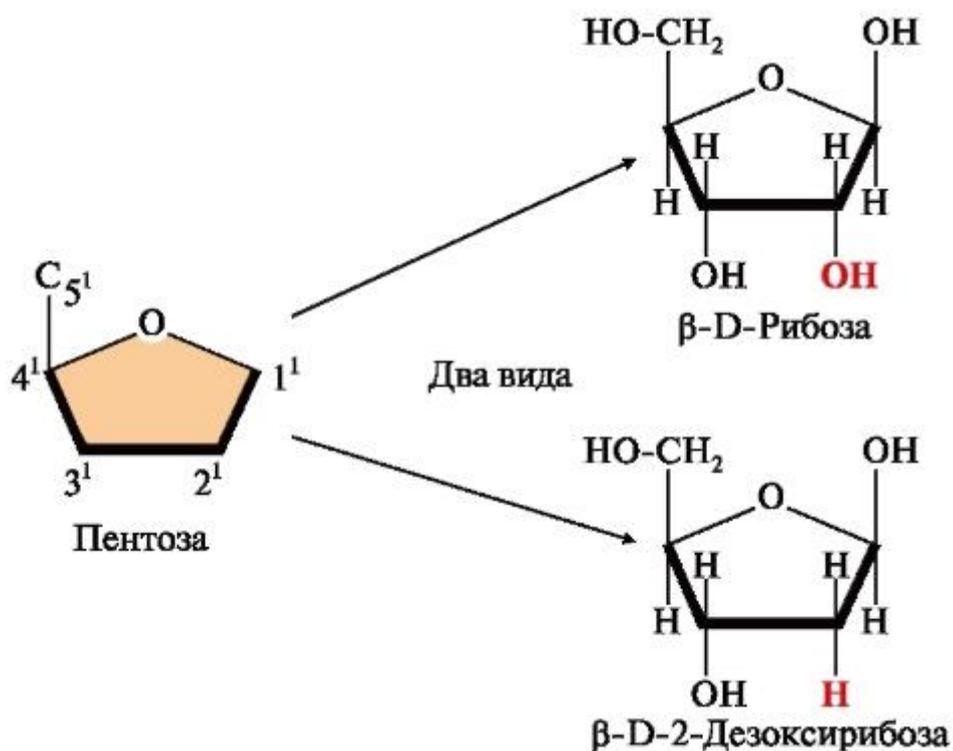


Рис. 3.2. Пентозы, входящие в состав нуклеиновых кислот

β -D-рибоза входит в состав нуклеотидов РНК, β -D-2-дезоксирибоза - в состав нуклеотидов ДНК

Углеродный атом в положении 1 пентозы связывается N-гликозидной связью с атомом азота в положении 1 пиримидина или в положении 9 пурина.

Образующиеся соединения называют нуклеозидами. Атомы пентоз, в отличие от атомов

азотистых оснований, обозначают номерами со штрихом (1', 2', 3', 4', 5'). Присоединение фосфата в положении 5' пентоз приводит к образованию нуклеотидов (табл. 3.1).

Первичная структура нуклеиновых кислот - это порядок чередования нуклеотидов, связанных друг с другом в линейной последовательности 3',5'-фосфодиэфирной связью. В результате образуются полимеры с фосфатным остатком на 5'-конце и свободной -ОН-группой пентозы на 3'-конце (рис. 3.3).

В состав ДНК и РНК входит 4 основных нуклеотида: 2 пуриновых и 2 пиримидиновых (см. табл. 3.1). Однако если азотистые основания в пуриновых нуклеотидах - аденин и гуанин - у них одинаковы, то в пиримидиновых совпадает только цитозин, а второе основание различно: в ДНК - тимин, а в РНК - урацил. Для краткого изображения последовательности нуклеотидов в нуклеиновых кислотах пользуются однобуквенным кодом. При этом запись осуществляют слева направо таким образом, что первый нуклеотид имеет свободный 5'-фосфатный конец, а последний -ОН группу в положении 3' рибозы или дезоксирибозы. Так, первичная структура ДНК может быть записана следующим образом: CGTAAGTTTCG...

Если в изображаемом фрагменте ДНК нет Т, то перед началом записи ставится приставка д- (дезокси). Иногда полинуклеотидная цепь имеет

Таблица 3.1

Номенклатура основных азотистых оснований, нуклеозидов и нуклеотидов

Азотистое основание	Нуклеозид (азотистое основание + пентоза)	Нуклеотид (азотистое основание + пентоза + фосфат)	Используемые обозначения нуклеотидов	Однобуквенный код
В ДНК:				
Аденин	Дезоксиаденозин (д-аденозин)	д-Аденозин-5'-монофосфат	5'-дАМФ	А
Гуанин	Дезоксигуанозин (д-гуанозин)	д-Гуанозин-5'-монофосфат	5'-дГМФ	Г
Цитозин	Дезоксипитидин (д-питидин)	д-Питидин-5'-монофосфат	5'-дПМФ	С
Тимин	Дезокситимидин (д-тимидин)	д-Тимидин-5'-монофосфат	5'-дТМФ	Т
В РНК:				
Аденин	Аденозин	Аденозин-5'-монофосфат	5'-АМФ	А
Гуанин	Гуанозин	Гуанозин-5'-монофосфат	5'-ГМФ	Г
Цитозин	Питидин	Питидин-5'-монофосфат	5'-ПМФ	С
Урацил	Уридин	Уридин-5'-монофосфат	5'-УМФ	У

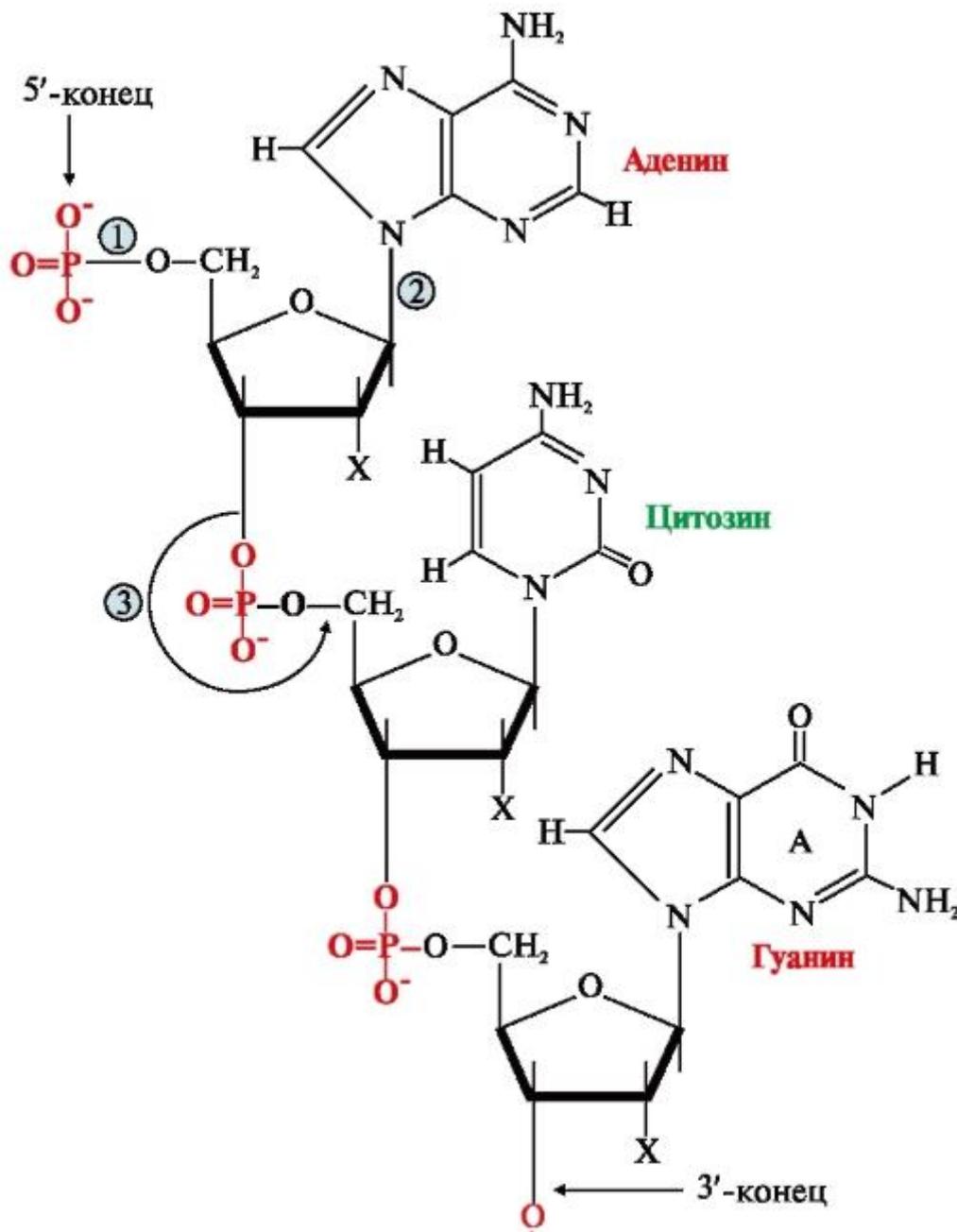


Рис. 3.3. Первичная структура нуклеиновых кислот X = Н для ДНК, X = ОН для РНК

Связи в молекуле нуклеиновых кислот: 1 - 5'-фосфоэфирная; 2 - N-гликозидная; 3 - 3',5'-фосфодиэфирная

противоположное направление, в этих случаях направление цепей обязательно указывается от 5'- к 3'- или от 3'- к 5'-концу.

Первичную структуру РНК можно представить таким образом:
CAUUAGGUAА...

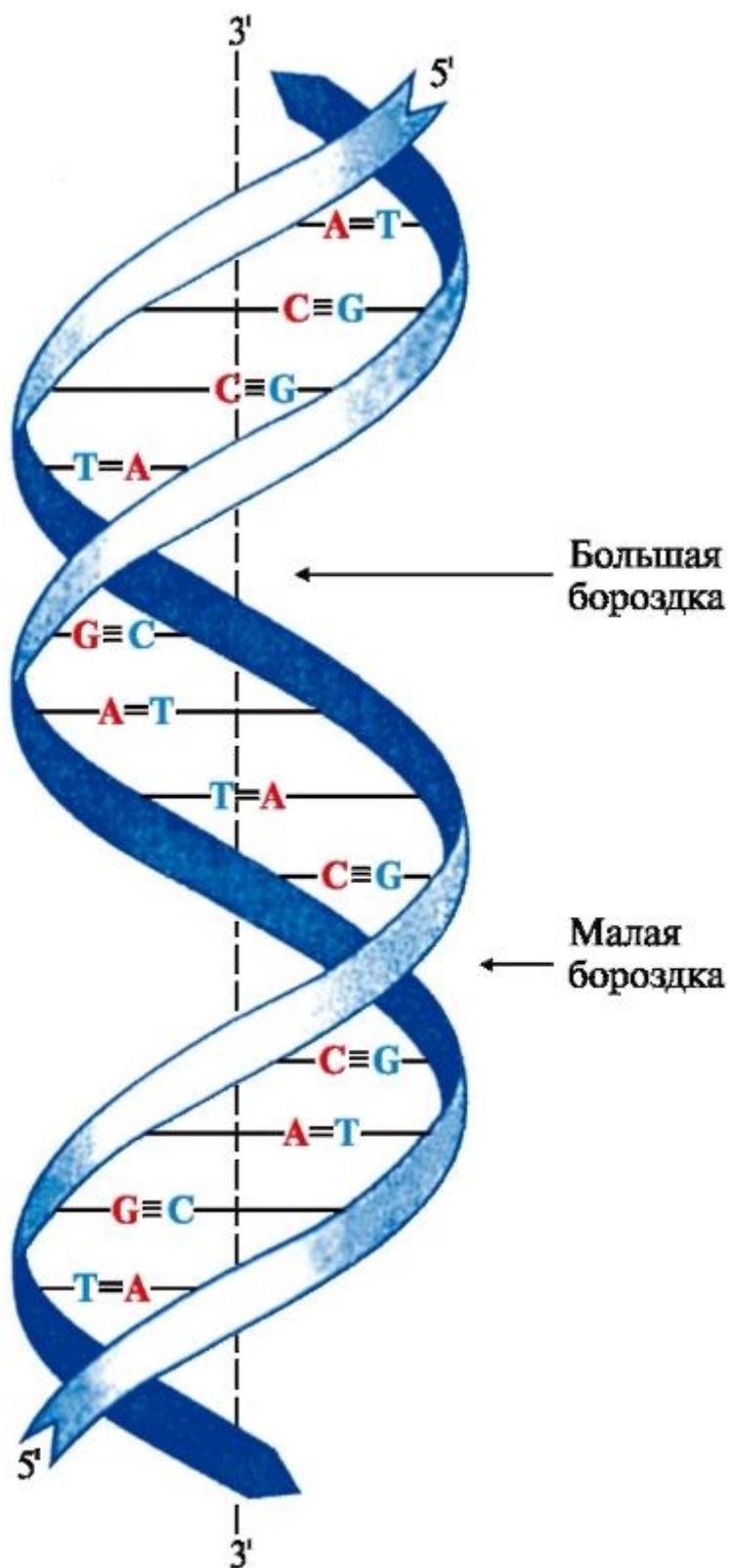


Рис. 3.4. Двойная спираль ДНК

Пространственная структура ДНК

Вторичная структура ДНК представлена двойной спиралью (рис. 3.4), в которой две полинуклеотидные цепи расположены антипараллельно и удерживаются относительно друг друга за счет взаимодействия между

комплементарными азотистыми основаниями (рис. 3.5). Полинуклеотидные цепи молекулы ДНК неидентичны, но комплементарны друг другу.

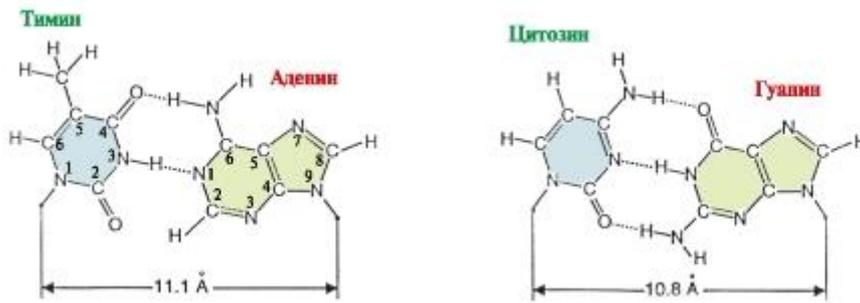


Рис. 3.5. Комплементарные взаимодействия азотистых оснований в двойной спирали ДНК

Аденин и тимин связываются двумя, а гуанин и цитозин - тремя водородными связями

Следовательно, если известна первичная структура одной цепи, то последовательность нуклеотидов другой цепи задается правилом комплементарности оснований: А одной цепи соответствует Т - другой, а С - Г. Поэтому в молекуле ДНК количество адениловых нуклеотидов равно количеству тимидиловых нуклеотидов ($A = T$), а количество гуаниловых - количеству цитидиловых ($G = C$). Соотношение $A + T / G + C$ - величина постоянная и является видоспецифической характеристикой организма (правило Чаргаффа).

Комплементарные основания обращены внутрь молекулы, лежат в одной плоскости, которая практически перпендикулярна оси спирали. В результате образуется стопка оснований, между которыми возникают гидрофобные взаимодействия, обеспечивающие основной вклад в стабилизацию структуры спирали.

Третичная структура ДНК формируется при ее взаимодействии 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. Общая длина ДНК гаплоидного набора из 23 хромосом человека составляет $3,5 \cdot 10^9$ пар нуклеотидов. Хромосомы образуют компактные структуры только в фазу

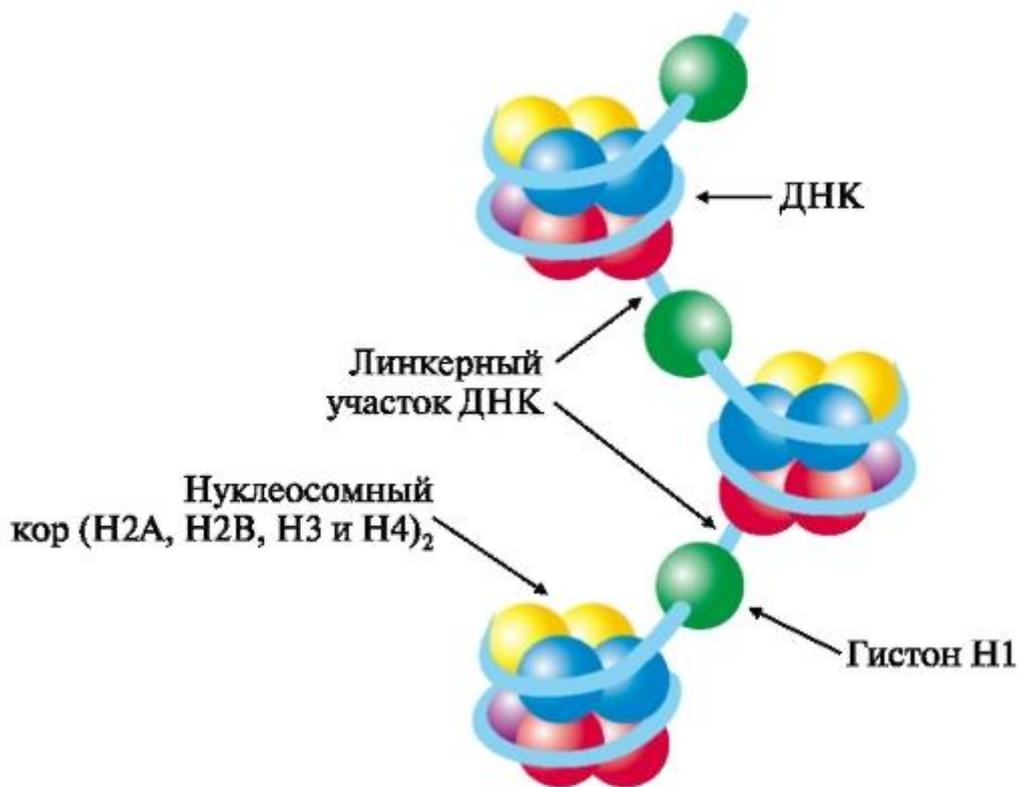


Рис. 3.6. Фрагмент третичной структуры ДНК

Нуклеосома состоит из участка ДНК длиной около 146 нуклеотидных пар и 8 молекул гистонов 4 видов: H2A, H2B, H3, H4, 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 H1

деления. В период покоя комплексы ДНК с белками равномерно распределены по объему ядра, образуя хроматин. Белки хроматина делят на две группы: гистоны и негистоновые белки.

Гистоны - это небольшие белки с высоким содержанием положительно заряженных аминокислот лизина и аргинина. Они взаимодействуют с отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК длиной около 146 нуклеотидных пар, образуя нуклеосомы. Между нуклеосомами находится участок ДНК, включающий около 30 нуклеотидных пар, - линкерный участок, к которому также присоединяется молекула гистона.

Негистоновые белки представлены множеством ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК и РНК, регуляции этих процессов, а также структурных белков, обеспечивающих компактизацию 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 U, G и C соединяются водородными связями. Длина спирализованных участков невелика, содержит от 20 до 30 нуклеотидных пар. Эти участки чередуются с неспирализованными участками молекулы.

Третичная структура РНК формируется за счет образования дополнительных водородных связей между нуклеотидами, полинуклеотидной цепью и белками, стабилизируется ионами Mg^{2+} и обеспечивает дополнительную компактизацию и стабилизацию пространственной структуры молекулы.

Основные виды РНК

В зависимости от первичной структуры, размера молекул и их 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 столь же велико, как и число 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 участок антикодона - к мРНК.

Семейство тРНК включает

более 30 различных по первичной структуре молекул, состоящих примерно из 80 нуклеотидов. Особенностью тРНК является содержание 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 как структура клеверного листа, где наряду с 70% спирализованных участков имеются одноцепочечные петлеобразные фрагменты (рис. 3.7). На долю тРНК приходится около 15% всей РНК клетки.

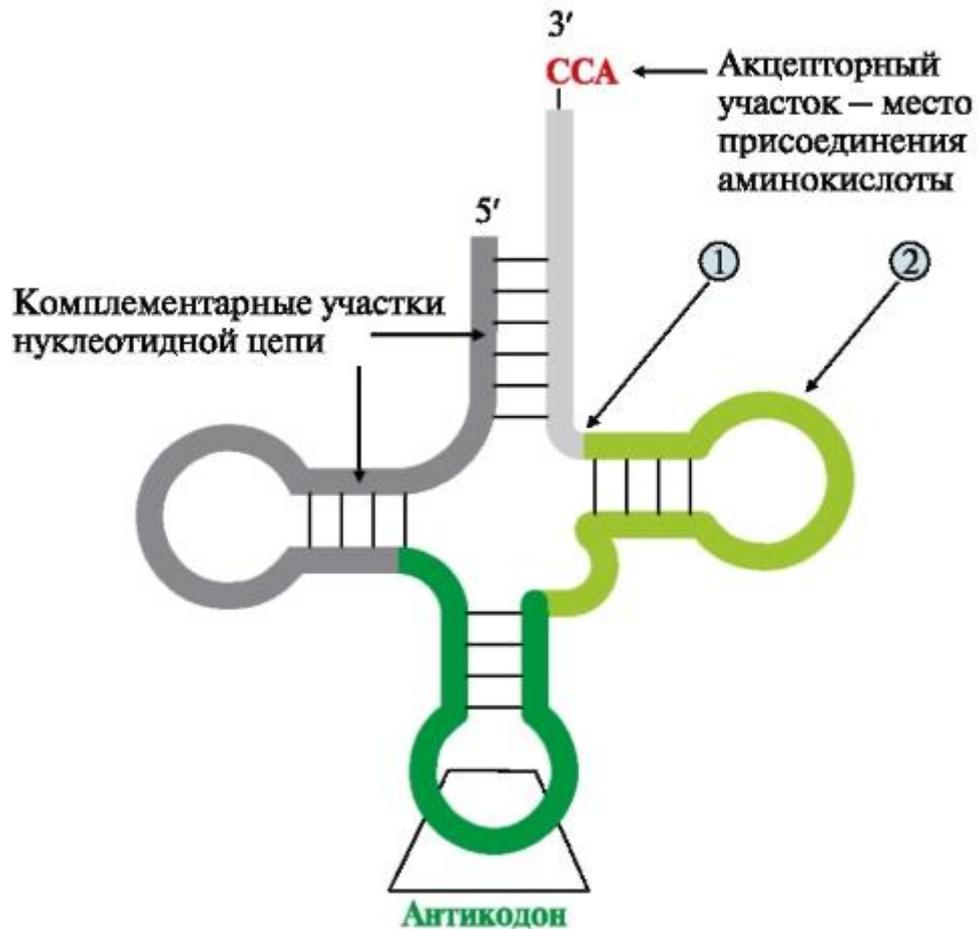


Рис.3.7. Структура транспортной РНК

1 - шпильки (нити РНК в этих участках антипараллельны);

2 - петли образованы участками одноцепочечной

РНК

Рибосомные РНК (рРНК) составляют около 80% всей РНК клетки и входят в состав рибосом. В цитоплазматические рибосомы эукариот входит 4 типа рРНК с разной константой седиментации (КС) - скоростью оседания в ультрацентрифуге. Комплекс большой и малой субъединиц рибосомы образует компактную частицу и имеет КС 80S (рис. 3.8). Митохондриальные рибосомы значительно меньше цитоплазматических рибосом, и их структура сходна со структурой рибосом прокариотов.

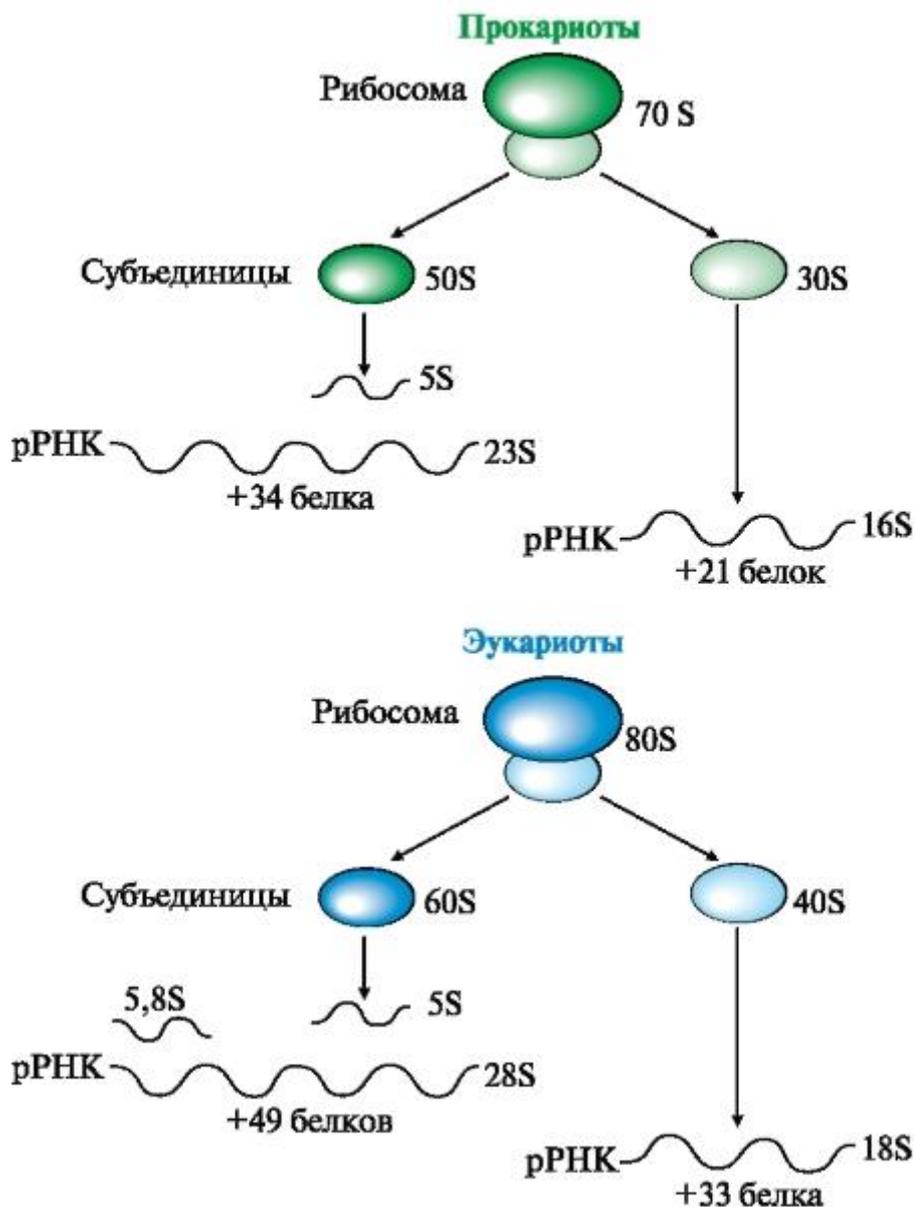


Рис. 3.8. Структура прокариотической и эукариотической рибосом

У эукариотов 28S, 5,8S 5S рРНК входят в большую 60S субъединицу, а 18S рРНК - в малую 40S субъединицу рибосомы

3.2. БИОСИНТЕЗ ДНК (РЕПЛИКАЦИЯ)

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_0 вступает в G_1 -фазу, в ходе которой синтезируются ферменты и белки, необходимые для синтеза ДНК. Затем в S-фазу протекает репликация и диплоидная клетка (содержащая 2 копии генома) превращается в тетраплоидную (4 копии генома), а в ходе митоза она делится, образуя 2 дочерние диплоидные клетки.

В эукариотических клетках репликация начинается одновременно во многих участках ДНК, которые имеют специфическую нуклеотидную последовательность и называются ориджинами репликации. От каждого ориджина синтез

новых цепей ДНК идет в двух противоположных направлениях, образуя две репликативные вилки. Процесс является полуконсервативным, так как по завершении репликации каждая дочерняя молекула ДНК содержит одну родительскую нить и одну вновь синтезированную.

Матрицей служат обе нити ДНК. Субстратами являются основные 4 дезоксирибонуклеозидтри-

фосфата (дНТФ): дАТФ и дТТФ, дЦТФ и дГТФ.

дНТФ служат субстратами синтеза и донорами энергии, так как содержат богатые энергией связи. При отщеплении от дНТФ пирофосфата освобождается энергия, используемая на образование 3',5'-фосфодиэфирной связи между мономерами в процессе синтеза полимера.

Репликация включает стадии инициации, элонгации и терминации.

В ходе инициации образуются две репликативные вилки при участии ферментов ДНК-топоизомеразы 1, ДНК-хеликазы и белков, связывающихся с одноцепочечными участками ДНК (SSB-белки) (рис. 3.9).

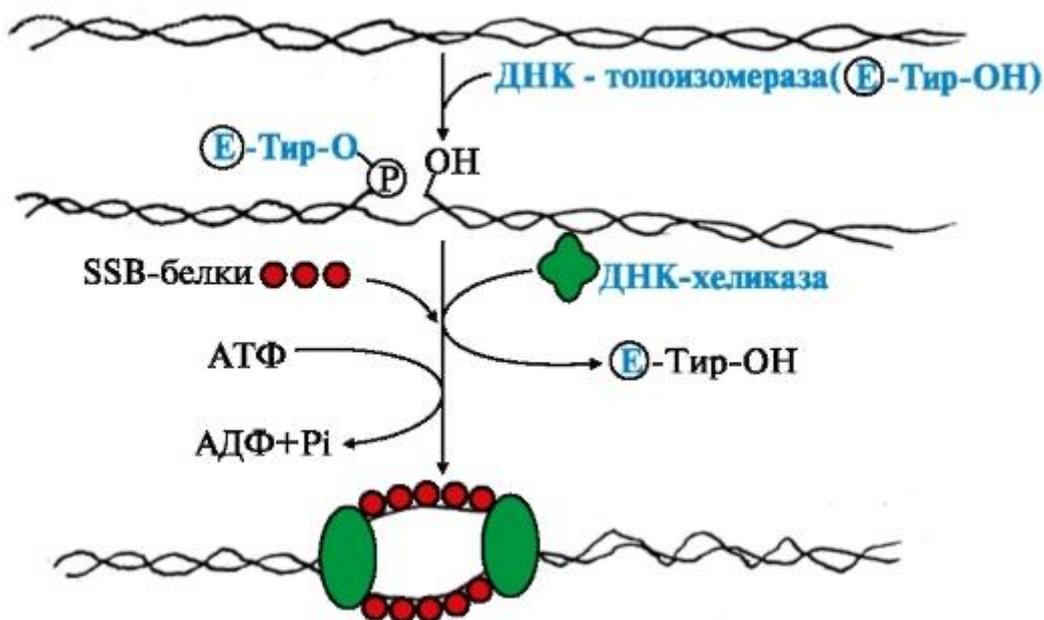


Рис. 3.9. Инициация репликации ДНК

ДНК-топоизомераза 1 присоединяется к участку ориджина, расщепляет одну из цепей ДНК и связывается с фосфатным остатком в точке разрыва, происходит локальное раскручивание двухцепочечной нити ДНК. Две молекулы ДНК-хеликазы, используя энергию АТФ, разрывают водородные связи между комплементарными основаниями и разделяют цепи ДНК. Одновременно ДНК-топоизомераза восстанавливает фосфодиэфирную связь и освобождается из связи с ДНК. SSB-белки присоединяются к одноцепочечным участкам и препятствуют их повторному скручиванию в двойную спираль.

На стадии элонгации образуются дочерние цепи ДНК на материнской ДНК. Этот процесс катализирует несколько ДНК-полимераз. Все ферменты синтезируют полинуклеотидные цепи из дНТФ только в направлении от 5'- к 3'-концу на антипараллельной матрице (с направлением от 3'- к 5'-концу) (рис. 3.10).

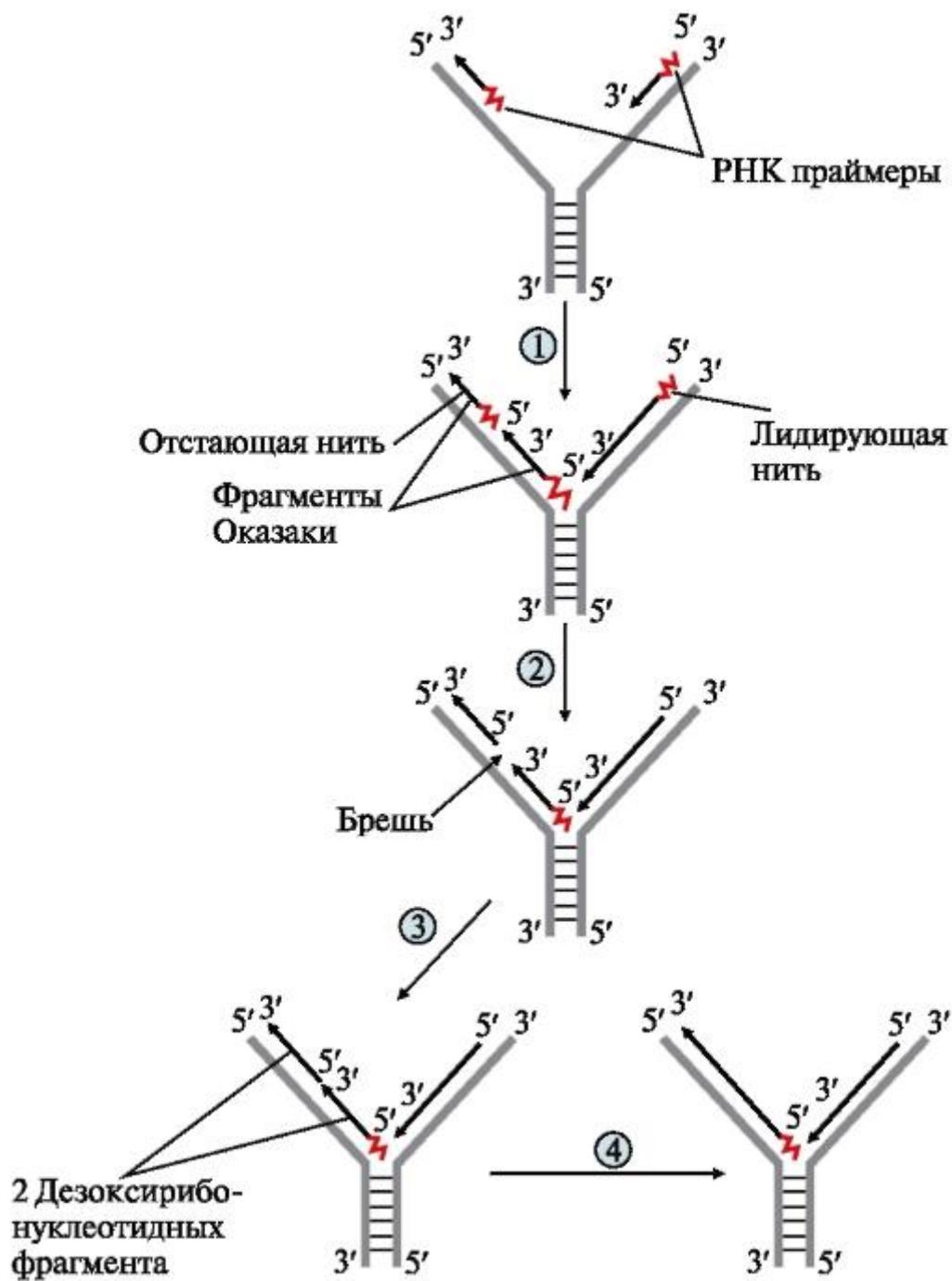


Рис. 3.10. Элонгация репликации ДНК у эукариотов

1 - ДНК-полимераза α синтезирует олигорибонуклеотид - РНК-праймер, которым начинается лидирующая цепь и каждый фрагмент Оказаки в отстающей нити ДНК. Лидирующая нить растет непрерывно, а отстающая - в виде фрагментов Оказаки, каждый из которых включает РНК-праймер (10 нуклеотидов) и участок ДНК, примерно равный длине ДНК в составе нуклеосомы (~ 150 нуклеотидов); 2 - когда следующий фрагмент Оказаки достигает праймера предыдущего фрагмента, ДНК-полимераза δ отделяется от синтезированной цепи, а праймер предыдущего фрагмента удаляют

эндонуклеаза и РНКаза, образуется брешь; 3 - ДНК-полимераза β удлиняет последний фрагмент Оказаки, заполняя брешь; 4 - ДНК-лигаза сшивает предыдущий и вновь синтезированный фрагменты между собой

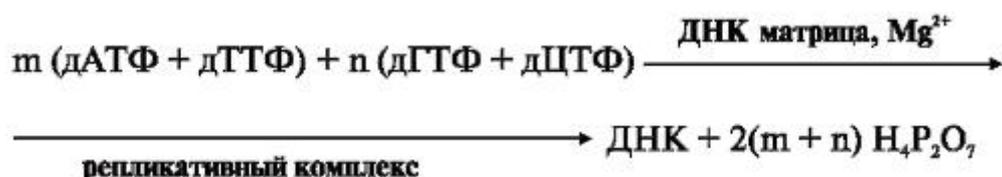
Новые цепи синтезируются неодинаково. Одна цепь на матрице ДНК с направлением от 3'- к 5'- концу растет непрерывно по ходу движения репликативной вилки и называется лидирующей. Вторая на матрице с направлением от 5'- к 3'-концу синтезируется против движения репликативной вилки в виде коротких фрагментов - фрагментов Оказаки (по имени ученого, впервые обнаружившего их образование), ее называют запаздывающей или отстающей.

В участке расхождения цепей по принципу комплементарности сначала синтезируется праймер(затравка) - олигорибонуклеотид (РНК), состоящий примерно из 10 нуклеотидов. Образование праймера катализирует праймаза, входящая в состав ДНК-полимеразы α . Продолжает синтез лидирующей цепи ДНК полимеразы δ , а отстающей - ДНК-полимераза δ или ϵ .

В отстающей нити каждый фрагмент Оказаки содержит около 200 нуклеотидов, включающих РНК-праймер и участок ДНК. Праймер удаляется эндонуклеазой и РНКазой, а ДНК-полимераза β заполняет образующуюся брешь по принципу комплементарности, используя дНТФ в качестве субстратов.

ДНК-лигаза объединяет фрагменты в полинуклеотидную цепь, затрачивая молекулу АТФ на образование каждой 3',5'-фосфодиэфирной связи. Кофактором всех стадий репликации являются ионы Mg^{2+} .

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

3.3. РЕПАРАЦИЯ ОШИБОК И ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК

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

- дезаминирование оснований (из цитозина образуется урацил);
- депуринизация - гидролитическое отщепление пуриновых оснований (А и G);
- образование пиримидиновых димеров между расположенными рядом в цепи основаниями;
- разрыв нуклеотидных цепей;
- появление ковалентных сшивок между цепями или между цепями и гистонами;
- нарушения комплементарности цепей, вызванные ошибками репликации.

За сутки в каждой клетке происходят тысячи повреждений ДНК. Для того чтобы они не стали летальными для организма, существуют системы репарации ДНК, обеспечивающие исправление ошибок в структуре макромолекулы. Системы репарации функционируют в ядре клеток постоянно вне зависимости от фаз клеточного цикла. Универсальная система репарации представлена на рис. 3.11.

- Специфическая эндонуклеаза обнаруживает нарушение комплементарности и гидролизует 3',5'-фосфодиэфирную связь в поврежденной нити ДНК.
- Экзонуклеаза удаляет от 20 до 30 нуклеотидных остатков в области разрыва.
- К 3'-концу образовавшейся брешки присоединяется ДНК-полимераза β и, используя дНТФ в качестве субстратов и доноров энергии, заполняет брешь.
- ДНК-лигаза, используя АТФ как источник энергии, соединяет 3',5'-фосфодиэфирной связью место разрыва между вновь синтезированной и основной нитями ДНК.

В ряде случаев в репарации участвуют и некоторые другие ферменты. Так, если произошло дезаминирование азотистых оснований (например, цитозин

заменился урацилом), то некомплемментарное основание удаляет фермент ДНК-гликозилаза. Затем участок, лишенный азотистого основания (АП-сайт), обнаруживает специфическая АП-эндонуклеаза, гидролизующая апуринизированный или апирименизированный сахаро-фосфатный остов, а далее работает универсальный механизм репарации.

Иногда к дезоксирибозе, лишившейся поврежденного основания, АП-сайту, фермент

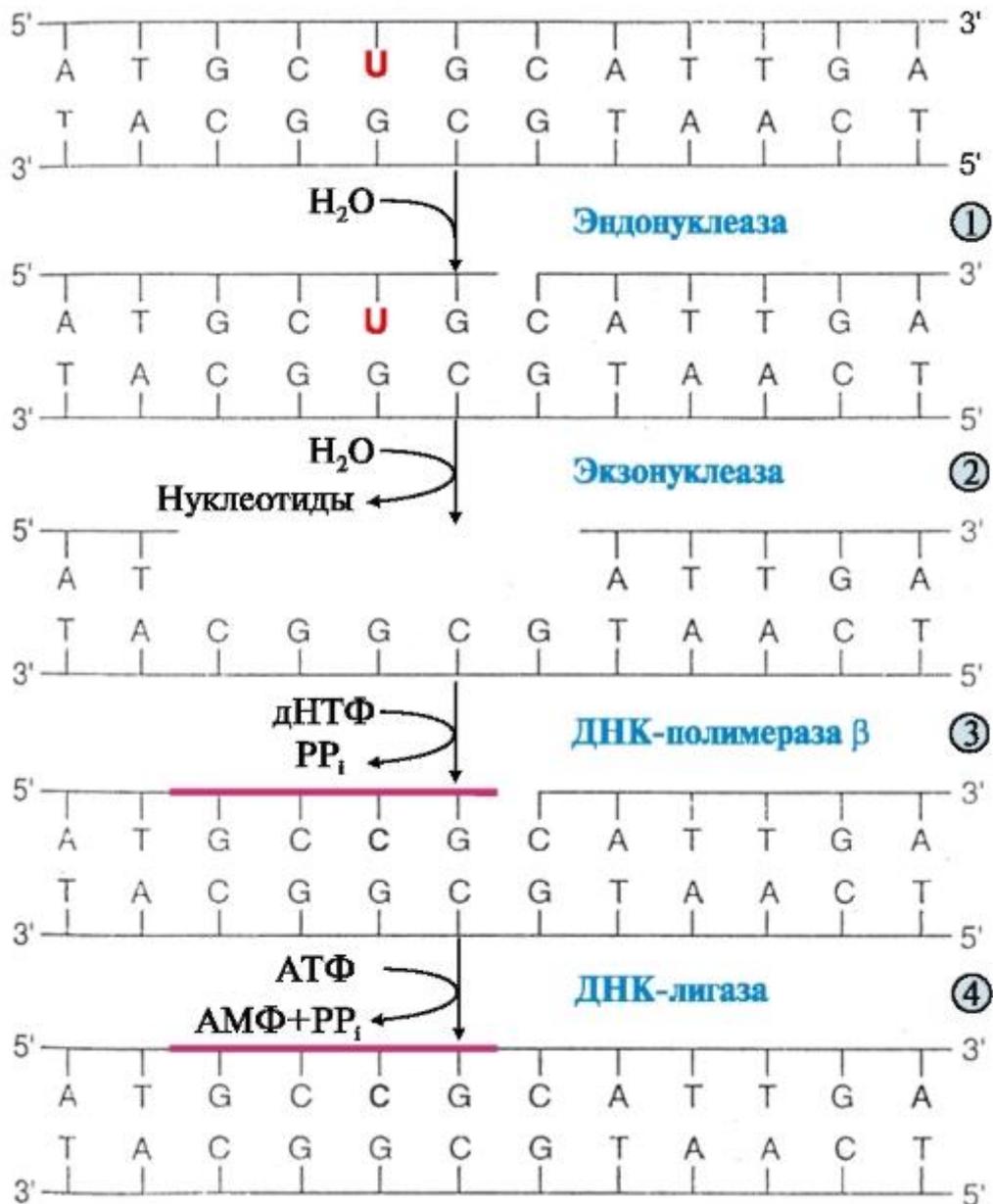


Рис. 3.11. Репарация эукариотических ДНК

1 - специфическая эндонуклеаза узнает место повреждения и расщепляет 3',5'-фосфодиэфирную связь недалеко от этого места; 2 - экзонуклеаза удаляет участок ДНК, содержащий повреждение; 3 - ДНК-полимераза β

синтезирует участок полинуклеотидной цепи и таким образом заполняет брешь в поврежденной нити ДНК; 4 - ДНК-лигаза соединяет основной и новообразованный участки в нити ДНК.

ДНК-инсераза может присоединить основание по принципу комплементарности и восстановить нативную структуру ДНК.

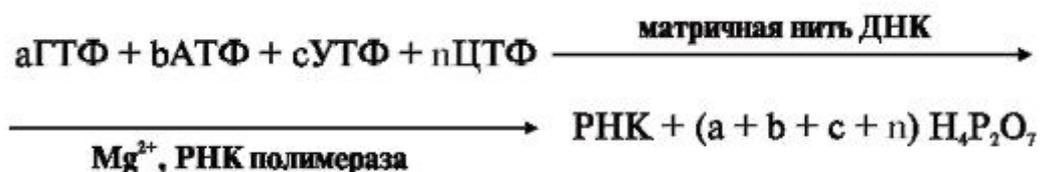
Под влиянием УФО могут возникнуть пиримидиновые димеры (чаще всего тиминового димеры) за счет связывания двух соседних оснований.

Фермент фотолиаза устраняет эти повреждения и расщепляет ковалентные углерод-углеродные связи, возникающие между основаниями. Облучение активирует фермент и ускоряет репаративный процесс.

На протяжении всей жизни человека ферменты репарации обеспечивают устранение повреждений в структуре ДНК и стабильность генетической информации клетки. Снижение активности ферментов репарации сопровождается накоплением мутаций в ДНК и является причиной многих заболеваний и преждевременного старения организма.

3.4. БИОСИНТЕЗ РНК (ТРАНСКРИПЦИЯ). ПОСТТРАНСКРИПЦИОННЫЕ МОДИФИКАЦИИ РНК

Транскрипция - это синтез РНК на матрице ДНК. Процесс катализируют РНК-полимеразы, которые, подобно ДНК-полимеразам, образуют фосфодиэфирные связи между рибонуклеотидами в соответствии с принципами комплементарности к одной из нитей ДНК, которую обозначают как матричную. У эукариотов синтез РНК происходит в ядре и митохондриях практически постоянно вне зависимости от фаз клеточного цикла. В ядре РНК синтезируют три фермента: РНК-полимераза I катализирует образование рРНК, РНК-полимераза II - синтез мРНК, РНК-полимераза III - образование тРНК. НТФ: АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ, выполняют функции субстратов синтеза и источников энергии. В основе процесса лежит принцип комплементарного спаривания оснований, когда против А встает U, против G-C, а против T-A. Суммарное уравнение синтеза РНК можно представить следующим образом:



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

В ходе транскрипции матрицей является нить ДНК, имеющая направление от 3'- к 5'-концу, так как все РНК-полимеразы осуществляют рост новых цепей РНК в направлении от 5'- к 3'-концу антипараллельно матрице (рис. 3.12).

Процесс транскрипции включает стадии инициации, элонгации и терминации. РНК-полимеразы узнают место начала транскрипции - промотор, имеющий специфическую последовательность нуклеотидов: -ТАТА-.

В сайте терминации факторы терминации ускоряют освобождение из комплекса с ДНК преРНК и РНК-полимеразы.

- На стадии инициации к -ТАТА-последовательности матричной цепи ДНК присоединяется белок -ТАТА-фактор, который стимулирует присоединение к ДНК РНК-полимеразы и белковых факторов инициации транскрипции. Образующийся комплекс вызывает расплетение двойной нити

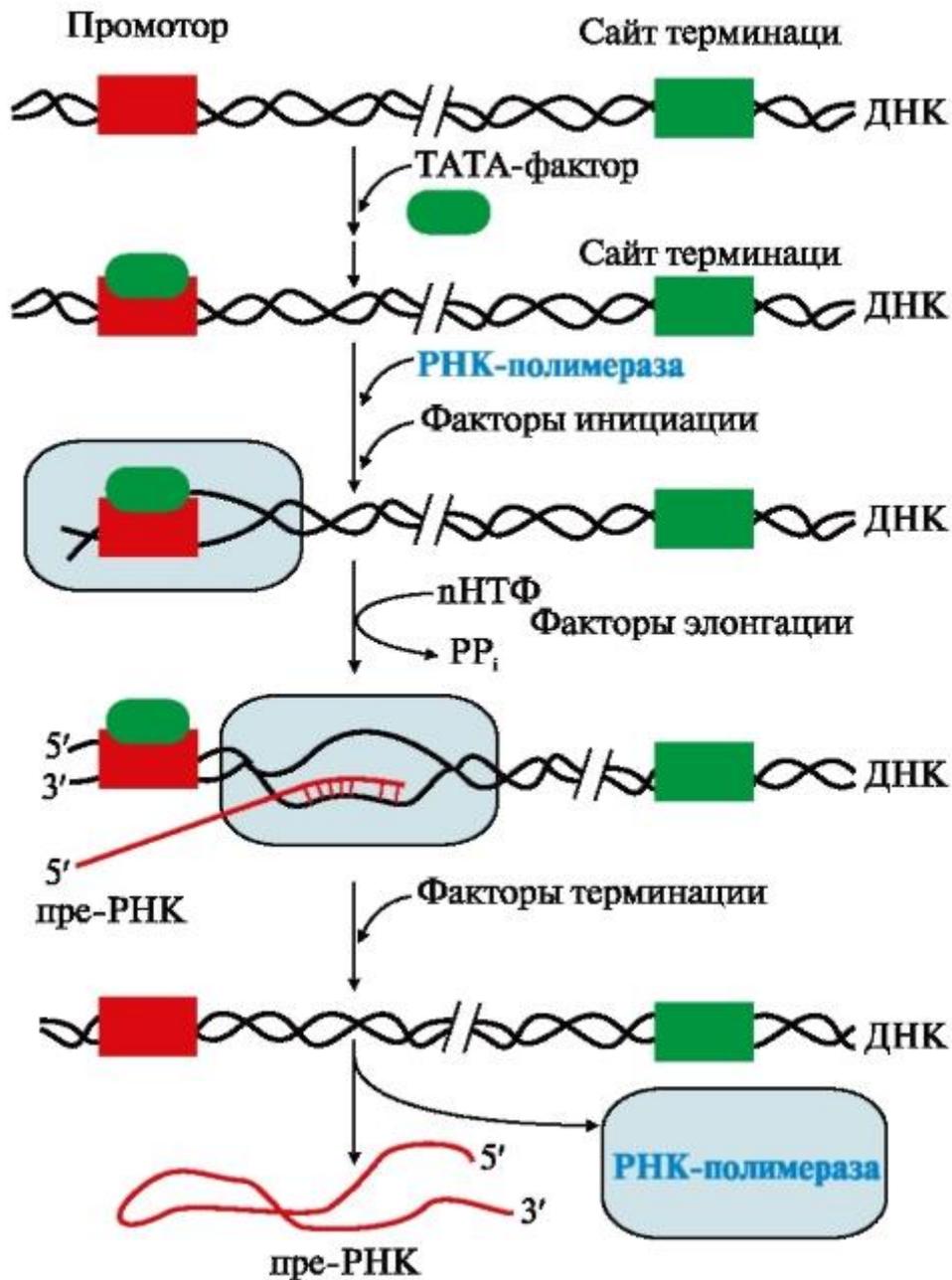


Рис. 3.12. Транскрипция гена ДНК

– белок -ТАТА-фактор
 – РНК-полимераза. В зоне нахождения РНК-полимеразы происходит локальное расплетение двойной спирали ДНК

ДНК длиной в один виток спирали (около 10 нуклеотидных пар).

- На этапе элонгации происходят удаление факторов инициации и присоединение фактора элонгации. Синтез РНК осуществляется на матричной нити ДНК по принципу комплементарности. При этом в активном центре РНК-полимеразы каждый последующий нуклеотид связывается с 3'-

концом предыдущего нуклеотида. 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

- Стадия терминации начинается, когда РНКполимераза достигает специфической последовательности нуклеотидов - сайта терминации. При этом фактор элонгации отделяется от РНК-полимеразы, а фактор терминации присоединяется.

Он облегчает отделение синтезированной молекулы пре-РНК и фермента от матрицы ДНК.

Посттранскрипционные модификации пре-РНК

Молекулы РНК, которые синтезируются РНК-полимеразами, функционально неактивны и являются молекулами-предшественниками - пре-РНК. Они превращаются в зрелые молекулы только после соответствующих посттранскрипционных модификаций - созревания молекул РНК.

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

7-метил-G (5') ppp(5') X...

Кэп защищает 5'-конец мРНК от действия нуклеаз и обеспечивает инициацию трансляции.

После того как пре-мРНК освобождается от РНК-полимеразы II, поли(А)-полимераза последовательно удлиняет 3'-конец молекулы, присоединяя от 150 до 200 остатков АМФ. Субстратом реакции является АТФ. В результате на 3'-конце пре-мРНК образуется поли(А)-«хвост», который также защищает мРНК от расщепления РНКазами.

Установлено, что эукариотические ДНК состоят из участков, кодирующих последовательность аминокислот в отдельных доменах молекулы белка, - экзонах, и участков, не содержащих информацию о строении белка, - интронах. В ходе транскрипции получают пре-РНК, содержащие участки, комплементарные экзонам и интронам. В процессе созревания мРНК

интроны удаляются, а экзоны соединяются между собой с высокой точностью при помощи комплексов из малых ядерных рибонуклеопротеинов (мяРНП)- сплайсосом. Этот процесс получил название сплайсинга (рис. 3.13).

Одна и та же молекула пре-мРНК в разных тканях может подвергаться разным схемам сплайсинга (наряду с интронами вырезаются и некоторые экзоны; или некоторые интроны сохраняются в зрелой молекуле; может прочитываться интрон, содержащий стоп-кодон, в результате образуется мРНК, кодирующая более короткий белок,

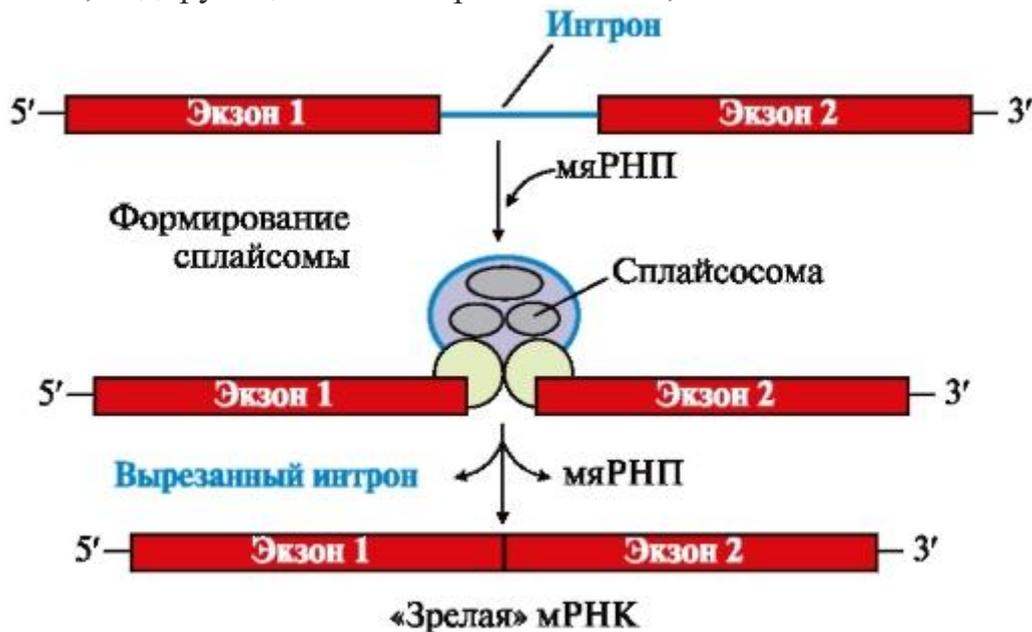


Рис. 3.13. Сплайсинг пре-мРНК

Сплайсосомы гидролизуют 3',5'-фосфодиэфирные связи на границе интрон-экзон и связывают экзоны между собой. Ферментативной активностью обладают РНК в составе мяРНП

и т.п.). Существование такого механизма получило название альтернативного сплайсинга. Оно ведет к получению родственных, но различающихся по первичной структуре молекул мРНК.

Посттранскрипционные модификации тРНК.

В клетках 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 тРНК (рис. 3.14):

- молекулы укорачиваются с 5'- и 3'-концов с помощью специфических РНКаз и удаляется интрон;
- 10-15% азотистых оснований в молекулах модифицируется;
- к 3'-концу всех тРНК с помощью нуклеотидилтрансферазы последовательно один за другим присоединяется триплет нуклеотидов ССА, который необходим для связывания аминокислот, участвующих в синтезе белков.

На этом заканчивается созревание тРНК, и она выходит в цитоплазму.

Посттранскрипционные модификации прерРНК. Пре-рРНК освобождается из комплекса с ДНК в виде крупного транскрипта с КС 45S. 1-2% нуклеотидов этой молекулы метилируется по 2'-гидроксильной группе рибозы.

Метильные группы служат маркерами для последующего расщепления пре-рРНК на молекулы с КС 18S, 28S и 5,8S. Самая короткая, 5S- рРНК кодируется

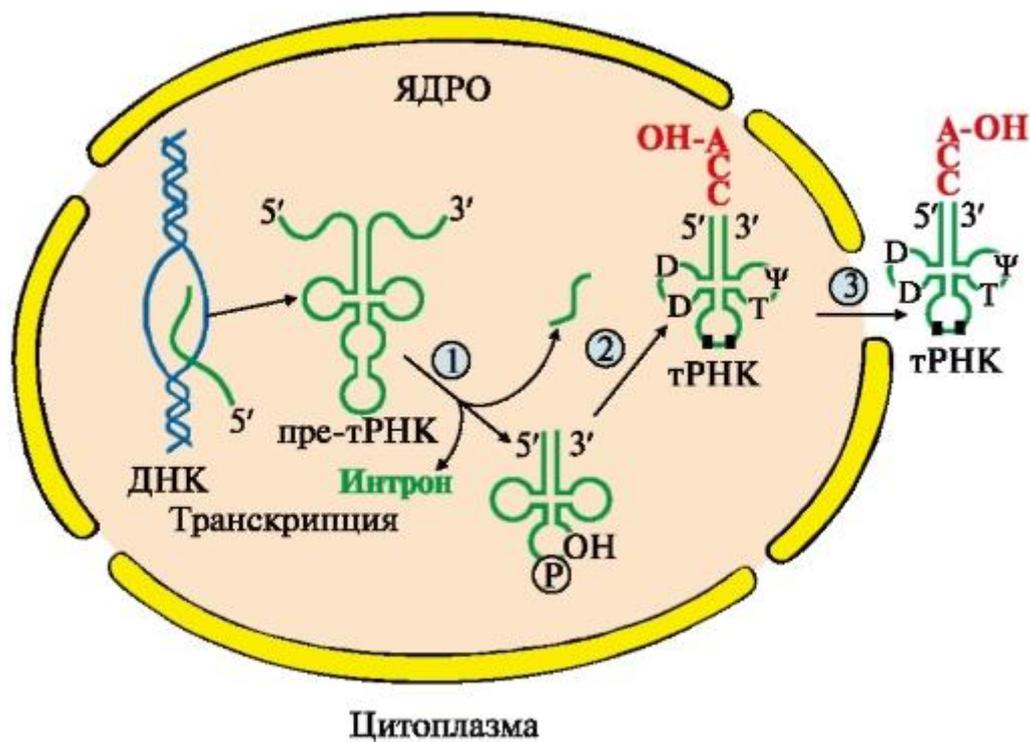


Рис. 3.14. Созревание пре-тРНК

1 - удаляются участки полинуклеотидной цепи на 5'- и 3'-концах молекулы пре-тРНК и интрон в центральной области молекулы; 2 - модифицируются азотистые основания (■), к 3'-концу присоединяется триплет ССА; 3 - в цитоплазму выходят зрелые тРНК

отдельным геном и включается в рибонуклеопротеиновые частицы, содержащие 28S- и 5,8S- рНК, образуя большую субъединицу рибосомы. 18S-рНК формирует малую 40S- субъединицу рибосомы (рис. 3.15).

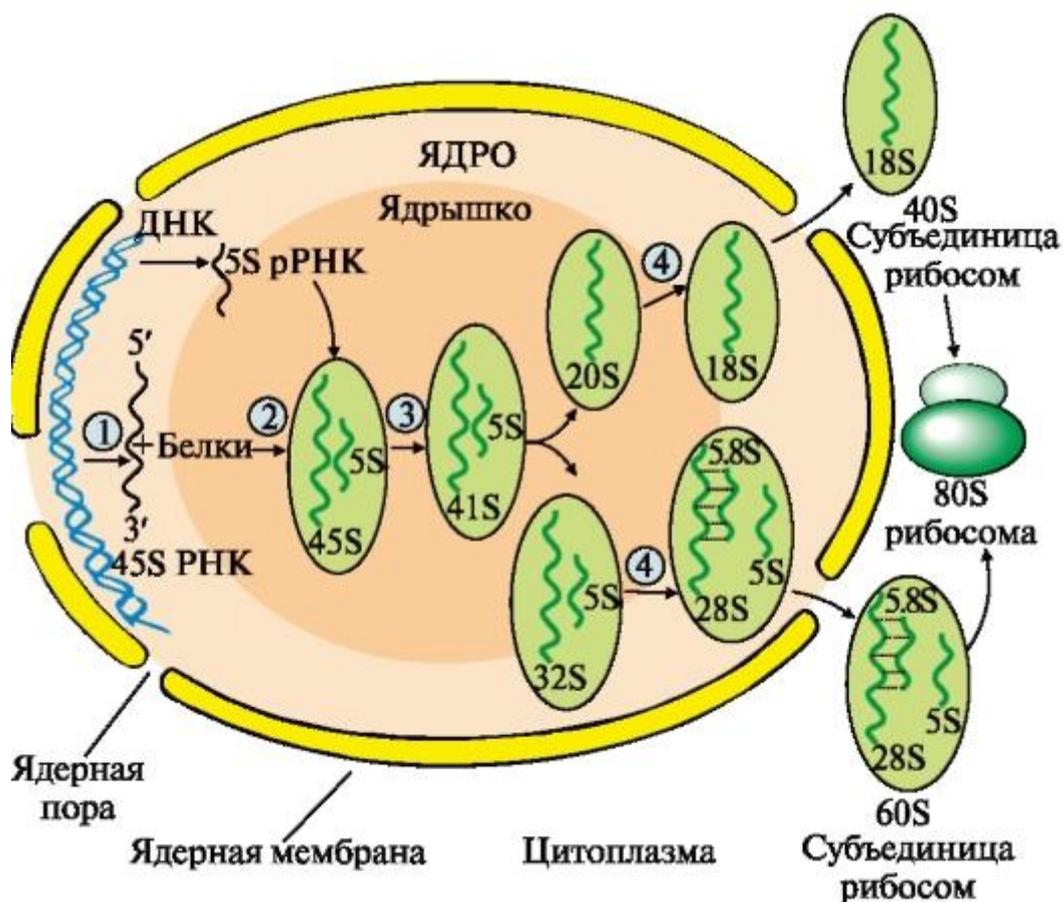


Рис. 3.15. Посттранскрипционные модификации прерРНК и образование рибосом

1 - транскрипция пре-рРНК; 2 - связывание 45S- рРНК с белками и 5S-рРНК; 3 - метилирование пре-рРНК и расщепление на отдельные фрагменты; 4 - дальнейшее укорочение рРНК и формирование 40S- и 60S-субъединиц рибосом

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

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выполните «цепное» задание.

а) напишите формулы двух динуклеотидов:

1. dA-dT, 2. C-U.

б) в структуре этих молекул отметьте:

А. 3',5'-Фосфодиэфирные связи. Б. 5'-Фосфатный конец.

В. 3'-Гидроксильный конец.

Г. N-Гликозидную связь в динуклеотиде

сА-сТ.

в) динуклеотид, содержащий пуриновое и пиримидиновое основания, может входить в состав:

А. мРНК. В. тРНК.

Б. ДНК. Г. рРНК.

г) нуклеиновая кислота, в состав которой входит выбранный Вами динуклеотид, локализована в клетках в:

А. Ядре.

Б. Эндоплазматическом ретикулуме.

В. Аппарате Гольджи. Г. Цитоплазме.

Д. Лизосомах.

д) здесь происходят синтез этой молекулы из:

А. дНМФ. Г. НДФ. Б. дНДФ. Д. НТФ.

В. дНТФ.

е) и образование новых:

А. N-гликозидных связей.

Б. 3',5'-Фосфодиэфирных связей.

В. 5'-Фосфоэфирных связей. Г. 3'-Фосфоэфирных связей. Д. Водородных связей.

2. Выберите правильные ответы. Вторичная структура ДНК характеризуется:

А. Наличием спирализованных участков. Б. Образованием двойной спирали.

В. Антипараллельностью цепей.

Г. Образованием водородных связей между комплементарными основаниями.

Д. Возникновением гидрофобных взаимодействий в стопке оснований внутри спирали.

3. Выберите правильные ответы.

При формировании третичной структуры молекула ДНК связывается с:

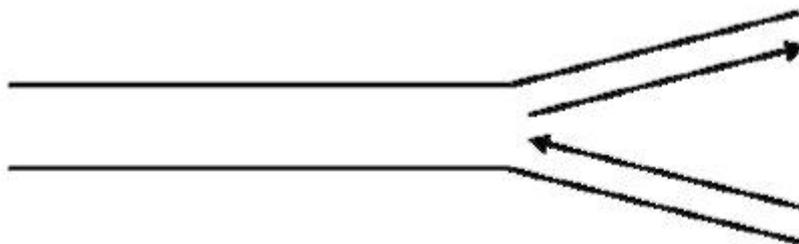
А. Белками субъединиц рибосом. Б. Гистонами.

В. Негистоновыми белками.

Г. Ферментами класса оксидоредуктаз. Д. Протеинкиназой А.

4. а) Перенесите в тетрадь схему репликации

б) укажите: 3'- и 5'-концы матричных цепей ДНК и вновь синтезированных фрагментов, лидирующую и отстающую цепи;



в) на отдельном рисунке покажите, как идет образование высокомолекулярного фрагмента отстающей цепи ДНК. Перечислите ферменты, участвующие в образовании фрагментов Оказаки и их связывании, объясните их роль в синтезе;

г) напишите суммарное уравнение репликации и назовите ферменты репликативного комплекса, кофактор процесса.

5. Установите соответствие. Процессы:

А. Репликация. Б. Репарация.

В. Транскрипция.

Г. Созревание пре-тРНК.

Д. Альтернативный сплайсинг.

Продукты реакции:

1. Молекулы, содержащие до 20% модифицированных азотистых оснований.

2. Идентичны матрице.

3. мРНК, которые в разных тканях могут иметь значительные различия в первичной структуре.

6. Перенесите в тетрадь табл. 3.2 и заполните графы I, II, III.

7. В парафолликулярных клетках щитовидной железы в ходе транскрипции гена кальцитонина образуется мРНК, которая содержит информацию о гормоне белковой природы, ответственном за регуляцию обмена ионов кальция (рис. 3.16). В мозге тот же первичный транскрипт подвергается другому варианту сплайсинга и полиаденилирования, и получается мРНК, кодирующая белок, ответственный за вкусовое восприятие.

Таблица 3.2

Матричные процессы

	Репликация I	Репарация II	Транскрипция III	Трансляция IV
Матрица				
Субстраты				
Источники энергии				
Ферменты				
Кофакторы				
Направление синтеза новых цепей				
Локализация процесса				
Характеристика продукта*				

* Выберите соответствующий ответ:

А - продукт идентичен матрице. В - продукт комплементарен матрице. С - продукт некомплементарен, но коллинеарен матрице.



Рис. 3.16. Сплайсинг пре-мРНК гена кальцитонина в клетках щитовидной железы и мозга

Рассмотрите рис.3.16 и ответьте на следующие вопросы:

- как называется такой вид сплайсинга?
- какое количество экзонов содержит ген кальцитонина?
- транскрипты скольких экзонов используются при образовании зрелых мРНК кальцитонина и белка, ответственного за вкусовое восприятие?

г) сколько экзонов гена являются общими для обоих белков?

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Ростовые факторы стимулируют клетку к вступлению в G_1 -фазу клеточного цикла. В ходе этой фазы индуцируется синтез ферментов, катализирующих образование дезоксирибонуклеотидов. В каком процессе используются эти субстраты в S-фазу клеточного цикла? Для ответа на вопрос:

- а) изобразите схему процесса, в котором субстратами являются дезоксирибонуклеотиды;
- б) назовите ферменты и укажите их роль в этом процессе.

2. После УФО в ДНК фибробластов кожи пациента обнаружено большое количество димеров тимина. В норме такие изменения ДНК встречаются редко.

Чем можно объяснить появление повреждений в ДНК данного пациента? Для ответа на вопрос:

- а) укажите, почему этот тип нарушений в молекуле ДНК в норме встречаются редко;
- б) опишите процесс, обеспечивающий удаление повреждений в молекуле ДНК;
- в) перечислите повреждения, которые может устранять этот процесс.

3. У ребенка с отставанием в росте и массе тела было диагностировано наследственное заболевание - β -талассемия, вызванная мутацией в ТАТА-последовательности промотора гена β -глобина. Снижение скорости какого процесса вызывает нарушение развития ребенка? Для ответа на вопрос:

- а) приведите суммарное уравнение этого процесса; укажите субстраты, матрицу, фермент и кофактор;
- б) нарисуйте схему выбранного матричного биосинтеза и объясните роль ТАТА-последовательности в его протекании.

4. Несовершенный (наследственный) амелогенез возникает в результате мутаций в генах белков, участвующих в формировании эмали. Чем можно объяснить появление ошибок в структуре этих генов? При ответе на вопрос:

а) укажите ферменты матричного процесса, которые должны исправлять нарушения структуры ДНК в норме;

б) изобразите схему процесса, в котором участвуют эти ферменты и опишите механизм их действия.

3.5. БИОСИНТЕЗ БЕЛКА (ТРАНСЛЯЦИЯ)

Трансляция (биосинтез белков) - 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.

В состав мРНК входят 4 нуклеотида, а в состав белков - 20 аминокислот. Из этого следует, что должен существовать способ шифрования или кодирования аминокислот последовательностью нескольких нуклеотидов. Способ кодирования, согласно которому в мРНК зашифрована последовательность аминокислот в белке, получил название генетического (биологического или аминокислотного) кода (табл. 3.3).

Было установлено, что код:

- триплетен: каждая аминокислота кодируется в молекуле ДНК или мРНК тремя нуклеотидами - кодоном. Из 4 нуклеотидов, входящих в состав мРНК, можно составить 64 триплета ($4^3 = 64$). Из них имеют смысл, т.е.

шифруют 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;

- специфичен: каждый кодон шифрует только одну определенную аминокислоту;

- вырожден: большинство аминокислот закодировано в молекулах ДНК и мРНК более чем одним кодоном. Исключение составляют две аминокислоты - Мет и Три, каждая из которых зашифрована только одним кодоном, а всем остальным аминокислотам соответствует 2-6 кодонов (табл. 3.3).

- универсален: смысл кодонов един почти для всех организмов на Земле. Исключением является митохондриальная мРНК, у которой 4 кодона имеют другой смысл.
- коллинеарен: последовательность кодонов в зрелой мРНК соответствует последовательности аминокислот в белке, который синтезируется на этой матрице.

Таблица 3.3

Генетический код

Первое основание	Второе основание			
	U	C	A	G
U	UUU Фен	UCU Сер	UAU Тир	UGU Цис
	UUC Фен	UCC Сер	UAC Тир	UGC Цис
	UUA Лей	UCA Сер	UAA*	UGA*
	UUG Лей	UCG Сер	UAG*	UGG Три
C	CUU Лей	CCU Про	CAU Гис	CGU Арг
	CUC Лей	CCC Про	CAC Гис	CGC Арг
	CUA Лей	CCA Про	CAA Гли	CGA Арг
	CUG Лей	CCG Про	CAG Гли	CGG Арг
A	AUU Иле	ACU Тре	AAU Асп	AGU Сер
	AUC Иле	ACC Тре	AAC Асп	AGC Сер
	AUA Иле	ACA Тре	AAA Лиз	AGA Арг
	AUG Мет	ACG Тре	AAG Лиз	AGG Арг
G	GUU Вал	GCU Ала	GAU Асп	GGU Гли
	GUC Вал	GCC Ала	GAC Асп	GGC Гли
	GUA Вал	GCA Ала	GAA Глу	GGA Гли
	GUG Вал	GCG Ала	GAG Глу	GGG Гли

Примечание: U - урацил; A - аденин; G - гуанин; * - терминирующий код

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 (см. рис. 3.7) 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 -ССА, к которому аминокислоты присоединяются α -карбоксильной (СООН) группой.

Для 20 аминокислот, участвующих в синтезе белков, количество тРНК оказалось более 20; каждой аминокислоте соответствуют свои тРНК: для аланина - тРНК^{Ала}, глутамата - тРНК^{Глу} и т.д.

В цитозоле клеток связывание аминокислоты с тРНК катализируют ферменты аминоацилтРНК-синтетазы (aa-тРНК-синтетазы), которые

образуют сложноэфирную связь между α -COOH группой аминокислоты и 3'-ОН-группой рибозы акцепторного триплета -ССА. В ходе реакции молекула АТФ расщепляется на АМФ и $H_4P_2O_7$, давая энергию на образование макроэргической связи между аминокислотой и тРНК, поэтому образование aa-тРНК можно рассматривать как реакцию активации аминокислот.

Семейство aa-тРНК-синтетаз включает около 20 ферментов; для каждой аминокислоты обязательно имеется фермент, катализирующий ее присоединение к тРНК. Названия отдельных aa-тРНК-синтетаз отражают названия аминокислот, которые активируются в ходе реакции. Так, активацию аспартата катализирует аспарагилтРНК-синтетаза, аланина - аланил-тРНК-синтетаза, гистидина - гистидил-тРНК-синтетаза и т.д. (рис. 3.17).

Образование полипептидных цепей белка требует участия большого числа компонентов, основными из которых являются:

- аминокислоты - субстраты синтеза белка;
- мРНК - матрица, содержащая информацию о первичной структуре белка в виде линейной последовательности кодонов;
- тРНК - адапторы аминокислот к кодонам

мРНК;

- aa-тРНК-синтетазы, катализирующие связывание аминокислот с соответствующими

тРНК;

- рибосомы - субклеточные структуры, на которых происходит сборка аминокислот в полипептидные цепи;
- АТФ и ГТФ - источники энергии процесса;
- Mg^{2+} - кофактор, стабилизирующий структуру рибосом;
- факторы инициации, элонгации, терминации - внерибосомные белки, облегчающие и ускоряющие процесс трансляции.

После образования aa-тРНК дальнейшие события по сборке аминокислот в полипептидные цепи белка происходят на рибосомах и включают инициацию, элонгацию и терминацию.

Инициация начинается с присоединения к зрелой мРНК в области кэпа малой субъединицы рибосомы 40S, иницирующей аа-тРНК (у эукариотов это всегда $\text{Met-тРНК}^{\text{Met}}$), факторов инициации и молекулы ГТФ. При связывании антикодона $\text{Met-тРНК}^{\text{Met}}$ с кодоном AUG к образовавшемуся комплексу с затратой энергии ГТФ присоединяется субъединица 60S-рибосомы, а факторы инициации удаляются. Формируется полная 80S-рибосома с двумя активными центрами: Р-центром (пептидильным), с которым оказывается связанной $\text{Met-тРНК}^{\text{Met}}$, и А-центром (аминоацильным), в область которого попадает первый смысловой кодон мРНК (рис. 3.18).

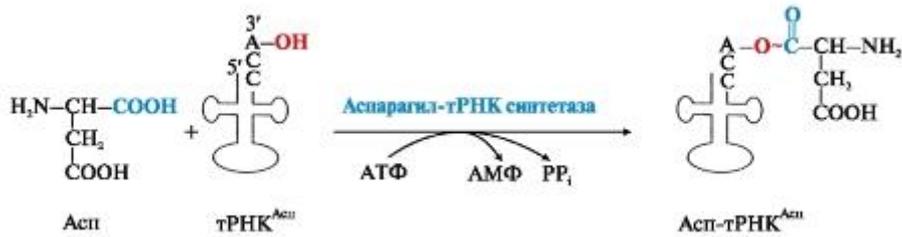


Рис. 3.17. Реакция активации аспартата, катализируемая аспарагил-тРНК-синтетазой

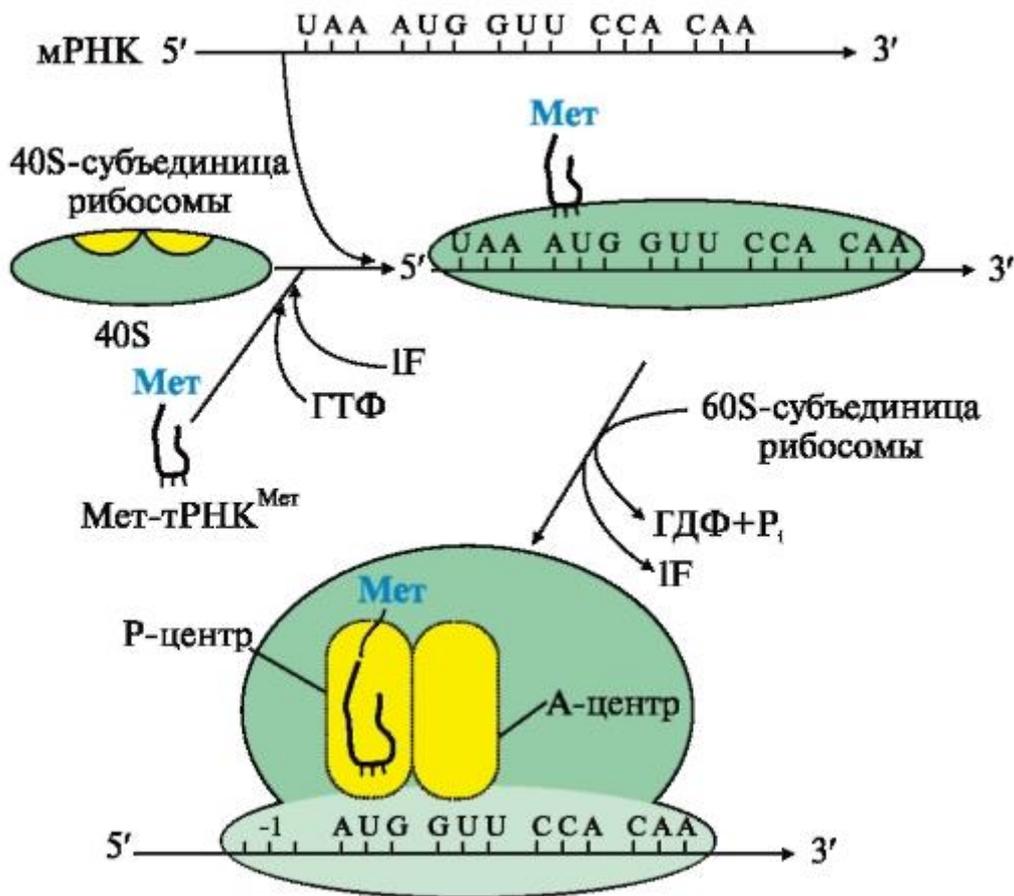


Рис. 3.18. Инициация синтеза белка

Комплекс, состоящий из 40S-субъединицы рибосомы, Мет-тРНК^{Мет}, факторов инициации и молекулы ГТФ прекращает движение по мРНК в области иницирующего кодона. Антикодон Мет-тРНК^{Мет} связывается с кодоном AUG, к комплексу с затратой энергии ГТФ присоединяется 60S субъединица рибосомы, а факторы инициации удаляются. На рибосоме формируются А- и Р- центры.

Элонгация включает три последовательные стадии:

1. Связывание аа-тРНК в А-центре. В свободный А-центр присоединяется аа-тРНК, у которой антикодон комплементарен кодону мРНК, находящемуся в области этого центра. Для того чтобы это событие стало возможным, требуются затрата энергии ГТФ и участие фактора элонгации EF1.
2. Образование пептидной связи. Между α-NH₂- группой аминокислоты, находящейся в А-центре в составе аа-тРНК, и карбоксильной группой метионина или другой аминокислоты, входящей в растущую полипептидную цепь и присоединенной к тРНК Р-центра, возникает пептидная связь. Пептидилтрансфераза, которая катализирует реакцию, образована рРНК большой субъединицы рибосомы. Продуктом реакции становится удлиненная на одну аминокислоту пептидил-тРНК в А-центре рибосомы.
3. Перемещение рибосомы по мРНК (транслокация). Рибосома перемещается по мРНК на один кодон в направлении от 5'- к 3'-концу с использованием энергии ГТФ и при участии фактора элонгации EF2. В результате передвижения рибосомы

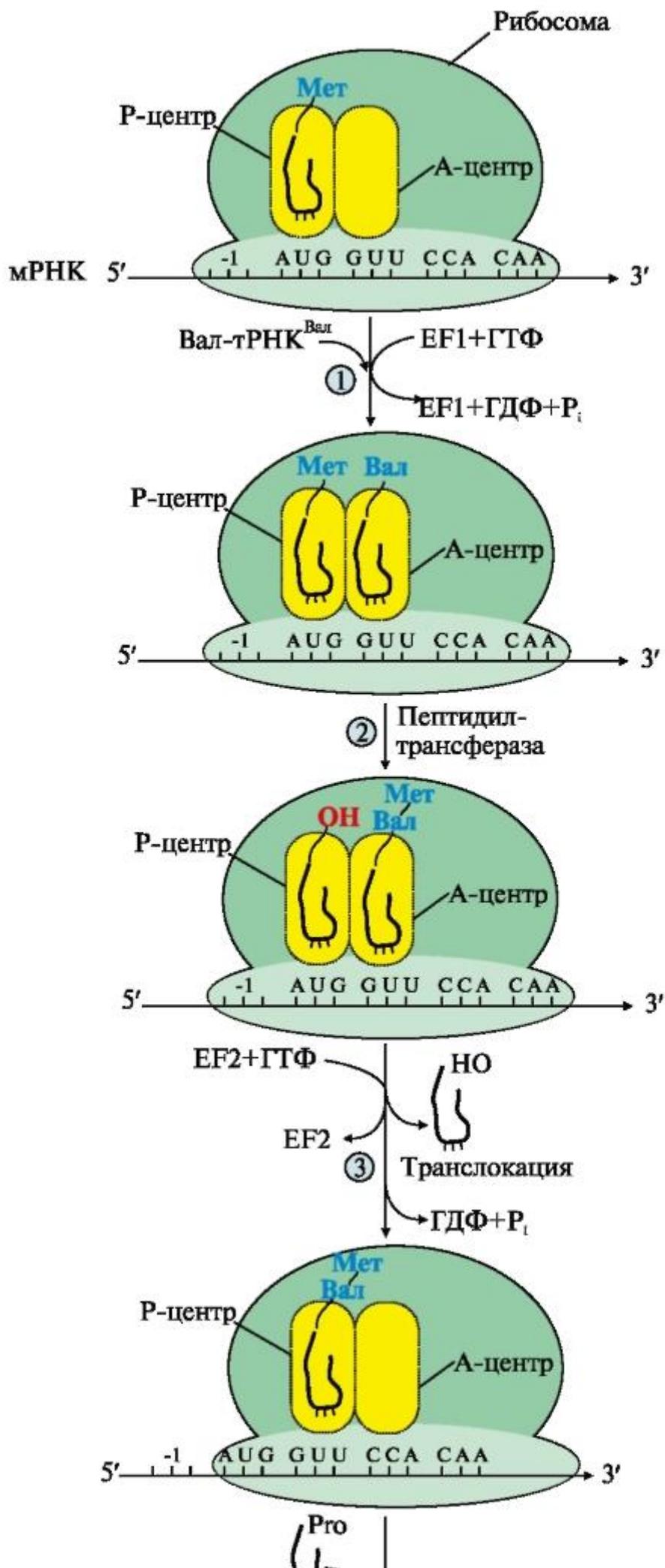


Рис. 3.19. Элонгация синтеза белка

1 - связывание aa-тРНК (aa-тРНК - Вал-тРНК^{Вал}) в А-центре требует затраты энергии ГТФ и участия фактора элонгации EF1; 2 - образование пептидной связи катализирует пептидилтрансфераза, активный центр которой формируется рРНК, входящей в состав большой субъединицы рибосомы; 3 - перемещение рибосомы по мРНК на один кодон в направлении от 5'- к 3'-концу идет с использованием энергии ГТФ (транслокация)

пептидил-тРНК (на рис. 3.19 Met-Вал-тРНК^{Вал}) из А-центра попадает в Р-центр, а в А-центре оказывается следующий кодон мРНК. тРНК, которая передала Met (или растущий пептид) на аминокислоту aa-тРНК (на рис. 3.19 Вал-тРНК^{Вал}) на этом этапе теряет связь с Р-центром и уходит в цитозоль клетки.

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

Терминация. Этот этап наступает, когда в А-центр рибосомы попадает один из стоп-кодонов мРНК - UAA, UAG, UGA. В нем участвуют белковые факторы терминации RF1, RF3, которые узнают эти кодоны и высвобождают вновь синтезированный пептид из связи с тРНК, субъединицами рибосомы и мРНК (рис. 3.20). 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 высвобождается и к нему могут присоединяться новые рибосомы. Как правило, одновременно несколько рибосом могут синтезировать полипептидные цепи на одной и той же мРНК. Комплекс мРНК с несколькими работающими рибосомами образует полирибосому.

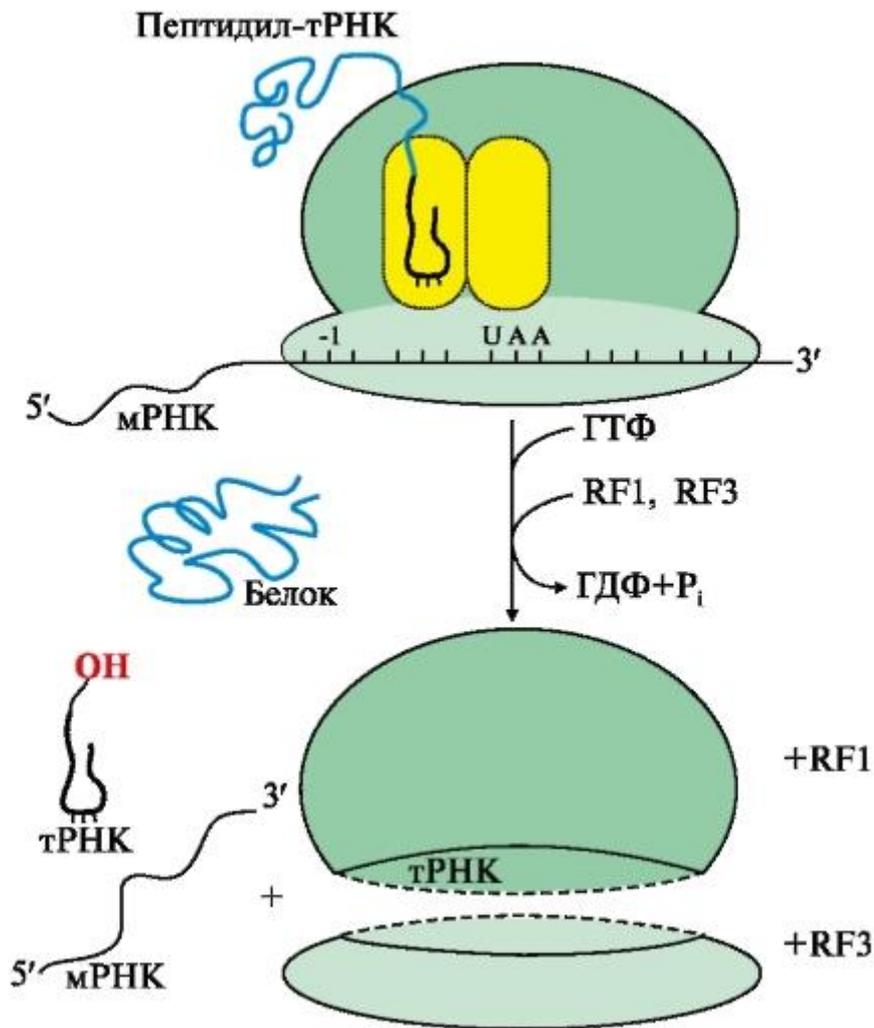


Рис. 3.20. Терминация синтеза белка

При попадании в А-центр стоп-кодона вновь синтезированный пептид высвобождается из связи с тРНК и рибосомой с участием факторов терминации и энергии ГТФ

Встречаются полирибосомы двух типов:

- в виде частиц, плавающих в цитоплазме клеток. Такие свободные полирибосомные образования ответственны за синтез внутриклеточных белков;
- в форме, связанной с эндоплазматическим ретикуломом и обеспечивающей синтез белков на экспорт.

Посттрансляционные модификации белков

Полипептиды, являющиеся продуктом трансляции, не всегда функционально активны и требуют дополнительных посттрансляционных преобразований.

Фолдинг молекул. Так, еще в процессе синтеза полипептидных цепей на рибосоме при участии шаперонов происходит образование вторичной и третичной структуры белка и формирование термодинамически наиболее выгодной пространственной конформации.

Образование дисульфидных связей между остатками цистеина имеет важное значение для формирования нативной структуры белков (инсулина, иммуноглобулинов, рибонуклеазы и др.).

Частичный протеолиз сопровождает синтез всех белков на экспорт, равно как и некоторых внутриклеточных белков, в результате молекулы укорачиваются и меняют конформацию.

Присоединение простетической группы происходит при образовании сложных белков.

Сборка протомеров в олигомерные белки обеспечивает формирование четвертичной структуры белков (НЬ, ЛДГ).

Модификация аминокислотных остатков свойственна многим белкам. Так, фосфорилирование гидроксильных групп в остатках Сер, Тре и Тир изменяет функциональную активность многих регуляторных белков; гидроксилирование остатков Про и Лиз и последующее гликозилирование гидроксизирина в молекулах коллагенов необходимы для формирования фибрилл; ацилирование делает возможным «заякоривание» белков в мембранах. В процессе посттрансляционных модификаций происходят карбоксилирование остатков Глу в факторах свертывания крови и белках костной ткани, метилирование остатков Арг и Лиз в молекулах гистонов, йодирование остатков Тир в белке щитовидной железы - тиреоглобулине и другие превращения аминокислот.

3.6. ИНГИБИТОРЫ МАТРИЧНЫХ БИОСИНТЕЗОВ

Остановка любого из матричных синтезов опасна для клеток и может вызвать их гибель. В настоящее время описана довольно большая группа разных по структуре природных и синтетических соединений, являющихся ингибиторами этих процессов. 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 (табл. 3.4).

Противоопухолевые препараты - ингибиторы репликации. Антибиотики дауномицин, доксорубицин содержат циклическую структуру, которая встраивается (интеркалирует) между комплементарными основаниями G:::C, изменяет структуру ДНК и ингибирует репликацию и транскрипцию. Избирательность их действия невелика и базируется 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 нормальных быстро делящихся клеток организма, таких, как стволовые клетки кроветворной системы, клетки слизистой оболочки желудка и кишечника, фолликулы волос.

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

Антибактериальные препараты разнообразны и у прокариотов могут останавливать любой из матричных синтезов.

Так, в ряде случаев используют антибиотики из семейства фторхинолонов: норфлоксацин, ципрофлоксацин и др. Они являются мощными ингибиторами бактериальной ДНК-гиразы (фермента, аналогичного топоизомеразам эукариотических клеток), которая раскручивает кольцевую спираль бактериальной ДНК и начинает репликацию.

К ингибиторам транскрипции относятся антибиотики из семейства рифамицинов. Они ингибируют бактериальную ДНК-зависимую

Таблица 3.4

Противоопухолевые и антибактериальные препараты - ингибиторы матричных синтезов

Препараты	Механизм действия
Ингибиторы репликации и транскрипции	
Доксорубин Дауномицин Карминомицин	Внедряются (интеркалируют) между основаниями ДНК, вызывают одно- и двух-цепочечные разрывы в ДНК, генерируют свободные радикалы O_2^- , OH^+ , H_2O_2 и усиливают ПОД
Мелфалан Нисплатин Циклофосфан	Имеют функциональные группы, способные взаимодействовать с ДНК и образовывать внутри- и межцепочечные поперечные сшивки в двойной спирали ДНК
Фторхинолоны: нофлоксацин ципрофлоксацин	Ингибируют работу бактериальной ДНК-гиразы – фермента, по механизму действия сходного с эукариотической ДНК-топиомеразой
Рифамицины	Связываются с ДНК-зависимой РНК-полимеразой бактериальных клеток и препятствуют инициации транскрипции
Ингибиторы трансляции	
Тетрациклин	Связывается с малой субъединицей рибосомы и препятствует присоединению aa-тРНК в А-центр
Эритромицин	Соединяется с большой субъединицей рибосомы и ингибирует транслокацию
Линкомицин	Подавляют синтез белка в микробных клетках и эффективен в отношении грамположительных и анаэробных бактерий
Левомипетин	Присоединяется к большой субъединице рибосомы и ингибирует пептидилтрансферазную реакцию

РНК-полимеразу, так как связываются с β -субъединицей фермента и препятствуют инициации транскрипции. Антибиотики этой группы эффективны в лечении туберкулеза, так как специфичны и не влияют на работу ядерных РНК-полимераз у человека.

На подавление работы прокариотической белок-синтезирующей системы направлено действие большой группы антибиотиков, являющихся ингибиторами трансляции. Так, стрептомицин ингибирует инициацию синтеза белка в клетках патогенной микрофлоры и вызывает ошибки в прочтении информации, закодированной в мРНК; тетрациклины связываются с 30S-субъединицей и препятствуют присоединению aa-тРНК в А-центр рибосомы, нарушая процесс элонгации; левомицетин присоединяется к 50S-субъединице рибосомы и подавляет пептидилтрансферазную реакцию; эритромицин также присоединяется к 50S-субъединице рибосомы и ингибирует транслокацию.

Существенными различиями в структуре РНК-полимераз, РНК и белков рибосом у про- и эукариотов объясняются высокая избирательность действия антибактериальных препаратов и их сравнительно малая токсичность для человека, хотя они могут серьезно нарушать флору ротовой полости, кишечника и кожных покровов.

Вирусы и токсины - ингибиторы матричных синтезов у эукариотов

Течение многих вирусных инфекций сопровождается гибелью зараженных клеток. Установлено, что вирусы, попадая в эукариотические клетки, прекращают синтез нуклеиновых 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.

Остановкой матричных биосинтезов объясняются тяжелые последствия, возникающие при попадании в организм человека токсинов. Причиной гибели людей при отравлении бледной поганкой *Amanita phalloides* является токсин α -аманитин, который содержится в теле гриба и вызывает необратимую дисфункцию печени и почек. Токсичность соединения обусловлена его способностью ингибировать РНК-полимеразы, причем наибольшую чувствительность к яду обнаруживает РНК-полимераза II, катализирующая синтез мРНК.

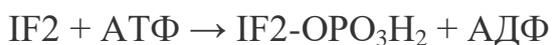
Ингибированием синтеза белков в клетках слизистой оболочки зева и гортани объясняется чрезвычайно тяжелое течение дифтерии. Заболевание вызывает энтеротоксин возбудителя дифтерии *Corynebacterium diphtheriae*. В цитоплазме клеток хозяина токсин расщепляется под влиянием протеолитических ферментов на два фрагмента, один из которых является ферментом АДФ-рибозилтрансферазой. Этот фермент катализирует реакцию:

$$EF2 + NAD^+ \rightarrow \text{АДФ-рибозил-EF2} + \text{Никотинамид} + H^+$$

Субстратом реакции является фактор элонгации EF2. Модификация фактора EF2 нарушает транслокацию рибосом, прекращает биосинтез белков в инфицированных клетках и вызывает их гибель.

Интерфероны - небольшие белки - гликопротеины, секретирующиеся клетками макрофагов, фибробластов, В- и Т- лимфоцитов в ответ на вирусную инфекцию. Эти белки, связываясь с рецепторами на плазматической мембране зараженных клеток, индуцируют синтез белков и ферментов, способных разрушать мРНК вирусов и прекращать синтез белков на рибосомах. Интерфероны:

- активируют РНКазу, расщепляющую мРНК и рРНК, необходимые для образования белков;
- стимулируют синтез протеинкиназы, которая фосфорилирует и тем самым инактивирует фактор инициации трансляции IF2 в эукариотических клетках:



В результате синтез всех белков в инфицированных клетках прекращается. Клетки погибают, но при этом останавливается размножение вирусов и наступает выздоровление.

3.7. РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА БЕЛКОВ У ЭУКАРИОТ

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

- механизмов, которые сохраняют стабильную репрессию транскрипции одних генов и прочтение (экспрессию) других на протяжении всей жизни клетки и даже многих ее генераций, 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 ядрах дифференцированных клеток хроматин приобретает такую укладку, что остается только небольшое число генов (часто около 5-10%), способных транскрибироваться. Различают участки гетерохроматина, в которых ДНК упакована очень компактно и недоступна для транскрипции, и участки эухроматина, имеющие более рыхлую укладку и способные связывать РНК-полимеразу. В разных типах клеток в область эухроматина попадают разные гены, они транскрибируются и обуславливают образование белков, специфичных для определенной ткани. 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 транскрибируемые гены. Для этих областей характерны:

- более высокая чувствительность к действию

ДНКаз;

- модификация гистонов путем метилирования, ацетилирования (радикалов Лиз и Арг) или фосфорилирования (остатков Сер). Это снижает суммарный положительный заряд гистонов и ослабляет их связь с ДНК;
- присоединение в область активного хроматина негистоновых положительно заряженных НМГ-белков, которые связываются с ДНК и повышают транскрипционную активность генов.

В эукариотических клетках набор и количество белков могут регулироваться на разных уровнях реализации генетической информации в фенотипическую (рис. 3.21).

Важнейшим этапом, определяющим набор и количество белков в клетке, является транскрипция. У животных и человека большинство транскрибируемых генов кодирует белки «домашнего хозяйства», которые синтезируются постоянно и обеспечивают жизнеспособность клеток. Это гены ферментов, участвующих в биологическом окислении, синтезе АТФ, построении мембран и нуклеиновых кислот. В то же время некоторые гены транскрибируются в разное время с разной интенсивностью. На молекуле ДНК на разном расстоянии от стартовой точки транскрипции каждого гена имеются короткие специфические последовательности, которые обеспечивают

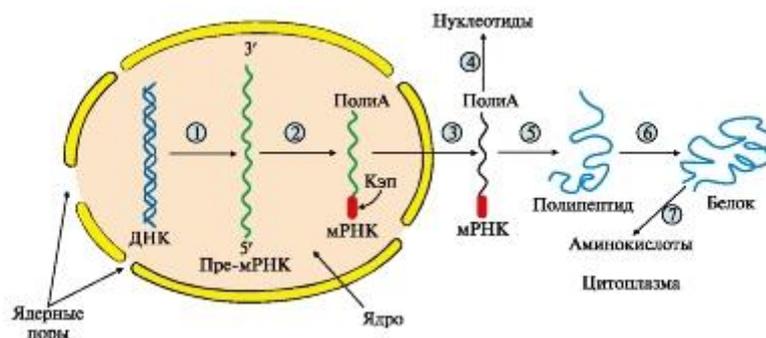


Рис. 3.21. Регуляция этапов реализации генетической информации в фенотипическую

Процесс реализации генетической информации регулируется 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

регуляцию экспрессии генов. К этим участкам 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) (рис. 3.22). Эти специфические последовательности могут быть ориентированы на молекуле ДНК в любом направлении, связываться с одним или несколькими регуляторными белками, располагаться перед или после гена, экспрессию которого они регулируют.

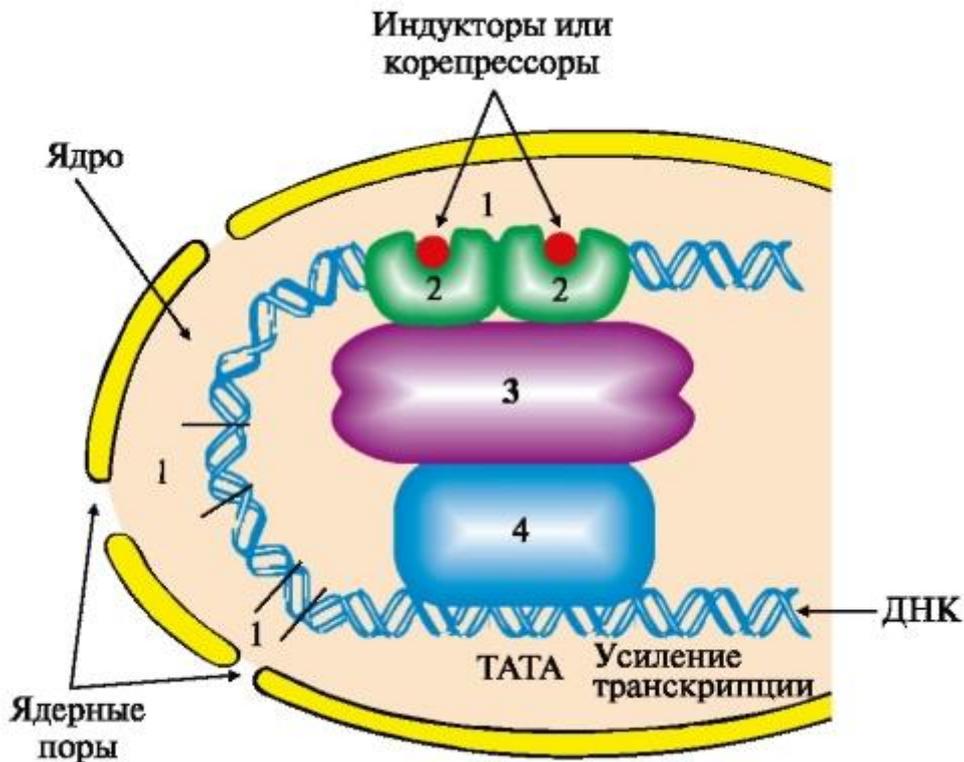


Рис. 3.22. Регуляция транскрипции у эукариот.

1- регуляторные участки ДНК; 2 - регуляторные белки; 3 - белки-коактиваторы; 4 - РНК-полимеразный комплекс.

Область, обеспечивающая контроль экспрессии генов, включает промоторный участок и дополнительные регуляторные последовательности (например, энхансеры и сайленсеры). Белки, регулирующие транскрипцию генов и непосредственно связывающиеся с ДНК, называют регуляторными белками. Они влияют на скорость транскрипции генов, связываясь с белками-посредниками или коактиваторами, передающими сигнал на основные транскрипционные факторы РНК-полимеразного комплекса, который обеспечивает минимальный уровень транскрипции

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 индукторы или корепрессоры;
- участок, взаимодействующий с белками-посредниками или транскрипционными факторами и изменяющий сродство промотора к РНК-полимеразе.

Например, стероидные гормоны кортизол, альдостерон легко проходят плазматическую мембрану и в цитозоле клеток-мишеней присоединяются к белку-рецептору. Образуется комплекс гормонрецептор, который проходит ядерную мембрану и связывается с регуляторным участком определенного гена. При присоединении к энхансеру конформация ДНК изменяется таким образом, что сродство промотора к РНК-полимеразе возрастает, вызывая индукцию транскрипции. Если комплекс гормон-рецептор связывается с сайленсером, то конформационные изменения ДНК делают ее менее доступной для транскрипции.

Определенное значение в регуляции состава и содержания белков имеют посттранскрипционные превращения пре-мРНК в процессе альтернативного сплайсинга и изменения стабильности РНК в разные периоды жизни клетки. Описаны примеры изменения скорости синтеза белков на уровне трансляции и изменения продолжительности жизни белковых молекул.

3.8. МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ.

ПОЛИМОРФИЗМ БЕЛКОВ. НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ

Геном клеток постоянно претерпевает разнообразные изменения и, несмотря на эффективность механизмов репарации, часть ошибок и повреждений в структуре ДНК сохраняется. Нерепарированные изменения в первичной структуре ДНК называют мутациями. Они возникают в результате ошибок в работе ДНК-полимераз в ходе репликации, ДНК-репарирующих систем или под воздействием факторов внешней или внутренней среды. Мутации в соматических клетках 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:

- замена, при которой одно азотистое основание в ДНК замещается другим;
- вставка, возникающая при внедрении в структуру ДНК одного или нескольких дополнительных нуклеотидов;

- делеция, или выпадение, одного или нескольких нуклеотидов, при котором происходит укорочение молекулы ДНК.

Каждый вид мутаций вызывает разные фенотипические последствия (табл. 3.5).

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

- мутация может быть молчащей, если триплет, в котором находится замененный нуклеотид, из-за вырожденности кода шифрует включение в белок той же аминокислоты, что и исходный кодон. Структура белкового продукта в этом случае не меняется. Например:

	Исходный	Мутантный
Кодон ДНК	3'-GGT-5'	3'-GGA-5'
Кодон РНК	5'-ССА-3'	5'-CCU-3'
Аминокислота	-Про-	-Про-

- 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)

	Исходный	Мутантный
Кодон ДНК	3'-GGT-5'	3'-AGT-5'
Кодон РНК	5'-ССА-3'	5'-UCA-3'
Аминокислота	-Про-	-Сер-

Таблица 3.5

Основные виды генных мутаций

Вид мутации	Изменения в структуре ДНК	Изменения в структуре белка
Замена:	Замена в кодоне одного нуклеотида другим	Белок не изменен
молчащая без изменения смысла кодона		Замена одной аминокислоты другой
«миссенс-мутация» с изменением смысла кодона		На мутантном триплете синтез пептидной цепи прекращается
«нонсенс-мутация» с образованием терминирующего кодона		
Вставка	Включение нуклеотидов в структуру ДНК	Удлинение полипептидной цепи белка
без сдвига рамки считывания информации	Вставка фрагмента ДНК из 3 нуклеотидов или числа нуклеотидов, кратного 3	Удлинение полипептидной цепи белка на одну или несколько аминокислот
со сдвигом рамки считывания	Вставка одного или нескольких нуклеотидов в количестве, не кратном 3	Белок за местом мутации имеет «случайную» последовательность аминокислот
Делеция:	Выпадение нуклеотидов и укорочение молекулы ДНК	Укорочение белка
без сдвига рамки считывания информации	Выпадение фрагмента ДНК, состоящего из 3 нуклеотидов или числа нуклеотидов, кратного 3	Укорочение полипептидной цепи белка на одну или несколько аминокислот
со сдвигом рамки считывания	Выпадение одного или нескольких нуклеотидов в количестве, не кратном 3	Белок укорачивается и за местом мутации имеет «случайную» последовательность аминокислот

Как видно из вышеприведенного примера, гидрофобная алифатическая аминокислота -Про заменяется гидрофильной -Сер. Обычно миссенсмутация делает белок менее эффективным, но в единичных случаях может улучшать его функцию;

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

• Делеция и вставка дают также неоднозначные результаты:

- если включается или выпадает один нуклеотид или фрагмент ДНК с числом нуклеотидов, не кратным 3, происходит сдвиг рамки считывания информации, т.е. при трансляции вся информация, расположенная за местом мутации, читается неверно. Синтезируется белок со случайной последовательностью аминокислот в участке, расположенном за местом мутации;

- при выпадении или включении в ДНК участка с длиной цепи, кратной 3, сдвига рамки считывания информации не происходит (делеция или вставка без сдвига рамки считывания информации). Синтезируется укороченный при делеции или удлинённый 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 изменения. Если у человека имеются два различающиеся между собой 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 из них. Белковые продукты, образующиеся при экспрессии вариантов одного и того же гена, называют полиморфами.

Полиморфные белки могут различаться по функциональной активности. Появление в половых клетках вариантов с сильно сниженной функциональной активностью или полностью неактивных приводит к развитию наследственных болезней. Так, отсутствие активного фермента фенилаланингидроксилазы, катализирующего превращение Фен в Тир, приводит к развитию тяжелейшего заболевания - фенилкетонурии. Низкая активность любого из ферментов, участвующих в синтезе мочевины, сопровождается симптомами накопления аммиака в организме - гипераммониемией. С многочисленными примерами других наследственных болезней вы встретитесь в последующих разделах учебника.

Накопление мутаций 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, коллагены, группа протеолитических ферментов (трипсин, химотрипсин, плазмин, тромбин и др.).

3.9. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК-ТЕХНОЛОГИЙ В МЕДИЦИНЕ

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

- мутаций в генах;
- инфицированности человека бактериями или вирусами;
- носительства патологических генов, являющихся причиной наследственных болезней;

- особенностей генома личности и установления родства.

С этой целью ДНК выделяют из биологических жидкостей, тканей и клеток, содержащих ядра: лейкоцитов, слюны, мочи, биоптатов тканей, гистологических срезов и фрагментируют с помощью гидролитических ферментов - рестриктаз. Количество исследуемого фрагмента ДНК очень мало, поэтому его многократно удваивают (амплифицируют) с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) *in vitro* (в пробирке).

Условием проведения ПЦР является знание нуклеотидной последовательности концевых участков фрагмента. В соответствии с этим химическим путем синтезируют два праймера - одноцепочечных олигодезоксирибонуклеотида, 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 (Taq-полимеразу); два праймера; буфер для создания оптимального рН и ионы Mg^{2+} , являющиеся кофактором Taq- полимеразы. Праймеры ограничивают участок ДНК, который должен быть амплифицирован. Каждый цикл получения копий ДНК включает три стадии (рис. 3.23).

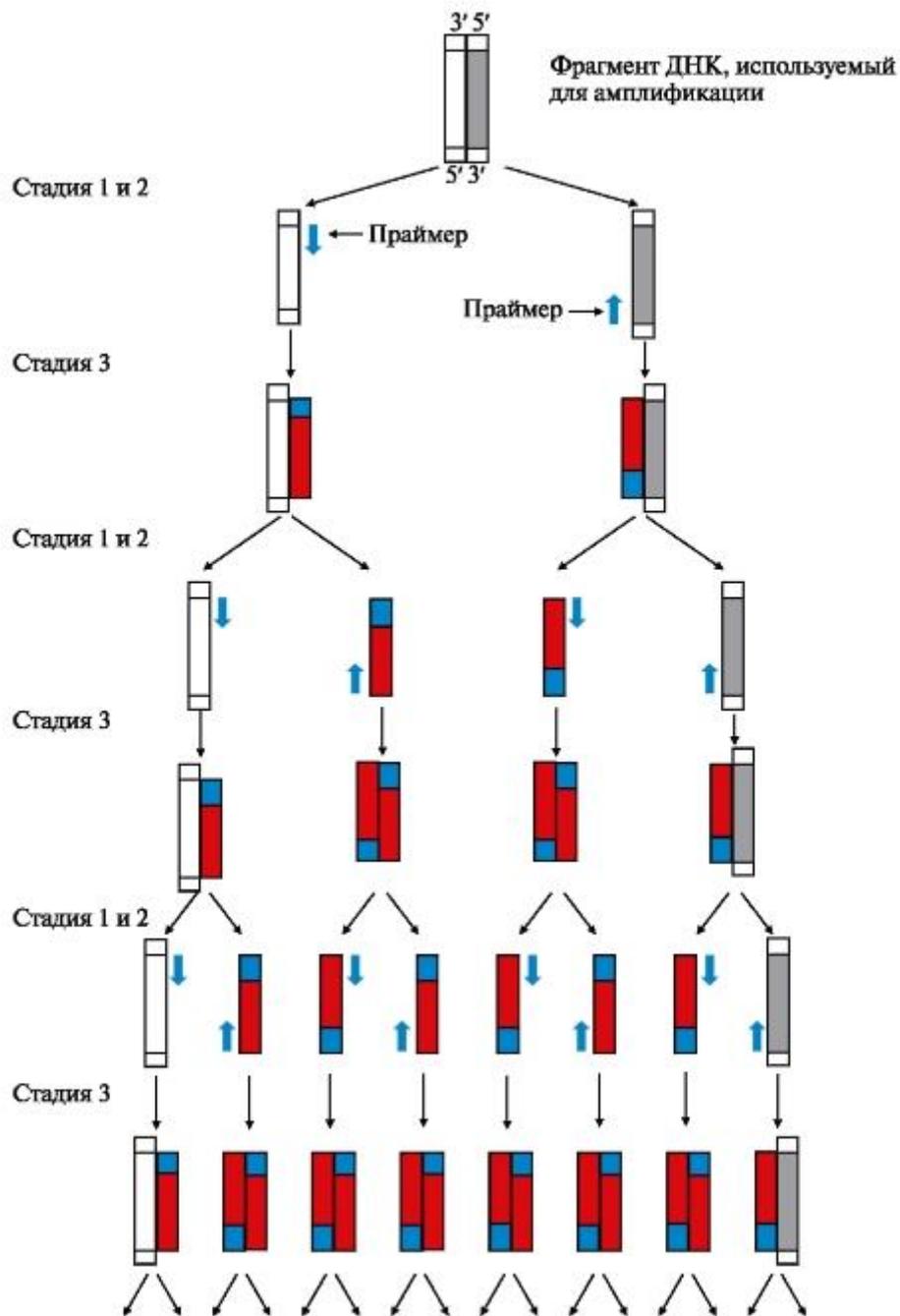


Рис. 3.23. Полимеразная цепная реакция

Праймеры - полученные химическим синтезом олигодезоксирибонуклеотиды.

Стадии 1 и 2 - нагревание до 90-95 °С и денатурация ДНК, охлаждение до 50-60 °С и комплементарное связывание ДНК с праймерами; стадия 3 - элонгация праймеров с участием субстратов: дАТФ, дГТФ, дТТФ и дЦТФ и Таq-полимеразы.

- плавление: реакцию смесь нагревают до 90-95 °С, ДНК денатурирует, образуя одноцепочечные нити;

- гибридизацию ДНК с праймерами: температуру снижают до 50-60 °С, и праймеры комплементарно связываются с нитями ДНК;
- элонгацию: присоединение Таq-полимера-зы к 3'-концам праймеров и синтез ДНК в направлении от 5'- к 3'-концу комплементарно матрице ДНК.

Процесс автоматизирован, проводится в приборе - циклизаторе (амплификаторе) ДНК, который позволяет задавать нужное количество циклов и оптимальные временные и температурные параметры. За 25-30 циклов синтезируется несколько миллионов копий исследуемого участка ДНК.

В рамках международного проекта «Геном человека» практически завершена расшифровка структуры генов человека и ведется работа по установлению дефектов, приводящих к развитию наследственных болезней и других патологических процессов. Основным методом, который используется в этих работах, является ПЦР.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выберите правильный ответ.

Генетический код:

- А. Совокупность генов, определяющих фенотипические признаки организма.
- Б. Порядок чередования нуклеотидов в молекуле мРНК.
- В. Способ шифрования первичной структуры белков в нуклеотидной последовательности ДНК и РНК.
- Г. Соответствие между последовательностью кодонов мРНК и первичной структурой белка.
- Д. Триплет нуклеотидов, кодирующий одну аминокислоту.

2. Выберите правильный ответ. Коллинеарность:

- А. Способ записи первичной структуры белков с помощью нуклеотидной последовательности ДНК или РНК.
- Б. Характер связи аа-тРНК с кодоном мРНК.
- В. Соответствие между последовательностью кодонов мРНК и первичной структурой белка.
- Г. Набор генов, определяющий фенотипи-

ческие признаки организма. Д. Соответствие между структурой мРНК и геном, содержащим информацию об этой мРНК. 3. Выполните «цепное» задание.

а) На рис. 3.24 изображен один из этапов синтеза белка.

А. Инициация. Б. Элонгация.

В. Терминация.

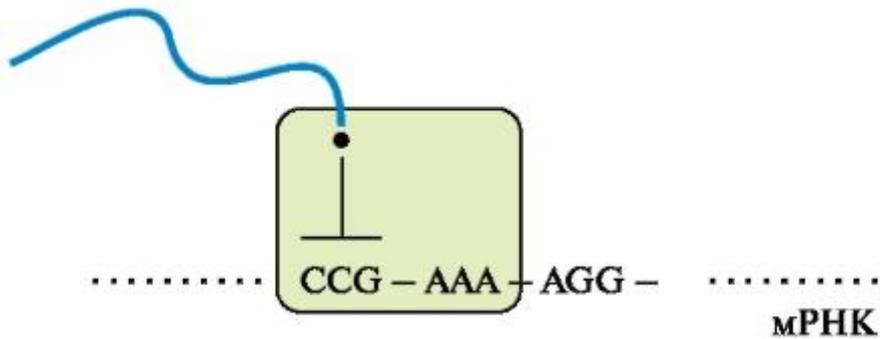


Рис. 3.24. Этап синтеза белка

б) с тРНК в пептидильном центре непосредственно связана аминокислота:

А. Глу. Б. Ала.

В. Лей. Г. Про. Д. Мет.

в) следующей стадией биосинтеза белка будут:

А. Образование пептидной связи. Б. Включение aa-тРНК в Р-центр.

В. Транслокация.

Г. Включение aa-тРНК в А-центр.

г) за ней следуют:

А. Образование пептидной связи.

Б. Перенос остатка аминокислоты с аатРНК на растущую полипептидную цепь в Р-центр.

В. Транслокация. Г. Терминация.

д) на нее затрачивается энергия:

А. ГТФ. Б. АТФ.

В. Макроэргической связи aa-тРНК.

Г. Макроэргической связи пептидил-тРНК.

4. Выполните «цепное» задание.

а) В синтезе белков у про- и эукариот участвуют:

А. Нуклеосомы. Б. Рибосомы.

В. мяРНП.

Г. SSB-белки.

б) эти структуры образованы только из:

А. Белков.

Б. РНК и белков.

В. РНК.

Г. ДНК и белков.

в) у прокариот к этим структурам могут присоединиться:

А. Блеомицин. Б. Рифамицин.

В. Эритромицин. Г. Доксорубицин.

г) в результате этого взаимодействия подавляются:

А. Репликация.

Б. Транскрипция у прокариот.

В. Трансляция у прокариот. Г. Трансляция у эукариот.

5. Выберите правильные ответы.

В качестве антибактериального препарата можно использовать:

А. Мелфалан, алкилирующий молекулу

ДНК.

Б. Тетрациклин, связывающийся с 30S- субъединицей рибосомы прокариот.

В. Интерфероны, инактивирующие фактор инициации - IF2.

Г. Антибиотики из семейства фторхинолонов - ингибиторы ДНК-гиразы.

Д. Доксорубицин, интеркалирующий между основаниями молекулы ДНК.

6. Выполните «цепное» задание.

В гене белка X произошла замена 3-его нуклеотида в триplete АСА, которая привела к появлению в клетке укороченного белка.

а) выберите замену, которая вызывает нонсенсмутацию:

А. Замена А на G. Б. Замена А на Т.

В. Замена А на С.

б) такая замена может быть результатом:

А. Химической модификации азотистого основания.

Б. Ошибки репликации.

В. Повреждения ДНК УФО.

в) к появлению мутации привело снижение активности фермента:

А. ДНК-полимеразы β. Б. РНК-полимеразы II.

В. Фототиазы.

Г. Эндонуклеазы и экзонуклеазы. Д. ДНК-лигазы.

7. Выберите правильные ответы.

Полиморфные варианты белков:

А. Являются результатом ошибок транскрипции.

Б. Имеют общий ген-предшественник.

В. Могут возникать в ходе рекомбинаций при мейозе.

Г. Являются результатом мутаций в копиях

одного гена. Д. Появляются при снижении активности

ферментов репарации.

8. Заполните графу IV в таблице 3.2 «Матричные процессы».

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. В эукариотических клетках дифтерийный токсин вызывает АДФ-рибозилирование фактора, участвующего в стадии транслокации, и нарушает синтез белка.

На каком этапе роста полипептидной цепи необходим этот фактор? Для ответа на вопрос:

- а) представьте схему событий на рибосоме и отметьте стадию, на которой произойдет остановка белкового синтеза;
- б) объясните, что произойдет с клетками, на которые подействовал дифтерийный токсин.

2. Несовершенный (наследственный) дентиногенез возникает вследствие мутаций в генах белков одонтобластов. Объясните причины этой патологии, ответив на следующие вопросы:

- а) что может привести к появлению «неправильных» генов? Какие изменения в структуре белков могут вызвать разные типы мутаций?
- б) снижение активности ферментов какого процесса ведет к появлению таких нарушений в структуре белков?

3. В ходе проверки семьи на носительство гена HbS методом ПЦР студент, проведя электрофорез, получил результаты, представленные на рисунке 3.25.

Объясните результаты анализа. Для этого:

- а) опишите принцип метода и условия проведения ПЦР;
- б) укажите причину наследственной патологии;
- в) назовите заболевание, которым страдает ребенок.

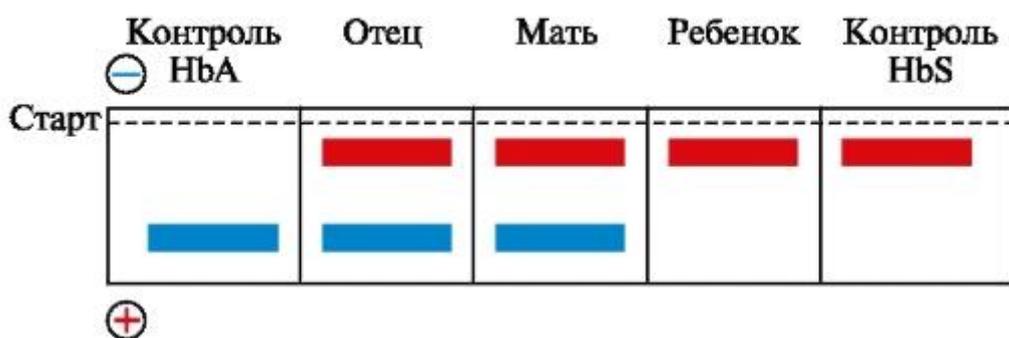


Рис. 3.25. Электрофореграмма продуктов рестрикции ДНК гена β -цепи Hb

4. При синтезе в организме избыточного количества гормона альдостерона наблюдается снижение содержания ионов Na^+ в слюне и моче и его повышение в крови и внеклеточной жидкости за счет увеличения количества белков-переносчиков этих ионов в канальцах нефронов. Объясните, как действует альдостерон на клетки-мишени? Для этого:

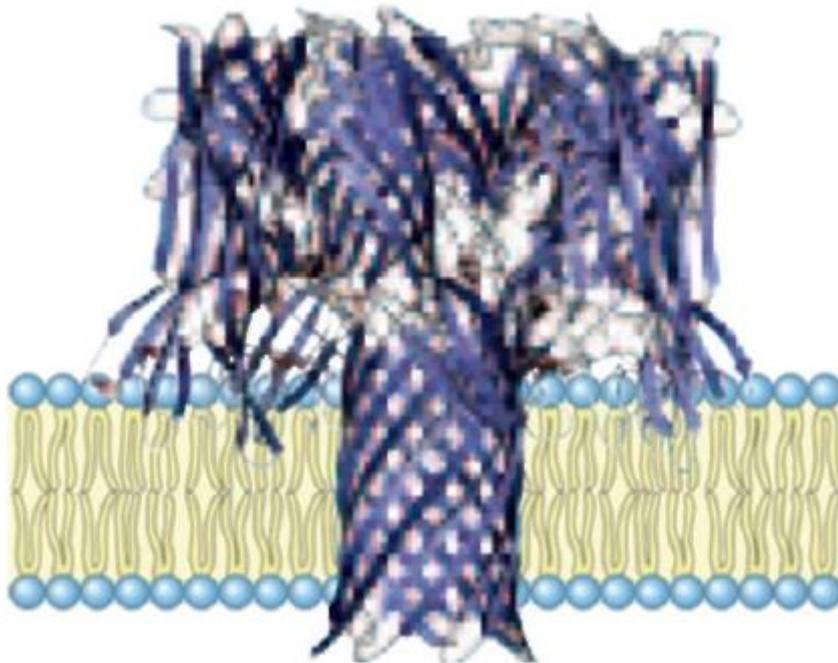
а) назовите матричный процесс, который ускоряется первично при действии гормона;

б) представьте схему регуляции этого процесса.

5. В организме человека существует около 200 типов дифференцированных клеток, которые характеризуются различными морфологическими особенностями и имеют разнообразные функции. Как можно объяснить, что ферменты синтеза мочевины есть в печени и отсутствуют в других тканях? Хотя известно, что практически все клетки нашего организма имеют одинаковый набор генов.

Укажите механизмы, которые в дифференцированных клетках обеспечивают включение одних генов и стабильное выключение других.

РАЗДЕЛ 4. БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ



Основные темы раздела:

4.1. Строение и состав мембран.

4.2. Перенос веществ через мембраны.

4.3. Участие мембран в межклеточных взаимодействиях.

4.4. Трансмембранная передача сигналов.

Все клетки, а также их органеллы окружены мембранами, которые играют важную роль как в структурной организации, так и в функционировании клеток и клеточных органелл.

Мембраны:

- отделяют клетки от окружающей среды и делят ее на компартменты (отсеки);
- регулируют транспорт веществ в клетку и органеллы или в обратном направлении;
- обеспечивают специфику межклеточных контактов;
- воспринимают сигналы из внешней среды.

Согласованное функционирование мембранных систем - рецепторов, ферментов, транспортных механизмов - помогает поддерживать гомеостаз клетки и в то же время быстро реагировать на изменения внешней среды.

Основные принципы структурной организации всех мембран одинаковы. Однако плазматическая мембрана, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, митохондриальная и ядерная мембраны имеют существенные структурные различия, они уникальны по своему составу и характеру выполняемых функций.

4.1. СТРОЕНИЕ И СОСТАВ МЕМБРАН

Биологические мембраны построены из липидов и белков, связанных друг с другом с помощью нековалентных взаимодействий (рис. 4.1).

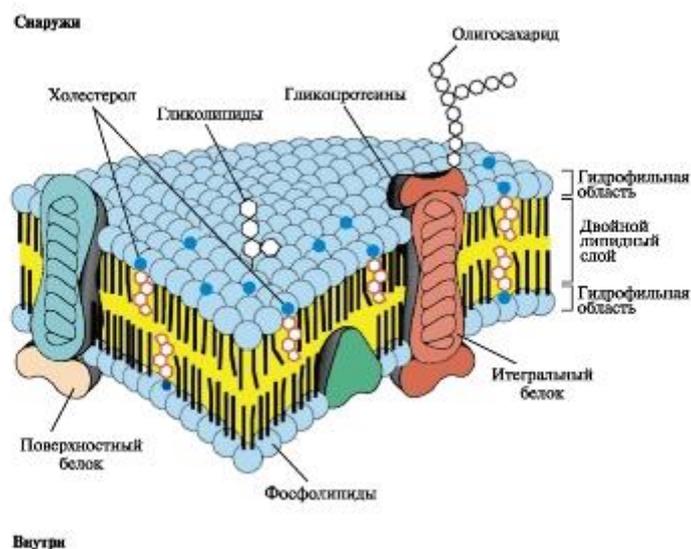


Рис 4.1. Поперечный разрез плазматической мембраны

Основу мембраны составляет двойной липидный слой, в формировании которого участвуют фосфолипиды, гликолипиды и холестерол. Липидный бислой образован двумя рядами амфифильных молекул, гидрофобные радикалы которых спрятаны внутрь, а гидрофильные группы обращены наружу и контактируют с водной средой. Белковые молекулы как бы растворены в липидном бислое.

Липиды мембран

Липиды мембран амфифильны, т.е. в молекуле имеются как гидрофильные группы - полярные «головки», так и алифатические радикалы - гидрофобные «хвосты», самопроизвольно формирующие бислой. В мембранах присутствуют липиды трех главных типов: фосфолипиды, гликолипиды и холестерол (рис. 4.2, 4.3).

Глицерофосфолипиды - производные фосфатидной кислоты.

Липиды - производные аминспирта сфингозина

Аминспирт сфингозин при ацилировании (присоединении жирной кислоты) превращается в церамид. Церамиды различаются по остатку жирной кислоты (R_1). С OH-группой церамида могут быть связаны разные полярные группы. В зависимости от строения полярной «головки» эти производные разделены на две группы - фосфолипиды и гликолипиды. Строение полярной группы сфингофосфолипидов сходно с таковыми у глицерофосфолипидов.

Гликолипиды, или гликозилцерамиды, представляют собой углеводные производные церамида. В зависимости от строения углеводной составляющей различают цереброзиды и ганглиозиды.

Холестерол (рис. 4.4) содержится в мембранах клеток всех животных, придает мембранам жесткость и снижает жидкость (текучесть) их гидрофобного слоя. Молярное соотношение холестерол/другие липиды в мембранах равно 0,3 - 0,9. Самое высокое его значение имеет цитоплазматическая мембрана.

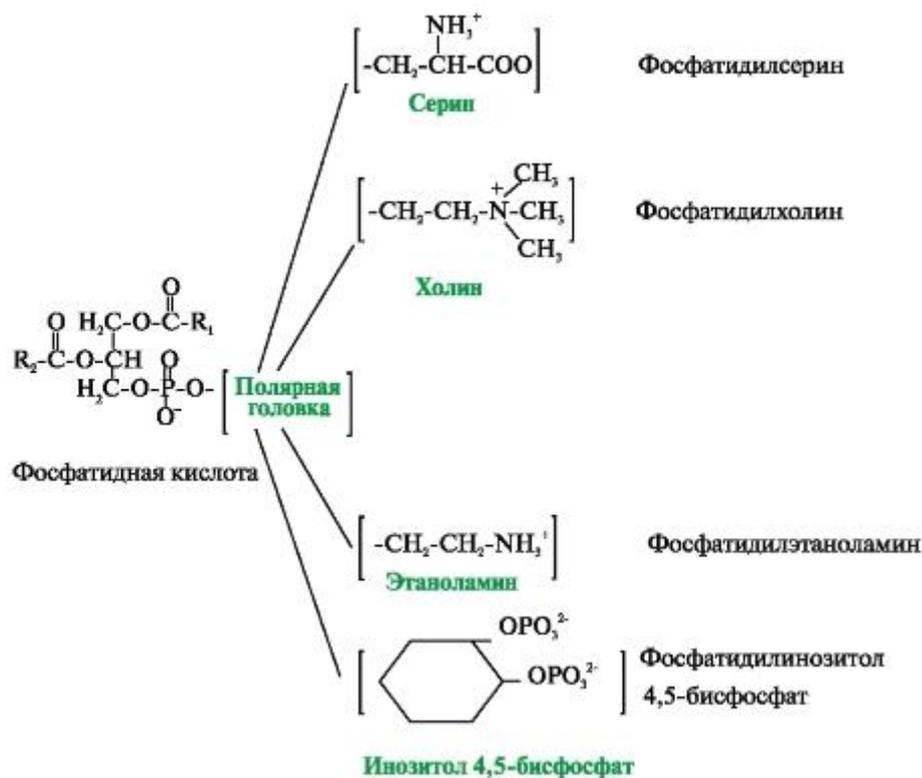


Рис 4.2. Глицерофосфолипиды

Фосфатидная кислота - это диацилглицеролфосфат. R₁ и R₂ - остатки жирных кислот (гидрофобные «хвосты»). Со 2-м углеродным атомом глицерола связан остаток (-R₂) полиненасыщенной жирной кислоты. Ненасыщенные жирные кислоты в составе липидов мембран встречаются в 2 раза чаще, чем насыщенные. Полярной «головкой» являются остаток фосфорной кислоты и присоединенный к нему серин, холин, этаноламин или инозитол

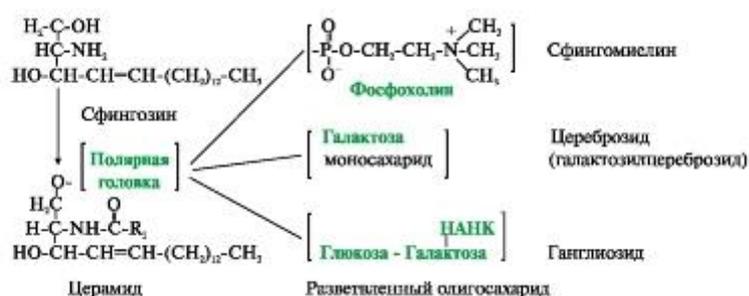


Рис. 4.3. Производные аминокспирта сфингозина

Церамид - ацилированный сфингозин (R₁-остаток жирной кислоты). К фосфолипидам относятся сфингомиелины, у которых полярная группа состоит из остатка фосфорной кислоты и холина, этаноламина или серина. Много сфингомиелинов содержится в составе миелиновой оболочки нервных волокон. Гидрофильной группой (полярной «головкой») гликолипидов является углеводный остаток. Цереброзиды содержат моноили

олигосахаридный остаток линейного строения. Ганглиозиды содержат разветвленный олигосахарид, содержащий N-ацетилнейра-миновую кислоту (НАНК)

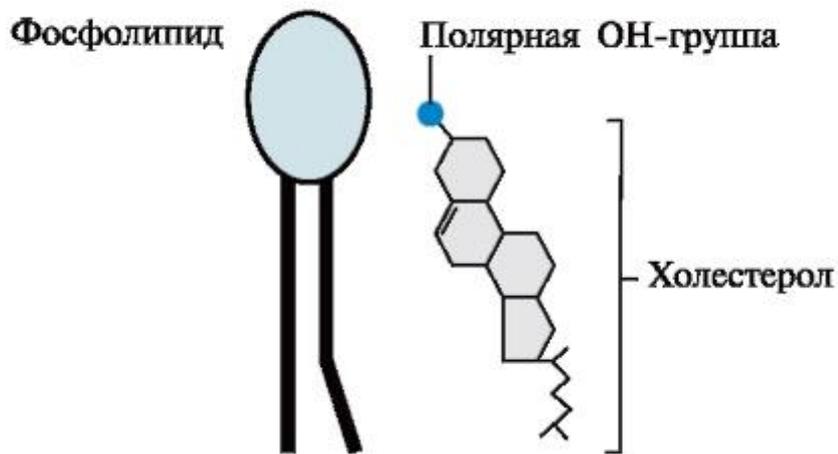


Рис. 4.4. Положение в мембране фосфолипидов и холестерина

Молекула холестерина состоит из жесткого гидрофобного ядра и гибкой углеводородной цепи. Полярной «головкой» является ОН-группа у 3-го углеродного атома молекулы холестерина. (Для сравнения на рисунке представлено схематическое изображение фосфолипида мембран. Полярная «головка» этих молекул значительно больше и имеет заряд.)

Липидный состав мембран различен, содержание того или другого фосфолипида или гликолипида, по-видимому, определяется разнообразием функций, которые выполняют эти молекулы в мембранах.

Липиды мембран:

- формируют липидный бислой - структурную основу мембран;
- обеспечивают необходимую для функционирования мембранных белков среду;
- участвуют в регуляции активности ферментов;
- служат «якорем» для поверхностных белков;
- участвуют в передаче гормональных сигналов.

Изменение структуры липидного бислоя приведет к нарушению функций мембран.

Белки мембран

Белки мембран различаются по своему положению в мембране (рис. 4.5). Мембранные белки, контактирующие с гидрофобной областью липидного бислоя, должны быть амфифильными, т.е. иметь неполярный домен. Амфифильность достигается благодаря тому, что:

- аминокислотные остатки, контактирующие с липидным бислоем, в основном неполярны;
- многие мембранные белки ковалентно связаны с остатками жирных кислот (ацилированы).

Ацильные остатки жирных кислот, связанные с белком, обеспечивают его «заякоривание» в мембране и возможность латеральной диффузии. Белки мембран также подвергаются посттрансляционным модификациям - гликозилированию и фосфорилированию.

Наружный и внутренний слои одной и той же мембраны различаются по составу липидов и белков. Это особенность в строении мембран называется трансмембранной асимметрией.

Белки мембран могут участвовать в:

- иммунных реакциях;
- взаимодействии клеток друг с другом, обеспечивая образование тканей и органов;
- передаче гормональных сигналов;
- избирательном транспорте веществ в клетку и из клетки;
- качестве ферментов в превращениях веществ;
- образовании окаймленных ямок, обеспечивающих эндоцитоз.

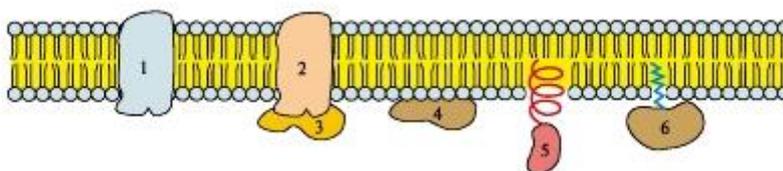


Рис 4.5. Белки мембран

1, 2 - интегральные (трансмембранные) белки; 3-6 - поверхностные белки. В интегральных белках часть полипептидной цепи погружена в липидный слой. Те участки белка, которые взаимодействуют с углеводородными цепями жирных кислот, содержат преимущественно неполярные

аминокислоты. Участки белка, находящиеся в области полярных «головок», обогащены гидрофильными аминокислотными остатками. Поверхностные белки разными способами прикрепляются к мембране: 3 - связанные с интегральными белками; 4 - присоединенные к полярным «головкам» липидного слоя; 5 - «заякоренные» в мембране с помощью короткого гидрофобного концевых домена; 6 - «заякоренные» в мембране с помощью ковалентно связанного ацильного остатка

4.2. ПЕРЕНОС ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ

Одна из главных функций мембран - регуляция переноса веществ в клетку и из клетки, сохранение веществ, которые нужны клетке, и освобождение от ненужных. Прохождение веществ через мембраны может проходить по градиенту концентрации - пассивный транспорт (рис. 4.6) и против градиента концентрации - активный транспорт.

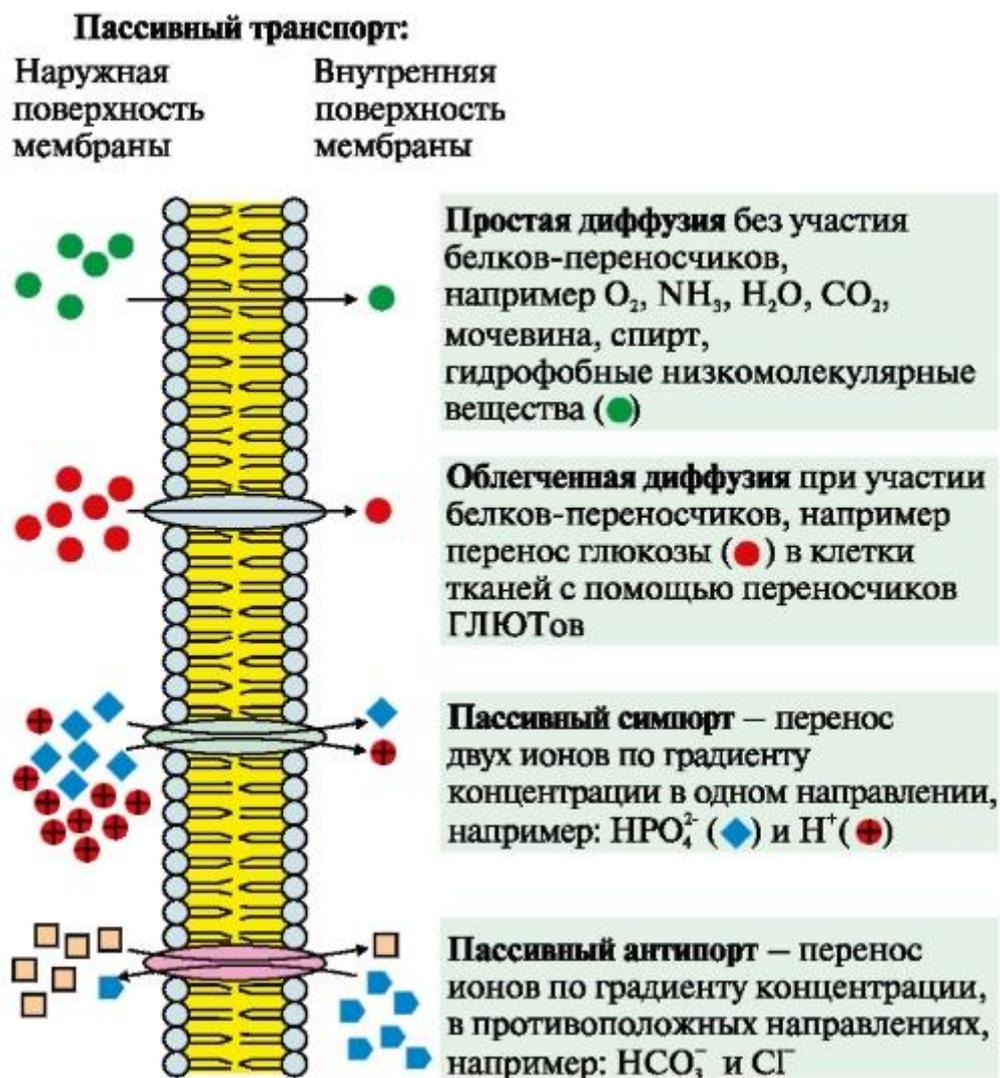


Рис. 4.6. Механизмы переноса веществ через мембраны по градиенту концентрации

Простая диффузия ионов по белковым каналам, например диффузия H^+ , Ca^{2+} , Na^+ , K^+ . Большинство каналов регулируются специфическими лигандами или изменением трансмембранного потенциала (рис. 4.7).

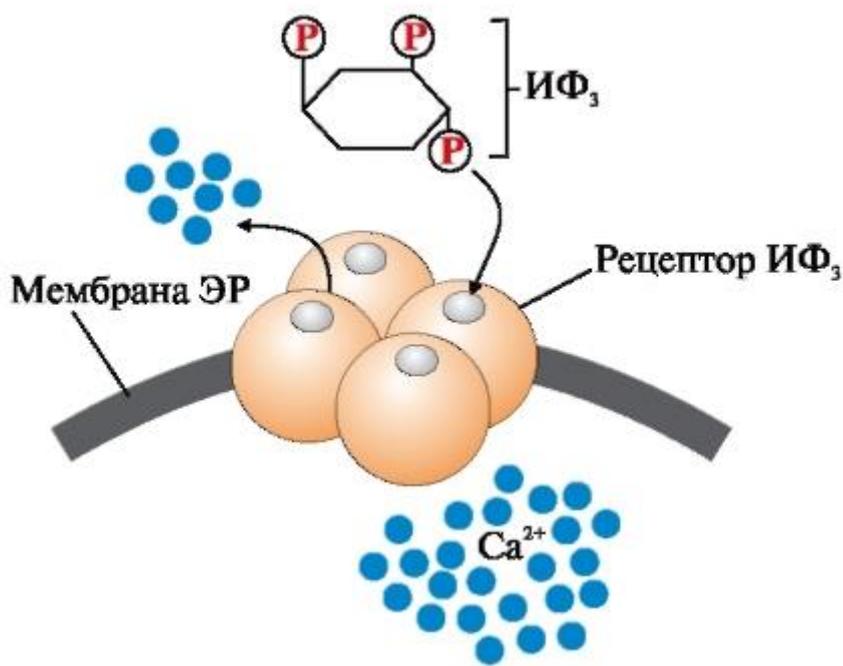


Рис. 4.7. Ca^{2+} -канал мембраны эндоплазматического ретикула, регулируемый инозитол-1,4,5-трифосфатом (ИФ₃)

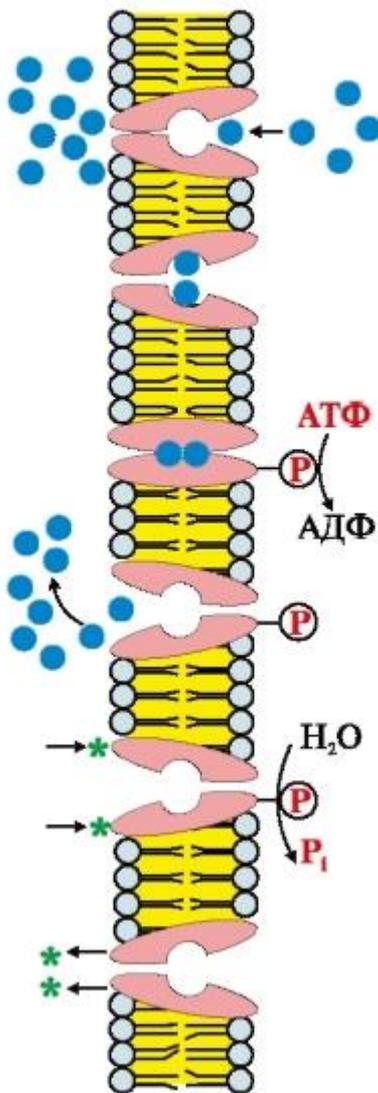
ИФ₃ (инозитол-1,4,5-трифосфат) связывается специфическими центрами Ca^{2+} -канала мембраны эндоплазматического ретикула. Изменяется конформация белка и канал открывается - Ca^{2+} поступает в цитозоль клетки по градиенту концентрации

Активный транспорт

Первичный активный транспорт происходит с затратой энергии АТФ при участии транспортных АТФ-аз, например Na^+ , K^+ -АТФ-азы, H^+ - АТФ-азы, Ca^{2+} -АТФ-азы (рис. 4.8). H^+ -АТФ-азы функционируют как протонные насосы. С их помощью создается кислая среда в лизосомах клетки. В костной ткани H^+ -АТФ-аза мембраны остеокластов, выкачивая протоны из клетки, участвует в обеспечении рН 3,5 в зоне резорбции.

Наружная
поверхность
мембраны

Внутренняя
поверхность
мембраны



С помощью Ca^{2+} -АТФазы цитоплазматической мембраны и мембраны эндоплазматического ретикулума поддерживается низкая концентрация кальция в цитозоле клетки и создается внутриклеточное депо Ca^{2+} в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме.

Связывание двух ионов кальция (●) в центрах Ca^{2+} -АТФ-азы, обращенных в цитозоль, приводит к изменению заряда и конформации Ca^{2+} -АТФазы. Повышается сродство фермента к АТФ и активируется аутофосфорилирование. Присоединение фосфорного остатка (P) сопровождается конформационными изменениями, Ca^{2+} -АТФаза закрывается с внутренней стороны мембраны и открывается с наружной. Снижается сродство центров связывания к Ca^{2+} , и они отделяются от фермента. Аутодефосфорилирование активируется ионами Mg^{2+} (*). Ca^{2+} -АТФаза теряет фосфорный остаток и сродство к ионам Mg^{2+} . Изменяется конформация фермента, и Ca^{2+} -АТФаза возвращается в исходное состояние.

Рис. 4.8. Механизм функционирования Ca^{2+} -АТФ-азы

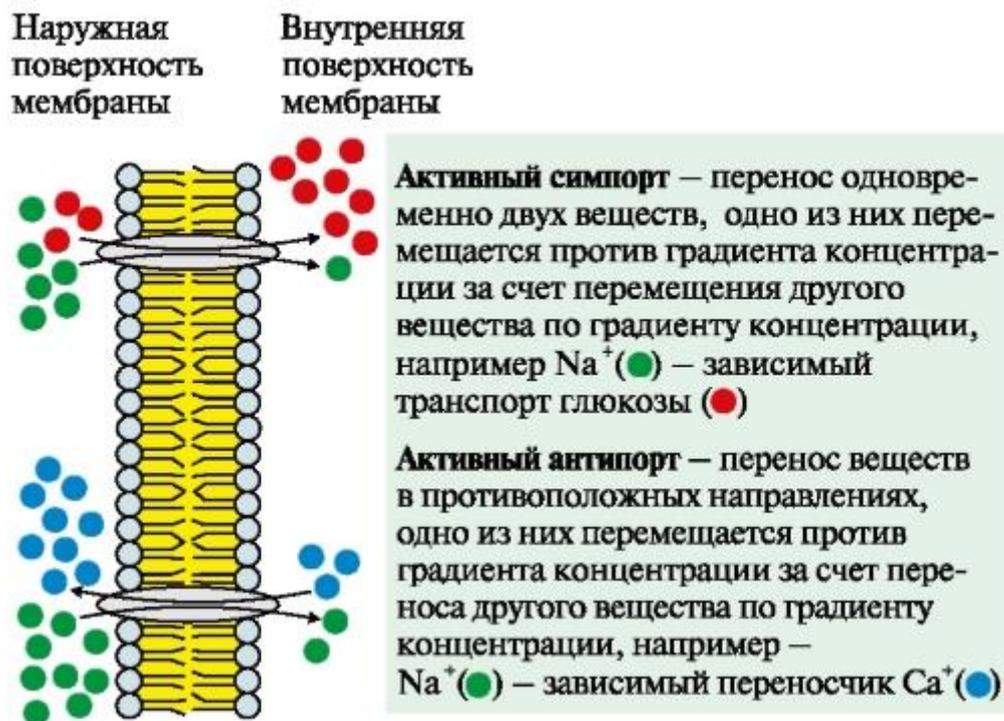


Рис.4.9. Вторично-активный транспорт

Вторично-активный транспорт происходит за счет затрат энергии градиента концентрации одного из переносимых веществ (рис. 4.9). Присоединение в активный центр белка-переносчика вещества, концентрация которого выше, изменяет его

конформацию и увеличивает сродство к соединению, которое проходит в клетку против градиента концентрации. Вторично-активный транспорт бывает двух типов: активный симпорт и антипорт, которые происходят за счет энергии градиента концентрации ионов Na^+ , создаваемого Na^+ , K^+ -АТФ-азой.

Перенос через мембрану макромолекул и частиц: эндоцитоз и экзоцитоз

Перенос макромолекул, например белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов или еще более крупных частиц, из среды в клетку происходит вместе с частью плазматической мембраны и называется эндоцитозом. Эндоцитоз происходит в определенных участках плазматической мембраны - окаймленных ямках. Эндоцитоз, происходящий с участием рецепторов, встроенных в окаймленные ямки, позволяет клеткам поглощать специфические вещества и называется рецептор-зависимым эндоцитозом.

Макромолекулы, например пептидные гормоны, пищеварительные ферменты, белки внеклеточного матрикса, липопротеиновые комплексы, мембранные везикулы, сформированные в остеобластах, секретируются в кровь или межклеточное пространство путем экзоцитоза. Этот способ транспорта позволяет выводить из клетки вещества, которые накапливаются в секреторных гранулах. В большинстве случаев экзоцитоз регулируется путем изменения концентрации ионов кальция в цитоплазме клеток.

4.3. УЧАСТИЕ МЕМБРАН В МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ

В плазматической мембране эукариотических клеток содержатся рецепторы, которые необходимы для узнавания клетками друг друга и для их адгезии, а также рецепторы, ответственные за связывание клеток с белками внеклеточного матрикса - фибронектином, коллагеном, белками костной ткани остеопонтином и сиалопротеином. Из многочисленного семейства рецепторов клеточной адгезии рассмотрим интегрины

(рис. 4.10).

Интегрины - это рецепторы клеточной поверхности для молекул межклеточного матрикса, таких, как коллаген, фибронектин, ламинин и др.

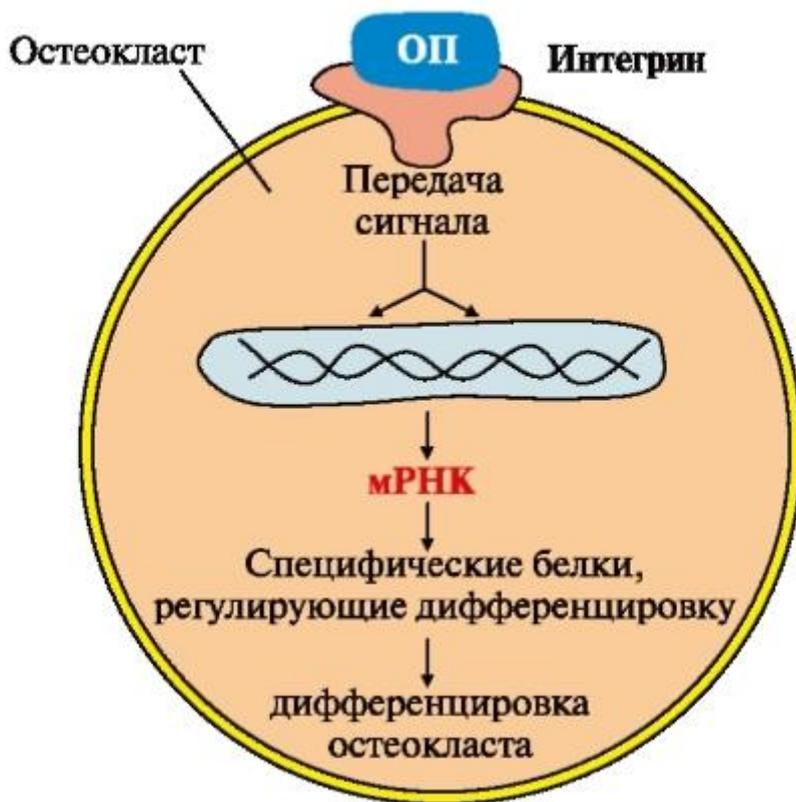


Рис. 4.10. Механизм активации остеокластов белком остеопонтином (ОП)

Остеопонтин секретируется клетками костной ткани - остеобластами. Белок имеет специфическую последовательность аминокислот Арг-Глу-Асп, которая комплементарна рецептору клеточной мембраны остеокластов $\alpha\beta$ -3-интегрину. Этот сигнал стимулирует дифференцировку остеокластов

Являясь трансмембранными белками, они взаимодействуют как с молекулами внеклеточного пространства, так и с внутриклеточными белками. Благодаря этому интегрин участвует в передаче информации из внеклеточной среды в клетку или в обратном направлении - от внутриклеточных белков через рецептор во внеклеточный матрикс.

4.4. ТРАНСМЕМБРАННАЯ ПЕРЕДАЧА СИГНАЛОВ

Важное свойство мембран - способность воспринимать и передавать внутрь клетки сигналы из внешней среды. Внеклеточными химическими сигналами могут быть гормоны, нейромедиаторы, эйкозаноиды или другие сигнальные молекулы. Гормоны - это молекулы, которые вырабатываются специализированными клетками, секретируются в кровь в ответ на изменение какого-либо специфического параметра внутренней среды организма и оказывают влияние на метаболизм и функциональное состояние (пролиферация, секреция и т.д.) клеток-мишеней. Клетку-мишень определяют по способности избирательно связывать данную сигнальную молекулу с помощью белка-рецептора (рис. 4.11).

Рецепторы (R) могут быть:

- встроены в мембрану клеток-мишеней;
- находиться в клетке (в цитозоле или в ядре).

Рецепторы, сопряженные с G-белками

Взаимодействие гормонов с рецепторами, сопряженными с G-белками, приводит к активации аденилатциклазной или инозитолфосфатной регуляторных систем.

Аденилатциклазная система (рис. 4.12)

Аденилатциклазная система включает 5 мембранных белков.

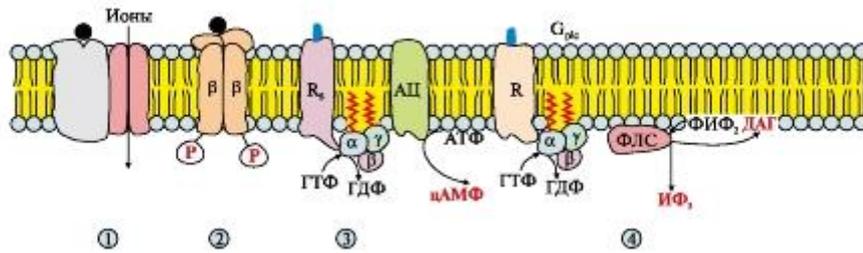


Рис. 4.11. Рецепторы, локализованные в мембране

1 - рецепторы, содержащие субъединицу, связывающую сигнальную молекулу и ионный канал, например рецептор ацетилхолина на постсинаптической мембране; 2 - рецепторы, проявляющие каталитическую активность после связывания сигнальной молекулы, например рецептор инсулина; 3, 4 - рецепторы, передающие сигнал на фермент - аденилатциклазу (АЦ) или фосфолипазу С (ФЛС) при участии мембранных G-белков, например рецепторы адреналина

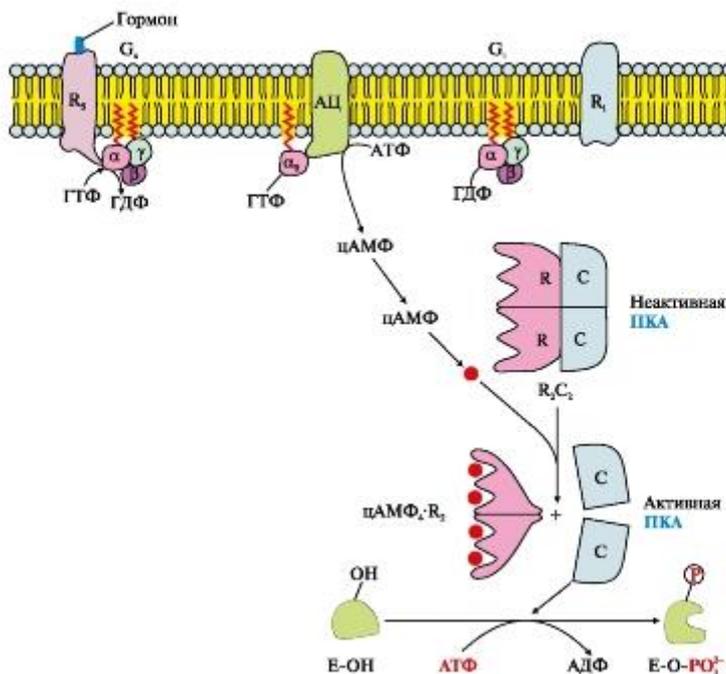


Рис. 4.12. Аденилатциклазная система

Интегральные белки цитоплазматической мембраны:

R_s - рецептор активатора аденилатциклазной системы;

R_i - рецептор ингибитора аденилатциклазной

системы. Фермент аденилатциклаза. «Заякоренные» белки:

G_s - ГТФ-связывающий белок, состоит из $\alpha\beta\gamma$ -субъединиц;

G_j - ГТФ-связывающий белок, состоит из $\alpha\beta\gamma$ -субъединиц и один цитозольный фермент протеинкиназа А (ПКА).

Последовательность событий, приводящих к активации аденилатциклазы (АЦ) и протеинкиназы А (ПКА)

Рецептор имеет два центра связывания: для гормона на наружной поверхности мембраны и для G-белка на внутренней поверхности мембраны.

- Взаимодействие активатора аденилатциклазной системы, например гормона () с рецептором (R_s), приводит к изменению конформации рецептора.
- Увеличивается сродство рецептора к G_s -белку.
- Присоединение комплекса гормон-рецептор к G_g -ГДФ снижает сродство α_s -субъединицы G_s -белка к ГДФ и увеличивает сродство к ГТФ. В активном центре α_s -субъединицы ГДФ замещается ГТФ.
- Это вызывает изменение конформации субъединицы α_s и снижение сродства к субъединицам $\beta\gamma$.
- Отделившаяся субъединица α_s -ГТФ латерально перемещается в липидном слое мембраны к центру связывания фермента АЦ.
- Взаимодействие α_s -ГТФ с АЦ приводит к изменению конформации фермента, его активации и увеличению скорости образования цАМФ из АТФ .
- В клетке повышается концентрация цАМФ - вторичного вестника гормонального сигнала.
- Молекулы цАМФ могут обратимо соединяться с регуляторными субъединицами ПКА, которая состоит из 2 регуляторных (R) и 2 каталитических (C) субъединиц (R_2C_2).
- Присоединение цАМФ к регуляторным субъединицам вызывает диссоциацию комплекса, каталитические субъединицы отделяются и становятся активными.
- Активная ПКА с помощью АТФ фосфорилирует специфические белки по серину и треонину.

- Фосфорилирование специфических белков и ферментов повышает или понижает их активность, поэтому изменяется скорость метаболических процессов, в которых участвуют эти ферменты.

Инозитолфосфатная система

Инозитолфосфатная система включает 3 мембранных белка (рис. 4.13):

R - рецептор активатора инозитолфосфатной

системы - интегральный белок; Фермент ФЛС (phospholipase C) - поверхностный белок;

Gфас - ГТФ-связывающий белок, состоит из α фас β -субъединиц - «заякоренный» белок.

Работу системы обеспечивают белок кальмодулин, фермент ПКС, регулируемые Ca^{2+} -каналы мембраны эндоплазматического ретикулума, Ca^{2+} -АТФ-аза клеточной и митохондриальной мембран.

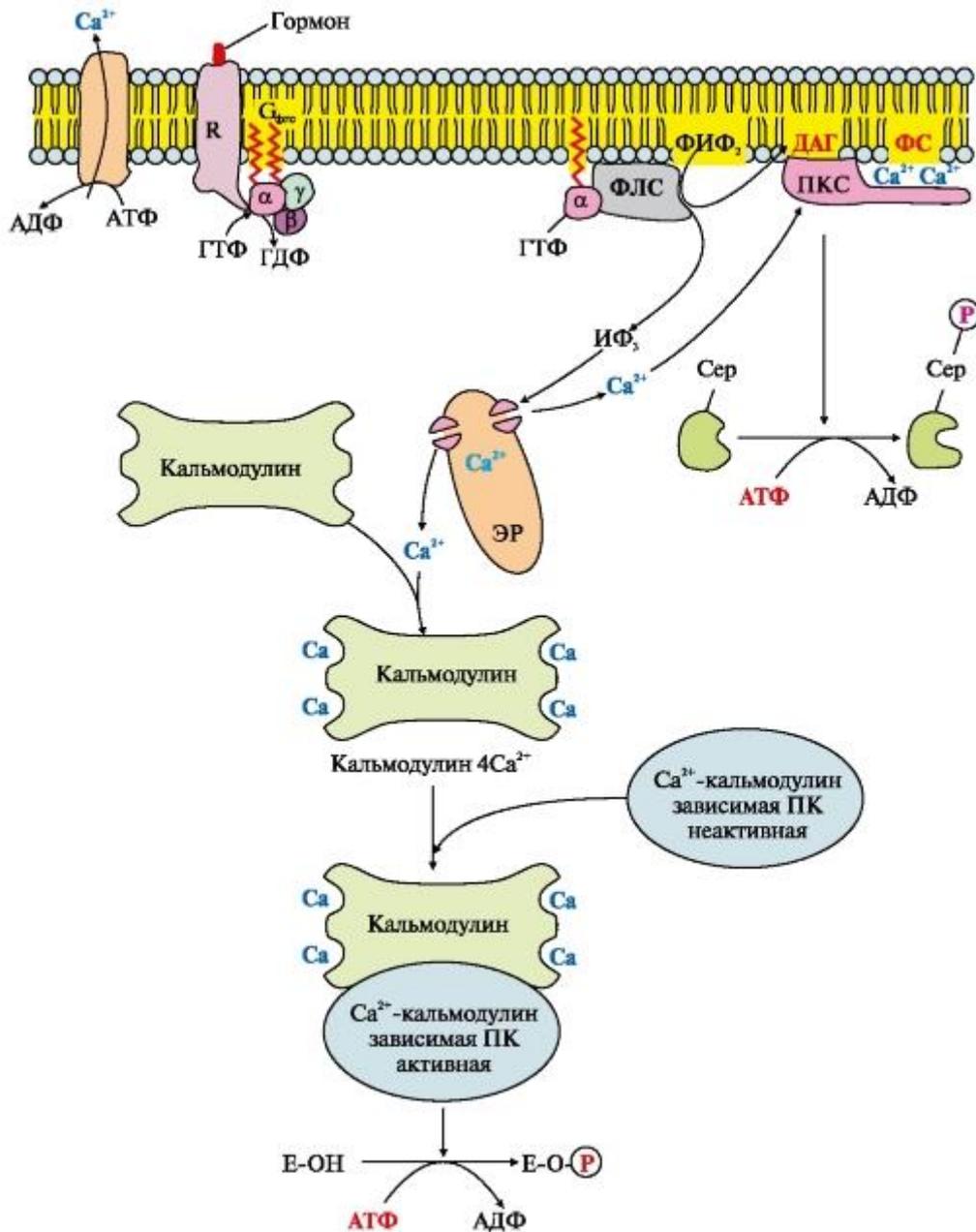


Рис. 4.13. Инозитолфосфатная система

Последовательность событий, приводящих к активации фосфолипазы С

- Связывание активатора инозитолфосфатной системы, например гормона



с рецептором (R), приводит к изменению его конформации.

- Повышается сродство рецептора к $G_{\text{флс}}$ -белку.
- Присоединение комплекса гормон-рецептор к $G_{\text{фас}}$ -ГДФ снижает сродство $\alpha_{\text{фас}}$ -субъединицы к ГДФ и увеличивает сродство к ГТФ. В активном центре $\alpha_{\text{фас}}$ -субъединицы ГДФ замещается ГТФ.

- Это вызывает изменение конформации субъединицы α фас и она отделяется от $\beta\gamma$.
- Отделившаяся субъединица α фас-ГТФ латерально перемещается по мембране к центру связывания фермента ФЛС.
- Взаимодействие α фас-ГТФ с ФЛС изменяет конформацию и активность фермента, увеличивается скорость гидролиза фосфолипида клеточной мембраны - ФИФ₂.
- В ходе реакции образуются 2 продукта - вторичные вестники гормонального сигнала диацилглицерол (ДАГ), который остается в мембране и участвует в активации фермента протеинкиназы С (ПКС), и ИФ₃, который уходит в цитозоль. Таким образом, сигнал, принятый рецептором клетки, раздваивается.
- ИФ₃ связывается специфическими центрами Ca^{2+} -канала мембраны эндоплазматического ретикулума (ЭР) (см. рис. 4.7), это приводит к изменению конформации белка и открытию Ca^{2+} -канала. Так как концентрация кальция в ЭР ~ на 3-4 порядка выше, чем в цитозоле, после открытия канала Ca^{2+} по градиенту концентрации поступает в цитозоль. В отсутствие ИФ₃ в цитозоле канал закрыт.

Активация Ca^{2+} -кальмодулинзависимых ферментов

- В цитозоле клеток содержится небольшой белок кальмодулин, имеющий 4 центра связывания Ca^{2+} . При повышении концентрации кальция он присоединяется к кальмодулину, образуя комплекс 4Ca^{2+} -кальмодулин, и этот комплекс взаимодействует с Ca^{2+} -кальмодулин-зависимыми ПК и другими ферментам.
- Присоединение комплекса 4Ca^{2+} -кальмодулин к Ca^{2+} -кальмодулин-зависимой ПК приводит к ее активации и повышению скорости фосфорилирования определенных белков и ферментов по серину и треонину.
- Присоединение фосфорного остатка повышает или понижает их активность, поэтому изменяется скорость метаболических процессов, в которых участвуют эти ферменты.

Активация протеинкиназы С (ПКС)

- Повышение концентрации Ca^{2+} в цитозоле клетки увеличивает скорость взаимодействия Ca^{2+} с неактивным ферментом ПКС.

- Связывание ПКС с ионами кальция позволяет ферменту вступать в кальций-опосредованное взаимодействие с молекулами «кислого» фосфолипида мембраны, фосфатидилсерина (ФС). Диацилглицерол (ДАГ), взаимодействуя со специфическим центром в ПКС, еще больше увеличивает ее сродство к ионам кальция.
- На внутренней стороне мембраны образуется активная форма ПКС (ПКС*Ca²⁺*ФС*ДАГ), которая фосфорилирует специфические ферменты по серину и треонину.

Каталитические рецепторы

Каталитические рецепторы являются ферментами. Активаторами этих ферментов могут быть гормоны, ростовые факторы, цитокины. При участии специальных механизмов сигнал, полученный каталитическим рецептором, может быть передан в ядро, где он стимулирует или подавляет экспрессию определенных генов.

Рецептор инсулина - тирозиновая протеинкиназа (Тир-ПК) (рис. 4.14).

Рецепторные Тир-ПК участвуют в трансмембранной передаче сигналов. В активной форме это ферменты, фосфорилирующие специфические белки по ОН-группам тирозина.

Рецептор инсулина построен из 2 α - и 2 β -субъединиц. α -Субъединицы расположены на наружной поверхности клеточной мембраны, β -субъединицы пронизывают мембранный бислой. Центр связывания инсулина образован N-концевыми доменами α -субъединиц. Каталитический центр рецептора находится на внутриклеточных доменах β -субъединиц.

Цитозольная часть рецептора имеет несколько остатков тирозина, которые могут фосфорилироваться и дефосфорилироваться.

- Присоединение инсулина в центр связывания, образованный α -субъединицами, вызывает кооперативные конформационные изменения всех 4 субъединиц.

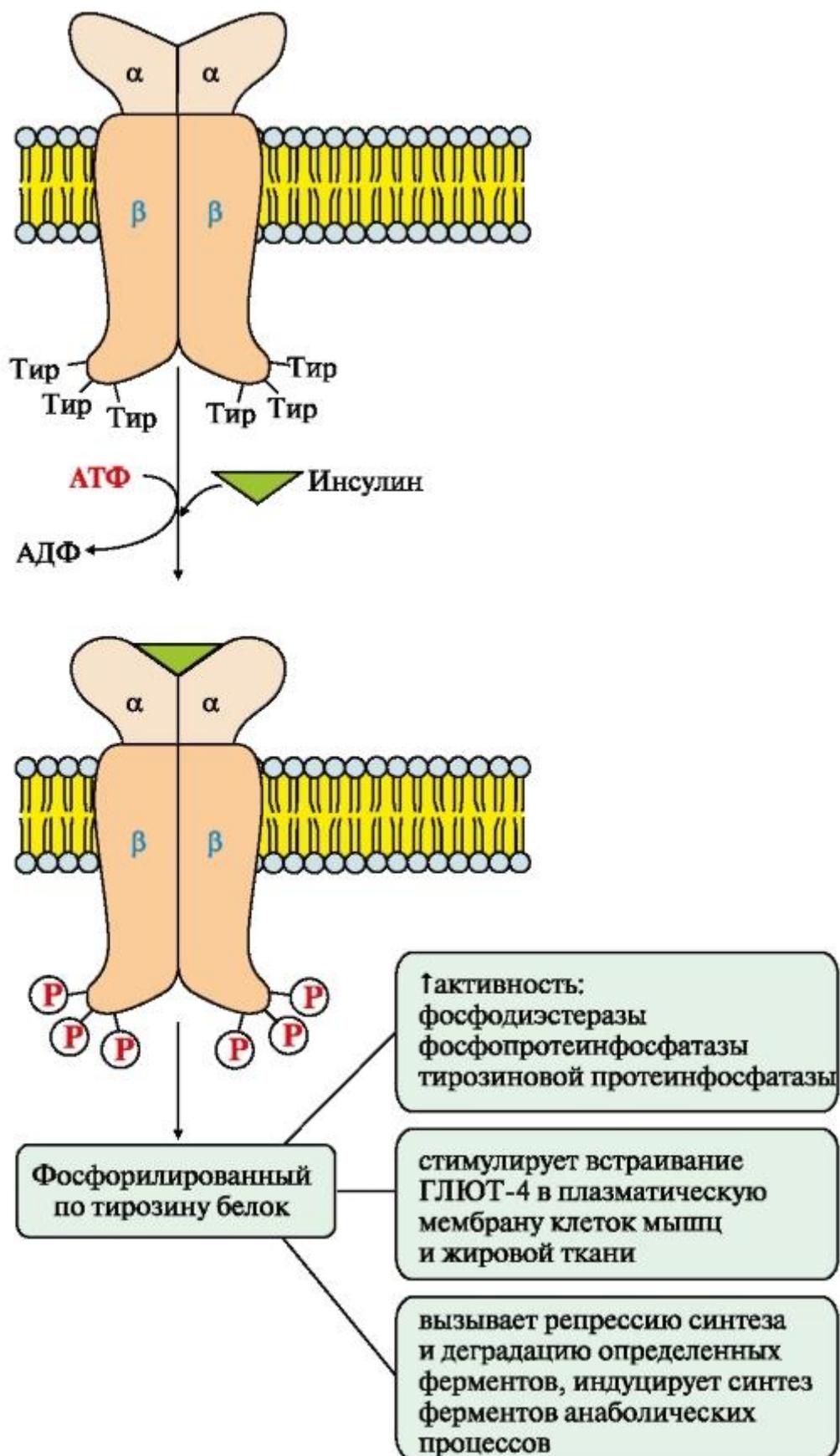


Рис. 4.14. Активация рецептора инсулина

- Изменение конформации β -субъединиц повышает их каталитическую (тирозинкиназную) активность. Происходит аутофосфорилирование β -субъединиц по нескольким остаткам тирозина.
- Фосфорилирование β -субъединиц приводит к изменению заряда, конформации и субстратной специфичности фермента Тир-ПК.
- Тир-ПК фосфорилирует определенные клеточные белки по тирозину, которые получили название субстратов рецептора инсулина. В свою очередь эти белки участвуют в активации:
 - фосфопротеинфосфатазы (ФПФ), которая отщепляет H_3PO_4 от фосфорилированных остатков серина и треонина в белках;
 - фосфодиэстеразы, которая превращает цАМФ в АМФ и цГМФ в ГМФ;
 - тирозиновой протеинфосфатазы, которая дефосфорилирует β -субъединицы рецептора инсулина;
 - регуляторных белков ядра, поэтому может повышаться или снижаться экспрессия генов определенных ферментов.
 - ГЛЮТ-4 - переносчиков глюкозы в инсулин-зависимых тканях, поэтому повышается поступление глюкозы в клетки мышц и жировой ткани;

Рецепторы с гуанилатциклазной активностью

Гуанилатциклаза - ГЦ (рис. 4.15) катализирует образование из ГТФ цГМФ, который является одним из важных посредников внутриклеточной передачи сигнала.

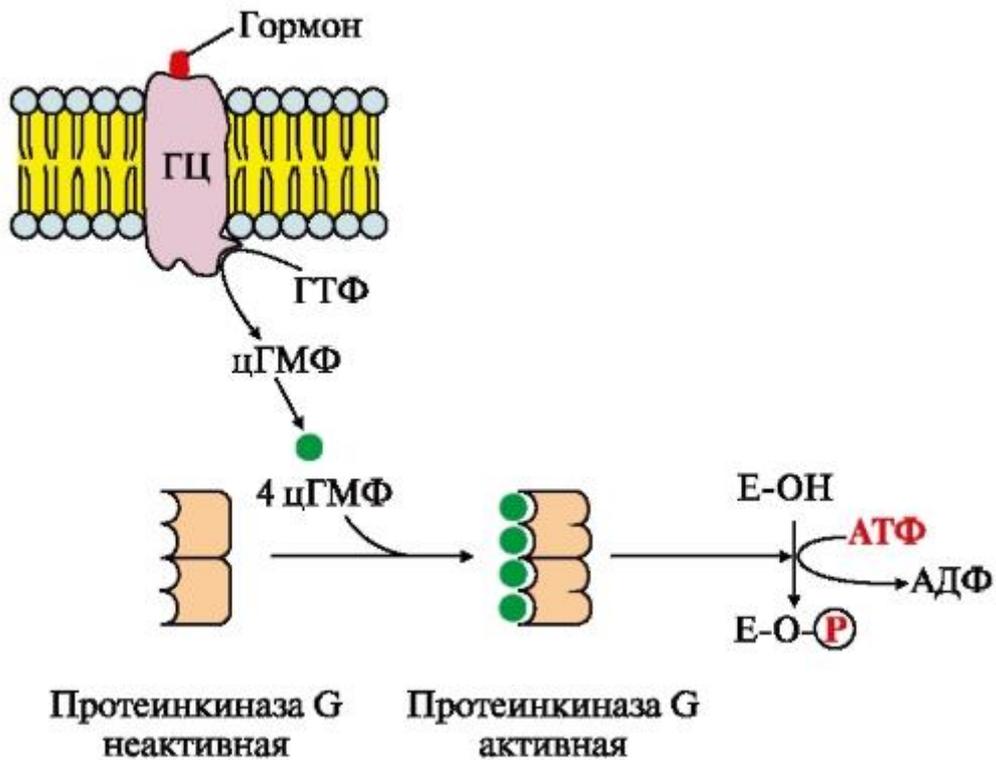


Рис. 4.15. Регуляция активности мембранной гуанилатциклазы

Мембранно-связанная ГЦ - трансмембранный гликопротеин. Центр связывания сигнальной молекулы находится на внеклеточном домене, внутриклеточный домен ГЦ проявляет каталитическую активность.

- Присоединение активатора к рецептору вызывает изменение конформации и активацию ГЦ. Фермент катализирует превращение ГТФ в циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ).
- В клетке повышается концентрация цГМФ.
- Молекулы цГМФ могут обратимо соединяться с регуляторными центрами протеинкиназы G (ПКГ), которая состоит из 2 субъединиц.
- Присоединение 4 молекул цГМФ к ПКГ вызывает изменение конформации и активацию фермента.
- Активная ПКГ катализирует фосфорилирование по аминокислотным остаткам серина и треонина определенных белков и ферментов цитозоля клетки.

Одним из лигандов-активаторов ГЦ является предсердный натриуретический фактор (ПНФ), регулирующий гомеостаз жидкости в организме.

Передача сигнала с помощью внутриклеточных рецепторов

Гидрофобные стероидные гормоны и тироксин могут проходить через плазматическую мембрану клеток-мишеней (рис. 4.16).

Рецепторы гормонов находятся в цитозоле или ядре. Цитозольные рецепторы связаны с белком шапероном, который предотвращает преждевременную активацию рецептора. Ядерные и цитозольные рецепторы стероидных и тиреоидных гормонов содержат ДНК-связывающий домен, который обеспечивает в ядре взаимодействие комплекса гормон-рецептор с регуляторными сайтами ДНК.

Последовательность событий, приводящих к экспрессии специфических белков

- Гормон проходит через двойной липидный слой клеточной мембраны и взаимодействует с рецептором.
- Комплекс гормон-рецептор проходит в ядро, взаимодействует с регуляторной нуклеотидной последовательностью в ДНК - энхансером или сайленсером.
- Увеличивается (при взаимодействии с энхансером) или уменьшается (при взаимодействии с сайленсером) доступность промотора для РНК-полимеразы.
- Соответственно увеличивается или уменьшается скорость транскрипции определенных структурных генов.
- Зрелые мРНК выходят из ядра.
- Увеличивается или уменьшается скорость трансляции определенных белков.
- Изменяется количество белков, которые могут влиять на метаболизм и функциональное состояние клетки.

Эффекты гормонов, которые взаимодействуют с внутриклеточными рецепторами, нельзя наблюдать быстро, так как на реализацию процессов транскрипции и трансляции, которые они стимулируют, требуются часы.

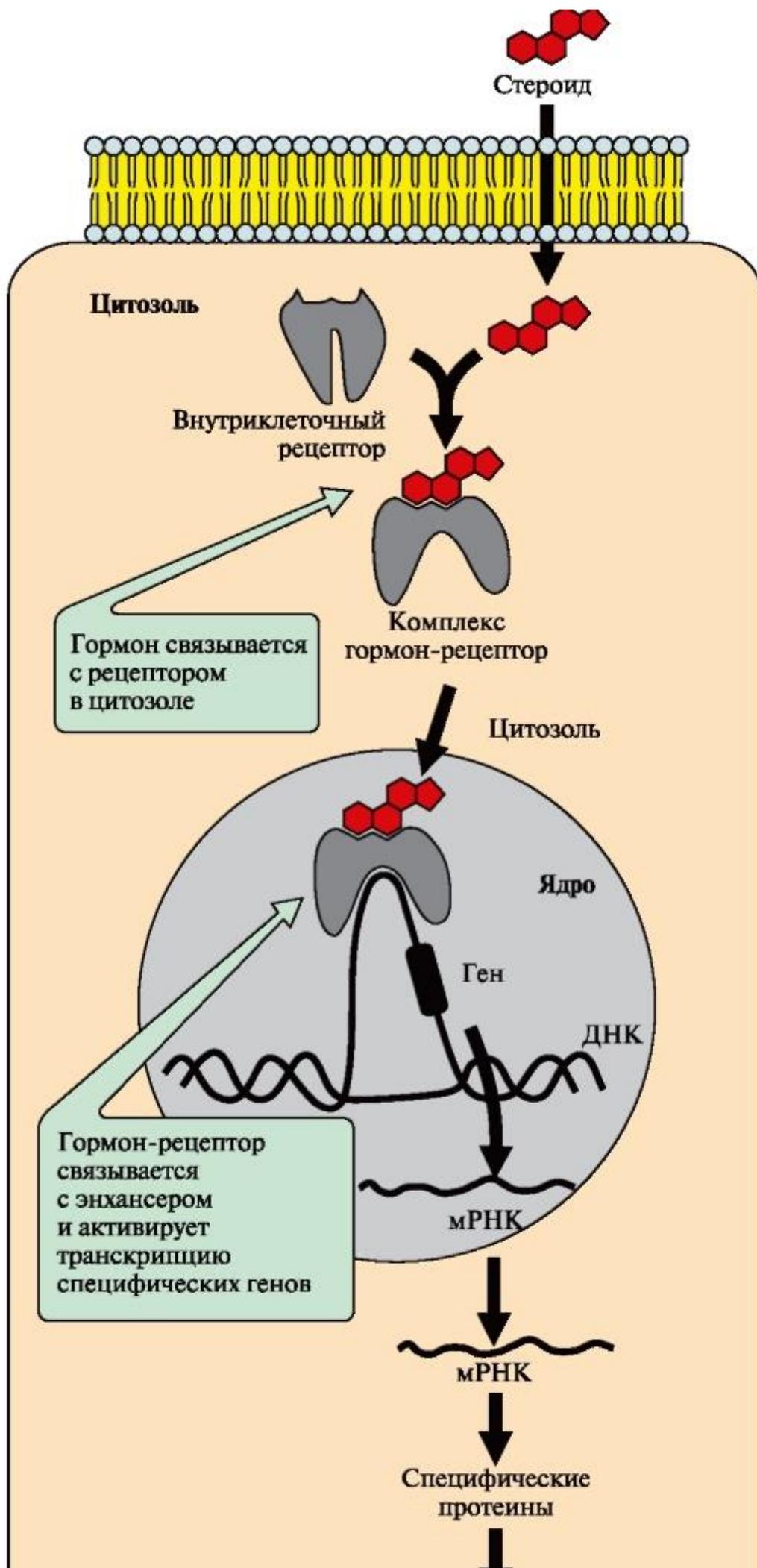


Рис. 4.16. Передача сигнала на внутриклеточные рецепторы

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выполните задания.

а) перенесите таблицу 4.1 в тетрадь и к названиям липидов допишите формулы.

Таблица 4.1

Название	Строение (формула)
Фосфолипиды	
Производные глицерола: фосфатидная кислота фосфатидилхолин фосфатидилсерин фосфатидилэтаноламин фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат	
Производное сфингозина: сфингомиелин	

б) из приведенных в таблице молекул выберите липиды, участвующие:

А. В активации протеинкиназы С.

Б. В качестве субстрата фосфолипазы С.

В. В формировании миелиновой оболочки нервного волокна.

в) напишите реакцию гидролиза липида, выбранного вами в пункте Б под действием

ФЛС.

г) выберите правильный ответ.

В ходе гидролиза этого вещества образуются:

А. цАМФ + $H_4P_2O_7$.

Б. Фосфатидная кислота + ИФ₂.

В. цГМФ + $H_4P_2O_7$.

Г. Диацилглицерол + ИФ₃.

Д. Фосфатидная кислота + серин.

д) один из продуктов гидролиза участвует в регуляции Ca²⁺-канала эндоплазматического ретикулума (ЭР). Изобразите строение Ca²⁺-канала и опишите механизм его функционирования.

е) установите соответствие.

А. Кальциевый канал ЭР.

Б. Ca²⁺-АТФ-аза.

В. ГЛЮТ-4.

Г. Na⁺-зависимый переносчик Ca²⁺. Д. Na⁺, K⁺-АТФ-аза.

1. Транспортирует Na⁺ по градиенту концентрации.

2. Функционирует по механизму облегченной диффузии.

3. Переносит против градиента концентрации.

2. Установите соответствие Функция:

А. Регулирует активность каталитического рецептора

Б. Активирует фосфолипазу С

В. Повышает активность протеинкиназы А Г. Повышает концентрацию Ca²⁺ в цитозо-

ле клетки Д. Активирует протеинкиназу С «Посредник» гормона в клетке:

1. цАМФ

2. Ca²⁺ .

3. ИФ₃.

3. Выполните «цепное» задание.

а) «заякоренным» белком мембран является:

А. G-белки.

Б. Аденилатциклаза.

В. Протеинкиназа С. Г. Адренорецепторы.

б) этот белок может активировать фермент:

А. Протеинкиназу А. Б. Фосфодиэстеразу.

В. Протеинкиназу С.

Г. Аденилатциклазу (АЦ).

в) выбранный вами фермент входит в состав:

А. Гуанилатциклазной системы.

Б. Системы передачи сигнала стероидных гормонов.

В. Инозитолфосфатной системы. Г. Аденилатциклазной системы.

г) в этой системе посредником гормона в клетке является:

А. Ca^{2+} . Б. АМФ.

В. цАМФ.

Г. Кальмодулин.

д) данное вещество активирует:

А. Протеинкиназу С.

Б. Ca^{2+} -кальмодулинзависимую протеинкиназу.

В. Протеинкиназу А. Г. Фосфолипазу С.

е) активированный фермент:

А. Фосфорилирует белки по тирозину.

Б. Фосфорилирует белки по серину и треонину.

В. Взаимодействует с липидами мембран. Г. Катализирует образование цАМФ.

ж) это приводит к:

А. Изменению активности ферментов.

Б. Активации ферментов в результате частичного протеолиза.

В. Диссоциации протеинкиназы А на протомеры.

Г. Повышению активности кальмодулинзависимых ферментов.

4. Установите соответствие Локализация и функционирование

А. «Заякоренный» белок.

Б. Цитоплазматический белок.

В. Проявляет ферментативную активность в результате активации.

Г. Может взаимодействовать с G-белком. Д. В ходе активации взаимодействует с фосфолипазой С

Рецептор:

1. Инсулина.

2. Адреналина А.

3. Стероидного гормона.

5. Установите порядок событий.

Инсулин, воздействуя на адипоциты, повышает скорость метаболизма глюкозы в клетках.

А. Меняется активность ферментов, участвующих в метаболизме глюкозы.

Б. Инсулин взаимодействует с α -субъединицами рецептора.

В. Увеличивается скорость фосфорилирования ферментов.

Г. Происходят кооперативные конформационные изменения рецептора инсулина.

Д. Активируется аутофосфорилирование по тирозину.

6. Перенесите в тетрадь описание действия гормона и дополните его недостающими словами.

В результате действия на остеобласты стероидного гормона кальцитриола в клетках снижается синтез белка костной ткани коллагена, участвующего в формировании белковой матрицы.

Кальцитриол проходит через ... мембрану. Гормон взаимодействует с ... рецептором. Комплекс гормон-рецептор проходит через . мембрану.

Комплекс гормон-рецептор взаимо-

действует со специфическим сайтом ДНК . . Снижается сродство . к РНК-полимеразе. Снижается скорость . структурных генов, . синтез белка коллагена. Формирование белковой матрицы . . Воздействие гормона на костную ткань в течение длительного времени приводит к деминерализации альвеолярного отростка пародонта и развитию пародонтита.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. На рис. 4.17. описано функционирование G-белка в форме циклической схемы.

Установите соответствие:

А. Комплекс гормон-рецептор активирует G_s -белок.

Б. Гормон взаимодействует с рецептором (R).

В. α_s -ГДФ теряет сродство к АЦ. Г. α_s -ГТФ активирует АЦ.

Д. Гормон отделяется от рецептора.

2. Для изучения аденилатциклазной системы

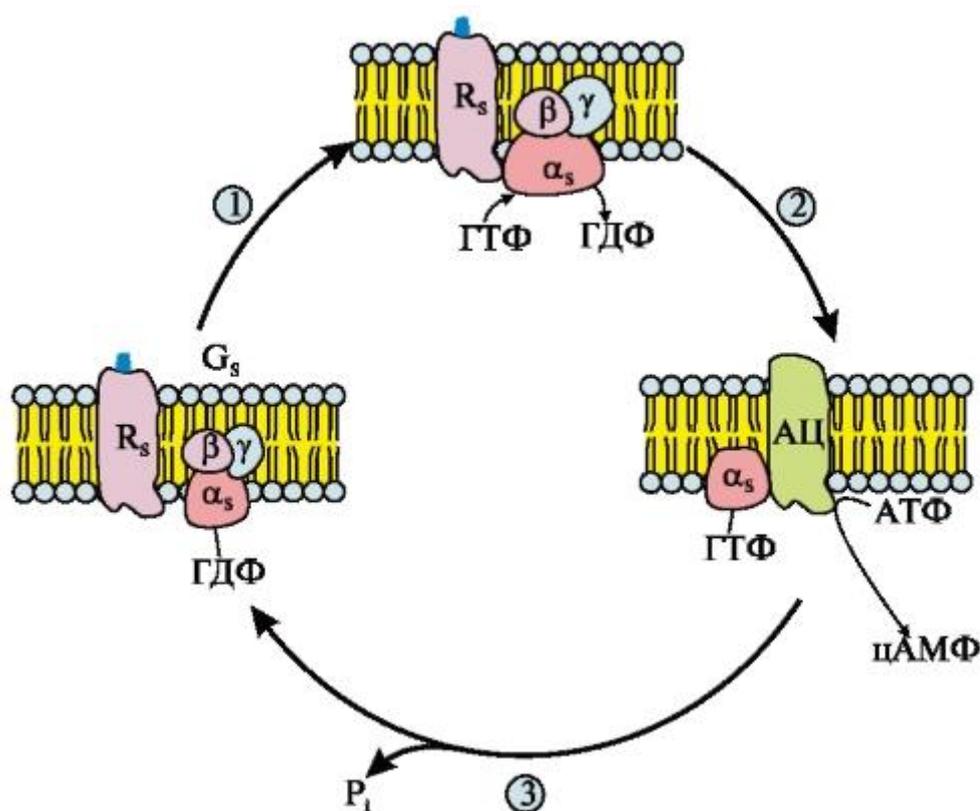
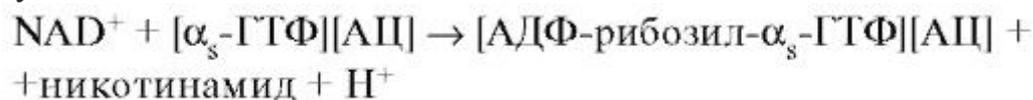


Рис. 4.17. Функционирование G_s -белка

был использован холерный токсин, вырабатываемый возбудителем холеры (*V. cholerae*). Холерный токсин вызывает АДФ-рибозилирование α_s -субъединицы на этапе активации аденилатциклазы:



Модифицированная α_s -субъединица не может дефосфорилировать ГТФ, фермент АЦ сохраняет активность в течение длительного времени. Объясните причину повышения активности АЦ.

Для решения задачи:

- а) приведите схему трансмембранной передачи сигнала с участием АЦ;
- б) используя рис. 4.17, укажите, на каком этапе функционирования G_g -белка происходит нарушение;
- в) укажите, почему модификация α_g -белка приводит к повышению активности АЦ.

3. Ацетилхолин, взаимодействуя с M_3 -холинорецепторами клеток ацинуса, стимулирует выход Ca^{2+} из ЭР. Повышение концентрации Ca^{2+} в цитозоле обеспечивает экзоцитоз секреторных гранул и высвобождение в слюнной проток электролитов и небольшого количества белков. Объясните, как регулируется работа Ca^{2+} -каналов ЭР. Для этого:

- а) назовите вещество, обеспечивающее открытие Ca^{2+} -каналов ЭР;
- б) напишите схему реакции его образования;
- в) представьте схему трансмембранной передачи сигнала ацетилхолина, при активации которой образуется регуляторный лиганд Ca^{2+} -каналов ЭР.

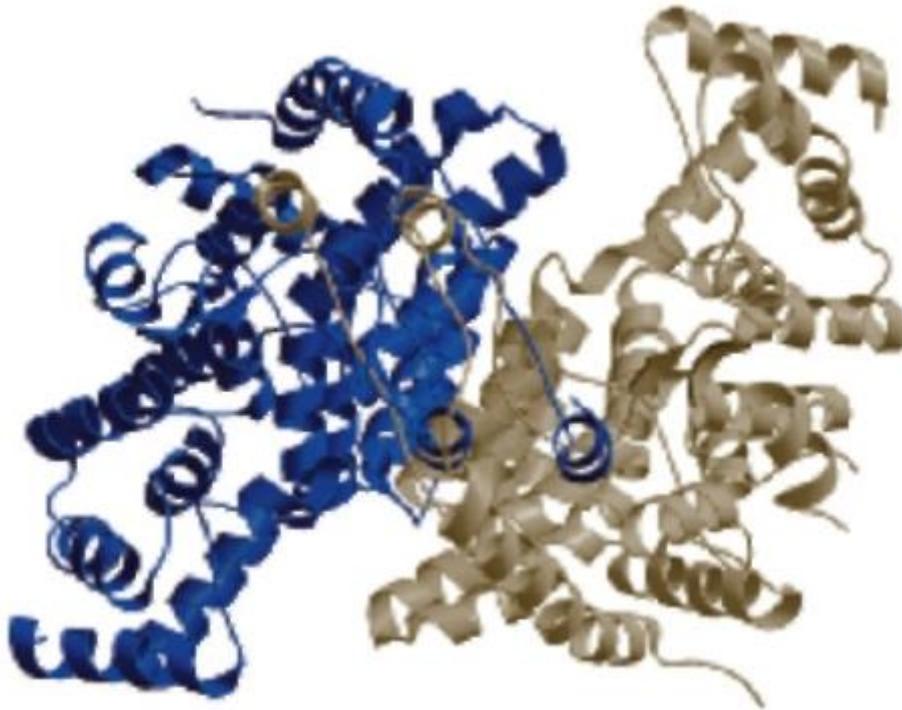
4. Исследователи каталитического рецептора инсулина установили значительное изменение в гене белка - субстрата инсулинового рецептора. Как нарушение в структуре этого белка скажется на функционировании системы передачи сигнала инсулина? Для ответа на вопрос:

- а) приведите схему трансмембранной передачи сигнала инсулина;
- б) назовите белки и ферменты, которые в норме должны активировать инсулин в клетках-мишенях, укажите их функцию.

5. Стероидный гормон кальцитриол активирует всасывание пищевого кальция, увеличивая количество белков-переносчиков Ca^{2+} в клетках кишечника. Объясните механизм действия кальцитриола. Для этого:

- а) приведите схему передачи сигнала гормона кальцитриола и опишите ее функционирование;
- б) назовите процесс, который активирует гормон в ядре клетки;
- в) объясните, в каком матричном биосинтезе будут участвовать молекулы, образованные в ядре, укажите локализацию процесса.

РАЗДЕЛ 5. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН



Основные темы раздела:

- 5.1. Тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование АДФ.
- 5.2. Структурная организация цепи переноса электронов.
- 5.3. Специфические и общий пути катаболизма.
- 5.4. Окислительное декарбоксилирование пирувата.
- 5.5. Цитратный цикл.

5.1. ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ АДФ

Источником энергии для человека служит распад органических веществ пищи. С питательными веществами поступают преимущественно макромолекулы (полисахариды, белки, жиры), которые в процессе пищеварения расщепляются на более мелкие молекулы (глюкоза, аминокислоты, жирные кислоты, глицерол). В клетках эти вещества подвергаются превращениям, включаясь в метаболизм (обмен веществ). Они могут использоваться для синтеза более сложных молекул (анаболизм) либо распадаются до конечных продуктов в процессах катаболизма

веществ и других видов работы (активный транспорт веществ через мембраны, мышечное сокращение и т.д.).

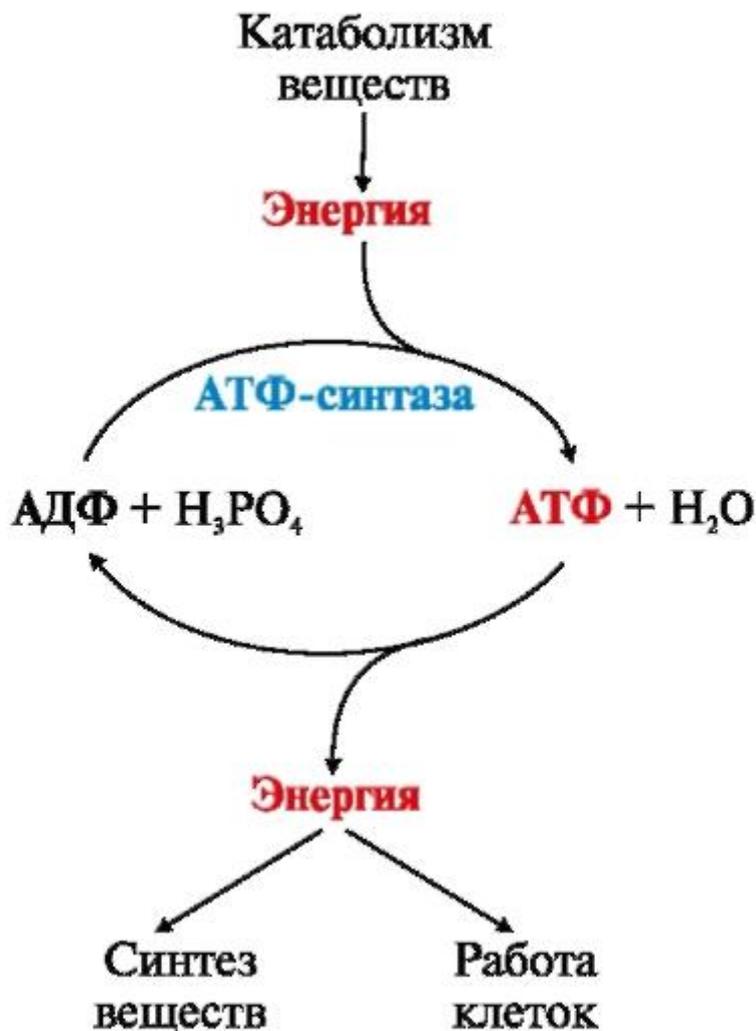
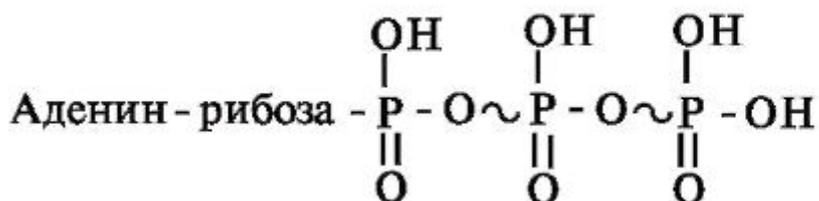


Рис. 5.2. Цикл АДФ-АТФ



При использовании АТФ в качестве источника энергии чаще всего происходит гидролиз только одной макроэргической связи, выделяется около 50 кДж/моль энергии и опять образуется АДФ. Содержание АТФ в организме человека невелико и составляет около 50 г. Учитывая, что клетки не способны накапливать АТФ, а расход энергии происходит постоянно, в организме также постоянно идет синтез АТФ из АДФ и H₃PO₄. За сутки в организме человека может синтезироваться до 60 кг АТФ.

Таким образом, фосфорилирование АДФ и последующее использование АТФ в качестве источника энергии образуют циклический процесс (цикл АДФ-АТФ).

В зависимости от источника энергии, обеспечивающего присоединение фосфатного остатка, выделяют два типа фосфорилирования АДФ: окислительное и субстратное.

Субстратное фосфорилирование АДФ идет за счет энергии макроэргических связей некоторых соединений (например, метаболитов гликолиза - 1,3-бисфосфоглицерата и фосфоенолпирувата; сукцинил-КоА, креатинфосфата и др.). Этот процесс может происходить как в матриксе

митохондрий, так и в цитоплазме клеток независимо от присутствия кислорода. Используется реже, чем окислительное фосфорилирование АДФ.



Окислительное фосфорилирование АДФ - превращение АДФ в АТФ происходит с использованием энергии переноса электронов от органических веществ к кислороду. Энергию для окислительного фосфорилирования поставляют окислительно-восстановительные реакции. Процесс может происходить только в аэробных условиях с участием ферментов цепи переноса электронов (ЦПЭ) и АТФ-синтазы.

Окислительное фосфорилирование АДФ - основной механизм синтеза АТФ в организме. Оно происходит в митохондриях, которые являются основными поставщиками АТФ и могут рассматриваться как «энергетические станции» клетки. Митохондрии представляют собой небольшие органеллы овальной формы (рис. 5.3), их количество в клетке может достигать 2000.

Митохондрии защищены двумя мембранами: наружной и внутренней. Внутренняя мембрана имеет многочисленные глубокие складки (гребневидные выросты), называемые кристами, которые значительно увеличивают ее поверхность.

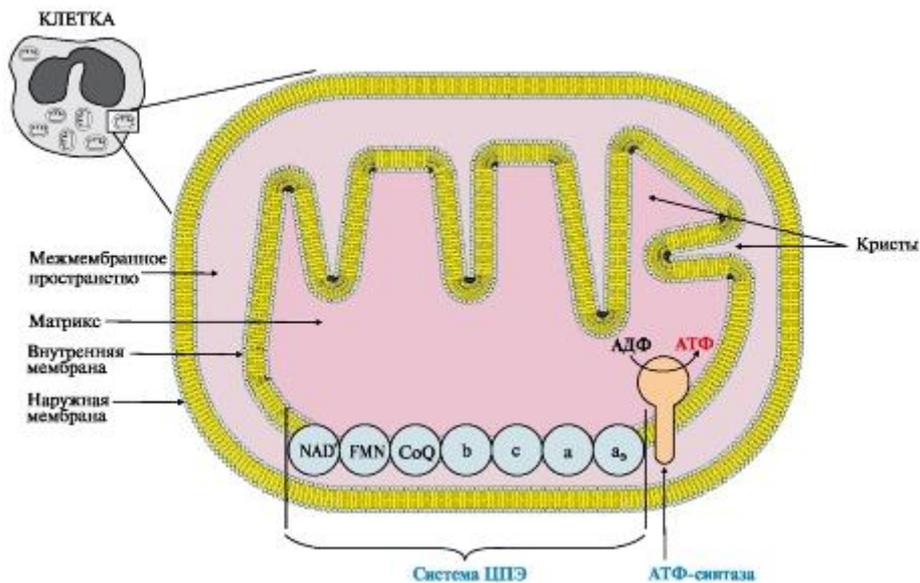


Рис. 5.3. Строение митохондрии

Мембраны митохондрии сильно различаются по составу и функциям. Внешняя мембрана свободно проницаема для многих небольших молекул с мол. массой до 5000 кД. Проницаемость внутренней мембраны ограничена и определяется наличием специфических белков-переносчиков. Внутренняя мембрана митохондрии как ни одна другая богата белками, их содержание достигает 80%. В нее включены все ферментные комплексы и компоненты ЦПЭ, отвечающей за окислительное фосфорилирование АДФ.

Одним из самых крупных белков внутренней мембраны митохондрий является АТФ-синтаза - белок с мол. массой ~500 000 кД, состоящий из двух олигомерных комплексов: F_0 и F_1 (рис. 5.4).

Структура F_0 состоит из 6 гидрофобных протомеров типа a, b, c, погруженных во внутреннюю мембрану митохондрий и формирующих H^+ -проводящий канал. Три дополнительные субъединицы связывают комплекс F_0 с поверхностным комплексом F_1 . Этот комплекс выступает в матрикс митохондрии и образует своего рода «пузырек» на внутренней поверхности мембраны митохондрии, имеющий активный центр для связывания молекулы АДФ и H_3PO_4 . В нем и происходит реакция фосфорилирования и образования АТФ.

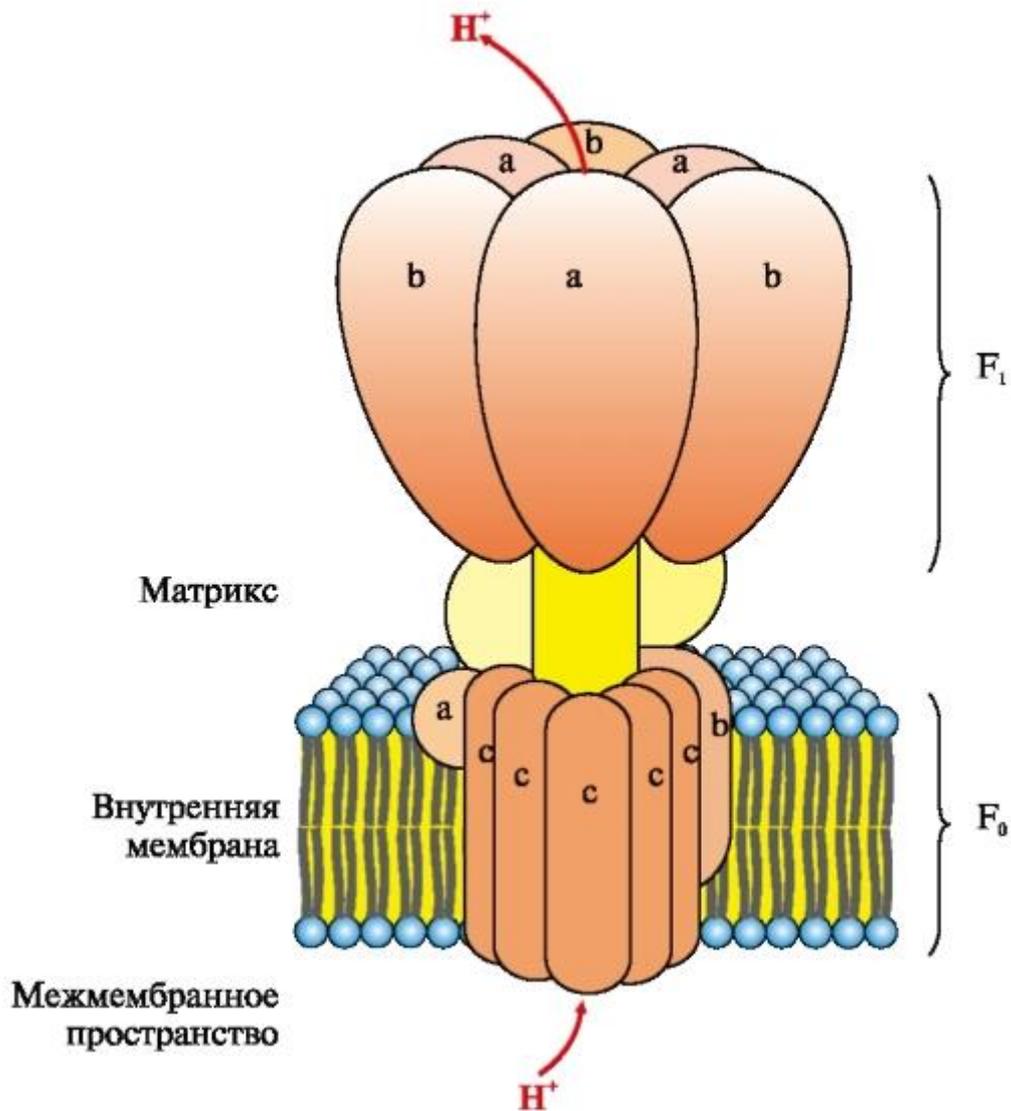


Рис. 5.4. АТФ-синтаза

Межмембранное пространство также играет большую роль в производстве АТФ, поскольку может накапливать протоны, создающие заряд на поверхности внутренней мембраны, необходимый для активации АТФ-синтазы. Состав межмембранного пространства близок к цитоплазме.

Митохондриальный матрикс, ограниченный внутренней мембраной, имеет очень сложный состав и на 50% состоит из белков. В нем содержатся ферменты и промежуточные продукты многих метаболических процессов (общего пути катаболизма, β -окисления жирных кислот и др.), митохондриальная ДНК, РНК и рибосомы.

Большая часть окислительно-восстановительных реакций в клетке происходит в матриксе митохондрий. Важнейшими источниками энергии служат реакции дегидрирования.

Реакции отщепления водорода катализируют ферменты дегидрогеназы, которые подразделяются на две группы в зависимости от используемого кофермента (NAD^+ или FAD):

- NAD^+ -зависимые дегидрогеназы, например изоцитратдегидрогеназа, малатдегидрогеназа и др., в активный центр которых входит кофермент NAD^+ , содержащий никотинамид (витамин РР).

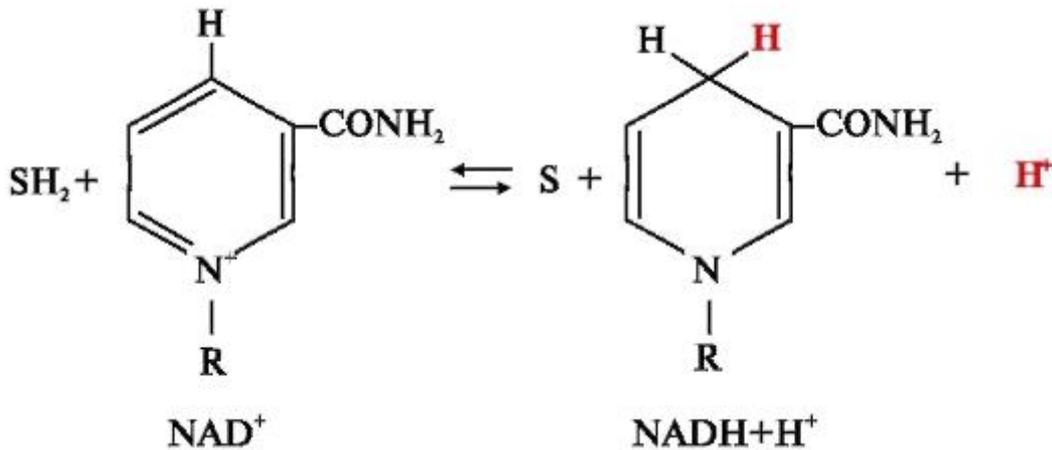


Рис 5.5. Окисление субстрата (SH_2) NAD^+ -зависимой дегидрогеназой

Кофермент NAD^+ не образует прочной постоянной связи с ферментом, он соединяется с активным центром в ходе реакции и после ее завершения уже в восстановленной форме отделяется. При этом один протон и два электрона переходят на витамин РР, а один H^+ уходит в среду (рис. 5.5). Субстратами NAD^+ -зависимых дегидрогеназ могут быть изоцитрат (изолимонная кислота), малат (яблочная кислота) и другие соединения. Реакции дегидрирования с участием NAD^+ происходят намного чаще, чем с коферментом FAD .

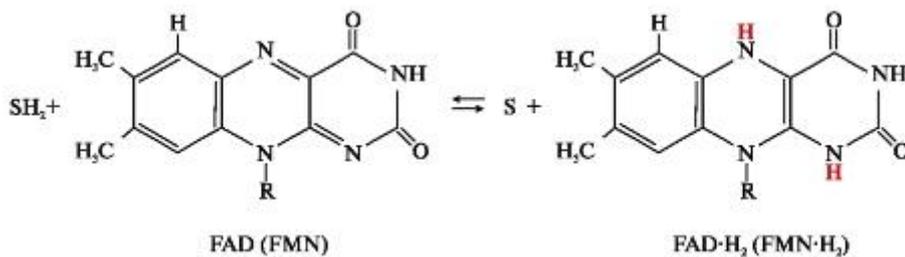


Рис 5.6. Окисление субстрата (SH_2) $\text{FAD}(\text{FMN})$ -зависимой дегидрогеназой

- FAD -зависимые дегидрогеназы, например сукцинатдегидрогеназа, ацил-КоА-дегидрогеназа, содержат в активном центре кофермент FAD , являющийся производным рибофлавина (витамина B_2).

Этот кофермент прочно связан с активным центром фермента как в окисленной, так и в восстановленной форме. Включаясь в реакцию, он принимает 2H^+ и 2e^- и переходит в восстановленную форму (рис. 5.6).

Субстратами FAD-зависимых дегидрогеназ могут служить сукцинат (янтарная кислота), ацил-КоА (активированные жирные кислоты) и др. С участием FAD происходит дегидрирование преимущественно неполярных гидрофобных групп, такие реакции в клетках происходят реже, чем реакции с участием NAD^+ .

Таким образом, при дегидрировании первичных доноров водорода (SH_2) образуются восстановленные коферменты NADH или FADH_2 , которые затем окисляются ферментами ЦПЭ. Эта система функционирует с поглощением кислорода, являющегося конечным акцептором электронов (e^-). ЦПЭ перекачивает H^+ в межмембранное пространство для создания градиента электрохимического потенциала $\Delta\mu\text{P}^+$ на мембране, необходимого для активации фермента АТФ-синтазы. Процесс этот сложный, многоэтапный, объединяет работу до 15 различных ферментов и переносчиков электронов.

5.2. СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЦЕПИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ

Система ферментов и белков, обеспечивающая взаимосвязь (сопряжение) процессов окисления и фосфорилирования АДФ, получила название цепи переноса электронов или дыхательной цепи (рис. 5.8). В основе ее лежит работа трех важнейших ферментных комплексов.

Первый ферментный комплекс NADH-дегидрогеназа (I) представляет собой крупный белок, имеющий простетическую группу - FMN. Рабочей частью этого кофермента является рибофлавин (витамин B_2). NADH-дегидрогеназа катализирует перенос 2H с кофермента NADH на FMN, который переходит в форму FMNH_2 . Восстановление кофермента повышает сродство NADH-дегидрогеназы к убихинону.

Убихинон (кофермент Q_{10}) - жирорастворимое витаминоподобное вещество, широко распространенное в клетках всех организмов (от лат. вездесущий хинон). Длина его боковой цепи может варьировать, у млекопитающих она образована 10 изопреновыми группами. Убихинон способен восстанавливаться и превращаться в QH_2 (убихинол), имеющий две спиртовые OH-группы (рис. 5.7). Как убихинон, так и убихинол легко перемещаются в липидном бислое внутренней мембраны митохондрии.

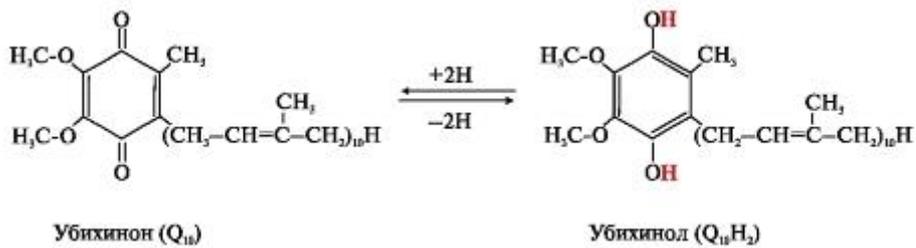
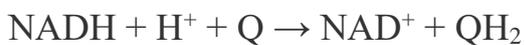


Рис. 5.7. Реакция восстановления убихинона

В реакции восстановления убихинон принимает от FMNH₂ 2e, а протоны (H⁺) поступают в межмембранное пространство. Необходимые для образования QH₂ протоны при этом поступают из матрикса.

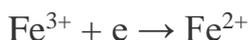
Таким образом, в результате работы NADH дегидрогеназы кофермент NADH переходит в окисленную форму:



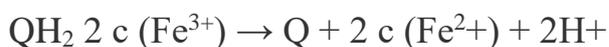
При этом происходит перенос нескольких протонов из матрикса митохондрии в межмембранное пространство.

Ферментный комплекс QH₂-дегидрогеназа (III)

имеет большую молекулярную массу и представляет собой сложный олигомерный белок, включающий гемопротейны цитохром b и цитохром c₁. Цитохромы различаются по структуре полипептидных цепей. Рабочей частью всех цитохромов является гем, содержащий ион Fe³⁺, который может принимать e⁻ и менять валентность:

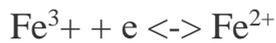


QH₂-дегидрогеназа окисляет убихинол, электроны при этом поступают сначала на цитохром b, затем - на цитохром c₁. Далее происходит последовательный перенос 2 электронов на небольшой белок цитохром c:



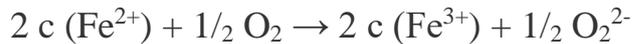
За счет энергии реакции комплекс III, как и комплекс I, переносит несколько протонов в межмембранное пространство, увеличивая градиент электрохимического потенциала ΔцН⁺.

Ферментный комплекс цитохром-с-оксидаза (IV) имеет сложное строение и большую молекулярную массу, содержит гемопротейны цитохром a и цитохром a₃, а также ионы Си²⁺, которые могут изменять свою валентность и участвуют в переносе электронов на кислород:



Цитохромы а (Fe^{2+}) и a_3 (Fe^{2+}) в восстановленной форме имеют высокое сродство к кислороду, который поступает в активный центр фермента.

Являясь сильным окислителем, кислород принимает 2 электрона и переходит в ионизированную форму:



В активном центре цитохром-с-оксидазы $1/2 \text{O}_2^{2-}$ присоединяет 2 протона (2H^+) из матрикса и образуется молекула метаболической воды:



Подобным способом в организме человека синтезируется до 400 мл метаболической воды в сутки.

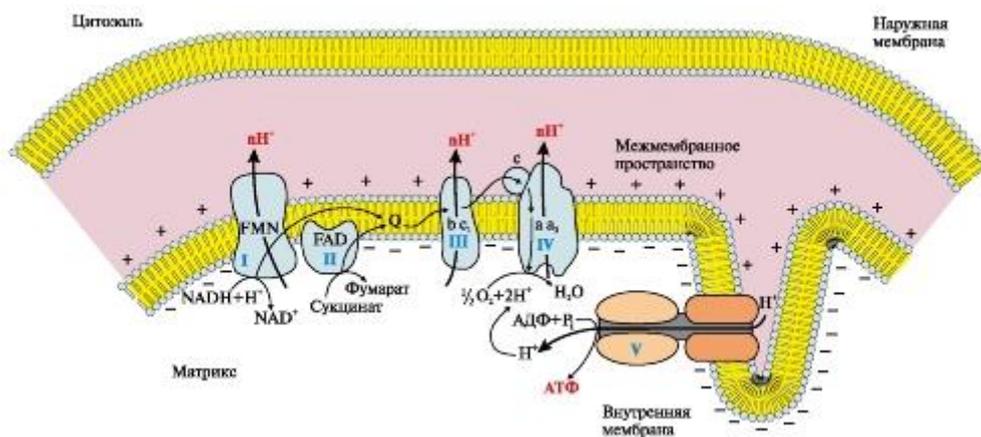


Рис. 5.8. Структурная организация митохондриальной ЦПЭ

Комплексы ЦПЭ: I - NADH-дегидрогеназа; II - сукцинатдегидрогеназа; III - QH_2 -дегидрогеназа; IV - цитохром с-оксидаза; Комплекс V - АТФ-синтаза

Работа комплекса IV цитохром-с-оксидазы также сопровождается переносом протонов из матрикса в межмембранное пространство (против градиента концентрации).

Таким образом, все ферментные комплексы ЦПЭ, участвующие в передаче электронов, обеспечивают перекачивание протонов из матрикса в межмембранное пространство (см. рис. 5.8). Повышение концентрации H^+ в межмембранном пространстве приводит к возникновению градиента электрохимического потенциала $\Delta\mu\text{H}^+$. Порядок участия ферментов в работе цепи обусловлен величиной их окислительно-восстановительного потенциала, который возрастает от одного компонента к другому (самый

маленький потенциал $-0,32$ В имеет NADH самый высокий $+0,82$ В - кислород) (табл. 5.1).

Таблица 5.1

Окислительно-восстановительный потенциал (E^0) некоторых коферментов и компонентов ЦПЭ

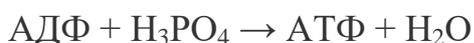
Компонент ЦПЭ	E^0 , В
NAD ⁺ /NADH	$-0,32$
FMN/FMN·H ₂	$-0,22$
Q/QH ₂	$+0,10$
Цитохром с Fe ³⁺ /Fe ²⁺	$+0,25$
1/2 O ₂ /H ₂ O	$+0,82$

Работу ЦПЭ изучал в 60-х годах прошлого века английский биохимик П. Митчелл (Нобелевская премия 1978 г.). Он создал хемиосмотическую теорию, основные положения которой объясняют механизмы сопряжения процессов биологического окисления и фосфорилирования АДФ.

При движении от окисляемого субстрата к кислороду электроны теряют часть своей потенциальной энергии. Эту энергию ферменты ЦПЭ используют для переноса протонов из матрикса в межмембранное пространство против градиента концентрации, т.е. комплексы ЦПЭ работают как протонный насос, перекачивая H⁺.

Градиент электрохимического потенциала стимулирует возвращение протонов из межмембранного пространства в матрикс. Но внутренняя мембрана митохондрий для H⁺ непроницаема. Их перенос происходит с помощью фермента АДФ-синтазы (комплекс V), имеющего протонный канал F₀ (рис. 5.4). Протоны (H⁺) межмембранного пространства присоединяются к ферменту, изменяя его заряд и конформацию. Это приводит к раскрытию протонного канала, переносу

протонов в матрикс по градиенту концентрации и активации поверхностной части фермента F₁, катализирующей реакцию образования АДФ:



Образующиеся молекулы АДФ транспортируются из матрикса в цитозоль АДФ-АТФ-транслоказами, которые одновременно переносят АДФ в митохондрию.

Количество АТФ, образующееся в результате сопряжения работы ЦПЭ и АТФ-синтазы, оценивается с помощью коэффициента фосфорилирования.

Коэффициент окислительного фосфорилирова-

ния P/O показывает, какое количество неорганического фосфата затрачивается для фосфорилирования АДФ при использовании 1 атома кислорода на образование 1 молекулы воды. Коэффициент окислительного фосфорилирования численно равен количеству молей АТФ, синтезированных в результате окислительной реакции.

Энергия электронов и протонов, перенесенных комплексами ЦПЭ от субстратов NAD-зависимых дегидрогеназ, достаточна для активации АТФ-синтазы и синтеза 3 молекул АТФ в пересчете на $1/2 O_2^{2-}$, т.е. для субстратов NAD-зависимых дегидрогеназ P/O < 3 (рис. 5.9, А).

При дегидрировании веществ с участием FAD-зависимой дегидрогеназы не происходит восстановления кофермента FMN NADH-дегидрогеназы, так как и FAD, и FMN являются производными рибофлавина и имеют одинаковый редокс-потенциал (см. табл. 5.1). В этом случае происходит передача протонов и электронов непосредственно на убихинон без участия комплекса I. Этот процесс облегчается еще и тем, что наиболее активный FAD-зависимый фермент сукцинатдегидрогеназа является поверхностным белком внутренней мембраны митохондрии, находится в непосредственной близости от комплексов ЦПЭ и обычно рассматривается как комплекс II (см. рис. 5.8, 5.9). Сукцинатдегидрогеназа катализирует превращение сукцината в фумарат, являющееся одной из реакций цитратного цикла (ЦТК).

Энергия электронов и протонов, поступивших в ЦПЭ от субстратов FAD-зависимых дегидрогеназ, достаточна для активации АТФ-синтазы и фосфорилирования 2 молекул АДФ. В этом случае P/O = 2 (рис. 5.9, Б).

Аскорбиновая кислота (витамин С) благодаря выраженным антиокислительным свойствам

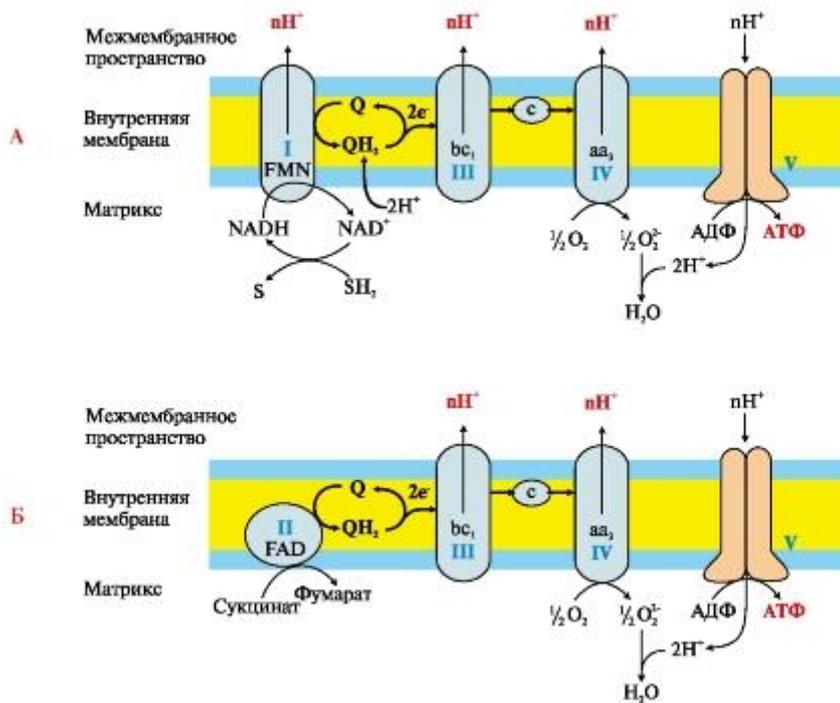


Рис. 5.9. Схема ЦПЭ

А - перенос электронов в дыхательной цепи с субстрата NAD^+ - зависимой дегидрогеназы;

Б - перенос электронов с субстрата FAD-зависимой дегидрогеназы.

Остальные обозначения те же, что на рис. 5.8

способна восстанавливать ионы Fe^{3+} в геме цитохромов аа₃ и активировать цитохром-соксидазу. В этом случае $\text{P/O} < 1$.

Для синтеза АТФ используется не вся энергия, выделяющаяся в процессе переноса электронов и протонов в ЦПЭ, а примерно 40-50% (рис. 5.10). Более 30% всей энергии выделяется в виде тепла, обеспечивая поддержание температуры тела человека. Остальная часть энергии используется для обеспечения других видов работы клеток (активного транспорта веществ через мембрану митохондрии при участии транслоказ и т.д.).

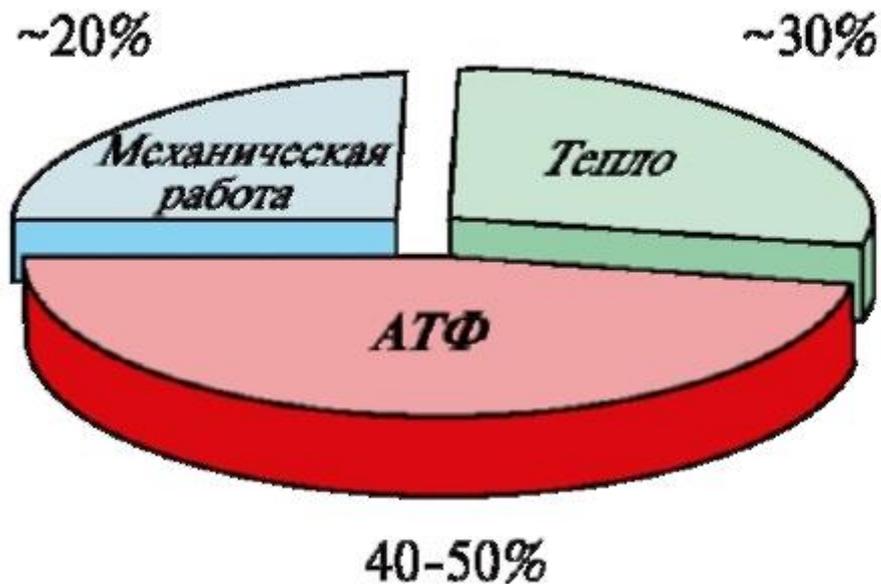


Рис. 5.10. Распределение энергии, выделяемой ЦПЭ

Биологические функции ЦПЭ:

- использует энергию окисления субстратов для синтеза АТФ путем окислительного фосфорилирования;
- обеспечивает поддержание температуры тела человека.

В норме скорость окисления первичных доноров протонов (H^+) и электронов (e^-) регулируется содержанием АДФ. Выполнение клеткой работы с затратой АТФ приводит к накоплению АДФ, это активирует окисление субстратов (SH_2) и поглощение кислорода митохондриями клетки. Таким образом клетки реагируют на интенсивность метаболизма и поддерживают соотношение АТФ/АДФ на необходимом уровне. Зависимость интенсивности поглощения кислорода от концентрации АДФ называется дыхательным контролем.

Активность ферментов ЦПЭ регулируется не только соотношением АТФ/АДФ в клетке. Можно выделить следующие группы веществ, понижающих интенсивность окислительного фосфорилирования АДФ.

Ингибиторы ферментов ЦПЭ подавляют активность ферментных комплексов I, III и IV. Скорость восстановления окисленной формы коферментов NAD^+ и FAD при этом снижается, что уменьшает скорость окислительных процессов, потребление кислорода и коэффициент P/O:

- ингибиторы NADH-дегидрогеназы - лекарственные препараты со снотворным действием - барбитураты (веронал, гексенал, нембутал, амитал); ротенон;
- ингибитор QH_2 -дегидрогеназы - антимицин А;
- ингибиторы цитохром-с-оксидазы - цианиды (CN^-), угарный газ (CO), сероводород

Ингибиторы АТФ-синтазы снижают активность фермента, скорость фосфорилирования АДФ и коэффициент Р/О - олигомицин.

Разобщители окисления и фосфорилирования -

липофильные протонотранспортеры способны легко проникать через липидный бислой и переносить протоны через внутреннюю мембрану митохондрии в матрикс, минуя АТФ-синтазу. Скорость образования метаболической воды и дыхания не изменяется или даже возрастает, но сопряжение окисления и фосфорилирования АДФ при этом ослабевает, Р/О снижается. Энергия окисления рассеивается в виде тепла, что приводит к повышению температуры тела человека (пирогенное действие).

- экзогенные разобщители - 2,4-динитрофенол, дикумарол, стрептомицин;
- эндогенные разобщители - жирные кислоты, гормоны щитовидной железы (тироксин), желчный пигмент билирубин, белок термогенин.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Установите порядок событий.

Этапы превращения энергии в организме человека:

А. Энергия макроэргических связей АТФ. Б. Энергия коферментов NADH и $FADH_2$.

В. Энергия градиента электрохимического потенциала на внутренней мембране митохондрии.

Г. Энергия переноса электронов комплексами ЦПЭ. Д. Распад органических веществ пищи.

2. Заполните табл. 5.2, дописав названия комплексов ЦПЭ и их кофакторов, непосредственно участвующих в переносе электронов.

Таблица 5.2

Комплекс	Название	Рабочая часть
I		
III		
IV		
II		

3. Установите соответствие. Редокс потенциал:

А. + 0,82. Б. + 0,10.

В. + 0,25. Г. - 0,22.

Компонент ЦПЭ:

1. Убихинон.

2. Кислород.

3. FMN.

4. Цитохром с.

4. Выберите правильные ответы.

Комплексы ЦПЭ функционируют:

А. В порядке возрастания молекулярной массы.

Б. В порядке увеличения редокс-потенциала.

В. В анаэробных условиях.

Г. Только в аэробных условиях. Д. С низкой активностью в присутствии фенобарбитала.

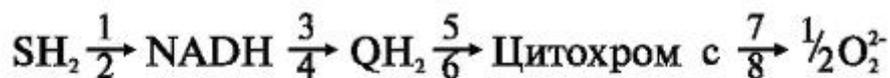
5. Установите порядок событий при функционировании ЦПЭ.

А. Восстанавливается FMN. Б. Окисляется NADH

В. Происходит перенос электронов на кислород.

Г. Продуктом реакции является убихинол. Д. Происходит переход $Cu^{2+} \rightarrow Cu^{+}$.

6. Составьте схему ЦПЭ, дополнив ее названиями соответствующих комплексов и их рабочих частей.



Субстрат
восстановленный

А. QH₂-дегидрогеназа.

Б. FMN.

В. NAD⁺-зависимая дегидрогеназа. Г. Цитохром с-оксидаза.

Д. Цитохромы a + a₃ (Fe³⁺, Cu²⁺). Е. NAD⁺.

Ж. NADH-дегидрогеназа. З. Цитохромы b + c₁ (Fe³⁺).

7. Напишите схему переноса электронов от изоцитрата на кислород (изоцитратдегидрогеназа - NAD⁺- зависимый фермент). Укажите:

а) названия всех ферментных комплексов;

б) энергетический эффект (P/O) этого процесса.

8. Составьте схему переноса электронов и H⁺ от сукцината на O₂ (сукцинатдегидрогеназа - FAD- зависимый фермент) и укажите, чему равен коэффициент P/O для этого субстрата.

9. Установите соответствие. Коэффициент P/O:

А. 0. Б. 1.

В. 2. Г. 3.

Д. 5.

Донор электронов:

1. NADH+H⁺.

2. FADH₂

3. Витамин С.

10. Выберите правильный ответ. Динитрофенол подавляет окислительное фос-

форилирование АДФ, так как:

А. Усиливает использование кислорода митохондриями.

Б. Восстанавливает убихинон.

В. Активирует H⁺-АТФ-синтазу.

- Г. Переносит H^+ через внутреннюю мембрану митохондрий в матрикс.
Д. Блокирует протонный транспорт через внутреннюю мембрану митохондрии.

11. Выберите правильные ответы

Гормоны щитовидной железы йодтиронины (тироксин, трийодтиронин):

- А. Ингибируют комплексы ЦПЭ.
Б. Являются разобщителями окисления и фосфорилирования АДФ.
В. Переносят протоны через мембрану митохондрий в матрикс.
Г. Оказывают пирогенное действие. Д. Активируют цитохромоксидазу.

12. Выберите правильные ответы. Лекарственные препараты - производные барбитуровой кислоты:

- А. Оказывают снотворное действие. Б. Активируют тканевое дыхание.
В. Ингибируют NADH-дегидрогеназу.
Г. Разобщают окисление и фосфорилирование АДФ. Д. Вызывают гипохромию.

13. Установите соответствие

- А. Разобщает окисление и фосфорилирование.
Б. Ингибирует H^+ -АТФ-синтазу.
В. Ингибирует цитохромоксидазу.
Г. Ингибирует сукцинатдегидрогеназу. Д. Активирует комплексы ЦПЭ.

1. Желчный пигмент билирубин.

2. Угарный газ (СО).

3. Аскорбиновая кислота.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. На стадии минерализации в остеобластах повышается скорость синтеза белков межклеточного матрикса, возрастает поглощение этими клетками глюкозы и кислорода. Назовите процесс, активация которого в остеобластах приводит к усилению потребления кислорода, и объясните его биологическую функцию. Для этого:

а) напишите схему процесса образования АТФ, происходящего с потреблением кислорода;

б) укажите его локализацию в клетках.

2. При тиреотоксикозе (базедова болезнь) наблюдается гиперсекреция гормона щитовидной железы тироксина, которая нередко сопровождается гипертермией (повышением температуры тела человека). Объясните влияние высокой концентрации этого гормона на энергетический обмен. Для этого:

а) напишите схему процесса, поддерживающего температуру тела человека;

б) назовите механизм действия тироксина на этот процесс;

в) укажите, как изменится коэффициент Р/О при повышении синтеза этого гормона.

3. При проведении кратковременных внеполостных операций в стоматологии и пластической хирургии часто используется гексеналовый наркоз. Объясните релаксирующее действие гексенала (гексобарбитала натрия). Для этого:

а) напишите схему процесса, который подавляет барбитурат;

б) на схеме покажите компонент, который подвергается воздействию препарата;

в) укажите, как будет изменяться коэффициент Р/О при наркозе.

4. Пульпа является биологическим барьером, защищающим зубную полость и периодонт от инфекции, выполняет трофическую функцию и характеризуется повышенной активностью окислительно-восстановительных процессов и высоким потреблением кислорода. Важную роль в метаболизме пульпы играет аскорбиновая кислота (витамин С). Объясните механизм стимулирующего действия витамина. Для этого:

а) напишите схему процесса, который обеспечивает дегидрирование NADH и активацию окислительно-восстановительных реакций;

б) назовите фермент, на который действует витамин;

в) предположите, что произойдет при недостатке аскорбиновой кислоты.

5. В косточках горького миндаля, вишен и диких абрикосов содержится цианогликозид амигдалин, который при длительном хранении фруктовых консервов переходит в сироп. В кишечнике амигдалин расщепляется бактериями с выделением синильной кислоты HCN, которая быстро всасывается. Отравление такими консервами сопровождается головной болью, острой резью в животе, потерей сознания и ярко-розовой окраской кожных покровов. Объясните механизм токсического действия амигдалина. Для этого:

- а) назовите процесс, который подавляет HCN напишите его схему;
- б) укажите, на какой компонент этого процесса действует цианид;
- в) предположите, как изменится коэффициент Р/О в его присутствии.

5.3. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ И ОБЩИЙ ПУТИ КАТАБОЛИЗМА

С питанием человек получает органические вещества, не содержащие первичных доноров водорода для ЦПЭ. В ходе переваривания пищевые макромолекулы (белки, жиры и углеводы) распадаются на мономеры, которые всасываются и поступают в клетки тканей. В клетках эти соединения проходят специфические пути катаболизма и превращаются всего в два вещества: пируват (пировиноградную кислоту) и ацетил-КоА (активированную уксусную кислоту).

Пируват образуется в цитоплазме клеток из глюкозы, глицерола, некоторых аминокислот и поступает в матрикс митохондрий, где превращается в ацетил-КоА. Ацетил-КоА также может образоваться в матриксе митохондрий при распаде жирных кислот, ацетоацетата и некоторых других соединений (рис. 5.11).

В митохондриях происходит распад пирувата до CO_2 и H_2O , который получил название общего пути катаболизма (ОПК). В этом процессе можно выделить две стадии: окислительное декарбоксилирование пирувата и цикл трикарбоновых кислот (ЦТК).

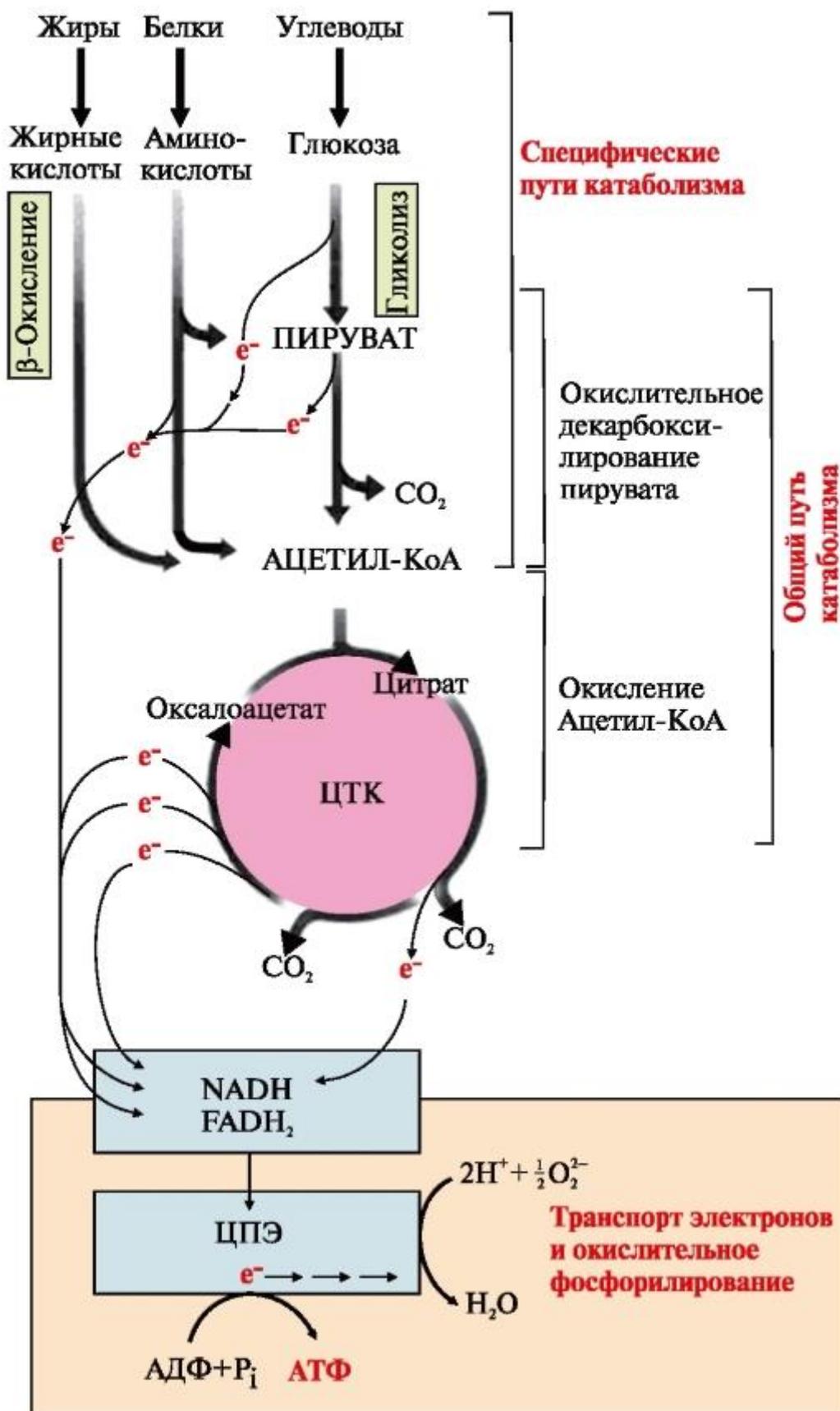


Рис. 5.11. Специфические и общий пути катаболизма

5.4. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЕ ПИРУВАТА

Образование ацетил-КоА из пирувата протекает в митохондриальном матриксе.

Реакцию катализирует пируватдегидрогеназный комплекс ферментов (ПДК), представляющий собой мультиферментный ансамбль, расположенный на внутренней мембране митохондрии. Комплекс имеет очень большую мол. массу - $7 \cdot 10^6$ кД и содержит три основных фермента: пируватдекарбоксилазу (E_1), дигидролипоилтрансацилазу (E_2) и дигидролипоилдегидрогеназу (E_3) (рис. 5.12). Комплекс работает при участии 5 коферментов: тиаминдифосфата (ТДФ), липоевой кислоты, кофермента А (HS-КоА), NAD^+ и FAD. Три из них являются простетическими группами (ТДФ, ЛК, FAD) и прочно связаны с активными центрами соответствующих ферментов.

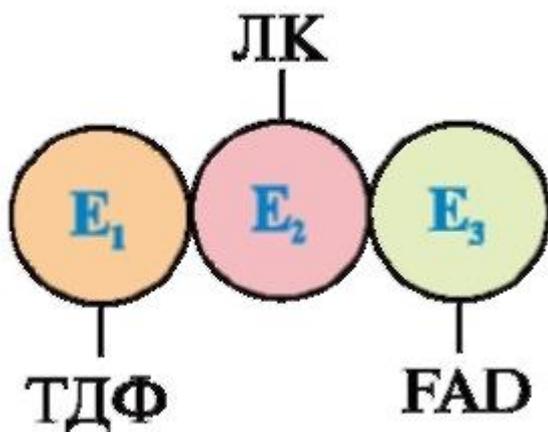


Рис. 5.12. Состав пируватдегидрогеназного комплекса (ПДК)

Ферменты: E_1 - пируватдекарбоксилаза, E_2 - дигидролипоилтрансацилаза, E_3 - дигидролипоилдегидрогеназа.

Коферменты: ТДФ - тиаминдифосфат (простетическая группа E_1), липоевая кислота (простетическая группа E_2), HS-КоА - кофермент А (участвует в работе фермента E_2), FAD - флавинадениндинуклеотид (простетическая группа E_3), NAD^+ - никотинамидадениндинуклеотид (участвует в работе фермента E_3)

Превращение пирувата в ацетил-КоА проходит 5 стадий благодаря последовательной работе 3 основных ферментов ПДК (рис. 5.16): • Под действием E_1 происходят декарбоксилирование пирувата и выделение одного

углеродного атома в виде CO_2 (1). Этот фермент относится к сложным белкам, простетической группой его служит ТДФ.

Кофермент ТДФ является производным витамина B_1 (тиамина) (рис. 5.13), необходим для декарбоксилирования пирувата и других α -кетокислот.

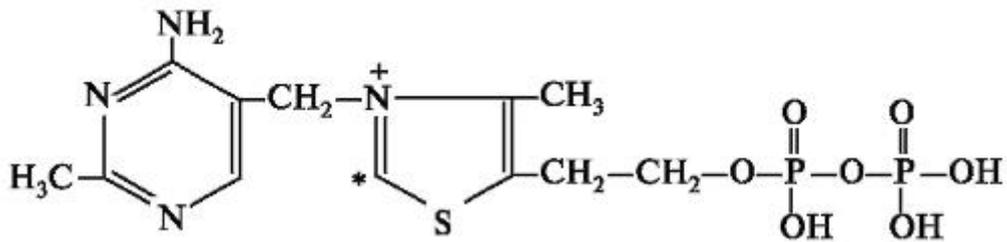


Рис. 5.13. Кофермент тиаминдифосфат (ТДФ)

В ходе реакции пируват присоединяется к ТДФ и декарбоксилируется, а оксиэтильная группа остается связанной с ТДФ.

- Далее оксиэтильная группа подвергается действию E_2 , коферментом которого является липоевая кислота.

Липоевая кислота относится к витаминам группы В. Она прочно связана с радикалом лизина в активном центре фермента E_2 (рис. 5.14):

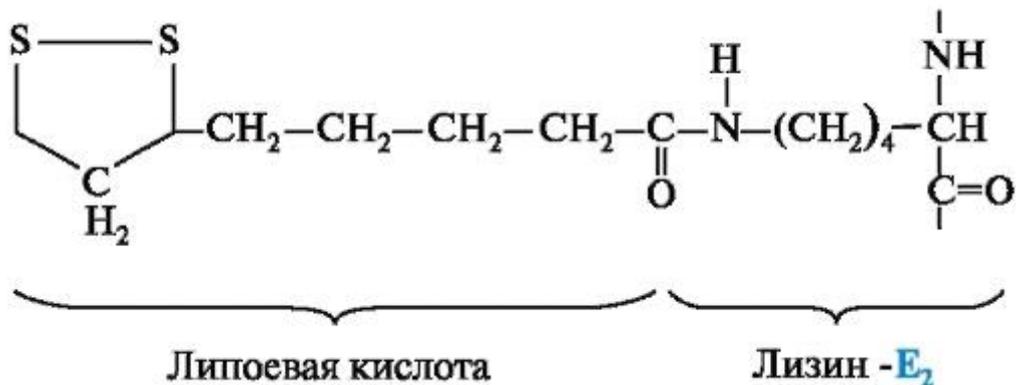


Рис. 5.14. Липоевая кислота

Липоевая кислота способна взаимодействовать с активными центрами ферментов E_1 и E_3 и играет роль своего рода шарнирного механизма, участие которого организует работу всего комплекса в единый механизм и не позволяет промежуточным продуктам поступать в матрикс. Непосредственно в реакции участвуют две тиольные группы молекулы, способные окисляться или восстанавливаться (рис. 5.15).

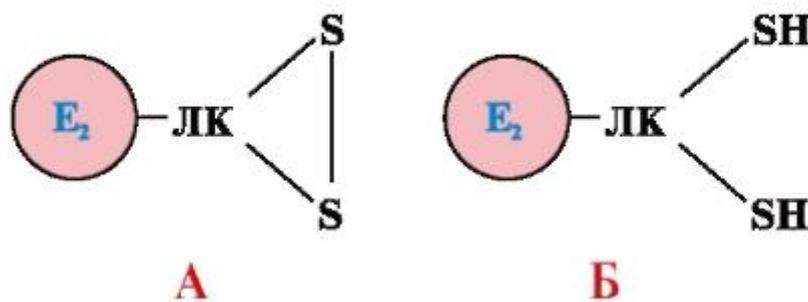


Рис. 5.15. Липоевая кислота в окисленной и восстановленной формах

А - дегидролипоат (окисленная форма);

Б - дигидролипоат (восстановленная форма)

- На второй стадии (2) за счет окисления оксиэтильного остатка, связанного с ТДФ, восстанавливается дисульфидная связь липоевой кислоты и продукт окисления оксиэтила - ацетильный остаток переносится на дигидролипоат с образованием макроэргической тиоэфирной связи.
- Присоединение к липоевой кислоте ацетильного остатка повышает сродство E_2 к коферменту А (HS-КоА).

HS-КоА является производным пантотеновой кислоты (витамин B_5), не образует прочных связей с активным центром фермента. Своей тиольной HS-группой кофермент способен связываться с остатками органических кислот, в том числе с ацетатом, образуя макроэргическую связь.

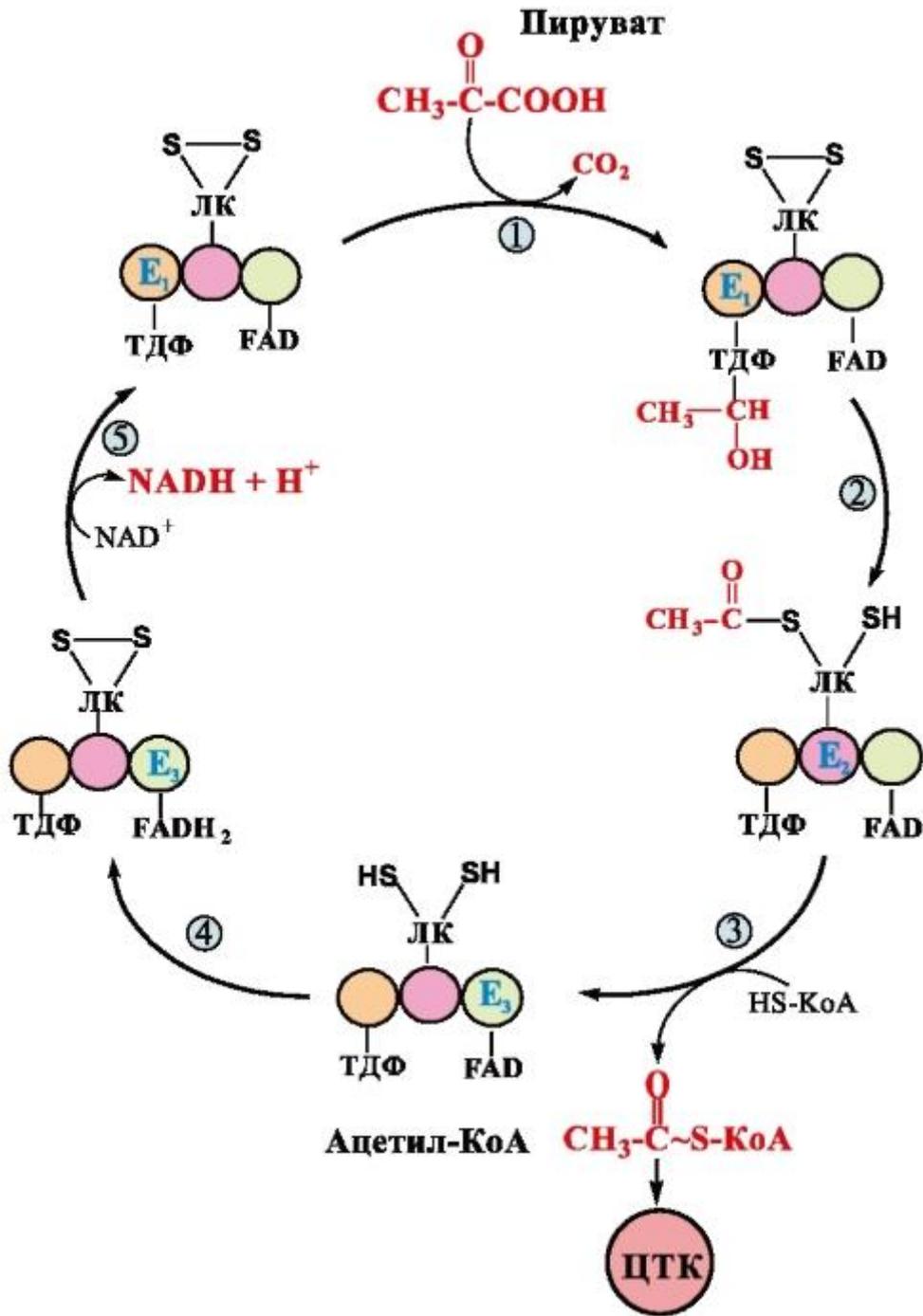


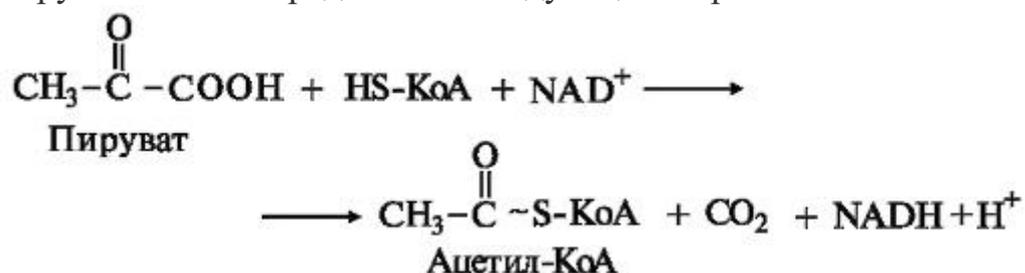
Рис. 5.16. Схема реакции окислительного декарбоксилирования пирувата ПДК: E₁, E₂, E₃. На схеме выделен фермент, катализирующий определенную стадию. 1-5 - стадии процесса

- Фермент E₂ переносит ацетильную группу на HS-КоА с образованием ацетил-КоА и восстановленной формы липоевой кислоты (дигидролипоата) (3).

- Следующий фермент ПДК - E₃ - окисляет дигидролипоат с участием кофермента FAD, который является его простетической группой. Происходит регенерация окисленной формы липоевой кислоты, способной участвовать в реакции окисления следующей молекулы пирувата (4).
- Полученный FADH₂ подвергается дегидрированию с участием окисленной формы NAD⁺ и образованием NADH (5).

Таким образом, в результате реакции окислительного декарбоксилирования пирувата образуется ацетил-КоА, NADH и выделяется 1 молекула диоксида углерода CO₂, содержащая 1-й атом углерода пировиноградной кислоты.

Суммарное уравнение реакции окислительного декарбоксилирования пирувата можно представить следующим образом:



Важным конечным продуктом реакции окислительного декарбоксилирования пирувата является NADH так как он поставляет протоны и электроны в ЦПЭ и способствует синтезу 3 моль АТФ путем окислительного фосфорилирования. Основной продукт реакции - ацетил-КоА включается далее в ЦТК.

5.5. ЦИТРАТНЫЙ ЦИКЛ

Процесс распада ацетил-КоА в начале XX в. изучал американский биохимик Г. Кребс. Он же доказал, что процесс имеет циклический характер. В 1953 г. за исследования в этой области он был удостоен Нобелевской премии, а процесс стал носить его имя.

Цитратный цикл (цикл трикарбоновых кислот)

представляет собой совокупность 8 последовательных химических реакций, в ходе которых происходят распад ацетил-КоА на 2 молекулы CO₂ и образование доноров водорода для ЦПЭ NADH и FADH₂ (рис. 5.17). Реакции цитратного цикла происходят в матриксе митохондрий.

- В 1-й реакции (1) под действием цитратсинтазы происходит конденсация ацетильного остатка ацетил-КоА с оксалоацетатом и образование трикарбоновой кислоты цитрата (лимонная кислота) (см. рис. 5.17).
- Далее цитрат в две стадии (дегидратация и последующая гидратация по двойной связи) превращается в изоцитрат (2). Промежуточным продуктом является ненасыщенная цис-аконитовая кислота, в связи с чем фермент, катализирующий обе стадии, получил название аконитазы.
- В 3-й реакции под действием NAD^+ -зависимой изоцитратдегидрогеназы происходят окисление и декарбоксилирование изоцитрата с образованием α -кетоглутарата (3). В реакции образуются NADH и молекула CO_2 .
- Затем происходит окислительное декарбоксилирование α -кетоглутарата (4) с выделением еще одной молекулы CO_2 и NADH . Это превращение катализируют ферменты α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса, который имеет структурное сходство с ПДК и также расположен на поверхности

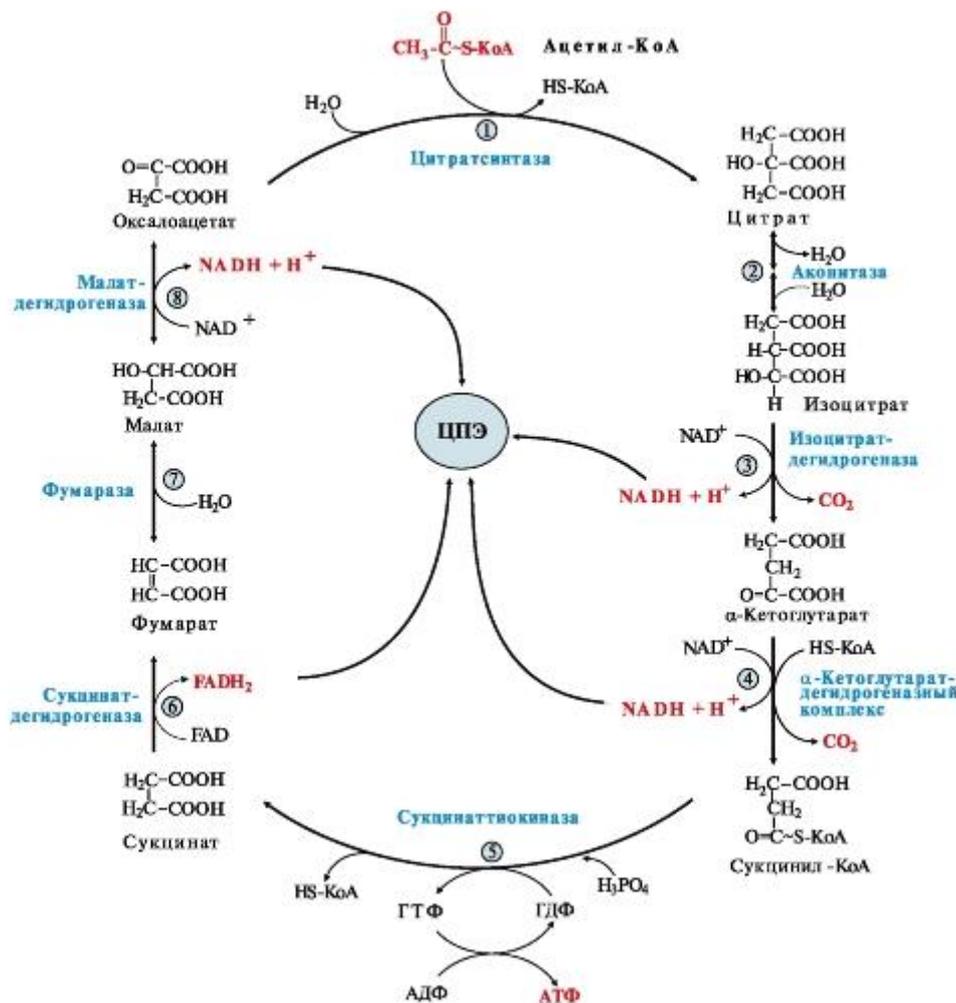


Рис. 5.17. Цикл трикарбоновых кислот

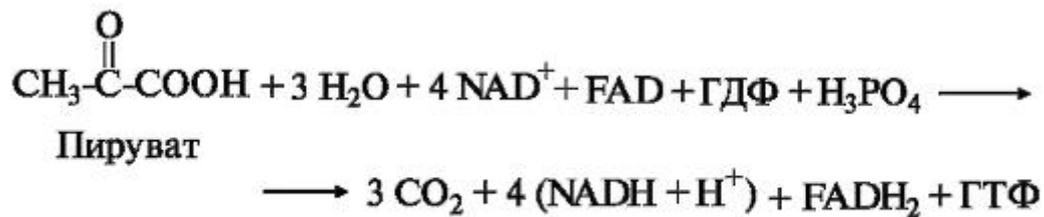
внутренней мембраны митохондрий. Продуктами реакции являются NADH, CO₂ и сукцинил-КоА, имеющий макроэргическую связь. Фактически на этой стадии завершается распад ацетил-КоА на 2 молекулы диоксида углерода.

Остальные реакции процесса (5-8) необходимы для регенерации оксалоацетата.

- Вторая половина цикла начинается с превращения сукцинил-КоА в сукцинат (янтарную кислоту) под действием сукцинаттиокиназы (5). Энергия разрыва макроэргической связи сукцинил-КоА используется для образования ГТФ из ГДФ и неорганического фосфата путем субстратного фосфорилирования. Энергия и фосфатный остаток ГТФ могут использоваться для фосфорилирования АДФ и получения АТФ под действием нуклеозиддифосфаткиназы.
- Далее сукцинат под действием FAD-зависимой сукцинатдегидрогеназы превращается в фумарат (6). Этот фермент является поверхностным флавопротеином внутренней мембраны митохондрий, его кофермент FAD прочно связан с активным центром фермента. В реакции образуется FADH₂, который передает протоны и электроны в ЦПЭ на убихинон (Q).
- Затем к продукту этой реакции фумарату фермент фумараза (фумаратгидратаза) присоединяет молекулу воды и образуется малат (яблочная кислота) (7).
- В заключительной реакции цикла (8) происходят дегидрирование малата NAD⁺-зависимым ферментом малатдегидрогеназой и образование оксалоацетата. Цикл замыкается. В ходе этой реакции образуется еще одна молекула NADH

Таким образом, в ОПК происходит распад 3-углеродного соединения пировиноградной кислоты с выделением 3 молекул CO₂. ОПК является основным источником углекислого газа. В сутки в организме человека образуется до 500 л CO₂ и ~ 90% его образуется именно в реакциях ОПК. Реакции декарбоксилирования других метаболических путей дают всего ~ 10% CO₂.

Суммарное уравнение общего пути катаболизма можно представить следующим образом:



Энергетическая функция ОПК

Конечными продуктами ОПК являются CO_2 , NADH и FADH . В клетках ОПК является основным поставщиком первичных доноров водорода в ЦПЭ и включает 4 NAD^+ -зависимые и 1 FAD -зависимую реакции дегидрирования. В этих 5 реакциях, сопряженных с окислительным фосфорилированием АДФ, образуется 14 молекул АТФ (в пересчете на 1 молекулу пирувата). Еще 1 молекулу АТФ поставляет реакция субстратного фосфорилирования АДФ в ходе образования сукцината из сукцинил-КоА. Общий выход АТФ составляет, таким образом, 15 молекул. Распад ацетил-КоА в ЦТК сопровождается синтезом 12 молекул АТФ.

ОПК функционирует только в аэробных условиях, поскольку для реакций дегидрирования используются окисленные формы NAD^+ и FAD , которые регенерируются из восстановленных NADH и FADH в результате работы ЦПЭ, сопровождающейся одновременным образованием АТФ. При торможении работы ЦПЭ скорость реакций ОПК снижается.

Регуляция ОПК

Скорость ОПК прежде всего зависит от потребности клеток в АТФ и регулируется с помощью 4 ферментов процесса: ПДК, цитратсинтазы, изоцитратдегидрогеназы, α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса.

Реакция окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты в клетках регулируется двумя способами: фосфорилированием/дефосфорилированием и аллостерически (рис. 5.18).

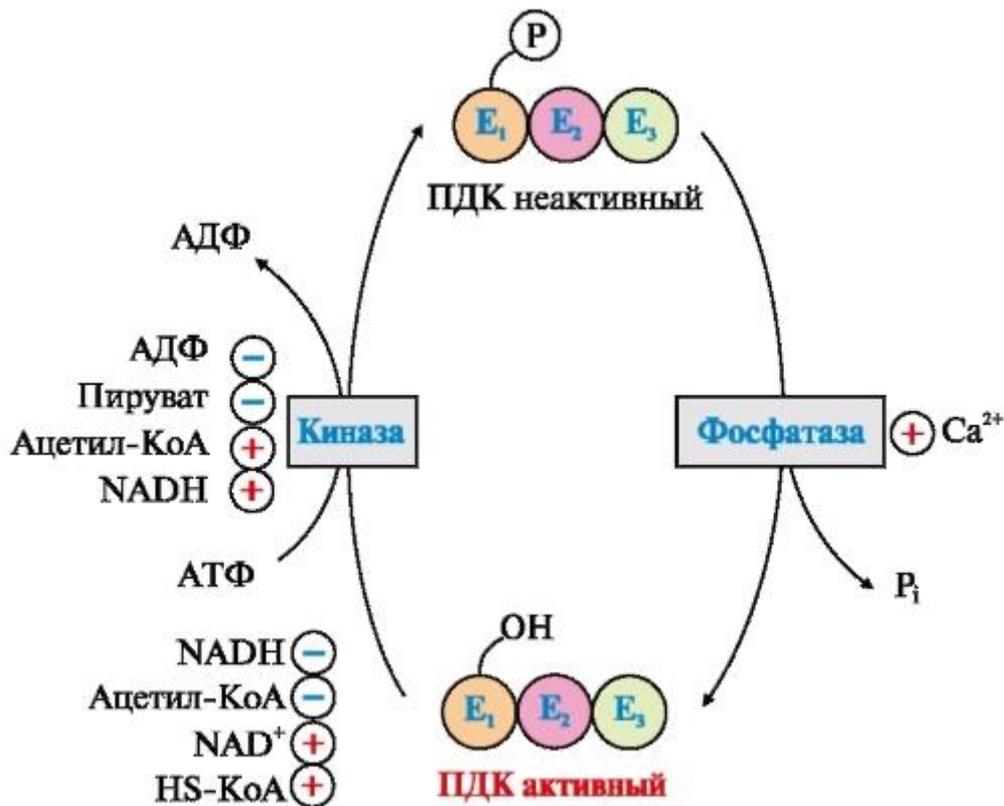
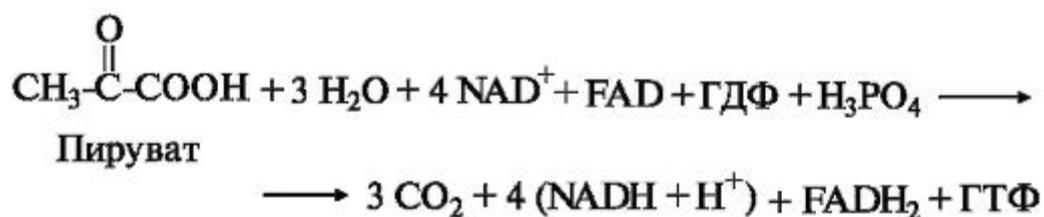


Рис. 5.18. Регуляция активности ПДК

Регуляторным компонентом ПДК является фермент E_1 . Этот фермент имеет аллостерические центры, к которым могут присоединяться активаторы (NAD^+ , $HS-CoA$) и ингибиторы ($NADH$, ацетил-КоА).

Кроме трех основных ферментов - E_1 , E_2 и E_3 , в состав ПДК входят две регуляторные субъединицы - киназа ПДК и фосфатаза ПДК, которые могут соответственно фосфорилировать или дефосфорилировать фермент E_1 . В дефосфорилированной форме фермент активен и катализирует реакцию окислительного декарбоксилирования пирувата.

Суммарное уравнение общего пути катаболизма можно представить следующим образом:



Энергетическая функция ОПК

Конечными продуктами ОПК являются CO_2 , NADH и FADH . В клетках ОПК является основным поставщиком первичных доноров водорода в ЦПЭ и включает 4 NAD^+ -зависимые и 1 FAD -зависимую реакции дегидрирования. В этих 5 реакциях, сопряженных с окислительным фосфорилированием АДФ, образуется 14 молекул АТФ (в пересчете на 1 молекулу пирувата). Еще 1 молекулу АТФ поставляет реакция субстратного фосфорилирования АДФ в ходе образования сукцината из сукцинил-КоА. Общий выход АТФ составляет, таким образом, 15 молекул. Распад ацетил-КоА в ЦТК сопровождается синтезом 12 молекул АТФ.

ОПК функционирует только в аэробных условиях, поскольку для реакций дегидрирования используются окисленные формы NAD^+ и FAD , которые регенерируются из восстановленных NADH и FADH в результате работы ЦПЭ, сопровождающейся одновременным образованием АТФ. При торможении работы ЦПЭ скорость реакций ОПК снижается.

Регуляция ОПК

Скорость ОПК прежде всего зависит от потребности клеток в АТФ и регулируется с помощью 4 ферментов процесса: ПДК, цитратсинтазы, изоцитратдегидрогеназы, α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса.

Реакция окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты в клетках регулируется двумя способами: фосфорилированием/дефосфорилированием и аллостерически (рис. 5.18).

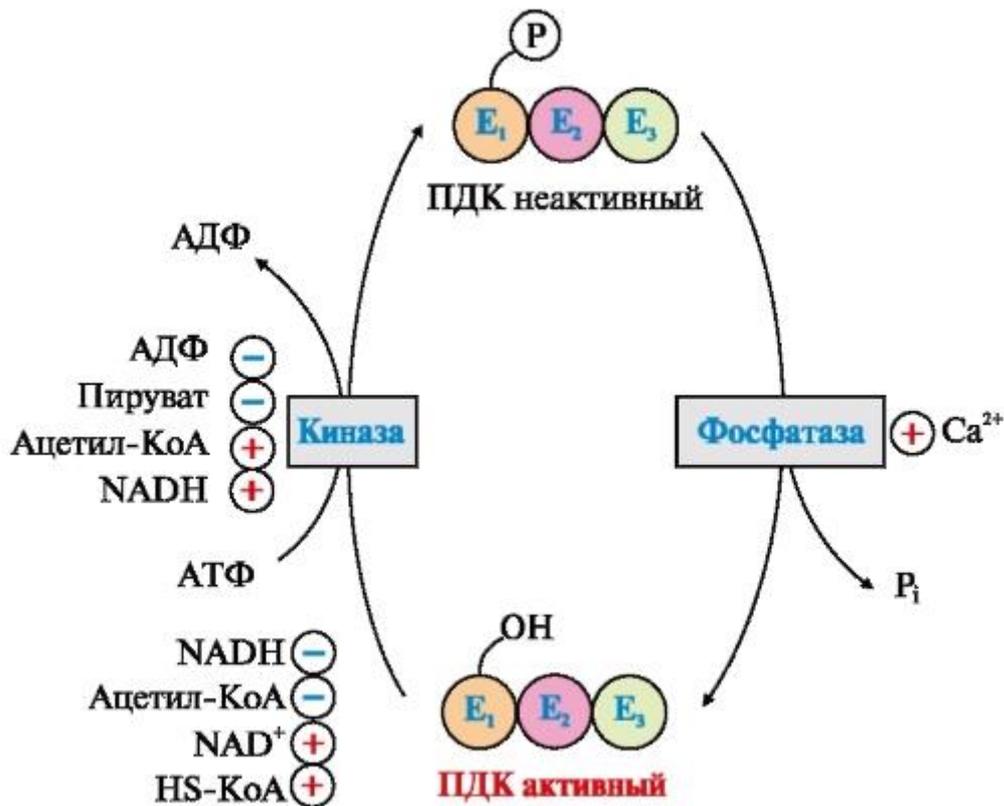


Рис. 5.18. Регуляция активности ПДК

Регуляторным компонентом ПДК является фермент E_1 . Этот фермент имеет аллостерические центры, к которым могут присоединяться активаторы (NAD^+ , $HS-CoA$) и ингибиторы ($NADH$, ацетил-КоА).

Кроме трех основных ферментов - E_1 , E_2 и E_3 , в состав ПДК входят две регуляторные субъединицы - киназа ПДК и фосфатаза ПДК, которые могут соответственно фосфорилировать или дефосфорилировать фермент E_1 . В дефосфорилированной форме фермент активен и катализирует реакцию окислительного декарбоксилирования пирувата.

Киназа ПДК в свою очередь является аллостерическим ферментом, ее активность зависит от концентрации многих соединений (субстратов, продуктов реакции и соотношения ATP/ADP):

- активаторы - $NADH+H^+$, ацетил-КоА, АТФ;
- ингибиторы - NAD^+ , $HS-CoA$, пируват, АДФ.

Фосфатаза ПДК активируется ионами Ca^{2+} .

Таким образом, повышение в клетках концентрации АДФ, пирувата, NAD^+ , $HS-CoA$ снижает скорость фосфорилирования ПДК и активирует его. Высокие концентрации продуктов реакции $NADH$ ацетил-КоА и АТФ

являются аллостерическими активаторами киназы ПДК, которая фосфорилирует пируватдекарбоксилазу и вызывает торможение процесса.

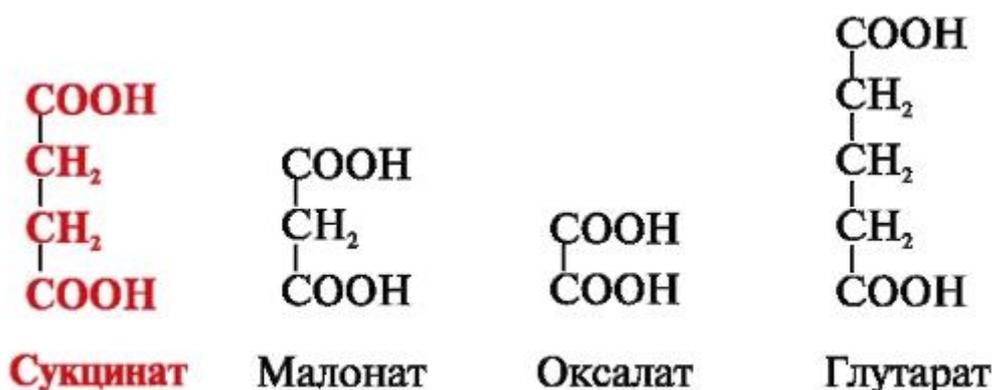


Рис. 5.19. Аллостерическая регуляция цитратного цикла

В ЦТК цитратсинтаза, изоцитратдегидрогеназа и α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс являются аллостерическими ферментами. Их активность зависит от соотношения АТФ/АДФ и NADH/NAD⁺ в клетке. Высокие концентрации АТФ и избыток NADH понижают их активность (рис. 5.19). В регуляции принимают участие и промежуточные метаболиты ЦТК - субстраты и продукты реакций. Так, цитратсинтаза активируется оксалоацетатом и ингибируется при повышении концентрации цитрата и сукцинил-КоА в митохондриях. Сукцинил-КоА также является ингибитором и α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса. Самую медленную реакцию процесса катализирует изоцитратдегидрогеназа. Поэтому при повышении в клетке концентрации NADH и АТФ активность этого фермента снижается в наибольшей степени.

В мышцах при физической работе повышается содержание Ca^{2+} , который является важным регуляторным фактором скорости ОПК. Он активирует фосфатазу ПДК, которая дефосфорилируется и активирует ПДК. Ионы Ca^{2+} активируют также изоцитратдегидрогеназу и α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс. Скорость ОПК повышается, что важно для энергообеспечения мышц.

Фермент сукцинатдегидрогеназа не регулируется аллостерическим путем, но способна ингибироваться при повышении в клетке концентрации малоновой (малоната), щавелевой (оксалата) и глутаровой кислот. Эти дикарбоновые кислоты являются структурными аналогами сукцината и при повышении их концентрации в клетках могут служить конкурентными ингибиторами фермента.



Анаболическая функция ОПК

ОПК может выполнять в организме анаболическую функцию, так как многие метаболиты, участвующие в этом процессе, служат субстратами для синтеза самых различных соединений

(рис. 5.20):

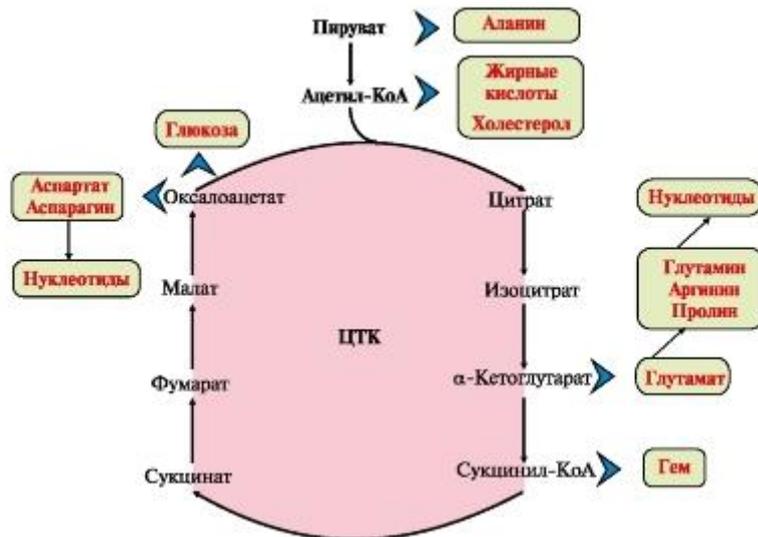
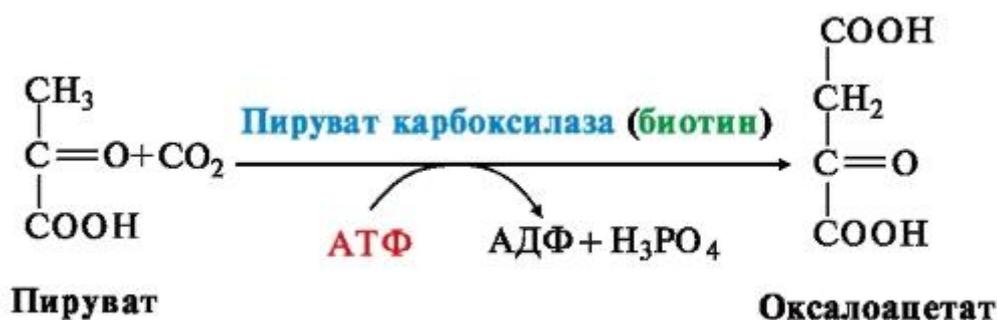


Рис. 5.20. Анаболическая функция ОПК

- из пирувата может синтезироваться аланин;
- из ацетил-КоА - жирные кислоты и холестерол;
- α-кетоглутарат используется для синтеза аминокислот глутамата, глутамина и пролина;
- сукцинил-КоА является предшественником гема и других порфиринов;
- оксалоацетат используется для синтеза аминокислот (аспартата, аспарагина) и глюкозы.

Анаболические реакции протекают наиболее активно в печени. Так как многие метаболиты ОПК могут расходоваться для синтеза различных соединений, большое значение приобретает реакция синтеза оксалоацетата из пирувата путем карбоксилирования. Ее катализирует фермент пируваткарбоксилаза (биотинзависимая). Реакцию можно рассматривать как компенсаторную (анаплеротическую), с помощью которой восполняется утечка промежуточных метаболитов ОПК и его скорость поддерживается на необходимом уровне:



Для работы этого фермента необходим витамин Н (биотин), который поступает с пищей и синтезируется микрофлорой кишечника. При недостатке биотина в пище или нарушении его всасывания в кишечнике, а также при подавлении кишечной флоры длительным приемом сульфаниламидов и антибиотиков активность фермента снижается, скорость ОПК падает. Это приводит к ослаблению функции ЦПЭ и гипоэнергетическому состоянию.

В процессе синтеза различных соединений очень большую роль играют реакции восстановления (гидрирования). Донором атомов водорода в таких реакциях часто является никотинамидный кофермент NADP^+ в восстановленной форме. В отличие от NAD^+ , он не окисляется в ЦПЭ, а отдает водород в реакциях восстановления в ходе синтеза жирных кислот, холестерина и многих других соединений.



Одним из важнейших источников восстановительного кофермента NADPH является реакция превращения малата в пируват путем его декарбоксилирования. NADP^+ -зависимая малатдегидрогеназа, катализирующая такую реакцию, называется малик-ферментом.

Таким образом, ОПК выполняет в организме важные биологические функции:

- энергетическую - энергия реакций дегидрирования используется для синтеза АТФ. При катаболизме 1 молекулы пирувата образуется 15 молекул АТФ путем окислительного и субстратного фосфорилирования; окисление 1 молекулы ацетил-КоА приводит к синтезу 12 молекул АТФ;
- анаболическую - ОПК поставляет исходные субстраты для синтеза многих соединений в организме.

Гипоэнергетические состояния развиваются при снижении содержания АТФ в организме. Количество АТФ в клетках очень невелико и при работе исчерпывается за доли секунды, поэтому при недостаточном его синтезе резко падает жизнедеятельность всех клеток, особенно головного мозга. Причиной нарушения синтеза АТФ могут быть голодание и гипоксия.

Гипоксические явления вызываются как недостатком кислорода в тканях в результате снижения содержания его в воздухе, так и нарушением кровообращения при заболеваниях легких, сердца, сосудов, изменении структуры гемоглобина (анемии).

Причиной гипоэнергетических состояний могут быть:

- наследственные дефекты ферментов ЦПЭ и ОПК (известны многочисленные миопатии, связанные с генетическими дефектами всех комплексов ЦПЭ, сукцинатдегидрогеназы, АТФ-синтазы);
- присутствие ингибиторов ЦПЭ и разобщителей тканевого дыхания и фосфорилирования

АДФ;

- гиповитаминозы В₁, В₂, РР, В₅, недостаточность кофермента Q₁₀ и т.д.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Установите соответствие. Простетическая группа:

А. Биотин.

Б. Аскорбиновая кислота.

В. FAD. Г. ТДФ.

Д. Липоевая кислота.

Фермент ПДК:

1. Пируватдекарбоксилаза.

2. Дигидролипоилтрансацилаза.

3. Дигидролипоилдегидрогеназа.

2. Выберите правильный ответ.

а) В реакции декарбоксилирования α -кетокислот (пирувата, α -кетоглутарата) участвует:

А. NAD^+ . Б. ТДФ.

В. Биотин.

Г. FAD.

Д. Пиридоксальфосфат.

б) В состав этого кофермента входит:

А. Витамин B_1 . Б. Витамин B_2 .

В. Витамин PP (B_3).

Г. Витамин H. Д. Витамин B_6 .

в) Напишите суммарное уравнение реакции окислительного декарбоксилирования пирувата.

3. Выберите правильный ответ.

В работе всех 3 ферментов ПДК участвует:

А. NAD^+ .

Б. HS-КоА.

В. Липоевая кислота. Г. Биотин.

Д. Пиридоксальфосфат.

4. Установите правильный порядок событий. В ходе реакций цитратного цикла:

А. Происходит окислительное декарбоксилирование α -кетоглутарата.

Б. Образуется цитрат.

В. Дегидрируется изоцитрат. Г. Образуется оксалоацетат. Д. Дегидрируется сукцинат.

5. Выберите правильный ответ.

а) Избыток малоната в клетке изменяет активность:

А. Цитратсинтазы.

Б. Сукцинатдегидрогеназы.

В. Аконитазы

Г. Малатдегидрогеназы. Д. Сукцинаттиокиназы

б) Для этого фермента малонат является:

А. Активатором фермента.

Б. Конкурентным ингибитором.

В. Необратимым специфическим ингибитором.

Г. Индуктором синтеза фермента. Д. Корепрессором.

6. Объясните энергетическое значение общего пути катаболизма. Для этого:

а) напишите схему ОПК;

б) покажите реакции, которые сопровождаются синтезом АТФ;

- присутствие ингибиторов ЦПЭ и разобщителей тканевого дыхания и фосфорилирования

АДФ;

- гиповитаминозы В₁, В₂, РР, В₅, недостаточность кофермента Q₁₀ и т.д.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Установите соответствие. Простетическая группа:

А. Биотин.

Б. Аскорбиновая кислота.

В. FAD. Г. ТДФ.

Д. Липоевая кислота.

Фермент ПДК:

1. Пируватдекарбоксилаза.

2. Дигидролипоилтрансацилаза.

3. Дигидролипоилдегидрогеназа.

2. Выберите правильный ответ.

а) В реакции декарбоксилирования α -кетокислот (пирувата, α -кетоглутарата) участвует:

А. NAD^+ . Б. ТДФ.

В. Биотин.

Г. FAD.

Д. Пиридоксальфосфат.

б) В состав этого кофермента входит:

А. Витамин B_1 . Б. Витамин B_2 .

В. Витамин PP (B_3).

Г. Витамин Н. Д. Витамин B_6 .

в) Напишите суммарное уравнение реакции окислительного декарбоксилирования пирувата.

3. Выберите правильный ответ.

В работе всех 3 ферментов ПДК участвует:

А. NAD^+ .

Б. HS-КоА.

В. Липоевая кислота. Г. Биотин.

Д. Пиридоксальфосфат.

4. Установите правильный порядок событий. В ходе реакций цитратного цикла:

А. Происходит окислительное декарбоксилирование α -кетоглутарата.

Б. Образуется цитрат.

В. Дегидрируется изоцитрат. Г. Образуется оксалоацетат. Д. Дегидрируется сукцинат.

5. Выберите правильный ответ.

а) Избыток малоната в клетке изменяет активность:

А. Цитратсинтазы.

Б. Сукцинатдегидрогеназы.

В. Аконитазы

Г. Малатдегидрогеназы. Д. Сукцинаттиокиназы

б) Для этого фермента малонат является:

А. Активатором фермента.

Б. Конкурентным ингибитором.

В. Необратимым специфическим ингибитором.

Г. Индуктором синтеза фермента. Д. Корепрессором.

6. Объясните энергетическое значение общего пути катаболизма. Для этого:

а) напишите схему ОПК;

б) покажите реакции, которые сопровождаются синтезом АТФ;

в) укажите способ фосфорилирования АДФ, суммарный выход АТФ;

г) на схеме укажите реакцию, которую ингибирует малонат (см. задание 5).

7. Выберите правильный ответ. Метаболитами ЦТК являются все вещества, кроме:

А. Исоцитрата. Б. Малата.

В. Оксалоацетата. Г. Пирувата.

Д. Сукцината.

8. Выберите правильный ответ. Макроэргическое соединение является продуктом реакции, которую катализирует:

А. Цитратсинтаза.

Б. Сукцинаттиокиназа.

В. Малатдегидрогеназа.

Г. α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс. Д. Фумараза.

9. Выберите правильный ответ.

Реакцию субстратного фосфорилирования катализирует:

А. Исоцитратдегидрогеназа. Б. Сукцинаттиокиназа.

В. Сукцинатдегидрогеназа. Г. Цитратсинтаза.

Д. Ни один.

10. Выберите правильные ответы. Поверхностными белками митохондриальной мембраны являются:

А. Цитратсинтаза.

Б. α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс.

В. Сукцинатдегидрогеназа.

Г. Фумараза.

Д. Малатдегидрогеназа.

11. Выберите правильные ответы. Активность ПДК увеличится при:

А. Фосфорилировании. Б. Дефосфорилировании.

В. Повышении содержания NAD^+ в клетках. Г. Низком энергетическом заряде клеток. Д. Приеме пищи, содержащей углеводы.

12. Выберите правильные ответы.

Регуляторными ферментами ЦТК являются: А α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс.

Б. Сукцинатдегидрогеназа. В. Изоцитратдегидрогеназа. Г. Цитратсинтаза. Д. Цитохромоксидаза.

13. Таблицу 5.3 перенесите в тетрадь, перечислите регуляторные ферменты, их коферменты и лиганды-регуляторы:

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. При сердечной недостаточности назначают инъекции кокарбоксилазы, содержащей ТДФ. Объясните механизм его терапевтического действия. Для этого:

а) укажите, в чем заключается функция ТДФ;

б) напишите схему реакции, которая происходит с его участием, перечислите ферменты и коферменты;

в) укажите способ фосфорилирования АДФ, суммарный выход АТФ;

г) на схеме укажите реакцию, которую ингибирует малонат (см. задание 5).

7. Выберите правильный ответ. Метаболитами ЦТК являются все вещества, кроме:

А. Исоитрата. Б. Малата.

В. Оксалоацетата. Г. Пирувата.

Д. Сукцината.

8. Выберите правильный ответ. Макроэргическое соединение является продуктом реакции, которую катализирует:

А. Цитратсинтаза.

Б. Сукцинаттиокиназа.

В. Малатдегидрогеназа.

Г. α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс. Д. Фумараза.

9. Выберите правильный ответ.

Реакцию субстратного фосфорилирования катализирует:

А. Исоитратдегидрогеназа. Б. Сукцинаттиокиназа.

В. Сукцинатдегидрогеназа. Г. Цитратсинтаза.

Д. Ни один.

10. Выберите правильные ответы. Поверхностными белками митохондриальной мембраны являются:

А. Цитратсинтаза.

Б. α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс.

В. Сукцинатдегидрогеназа.

Г. Фумараза.

Д. Малатдегидрогеназа.

11. Выберите правильные ответы. Активность ПДК увеличится при:

А. Фосфорилировании. Б. Дефосфорилировании.

В. Повышении содержания NAD^+ в клетках. Г. Низком энергетическом заряде клеток. Д. Приеме пищи, содержащей углеводы.

12. Выберите правильные ответы.

Регуляторными ферментами ЦТК являются: А α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс.

Б. Сукцинатдегидрогеназа. В. Изоцитратдегидрогеназа. Г. Цитратсинтаза. Д. Цитохромоксидаза.

13. Таблицу 5.3 перенесите в тетрадь, перечислите регуляторные ферменты, их коферменты и лиганды-регуляторы:

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. При сердечной недостаточности назначают инъекции кокарбоксилазы, содержащей ТДФ. Объясните механизм его терапевтического действия. Для этого:

- а) укажите, в чем заключается функция ТДФ;
- б) напишите схему реакции, которая происходит с его участием, перечислите ферменты и коферменты;
- в) укажите способ фосфорилирования АДФ, суммарный выход АТФ;
- г) на схеме укажите реакцию, которую ингибирует малонат (см. задание 5).

7. Выберите правильный ответ. Метаболитами ЦТК являются все вещества, кроме:

- А. Изоцитрата. Б. Малата.
- В. Оксалоацетата. Г. Пирувата.
- Д. Сукцината.

8. Выберите правильный ответ. Макроэргическое соединение является продуктом реакции, которую катализирует:

- А. Цитратсинтаза.
- Б. Сукцинаттиокиназа.
- В. Малатдегидрогеназа.
- Г. α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс. Д. Фумараза.

9. Выберите правильный ответ.

Реакцию субстратного фосфорилирования катализирует:

- А. Изоцитратдегидрогеназа. Б. Сукцинаттиокиназа.
- В. Сукцинатдегидрогеназа. Г. Цитратсинтаза.
- Д. Ни один.

10. Выберите правильные ответы. Поверхностными белками митохондриальной мембраны являются:

А. Цитратсинтаза.

Б. α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс.

В. Сукцинатдегидрогеназа.

Г. Фумараза.

Д. Малатдегидрогеназа.

11. Выберите правильные ответы. Активность ПДК увеличится при:

А. Фосфорилировании. Б. Дефосфорилировании.

В. Повышении содержания NAD^+ в клетках. Г. Низком энергетическом заряде клеток. Д. Приеме пищи, содержащей углеводы.

12. Выберите правильные ответы.

Регуляторными ферментами ЦТК являются: А α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс.

Б. Сукцинатдегидрогеназа. В. Исоцитратдегидрогеназа. Г. Цитратсинтаза. Д. Цитохромоксидаза.

13. Таблицу 5.3 перенесите в тетрадь, перечислите регуляторные ферменты, их коферменты и лиганды-регуляторы:

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. При сердечной недостаточности назначают инъекции кокарбоксилазы, содержащей ТДФ. Объясните механизм его терапевтического действия. Для этого:

а) укажите, в чем заключается функция ТДФ;

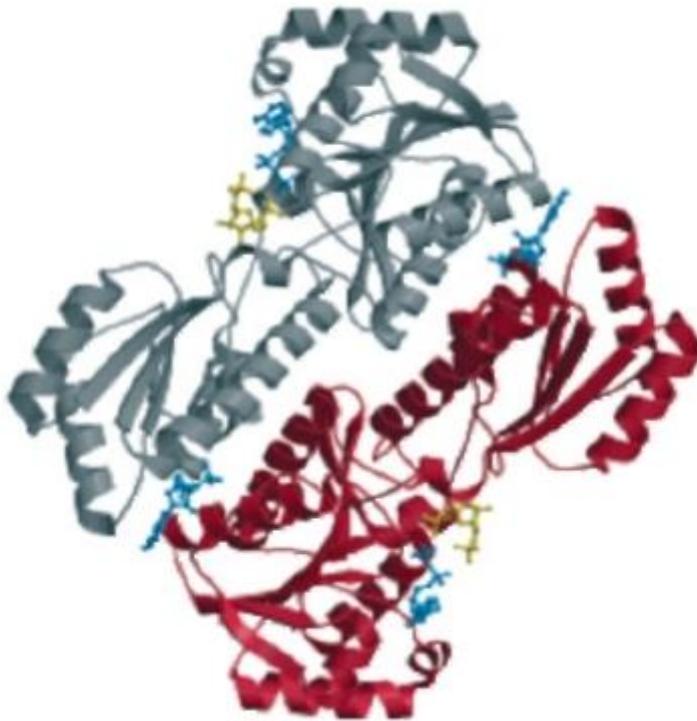
б) напишите схему реакции, которая происходит с его участием, перечислите ферменты и коферменты;

а) напишите схему метаболического пути, обеспечивающего работающие мышцы энергией АТФ;

б) на схеме покажите реакции, скорость которых зависит от поступления кислорода;

в) назовите процесс, в котором участвует убихинон, и укажите, как изменится скорость этого процесса при гипоксии

РАЗДЕЛ 6. ОБМЕН УГЛЕВОДОВ



Основные темы раздела:

- 6.1. Углеводы пищи.
- 6.2. Переваривание углеводов и транспорт глюкозы в клетки.
- 6.3. Метаболизм глюкозы в клетках.
- 6.4. Обмен гликогена.
- 6.5. Регуляция синтеза и мобилизации гликогена.
- 6.6. Катаболизм глюкозы.
- 6.7. Глюконеогенез.
- 6.8. Регуляция гликолиза и глюконеогенеза в печени.
- 6.9. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы.

Углеводы входят в состав всех клеточных структур. Они делятся на три основные группы: моносахариды (альдозы и кетозы), олигосахариды (дисахариды, трисахариды и т.д.) и полисахариды (гомополисахариды и гетерополисахариды). В организме человека на долю углеводов приходится около 2% сухой массы, однако они выполняют многие важные функции:

- Энергетическую - окисление глюкозы обеспечивает половину суточной потребности организма в энергии.
- Пластическую - гликопротеинами являются многие белки, играющие важную роль в организме (рецепторы, гормоны, иммуноглобулины, факторы свертывания крови, структурные белки минерализованных тканей и др.). Рибоза и дезоксирибоза входят в состав нуклеотидов, нуклеиновых кислот и коферментов. Гликозамингликаны представляют собой основной компонент межклеточного матрикса. Продукты катаболизма глюкозы являются субстратами для синтеза триацилглицеролов, холестерина, некоторых аминокислот.
- Защитную - глюкуроновая кислота участвует в обезвреживании токсичных и чужеродных соединений, а гепарин играет важную роль в противосвертывающей системе крови.

Наиболее важный углевод организма - глюкоза. Она поступает в составе углеводов пищи, но может синтезироваться из некоторых аминокислот, глицерола, лактата.

6.1. УГЛЕВОДЫ ПИЩИ

Суточная потребность в углеводах составляет 400-500 г. Основной углевод пищи - крахмал, который содержится в хлебе, картофеле, мучных изделиях. Крахмал - это разветвленный гомополисахарид, состоящий из остатков глюкозы, связанных друг с другом в линейной части молекулы α -1,4-, а в точках ветвления - α -1,6-гликозидными связями (рис. 6.1).

Молоко содержит дисахарид лактозу, состоящую из остатков галактозы и глюкозы, связанных β -1,4-гликозидной связью, а фрукты и овощи - дисахарид сахарозу, в которой остатки глюкозы и фруктозы соединяются α , β -1,2-гликозидной связью (рис. 6. 2).

Продукты растительного происхождения содержат линейный гомополисахарид целлюлозу (клетчатку). Она состоит из остатков глюкозы, связанных между собой β -1,4-гликозидной связью. В организме человека нет фермента, расщепляющего такую связь, поэтому целлюлоза не

переваривается в желудочно-кишечном тракте. Вместе с тем присутствие целлюлозы в пище необходимо для пищеварения, так как она обеспечивает нормальную перистальтику кишечника и формирование каловых масс.

6.2. ПЕРЕВАРИВАНИЕ УГЛЕВОДОВ И ТРАНСПОРТ ГЛЮКОЗЫ В КЛЕТКИ

Переваривание углеводов - это гидролиз гликозидных связей в молекулах ди-, олиго- и полисахаридов пищи ферментами слюны, поджелудочной железы и клеток кишечника. • В ротовой полости под действием фермента слюны α -амилазы начинает перевариваться крахмал. Фермент секретируется в ротовую полость в составе слюны околоушных желез, буферные системы которой создают оптимальное для его действия рН 6,5-6,8. α -Амилаза гидролизует в крахмале α -1,4-гликозидные связи с образованием крупных фрагментов крахмала - декстринов(рис. 6.3).

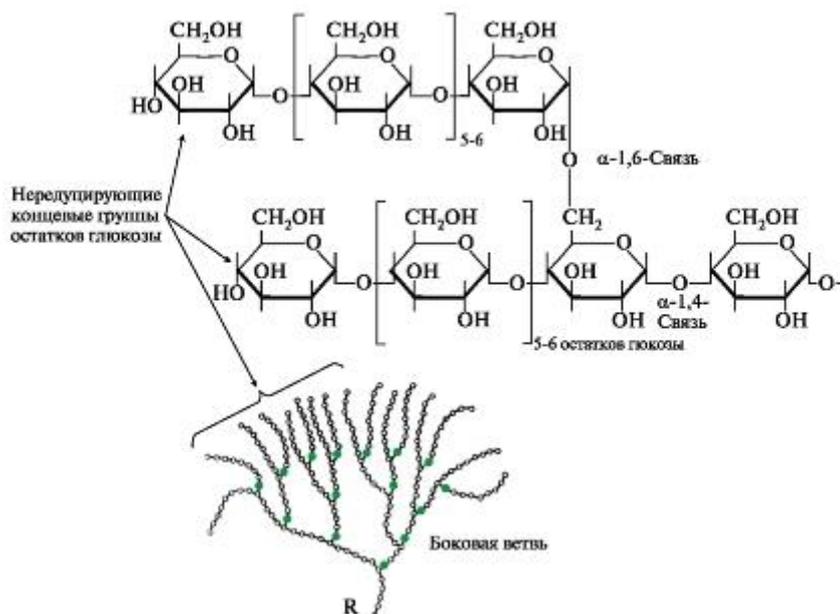


Рис. 6.1. Структура крахмала

O - остатки глюкозы, связанные α -1,4-гликозидной связью; ? - остатки глюкозы, связанные α -1,6-гликозидной связью; R - редуцирующий конец молекулы (содержит обладающую восстанавливающими свойствами OH-группу)

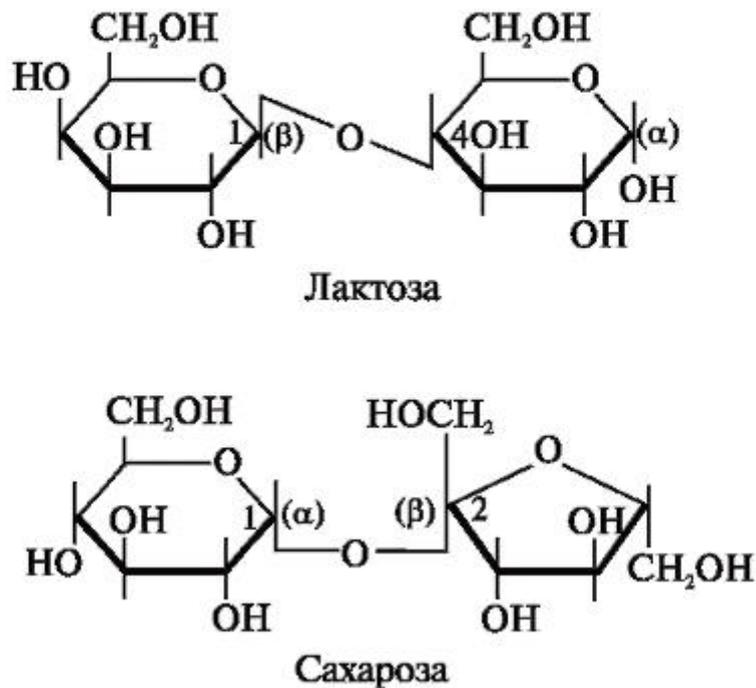


Рис. 6.2. Строение лактозы и сахарозы

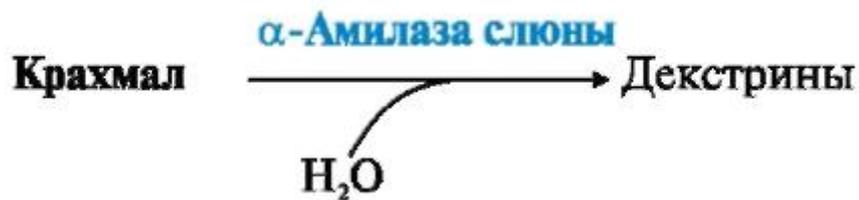


Рис. 6.3. Гидролиз крахмала под действием α -амилазы слюны

В слюне, кроме того, содержатся гликозидазы бактериальной флоры, которые активируются при снижении рН слюны. Например, сахараза и мальтаза гидролизуют поступающую с пищей сахарозу и мальтозу, соответственно. Ферменты фукозидаза, нейраминидаза, гиалуронидаза разрушают специфические углеводные компоненты муцинов пелликулы зуба, что приводит к повреждению эмали зубов.

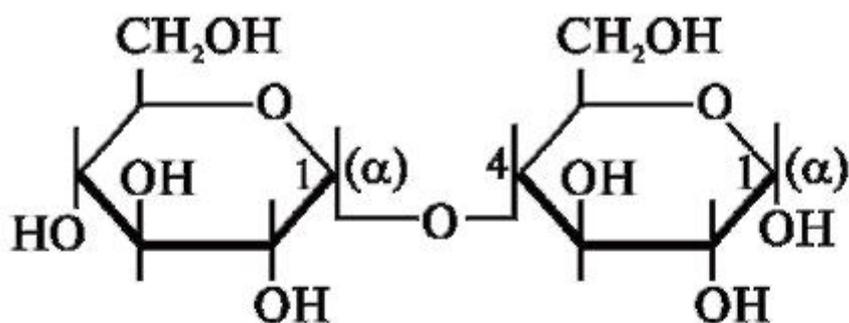
В желудке переваривания углеводов не происходит, так как в кислой среде (рН 1,5-2,0) α -амилаза инактивируется, а в секрете желудка нет ферментов, расщепляющих углеводы. • В тонкой кишке переваривание углеводов возобновляется под действием ферментов поджелудочной железы и клеток кишечника. В составе панкреатического сока в двенадцатиперстную кишку поступает панкреатическая α -амилаза. Фермент при рН 7,5-8,0 расщепляет α -

1,4-гликозидные связи в крахмале и декстринах с образованием мальтозы и изомальтозы (рис. 6.4).

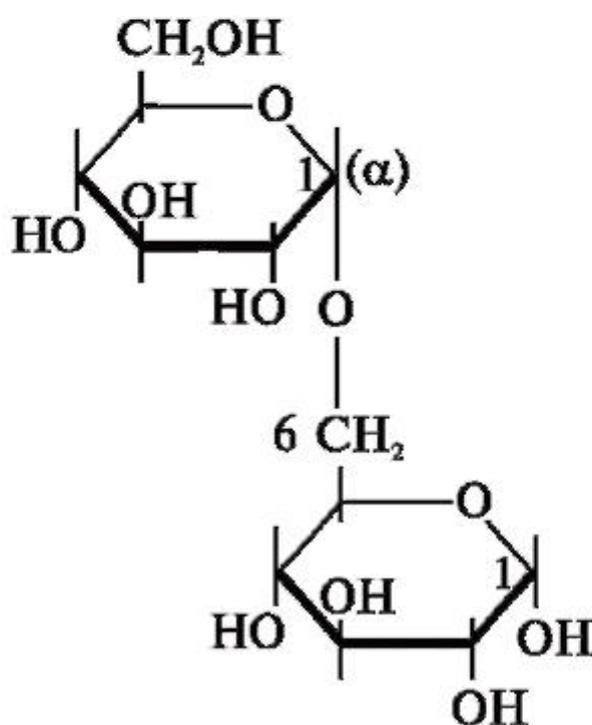
Оба дисахарида состоят из остатков глюкозы, но в молекуле мальтозы они связаны α -1,4-, а в изомальтозе - α -1,6-гликозидными связями (рис. 6.5).



Рис. 6.4. Гидролиз крахмала и декстринов под действием панкреатической α -амилазы



Мальтоза



Изомальтоза

Рис. 6.5. Структура мальтозы и изомальтозы

Мальтоза и изомальтоза в основном образуются при гидролизе крахмала, а другие дисахариды - лактоза и сахароза - поступают с пищей. Дисахариды гидролизуются ферментами, которые синтезируются клетками кишечника. Они образуют ферментные комплексы, локализованные на поверхности энтероцитов.

Гликоамилазный комплекс расщепляет α -1,4-гликозидные связи в олигосахаридах, а β -гликозидазный (более активен у детей, чем у взрослых) представляет собой фермент лактазу и расщепляет β -1,4-гликозидные связи в

лактозе. Сахаразо-изомальтазный комплекс включает ферменты сахаразу, мальтазу и изомальтазу и гидролизует соответствующие дисахариды. В результате действия этих ферментов образуются моносахариды, причем в наибольшем количестве глюкоза (рис. 6.6).

Всасывание глюкозы и других моносахаридов из кишечника в энтероциты происходит двумя

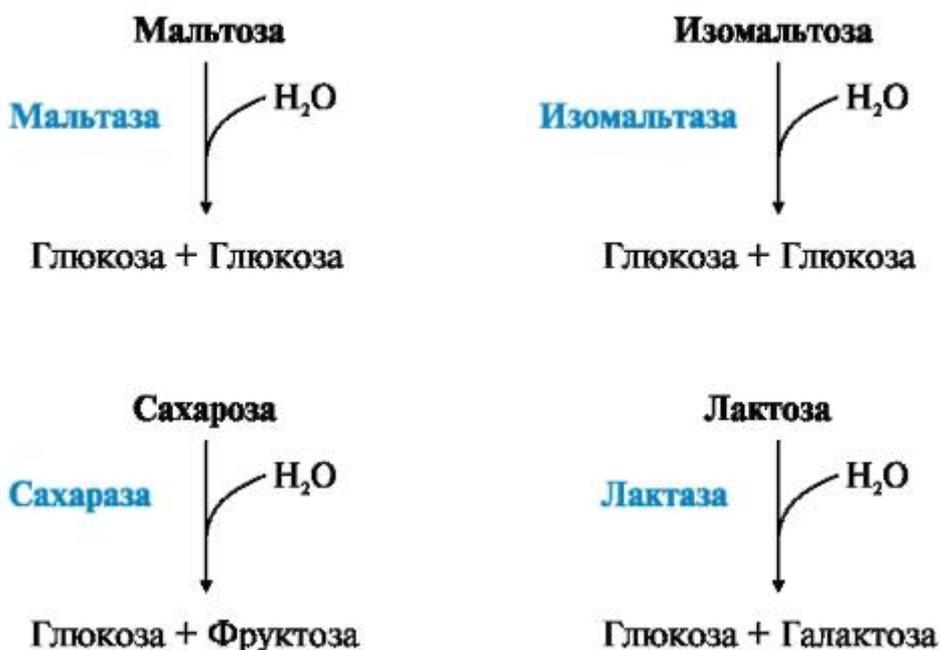


Рис. 6.6. Гидролиз дисахаридов под действием гликозидаз ферментных комплексов клеток кишечника

способами: облегченной диффузией по градиенту концентрации и активным транспортом по механизму симпорта за счет градиента концентрации ионов Na⁺ (см. раздел 4).

Из энтероцитов в кровь глюкоза поступает облегченной диффузией.

В норме в крови натощак содержится 3,5- 5,5 ммоль/л (80-100 мг/дл) глюкозы. При пищеварении (в абсорбтивный период) уровень глюкозы в крови повышается примерно вдвое по сравнению с исходным. Такое физиологическое повышение концентрации глюкозы в крови называют алиментарной гиперглюкоземией.

Из крови в клетки тканей глюкоза поступает по механизму облегченной диффузии с участием белков-переносчиков ГЛЮТов. Существует 5 типов таких белков, обнаруженных в разных тканях: ГЛЮТ-1 - в мозге, ГЛЮТ-2 - в печени и поджелудочной железе, ГЛЮТ-3 - во многих тканях, в том числе в

нервной и почках, ГЛЮТ-4 - в мышцах и жировой ткани, ГЛЮТ-5 - в тонкой кишке.

Все белки-переносчики глюкозы могут находиться как в плазматических мембранах клеток, так и в мембранных везикулах в цитоплазме. Однако только ГЛЮТ-4, локализованный в везикулах цитоплазмы, встраивается в плазматическую мембрану клеток мышечной и жировой ткани при участии гормона поджелудочной железы инсулина (рис. 6.7). В связи с тем что поступление глюкозы в мышцы и жировую ткань зависит от инсулина, эти ткани называют инсулинзависимыми.

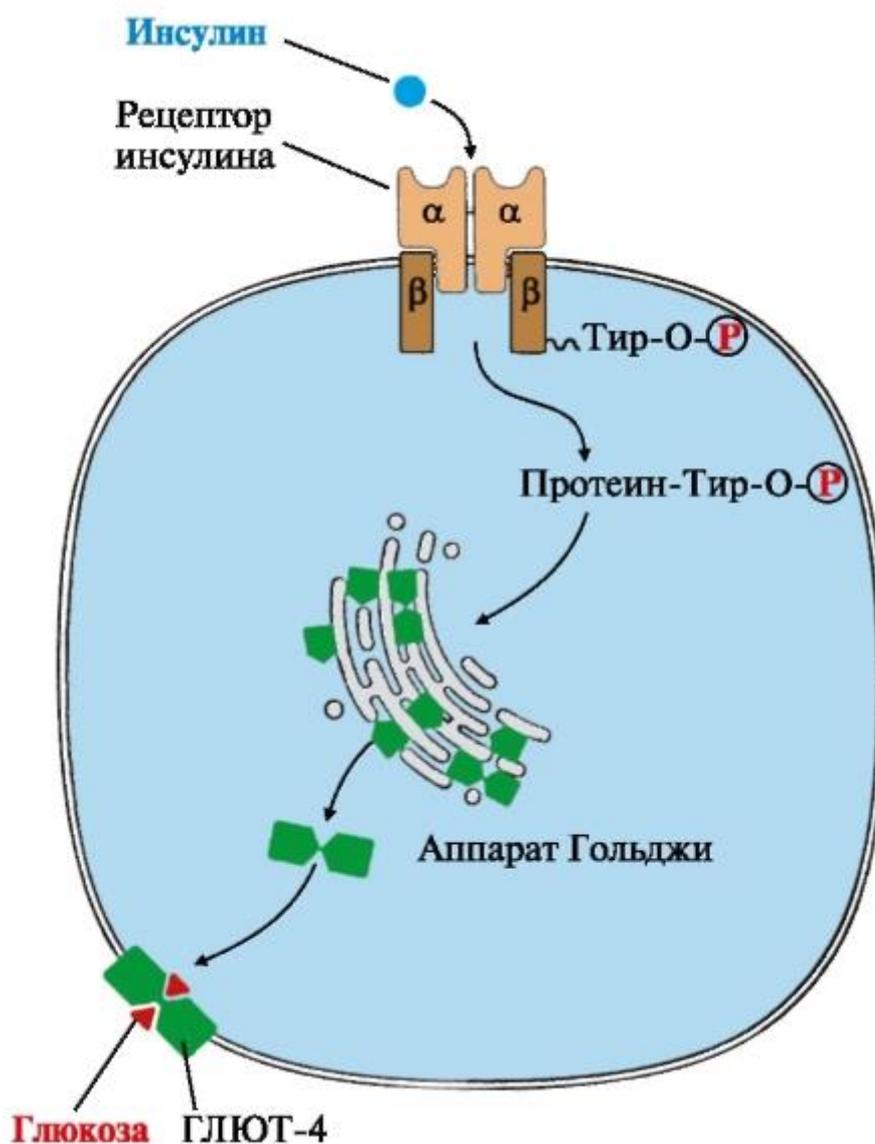


Рис. 6.7. Роль инсулина в поступлении глюкозы в инсулинзависимые клетки
Инсулин передает сигнал в клетку с помощью каталитического рецептора - тирозиновой протеинкиназы (см. раздел 4). Активация рецептора приводит к фосфорилированию ОН-групп остатков тирозина в специфических белках,

стимулирующих перемещение ГЛЮТ-4 из аппарата Гольджи в плазматическую мембрану инсулинзависимых клеток

6.3. МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ В КЛЕТКАХ

Метаболизм глюкозы в клетках всех тканей начинается с реакции фосфорилирования и превращения в глюкозо-6-фосфат. Плазматическая мембрана клеток непроницаема для фосфорилированной глюкозы и, следовательно, она уже не может из них выйти. Существуют два фермента, катализирующих фосфорилирование глюкозы: в печени и поджелудочной железе - глюкокиназа, во всех других тканях - гексокиназа (рис. 6.8).

Эти ферменты отличаются константами Михаэлиса (K_T) и, следовательно, сродством к глюкозе (см. раздел 2). Гексокиназа имеет низкое значение K_T ($< 0,1$ ммоль/л) и высокое сродство к глюкозе. Вследствие этого мозг, эритроциты и другие ткани могут использовать глюкозу при снижении ее концентрации в крови в постабсор-



Рис. 6.8. Реакция фосфорилирования глюкозы

бтивный период (через 4-5 ч после еды) и при голодании. Для глюкокиназы характерны высокое значение K_T (>10 ммоль/л) и низкое сродство к глюкозе. Это позволяет печени активно использовать глюкозу только при ее высокой концентрации в крови в абсорбтивный период (при алиментарной гиперглюкоземии) и ограничивает - при снижении ее уровня в крови.

В зависимости от физиологического состояния организма и типа ткани глюкозо-6-фосфат может использоваться в разных метаболических путях (рис. 6.9).

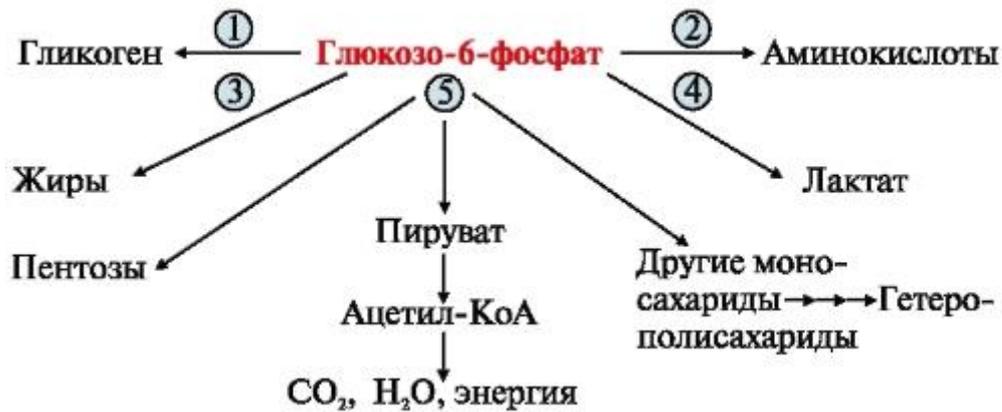


Рис. 6.9. Пути использования глюкозо-6-фосфата в организме

1 - в большинстве тканей синтезируется гомополисахарид гликоген; 2 - во многих тканях глюкозо-6-фосфат используется для синтеза некоторых аминокислот; 3 - в адипоцитах и гепатоцитах из глюкозо-6-фосфата образуются жиры; 4 - в эритроцитах и скелетных мышцах глюкозо-6-фосфат может превращаться в лактат; 5 - в разных тканях глюкозо-6-фосфат может превращаться в другие моносахариды, пентозы или распадаться до CO_2 и H_2O

6.4. ОБМЕН ГЛИКОГЕНА

Глюкоза в абсорбтивный период запасается в большинстве тканей в виде гомополисахарида гликогена. Резервная роль гликогена обусловлена двумя важными свойствами: он осмотически неактивен и сильно ветвится, благодаря чему глюкоза быстро присоединяется к полимеру при биосинтезе и отщепляется при мобилизации.

В наибольших количествах этот гомополисахарид содержится в мышцах (=350 г) и печени (=100 г). Гликоген называют животным крахмалом, так как он имеет сходное с растительным крахмалом, но более разветвленное строение. Линейные участки молекулы гликогена образованы остатками глюкозы, связанными α -1,4-гликозидными связями, а в местах ветвления - α -1,6-гликозидными связями. Линейные участки состоят из 8-10 остатков глюкозы (рис. 6.10).

- Синтез гликогена (гликогеногенез) ускоряется в период пищеварения, когда глюкоза активно поступает из крови в ткани и фосфорилируется, превращаясь в глюкозо-6-фосфат. Затем глюкозо-6-фосфат превращается фосфоглюкомутазой в глюкозо-1-фосфат, из которой под действием УДФ-глюкопиروفосфорилазы и при участии УТФ образуется УДФ-глюкоза

(рис. 6.11).

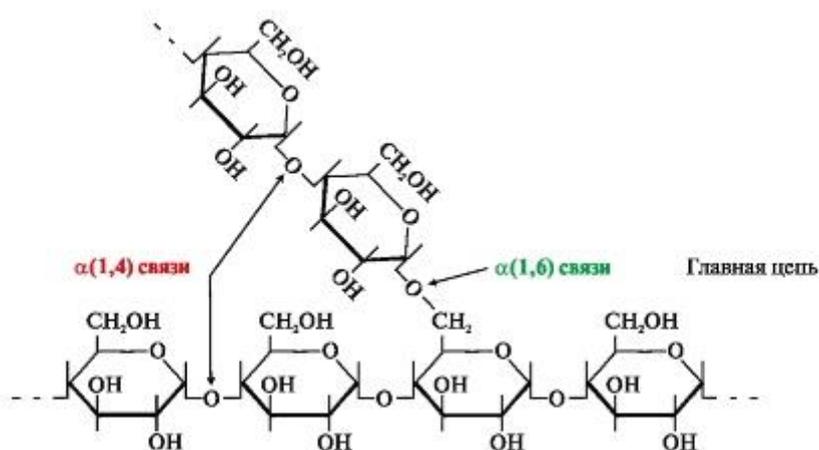


Рис. 6.10. Строение гликогена

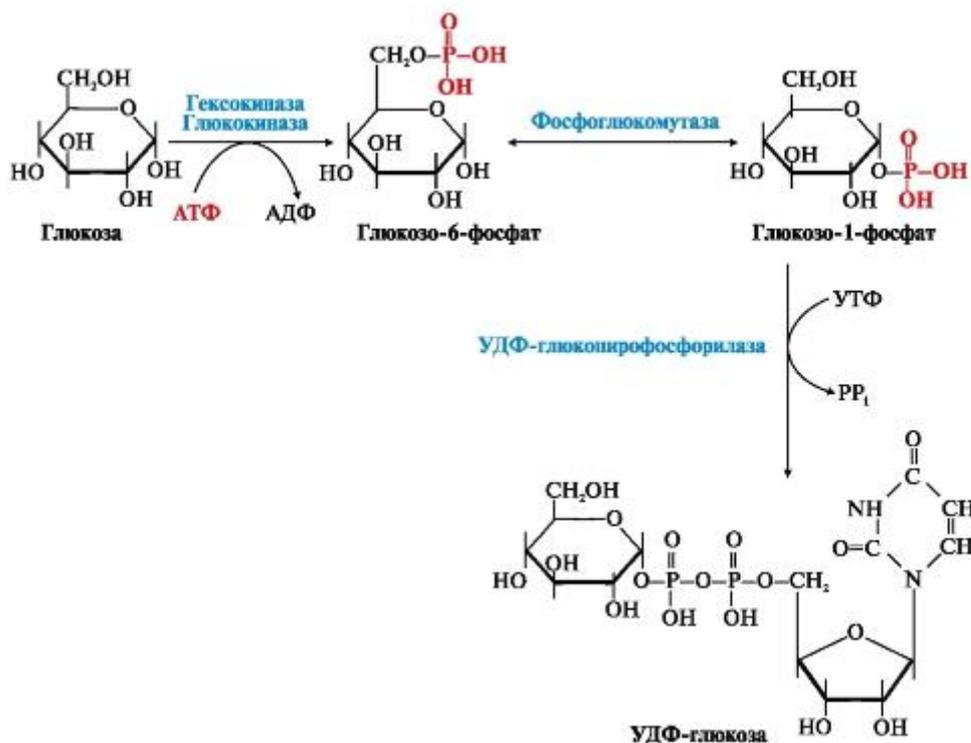


Рис.6.11. Реакции превращения глюкозы в УДФ-глюкозу.

Это соединение является субстратом гликогенсинтазы. Фермент переносит остаток глюкозы на олигосахарид, состоящий из 6-10 остатков глюкозы и представляющий собой праймер (затравку), присоединяя ее α -1,4-гликозидной связью. Поскольку праймер редуцирующим концом соединен с ОН-группой остатка тирозина белка гликогенина, то гликогенсинтаза последовательно присоединяет глюкозу к нередуцирующему концу. Когда количество мономеров в синтезирующемся полисахариде достигает 11-12

моносахаридных остатков, фермент ветвления(гликозил-4,6- трансфераза) переносит фрагмент, содержащий

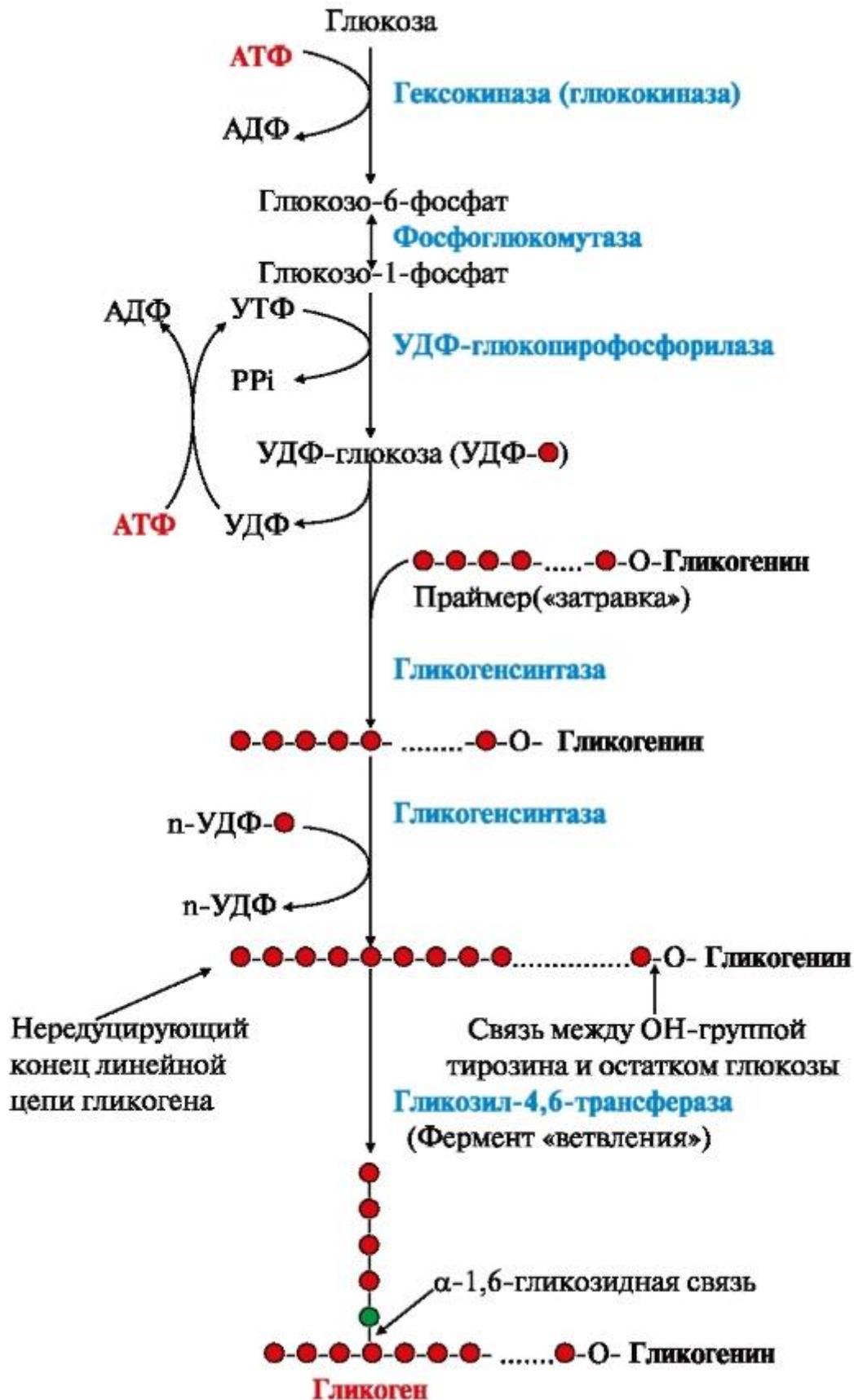


Рис. 6.12. Синтез гликогена



- остатки глюкозы, соединенные α -1,4-гликозидной связью;



- остаток глюкозы, связанный с основной цепью α -1,6-гликозидной связью

6-8 мономеров, от конца молекулы ближе к ее середине и присоединяет его α -1,6-гликозидной связью (рис. 6.12). В итоге образуется сильно разветвленный гомополисахарид, который может содержать от 6 тыс. до 1 млн остатков глюкозы.

Синтез гликогена идет с большой затратой энергии, для присоединения 1 остатка глюкозы к растущей цепи гликогена требуются 2 молекулы АТФ. • Мобилизация гликогена (гликогенолиз) ускоряется при повышении потребности организма в глюкозе.

Сначала фермент гликогенфосфорилаза (расщепляет α -1,4 гликозидные связи) при участии H_3PO_4 последовательно отщепляет остатки глюкозы от нередуцирующих концов молекулы гликогена и фосфорилирует их с образованием глюкозо-1- фосфата. Это приводит к укорочению ветвей. Когда количество остатков глюкозы в ветвях гликогена достигает 4, то фермент олигосахаридтрансфераза расщепляет α -1,4-гликозидную связь и переносит фрагмент, состоящий из 3 мономеров, к концу более длинной цепи.

Фермент α -1,6-гликозидаза гидролизует α -1,6-гликозидную связь в точке ветвления и отщепляет молекулу глюкозы. Таким образом, при мобилизации гликогена в основном образуются глюкозо-1-фосфат и небольшое количество свободной глюкозы. Далее глюкозо-1-фосфат при участии фермента фосфоглюкомутазы превращается в глюкозо-6-фосфат (рис. 6.13).

Мобилизация гликогена в печени и мышцах идет одинаково до образования глюкозо-6-фосфата. В печени под действием фермента глюкозо-6-фосфатазы глюкозо-6-фосфат превращается в свободную глюкозу, которая поступает в кровь и доставляется в периферические ткани. Следовательно, мобилизация гликогена в печени обеспечивает сохранение нормального уровня глюкозы в крови и снабжение глюкозой других тканей. Запасы гликогена в печени при голодании исчерпываются в течение суток. В мышцах нет фермента глюкозо-6-фосфатазы и глюкозо-6-фосфат используется самими мышцами для энергетических целей, окисляясь аэробным или анаэробным путем.

Нарушения обмена гликогена приводят к гликогеновым болезням. Они возникают при мутациях в генах, кодирующих ферменты, которые участвуют в обмене гликогена. Гликогенозы наблюдаются при генетических дефектах ферментов, катализирующих реакции мобилизации гликогена. При этих заболеваниях наблюдается

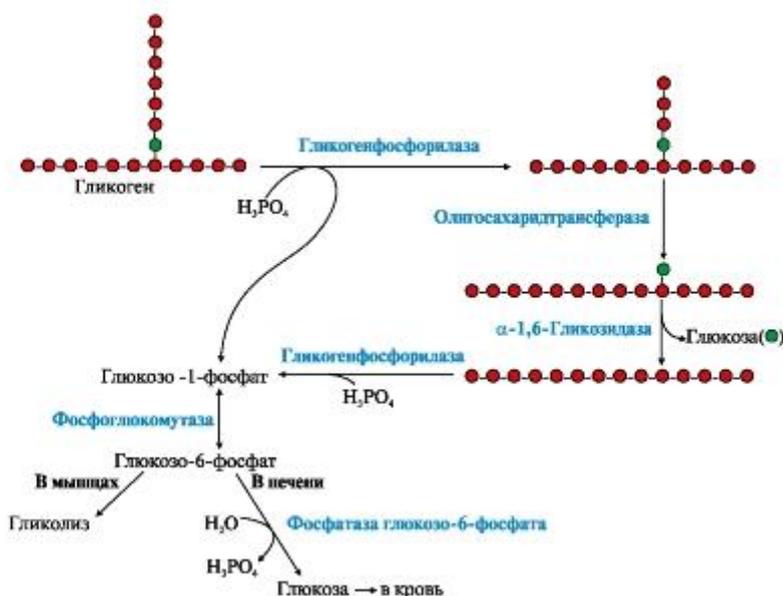


Рис. 6.13. Мобилизация гликогена

накопление гранул гликогена в печени, мышцах и других тканях, приводящее к повреждению клеток. Агликогенозы развиваются при недостатке ферментов синтеза гликогена.

6.5. РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА И МОБИЛИЗАЦИИ ГЛИКОГЕНА

Метаболизм гликогена в печени и мышцах в основном зависит от ритма питания и мышечной активности. Депонирование и мобилизацию гликогена в печени регулируют гормоны инсулин, глюкагон и адреналин, в мышцах - инсулин и адреналин. Инсулин и глюкагон - гормоны-антагонисты, их синтез и секреция зависят от концентрации глюкозы в крови, а отношение концентрации инсулина к концентрации глюкагона в крови (инсулин/глюкагон) называют инсулин-глюкагоновым индексом.

В абсорбтивный период, когда уровень глюкозы в крови повышается, секреция инсулина увеличивается (индекс инсулин/глюкагон повышается). Инсулин способствует поступлению глюкозы в инсулинзависимые ткани, ускоряет использование глюкозы для синтеза гликогена в печени и мышцах.

В постабсорбтивный период, когда концентрация глюкозы в крови уменьшается, секреция инсулина снижается (индекс инсулин/глюкагон

понижается). Глюкагон ускоряет мобилизацию гликогена в печени, вследствие чего увеличивается поступление глюкозы из печени в кровь.

При интенсивной мышечной работе и стрессе в кровь из мозгового вещества надпочечников секретируется гормон адреналин. Он ускоряет мобилизацию гликогена в печени и мышцах, обеспечивая тем самым клетки разных тканей энергетическим субстратом - глюкозой.

Действие этих гормонов в конечном счете сводится к изменению скорости реакций, катализируемых ключевыми ферментами метаболических путей обмена гликогена - гликогенсинтазой и гликогенфосфорилазой, активность которых регулируется аллостерически и фосфорилированием/дефосфорилированием.

Регуляция метаболизма гликогена в печени

В абсорбтивный период повышение уровня глюкозы в крови стимулирует синтез и секрецию β -клетками поджелудочной железы гормона инсулина. Инсулин - это пептидный гормон, который передает сигнал в клетку через мембранный каталитический рецептор - тирозиновую протеинкиназу. Взаимодействие рецептора с гормоном инициирует ряд последовательных реакций, приводящих к активации фосфопротеинфосфатазы гранул гликогена. Этот фермент

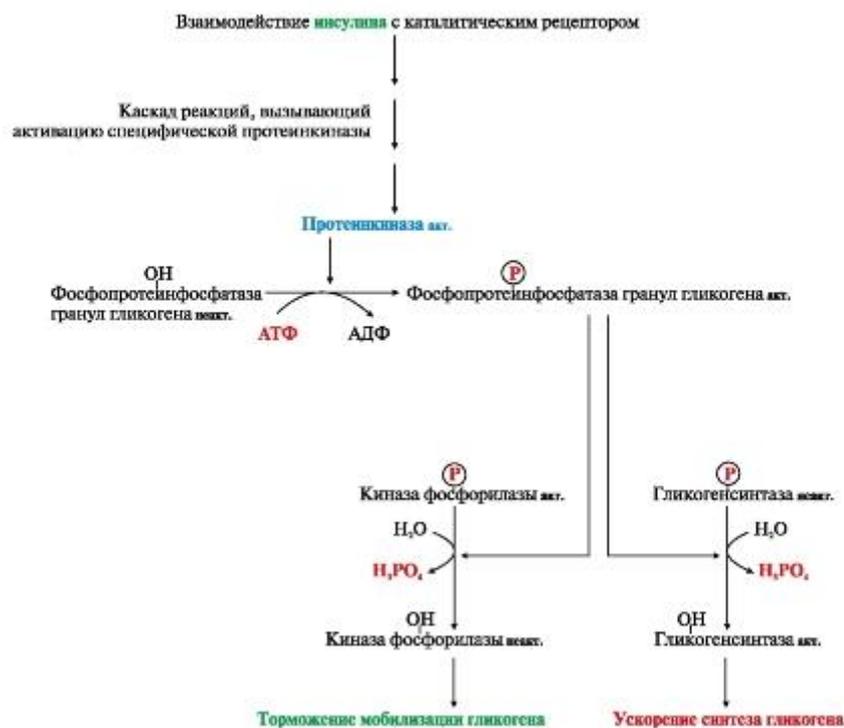


Рис. 6.14. Регуляция метаболизма гликогена в печени инсулином

дефосфорилирует гликогенсинтазу и гликогенфосфорилазу, в результате чего гликогенсинтаза активируется, а гликогенфосфорилаза становится неактивной (рис. 6.14).

Таким образом, в абсорбтивный период при высоком инсулин-глюкагоновом индексе в печени ускоряется синтез гликогена и тормозится его распад.

В постабсорбтивный период и при голодании снижение уровня глюкозы в крови является сигналом для синтеза и секреции α -клетками поджелудочной железы пептидного гормона глюкагона. Ткань-мишень глюкагона - печень.

Гормон передает сигнал в клетки через аденилатциклазную систему (см. раздел 4). Это приводит к активации протеинкиназы А, которая фосфорилирует

гликогенсинтазу и киназу фосфорилазы. В результате фосфорилирования гликогенсинтаза инактивируется и синтез гликогена тормозится, а киназа фосфорилазы становится активной и фосфорилирует гликогенфосфорилазу, активируя ее. Активная гликогенфосфорилаза ускоряет мобилизацию гликогена в печени (рис. 6.15).

В постабсорбтивный период и при голодании в течение суток повышение скорости этого процесса обеспечивает увеличение поступления глюкозы в кровь и сохранение концентрации глюкозы в крови в пределах нормы. При более длительном голодании уровень глюкозы в крови поддерживается за счет ее синтеза из аминокислот, глицерола и лактата.

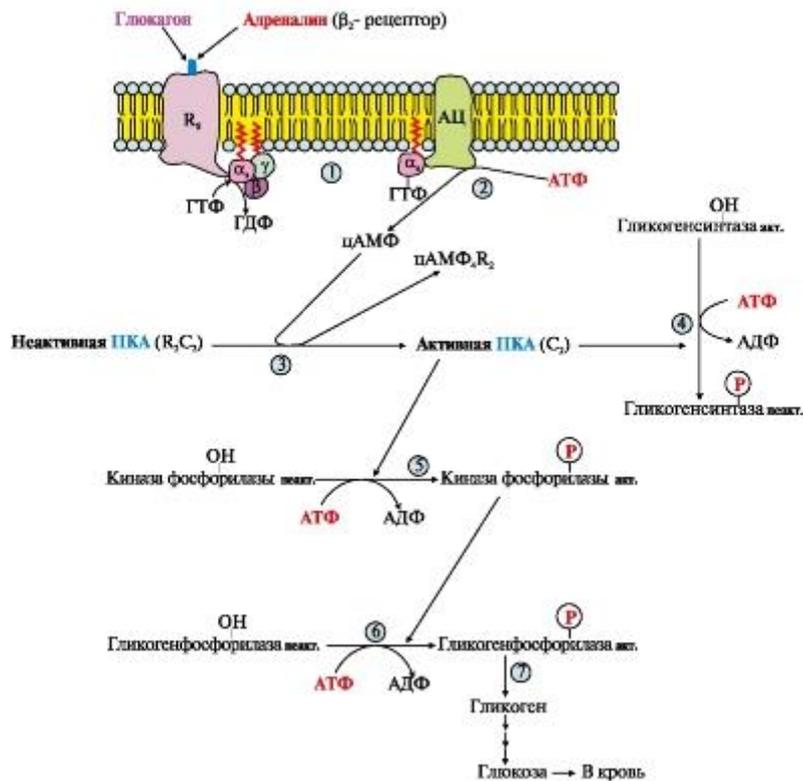


Рис. 6.15. Регуляция метаболизма гликогена в печени глюкагоном и адреналином

R_s - рецептор стимулирующий; α , β , γ - протомеры G-белка; АЦ - аденилатциклаза; PKA - протеинкиназа А; R_2C_2 - регуляторные и каталитические протомеры PKA.

1 - взаимодействие глюкагона или адреналина с рецептором вызывает активацию АЦ; 2 - активная АЦ превращает АТФ в цАМФ; 3 - связывание цАМФ с регуляторными протомерами неактивной PKA, состоящей из 4 протомеров, приводит к диссоциации фермента с образованием C_2 и R_2 (цАМФ) $_4$; 4 - активная PKA фосфорилирует и инактивирует гликогенсинтазу. Синтез гликогена тормозится; 5 - активная PKA фосфорилирует и активирует киназу фосфорилазы; 6 - активная киназа фосфорилазы активирует гликогенфосфорилазу, фосфорилируя ее; 7 - гликогенфосфорилаза ускоряет мобилизацию гликогена

При интенсивной физической работе и стрессе в крови повышается концентрация гормона мозгового слоя надпочечников адреналина. В печени есть два типа мембранных рецепторов адреналина. Адреналин, передавая сигнал через β_2 -рецепторы, активирует аденилатциклазную систему, а через α_1 -рецепторы - инозитолфосфатную (см. раздел 4). При передаче гормонального сигнала через инозитолфосфатную систему кальмодулин-зависимая протеинкиназа и киназа фосфорилазы активируются,

образуя комплекс с Ca^{2+} -кальмодулином. Вместе с тем активируется и протеинкиназа С при взаимодействии с Ca^{2+} , ДАГ и фосфатидилсеринем плазматической мембраны. Субстратом этих протеинкиназ является гликогенсинтаза, которую они фосфорилируют и инактивируют. В свою очередь киназа фосфорилазы фосфорилирует и активирует гликогенфосфорилазу, которая инициирует мобилизацию гликогена (рис. 6.16).

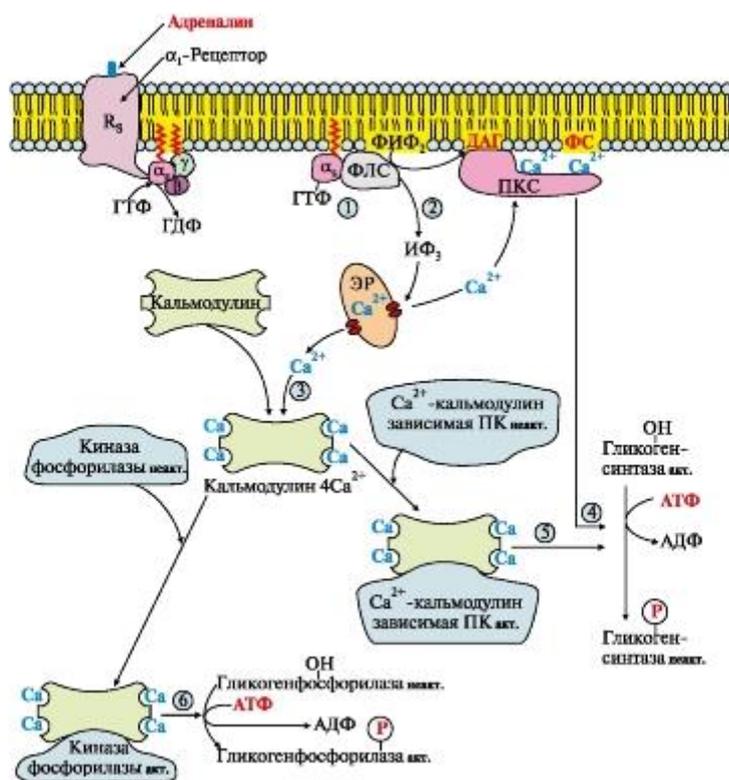


Рис. 6.16. Регуляция метаболизма гликогена в печени адреналином

R_S - α_1 -рецептор; α , β , γ - протомеры G-белка; ФЛС - фосфолипаза С; ФИФ₂ - фосфатидилинозитолбисфосфат; ИФ₃ - инозитол-1,4,5-трифосфат; ДАГ - диацилглицерол; ЭР - эндоплазматический ретикулум; ФС - фосфатидилсерин; ПКС - протеинкиназа С.

1 - взаимодействие адреналина с α_1 -рецептором вызывает активацию ФЛС; 2 - активная ФЛС гидролизует ФИФ₂ с образованием ИФ₃ и ДАГ. ИФ₃ стимулирует поступление Ca^{2+} из ЭР в цитоплазму; 3 - Ca^{2+} образует с кальмодулином комплекс, который активирует киназу фосфорилазы и кальмодулин-зависимую ПК; 4 - ПКС в комплексе с Ca^{2+} перемещается из цитоплазмы к мембране, соединяясь с ДАГ и ФС, активируется и фосфорилирует гликогенсинтазу, вызывая ее инактивацию; 5 - Ca^{2+} -

кальмодулин-зависимая ПК инактивирует гликогенсинтазу; β - активная киназа фосфорилазы активирует гликогенфосфорилазу
 Таким образом, передавая сигнал в гепатоциты через α_1 - или β_2 -рецепторы, адреналин тормозит синтез гликогена и ускоряет его распад. Это приводит к повышению концентрации глюкозы в крови при стрессе и физической нагрузке, и улучшению снабжения ею периферических тканей.

Регуляция метаболизма гликогена в мышцах

В абсорбтивный период при высоком инсулин-глюкагоновом индексе инсулин способствует поступлению глюкозы в мышцы с помощью ГЛЮТ-4 и вызывает активацию гликогенсинтазы и ингибирование гликогенфосфорилазы.

При интенсивной мышечной работе мобилизацию гликогена в мышцах стимулируют три основных механизма (рис. 6.17).

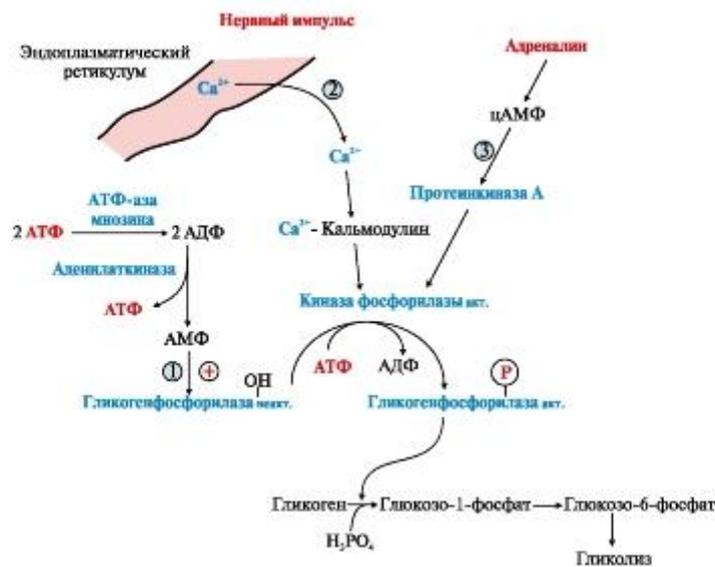


Рис. 6.17. Регуляция метаболизма гликогена в мышцах при физической нагрузке

1 - сокращение мышц требует затраты энергии, в результате чего АТФ превращается в АДФ, из 2 молекул которого аденилаткиназа образует АТФ и АМФ, последний аллостерически активирует гликогенфосфорилазу; 2 - нервный импульс стимулирует поступление Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума в цитоплазму. Ca^{2+} образует комплекс с кальмодулином, который активирует киназу фосфорилазы; 3 - адреналин вызывает активацию протеинкиназы А, которая фосфорилирует и активирует киназу фосфорилазы

Адреналин действует через β_2 -рецепторы, аденилатциклазную систему и, так же как в гепатоцитах, запускает каскад реакций, которые приводят к активации гликогенфосфоорилазы и снижению активности гликогенсинтазы.

При физической нагрузке в цитоплазме миоцитов повышается содержание Ca^{2+} , поступающего из ЭР. Он связывается с кальмодулином, который взаимодействует с киназой фосфоорилазы, активируя ее.

Физическая нагрузка требует больших затрат АТФ, поэтому в мышцах под действием аденилаткиназы АДФ превращается в АМФ и АТФ. АМФ аллостерически активирует гликогенфосфоорилазу мышц.

Все эти механизмы в мышцах позволяют ускорить мобилизацию гликогена и увеличить образование важного энергетического субстрата - глюкозо-6-фосфата, окисление которого обеспечивает клетки молекулами АТФ.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выберите правильные ответы.

Амилаза слюны и панкреатическая амилаза:

- А. Относятся к классу гидролаз.
- Б. Расщепляют α -1,4-гликозидные связи.
- В. Проявляют максимальную активность при одинаковом значении рН.
- Г. Переваривают крахмал и декстрины. Д. Инактивируются в кислой среде.

2. Установите соответствие.

- А. Катализирует реакцию, в которой образуется только глюкоза.
- Б. Содержится в слюне, образующейся в околоушных железах.
- В. Синтезируется в поджелудочной железе. Г. Входит в состав β -гликозидазного комплекса.
- Д. Гидролизует α , β -1,2-гликозидные связи.

- 1. Сахараза.
- 2. Мальтаза.
- 3. Лактаза.

Напишите схемы реакций, которые катализируют сахараза, мальтаза, лактаза. Укажите класс, к которому относятся эти ферменты.

3. Дополните предложения недостающими словами

Реакцию фосфорилирования глюкозы в эритроцитах катализирует . . Этот фермент имеет . значение K_T и . сродство к глюкозе, поэтому эритроциты могут использовать глюкозу в . период.

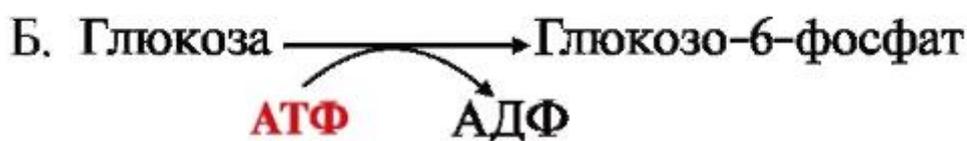
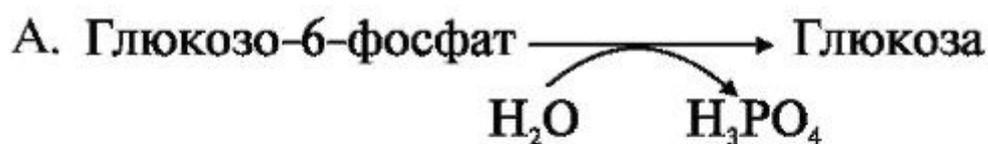
4. Выполните «цепное» задание.

а) в абсорбтивный период при высокой концентрации глюкозы в крови в гепатоцитах активируется:

А. Глюкокиназа. Б. Сахараза.

В. Гексокиназа. Г. Лактаза.

б) этот фермент катализирует реакцию:



В. Глюкозо-1-фосфат о Глюкозо-6-фос- фат

Г. Глюкозо-6-фосфат о Фруктозо-6-фос- фат

в) образующееся в этой реакции вещество вступает в реакцию:

А. Декарбоксилирования. Б. Восстановления.

В. Изамеризации. Г. Гидролиза.

г) фермент УДФ-глюкопирофосфорилаза превращает продукт этой реакции в:

А. Глюкозу.

Б. УДФ.

В. УДФ-глюкозу.

Г. Глюкозо-1-фосфат.

д) выбранное вещество является субстратом фермента:

А. Фосфоглюкомутазы. Б. Гексокиназы.

В. Гликогенсинтазы.

Г. Гликогенфосфорилазы.

е) этот фермент катализирует реакцию образования гликозидных связей:

А. α -1,4- В. α -1,2-

Б. α -1,6- Г. β -1,4-

ж) эти связи обеспечивают:

А. Рост линейных участков полисахарида. Б. Образование точек ветвления.

В. Синтез изомальтозы.

Г. Присоединение мальтозы.

5. Установите соответствие.

А. Гидролизует α -1,4-гликозидную связь. Б. Переносит участок, состоящий из 3

остатков глюкозы, на нередуцирующий конец цепи гликогена.

В. Гидролизует α -1,6-гликозидную связь.

Г. Расщепляет α -1,4-гликозидную связь

при участии H_3PO_4 . Д. Фосфорилирует глюкозу.

1. Гликогенфосфорилаза.

2. Олигосахаридтрансфераза.

3. α -1,6-Гликозидаза.

6. Установите соответствие.

А. Вызывает мобилизацию гликогена в мышцах и печени при физической работе.

Б. Ускоряет распад гликогена в мышцах в постабсорбтивный период.

В. Стимулирует синтез гликогена в печени. Г. Тормозит синтез гликогена в печени при

голодании. Д. Синтезируется в печени

1. Инсулин.

2. Глюкагон.

3. Адреналин.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Больным сахарным диабетом назначают ингибиторы α -гликозидаз (акарбоза, миглитон). Объясните, как повлияет лечение этими препаратами на уровень глюкозы в крови пациентов. Для этого:

- а) перечислите ферменты, которые ингибируются этими лекарствами;
- б) напишите схемы реакций, катализируемых этими ферментами.

2. У спортсмена перед ответственными соревнованиями концентрация глюкозы в крови составила 7 ммоль/л. Оцените результат анализа и объясните причину изменения уровня глюкозы в крови по сравнению с нормой. Для этого:

- а) укажите концентрацию глюкозы в крови в норме;
- б) опишите изменение гормонального статуса у спортсмена в этой ситуации и механизм действия гормона стресса в тканях-мишенях;
- в) напишите схему процесса, ускорение которого привело к изменению уровня глюкозы в крови спортсмена.

3. Рассчитайте, сколько молекул АТФ и УТФ надо потратить, чтобы включить в состав гранул гликогена 100 молекул глюкозы? Для ответа на вопрос напишите схему синтеза гликогена и укажите реакции, идущие с затратой энергии.

4. Студенту, попавшему в автомобильную пробку, пришлось совершить 20-минутную пробежку, чтобы не опоздать на лекцию. Опишите механизм, обеспечивающий мышцы глюкозой при физической нагрузке. Для этого:

- а) представьте схему метаболического пути обмена гликогена, который ускоряется в мышцах студента;
- б) опишите пути регуляции этого процесса в мышцах.

6.6. КАТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ

Особая роль глюкозы как универсального энергетического субстрата для всех клеток организма заключается в том, что при ее катаболизме АТФ может синтезироваться как в аэробных, так и анаэробных условиях.

Существует 3 метаболических пути, в которых может окисляться глюкоза.

- Аэробный гликолиз - превращение глюкозы в 2 молекулы пирувата, которое происходит в аэробных условиях и сопровождается синтезом 8 молекул АТФ.
- Анаэробный гликолиз - образование из глюкозы 2 молекул лактата без участия кислорода и митохондриальной ЦПЭ. Энергетический выход процесса составляет 2 молекулы АТФ.
- Аэробный распад глюкозы до CO_2 и H_2O включает аэробный гликолиз и последующее окисление 2 молекул пирувата в общем пути катаболизма. При аэробном распаде глюкозы синтезируются 38 молекул АТФ.

Аэробный и анаэробный гликолиз имеет не только энергетическое, но и анаболическое значение, так как промежуточные метаболиты и конечные продукты этих процессов могут использоваться для синтеза многих соединений. Например, в жировой ткани и печени гликолиз обеспечивает образование субстратов, необходимых для синтеза жиров. В печени из лактата

синтезируется глюкоза, а из пирувата - некоторые аминокислоты. В эритроцитах при анаэробном гликолизе образуется 2,3-бисфосфо- глицерат - аллостерический регулятор сродства гемоглобина к кислороду.

Аэробный гликолиз

В последовательности реакций аэробного гликолиза можно выделить 2 этапа (рис. 6.18). На первом этапе из молекулы глюкозы образуются две триозы - глицеральдегид-3-фосфат (ГАФ) и дигидроксиацетонфосфат (ДАФ).

Этот этап требует затраты энергии и включает 5 реакций:

1. Фосфорилирование глюкозы гексокиназой или глюкокиназой с образованием глюкозо-6-фос- фата, которое идет с затратой молекулы АТФ.
2. Изомеризацию глюкозо-6-фосфата во фруктозо- 6-фосфат при участии фосфоглюкоизомеразы.
3. Фосфорилирование фруктозо-6-фосфата фосфофруктокиназой с использованием молекулы АТФ.
4. Альдольное расщепление фруктозо-1,6-бис- фосфата, катализируемое альдолазой, с образованием двух триоз - дигидроксиацетонфосфата (ДАФ) и глицеральдегид-3-фосфата (ГАФ).
5. Изомеризацию ДАФ в ГАФ под действием триозофосфатизомеразы.

Первый этап гликолиза требует затраты 2 молекул АТФ и приводит к образованию 2 молекул ГАФ.

Второй этап этого метаболического пути обеспечивает синтез АТФ. В него вступают 2 молекулы ГАФ, поэтому стехиометрический коэффициент для всех последующих реакций гликолиза равен 2. На этом этапе аэробного гликолиза происходит:

6. Окисление ГАФ NAD^+ -зависимой глицеральдегидфосфатдегидрогеназой при участии H_3PO_4 , которое приводит к образованию 1,3-бисфосфоглицерата, содержащего макроэргическую связь.
7. Превращение 1,3-бисфосфоглицерата в 3-фос- фоглицерат под действием фосфоглицераткиназы, сопровождающееся субстратным фосфорилированием АДФ.
8. Изомеризация 3-фосфоглицерата в 2-фос- фоглицерат, катализируемая фосфоглицератмутазой.
9. Дегидратация 2-фосфоглицерата ферментом енолазой с образованием фосфоенолпирувата, содержащего макроэргическую связь.

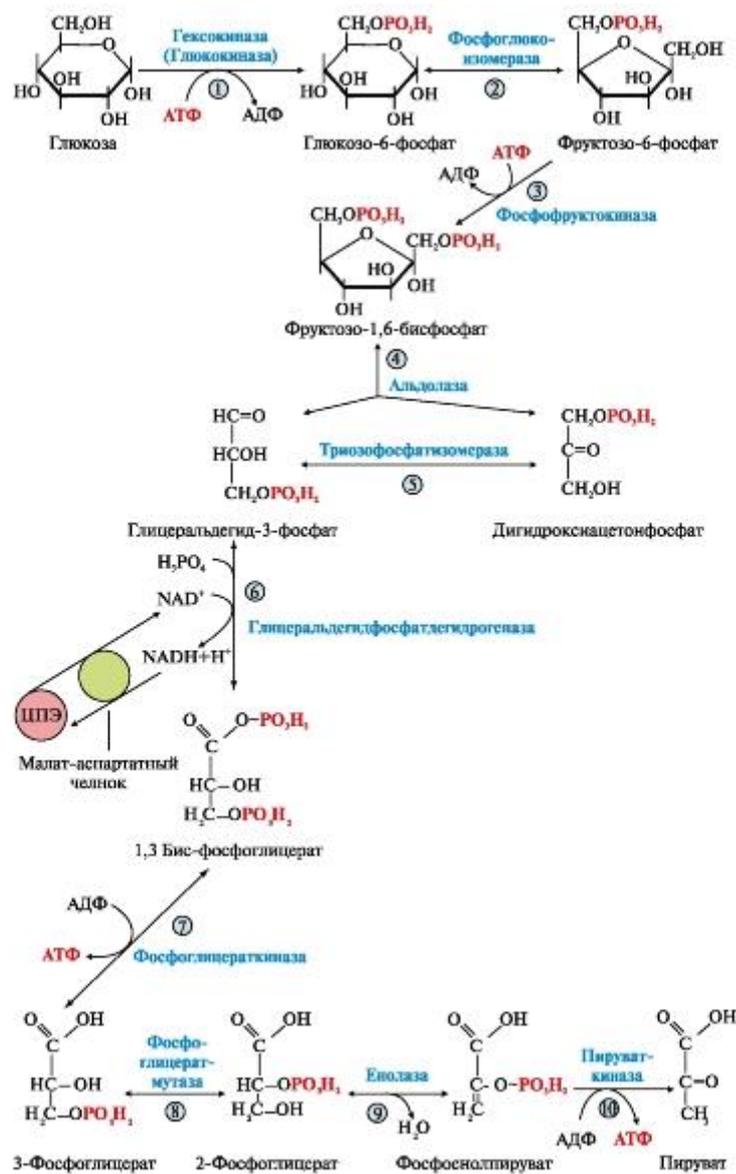


Рис. 6.18. Реакции аэробного гликолиза

10. Образование пирувата из фосфоенолпирувата под действием пируваткиназы, сопряженное с субстратным фосфорилированием АДФ.

В аэробном гликолизе есть 3 необратимые реакции, которые катализируют регуляторные ферменты гексокиназа (глюкокиназа), фосфофруктокиназа, пируваткиназа.

Единственная окислительно-восстановительная реакция аэробного гликолиза - дегидрирование ГАФ - идет под действием NAD⁺-зависимой глицеральдегидфосфатдегидрогеназы. Акцептором 2e⁻ и H⁺ в этой реакции является кофермент NAD⁺, который восстанавливается в NADH. Все реакции гликолиза идут в цитоплазме клеток, но мембрана митохондрий непроницаема для NADH, поэтому транспорт водорода через

митохондриальную мембрану осуществляется с помощью особых челночных механизмов. В клетках существуют два таких механизма.

В малат-аспартатном челноке NADH используется для восстановления оксалоацетата цитоплазматической малатдегидрогеназой в малат. Последний с помощью специфической транслоказы проходит через мембрану митохондрий и окисляется митохондриальной NAD^+ -зависимой малатдегидрогеназой, образовавшийся при этом $NADH + H^+$ отдает H^+ и e^- - в ЦПЭ. В митохондриях оксалоацетат вступает в реакцию трансаминирования и превращается в аспартат, который выходит при участии транслоказы в цитоплазму. В цитоплазме эта аминокислота включается в реакцию трансаминирования с α -кетоглутаратом и снова превращается в оксалоацетат (рис. 6. 19).

Транспорт водорода в митохондрии с помощью малат-аспартатного челнока позволяет получить 3 молекулы АТФ путем окислительного фосфорилирования.

- Глицерофосфатный челнок функционирует в клетках белых мышц и печени. В этом случае образующийся в окислительной реакции гликолиза NADH является донором водорода для восстановления ДАФ в глицерол-3-фосфат цитоплазматической глицерол-3-фосфатдегидрогеназой. Глицерол-3-фосфат поступает в митохондрии и окисляется FAD-зависимой митохондриальной глицерол-3-фосфатдегидрогеназой. Транспорт водорода в ЦПЭ с помощью этого механизма позволяет синтезировать 2 АТФ путем окислительного фосфорилирования (рис. 6.20).

Выход АТФ при аэробном гликолизе, сопряженном с работой малат-аспартатного челнока	
Гексокиназная (глюкокиназная) реакция	- 1 АТФ
Фосфофруктокиназная реакция	- 1 АТФ
Глицеральдегидфосфатдегидрогеназная реакция	+3 АТФ×2 = 6 АТФ
Фосфоглицераткиназная реакция	+1 АТФ×2 = 2 АТФ
Пируваткиназная реакция	+1 АТФ×2 = 2 АТФ
Всего	8 молекул АТФ

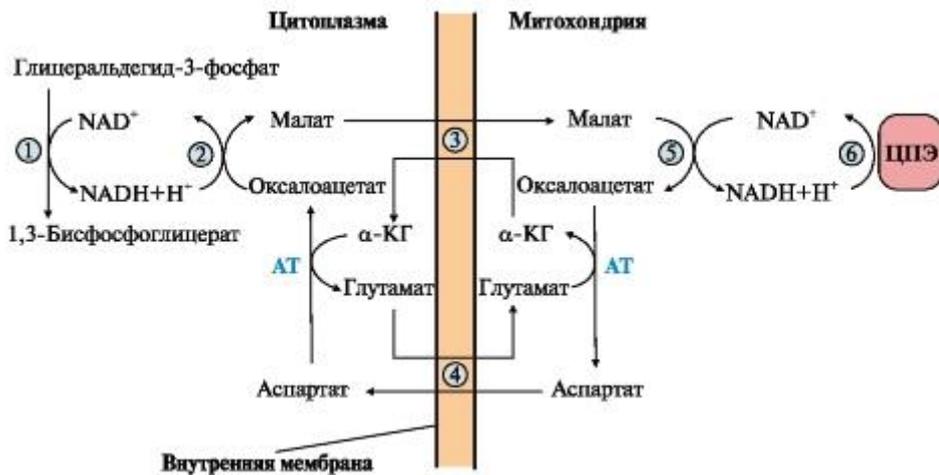


Рис. 6.19. Малат-аспартатный челнок

АТ - аминотрансфераза; α -КГ - α -кетоглутарат; ЦПЭ - цепь переноса электронов.

1 - глицеральдегидфосфатдегидрогеназа; 2 - цитоплазматическая малатдегидрогеназа; 3, 4 - транслоказы, обеспечивающие транспорт малата, оксалоацетата, аспартата и глутамата через внутреннюю мембрану митохондрий; 5 - митохондриальная малатдегидрогеназа; 6 - регенерация NAD^+

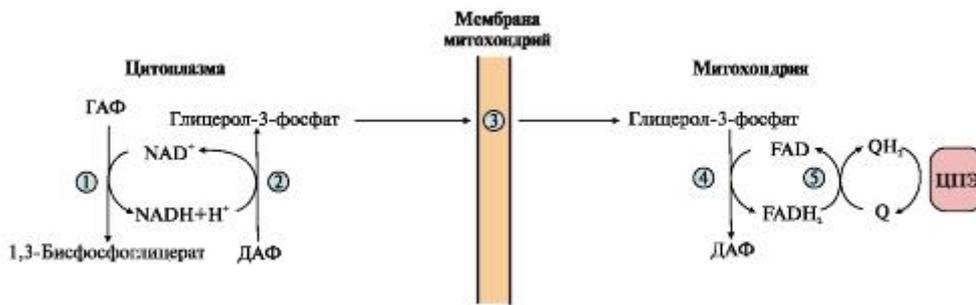


Рис. 6.20. Глицерофосфатный челнок

ГАФ - глицеральдегидфосфат; ДАФ - дигидроксиацетонфосфат; ЦПЭ - цепь переноса электронов. 1 - глицеральдегидфосфатдегидрогеназа; 2 - цитоплазматическая глицерол-3-фосфатдегидрогеназа; 3 - транслоказа, обеспечивающая транспорт глицерол-3-фосфата через внутреннюю мембрану митохондрий; 4 - митохондриальная глицерол-3-фосфатдегидрогеназа; 5 - регенерация FAD

При аэробном гликолизе образуются 10 молекул АТФ, причем 6 из них - в результате окислительного фосфорилирования, 4 АТФ - при субстратном. Две молекулы АТФ используются на первом этапе гликолиза в реакциях фосфорилирования глюкозы и фруктозо-6-фосфата. Следовательно, суммарный энергетический выход составляет 8 АТФ.

Аэробный распад глюкозы

Аэробный распад глюкозы включает реакции аэробного гликолиза, заканчивающиеся образованием 2 молекул пирувата, которые далее превращаются в CO_2 и H_2O в ОПК и митохондриальной ЦПЭ. Реакции аэробного распада глюкозы идут в цитоплазме и митохондриях клеток (рис. 6. 21).

Аэробный распад глюкозы - это основной путь катаболизма глюкозы в большинстве тканей. Для мозга глюкоза - основной энергетический субстрат. Мозг использует около 100 г глюкозы в сутки и 20% поступающего в организм кислорода, поэтому снижение поступления глюкозы и кислорода в мозг сопровождается нарушениями функций центральной нервной системы. Основное значение аэробного распада глюкозы в печени заключается в

образовании субстратов, необходимых для синтеза липидов (см. раздел 9).

Выход АТФ при аэробном распаде глюкозы:	
1. Аэробный гликолиз	8 АТФ
2. Окисление 2 молекул пирувата в ОПК	15 АТФ×2 = 30 АТФ.
Всего	38 молекул АТФ

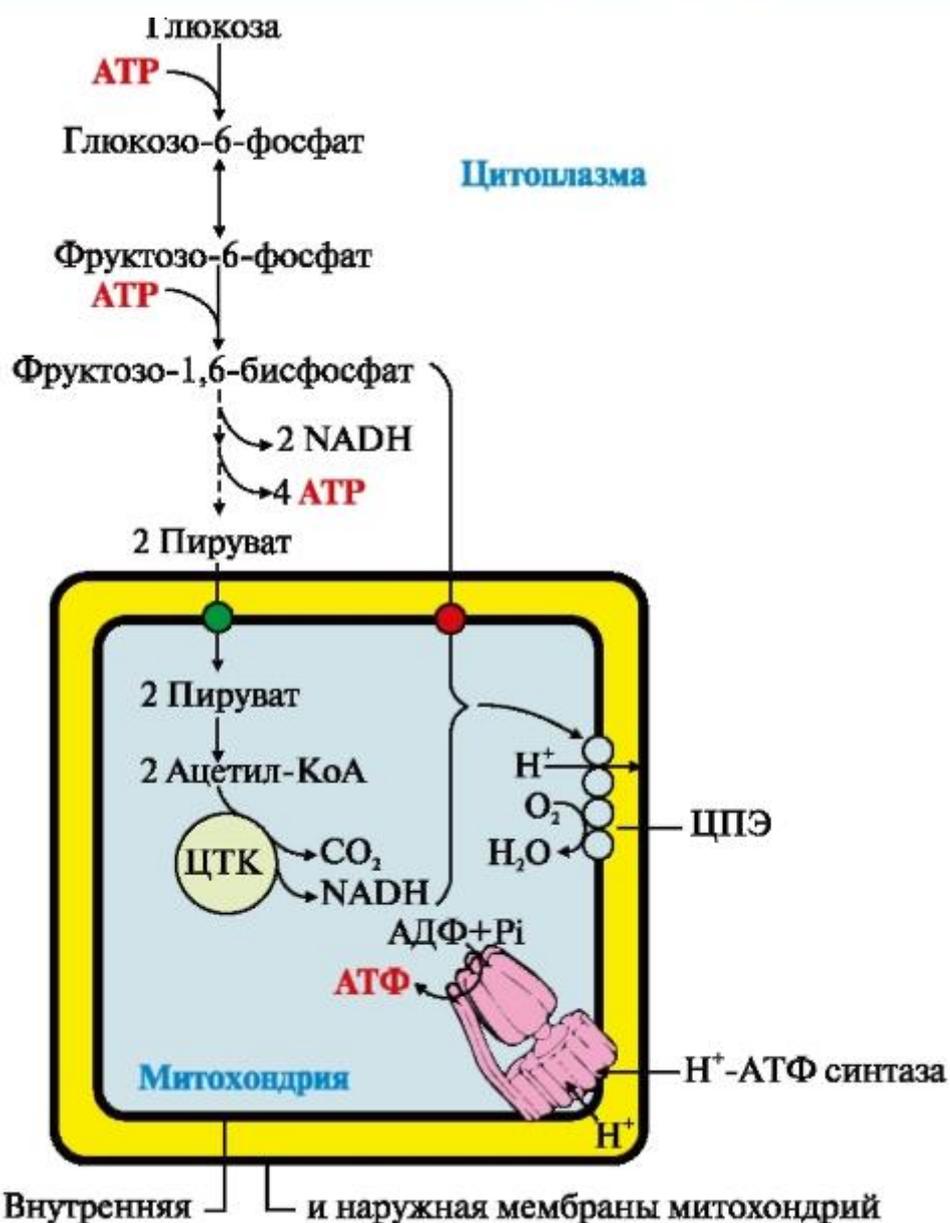


Рис. 6.21. Аэробный распад глюкозы

ЦТК - цикл трикарбоновых кислот; ЦПЭ - цепь переноса электронов.

Анаэробный гликолиз

Анаэробный гликолиз позволяет синтезировать АТФ при недостатке кислорода в тканях, например, в мышцах в первые минуты мышечных сокращений, в эритроцитах, не имеющих митохондрий, а также в клетках злокачественных опухолей.

Первые 10 реакций анаэробного и аэробного гликолиза одинаковы, но, в отличие от аэробного гликолиза, в анаэробном гликолизе при снижении поступления кислорода в митохондрии NADH, образующийся в результате дегидрирования ГАФ, не может использоваться в ЦПЭ. Он окисляется в цитоплазме в реакции, которую катализирует ЛДГ (рис. 6.22).



Рис. 6.22. Лактатдегидрогеназная реакция

Акцептором водорода в этой реакции является пируват, восстанавливающийся в лактат. Следовательно, последняя реакция анаэробного гликолиза, катализируемая ЛДГ, обеспечивает регенерацию NAD⁺, который необходим для работы глицеральдегидфосфатдегидрогеназы.

АТФ при анаэробном распаде глюкозы образуется только в двух реакциях субстратного фосфорилирования (рис. 6.23).

Выход АТФ при анаэробном гликолизе:	
Гексокиназная (глюкокиназная) реакция	- 1 АТФ
Фосфофруктокиназная реакция	- 1 АТФ
Фосфоглицераткиназная реакция	+1 АТФ×2 = 2 АТФ
Пируваткиназная реакция	+1 АТФ×2 = 2 АТФ
Всего	2 молекулы АТФ

Образующийся в мышцах и эритроцитах лактат поступает в кровь и транспортируется в печень, где может превращаться в глюкозу или окисляться в пируват, который далее включается в ОПК. Лактат всегда присутствует в крови, но его концентрация может повышаться при сни-

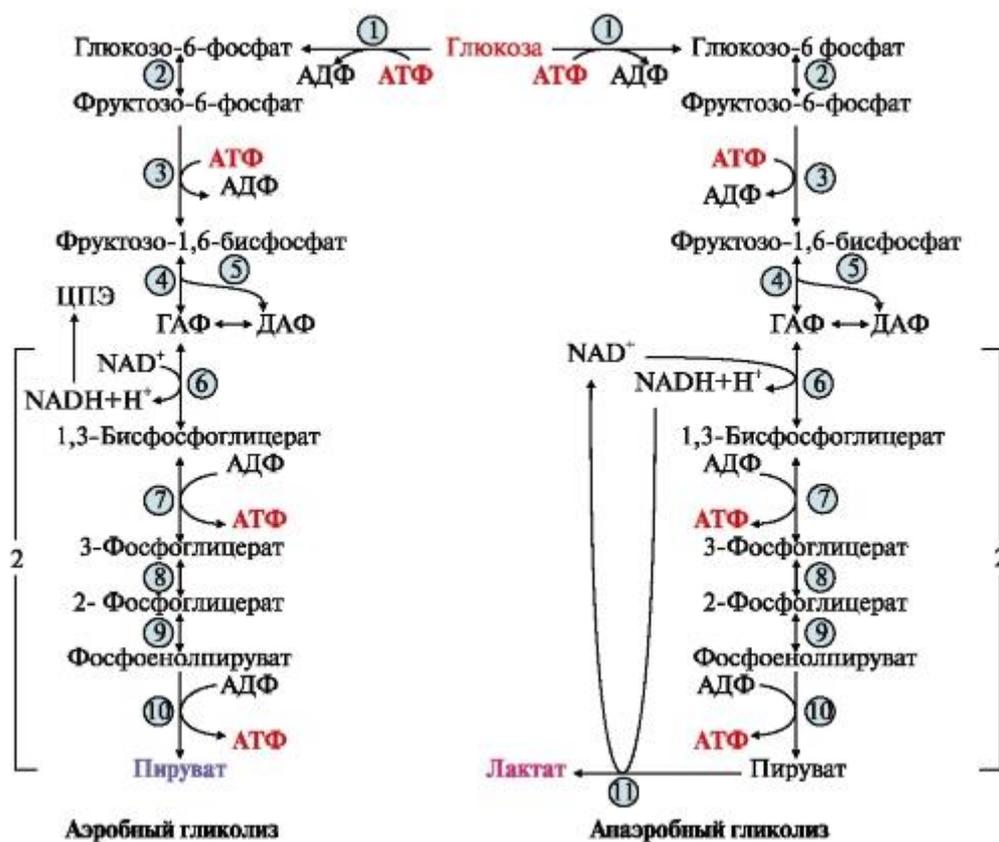


Рис. 6.23. Схема реакций аэробного и анаэробного гликолиза

ГАФ - глицеральдегид-3-фосфат; ДАФ - дигидроксиацетонфосфат; ЦПЭ - цепь переноса электронов. 1 - гексокиназа (глюкокиназа); 2 - фосфоглюкоизомераза; 3 - фосфофруктокиназа; 4 - альдолаза; 5 - триозофосфатизомераза; 6 - глицеральдегидфосфатдегидрогеназа; 7 - фосфоглицераткиназа; 8 - фосфоглицератмутатаза; 9 - енолаза; 10 - пируваткиназа; 11 - лактатдегидрогеназа.

Выход АТФ при аэробном распаде глюкозы:	
1. Аэробный гликолиз	8 АТФ
2. Окисление 2 молекул пирувата в ОПК	15 АТФ × 2 = 30 АТФ.
Всего	38 молекул АТФ

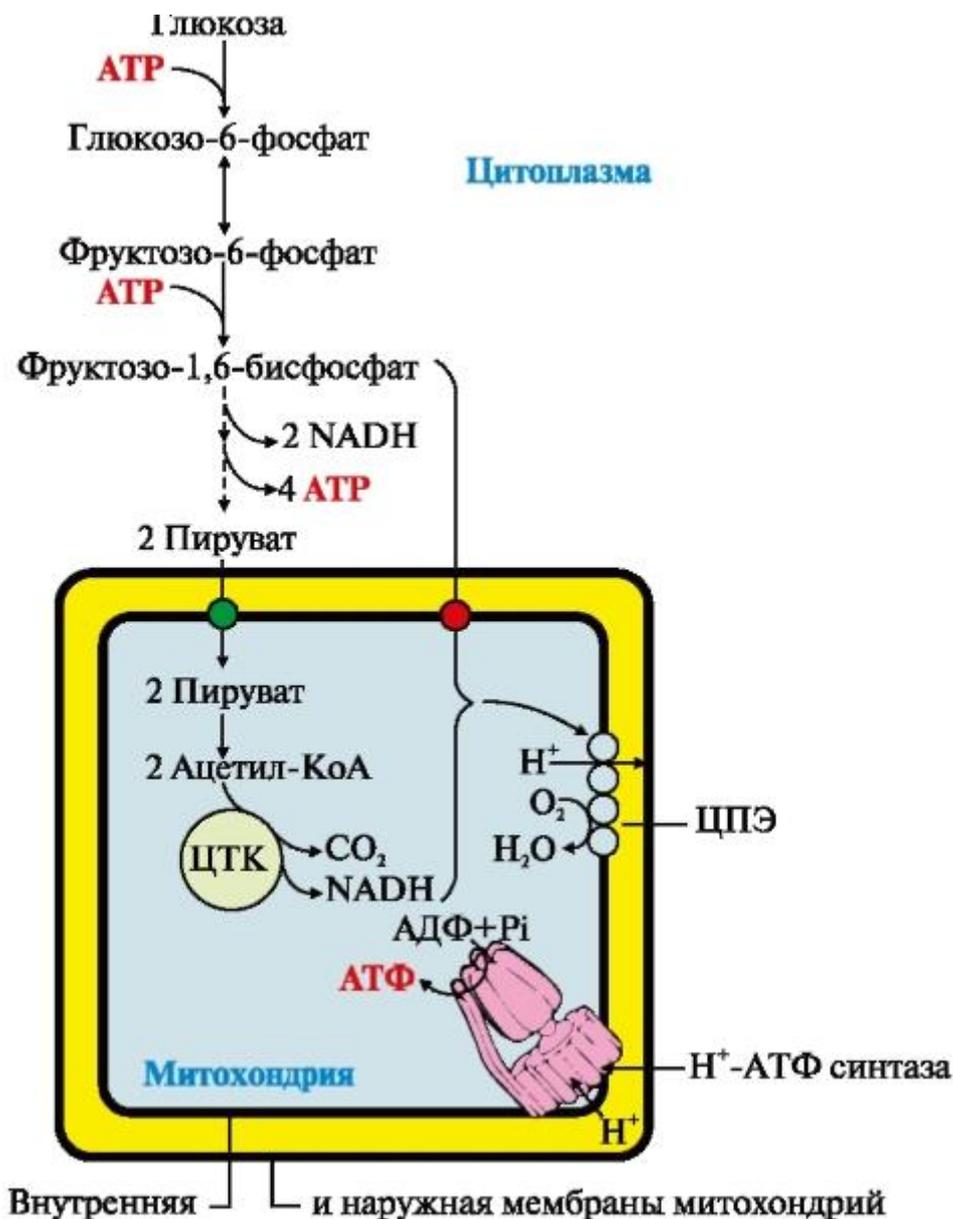


Рис. 6.21. Аэробный распад глюкозы

ЦТК - цикл трикарбоновых кислот; ЦПЭ - цепь переноса электронов.

Анаэробный гликолиз

Анаэробный гликолиз позволяет синтезировать АТФ при недостатке кислорода в тканях, например, в мышцах в первые минуты мышечных сокращений, в эритроцитах, не имеющих митохондрий, а также в клетках злокачественных опухолей.

Первые 10 реакций анаэробного и аэробного гликолиза одинаковы, но, в отличие от аэробного гликолиза, в анаэробном гликолизе при снижении поступления кислорода в митохондрии NADH, образующийся в результате дегидрирования ГАФ, не может использоваться в ЦПЭ. Он окисляется в цитоплазме в реакции, которую катализирует ЛДГ (рис. 6.22).



Рис. 6.22. Лактатдегидрогеназная реакция

Акцептором водорода в этой реакции является пируват, восстанавливающийся в лактат. Следовательно, последняя реакция анаэробного гликолиза, катализируемая ЛДГ, обеспечивает регенерацию NAD^+ , который необходим для работы глицеральдегидфосфатдегидрогеназы.

АТФ при анаэробном распаде глюкозы образуется только в двух реакциях субстратного фосфорилирования (рис. 6.23).

Выход АТФ при анаэробном гликолизе:	
Гексокиназная (глюкокиназная) реакция	- 1 АТФ
Фосфофруктокиназная реакция	- 1 АТФ
Фосфоглицераткиназная реакция	+1 АТФ×2 = 2 АТФ
Пируваткиназная реакция	+1 АТФ×2 = 2 АТФ
Всего	2 молекулы АТФ

Образующийся в мышцах и эритроцитах лактат поступает в кровь и транспортируется в печень, где может превращаться в глюкозу или окисляться в пируват, который далее включается в ОПК. Лактат всегда присутствует в крови, но его концентрация может повышаться при сни-

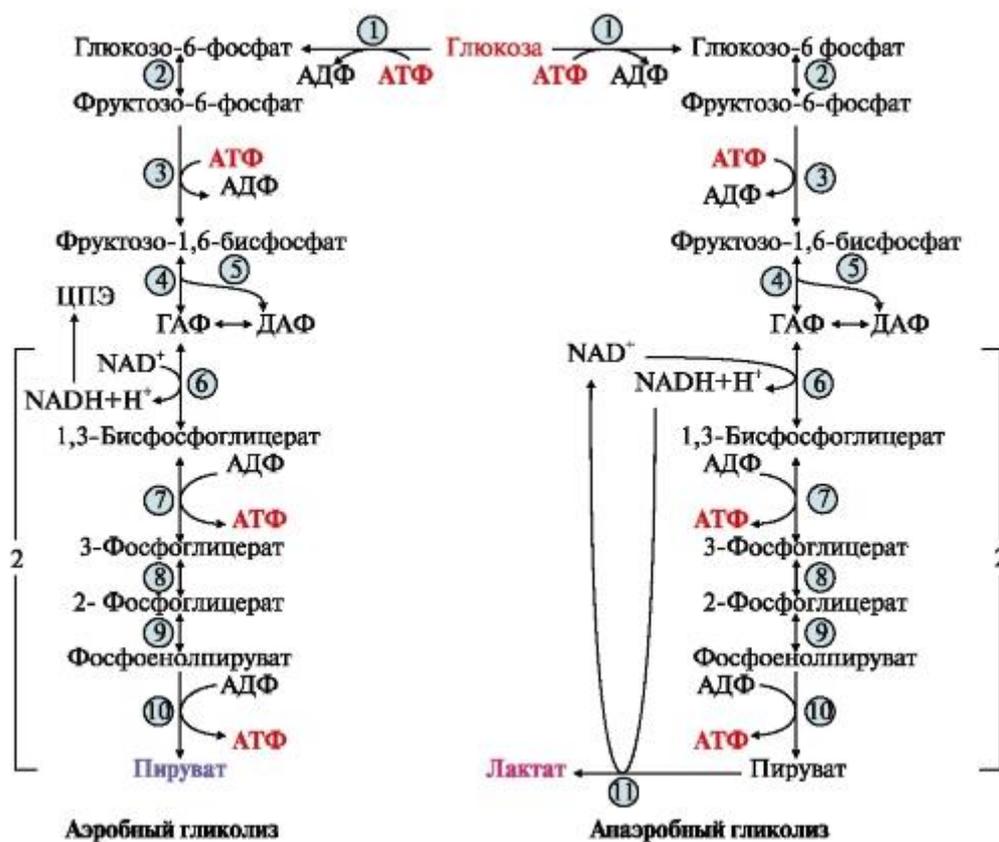


Рис. 6.23. Схема реакций аэробного и анаэробного гликолиза

ГАФ - глицеральдегид-3-фосфат; ДАФ - дигидроксиацетонфосфат; ЦПЭ - цепь переноса электронов. 1 - гексокиназа (глюкокиназа); 2 - фосфоглюкоизомераза; 3 - фосфофруктокиназа; 4 - альдолаза; 5 - триозофосфатизомераза; 6 - глицеральдегидфосфатдегидрогеназа; 7 - фосфоглицераткиназа; 8 - фосфоглицератмутаза; 9 - енолаза; 10 - пируваткиназа; 11 - лактатдегидрогеназа.

жениии поступления кислорода в клетки (гипоксия); гиповитаминозах В₁, В₂, РР; наследственной недостаточности пируваткарбоксилазы или ферментов ПДК.

Увеличение концентрации лактата в крови приводит к лактоацидозу - снижению рН крови, вызванному диссоциацией лактата:



Анаэробный гликолиз - основной путь получения энергии у большинства бактерий полости рта. Эти микроорганизмы содержат фермент сахаразу и могут утилизировать сахарозу пищи, превращая продукты ее гидролиза в субстраты гликолиза. Избыток сахарозы в пище сопровождается увеличением содержания образованного бактериями лактата в слюне,

снижением рН и разрушением (деминерализацией) основного минерального компонента эмали зуба - гидроксиапатитов. Между уровнем потребления сахара и заболеваемостью кариесом существует прямая зависимость.

Регуляция гликолиза в мышцах. В скелетных мышцах гликолиз имеет в основном энергетическое значение, поэтому скорость этого процесса регулируется главным образом энергетическим потенциалом клетки (рис. 6.24).

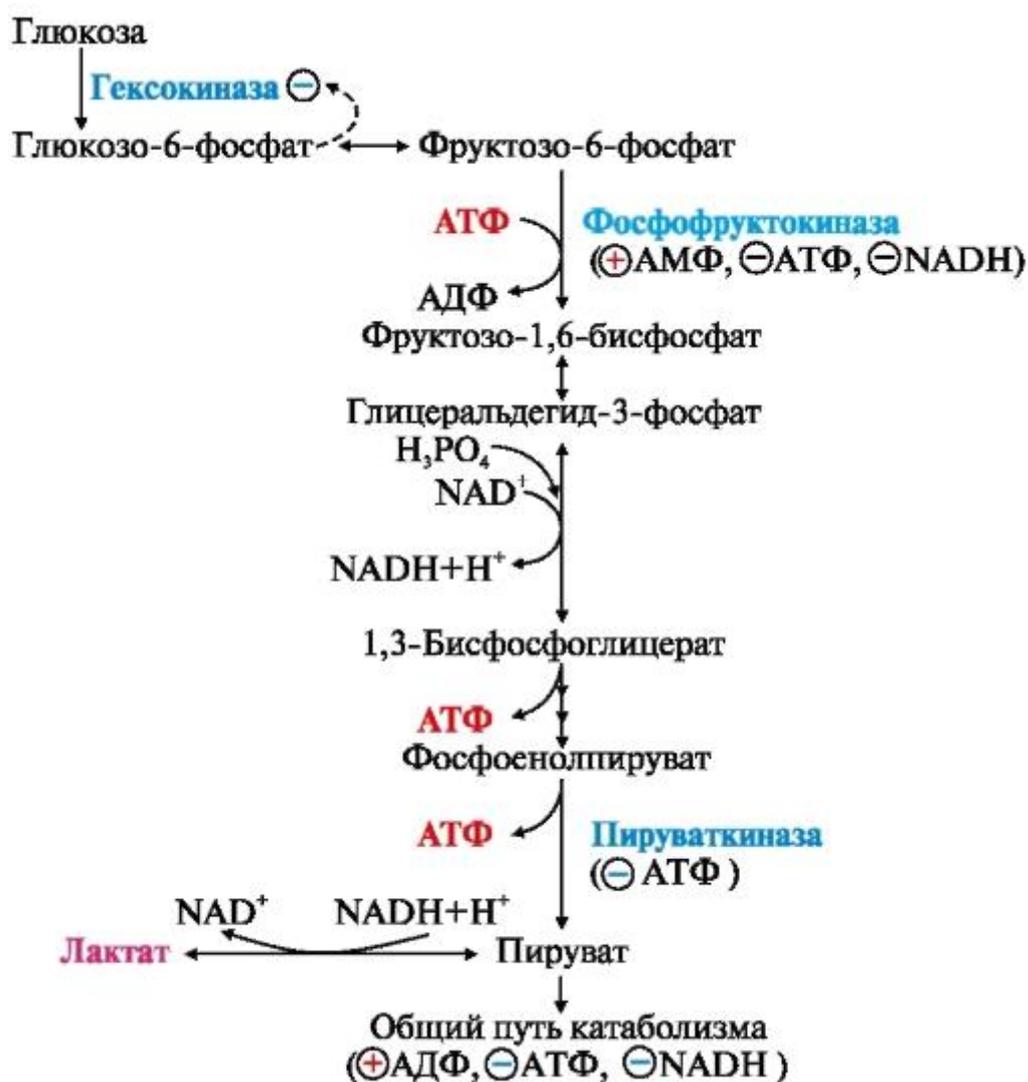


Рис. 6.24. Регуляция гликолиза энергетическим потенциалом клетки в скелетных мышцах

При высоком энергетическом потенциале NADH и АТФ аллостерически ингибируют фосфофруктокиназу и пируваткиназу, а также регуляторные ферменты ОПК, вследствие чего гликолиз и аэробный распад глюкозы тормозятся. Снижение активности фосфофруктокиназы приводит в накоплению глюкозо-6-фосфата, который ингибирует гексокиназу. При

низком потенциале клетки избыток АМФ аллостерически активирует фосфофруктокиназу и, таким образом, активирует гликолиз.

В печени и жировой ткани аэробный распад глюкозы является источником субстратов для синтеза жиров. Регуляция гликолиза в печени будет рассмотрена в следующей главе.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выберите правильный ответ.

Последней реакцией аэробного гликолиза является:

А. Фосфорилирование фруктозо-6-фосфата. Б. Альдольное расщепление фруктозо-6-фосфата.

В. Изомеризация 3-фосфоглицерата в 2-фосфоглицерат.

Г. Окисление ГАФ.

Д. Превращение фосфоенолпирувата в пируват.

2. Выберите правильные ответы.

Синтез АТФ при аэробном гликолизе обеспечивают реакции:

А. Фруктозо-6-фосфат \rightarrow фруктозо-1,6-бисфосфат.

Б. ГАФ \rightarrow ДАФ.

В. 1,3-Бисфосфоглицерат \rightarrow 3-фосфоглицерат. Г. ГАФ \rightarrow 1,3-бисфосфоглицерат.

Д. Фосфоенолпируват \rightarrow пируват.

3. Установите соответствие.

А. Пируваткиназа.

Б. Глицеральдегидфосфатдегидрогеназа.

В. Альдолаза.

Г. Фосфофруктокиназа. Д. Фосфоглюкоизомераза.

1. Участвует в реакции субстратного фосфорилирования.

2. Катализирует реакцию, идущую с затратой АТФ.

3. Образует продукт, содержащий макроэргическую связь.

4. Выберите правильные ответы.

При анаэробном гликолизе АТФ образуется в реакциях:

А. Глюкоза → глюкозо-6-фосфат. Б. ГАФ о 1,3-бисфосфоглицерат.

В. 1,3-Бисфосфоглицерат о 3-фосфоглице- рат.

Г. Фосфоенолпируват - пируват. Д. Пируват о лактат.

5. Выберите правильные ответы.

При аэробном распаде глюкозы до CO_2 и H_2O :

А. Образуются 38 молекул АТФ.

Б. АТФ синтезируется путем окислительного и субстратного фосфорилирования.

В. В печени и жировой ткани промежуточные метаболиты могут служить для синтеза жиров.

Г. Челночный механизм обеспечивает транспорт водорода в митохондрии. Д. Пируват восстанавливается в лактат.

6. Установите соответствие.

А. Лактат. Б. Пируват.

В. Фосфоенолпируват.

Г. Фруктозо-1,6-бисфосфат. Д. Фруктозо-6-фосфат.

1. Содержит макроэргическую связь.

2. Восстанавливается лактатдегидрогеназой.

3. Окисляется лактатдегидрогеназой.

7. Выполните «цепное» задание.

а) при аэробном гликолизе реакцию субстратного фосфорилирования катализирует:

А. Глюкокиназа.

Б. Фосфофруктокиназа.

В. Фосфотриозоизомераза. Г. Пируваткиназа.

б) этот фермент участвует в реакции:

А. Пируват \leftrightarrow лактат.

Б. Фосфоенолпируват \rightarrow пируват.

В. 2-Фосфоглицерат \leftrightarrow фосфоенолпируват. Г. Пируват \rightarrow ацетил-КоА.

в) продукт этой реакции при аэробном распаде глюкозы является субстратом фермента:

А. Лактатдегидрогеназы.

Б. Пируватдегидрогеназного комплекса.

В. Пируваткиназы. Г. Альдолазы.

г) в результате реакции, катализируемой этим ферментом, образуется:

А. Лактат.

Б. Оксалоацетат.

В. Ацетил-КоА.

Г. Глицеральдегидфосфат.

д) это вещество используется в:

А. Гликолизе.

Б. Синтезе гликогена.

В. Синтезе глюкозы.

Г. Цикле трикарбоновых кислот.

е) этот метаболический путь (выберите все правильные ответы):

А. Содержит 4 окислительно-восстановительные реакции.

Б. Включает одну реакцию субстратного фосфорилирования.

В. Регулируется аллостерически.

Г. Является этапом общего пути катаболизма.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Для предотвращения развития кариеса стоматологи советуют в продуктах питания сахарозу заменять неуглеводными подсластителями (аспартам, сахарин, ксилит). Обоснуйте справедливость такой рекомендации. Для этого:

а) напишите схему реакции гидролиза сахарозы ферментом бактерий полости рта;

б) представьте схему метаболического пути, в который включаются продукты написанной в п. а) реакции;

в) объясните роль конечного продукта этого процесса в образовании кариеса.

2. Некоторые ткани, например, сердечная мышца, могут использовать лактат как энергетический субстрат. Сколько АТФ образуется при окислении одной молекулы лактата до CO_2 и H_2O ? Для ответа на вопрос напишите схему реакций полного окисления лактата, указав ферменты и коферменты, участвующие в реакциях.

3. В норме в крови отношение концентрации лактата к пирувату составляет 25/1. Однако при гипоксии, вызванной, например, нарушением кровообращения, этот показатель повышается и наблюдается лактоацидоз. Объясните причины повышения концентрации лактата в крови больных, страдающих нарушениями кровообращения. Для этого:

а) представьте схемы процессов, в ходе которых глюкоза превращается в лактат и пируват, назовите ферменты и коферменты;

б) укажите механизмы регенерации NAD^+ в этих процессах;

в) напишите реакцию, объясняющую причины возникновения лактоацидоза.

4. Пульпа зуба, заполняющая область коронки и корневой канал зуба, содержит кровеносные сосуды и нервы. В процессе минерализации поступление кислорода в пульпу увеличивается и ускоряются процессы, обеспечивающие синтез АТФ, цитрата и CO_2 , играющих важную роль в метаболизме тканей зуба. Причем АТФ является не только источником энергии, но донором H_3PO_4 для формирования гидроксиапатитов - минерального компонента кости. Объясните роль катаболизма глюкозы в трофической функции пульпы. Для этого:

а) назовите метаболический путь превращения глюкозы, активирующийся при минерализации;

б) напишите схемы реакций катаболизма глюкозы, обеспечивающие синтез АТФ, цитрата и CO_2 в пульпе.

5. У больных, страдающих гиповитаминозом B_1 или наследственной недостаточностью ферментов пируватдегидрогеназного комплекса,

наблюдается метаболический ацидоз, вызванный повышением концентрации в крови органических кислот: пирувата и лактата. Объясните причины увеличения образования этих метаболитов у таких пациентов. Для этого напишите реакции:

- а) с участием ферментов, содержащих кофермент - производное витамина В₁;
- б) восстановления пировиноградной кислоты;
- в) объясняющие причины возникновения ацидоза.

6.7. ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ

Глюкоза является основным энергетическим субстратом для мозга, эритроцитов, хрусталика и сетчатки глаза. Вместе с тем запас гликогена в печени, обеспечивающий поддержание нормального уровня глюкозы в крови, исчерпывается при голодании за сутки. В течение продолжительного голодания (более суток) и интенсивной физической нагрузке глюкоза может синтезироваться из субстратов неуглеводной природы. Этот процесс называется глюконеогенезом. Он обеспечивает образование 80-100 г глюкозы в сутки, причем 90% глюкозы синтезируется в печени и 10% в почках и клетках кишечника.

В глюконеогенезе обратимые реакции катализируют те же ферменты, что и обратимые реакции гликолиза, но в обратном направлении. Однако три реакции гликолиза являются необратимыми, поэтому в глюконеогенезе образование фосфоенолпирувата из пирувата, фруктозо-6-фосфата из фруктозо-1,6-бисфосфата и глюкозы из глюкозо-6-фосфата осуществляют другие ферменты.

Субстраты глюконеогенеза

Глюкоза может синтезироваться из лактата, глицерола и некоторых аминокислот (рис. 6.25).

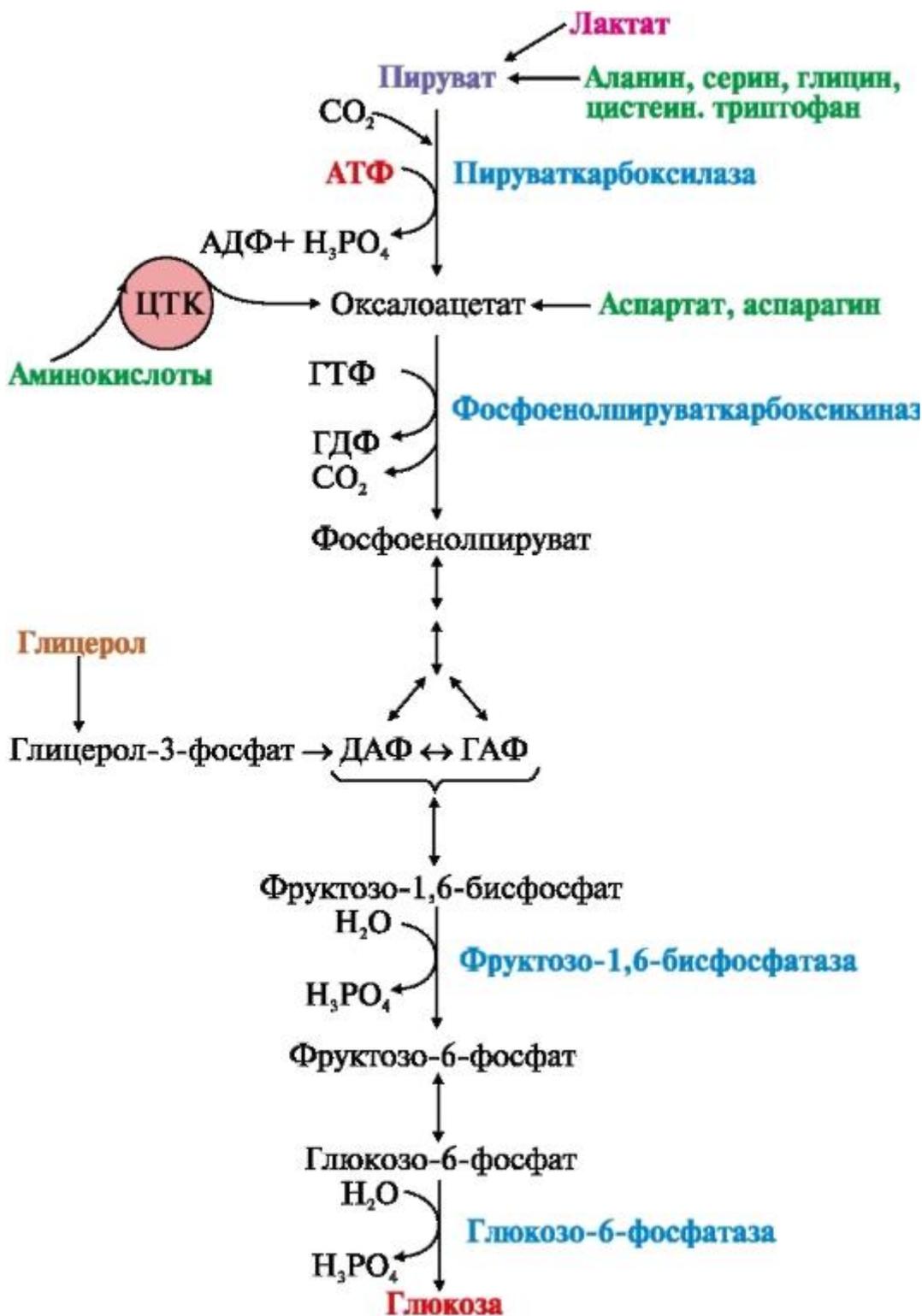


Рис. 6.25. Включение субстратов в глюконеогенез

Синтез глюкозы из лактата. Глюкозолактатный цикл. Лактат, образующийся при анаэробном гликолизе в мышцах и эритроцитах, поступает в кровь, а затем в печень. В печени лактат под действием ЛДГ превращается в пируват, который может окисляться до CO_2 и H_2O или включаться в глюконеогенез. Глюкоза, образующаяся в этом процессе, из печени с током крови поступает

в скелетные мышцы, где используется как энергетический субстрат. Последовательность превращений глюкозы в мышцах и лактата в печени называется глюкозолактатным циклом (цикл Кори) (рис. 6.26).

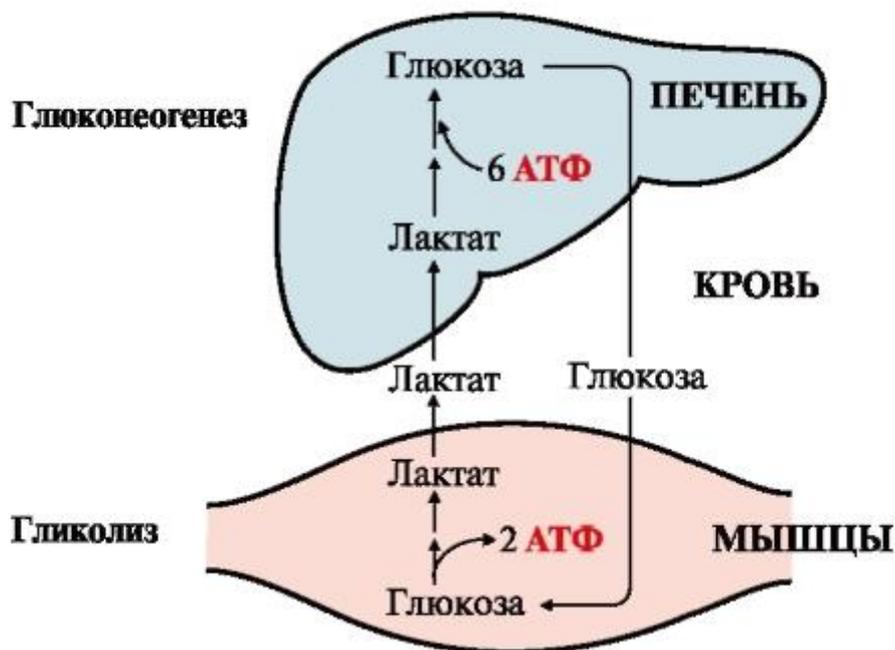


Рис. 6.26. Глюкозолактатный цикл (цикл Кори)

Глюкозолактатный цикл обеспечивает использование лактата для синтеза глюкозы, предотвращая его накопление в тканях.

Синтез глюкозы из глицерола. Глицерол, образующийся в жировой ткани при гидролизе триацилглицеролов, поступает в кровь и транспортируется в печень, где используется как субстрат глюконеогенеза. Для синтеза 1 молекулы глюкозы необходимы 2 молекулы глицерола. Фермент глицеролкиназа фосфорилирует глицерол при участии АТФ с образованием глицерол-3-фосфата. Последний окисляется NAD^+ -зависимой

глицерол-3-фосфатдегидрогеназой с образованием промежуточного метаболита глюконеогенеза - дигидроксиацетонфосфата. Одна молекула дигидроксиацетонфосфата изомеризуется в глицеральдегидфосфат, а затем обе триозы вступают в реакцию альдольной конденсации с образованием гексозы - фруктозо-1,6-бисфосфата, который в результате трех последующих реакций превращается в глюкозу (рис. 6.27).

Синтез глюкозы из аминокислот. Если в процессе катаболизма аминокислот образуются пируват, оксалоацетат или промежуточные метаболиты цитратного цикла (α -кетоглутарат, сукцинилКоА, фумарат), то эти вещества

могут служить субстратами глюконеогенеза, а аминокислоты, из которых они образуются, называют гликогенными (см. раздел 7). При длительном голодании или диете, содержащей только белки, уровень глюкозы в крови поддерживается за счет глюконеогенеза из аминокислот.

Биосинтез глюкозы (реакции глюконеогенеза)

В реакции глюконеогенеза может вступать пируват, образующийся при катаболизме некоторых аминокислот или в результате окисления лактата. Синтез глюкозы из 2 молекул пирувата включает 4 необратимые реакции и требует затраты энергии (рис. 6.28).

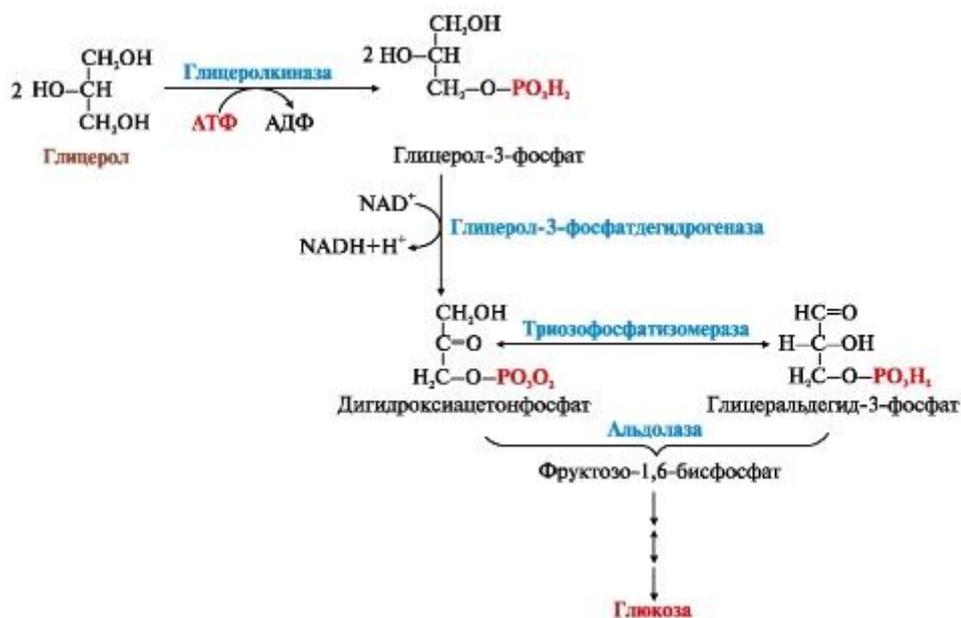


Рис. 6.27. Синтез глюкозы из глицерола

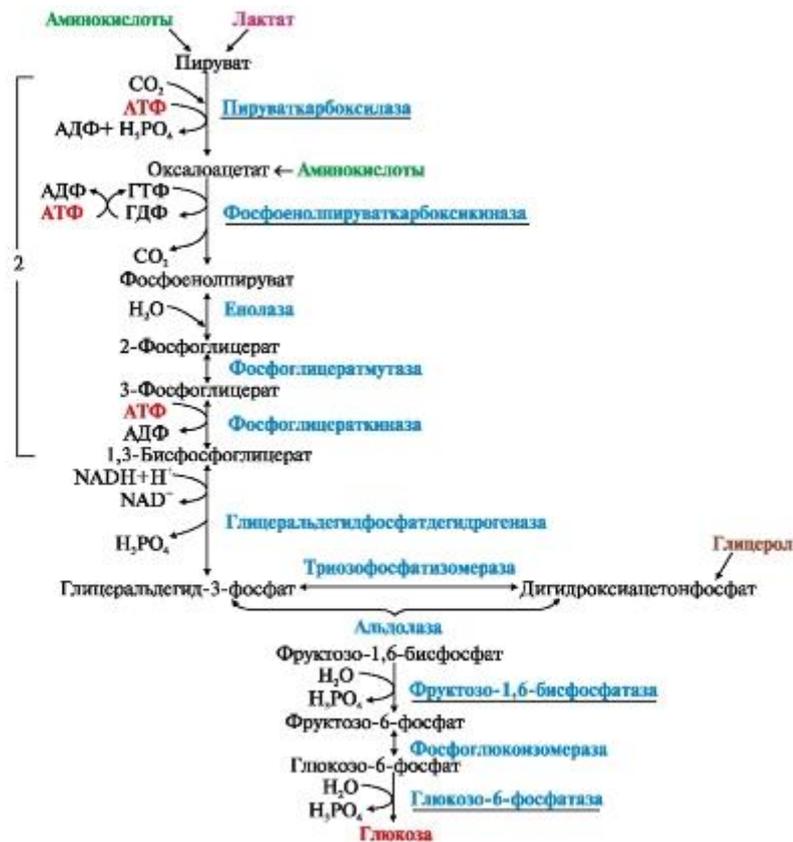


Рис. 6.28. Глюконеогенез

Ферменты, катализирующие необратимые реакции глюконеогенеза, подчеркнуты

- Пируват превращается в фосфоенолпируват в результате двух последовательных реакций. Сначала пируват поступает в митохондрии, где протекает первая необратимая реакция глюконеогенеза - его превращение в оксалоацетат под действием биотинзависимого фермента пируваткарбоксилазы. Реакция идет с затратой энергии 1 молекулы АТФ (рис. 6.29).



Рис. 6.29. Реакция превращения пирувата в оксалоацетат

Оксалоацетат восстанавливается митохондриальной малатдегидрогеназой в малат. Он поступает в цитоплазму по механизму пассивного антипорта, где

окисляется цитоплазматической малатдегидрогеназой с образованием оксалоацетата. • В цитоплазме оксалоацетат под действием фосфоенолпируваткарбоксикиназы превращается в фосфоенолпируват, при этом затрачивается 1 молекула ГТФ (рис. 6.30).



Рис. 6.30. Реакция превращения оксалоацетата в фосфоенолпируват

- Фосфоенолпируват в ходе двух последовательных обратимых реакций, которые катализируют енолаза и фосфоглицератмутаза, превращается в 3-фосфоглицерат. Последний фосфорилируется ферментом фосфоглицераткиназой с образованием 1,3-бисфосфоглицерата, при этом донором фосфата является АТФ. В результате трех обратимых реакций, которые последовательно катализируют глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, триозофосфатизомераза и альдолаза, 2 молекулы 1,3-бисфосфоглицерата превращаются в фруктозо-1,6-бисфосфат.
- Следующие необратимые реакции глюконеогенеза - дефосфорилирование фруктозо-1,6- бисфосфата и глюкозо-6-фосфата - катализируют фруктозо-1,6- бисфосфатаза и глюкозо-6-фосфатаза соответственно (рис. 6.31). Эти ферменты относятся к гидролазам и отщепляют от субстратов H₃PO₄ с участием воды.

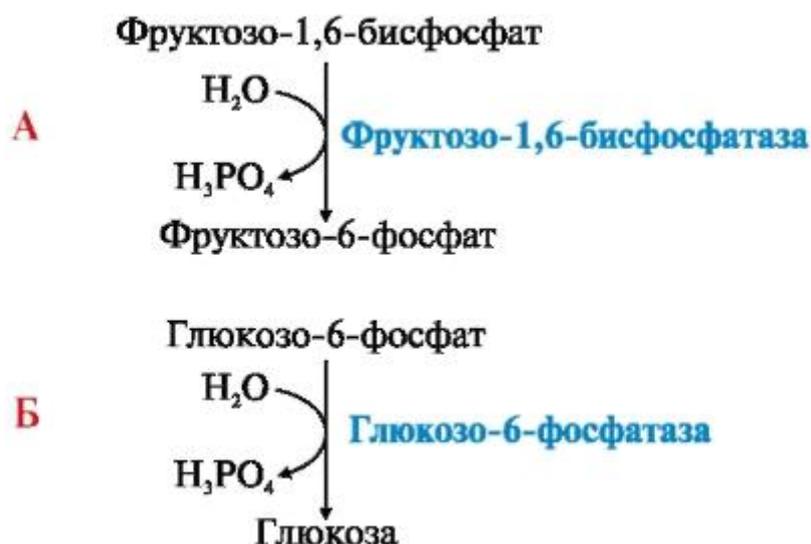


Рис. 6.31. Дефосфорилирование фруктозо-1,6-бисфосфата (А) и глюкозо-6-фосфата (Б)

Три реакции глюконеогенеза идут с затратой энергии. При превращении пирувата в оксалоацетат и 3-фосфоглицерата в 1,3-бисфосфоглицерат расходуется по 1 молекуле АТФ. Кроме того, 1 молекула ГТФ необходима для образования фосфоенолпирувата из оксалоацетата. Учитывая, что стехиометрический коэффициент этого этапа глюконеогенеза равен 2, для синтеза 1 молекулы глюкозы из 2 молекул пирувата необходимо 4 АТФ и 2 ГТФ (всего 6 АТФ).

Влияние этанола на обмен углеводов

До 90% поступающего в организм этанола окисляется в печени. Причем 80-90% этилового спирта окисляется цитоплазматическим ферментом алкогольдегидрогеназой, а 10-20% - в ЭР системой микросомального окисления при участии цитохрома P_{450} (см. раздел 13).

Сначала в цитоплазме гепатоцитов этанол под действием NAD^+ -зависимой алкогольдегидрогеназы превращается в ацетальдегид, который поступает в митохондрии.

В митохондриях ацетальдегид окисляется NAD^+ -зависимой ацетальдегиддегидрогеназой с образованием ацетата. Ацетат поступает в кровь или под действием ацетил-КоА-синтетазы при участии HS-CoA и АТФ может превращаться в ацетил-КоА (рис. 6.32).

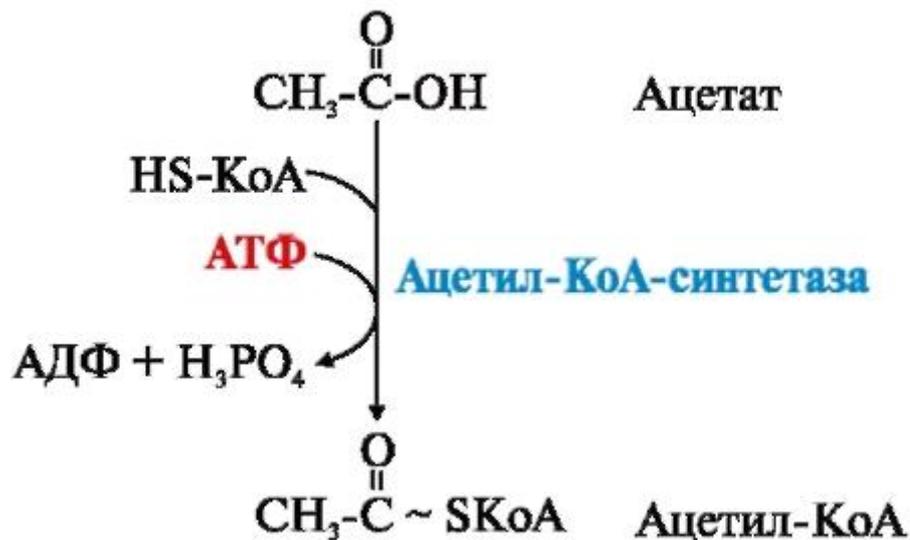
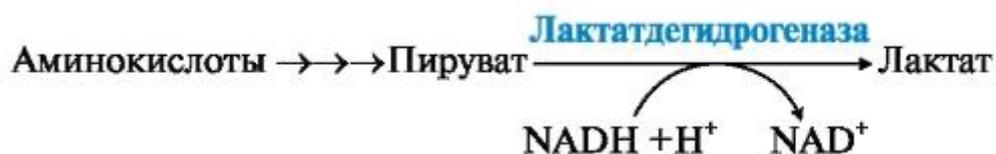


Рис. 6.32. Реакция активации ацетата

Последний окисляется в цикле трикарбоновых кислот, а также используется для синтеза жирных кислот или кетоновых тел (см. раздел 9)

Часть ацетата из печени транспортируется кровью в периферические ткани (в основном в мышцы), где активируется ферментом ацетилКоА синтетазой. Образующийся в этой реакции ацетил-КоА поступает в цитратный цикл и превращается в CO_2 и H_2O (рис. 6.33).

Окисление этанола в печени вызывает повышение отношения NADH/NAD^+ в гепатоцитах и изменение скоростей реакций, в которых участвуют эти коферменты. В частности, следствием увеличения образования NADH является сдвиг реакции, катализируемой ЛДГ, в сторону образования лактата:



Изменение направления этой реакции в печени сопровождается уменьшением содержания пирувата и увеличением - лактата. Это приводит к снижению скорости глюконеогенеза. В крови концентрация глюкозы снижается (гипоглюкоземия), а лактата - повышается, что приводит к лактоацидозу.

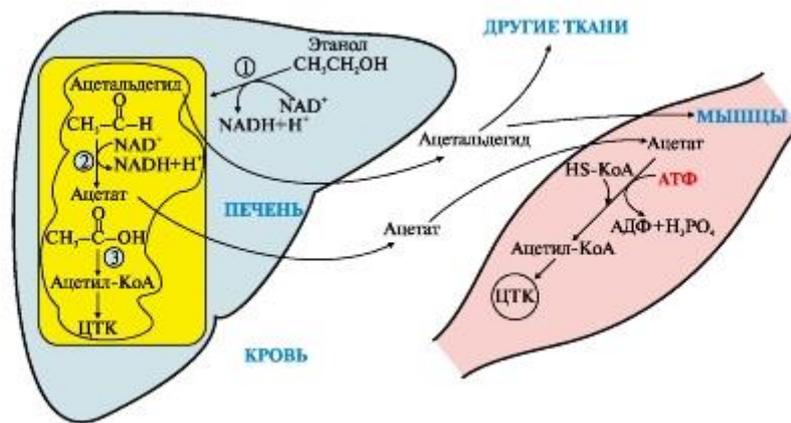


Рис. 6. 33. Основной путь метаболизма этанола в организме

1 - алкогольдегидрогеназа; 2 - ацетальдегиддегидрогеназа; 3 - ацетил-КоА-синтетаза

6.8. РЕГУЛЯЦИЯ ГЛИКОЛИЗА И ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗА В ПЕЧЕНИ

В печени, в отличие от большинства других тканей, идут реакции как гликолиза, так и глюконеогенеза. Эти процессы имеют разное биологическое значение, поэтому скорость каждого из них определяется физиологическим состоянием организма: в абсорбтивный период ускоряется гликолиз и тормозится глюконеогенез, а при голодании, наоборот, скорость гликолиза снижается, а глюконеогенеза - возрастает.

Основную роль в регуляции синтеза и катаболизма глюкозы играют доступность субстратов, участвующих в этих метаболических путях, энергетический потенциал и гормоны инсулин, глюкагон и кортизол. Действие этих гормонов направлено на изменение скорости необратимых реакций гликолиза и глюконеогенеза, которые образуют три субстратных цикла (рис. 6.34). Скорость и, следовательно, направление реакций субстратных циклов зависят от активности и количества ферментов, которые их катализируют. Активность регуляторных ферментов гликолиза и глюконеогенеза регулируется аллостерически и фосфорилированием/дефосфорилированием. Количество ферментов определяется индукцией или репрессией синтеза.

В абсорбтивный период ускорение регуляторных реакций гликолиза и торможение реакций глюконеогенеза осуществляются несколькими механизмами.

- Глюкоза, поступающая в гепатоциты при пищеварении, активирует глюкокиназу - гликолитический фермент I субстратного цикла.

- Инсулин индуцирует синтез глюкокиназы, фосфофруктокиназы и пируваткиназы - ферментов гликолиза I, II и III субстратных циклов.
- Аллостерически регулируется активность ферментов II субстратного цикла. Этот цикл составляют реакция фосфорилирования фруктозо-6-фосфата с образованием фруктозо-1,6- бисфосфата, которую катализирует фосфофруктокиназа, и реакция дефосфорилирования фруктозо-1,6- бисфосфата под действием фруктозо-1,6-бисфосфатазы. Аллостерический регулятор ферментов этого цикла фруктозо-2,6- бисфосфат активирует фосфофруктокиназу и ингибирует фруктозо-1,6-бисфосфатазу. Фруктозо-2,6-бисфосфат образуется при фосфорилировании фруктозо-6-фосфата бифункциональным ферментом (БИФ). Кроме того, этот фермент может катализировать реакцию дефосфорилирования фруктозо-2,6- бисфосфата с образованием фруктозо-6-фосфата. Отсюда название фермента. В зависимости от конформации, которая изменяется при фосфорилировании/дефосфорилировании, БИФ проявляет активность киназы (БИФ-ОН) или фосфатазы (БИФ-Р) (рис. 6.35).

Инсулин вызывает активацию специфической протеинфосфатазы, которая дефосфорилирует БИФ-Р. Дефосфорилированный фермент

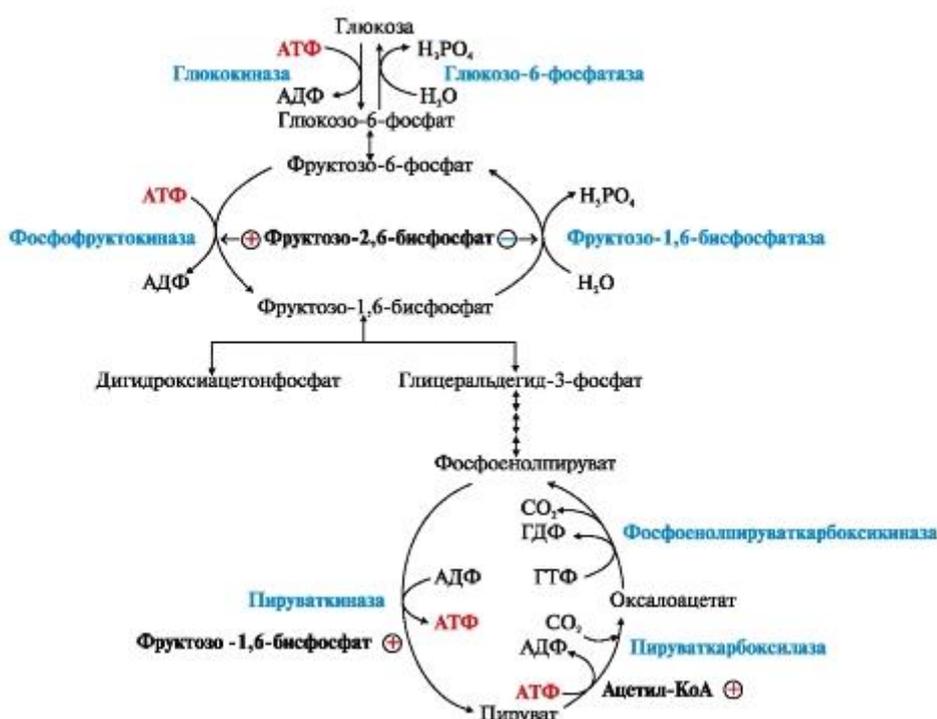


Рис. 6.34. Регуляция реакций гликолиза и глюконеогенеза в печени
Аллостерические регуляторы выделены жирным шрифтом



Рис. 6.35. Регуляция активности бифункционального фермента

1 - последовательность реакций активации аденилатциклазной системы передачи сигнала в клетку; 2 - каскад реакций, вызывающий активацию специфической протеинфосфатазы

(БИФ-ОН) обладает киназной активностью и фосфорилирует фруктозу-6-фосфат с образованием фруктозо-2,6-бисфосфата. Последний аллостерически активирует фосфофруктокиназу и ингибирует фруктозо-1,6-бисфосфатазу.

- В III субстратном цикле образование пирувата из фосфоенолпирувата в гликолизе катализирует пируваткиназа. В глюконеогенезе пируват превращается в фосфоенолпируват в результате двух последовательных реакций, которые катализируют пируваткарбоксилаза и фосфоенолпируваткарбоксикиназа.

Активность пируваткиназы регулируется аллостерически и фосфорилированием/ дефосфорилированием.

Фруктозо-1,6-бисфосфат, образующийся в реакции, катализируемой фосфофруктокиназой, аллостерически активирует пируваткиназу, таким образом обеспечивается ускорение всех этапов гликолиза в абсорбтивный период.

Инсулин вызывает активацию специфической протеинфосфатазы, которая дефосфорилирует и активирует пируваткиназу (рис. 6.36).

При голодании ускорение глюконеогенеза и замедление гликолиза обусловлено следующими механизмами регуляции:

- Фермент глюконеогенеза III субстратного цикла пируваткарбоксилаза аллостерически активируется ацетил-КоА. В постабсорбтивный

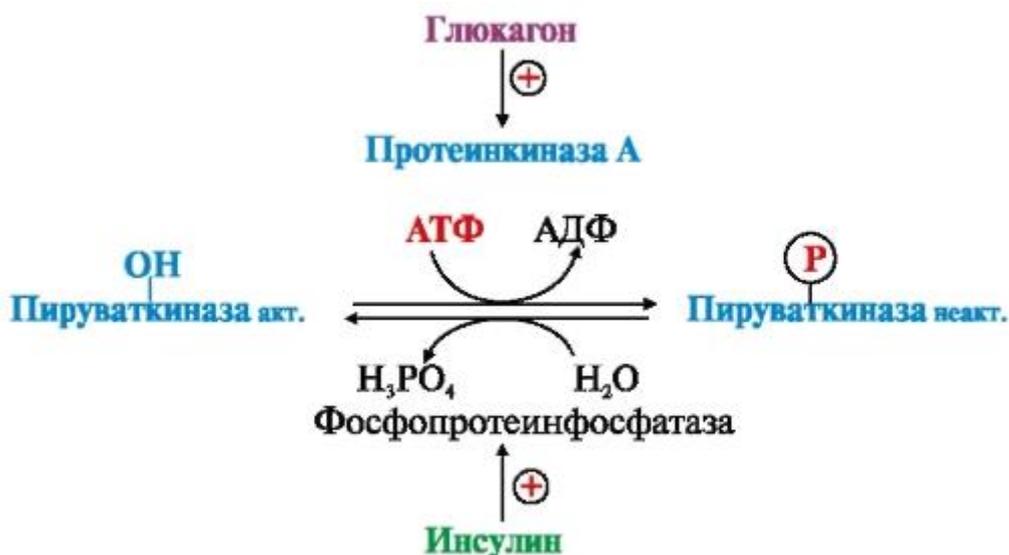


Рис. 6.36. Регуляция активности пируваткиназы инсулином и глюкагоном период образование этого метаболита в митохондриях гепатоцитов увеличивается в результате ускорения β -окисления жирных кислот (см. раздел 9). Ацетил-КоА, с одной стороны, аллостерически ингибирует ПДК и тормозит окисление пирувата в ОПК, а с другой, активируя пируваткарбоксилазу, ускоряет его включение в глюконеогенез.

- Глюкагон, передавая сигнал в клетку через аденилатциклазную систему, вызывает активацию протеинкиназы А. Этот фермент фосфорилирует:
 - пируваткиназу, вызывая ее инактивацию;
 - БИФ, который в фосфорилированной форме проявляет гидролазную активность и дефосфорилирует фруктозо-2,6-бисфосфат. Уменьшение образования этого метаболита повышает активность фермента глюконеогенеза фруктозо-1,6-бисфосфатазы и снижает активность фермента гликолиза фосфофруктокиназы.
 - специфические белки - факторы транскрипции, стимулирующие транскрипцию генов фосфоенолпируваткарбоксикиназы и фруктозо-1,6-бисфосфатазы.

Следовательно, гормон голода глюкагон ускоряет реакции глюконеогенеза и тормозит реакции гликолиза III и II субстратных циклов.

При голодании, стрессе, тяжелой физической нагрузке в коре надпочечников увеличиваются синтез и секреция стероидного гормона кортизола. Он

поступает в гепатоциты и, взаимодействуя с внутриклеточным рецептором (см. раздел 4), ускоряет транскрипцию гена фосфоенолпируваткарбоксикиназы и таким образом увеличивает количество фермента в клетке.

Снижение скорости гликолиза происходит также за счет того, что в связи с ускорением окисления жирных кислот в постабсорбтивный период в гепатоцитах увеличивается образование NADH и АТФ, которые аллостерически ингибируют фосфофруктокиназу и пируваткиназу.

Описанные выше механизмы регуляции направлены на активацию гликолиза и торможение глюконеогенеза в абсорбтивный период и снижение скорости гликолиза и ускорение глюконеогенеза при голодании.

6.9. ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ ПРЕВРАЩЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ

Глюкозо-6-фосфат может включаться в реакции пентозофосфатного пути (ПФП). В этом процессе образуется рибозо-5-фосфат, необходимый для синтеза нуклеотидов, и восстанавливается кофермент NADP⁺. Кофермент NADPH является донором водорода в реакциях восстановления при синтезе жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов, инактивации чужеродных веществ и обезвреживании активных форм кислорода. ПФП обеспечивает до 50% потребности организма в NADPH.

Реакции этого метаболического пути идут в большинстве тканей, но наиболее активно в печени, жировой ткани, лактирующей молочной железе, эритроцитах и коре надпочечников.

Реакции пентозофосфатного пути

Все реакции этого метаболического пути идут в цитоплазме клеток и их можно разделить на два этапа: окислительный и неокислительный пути образования пентоз. Окислительный путь включает три реакции, две из которых являются окислительно-восстановительными (рис. 6.37):

- окисление глюкозо-6-фосфата NAD⁺-зависимой глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой с образованием 6-фосфоглюконолактона;
- превращение 6-фосфоглюконолактона в 6-фосфоглюконат под действием фермента глюконолактонгидратазы;

- окислительное декарбоксилирование 6-фосфоглюконата с образованием пентозы рибулозо-5-фосфата. Реакцию катализирует NAD^+ -зависимая 6-фосфоглюконатдегидрогеназа.

Неокислительный этап состоит из нескольких обратимых реакций. Рибулозо-5-фосфат в реакции изомеризации превращается в рибозо-5-фосфат (рис. 6.38).

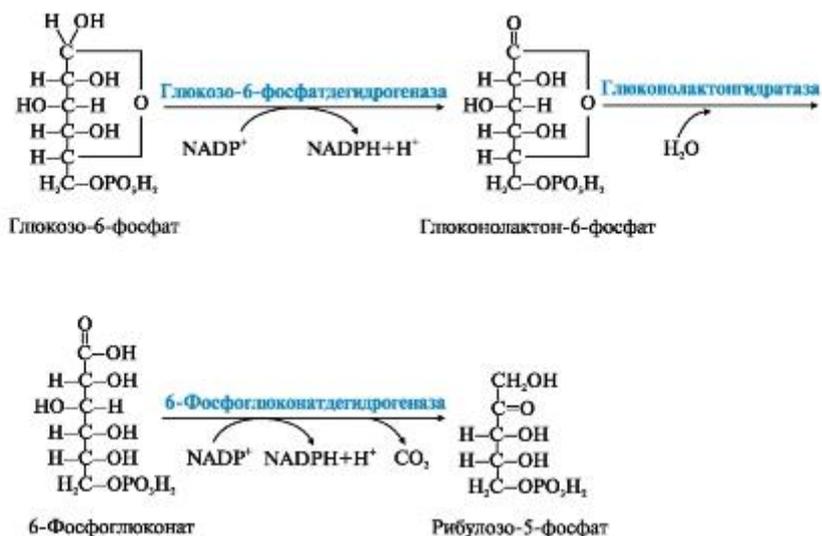


Рис. 6.37. Реакции окислительного этапа пентозофосфатного пути



Рис. 6.38. Реакция изомеризации рибулозо-5-фосфата в рибозо-5-фосфат

Промежуточные метаболиты гликолиза фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат, включаясь в реакции неокислительного пути, могут служить субстратами для синтеза рибозо-5-фосфата. С другой стороны, вследствие того что реакции ПФП обратимы, молекулы рибозо-5-фосфата, образующиеся при катаболизме нуклеотидов, могут превращаться в глицеральдегид-3-фосфат и фруктозо-6-фосфат, дальнейший катаболизм которых происходит в гликолизе и ОПК (рис. 6.39).

Пентозофосфатный цикл

Если в реакции ПФП вступают 6 молекул глюкозо-6-фосфата, то на окислительном этапе образуются 6 молекул рибулозо-5-фосфата и 6 молекул CO_2 . Дальнейшее превращение 6 молекул рибулозо-5-фосфата на неокислительном этапе заканчивается образованием 5 молекул

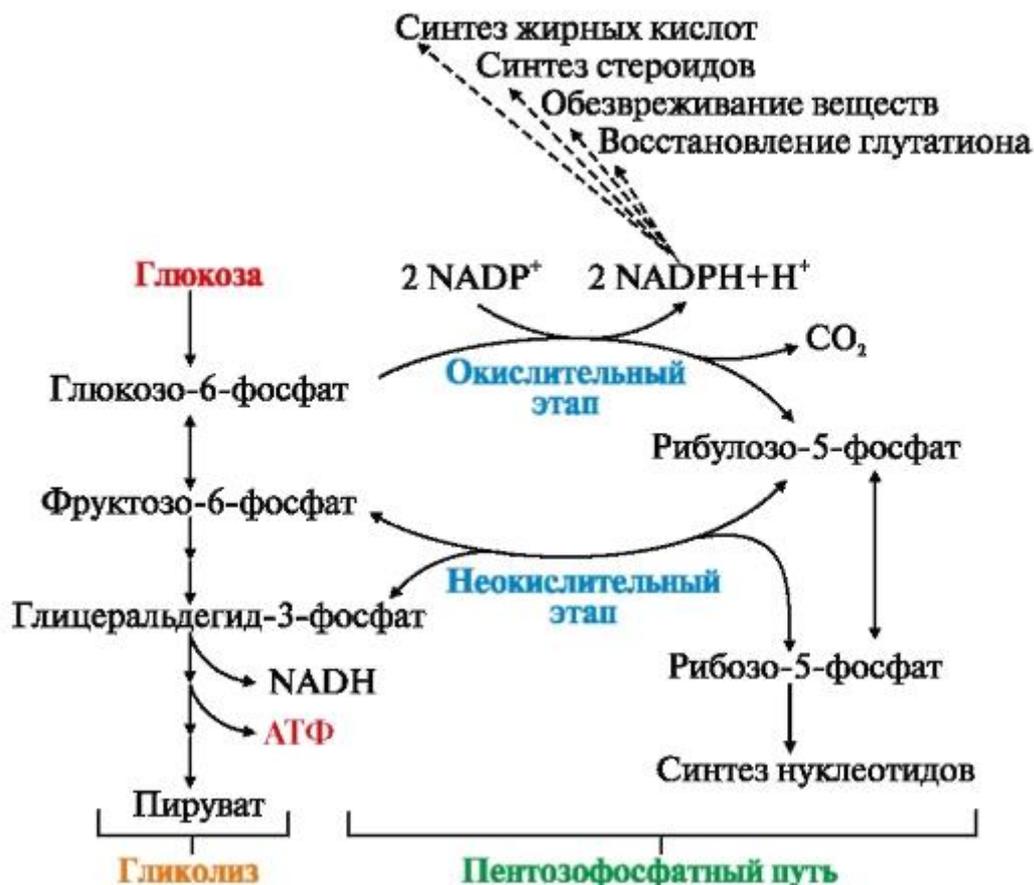
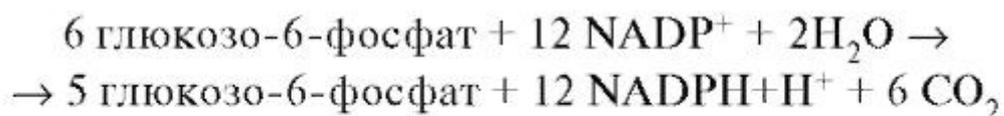


Рис. 6.39. Роль пентозофосфатного пути в метаболизме фруктозо-6-фосфата, которые под действием фосфоглюкоизомеразы могут превращаться в 5 молекул глюкозо-6-фосфата.

Оба этапа этого метаболического пути образуют циклический процесс, суммарное уравнение которого можно представить так:



ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Дополните предложения недостающими словами.

Реакции глюконеогенеза идут в ... и ... клеток Этот процесс ускоряется при обеспечивая синтез . из ., ., и . .

2. Выберите правильные ответы. Субстратами глюконеогенеза являются:

А. Ацетил-КоА. Б. Лактат

В. Пируват Г. Аланин Д. Аспартат

3. Выберите правильные ответы. При голодании в течение недели:

А. Снижается инсулин-глюкагоновый индекс в крови.

Б. Повышается скорость глюконеогенеза в печени.

В. Ускоряется анаэробный гликолиз в мышцах.

Г. Увеличивается поступление аминокислот из мышц в кровь и печень.

Д. Уровень глюкозы в крови находится на нижней границе нормы.

4. Выберите правильные ответы.

В абсорбтивный период в гепатоцитах:

А. Повышается инсулин-глюкагоновый индекс.

Б. Активируется аденилатциклазная система.

В. Повышается содержание фруктозо-2,6- бисфосфата.

Г. Увеличивается синтез фруктозо-1,6-бис- фосфата.

Д. Снижается активность пируваткиназы.

5. Выберите правильные ответы. Инсулин индуцирует синтез:

А. Глюкокиназы. Б. Пируваткиназы.

В. Пируваткарбоксилазы. Г. Фосфофруктокиназы. Д. Фосфолицеролкиназы.

6. Выберите правильный ответ:

Глюкагон и кортизол в гепатоцитах индуцируют синтез:

А. Глюкокиназы.

Б. Фосфофруктокиназы.

В. Пируваткиназы.

Г. Фосфоенолпируваткарбокскиназы. Д. Фосфоглюкоизомеразы.

7. Выберите правильные ответы.

Субстратные циклы образуют реакции, которые катализируют ферменты:

А. Глюкокиназа и глюкозо-6-фосфатаза.

Б. Фосфофруктокиназа и фруктозо-1,6- бисфосфатаза.

В. Пируваткиназа и пируваткарбоксилаза. Г. Глюкокиназа и гексокиназа.

Д. Протеинкиназа и протеинфосфатаза.

8. Выберите правильные ответы. Фруктозо-2,6-бисфосфат:

А. Является промежуточным метаболитом гликолиза.

Б. Образуется из фруктозо-6-фосфата.

В. Активирует фосфофруктокиназу.

Г. Ингибирует фруктозо-1,6-бисфосфатазу. Д. Дефосфорилируется БИФ- Р .

9. Выполните «цепное» задание.

а) При продолжительном голодании в крови повышается концентрация:

А. Глюкозы. Б. Инсулина.

В. Глюкагона. Г. Пирувата.

б) это вещество в печени действует через:

А. Каталитический рецептор. Б. Ядерный рецептор.

В. Мембранный рецептор. Г. α_1 -рецептор.

в) взаимодействие с этим рецептором приводит к:

А. Снижению активности ПКС. Б. Повышению активности ПКА.

В. Активации фосфолипазы С. Г. Ингибированию ПКА.

г) вследствие изменения активности этого фермента ускоряется:

А. Субстратное фосфорилирование. Б. Фосфорилирование БИФ.

В. Дефосфорилирование фруктозо-2,6- бисфосфата.

Г. Образование фруктозо-6-фосфата.

д) в результате этой реакции:

А. Активируется пируваткиназа. Б. Активируется глюкокиназа.

В. БИФ проявляет киназную активность. Г. БИФ катализирует реакцию дефосфорилирования.

е) в результате в гепатоцитах снижается содержание:

А. Ацетил-КоА. Б. Глюкозы.

В. Фруктозо-2,6-бисфосфата. Г. Фруктозо-1,6 бисфосфата.

ж) изменение содержания этого метаболита в гепатоцитах приводит к:

А. Снижению активности фосфофруктокиназы.

Б. Повышению активности фруктозо-2,6- бисфосфатазы.

В. Ускорению гликолиза.

Г. Торможению глюконеогенеза.

10. Выберите правильные ответы. При длительном голодании:

А. Снижается активность глюкозо-6-фос- фатдегидрогеназы.

Б. Увеличивается образование рибозо-5- фосфата.

В. Снижается скорость синтеза $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Г. Снижается активность NADPH -зависи-

мых редуктаз. Д. Ускоряется неокислительный этап ПФП.

11. Выберите правильные ответы. Окислительный этап ПФП:

А. Включает две окислительно-восстановительные реакции.

Б. Заканчивается образованием рибозо-5- фосфата.

В. Обеспечивает восстановление кофермента NADP^+ .

Г. Включает реакцию окислительного фос-

форилирования. Д. Регулируется аллостерически. 12. Заполните таблицу 6.1.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. У пациентов, страдающих хроническим алкоголизмом, наряду с другими нарушениями наблюдаются гипоглюкоземия и лактоацидоз. Объясните причины снижения уровня глюкозы и повышения концентрации лактата в крови при алкоголизме. Для этого:

- а) напишите реакции окисления этанола в печени и образования лактата;
- б) укажите причину повышения скорости образования лактата в печени при алкоголизме;
- в) представьте схему процесса, изменение скорости которого вызывает гипогликоземию.

2. Недостаточность фруктозо-1,6-бисфосфатазы наследуется по аутосомно-рецессивному типу. У больных с таким генетическим дефектом наряду с другими нарушениями наблюдаются гипогликоземия натощак и лактоацидоз. Объясните роль фруктозо-1,6-бисфосфатазы в метаболическом пути, обеспечивающем сохранение нормального уровня глюкозы в крови при голодании. Для этого:

- а) укажите метаболический путь, в котором участвует этот фермент;
- б) напишите схему реакции, которую катализирует фруктозо-1,6-бисфосфатаза, и объясните, как регулируется активность этого фермента.

Таблица 6.1.

Метаболический путь	Регуляторный фермент	Механизмы регуляции		
		Фосфорилирование/ Дефосфорилирование	Индукция/репрессия транскрипции гена ↑ или ↓	Аллостерическая регуляция Активатор + Ингибитор –
Гликолиз	1. 2. 3.			
Глюконеогенез	1. 2. 3.			

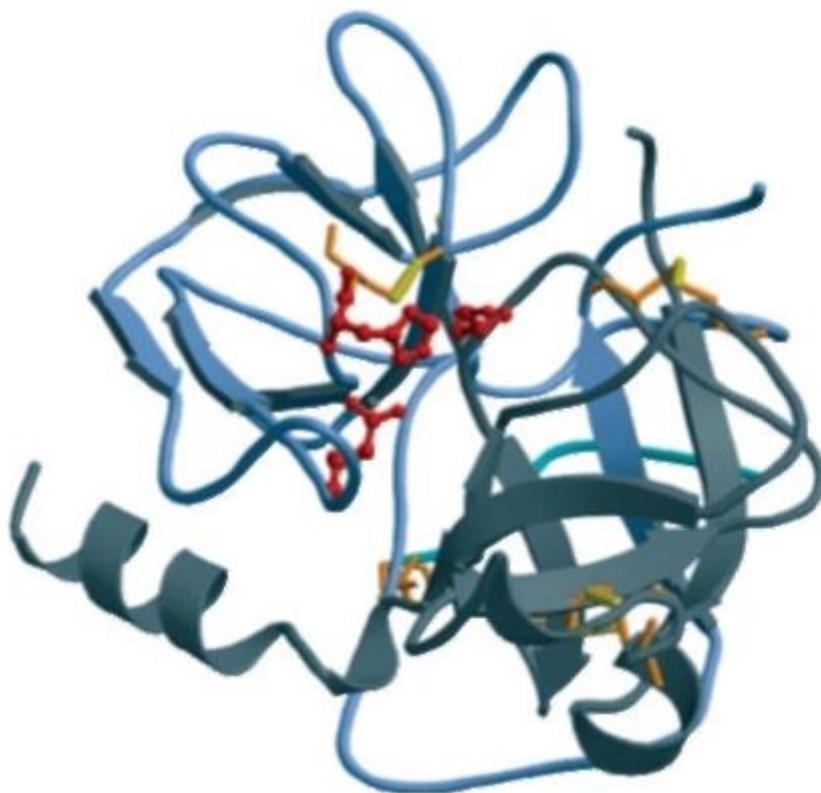
3. Недостаток других источников пищи вынуждает жителей тропической Африки употреблять в пищу плоды дерева акее. Незрелые плоды вызывают тяжелое отравление, так как содержат гипоглицин А. Это вещество ингибирует β -окисление жирных кислот в печени, а при голодании основным источником АТФ в печени являются жирные кислоты. Почему отравление гипоглицином А сопровождается гипогликоземией? Для ответа на вопрос:

- а) назовите метаболический путь обмена глюкозы, поддерживающий уровень глюкозы в крови при голодании на нижней границе нормы;
- б) напишите схемы реакций этого процесса, требующие затраты энергии;
- в) рассчитайте количество АТФ, необходимое для синтеза глюкозы из лактата, аланина, глицерола, аспартата.

4. При генетическом дефекте глюкозо-6-фосфатазы в гепатоцитах повышается содержание рибозо-5-фосфата, вследствие чего ускоряется синтез нуклеотидов. Это приводит к увеличению образования конечного продукта катаболизма пуриновых нуклеотидов - мочевой кислоты и возникновению подагры. В чем заключается причина увеличения образования рибозо-5-фосфата при недостаточности этого фермента? Для ответа на вопрос:

- а) напишите схему реакции, которую катализирует глюкозо-6-фосфатаза;
- б) представьте схему реакций окислительного этапа метаболического пути, обеспечивающего синтез рибозо-5-фосфата;
- в) укажите значение этого процесса в организме.

РАЗДЕЛ 7. ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ



Основные темы раздела:

- 7.1. Азотистый баланс. Белковое питание.
- 7.2. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте.
- 7.3. Трансаминирование аминокислот.

7.4. Дезаминирование аминокислот.

7.5. Обезвреживание аммиака в тканях.

7.6. Синтез мочевины (орнитиновый цикл Кребса).

7.7. Включение безазотистого остатка аминокислот в ОПК.

7.8. Синтез заменимых аминокислот.

7.9. Обмен отдельных аминокислот. Наследственные нарушения обмена аминокислот.

7.10. Декарбоксилирование аминокислот. Биогенные амины.

Аминокислоты выполняют в организме разнообразные функции (рис. 7.1):

- структурную - большая часть аминокислот используется для построения белков (до 400 г/сут), количество которых в организме взрослого человека нормального телосложения составляет примерно 12-15 кг.
- анаболическую - аминокислоты являются предшественниками многих биологически активных соединений, таких, как гормоны, пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды, гем, креатин, карнитин, фосфолипиды, нейромедиаторы.
- энергетическую - могут служить источниками энергии в экстремальных ситуациях, например при длительном голодании или, наоборот, избыточном потреблении белков с пищей.

Пул свободных аминокислот организма составляет 30-100 г, содержание их в крови - в среднем 35-65 мг/дл.

Источниками свободных аминокислот в клетках являются: белки пищи, собственные белки тканей, синтез аминокислот из углеводов и метаболитов ОПК (см. рис. 7.1).

Аминокислоты не депонируются в организме, подобно глюкозе (в виде гликогена) или жирным кислотам (в составе ТАГ). Поэтому

в экстремальных ситуациях резервом аминокислот служат структурно-функциональные белки тканей и прежде всего белки мышц, печени и плазмы крови.

В организме человека постоянно происходит обновление белков - в сутки распадается на аминокислоты около 400 г белков и примерно такое же

количество синтезируется. Синтез и обновление белков в разных тканях происходят с разной скоростью. Так, белок соединительной ткани коллаген обновляется полностью за 300 дней, а белки системы свертывания крови - от нескольких минут до нескольких дней. Основным источником, восполняющим пул аминокислот организма, являются белки пищи. Небольшая их часть пополняется за счет катаболизма тканевых белков или синтезируется, причем из углеводов образуется только углеродная часть молекулы некоторых аминокислот, а аминогруппа должна поступать от других аминокислот.

Об исключительно важной роли обмена белков и аминокислот говорит и тот факт, что недостаток в питании белков или отдельных незаменимых аминокислот приводит к нарушению обмена веществ и различным патологическим состояниям.



Рис. 7.1. Биологическая роль аминокислот

7.1. АЗОТИСТЫЙ БАЛАНС. БЕЛКОВОЕ ПИТАНИЕ

Аминокислоты содержат ~95% всего азота, поэтому именно баланс азота в организме человека является показателем состояния белкового и аминокислотного обмена. Азотистый баланс определяют как разность между количеством азота, поступающим с пищей, и количеством азота, выделяющимся из организма в виде мочевины и аммонийных солей почками.

Азотистый баланс может быть:

- равным нулю (азотистое равновесие) - у здоровых взрослых людей при сбалансированном питании количество поступающего в сутки азота равно количеству выделяемого;
- положительным - у детей или людей, выздоравливающих после тяжелой болезни, а также при обильном белковом питании азота поступает больше, чем выводится;
- отрицательным - при тяжелых заболеваниях, голодании или старении выделение азота преобладает над его поступлением.

Минимальное количество белков в пище, необходимое для поддержания азотистого равновесия, составляет 30-50 г/сут, оптимальное при повышенной физической нагрузке - примерно 120-150 г/сут. Таким образом, норма потребления белков составляет ~100 г/сут.

В продуктах животного происхождения (сыр, мясо, рыба) и бобовых (горох, соя) белков содержится 20-30% и более, в продуктах растительного происхождения (яблоки, картофель, капуста) - только 0,3-2%.

20 аминокислот, которые имеются в белках, можно разделить на 4 группы по способности синтезироваться в организме человека:

- заменимые аминокислоты синтезируются в клетках в необходимых количествах (Ала, Асп, Асн, Глу, Глн, Про, Гли, Сер);
- незаменимые аминокислоты не могут синтезироваться в организме (Вал, Лей, Иле, Мет, Фен, Три, Лиз, Тре);
- частично заменимые аминокислоты синтезируются очень медленно в количествах, не покрывающих потребности организма, особенно у детей (Гис, Арг);
- условно заменимые аминокислоты синтезируются из незаменимых аминокислот (Цис, Тир из Мет и Фен, соответственно).

Пищевая ценность белков определяется:

- содержанием незаменимых аминокислот; белки животного и растительного происхождения отличаются по аминокислотному составу. Близкими по составу к белкам человека являются белки животного происхождения (яичный альбумин, казеин молока, белки мяса). Растительные белки уступают животным белкам по содержанию таких незаменимых аминокислот, как Лиз, Мет, Три, Тре, или даже не содержат их совсем;
- способностью перевариваться в желудочнокишечном тракте; наиболее полно усваиваются организмом человека белки яиц, молока, мяса. Растительные белки (пшеницы, овса и других злаков) полностью не перевариваются. Белки волос, шерсти, перьев также не расщепляются ферментами желудочнокишечного тракта человека.

Отсутствие в пище незаменимых аминокислот (даже одной) нарушает синтез практически всех белков, поскольку в состав большинства из них входит полный набор аминокислот. Белковое голодание приводит к необратимым нарушениям: циррозу печени, анемии, поражению почек, атрофии поджелудочной железы, нарушению функции нервной системы, синтеза пигментов, а у детей к задержке роста и умственного развития. Проявление всех этих нарушений в комплексе характерно для заболевания квашиоркор («золотой мальчик»), наблюдающегося у жителей Центральной Африки, питающихся практически исключительно растительной пищей.

7.2. ПЕРЕВАРИВАНИЕ БЕЛКОВ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ

В пищевых продуктах свободных аминокислот очень мало, они поступают в желудочнокишечный тракт в составе белков и становятся доступными только после их переваривания. В процессе переваривания происходит гидролиз пищевых белков до свободных аминокислот. Реакции расщепления пептидных связей катализируют ферменты пептидгидролазы (пептидазы). Они синтезируются в клетках желудка, поджелудочной железы и тонкой кишки. Переваривание белков начинается в полости желудка и продолжается в тонкой кишке (рис. 7.2).

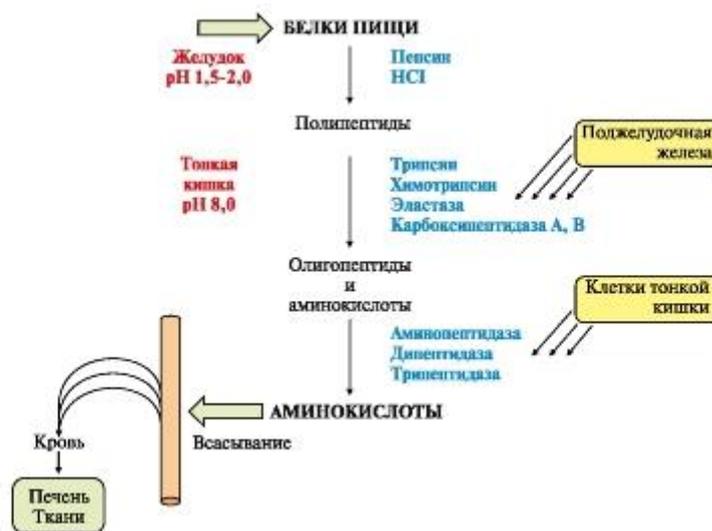


Рис. 7.2. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте

Пептидазы обладают относительной субстратной специфичностью, но при этом быстрее гидролизуют пептидные связи, образованные определенными аминокислотами. В зависимости от места расположения в пептиде гидролизуемой связи все пептидазы делятся на две группы:

- эндопептидазы расщепляют пептидные связи, удаленные от концов пептидной цепи (пепсин, трипсин, химотрипсин, эластаза);
- экзопептидазы действуют на пептидные связи, образованные N-концевыми (аминопептидаза) и C-концевыми (карбоксипептидаза А и В) аминокислотами.

Желудочные и панкреатические пептидазы синтезируются в секреторных клетках в неактивной форме в виде проферментов, выделяются к месту действия в просвет желудка или кишечника, где активируются путем частичного протеолиза (отщепление пептида различной длины с N-конца молекулы профермента), т.е. место синтеза проферментов (клетки слизистой оболочки желудка, поджелудочная железа) и место их активации (полость желудка или тонкой кишки) пространственно разделены. Такой механизм активации протеолитических ферментов защищает секреторные клетки желудка и поджелудочной железы от самопереваривания. Преждевременная активация проферментов в секреторных клетках наблюдается при:

- язве желудка - пепсиноген превращается в пепсин в клетках слизистой оболочки желудка;
- остром панкреатите - трипсиноген превращается в трипсин в клетках поджелудочной железы и активирует остальные панкреатические пептидазы.

Переваривание белков в желудке происходит под действием пепсина. Профермент пепсиноген вырабатывается главными клетками желудка и при поступлении пищи секретируется в полость желудка. В желудочном соке происходит его частичный протеолиз (отщепляется 42 аминокислоты от N-конца молекулы профермента) под действием HCl (медленно в начальный период пищеварения) или уже образовавшегося пепсина аутокаталитически (быстро, при поступлении в желудок основного количества пищи) (рис. 7.3).

В пищевых белках пепсин гидролизует связи, образованные аминокислотной группой ароматических аминокислот Фен и Тир, а также Глу и Асп с любой другой аминокислотой.

Желудочный сок в норме имеет pH 1,5-2,0, который обусловлен присутствием соляной кислоты (HCl). Она секретируется обкладочными клетками желудка. HCl выполняет следующие функции:

- денатурирует белки пищи;
- создает оптимум pH для пепсина;

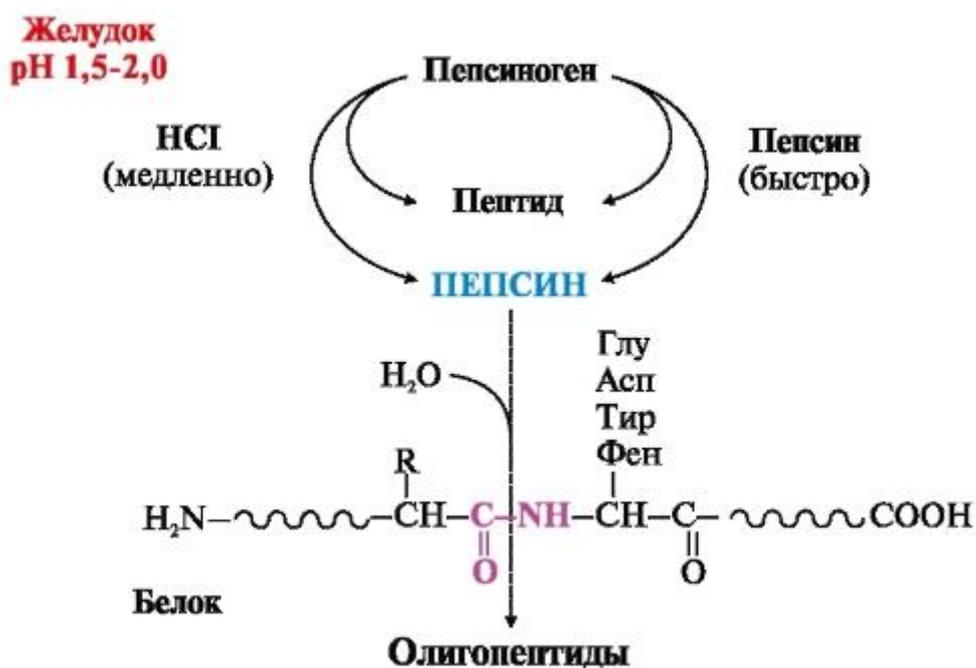


Рис. 7.3. Активация пепсиногена

- активирован пепсиноген путем частичного протеолиза;
- оказывает бактерицидное действие.

HCl и пепсин желудочного сока способны разрушать клетки эпителия желудка. Этому препятствуют:

- наличие на наружной поверхности мембран клеток слизистой оболочки гликолипидов и гликопротеинов, имеющих разветвленную структуру;
- образование слизи на поверхности оболочки желудка;
- секреция эпителиальными клетками ионов HCO_3^- , создающих в пристеночном слое среду рН 5,0-6,0;
- быстрая регенерация поврежденного эпителия.

В результате работы пепсина в желудке пищевые белки распадаются на олигопептиды, которые поступают в тонкую кишку, где процесс переваривания продолжается. В тонкой кишке среда приобретает значение рН $\sim 8,0$ благодаря



Рис. 7.4. Активация панкреатических пептидаз

поступлению с панкреатическим соком ионов HCO_3^- . Такая среда является оптимальной для всех ферментов, присутствующих в тонкой кишке.

Переваривание белков в кишечнике происходит под действием ферментов, которые синтезируются в клетках:

- поджелудочной железы - трипсина, химотрипсина, эластазы, карбоксипептидазы А и В;
- тонкой кишки - аминопептидазы, дипептидазы, трипептидазы.

Основной панкреатической пептидазой является трипсин, который выполняет две функции: участвует в гидролизе пищевых белков; активирует все остальные панкреатические пептидазы.

Трипсин синтезируется в поджелудочной железе в виде профермента трипсиногена. Активная форма трипсина образуется в кишечнике путем частичного протеолиза при участии энтеропептидазы (рис. 7.4). Энтеропептидаза отщепляет от N-конца трипсиногена гексапептид, что приводит к изменению конформации и формированию активного центра

трипсина. Таким образом активируется небольшая часть профермента. Основное количество фермента формируется аутокаталитически в результате действия уже активированного трипсина.

Остальные протеазы панкреатического сока (химотрипсिन, прокарбоксипептидаза, проэластаза) активируются трипсином также путем частичного протеолиза. Активация панкреатических пептидаз в кишечнике происходит при поступлении пищи очень быстро. Результатом совместной работы панкреатических ферментов является распад белков до ди- и трипептидов, свободных аминокислот и небольшого количества олигопептидов.

Завершение переваривания небольших фрагментов белков происходит в пристеночном слое либо уже в клетках кишечника после их

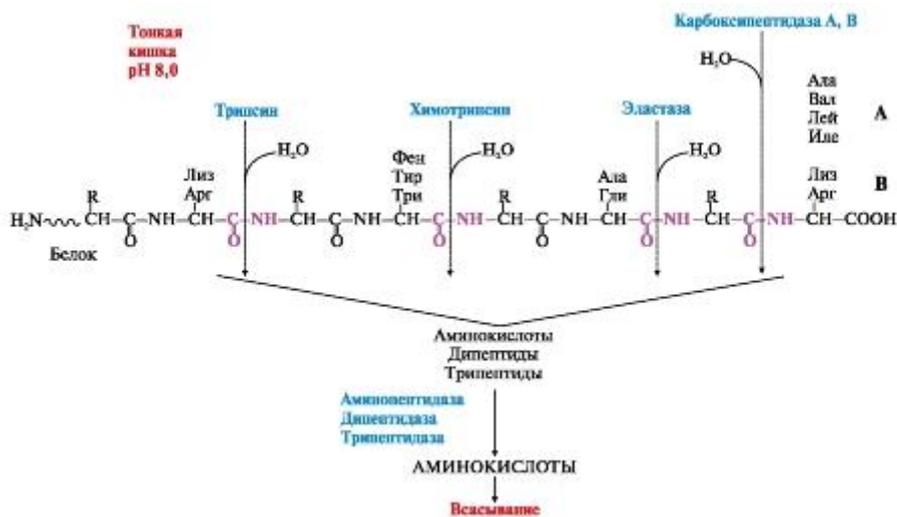


Рис. 7.5. Переваривание белков в кишечнике

Ферменты, переваривающие белки в кишечнике, обладают специфичностью к определенным аминокислотам:

- трипсин преимущественно гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильными группами катионогенных аминокислот Арг и Лиз;
- химотрипсин гидролизует пептидные связи ароматических аминокислот Фен, Тир и Три;
- эластаза гидролизует связи аминокислот Гли и Ала;
- карбоксипептидаза отщепляет С-концевые аминокислоты: карбоксипептидаза А - гидрофобные аминокислоты Ала, Вал, Лей, Иле, карбоксипептидаза В - Лиз и Арг;
- аминопептидаза отщепляет N-концевые аминокислоты;

- дипептидаза гидролизует дипептиды из двух любых аминокислот;
- трипептидаза гидролизует трипептиды

всасывания. Заключительный этап катализируют аминопептидазы, отщепляющие N-концевые аминокислоты, и ди- и трипептидазы, расщепляющие очень короткие пептиды. В результате образуются свободные аминокислоты, которые поступают в кровь воротной вены. Кишечные пептидазы синтезируются в энтероцитах сразу в активной форме.

Ферменты, участвующие в переваривании белков в кишечнике, как и пепсин желудочного сока, обладают специфичностью к определенным аминокислотам (рис. 7.5).

Конечным результатом переваривания белков в желудочно-кишечном тракте являются образование свободных аминокислот и поступление их в кровь. Аминокислоты, в отличие от белков пищи, лишены видовой специфичности и не обладают антигенными свойствами.

Всасывание аминокислот происходит путем активного транспорта с потреблением энергии, причем обнаружено несколько систем для их трансмембранного переноса как в кишечнике, так и в других тканях.

Из крови аминокислоты быстро поступают в клетки печени и других тканей (через 5 мин до 85-100%), причем скорость поглощения их клетками зависит от типа и потребностей ткани.

7.3. ТРАНСАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

В клетках аминокислоты используются для синтеза белков и различных биологически активных соединений или вступают в реакции катаболизма. Многие превращения аминокислот начинаются с отщепления α-аминогруппы от аминокислоты. Это происходит с помощью реакций трансаминирования и дезаминирования.

Трансаминирование - реакция переноса аминогруппы с аминокислоты (донор) на α-кетокислоту

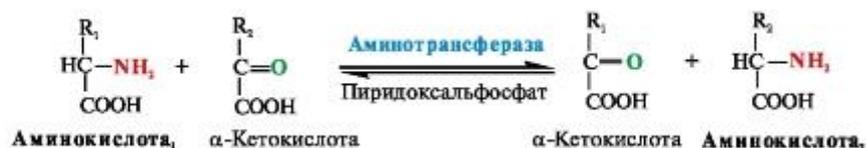


Рис. 7.6. Реакция трансаминирования

(акцептор) с образованием новой α -кетокислоты и новой аминокислоты (рис. 7.6). Реакция обратима.

Реакции трансаминирования протекают с участием ферментов аминотрансфераз (трансаминаз), которые локализованы в цитозоле и митохондриях клеток. В реакции участвует производное витамина В₆ - кофермент пиридоксальфосфат (ПФ) (рис. 7.7).

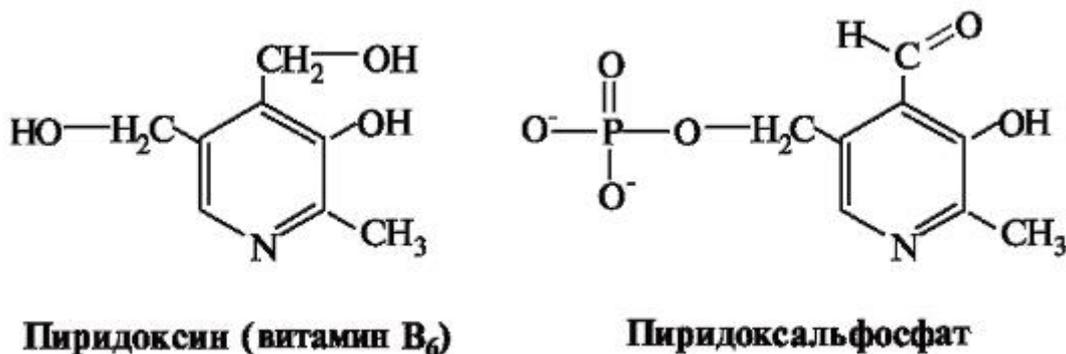


Рис. 7.7. Структурные формулы пиридоксина (витамин В₆) и кофермента пиридоксальфосфата

Пиридоксальфосфат является простетической группой аминотрансфераз, так как связан с лизином в активном центре фермента прочной альдиминной связью.

Трансаминированию подвергаются все аминокислоты, кроме лизина, треонина и пролина. Наиболее активно идут реакции с участием аминокислот, содержание которых в тканях значительно выше остальных - глутамата, аланина, аспартата и соответствующих им кетокислот - α -кетоглутарата, пирувата и оксалоацетата, причем основным донором аминогруппы является глутамат, а в качестве основного акцептора аминогруппы выступает α -кетоглутарат (α -КГ).

Суммарно реакцию трансаминирования можно представить в виде схемы (рис. 7.8).

Аминотрансферазы обладают субстратной специфичностью к определенным аминокислотам. Известно более 10 аминотрансфераз.

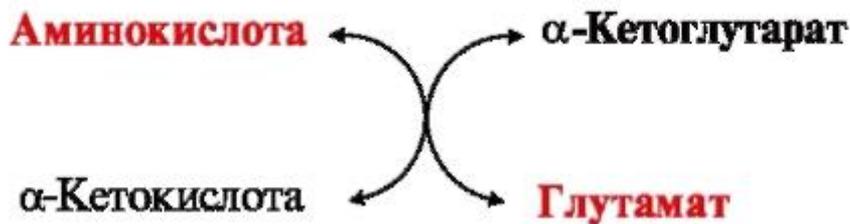


Рис. 7.8. Трансаминирование аминокислот

Название каждого фермента включает названия обоих субстратов: донора аминогруппы (аминокислоты) и акцептора аминогруппы (α-кетокислоты). Наиболее важны с медицинской точки зрения ферменты аспаратаминотрансфераза (АСТ) и аланинаминотрансфераза (АЛТ), катализирующие реакции 1 и 2 (рис. 7.9), так как их активность в тканях выше активности остальных трансаминаз и они обладают органоспецифичностью.

Фермент, катализирующий реакцию 1, называется аспаратаминотрансферазой (АСТ). Обычно второй субстрат из названия фермента исключается, если им является α-кетоглутарат - основной акцептор аминогрупп в организме. Так как реакция трансаминирования обратима, по субстратам обратной реакции этот же фермент носит название глутамат-оксалоацетатаминотрансферазы (ГОТ).

Реакцию 2 трансаминирования между аланином и α-кетоглутаратом катализирует фермент аланинаминотрансфераза (АЛТ), причем по субстратам обратной реакции ему можно дать название глутамат-пируватаминотрансферазы (ГПТ). АЛТ обладает способностью к регуляции. Так, при длительном голодании количество АЛТ в клетках увеличивается, поскольку гормон кортизол индуцирует синтез этого фермента. Вероятно, это связано с тем, что аланин продуцируется многими тканями и транспортируется кровью в печень, где используется в глюконеогенезе и поэтому считается основной гликогенной аминокислотой. Кроме того, аланин используется для переноса азота аминокислот в печень.

Реакции трансаминирования выполняют важные физиологические функции, так как с их помощью:

- из α-кетокислот синтезируются аминокислоты, необходимые для существования клеток;
- происходит перераспределение аминного азота в тканях и органах;

- начинается катаболизм большинства аминокислот - первая стадия непрямого дезаминирования. Образующиеся α-кетокислоты вступают в общий путь катаболизма и используются в глюконеогенезе.

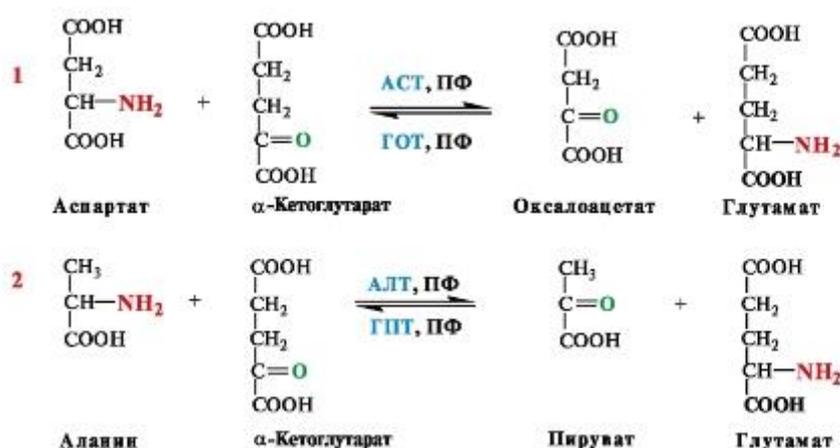


Рис. 7.9. Реакции трансаминирования

1 - реакцию трансаминирования катализирует АСТ; 2 - реакцию катализирует АЛТ

Аминотрансферазы АЛТ и АСТ присутствуют во многих тканях, но наиболее активны в клетках печени и миокарда. АЛТ локализована в цитозоле клеток, а АСТ - в цитозоле и митохондриях. В печени более активно трансаминируется аланин, а скорость трансаминирования аспартата ниже; в миокарде, наоборот, активность АСТ выше, чем АЛТ. Оба фермента практически отсутствуют в крови здорового человека. Так, активность АСТ в крови в норме составляет

8-40 ед/л, АЛТ - 5-30 ед/л.

Высокая активность ферментов в крови человека свидетельствует о воспалительных явлениях или некрозе ткани соответствующего органа, что дает возможность использовать определение активности АСТ и АЛТ для дифференциальной диагностики заболеваний печени сердца. Обычно определяют соотношение АСТ/АЛТ в сыворотке крови (коэффициент де Ритиса). В норме коэффициент де Ритиса составляет - $1,33 \pm 0,42$.

При гепатите в первые сутки заболеваний активность АЛТ увеличивается до 600-800 ед/л, а АСТ - до 300-400 ед/л (рис. 7.10). Коэффициент де Ритиса уменьшается до -0,6. Снижение коэффициента де Ритиса наблюдается при безжелтушных формах вирусного гепатита, токсических поражениях печени и др. При циррозе коэффициент де Ритиса составляет -1,0 вследствие

развивающегося некроза тканей и поступления в кровь обеих фракций фермента АСТ - и цитоплазматической, и митохондриальной.

При инфаркте миокарда активность АСТ увеличивается до 400-500 ед/л, а АЛТ - до 150- 200 ед/л (рис. 7.11). Коэффициент де Ритиса значительно увеличивается. А при стенокардии, пороках сердца, инфаркте легкого активность аминотрансфераз в крови не изменяется.

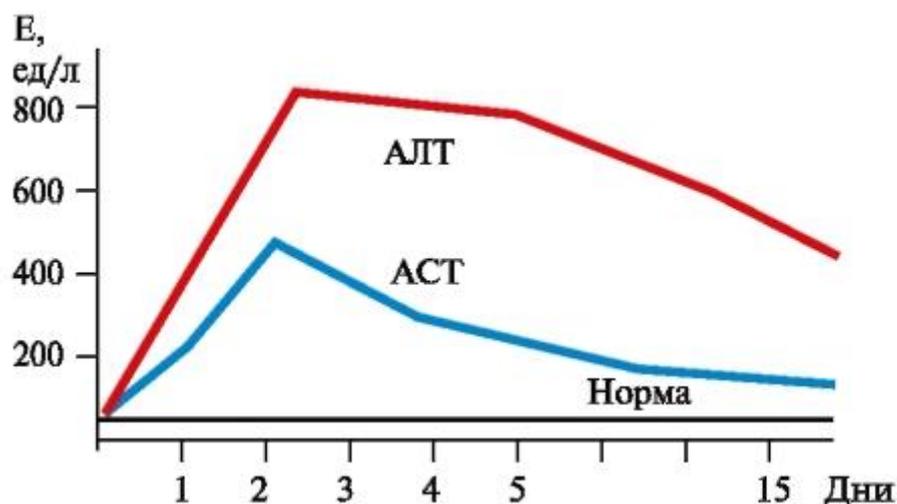


Рис. 7.10. Активность (Е) аминотрансфераз сыворотки крови при остром гепатите

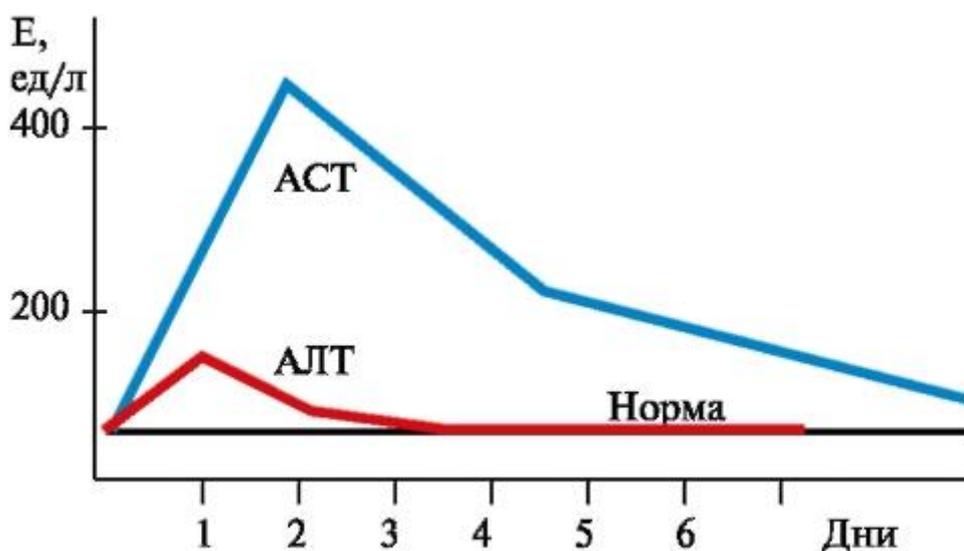


Рис. 7.11. Активность (Е) аминотрансфераз сыворотки крови при инфаркте миокарда

7.4. ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

Деаминация - отщепление α -аминогруппы в виде молекулы аммиака (рис. 7.12). В отличие от трансаминации, при деаминации общее количество аминокислот уменьшается, поэтому эти реакции можно рассматривать как путь катаболизма, общий для всех аминокислот.

Ускорение реакций деаминации аминокислот обычно сопровождается процессом расщепления белков в организме (протеолиз) и происходит при голодании, когда идет распад тканевых белков; сахарном диабете и других длительных тяжелых заболеваниях, также сопровождающихся распадом тканевых белков; поступлении с пищей больших количеств белка, так как аминокислоты не имеют какой-либо формы депонирования в организме.

Деаминации подвергаются все аминокислоты, кроме лизина.

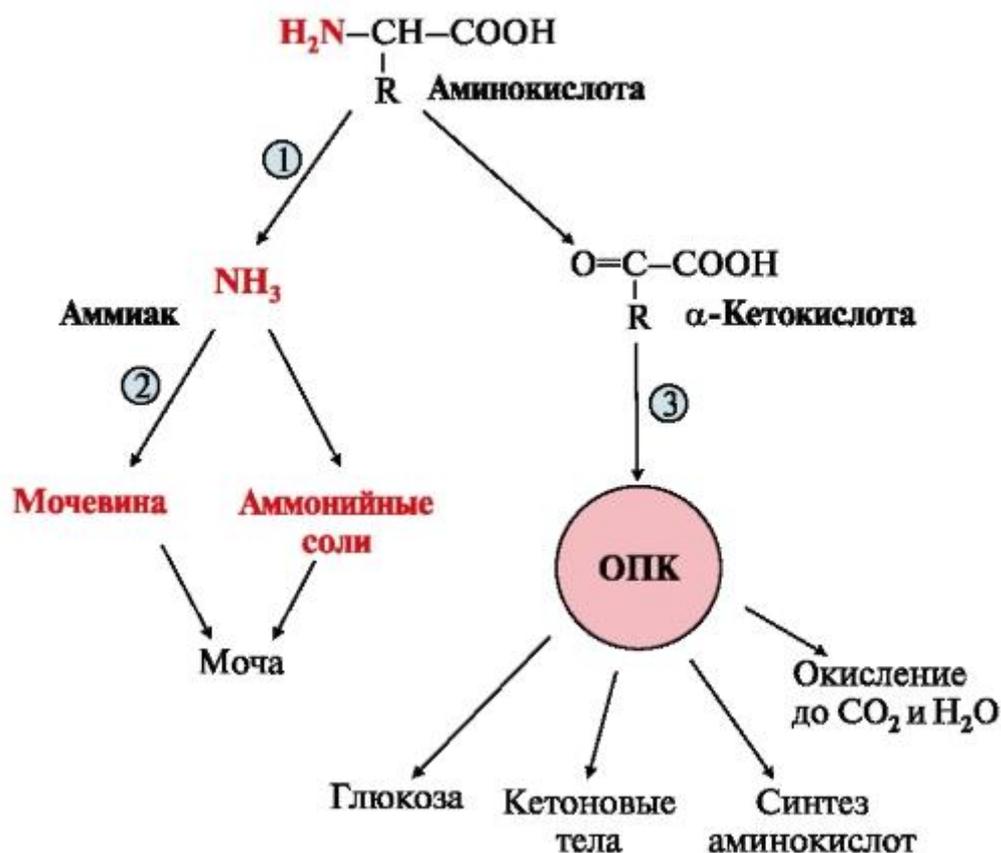


Рис. 7.12. Основные этапы катаболизма аминокислот

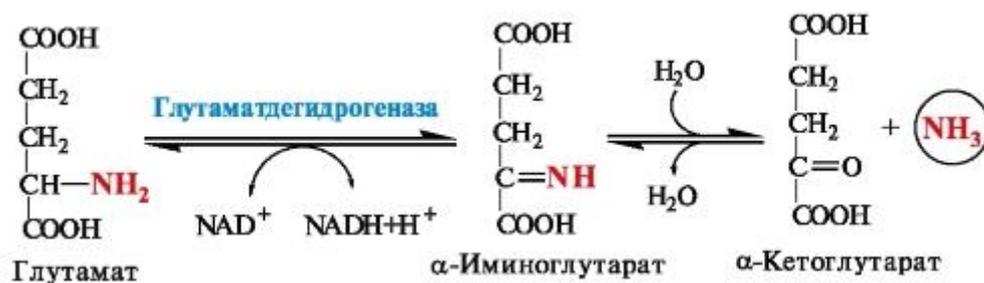


Рис. 7.13. Реакция окислительного дезаминирования глутамата

В процессе катаболизма аминокислот можно выделить три этапа:

- дезаминирование аминокислот;
- обезвреживание аммиака и образование конечных продуктов азотистого обмена;
- включение α -кетокислот в ОПК.

В ходе реакции α -аминогруппа аминокислот отщепляется в виде аммиака (1), который оказывает токсическое действие и в клетках подвергается обезвреживанию (2). Аммиак превращается в мочевины или аммонийные соли, которые экскретируются из организма. Безазотистый остаток аминокислоты представляет собой α -кетокислоту, которая включается в ОПК (3) и используется в трансаминировании для синтеза аминокислот, реакциях восполнения убыли метаболитов ОПК, используемых для синтеза других соединений, глюконеогенезе, кетогенезе, реакциях окисления до CO_2 и H_2O с образованием АТФ.

Существует несколько видов реакций дезаминирования: окислительное для Глу, неокислительное для Сер и Тре, внутримолекулярное для Гис, не прямое (трансдезаминирование) для всех остальных аминокислот.

Окислительному дезаминированию подвергается только глутамат (глутаминовая кислота). Реакцию катализирует фермент глутаматдегидрогеназа в присутствии кофермента NAD^+ (рис. 7.13).

Глутаматдегидрогеназа - один из самых распространенных ферментов, содержится в митохондриях многих тканей, наиболее активна - в печени.

Окислительное дезаминирование глутамата происходит в две стадии: первая - ферментативная, представляет собой реакцию дегидрирования аминогруппы глутамата с образованием α -иминоглутарата; вторая - самопроизвольный гидролиз, в ходе которого происходит отщепление иминогруппы с образованием α -кетоглутарата и молекулы аммиака.

Обе стадии реакции обратимы. Поэтому при увеличении в клетках концентрации аммиака

могут происходить восстановительное аминирование α -кетоглутарата и образование глутамата. Активность глутаматдегидрогеназы высокая во всех тканях, но в мышцах она недостаточна для поддержания катаболизма аминокислот на нужном уровне.

Глутаматдегидрогеназа является важнейшим регуляторным ферментом аминокислотного обмена (рис. 7.14). Она представляет собой большой олигомерный белок и состоит из 6 субъединиц, способных диссоциировать, что вызывает потерю активности. Аллостерическими ингибиторами фермента являются АДФ, ГТФ и NADH. Высокие концентрации АДФ и NAD^+ и некоторых аминокислот, наоборот, повышают активность глутаматдегидрогеназы. Таким образом, низкий энергетический заряд клеток стимулирует катаболизм аминокислот и образование α -кетоглутарата, который в свою очередь используется в ЦТК как энергетический субстрат.

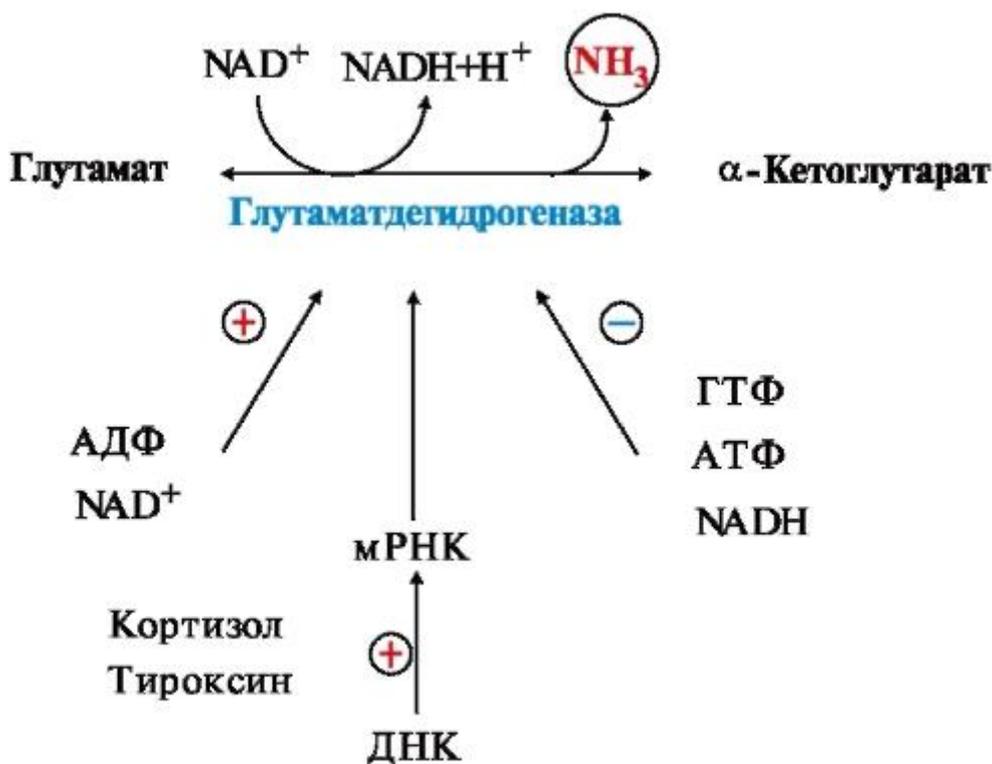


Рис. 7.14. Регуляция глутаматдегидрогеназы

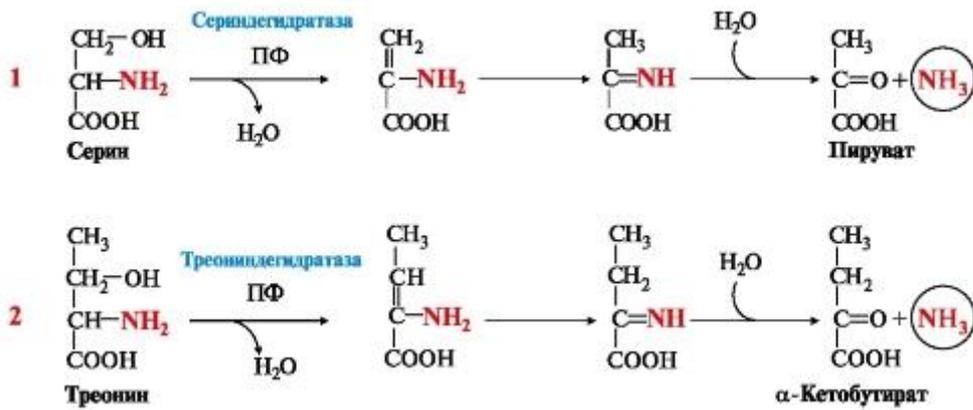


Рис. 7.15. Реакция неокислительного дезаминирования серина (1) и треонина (2)

При длительном голодании количество глутаматдегидрогеназы увеличивается, что свидетельствует об усилении катаболизма аминокислот, освобождающихся в результате протеолиза тканевых белков. Известно, что синтез фермента способны индуцировать некоторые стероидные гормоны (вероятно, кортизол) и тироксин.

Неокислительное дезаминирование гидроксиаминокислот серина и треонина происходит с отщеплением молекулы воды под действием соответствующих дегидратаз (сериндегидратазы и треониндегидратазы соответственно). Коферментом обеих дегидратаз служит пиридоксальфосфат. При этом из серина образуется иминокислота, которая затем неферментативно с участием молекулы H_2O распадается на аммиак и пируват (рис. 7.15, реакция 1).

Механизм неокислительного дезаминирования треонина аналогичен (см. рис. 7.15, реакция 2).

Внутримолекулярное дезаминирование гистидина происходит под действием гистидазы (гистидинаммиаклиазы) (рис. 7.16).

Фермент отщепляет молекулу аммиака, при этом образуется уроканиновая кислота, имеющая двойную связь в боковой цепи. Гистидин дезаминируется только в печени и коже человека, в крови гистидаза отсутствует. Поэтому при заболеваниях этих органов наблюдается выход гистидазы



Рис. 7.16. Реакция внутримолекулярного дезаминирования гистидина в кровь. Определение ее активности имеет важное диагностическое значение при вирусных и токсических поражениях печени, раке печени и кожи.

Большинство аминокислот подвергается в клетках непрямому дезаминированию (трансдезаминированию). Непрямое дезаминирование бывает двух типов.

- Непрямое окислительное дезаминирование происходит с участием двух ферментов во всех тканях (рис. 7.17). Можно выделить два этапа:

- на первом этапе в цитозоле клеток происходит реакция трансаминирования аминокислоты с α -кетоглутаратом, которую катализирует соответствующая аминотрансфераза в присутствии пиридоксальфосфата. При этом аминогруппа попадает в состав глутамата;
- второй этап представляет собой реакцию окислительного дезаминирования глутамата в митохондриях под действием глутаматдегидрогеназы. В результате опять формируется α -кетоглутарат, а аминогруппа выделяется в виде аммиака (NH_3);

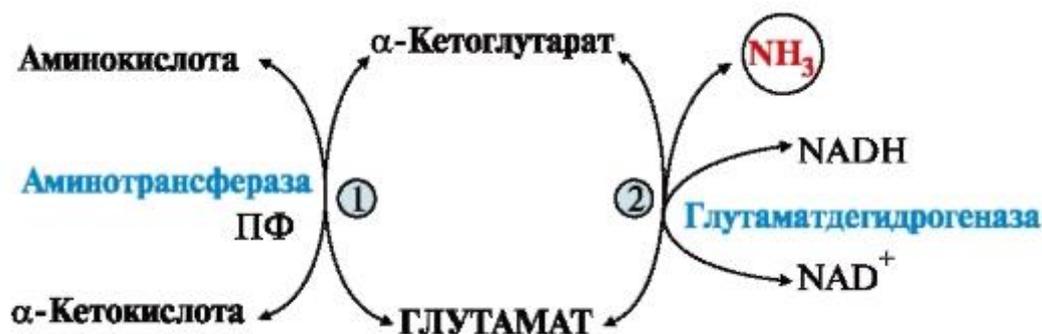


Рис. 7.17. Схема непрямого дезаминирования аминокислот

- центральную роль в непрямом дезаминировании играют глутамат и α -кетоглутарат. - Непрямое неокислительное дезаминирование сопряжено с циклом ИМФ-АМФ. Этот тип реакции активно происходит в мышечной ткани, где содержание глутаматдегидрогеназы низкое.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выберите правильные ответы.

Полноценность белкового питания обусловлена:

- А. Присутствием в пище растительных белков.
- Б. Наличием в пищевых белках всех незаменимых аминокислот.
- В. Способностью белков пищи перевариваться в желудочно-кишечном тракте.
- Г. Наличием в пищевых белках условно заменимых аминокислот.
- Д. Присутствием в пище белков животного происхождения.

2. Выберите правильный ответ.

Суточная норма потребления белков составляет:

- А. 500 г.
- Б. 60-100 мг/дл.
- В. 100 г. Г. 400 г.
- Д. 35-65 мг/дл.

3. Выполните «цепное» задание.

а) Напишите формулу пептида:

Ала-Лиз-Тре-Фен-Глу-Вал

б) Выберите правильный ответ. Переваривание пептида в желудке будет происходить под действием фермента:

- А. Трипсина. Б. Пепсина.
- В. Химотрипсина. Г. Эластазы.
- Д. Карбоксипептидазы А.

в) профермент этого фермента активируется путем:

- А. Фосфорилирования/дефосфорилирования.
- Б. Частичного протеолиза.
- В. Белок-белкового взаимодействия. Г. Аллостерической регуляции.
- Д. Индукции синтеза.

г) этот способ активации сопровождается:

А. Изменением четвертичной структуры фермента.

Б. Кооперативными конформационными изменениями фермента.

В. Увеличением количества фермента.

Г. Изменением первичной структуры фермента.

Д. Присоединением к ферменту молекулы другого белка.

4. Заполните таблицу (таблица 7.1.).

5. Выберите правильный ответ.

К группе экзопептидаз относится фермент:

А. Пепсин. Б. Трипсин.

В. Эластаза.

Г. Химотрипсин.

Д. Карбоксипептидаза.

Таблица 7.1

Пептидазы желудочно-кишечного тракта

Место синтеза	Активный фермент	Профермент	Активатор	Место действия	Оптимальный pH
Желудок					
Поджелудочная железа					
Тонкая кишка					

6. Выберите правильный ответ.

При переваривании белков в желудочно-кишечном тракте:

А. Химотрипсин в желудке гидролизует пептидные связи пищевых белков.

Б. Пепсин активируется энтеропептидазой.

В. Трипсин отщепляет С-концевую аминокислоту пептида.

Г. Пепсин вырабатывается поджелудочной железой.

Д. Трипсин активирует все панкреатические проферменты.

7. Выполните «цепное» задание.

а) Наиболее активно в тканях происходит реакция трансминирования между:

А. Ала + α -КГ. Б. Лиз + α -КГ.

В. Сер + α -КГ. Г. Лей + α -КГ. Д. Тре + α -КГ.

б) эту реакцию катализирует фермент:

А. Лейцинаминотрансфераза. Б. Треониндегидратаза.

В. АЛТ. Г. АСТ.

Д. Лизилоксидаза.

в) определение активности указанного фермента в сыворотке крови проводится для диагностики заболеваний:

А. Печени. Б. Почек.

В. Нервной системы. Г. Легких.

Д. Кожи.

г) напишите формулами реакцию трансминирования между выбранными субстратами, назовите кофермент.

8. Выберите правильный ответ.

Снижение скорости трансминирования аминокислот происходит при гиповитаминозе:

А. В₁. Б. В₂.

В. В₆. Г. Н.

Д. РР.

9. Выберите правильный ответ.

Для дезаминирования большинства аминокислот характерно:

А. Сочетанное действие аминотрансферазы и глутаматдегидрогеназы.

Б. Образование аммиака в результате действия аминотрансферазы.

В. Увеличение общего количества свободных аминокислот.

Г. Неокислительное дезаминирование. Д. Использование этой реакции как для синтеза, так и для катаболизма аминокислот.

10. Выберите правильный ответ.

а) непрямому дезаминированию подвергается:

А. Лей. Б. Тре.

В. Гис. Г. Лиз.

Д. Сер.

б) напишите реакцию дезаминирования выбранной аминокислоты.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Гиповитаминоз В₆ на фоне белкового голодания приводит к развитию гингивита, стоматита и других заболеваний десен и слизистой оболочки полости рта, снижению скорости синтеза белков в клетках. Объясните, как изменится азотистый баланс. Для этого:

а) дайте определение азотистого баланса;

б) перечислите аминокислоты, недостаток которых будет снижать скорость синтеза белка;

в) предположите, скорость каких реакций снизится в организме при гиповитаминозе В₆, напишите формулами реакцию с участием аспартата, назовите фермент, кофермент.

2. При хронических воспалительно-дистрофических заболеваниях поджелудочной железы, желудка или кишечника для улучшения пищеварения больным назначают препарат мезим форте (панкреатин), содержащий ферменты поджелудочной железы. Объясните механизм лечебного действия этого препарата. Для этого:

а) перечислите ферменты, переваривающие белки в желудочно-кишечном тракте;

б) выделите в отдельные группы эндо- и экзопептидазы;

в) назовите механизм активации желудочной и панкреатических пептидаз;

г) напишите схемы реакций активации этих ферментов, укажите активаторы.

3. Гормон кортизол при длительном голодании индуцирует в печени синтез фермента АЛТ. Объясните биологическое значение ускорения синтеза фермента. Для этого:

а) напишите реакцию, которую катализирует этот фермент;

- б) дайте его полное название, укажите кофермент;
- в) укажите, какую функцию выполняют реакции подобного типа в организме человека при голодании;
- г) назовите, при каких заболеваниях в крови человека повышается активность этого фермента при нормальном питании, укажите, соотношение активности каких ферментов определяется для диагностики.

4. В ходе формирования эмали клетками энамелобластами сначала образуется белковый матрикс, который затем минерализуется. В процессе созревания эмали часть белков разрушается, образующиеся аминокислоты подвергаются катаболизму. Зрелая эмаль в результате содержит в 20 раз меньше белков. Опишите этапы катаболизма энамелинов (белков эмали). Для этого:

- а) укажите класс и подкласс ферментов, участвующих в разрушении энамелинов;
- б) назовите, какая реакция является начальным этапом катаболизма аминокислот, перечислите типы таких реакций;
- в) напишите формулами специфические реакции катаболизма глутамата, серина, гистидина, аланина, укажите ферменты и коферменты.

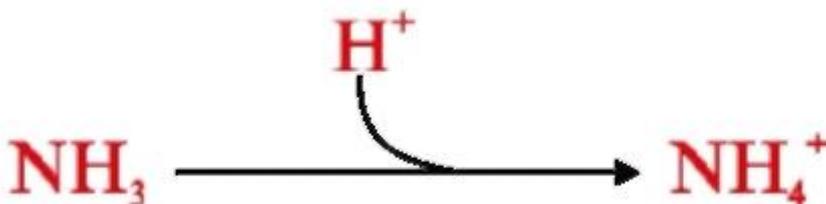
7.5. ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ АММИАКА В ТКАНЯХ

Аммиак образуется в тканях при распаде азотсодержащих соединений - аминокислот, нуклеотидов, нейромедиаторов (биогенных аминов) или в кишечнике при гниении белков в результате воздействия бактерий, откуда он поступает в кровь воротной вены. Однако основным источником аммиака является катаболизм аминокислот (рис. 7.18).

Дезаминирование аминокислот и образование аммиака происходят во всех тканях. В клетках аммиак включается в другие соединения - глутамин и аланин. Небольшая часть аммиака попадает в кровь в свободном виде, поступая через мембраны путем простой диффузии. Содержание аммиака в крови очень низкое и в норме составляет 0,04-0,07 мг/дл (0,025-0,040 ммоль/л).



Рис. 7.18. Источники и продукты обезвреживания аммиака в организме
 В жидких средах (кровь и цитозоль) аммиак образует ион аммония NH_4^+ :



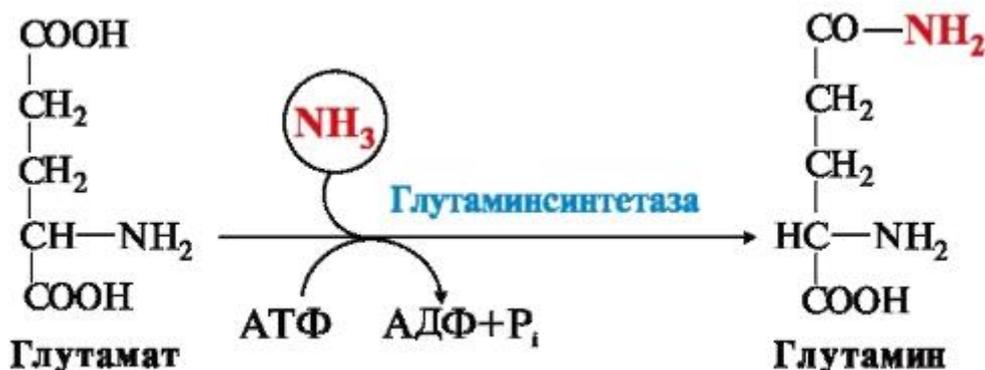
В ионизированную форму переходит до 99% аммиака, и только -1% его остается в свободном виде. Это делает невозможным поступление ионов аммония в клетки, так как мембраны для него практически непроницаемы.

Образованный в клетках аммиак связывается (обезвреживается) и выводится почками в виде конечных продуктов азотистого обмена:

- мочевины - синтезируется в печени;
- аммонийных солей - образуются в почках.

В разных тканях существует несколько способов связывания (обезвреживания) и выведения аммиака (см. рис. 7.18).

Универсальным механизмом обезвреживания аммиака является синтез глутамина под действием глутаминсинтетазы, который происходит во всех тканях организма:



Глутаминсинтетаза обладает высоким сродством к аммиаку. Фермент локализован в митохондриях клеток, для его работы необходим кофактор - ионы Mg^{2+} .

Глутамин является нейтральной аминокислотой, переносится через клеточные мембраны

путем облегченной диффузии и поступает из тканей в кровь в больших количествах. Концентрация глутамина в крови очень высокая и может достигать $7,0 \pm 2,0$ мг/дл, что превышает содержание других аминокислот. Основными поставщиками глутамина являются мышцы и мозг. Из крови глутамин поглощается преимущественно почками и клетками кишечника.

В почках происходит гидролиз глутамина под действием фермента глутаминазы с образованием аммиака. Эта реакция важна как механизм регуляции кислотно-щелочного баланса в организме и сохранения важнейших катионов для поддержания осмотического давления. Синтез глутаминазы почек индуцируется при ацидозе, образующийся аммиак нейтрализует кислые продукты обмена и в виде аммонийных солей экскретируется с мочой (рис. 7.19). Таким образом организм защищается от излишней потери ионов Na^+ и K^+ , которые также могут использоваться для выведения анионов и утрачиваться. В норме в почках образуется и выводится около 0,5 г солей аммония в сутки, а при ацидозе это количество может возрасти до 10 г/сут. При алкалозе активность глутаминазы в почках снижается, что приводит к существенному уменьшению количества выводимых аммонийных солей.

В клетках кишечника также под действием глутаминазы происходит гидролитическое освобождение амидного азота в виде аммиака.

Образовавшийся аммиак частично (-5%) удаляется через кишечник, небольшая его часть через воротную вену попадает в печень, остальные -90% поступают в почки и выводятся оттуда в виде солей аммония. Глутамат подвергается трансаминированию с пируватом под действием АЛТ.

Аминогруппа



Рис. 7.19. Роль глутаминазы в поддержании кислотно-щелочного баланса в почках

при этом включается в состав аланина, который поступает из кишечника в кровь воротной вены и поглощается печенью (рис. 7.20).

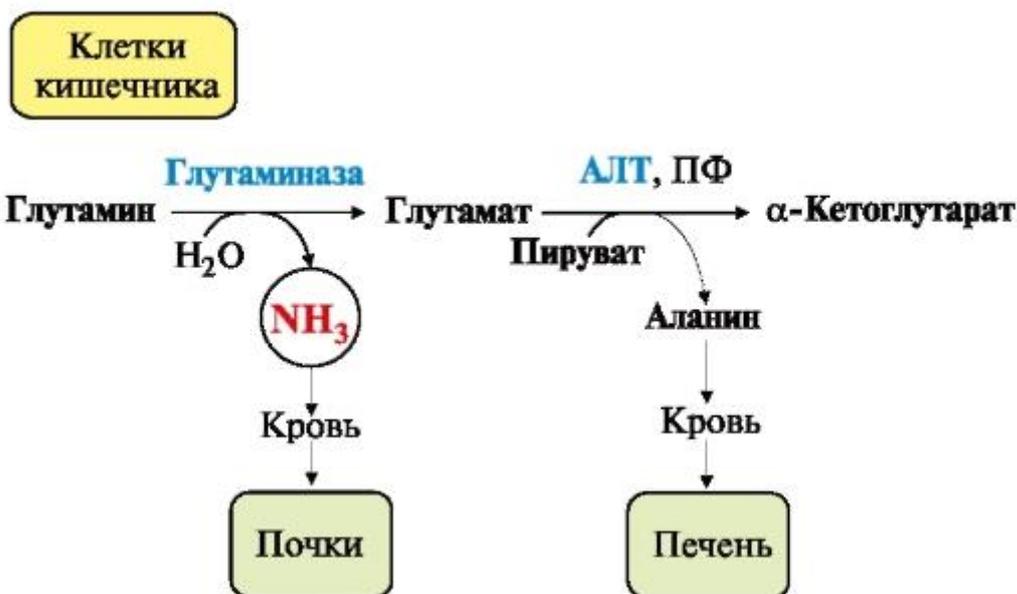


Рис. 7.20. Метаболизм глутамина в клетках кишечника

Таким образом, глутамин является основной транспортной формой аммиака, так как способен легко проникать через клеточные мембраны. Высокий уровень этой аминокислоты в крови и легкость поступления в клетки позволяют использовать ее во многих анаболических процессах. Глутамин можно считать основным донором азота в организме. Амидный азот глутамина используется для синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, аспарагина, аминоксахаров (аминогликана) и других соединений (рис. 7.21).



Рис. 7.21. Биологическая роль глутамина

В мозге и некоторых других органах обезвреживание аммиака происходит путем восстановительного аминирования α -кетоглутарата, катализируемого глутаматдегидрогеназой. Однако эта реакция идет с незначительной скоростью, так как глутаматдегидрогеназа в тканях используется преимущественно для непрямого дезаминирования аминокислот.



Из мышц и некоторых других тканей избыток азота может выводиться в составе аланина (рис 7.22), так как глутаматдегидрогеназа синтезируется в мышцах в количествах, недостаточных для полного обеспечения катаболизма аминокислот, но высока активность АЛТ.

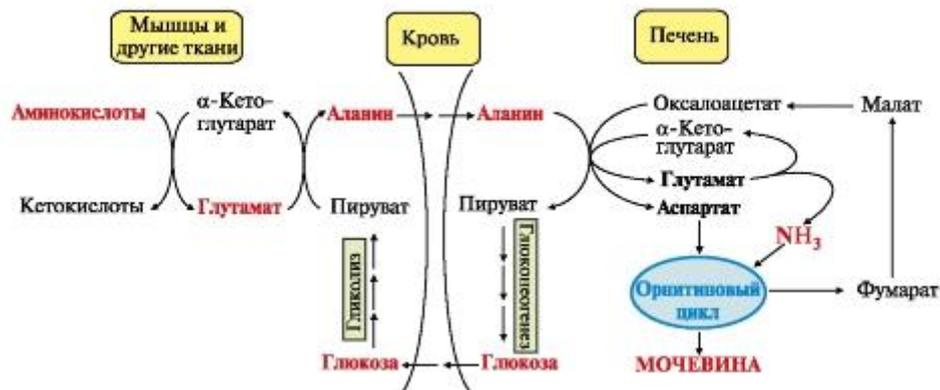


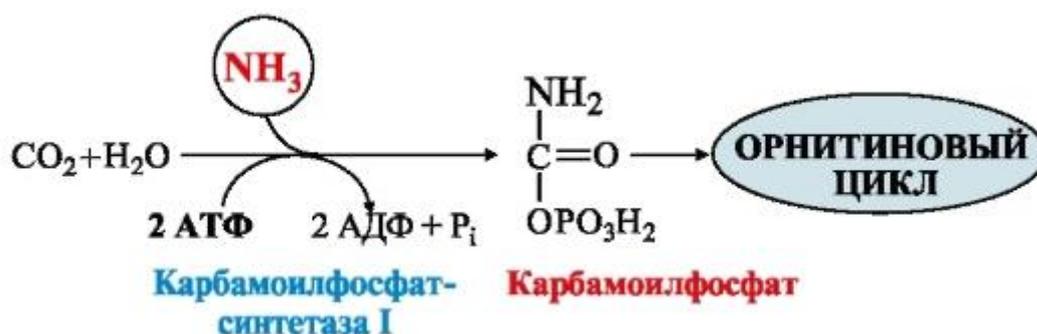
Рис. 7.22. Глюкозоаланиновый цикл

- В мышцах интенсивно происходит трансаминирование аминокислот с пируватом, который является продуктом катаболизма глюкозы или безазотистых остатков аминокислот, образуется аланин.

- Образующийся аланин в больших количествах выходит из клеток в кровь. Мышцы выделяют много аланина, так как имеют большую массу и активно используют гликолиз.
- Аланин поступает в гепатоциты, где подвергается непрямому дезаминированию.
- Выделившийся аммиак превращается в мочевины в орнитинном цикле, а пируват включается в глюконеогенез.
- Синтезированная глюкоза из печени поступает в ткани и вновь включается в гликолиз

Таким образом, выделение аланина служит дополнительным механизмом выведения азота аминокислот из клеток. Образование аланина в мышцах, его перенос в печень для синтеза глюкозы, а также поступление глюкозы, синтезированной в печени, в обратном направлении составляют глюкотоаланиновый цикл (см. рис. 7.22). Работа этого цикла сопряжена с глюкотолактатным циклом (циклом Кори).

В печени аммиак образуется непосредственно при дезаминировании аминокислот и гидролизе глутамина глутаминазой, часть его поступает с кровью воротной вены из кишечника. В гепатоцитах аммиак связывается с CO_2 с образованием карбамоилфосфата. Реакцию катализирует карбамоилфосфатсинтетаза I, которая использует 2 моль АТФ. Продукт реакции - карбамоилфосфат - используется затем в орнитинном цикле Кребса-Гензелейта для синтеза мочевины.



7.6. СИНТЕЗ МОЧЕВИНЫ (ОРНИТИНОВЫЙ ЦИКЛ КРЕБСА)

Азот удаляется из организма преимущественно почками в виде растворимых соединений: мочевины, аммонийных солей, креатинина и солей мочевой кислоты - уратов (рис. 7.23). При этом основным конечным продуктом азотистого обмена является мочевины, в составе которой из

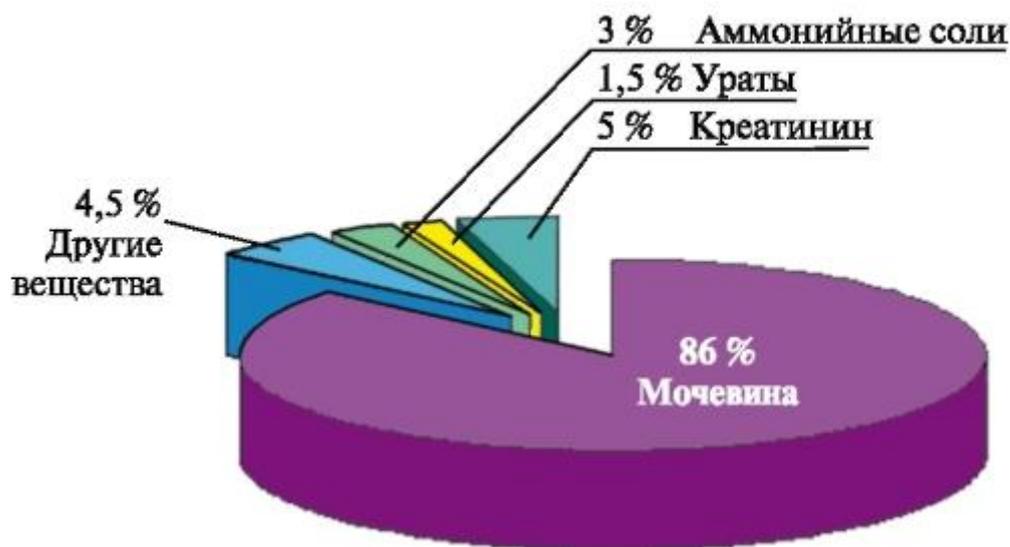


Рис. 7.23. Экскреция конечных продуктов азотистого обмена почками при нормальном белковом питании

организма выделяется до 90% всего выводимого азота. Экскреция мочевины составляет -25 г/сут при нормальном питании и повышается при увеличении количества белка в пище.

Мочевина синтезируется только в печени, что было установлено еще в опытах И.П. Павлова. В 40-х годах XX в. немецкие биохимики Г. Кребс и К. Гензелейт установили, что синтез мочевины представляет собой циклический процесс, состоящий из нескольких стадий, ключевым соединением которого, замыкающим цикл, является α -аминокислота орнитин. Поэтому процесс синтеза мочевины получил название орнитинового цикла или цикла Кребса-Гензелейта

(рис. 7.24).

Мочевина (карбамид) - полный амид угольной кислоты, содержит 2 атома азота. Источником одного является аммиак, который в печени связывается с диоксидом углерода с образованием карбамоилфосфата под действием карбамоилфосфатсинтетазы I (см. рис. 7.24, реакция 1). Фермент является Mg^{2+} -зависимым и локализован в матриксе митохондрий.

Далее (реакция 2) под действием орнитинкарбамоилтрансферазы карбамоильная группа переносится на орнитин и образуется α -аминокислота цитруллин. С помощью белка-переносчика цитруллин поступает в цитозоль, где и происходят остальные реакции цикла.

В реакции 3 аргининосукцинатсинтетаза связывает цитруллин с аспартатом и образует аргининосукцинат (аргининоянтарную кислоту). Этот фермент также нуждается в ионах Mg^{2+} . В реакции затрачивается 1 моль АТФ, но используется энергия 2 макроэргических связей и образуются АМФ и пиррофосфат. Аспартат поставляет второй атом азота в молекулу мочевины.

Затем (реакция 4) фермент аргининосукцинатлиаза расщепляет аргининосукцинат на аргинин и фумарат, аминогруппа аспартата при этом остается в молекуле аргинина.

Аргинин под действием аргиназы подвергается гидролизу (реакция 5) с образованием орнитина и мочевины. Кофакторами аргиназы являются ионы Ca^{2+} или Mn^{2+} . Высокие концентрации орнитина и лизина, являющихся структурными аналогами аргинина, способны подавлять активность этого фермента. Образующийся орнитин транспортируется в матрикс митохондрии, где взаимодействует с новой молекулой карбамоилфосфата, и цикл замыкается.

Таким образом, в синтезе мочевины участвуют ферменты, локализованные в цитозоле и митохондриях гепатоцитов. Первые две реакции происходят в матриксе митохондрий, последующие превращения - в цитозоле.

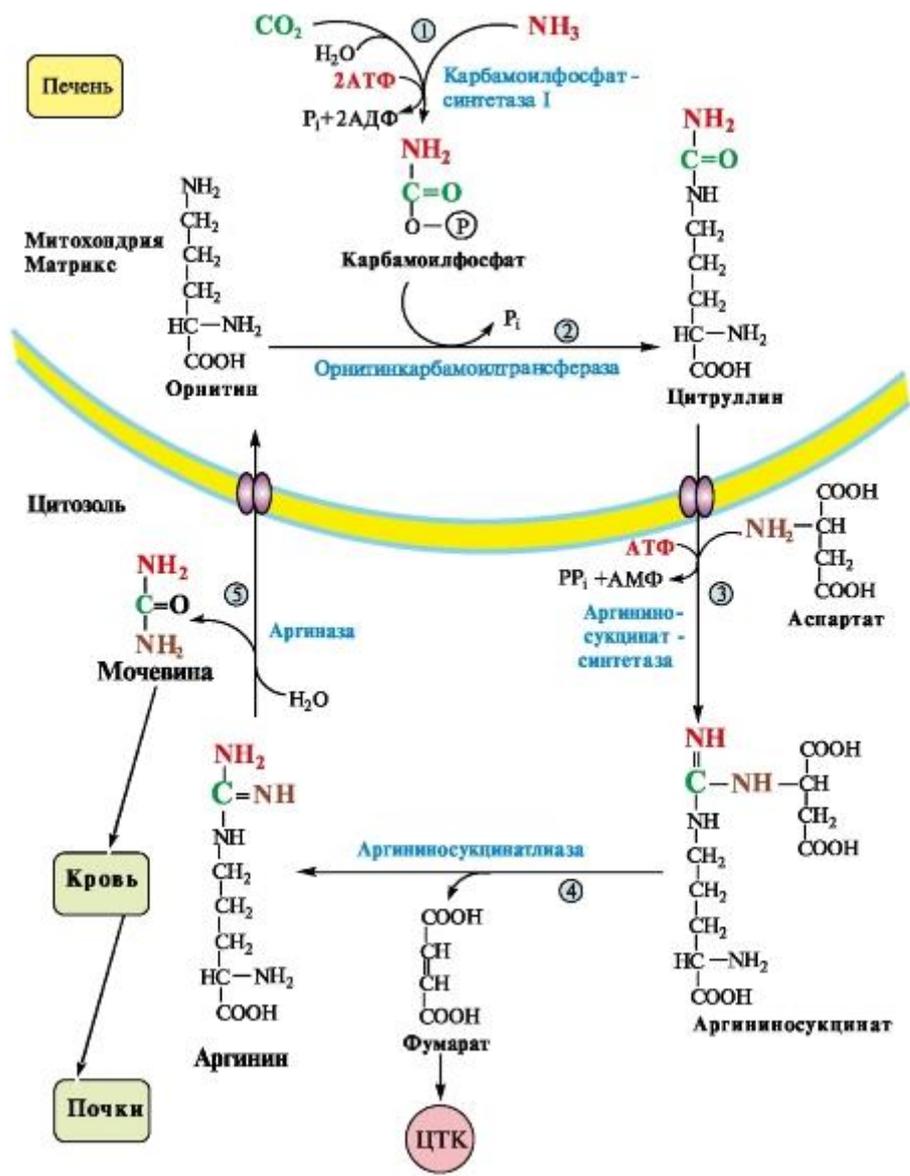
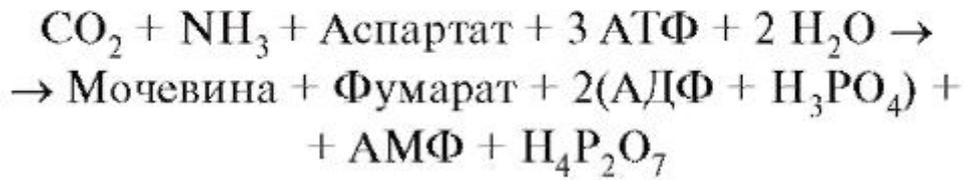


Рис. 7.24. Орнитиновый цикл Кребса-Гензелейта

Ферменты орнитинового цикла локализованы в митохондриях и цитозоле гепатоцитов. Происходит трансмембранный перенос цитруллина и орнитина. На рисунке показаны пути включения 2 атомов азота из разных аминокислот в молекулу мочевины:

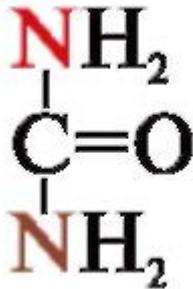
- Азот одной аминогруппы - в виде аммиака в матриксе митохондрии (N);
- Азот второй аминогруппы поставляется в составе аспартата в цитозоле (N)

Суммарное уравнение синтеза мочевины:



Молекула мочевины содержит 2 атома азота (см. рис. 7.24):

атом N первой аминогруппы поступает в цикл в виде



аммиака; атом N второй аминогруппы включается в мочевины из аспартата. Но фактически эти два источника приносят в молекулу мочевины азот двух разных аминокислот (аминокислота₁ и аминокислота₂, рис. 7.25):

- Аммиак, используемый в орнитиновом цикле, поставляется в печень из кишечника кровью воротной вены или образуется в результате действия глутаматдегидрогеназы в митохондриях гепатоцитов в ходе непрямого дезаминирования аминокислот (см. рис. 7.25, 1, 2). Таким образом в орнитиновый цикл включается аминогруппа большинства аминокислот (аминокислота₁; см. рис. 7.25).
- Аспартат образуется в печени путем трансаминирования оксалоацетата с глутаматом или аланином, поступающим в печень из мышц и клеток кишечника (см. рис. 7.25, 5). Оксалоацетат для этой реакции образуется из фумарата, получающегося при расщеплении аргининосукцината в орнитиновом цикле. Фумарат включается в цитратный цикл (см. рис. 7.25, 3, 4) и превращается в оксалоацетат,

из которого путем трансаминирования образуется аспартат. Таким образом, с орнитиновым циклом сопряжен цикл регенерации аспартата из фумарата. Глутамат, образующийся в реакциях трансаминирования, способен содержать α-аминогруппу любой аминокислоты, за исключением лизина и треонина (аминокислота₂; см. рис. 7.25). Таким образом, аспартат служит вторым пунктом включения азота различных аминокислот.

В реакциях орнитинового цикла расходуется энергия 4 макроэргических связей 3 молекул АТФ на каждый оборот цикла. Энергия затрачивается также при трансмембранном переносе веществ в гепатоцитах (см. рис. 7.24) и в почках при активном транспорте мочевины из крови в мочу. Однако процесс образования мочевины имеет пути компенсации энергозатрат (см. рис. 7.25):

- в цикле регенерации аспартата из фумарата на стадии дегидрирования малата образуется NADH (см. рис. 7.25, 4), который может обеспечить синтез 3 молекул АТФ путем окислительного фосфорилирования.
- при окислительном дезаминировании глутамата в печени и других органах также образуется NADH (см. рис. 7.25, 2) и соответственно еще 3 молекулы АТФ.

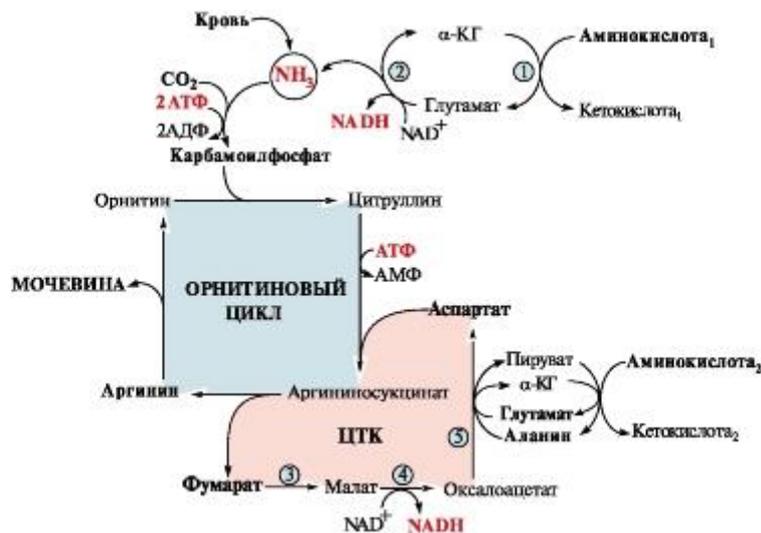


Рис. 7.25. Цикл регенерации аспартата, сопряженный с орнитиновым циклом

Ферменты, катализирующие реакции: 1 - аминотрансфераза₁; 2 - глутаматдегидрогеназа; 3 - фумараза; 4 - малатдегидрогеназа; 5 - аминотрансфераза₂

Орнитиновый цикл в печени выполняет две функции:

- включение азота аминокислот в мочевины, которая экскретируется и предотвращает накопление токсичного аммиака;
- синтез аргинина и пополнение его фонда в организме.

Эффективность работы орнитинового цикла при нормальном питании человека и умеренных физических нагрузках составляет примерно 60% его мощности. Запас мощности необходим для предотвращения повышения концентрации NH₃ в крови (гипераммониемия) при изменениях количества

белка в пище. Основным регуляторным фактором процесса является содержание субстратов, прежде всего аммиака. Высокий уровень NH_3 вызывает повышение уровня образования мочевины. Кроме того, скорость орнитинового цикла может увеличиваться при длительных физической работе или голодании, которые сопровождаются распадом тканевых белков, а также при избыточном белковом питании. Регуляторными стадиями процесса являются реакции синтеза карбамоилфосфата, цитруллина и заключительная реакция, катализируемая аргиназой.

При повышении скорости распада белков при голодании или длительной физической работе, а также высокобелковой диете происходит индукция синтеза ферментов орнитинового цикла. В обеих физиологических ситуациях углерод аминокислот превращается в глюкозу, а азот в составе аминокислотной группы включается в молекулу мочевины. Увеличение количества ферментов орнитинового цикла происходит параллельно с индукцией ферментов глюконеогенеза и АЛТ. При патологических состояниях, характеризующихся интенсивным распадом белков тканей (сахарный диабет и др.), также происходит стимуляция орнитинового цикла.

Гипераммониемия

Заболевания печени (гепатит, цирроз) или наследственный дефект ферментов обезвреживания аммиака могут вызвать повышение содержания аммиака в крови - гипераммониемию.

Известно 5 наследственных заболеваний, обусловленных дефектом 5 ферментов орнитинового цикла: гипераммониемия I и II типа, цитруллинемия, аргининосукцинатурия, гипераргининемия. При некоторых вирусных заболеваниях также наблюдается торможение орнитинового цикла (например, вирус гриппа ингибирует

карбамоилфосфатсинтетазу I). Все нарушения орнитинового цикла приводят к значительному повышению в крови концентрации аммиака, глутамина и аланина.

При увеличении концентрации аммиака в 8-10 раз (до 0,6 ммоль/л) проявляется его токсическое действие. Наблюдаются головокружение, тошнота, рвота, судорожные припадки с потерей сознания. Наследственные формы гипераммониемии приводят к отставанию в умственном развитии детей.

Токсичность аммиака связана с его действием на центральную нервную систему.

- Образование большого количества NH_4^+ может привести к сдвигу pH крови в щелочную сторону (алкалозу). Алкалоз отрицательно сказывается на транспорте O_2 в ткани гемоглобином, в результате чего возникают гипоксические явления и низкоэнергетическое состояние в клетках, прежде всего головного мозга.
- Высокое содержание NH_3 в тканях снижает количество α -кетоглутарата, так как он связывает избыток аммиака и превращается в глутамат. Это вызывает угнетение обмена аминокислот (трансаминирования) и ЦТК (гипоэнергетическое состояние).
- Гипераммониемия усиливает синтез глутамина из глутамата в нервной ткани. Содержание глутамата снижается, что приводит к подавлению синтеза основного тормозного медиатора γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) под действием глутаматдекарбоксилазы:



В результате происходит повышение нервномышечной возбудимости и возникают судороги.

- Судорожные припадки могут быть также следствием подавления работы Na^+ , K^+ -АТФаз, нарушения трансмембранного переноса ионов Na^+ и K^+ и проведения нервных импульсов.

Для снижения концентрации NH_3 в крови и облегчения состояния больных рекомендуются малобелковая диета и введение метаболитов орнитинового цикла (аргинин, цитруллин, глутамат).

Например, при гипераммониемии II типа (дефект орнитинкарбамоилтрансферазы) введение больших доз цитруллина стимулирует синтез мочевины из карбамоилфосфата и аспартата. А при аргининосукцинатурии (дефект аргининосукцинатлиазы) введение больших доз аргинина стимулирует регенерацию орнитина и выведение азота в составе цитруллина и аргининосукцината.

7.7. ВКЛЮЧЕНИЕ БЕЗАЗОТИСТОГО ОСТАТКА АМИНОКИСЛОТ В ОПК

В процессе катаболизма аминокислоты превращаются в 6 метаболитов, вступающих в ОПК (рис. 7.26): пируват, ацетил-КоА, α -кетоглутарат, сукцинил-КоА, фумарат, оксалоацетат.

В дальнейшем эти метаболиты превращаются в глюкозу или образуют ацетоацетат (кетонное тело). В зависимости от процесса, в который они включаются, аминокислоты можно разделить на 3 группы.

- Гликогенные аминокислоты образуют пируват и другие промежуточные продукты ОПК (α -кетоглутарат, сукцинил-КоА, фумарат, оксалоацетат), превращаются в оксалоацетат и используются в процессе глюконеогенеза.
- Кетогенные аминокислоты (Лиз, Лей) превращаются в ацетил-КоА и могут быть источником кетонных тел (ацетоацетат, β -гидроксибутират).
- Гликокетогенные, или смешанные, аминокислоты распадаются на два продукта - определенный метаболит ОПК и ацетил-КоА (Иле) или ацетоацетат (Три, Фен, Тир) и могут использоваться для синтеза как глюкозы, так и кетонных тел.

Основным путем использования безазотистых остатков аминокислот является глюконеогенез, причем основными гликогенными аминокислотами считаются аланин, серин и глутамин, концентрация которых в крови обычно намного превышает содержание других аминокислот. Включение их в глюконеогенез усиливается при голодании (II фаза) и сахарном диабете.

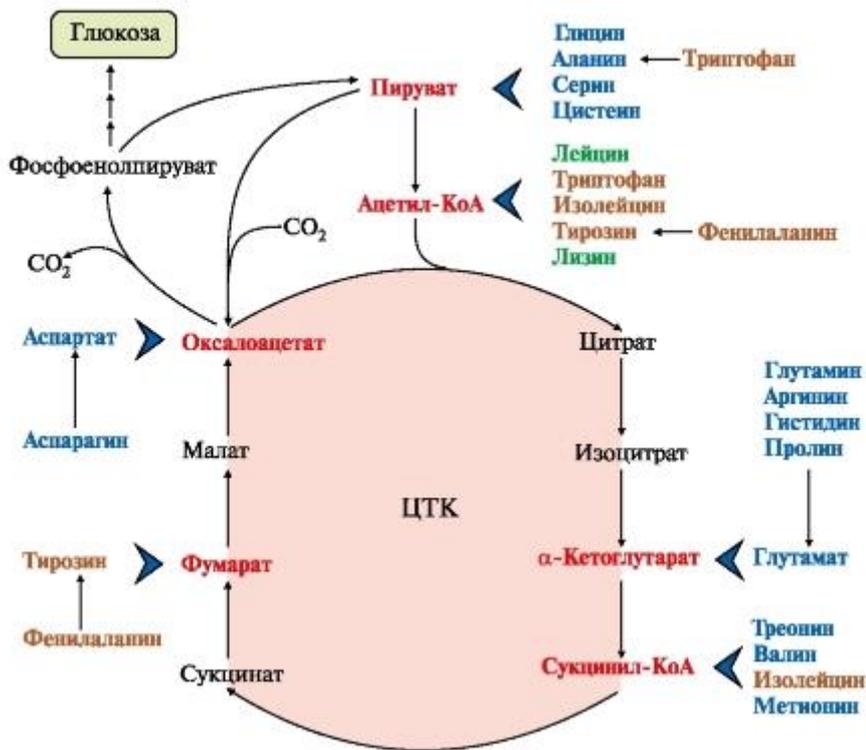


Рис. 7.26. Включение безазотистого остатка аминокислот в ОПК

7.8. СИНТЕЗ ЗАМЕНИМЫХ АМИНОКИСЛОТ

Синтез аминокислот возможен при наличии соответствующих α -кетокислот, которые образуются из глюкозы и могут включаться в реакции трансаминирования с глутаматом.

Заменимыми являются 8 аминокислот, углеродный скелет которых может синтезироваться из глюкозы: Ала, Асп, Асн, Сер, Гли, Про, Глу, Глн (рис. 7.27).

Непосредственно путем трансаминирования метаболитов ОПК соответствующими аминотрансферазами синтезируются аминокислоты аланин, аспарат, глутамат:

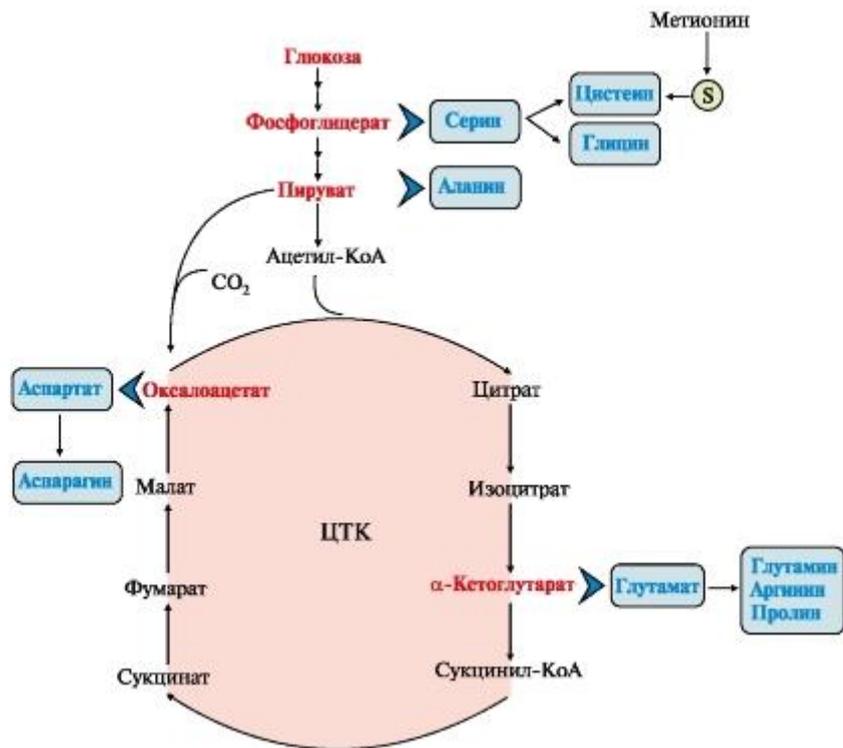
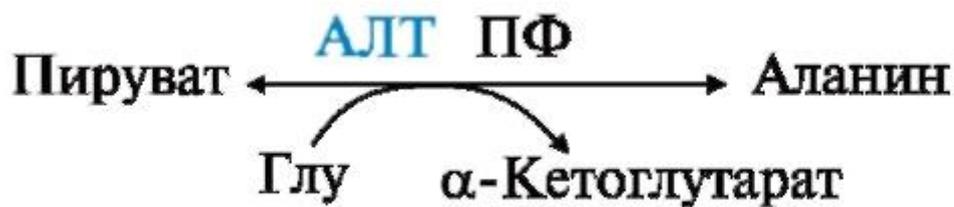
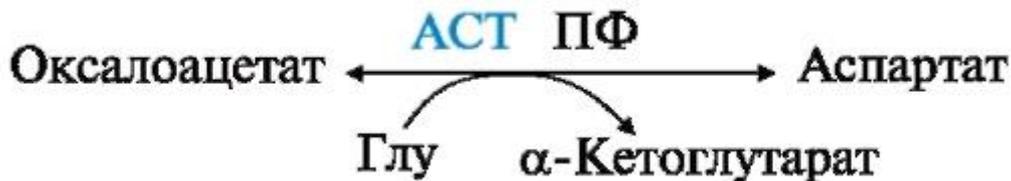


Рис. 7.27. Биосинтез заменимых аминокислот

- Аланин:



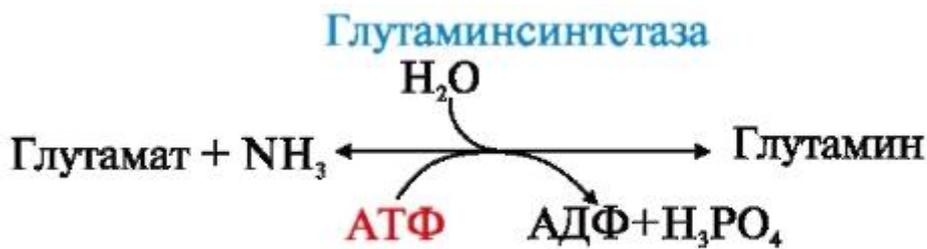
- Аспартат:



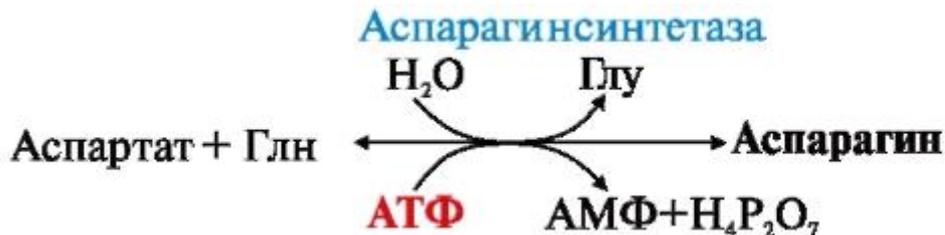
- Глутамат:



- Глутамин синтезируется из глутамата под действием глутаминсинтетазы:

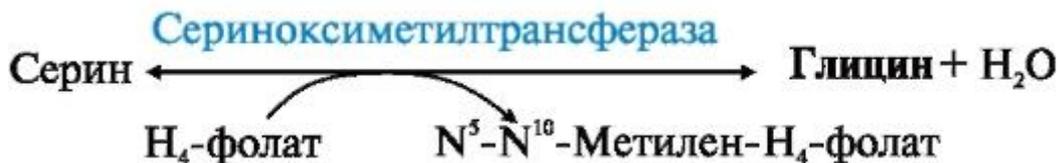


- Аспарагин синтезируется из аспартата и глутамина под действием аспарагинсинтетазы:



- Серин образуется из 3-фосфоглицерата - промежуточного продукта гликолиза (рис. 7.28)

- Глицин синтезируется из серина в результате действия серин-оксиметилтрансферазы с участием кофермента N_4 -фолата:



- Пролин синтезируется из глутамата: Глутамат \rightarrow γ -Полуальдегид глутамата \rightarrow Пролин

Две частично заменимые аминокислоты Арг и Гис

синтезируются в небольших количествах, которые не отвечают потребностям организма. Синтез аргинина происходит в реакциях орнитинового цикла.

Гистидин синтезируется из АТФ и рибозы.

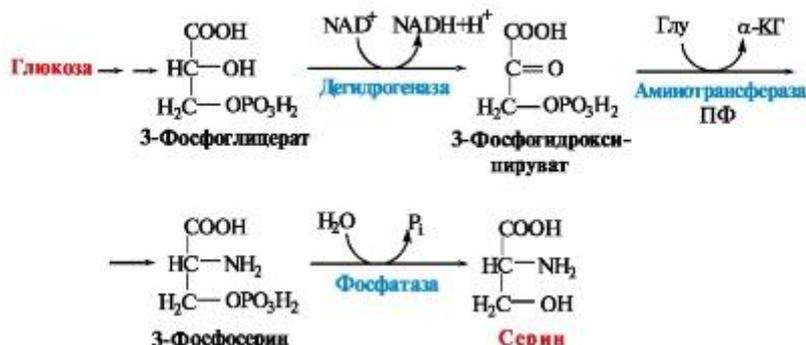


Рис. 7.28. Синтез серина из глюкозы

Две условно заменимые аминокислоты Тир и Цис образуются с использованием незаменимых аминокислот фенилаланина и метионина соответственно:

- Фенилаланин → Тирозин (под действием фенилаланингидроксилазы) (рис. 7.41)
- Для образования цистеина необходим атом серы, донором которого является метионин. В синтезе используются углеродный скелет и α -аминогруппа серина (см. рис. 7.38).

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выберите правильные ответы.

Почки выводят конечные продукты азотистого обмена:

- А. Аланин
- Б. Креатинин.
- В. Мочевину. Г. Глутамин.
- Д. Аммонийные соли.

2. Выполните «цепное» задание.

а) Основной реакцией обезвреживания аммиака для всех тканей является:

- А. Трансаминирование глутамата с пируватом.
- Б. Синтез карбамоилфосфата.
- В. Окислительное дезаминирование глутамата.
- Г. Синтез глутамина.
- Д. Внутримолекулярное дезаминирование гистидина.

б) эту реакцию катализирует фермент:

- А. Глутаматдегидрогеназа. Б. Глутаминсинтетаза.
- В. АЛТ.
- Г. Карбамоилфосфатсинтетаза I. Д. Гистадаза.

в) для работы этого фермента требуется:

- А. NAD^+ .

Б. Пиридоксальфосфат.

В. АТФ.

Г. FAD.

Д. ТДФ.

г) напишите формулами основную реакцию обезвреживания аммиака в тканях.

3. Выберите правильный ответ.

а) в регуляции кислотно-щелочного баланса в почках участвует фермент:

А. АЛТ.

Б. Глутаминсинтетаза.

В. Глутаминаза.

Г. K^+ , Na^+ -АТФаза.

Д. Глутаматдегидрогеназа.

б) напишите формулами реакцию, катализируемую этим ферментом в почках, укажите его активатор.

4. Выберите правильные ответы.

В орнитиновом цикле реакции с затратой энергии катализируют ферменты:

А. Орнитинкарбамоилтрансфераза. Б. Карбамоилфосфатсинтетаза I.

В. Аргининосукцинатсинтетаза. Г. Аргиназа.

Д. Аргининосукцинатлиаза.

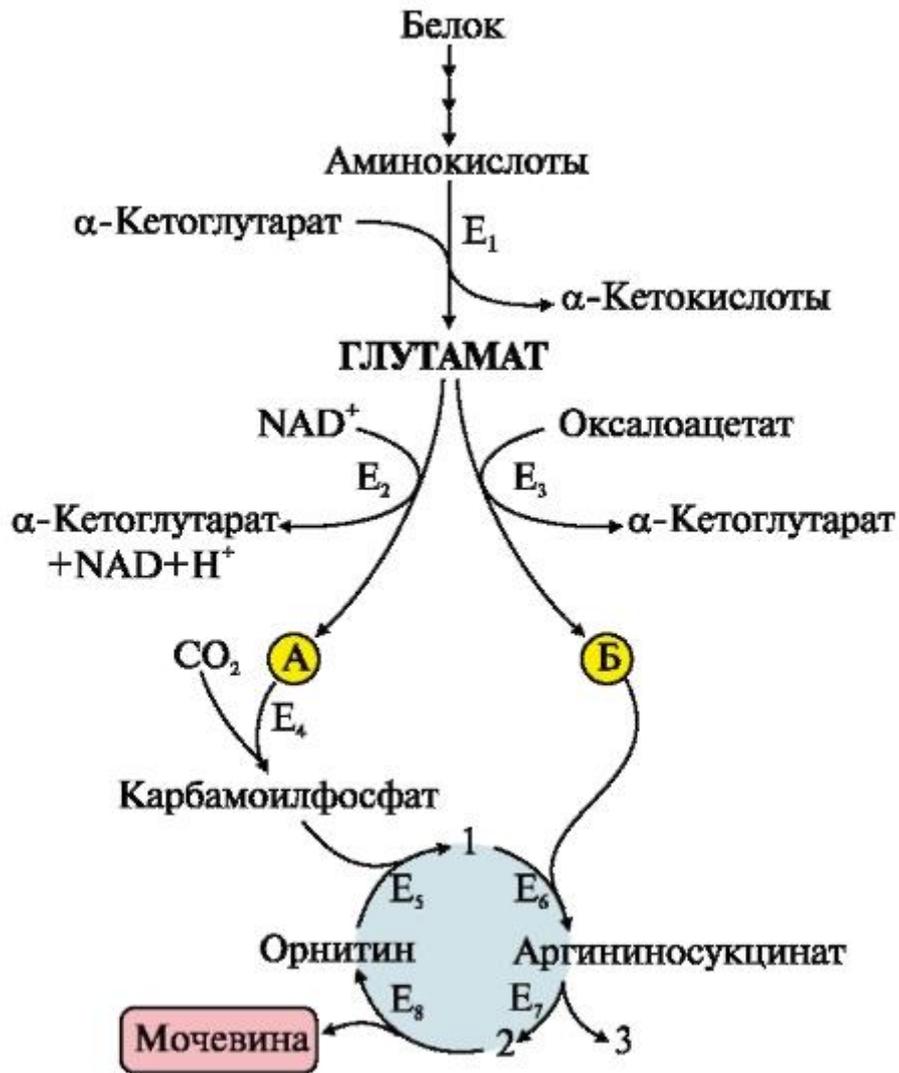
5. Перенесите в тетрадь схему включения азота аминокислот в мочевины, дополнив ее соответствующими компонентами.

а) назовите источники, поставляющие азот непосредственно в орнитиновый цикл

(А, Б);

б) укажите названия метаболитов(1, 2, 3);

в) внесите в схему названия ферментов (E_1 - E_8).



6. Выберите правильные ответы.

При нарушениях орнитинового цикла в крови повышается содержание:

- А. Орнитина. Б. Аланина.
- В. Аммиака. Г. Глутамата. Д. Глутамина.

7. Выберите правильные ответы.

Аммиак оказывает токсическое действие на организм, так как:

- А. Сдвигает рН крови в кислую сторону.
- Б. Нарушает синтез нейромедиатора ГАМК.
- В. Вызывает гипознергетическое состояние.
- Г. Вызывает алкалоз.

Д. Ухудшает снабжение головного мозга кислородом.

8. Выберите правильные ответы.

В ходе катаболизма аминокислот образуются метаболиты ОПК:

А. Фумарат.

Б. α -Кетоглутарат.

В. Пируват.

Г. Изоцитрат. Д. Оксалоацетат.

9. Заполните табл. 7.2:

10. Установите соответствие Предшественник:

А. α -Кетоглутарат. Б. 3-Фосфоглицерат.

В. Пируват.

Г. Оксалоацетат. Д. Сукцинил-КоА.

Аминокислота:

1. Сер.

2. Асп.

3. Ала.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Мочевина является нормальным компонентом слюны человека, выделяется слюнными железами (до 10,0-28,0 мг/дл в секрете в зависимости от железы). Содержание мочевины в смешанной слюне составляет 75-90% ее количества в крови. При подкислении среды бактерии полости рта выделяют фермент уреазу, которая расщепляет мочевину на CO_2 и NH_3 . Аммиак связывает избыток протонов H^+ и переходит в ионизированную форму, обеспечивая поддержание оптимальной слабощелочной среды в ротовой полости. Объясните биологические механизмы этого явления. Для этого:

а) напишите формулами реакцию, которую катализирует уреазы;

б) назовите процесс, который является источником мочевины, напишите его схему, укажите ферменты, реакции, происходящие с затратой энергии, и пути компенсации энергозатрат;

в) укажите локализацию этого процесса в организме, его биологическую роль.

Таблица 7.2

Классификация аминокислот по судьбе безазотистого остатка и возможности синтеза в организме

Аминокислоты	Гликогенные аминокислоты	Глико-кетогенные аминокислоты	Кетогенные аминокислоты
Заменяемые			
Незаменяемые			
Частично заменяемые			
Условно заменяемые			

2. Анорексигенный лекарственный препарат мазиндол (теренак) применяется в комплексной терапии алиментарного ожирения для снижения аппетита. Противопоказан при печеночной недостаточности. Использование его при заболеваниях печени вызывает сухость во рту, тошноту, головную боль, расстройства сна, раздражительность. Учитывая, что похудание и уменьшение массы тела сопровождаются распадом белков периферических тканей, предположите, с чем связано появление этих симптомов. Для этого:

7. Выберите правильные ответы.

Аммиак оказывает токсическое действие на организм, так как:

А. Сдвигает рН крови в кислую сторону.

Б. Нарушает синтез нейромедиатора

ГАМК.

В. Вызывает гипознергетическое состояние.

Г. Вызывает алкалоз.

Д. Ухудшает снабжение головного мозга кислородом.

8. Выберите правильные ответы.

В ходе катаболизма аминокислот образуются метаболиты ОПК:

А. Фумарат.

Б. α -Кетоглутарат.

В. Пируват.

Г. Изоцитрат. Д. Оксалоацетат.

9. Заполните табл. 7.2:

10. Установите соответствие Предшественник:

А. α -Кетоглутарат. Б. 3-Фосфоглицерат.

В. Пируват.

Г. Оксалоацетат. Д. Сукцинил-КоА.

Аминокислота:

1. Сер.

2. Асп.

3. Ала.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Мочевина является нормальным компонентом слюны человека, выделяется слюнными железами (до 10,0-28,0 мг/дл в секрете в зависимости от железы). Содержание мочевины в смешанной слюне составляет 75-90% ее количества в крови. При подкислении среды бактерии полости рта выделяют фермент уреазу, которая расщепляет мочевины на CO_2 и NH_3 . Аммиак связывает избыток протонов H^+ и переходит в ионизированную форму, обеспечивая поддержание оптимальной слабощелочной среды в ротовой полости. Объясните биологические механизмы этого явления. Для этого:

а) напишите формулами реакцию, которую катализирует уреазы;

б) назовите процесс, который является источником мочевины, напишите его схему, укажите ферменты, реакции, происходящие с затратой энергии, и пути компенсации энергозатрат;

в) укажите локализацию этого процесса в организме, его биологическую роль.

Таблица 7.2

Классификация аминокислот по судьбе безазотистого остатка и возможности синтеза в организме

Аминокислоты	Гликогенные аминокислоты	Глико-кетогенные аминокислоты	Кетогенные аминокислоты
Заменяемые			
Незаменяемые			
Частично заменяемые			
Условно заменяемые			

2. Анорексигенный лекарственный препарат мазиндол (теренак) применяется в комплексной терапии алиментарного ожирения для снижения аппетита. Противопоказан при печеночной недостаточности. Использование его при заболеваниях печени вызывает сухость во рту, тошноту, головную боль, расстройства сна, раздражительность. Учитывая, что похудание и уменьшение массы тела сопровождаются распадом белков периферических тканей, предположите, с чем связано появление этих симптомов. Для этого:

а) назовите, какая реакция начинает специфические пути катаболизма аминокислот и какова судьба образующихся соединений;

б) укажите, какой из этих продуктов накапливается в организме при поражении печени и оказывает токсическое действие;

в) перечислите механизмы токсического действия этого соединения, напишите соответствующие реакции, подтверждающие его токсичность.

3. В последние годы для снижения избыточной массы тела часто используется так называемая белковая диета, основанная на употреблении белков и значительном снижении в питании углеводов и жиров. Объясните, изменится ли в крови таких пациентов содержание аминокислот, глюкозы, мочевины, аммиака. Для этого:

а) укажите нормальную концентрацию глюкозы в крови;

б) напишите схему процесса, поддерживающего уровень глюкозы в крови при углеводном голодании;

в) назовите основные аминокислоты, которые включаются в этот путь;

г) покажите схему включения этих аминокислот в названный процесс.

4. Наследственное заболевание «болезнь кленового сиропа» (валинолейцинурия) связано с нарушением обмена аминокислот с разветвленной цепью. У больных наблюдаются судороги, расстройства дыхания, цианоз, рвота, моча имеет характерный запах кленового сиропа. Содержание аминокислот с разветвленной цепью в крови значительно превышает норму, что оказывает токсическое действие на головной мозг, часто отмечаются кетоацидоз и повышение концентрации ацетоацетата и ацетона. Объясните механизмы развития перечисленных симптомов. Для этого:

а) перечислите аминокислоты с разветвленной боковой цепью, назовите, к какой группе по возможности синтеза они относятся;

- б) составьте схему, показывающую судьбу безазотистых остатков этих аминокислот, укажите, в какой процесс они включаются и к какой группе по дальнейшим путям использования относятся;
- в) укажите, какие рекомендации по питанию можно дать таким больным.

7.9. ОБМЕН ОТДЕЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ. НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ

Большинство аминокислот в клетках способны вступать в реакции трансаминирования, дезаминирования, декарбоксилирования, включаться в общий путь катаболизма и глюконеогенез. Эти пути обмена можно считать общими для аминокислот, но существуют и специфические пути превращения, характерные только для определенных аминокислот. Пути обмена различных аминокислот многочисленны, разнообразны и важны. Многие наследственные заболевания связаны с генетическими нарушениями некоторых из этих путей.

Обмен серина и глицина. Образование и использование одноуглеродных групп

Аминокислоты серин и глицин выполняют в организме человека разнообразные и очень важные функции (рис. 7.29). Эти аминокислоты необходимы для синтеза не только белков и глюкозы (при ее недостатке в клетках), но и нуклеотидов, коферментов, гема, желчных кислот, сложных липидов, креатина и других соединений.

Серин - заменимая аминокислота, синтезируется из промежуточного продукта гликолиза - 3-фосфоглицерата, аминогруппа поступает в результате его трансаминирования с глутаматом (см. рис. 7.28). Основной путь катаболизма серина - дезаминирование с образованием пирувата. Кроме этого, можно рассматривать как путь катаболизма реакцию превращения серина в глицин и его дальнейший распад.

Глицин - заменимая аминокислота, образуется из серина в обратимой реакции, катализируемой ферментом серингидрокси-метилтрансферазой с участием кофермента N_4 -фолат:

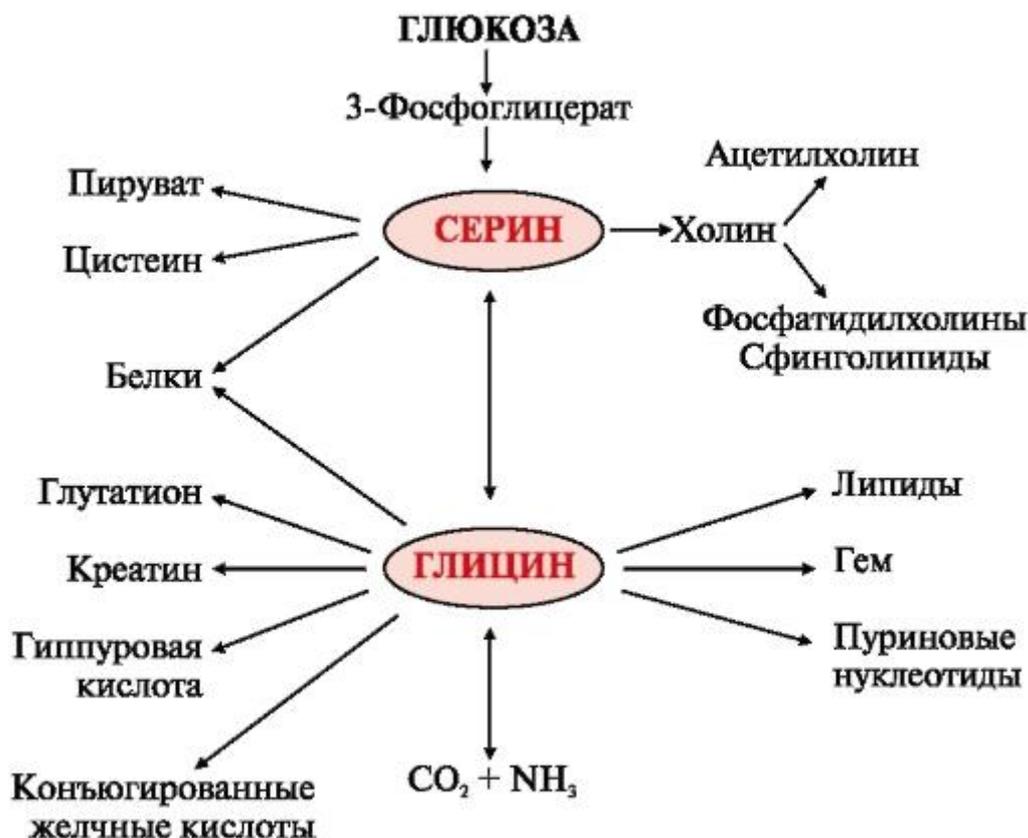
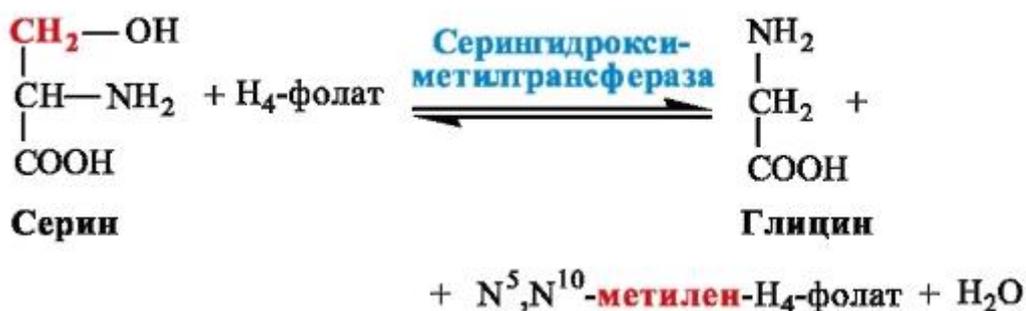
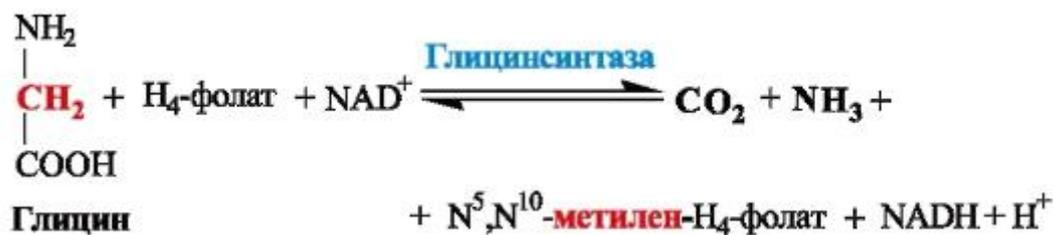


Рис. 7.29. Биологическая роль серина и глицина

- Серин принимает участие в синтезе нейромедиатора ацетилхолина, фосфолипидов (фосфатидилхолины, фосфатидилсерины, сфингомиелины), аминокислот (глицин, цистеин) и др.
- Глицин является нейромедиатором, а также предшественником порфиринов (гема), пуриновых оснований, глутатиона, конъюгированных желчных кислот и др.



Реакция катаболизма глицина у человека и других позвоночных также связана с использованием H₄-фолата:



Обе реакции обратимы, глицинсинтаза - ферментный комплекс, подобный ПДК, локализован в митохондриях клеток печени.

В превращениях серина и глицина используются коферменты - производные фолиевой кислоты. Фолиевая кислота (птероилглутаминовая кислота, фолат - от. лат. *folium* - лист) - витамин В₉ (или В₁₂) - является незаменимым пищевым

веществом для человека и большинства млекопитающих. Потребность в витамине В₉ составляет 0,1-0,5 мг/сут. Этот витамин довольно широко распространен в растительных и животных пищевых продуктах (салат и другие зеленые растения, мясо, печень), а также синтезируется бактериями кишечника.

В печени фолиевая кислота превращается в H₄-фолат в две стадии с участием ферментов фолатредуктазы и дигидрофолатредуктазы, коферментом которых является NADPH (рис. 7.30)

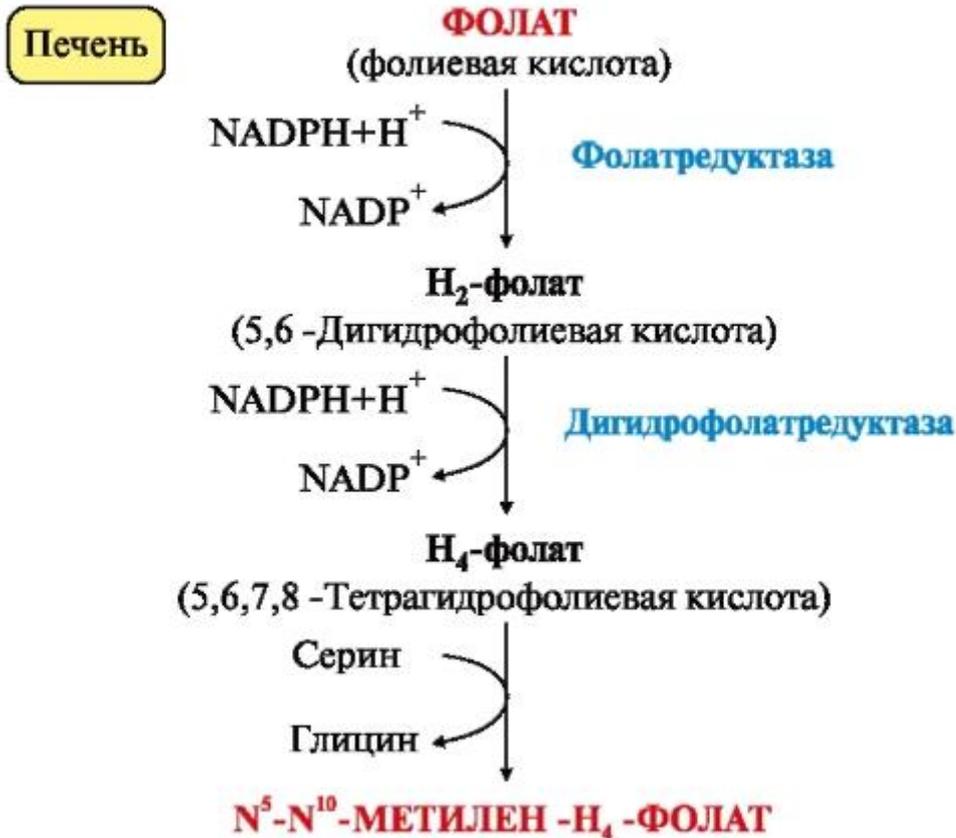


Рис. 7.30. Синтез и использование кофермента H₄-фолат

Восстановленная форма фолата - H₄-фолат или тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК) (рис. 7.31) выполняет коферментную функцию в реакциях превращения серина и глицина.

H₄-фолат является акцептором β-углеродного атома серина. В ходе реакций с участием серина или глицина образуется метилен-H₄-фолат, содержащий метиленовый мостик между атомами азота в молекуле H₄-фолата в положении 5 и 10.

Метиленовая группа в молекуле метилен-H₄-фолата может превращаться в другие одноуглеродные группы: метильную, формильную, метильную.

H₄-фолат играет роль промежуточного переносчика одноуглеродных групп, так как способен передавать эти группы на другие соединения. Одноуглеродные фрагменты используются для синтеза таких важных соединений,



Рис. 7.31. Тетрагидрофолиевая кислота (H₄-фолат)

Молекула фолиевой кислоты состоит из 3 частей: птеринового цикла, парааминобензоата и глутамата. Четыре дополнительных атома водорода, которые включились в структуру кофермента в ходе двух реакций восстановления, выделены синим цветом

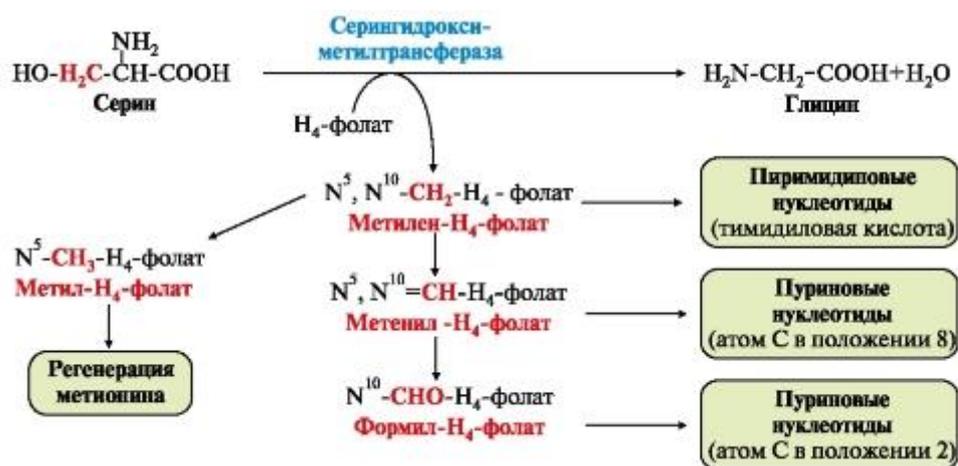


Рис. 7.32. Биологическая роль одноуглеродных групп

Метилен-H₄-фолат необходим для синтеза пиримидинового нуклеотида ТТФ. Метенил-H₄-фолат и формил-H₄-фолат используются для синтеза пуриновых нуклеотидов АТФ и ГТФ. Метил-H₄-фолат - для регенерации метионина как пуриновые (АТФ и ГТФ) и пиримидиновые (дТТФ) нуклеотиды, которые необходимы для деления клеток и роста тканей (рис. 7.32).

Недостаточность фолиевой кислоты

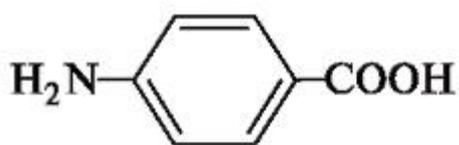
Гиповитаминоз фолиевой кислоты у человека возникает довольно редко, причинами его могут быть:

- нарушение всасывания фолиевой кислоты в кишечнике при хронических энтеритах и энтероколитах;

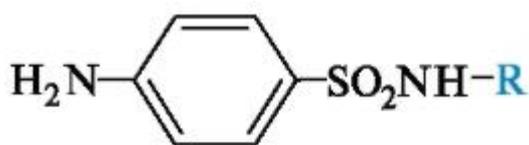
- снижение активности ферментов, участвующих в синтезе кофермента N_4 -фолатата (фолатредуктазы, дигидрофолатредуктазы) при гепатите, циррозе печени и других поражениях гепатоцитов;
- неправильное питание - недостаточное потребление овощей, фруктов и мясных продуктов;
- беременность, приводящая к увеличению потребности организма в коферменте;
- дисбактериоз.

Дефицит фолиевой кислоты приводит к нарушению обмена одноуглеродных фрагментов и развитию мегалобластной (макроцитарной) анемии. Она характеризуется уменьшением количества эритроцитов, снижением содержания в них гемоглобина и увеличением размера эритроцитов. Эти симптомы появляются вследствие нарушения синтеза ДНК и РНК из-за недостатка их предшественников - тимидиловой кислоты и пуриновых нуклеотидов, для синтеза которых необходимы производные N_4 -фолатата. Клетки кроветворных органов относятся к быстроделющимся и реагируют на нарушение синтеза нуклеиновых кислот снижением скорости эритропоэза. Механизм антибактериального действия сульфаниламидных препаратов

Фолиевая кислота является незаменимым веществом для человека и животных, однако многие бактерии способны ее синтезировать. Для синтеза они используют парааминобензойную кислоту (ПАБК), которую должны получать из крови человека, поскольку ПАБК отсутствует в бактериальных клетках. Антибактериальные лекарственные препараты - производные сульфаниламида (белого стрептоцида) - являются структурными аналогами парааминобензоата и отличаются только заместителями в амидной группе:



П-аминобензойная
кислота



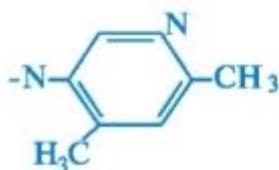
Общая формула
сульфаниламидов

Где R: - Н

- COCH₃

- стрептоцид

- сульфацил-натрий
(альбуцид)



- сульфадимезин

Эти препараты подавляют синтез фолиевой кислоты у бактерий, потому что:

- конкурентно ингибируют бактериальные ферменты синтеза фолата, так как являются структурными аналогами ПАБК - одного из субстратов процесса;
- могут использоваться как псевдосубстраты из-за относительной субстратной специфичности ферментов и превращаться в соединение, похожее на фолиевую кислоту, но не выполняющее ее функции. В результате в бактериальных клетках нарушается обмен одноуглеродных фрагментов и синтез нуклеиновых кислот, что сопровождается прекращением размножения и гибелью бактерий. В клетках больного сульфаниламиды не вызывают подобных изменений, поскольку для человека фолиевая кислота незаменима и поступает из кишечника.

Обмен серосодержащих аминокислот

В состав белков человека входят 2 аминокислоты, содержащие серу, - метионин и цистеин. Эти аминокислоты метаболически тесно связаны между собой.

Обмен метионина

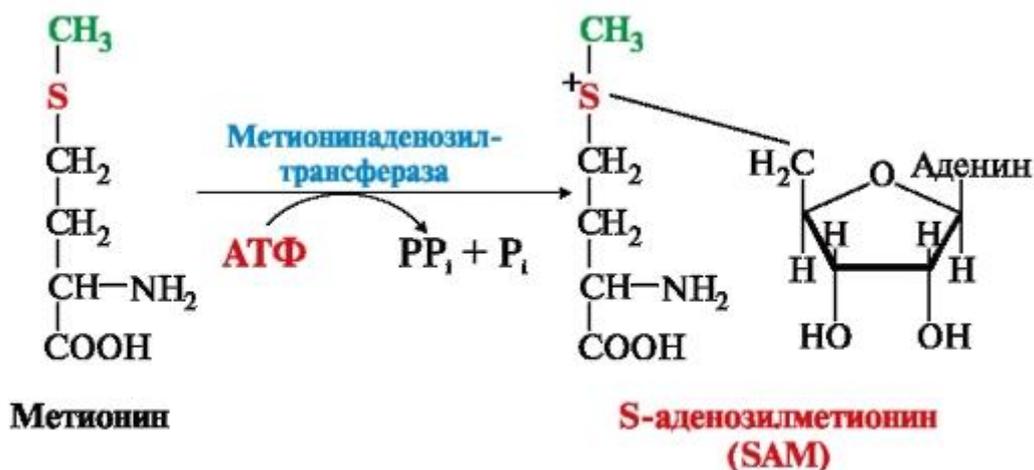
Метионин - незаменимая аминокислота. Он используется для синтеза белков в качестве субстрата, инициирует процесс трансляции, является источником атома серы для синтеза цистеина, включается в образование глюкозы (рис. 7.33). Метильная группа метионина (в активированном виде) является

мобильным одноуглеродным фрагментом, который используется для синтеза ряда соединений. Реакции трансметилирования имеют важное метаболическое значение для синтеза адреналина, креатина, карнитина, холина, гликозамингликанов, обезвреживания веществ, модификации нуклеиновых кислот.



Рис. 7.33. Биологическая роль метионина

Метильная группа в молекуле метионина прочно связана с атомом серы, поэтому в реакциях метилирования используется активная форма аминокислоты - S-аденозилметионин (SAM). Реакция активации происходит путем присоединения метионина к молекуле аденозина, донором которой является АТФ:



Эту реакцию катализирует фермент метионаденозилтрансфераза, который присутствует во всех типах клеток. CH₃-группа SAM активируется под действием положительного заряда атома серы (-S⁺) и легко отщепляется, переходя на молекулу акцептора в реакциях трансметилирования. Отщепление метильной группы от SAM и перенос ее на соединение-акцептор

катализируют ферменты метилтрансферазы. SAM в ходе реакции превращается в S-аденозилгомоцистеин (SAH).

Реакции трансметилирования

Синтез фосфатидилхолинов из фосфатидилэтаноламинов активно происходит в печени, кишечнике, молочной железе и некоторых других тканях, главным образом в эндоплазматической сети клеток (рис. 7.34). Фосфатидилхолины (лецитины) - это наиболее распространенный тип глицерофосфолипидов, участвующих в образовании мембран клеток и липопротеинов, в составе которых осуществляется транспорт липидов.



Рис. 7.34. Синтез фосфатидилхолина (лецитина) из фосфатидилэтаноламина
Синтез карнитина.

Карнитин является переносчиком жирных кислот через мембрану в матрикс митохондрий, где протекает β-окисление жирных кислот, которое является важным источником энергии для скелетных мышц, миокарда и других тканей. Синтез карнитина из лизина происходит с участием 3 молекул SAM, необходимого для формирования триметиламиногруппы (рис. 7.35).

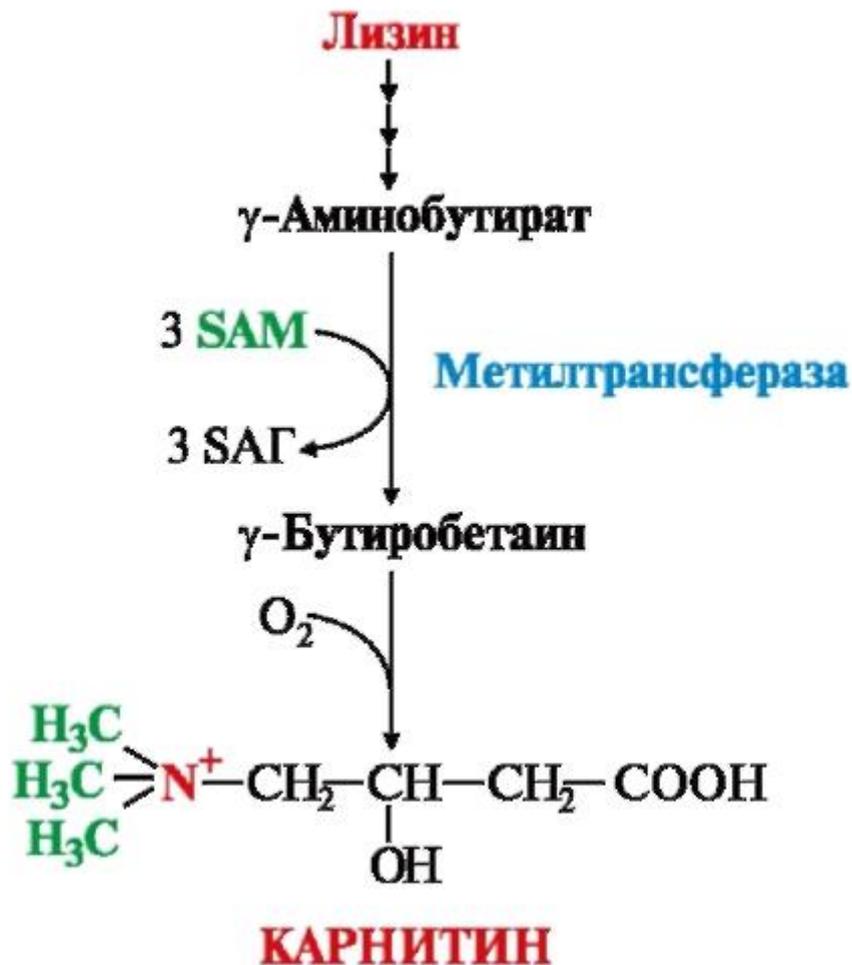


Рис. 7.35. Синтез карнитина

Синтез креатина.

Креатин используется в мышцах, головном мозге для образования высокоэнергетического соединения - креатинфосфата. Синтез креатина идет в две стадии с участием 3 аминокислот: аргинина, глицина и метионина (рис. 7.36).

В клетках креатин превращается в макроэргическое соединение креатинфосфат, который накапливается в мышечной и нервной тканях и служит резервной формой энергии. Его содержание в мышцах в состоянии покоя в 3-8 раз превышает таковое АТФ. В работающей мышце концентрация АТФ некоторое время остается постоянной, а креатинфосфата быстро снижается,

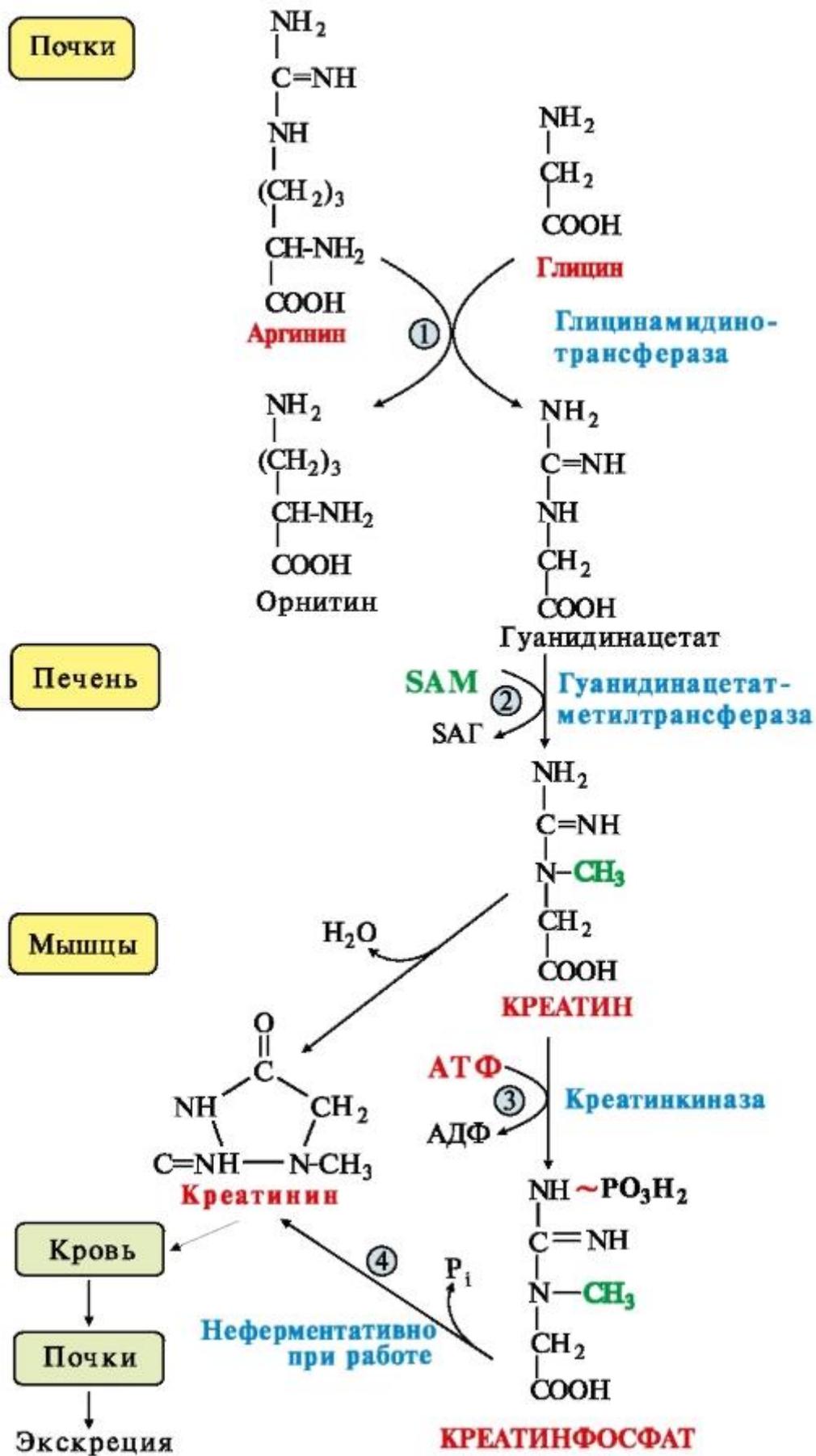


Рис. 7.36. Синтез креатина

- В почках из аминокислот аргинина и глицина образуется гуанидинацетат при действии глицинамидинотрансферазы (1).
- Затем гуанидинацетат транспортируется в печень, где происходит реакция его метилирования при участии гуанидинацетатметилтрансферазы (2) с использованием SAM.
- Креатин с кровотоком переносится в мышцы и клетки мозга, где из него образуется высокоэнергетическое соединение креатинфосфат (3). Эта реакция обратима и катализируется ферментом креатинкиназой. Фермент локализован в цитозоле и митохондриях клеток, обладает органоспецифичностью. Обнаружены 3 изоферментные формы креатинкиназы, определение их активности в крови имеет диагностическое значение (см. раздел 2)

так как происходит реакция расщепления креатинфосфата с образованием АТФ путем субстратного фосфорилирования.

Часть креатинфосфата в мышцах без участия ферментов превращается в креатинин (см. рис. 7.36, 4), который не используется в клетках и выводится почками. Суточное выделение креатинина с мочой постоянно (1-2 г/сут), пропорционально общей мышечной массе человека и используется для характеристики клубочковой фильтрации и диагностики заболеваний почек.

Регенерация метионина

Реакции метилирования играют важную роль в организме и протекают очень интенсивно. Это вызывает большой расход метионина, который является незаменимой аминокислотой и не может синтезироваться в клетках. В связи с этим большое значение приобретает возможность регенерации метионина с участием заменимых аминокислот серина и глицина (рис. 7.37).

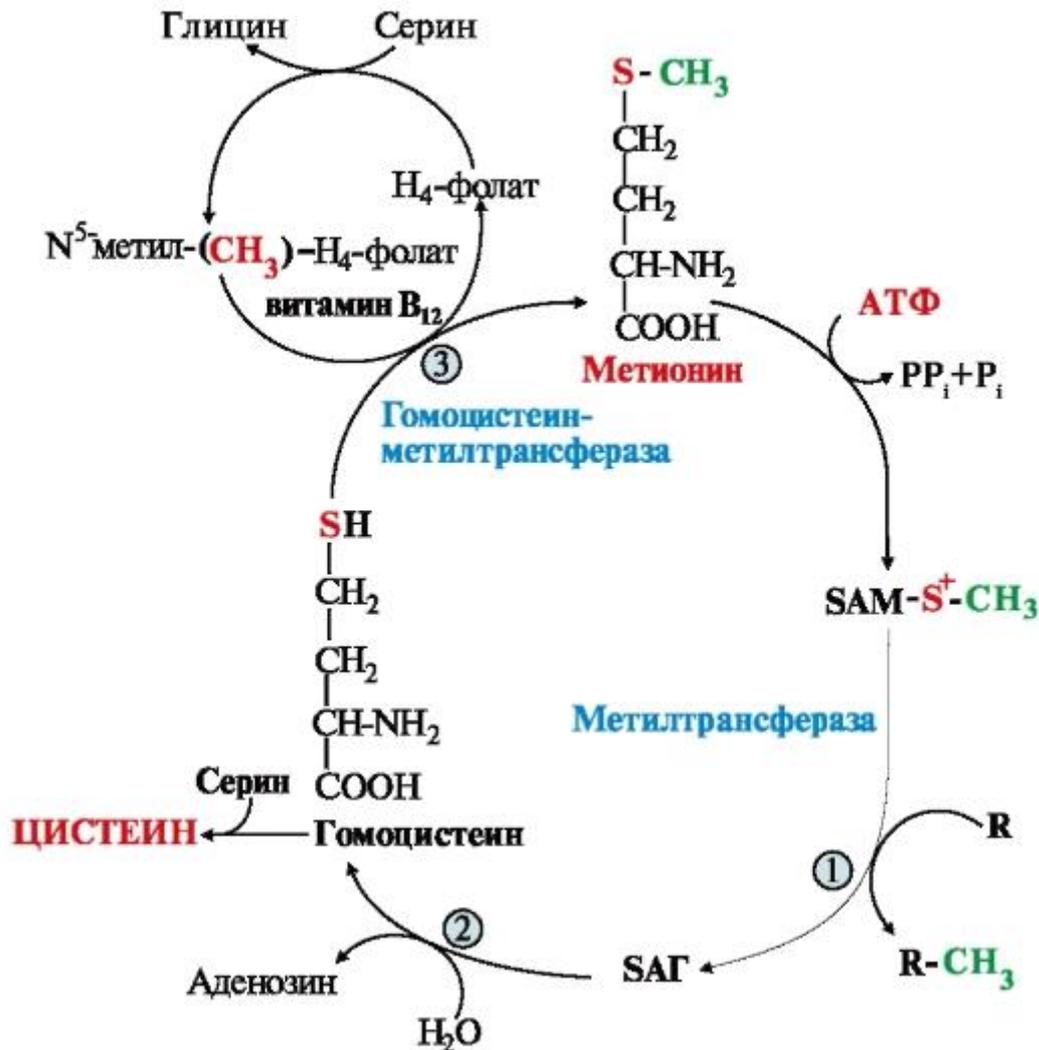


Рис. 7.37. Регенерация метионина

SAM в реакциях метилирования превращается в SAH в результате отщепления метильной группы (1). R - акцептор метильной группы. Происходит гидролиз SAH с образованием аденозина и гомоцистеина (2). Гомоцистеин превращается в метионин под действием гомоцистеинметилтрансферазы (3).

Источником метильной группы для этого процесса является N⁵-метил-H₄-фолат. Промежуточным переносчиком группы в реакции служит производное витамина B₁₂ метилкобаламин, который выполняет роль кофермента. Первичными донорами одноуглеродных фрагментов являются серин и глицин. Образовавшийся в реакциях обмена этих аминокислот N⁵,N¹⁰-метилен-H₄-фолат восстанавливается до N⁵-метил-H₄-фолата, который передает метильную группу на кобаламин (витамин B₁₂).

Метилкобаламин непосредственно участвует в регенерации метионина. Гомоцистеин может использоваться также для синтеза цистеина.

Обмен цистеина

Вторая серосодержащая аминокислота цистеин является условно заменимой, так как для ее образования необходим метионин. В процесс синтеза цистеина включаются две аминокислоты (рис. 7.38): серин как источник углеродного скелета и метионин как источник атома S.

Биологические функции цистеина разнообразны и очень важны для организма (рис. 7.39). Он участвует в синтезе белков в качестве субстрата; является гликогенной аминокислотой; необходим для синтеза глутатиона - важнейшего компонента систем обезвреживания веществ в печени; обеспечивает синтез таурина; участвует в образовании HS-KoA, необходимого для активации органических кислот в клетках.

Цистеин в больших количествах содержится в белках цистатинах и гликопротеине муцине, вырабатываемых слюнными железами и необходимых для работы защитных систем полости рта. Развитие патологических процессов в полости рта сопровождается снижением их выработки, подавлением защитных функций слюны и развитием кариеса.

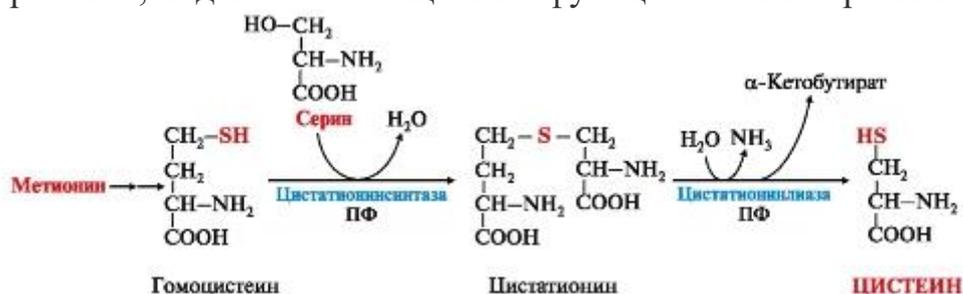


Рис. 7.38. Синтез цистеина



Рис. 7.39. Биологическая роль цистеина

Катаболизм цистеина происходит окислительным путем и приводит к образованию пирувата, что позволяет отнести его к гликогенным аминокислотам. Сульфит, который получается в ходе окисления цистеина, превращается в сульфат и выводится с мочой. Цистеин является практически единственным источником сульфатов мочи.

Метаболизм фенилаланина и тирозина в тканях

Фенилаланин - незаменимая аминокислота, так как в клетках тканей человека и животных не синтезируется ароматическое бензольное кольцо. Тирозин - условно заменимая аминокислота, образуется из фенилаланина. Содержание этих аминокислот в пищевых белках (в том числе и растительных) достаточно велико. Фенилаланин и тирозин используются для синтеза многих биологически активных соединений. В разных тканях метаболизм этих аминокислот происходит по-разному (рис. 7.40).

Фенилаланин используется в организме только в двух процессах: включается в состав белков и превращается в тирозин.

Превращение фенилаланина в тирозин, вероятно, необходимо для утилизации избытка фенилаланина, так как высокие концентрации его токсичны для клеток. Образование тирозина в большинстве тканей не имеет большого значения,



Рис. 7.40. Биологическая роль фенилаланина и тирозина

так как недостатка этой аминокислоты в клетках практически не бывает.

Основной путь метаболизма фенилаланина начинается с его гидроксирования, в результате которого образуется тирозин (рис. 7.41). До 90% фенилаланина превращаются в тирозин.

В печени здоровых людей небольшая часть фенилаланина (~10%) превращается в фенилпируват (кетокислоту), фениллактат и фенилацетилглутамин (рис. 7.42).

Процесс начинается реакцией трансаминирования фенилаланина с α -кетоглутаратом. Образовавшийся фенилпируват затем превращается в фениллактат или в фенилацетилглутамин, которые выходят в кровь и экскретируются почками. В норме эти метаболиты в крови практически не определяются.

При нарушении основного пути катаболизма фенилаланина - превращения в тирозин этот путь становится главным. В крови и моче повышается содержание фенилаланина и метаболитов альтернативного пути. Эти соединения оказывают токсическое действие на клетки мозга и вызывают нарушение умственного и физического развития, судорожный синдром, нарушение пигментации. Заболевание получило название фенилкетонурии (фенилпировиноградная олигофрения). Токсическое действие высоких концентраций фенилаланина и его производных связано с их способностью ограничивать транспорт тирозина и триптофана через гематоэнцефалический барьер и тормозить синтез нейромедиаторов (дофамина, норадреналина, серотонина).

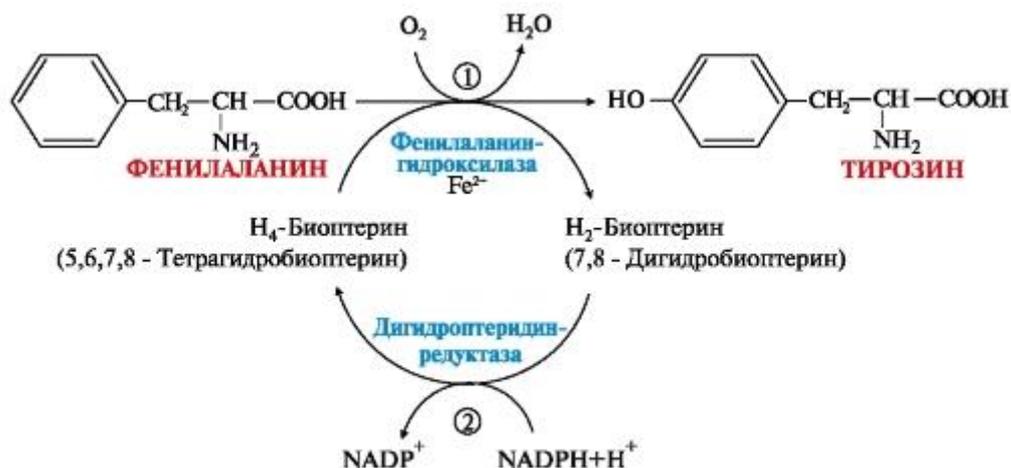


Рис. 7.41. Гидроксилирование фенилаланина и регенерация тетрагидробиоптерина (H₄БП)

Реакцию катализирует фенилаланингидроксилаза (1), коферментом которой является H₄БП. Кофактор - ионы Fe^{2+} . Реакция необратима. H₄БП в результате реакции окисляется в дигидробиоптерин (H₂БП). Регенерация дигидробиоптерина (2) происходит при участии дигидроптеридинредуктазы с использованием $\text{NADPH} + \text{H}$

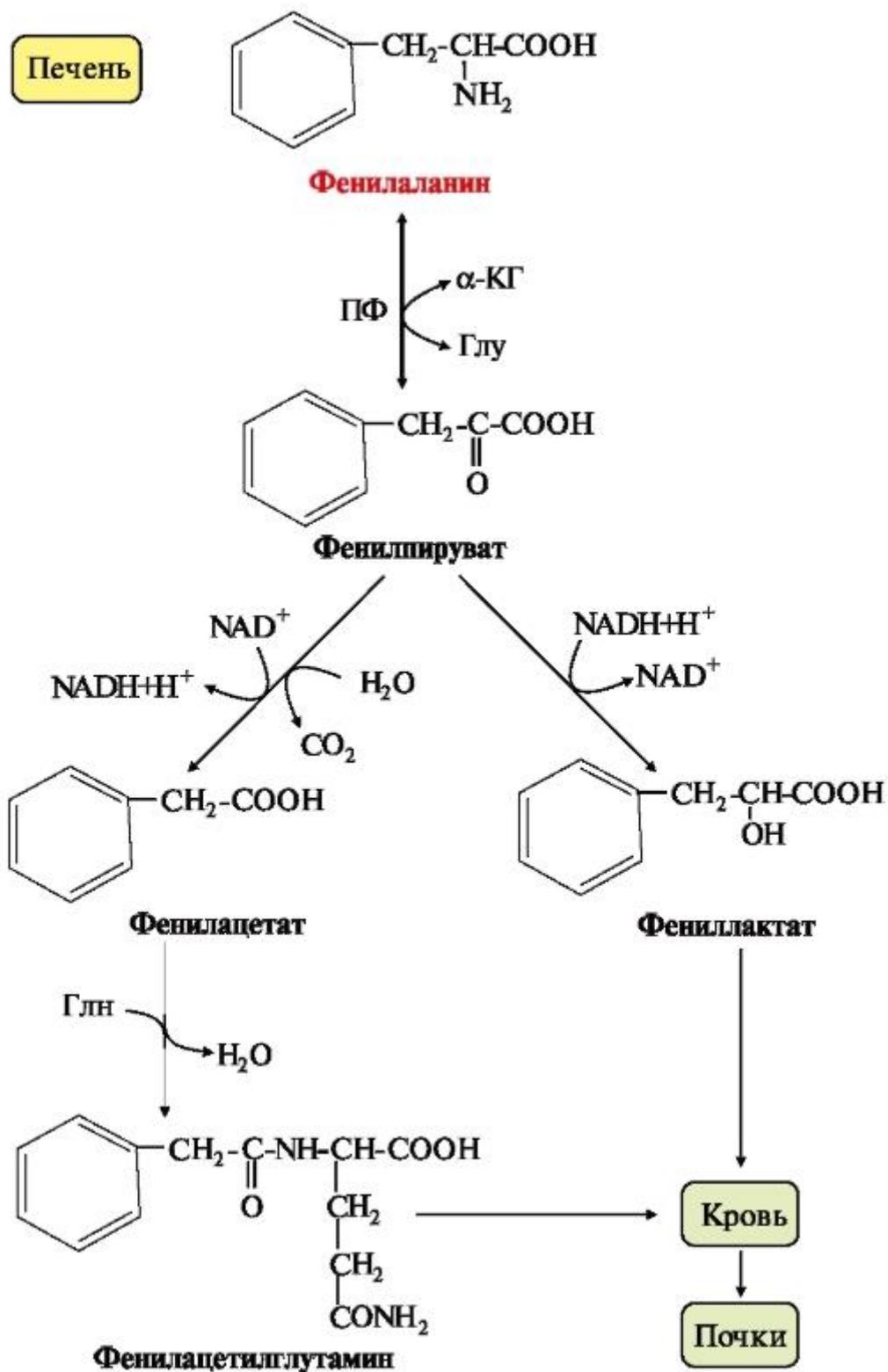


Рис. 7.42. Альтернативные пути катаболизма фенилаланина

Без лечения больные фенилкетонурией не доживают до 30 лет. Частота заболевания 1 на 10 000 новорожденных. Заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Известны две формы этого нарушения.

- Классическая фенилкетонурия, причиной которой является снижение активности фенилаланингидроксилазы или полная его инактивация.
- Вариантная фенилкетонурия (коферментзависимая гиперфенилаланинемия) развивается вследствие снижения скорости регенерации N_4BP и сопровождается нарушением метаболизма тирозина и триптофана. Встречается реже, чем классическая форма.

При фенилкетонурии содержание фенилаланина в крови повышается в 20-30 раз (норма 1,0-2,0 мг/дл), в моче - в 100-300 раз (норма 30,0 мг/дл). Уровень фенилпирувата и фениллактата в моче достигает 300-600 мг/дл при полном отсутствии их у здоровых людей.

Нарушение умственного и физического развития у больных фенилкетонурией могут предотвратить ранняя диагностика и строгая диета с исключением фенилаланина из рациона питания детей (до 7-10 лет).

Для диагностики фенилкетонурии определяют концентрацию фенилаланина и патологических метаболитов в крови и моче больного. Дефект гена фенилаланингидроксилазы можно обнаружить у гетерозиготных носителей с помощью методов ДНК-диагностики (см. раздел 3). Для выявления у новорожденных фенилкетонурии разработана схема скрининга.

Особенности обмена тирозина в различных тканях

Тирозин используется во многих важных процессах, причем пути его превращения в различных органах различаются. Он необходим для синтеза белков в тканях, а также является предшественником катехоламинов, тироксина, меланинов, катаболизм его происходит в печени (см. рис. 7.40).

Катаболизм тирозина

Специфический путь катаболизма тирозина протекает в печени и включает несколько ферментативных реакций, завершающихся образованием фумарата и ацетоацетата (рис. 7.43).

- Реакцию трансминирования тирозина с α -кетоглутаратом (1) катализирует тирозинаминотрансфераза (кофермент ПФ) - индуцируемый фермент печени млекопитающих. В результате образуется п-гидроксифенилпируват.

- Далее происходят гидроксилирование п-гидроксифенилпирувата, декарбоксилирование и перенос боковой цепи с образованием гомогентизиновой кислоты (2). Реакцию катализирует фермент п-гидроксифенилпируватдиоксигеназа, кофакторами которой являются витамин С и Fe^{2+} .

- Дальнейшее окисление гомогентизиновой кислоты катализирует диоксигеназа (оксидаза) гомогентизиновой кислоты (кофакторы - витамин С и Fe^{2+}) (3). В реакции происходит расщепление ароматического кольца с образованием фумарилацетоацетата.

Печень

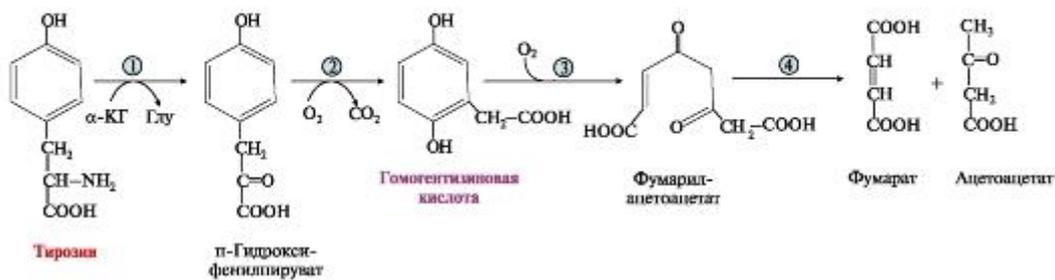


Рис. 7.43. Катаболизм тирозина в печени

- Фумарилацетоацетат при действии фумарилацетоацетатгидролазы превращается в фумарат и ацетоацетат (4). Фумарат включается в ЦТК, превращается в оксалоацетат и может использоваться в процессе глюконеогенеза. Ацетоацетат - кетоновое тело, которое окисляется до конечных продуктов с выделением энергии.

Известно наследственное нарушение обмена тирозина - алкаптонурия («черная моча»), которое возникает вследствие дефекта гена диоксигеназы гомогентизиновой кислоты (рис. 7.43). При этой патологии с мочой выделяется большое количество гомогентизиновой кислоты, которая при окислении кислородом воздуха образует алкаптоны - темные пигменты. Клиническими симптомами также являются пигментация соединительной ткани, приводящая к появлению черных пятен в хрящах (охроноз) и артрит. Встречается реже, чем фенилкетонурия, наследуется по аутосомно-рецессивному типу.

Превращение тирозина в меланоцитах

В пигментных клетках меланоцитах тирозин превращается в темные пигменты - меланины (от греч. *melas* - черный), представляющие собой нерастворимые высокомолекулярные гетерополимеры с неупорядоченной

структурой. Среди них преобладают два типа: эумеланины и феомеланины. Эумеланины - пигменты черного и коричневого цвета, феомеланины - полимеры желтого и красновато-коричневого цвета. Меланоциты сосредоточены в основном в волосах, коже и радужной оболочке глаза. Количество и распределение меланоцитов и содержание в них разных типов меланинов определяют цвет кожи, волос и сетчатки глаза человека.

Синтез меланинов является многоэтапным процессом, краткая схема синтеза основных типов меланинов представлена на рис. 7.44. Первую реакцию - превращение тирозина в ДОФА - катализирует тирозиназа, использующая в качестве кофактора ионы Cu^+ .

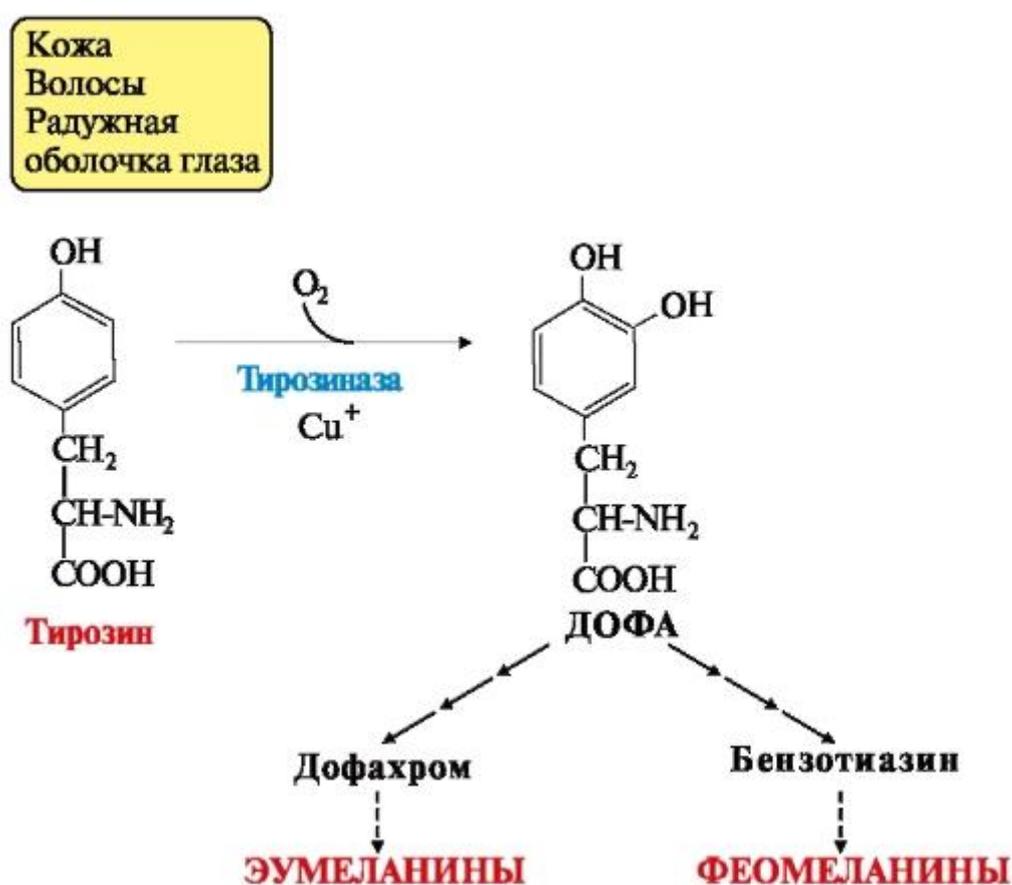


Рис. 7.44. Синтез меланинов

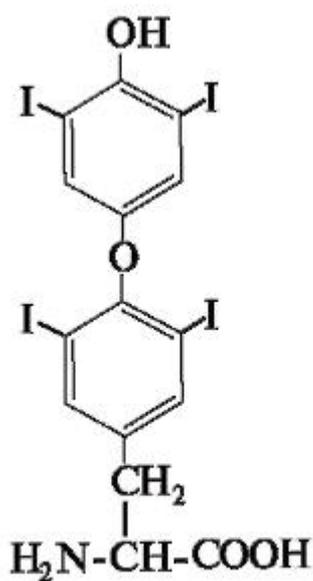
ДОФА затем превращается в меланины разных типов, основной функцией которых является защита организма от ультрафиолетового излучения. Они поглощают световую энергию видимой и ультрафиолетовой области, используя ее в обратимых окислительно-восстановительных реакциях и рассеивая в виде тепла.

Генетические нарушения синтеза меланинов проявляются как альбинизм и характеризуются полным или частичным нарушением пигментации кожи,

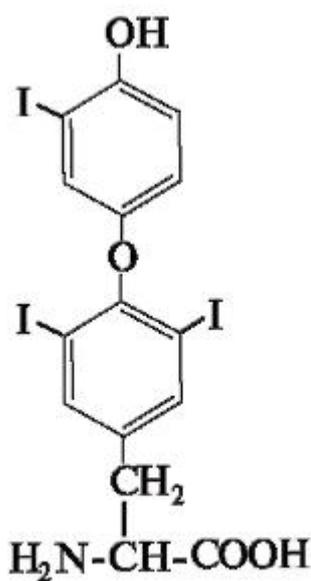
волос и глаз, светобоязнь и солнечными ожогами, а также снижением остроты зрения. Наиболее часто причиной альбинизма служит дефект гена тирозиназы в меланоцитах, но известны нарушения генов и других ферментов этого процесса

Превращение тирозина в щитовидной железе.

В щитовидной железе из тирозина синтезируются гормоны йодтиронины - тироксин (тетрайодтиронин) и трийодтиронин. По химической структуре они представляют собой конденсированные йодированные остатки тирозина:



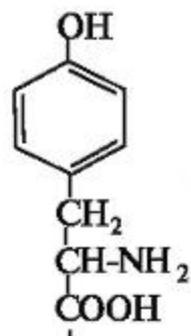
Тироксин



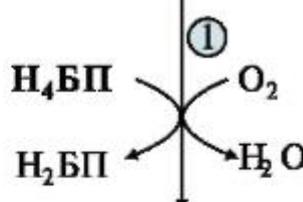
Трийодтиронин

Синтез гормонов происходит в составе большого белка тиреоглобулина, богатого тирозином (до 10%). Нарушение их синтеза приводит к гипотиреозу и наблюдается как при наследственных дефектах (микседема, кретинизм) или тиреоидэктомии (удалении щитовидной железы при базедовой болезни), так и в результате недостатка йода в пище и воде в регионе (эндемический зоб).

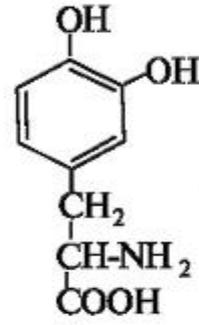
Нервная ткань
Надпочечники



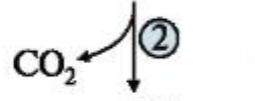
Тирозин



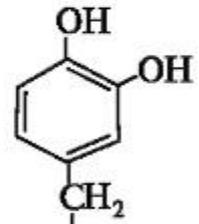
Тирозингидроксилаза
 Fe^{2+}



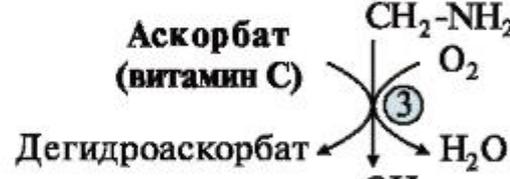
ДОФА



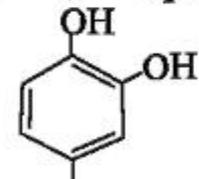
ДОФА-декарбоксилаза
ПФ



ДОФАМИН

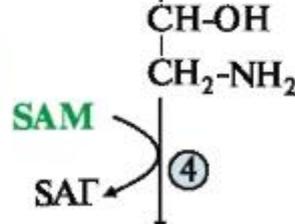


Дофамингидроксилаза

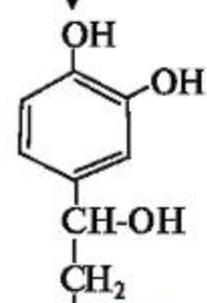


НОРАДРЕНАЛИН

Надпочечники



Метилтрансфераза



АДРЕНАЛИН

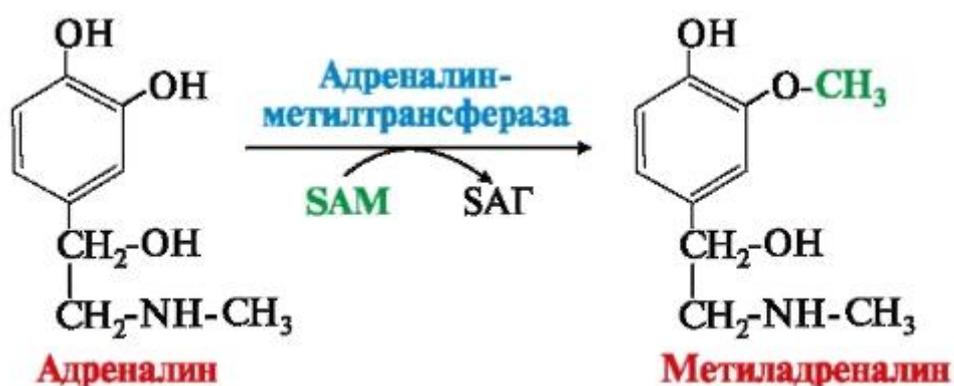
Рис. 7.45. Синтез катехоламинов

- Процесс начинается с гидроксирования тирозина и образования диоксифенилаланина (ДОФА), которое катализирует тирозингидроксилаза (1), использующая кофермент H₄БП и ионы Fe²⁺ в качестве кофактора. Этот фермент является регуляторным и определяет скорость синтеза катехоламинов. Основным регулирующим фактором является содержание норадреналина и адреналина. Гормон кортизол индуцирует синтез фермента при длительном голодании.
- ДОФА-декарбоксилаза (2) в присутствии кофермента ПФ катализирует образование дофамина.
- Дофамин под действием дофамингидроксилазы (3) далее превращается в норадреналин. Для функционирования фермента необходимы ионы Си⁺ и витамин С (аскорбат). В нервной ткани эта реакция завершает процесс.
- В мозговом веществе надпочечников норадреналинметилтрансфераза (4) катализирует метилирование норадреналина, в результате чего образуется адреналин. Источником метильной группы служит SAM

Превращение тирозина в надпочечниках и нервной ткани (синтез катехоламинов).

В мозговом веществе надпочечников и нервной ткани тирозин является предшественником катехоламинов (дофамина, норадреналина и адреналина) (рис. 7.45):

Инактивация катехоламинов дофамина и норадреналина происходит путем окислительного дезаминирования с помощью FAD-зависимого фермента моноаминоксидазы (МАО). Образующиеся окисленные формы (соответствующие альдегиды либо кислоты) хорошо растворимы в воде и выводятся из организма почками. Инактивация адреналина происходит путем метилирования гидроксильной группы в орто-положении с участием SAM:



Образующийся метиладреналин поступает в печень, где происходит его конъюгация с глюкуроновой или серной кислотой и последующее выведение.

Дофамин и норадреналин являются нейромедиаторами разных отделов головного мозга и участвуют в синаптической передаче нервных импульсов, а адреналин - полифункциональный гормон, регулирующий энергетический обмен в скелетных мышцах и сердечно-сосудистую систему.

Известно несколько наследственных заболеваний, связанных с дефектом ферментов обмена тирозина.

Нарушение синтеза катехоламинов (рис. 7.45) может вызывать нервно-психические заболевания, причем отклонения от нормы наблюдаются как при снижении, так и при увеличении их количества.

Болезнь Паркинсона развивается при недостаточности дофамина в черной субстанции мозга, считается одним из самых распространенных неврологических заболеваний у людей старше 60 лет. Сопровождается снижением активности тирозингидроксилазы или ДОФА-декарбоксилазы. При этом заболевании наблюдаются акинезия (скованность движений), ригидность (напряжение мышц) и тремор (непроизвольное дрожание конечностей). Дофамин не проникает через гематоэнцефалический барьер, поэтому для лечения паркинсонизма используются производные ДОФА как предшественники дофамина (леводопа, мадопар, наком и др.) - для заместительной терапии или ингибиторы MAO (депренил, ниаламид, пиразидол и др.) для подавления инактивации дофамина.

Депрессивные состояния часто связаны со снижением в нервных клетках содержания дофамина и норадреналина.

При шизофрении наблюдается гиперсекреция дофамина в височной доле мозга.

Биологическая роль аргинина

Обмен аминокислоты аргинина связан с реакциями орнитинового цикла, которые можно рассматривать как путь синтеза аргинина. Под действием аргиназы в цикле происходит и распад аргинина на орнитин и мочевины.

Аргинин выполняет в организме важные функции:

- используется в синтезе креатина, который в форме креатинфосфата способен служить источником энергии для работы мышц человека и млекопитающих. В мышцах беспозвоночных аналогичную энергетическую функцию способен выполнять аргининфосфат;
- является источником оксида азота (NO) в организме;
- служит предшественником орнитина, из которого синтезируются биологически активные полиамины спермидин и спермин;
- используется для синтеза белков. Аминокислота аргинин служит в организме

источником оксида азота (рис. 7.46). Образование NO в клетках катализирует сложный Ca^{2+} -зависимый ферментный комплекс NO-синтаза. В состав фермента входит гем, коферменты FAD и FMN, H₄БП, а также ионы Zn^{2+} . Образование NO происходит во всех органах и тканях. В разных тканях обнаружены 3 изоферментные формы NO-синтазы: нейрональная и эпителиальная конститутивные и индуцибельная, которая преобладает в печени, мышцах, миокарде.

Оксид азота является сигнальной молекулой и активирует гуанилатциклазу, стимулируя образование cGMP. Это вызывает снижение силы

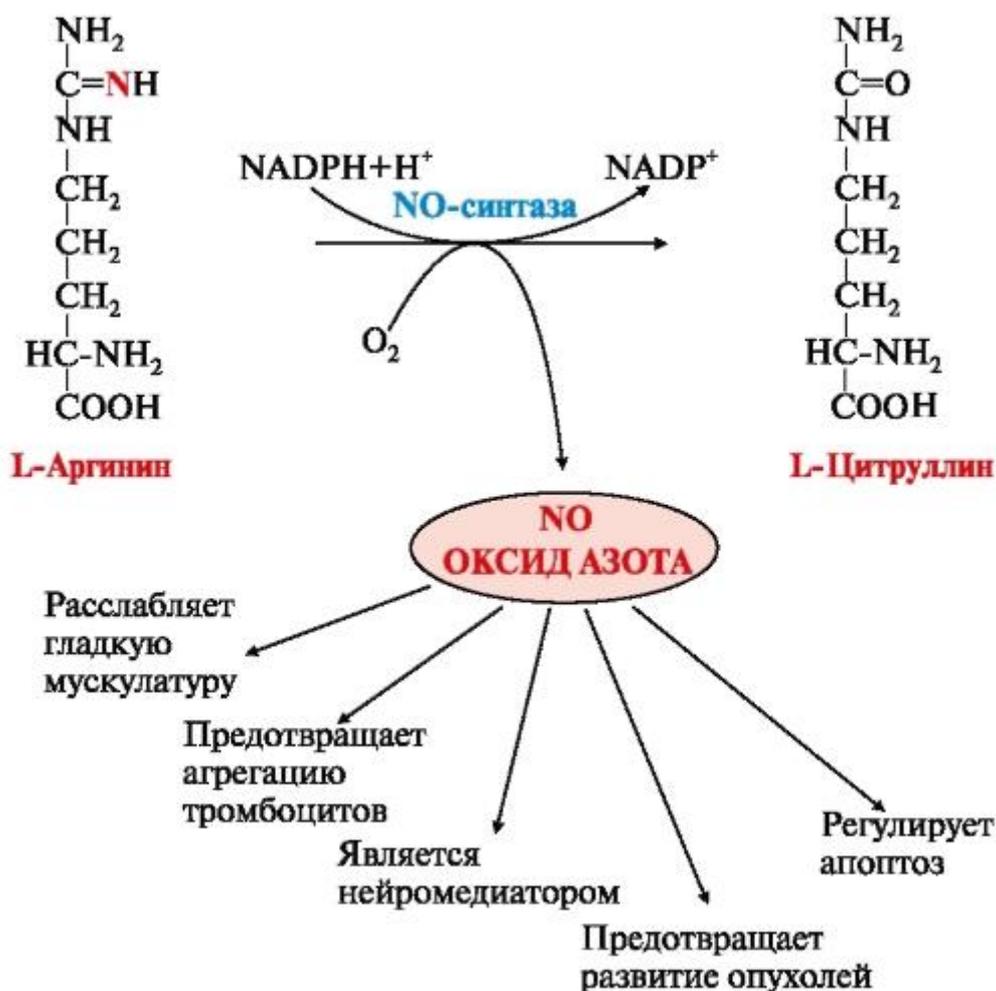
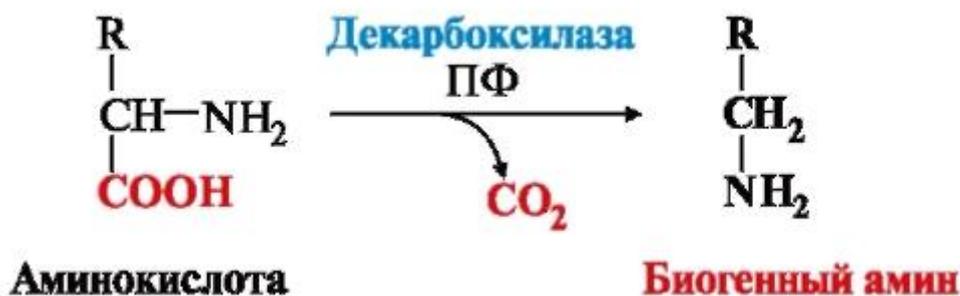


Рис. 7.46. Биосинтез и биологическая роль оксида азота

сердечных сокращений, регулирует тонус сосудов. NO-радикал также участвует в регуляции скорости апоптоза, предотвращает агрегацию тромбоцитов и тромбоз, регулирует секрецию медиаторов и гормонов, обладает антиканцерогенной активностью

7.10. ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ. БИОГЕННЫЕ АМИНЫ

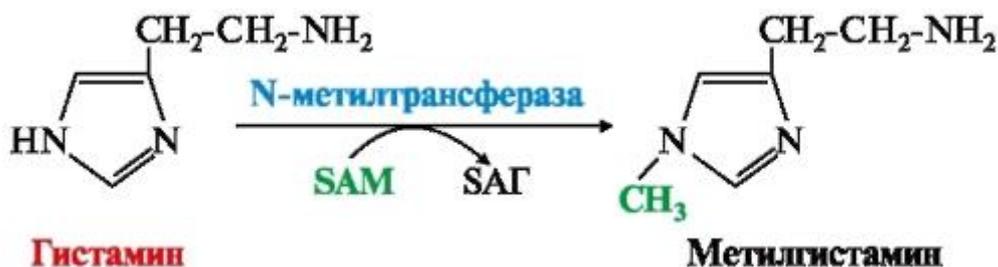
Некоторые аминокислоты и их производные подвергаются декарбоксилированию - отщеплению α -карбоксильной группы. В результате реакции образуются CO_2 и амины, причем некоторые из них оказывают выраженное биологическое действие на организм (биогенные амины):



Реакции декарбоксилирования необратимы и катализируются ферментами декарбоксилазами, коферментом которых в клетках человека является пиридоксальфосфат (производное витамина В₆).

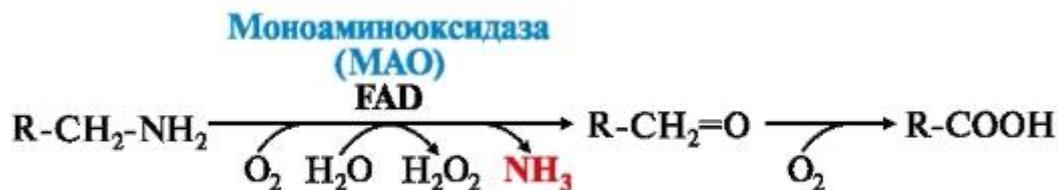
С помощью декарбоксилирования аминокислот синтезируются нейромедиаторы (серотонин, дофамин, ГАМК и др.), гормоны (норадреналин, адреналин), регуляторные факторы местного действия (гистамин и др.).

Для осуществления биологической функции в нервных клетках требуется определенная концентрация биогенных аминов. Синтез и секреция их строго регулируются и происходят в ответ на определенные сигналы. Избыточное накопление может вызывать различные патологические состояния. В связи с этим большое значение имеют механизмы инактивации биогенных аминов, Существует два способа инактивации биогенных аминов и некоторых гормонов. • Метилирование с участием SAM под действием метилтрансфераз. Таким способом могут инактивироваться различные биогенные амины, но чаще всего гистамин и адреналин:



Метилированные производные биогенных аминов обычно теряют биологическую активность, в печени подвергаются конъюгации с глюкуроновой или серной кислотой и выводятся из организма или же окисляются MAO. • Окисление ферментами MAO с коферментом FAD. Таким путем чаще происходит инактивация дофамина, норадреналина, серотонина, ГАМК. При этом происходит окислительное дезаминирование

биогенных аминов с образованием альдегидов, а затем соответствующих кислот, которые выводятся почками.



Синтез и биологическая роль серотонина

Триптофан - незаменимая аминокислота, в организме используется для синтеза белков, нейромедиатора серотонина, гормона мелатонина, способен превращаться в никотиновую

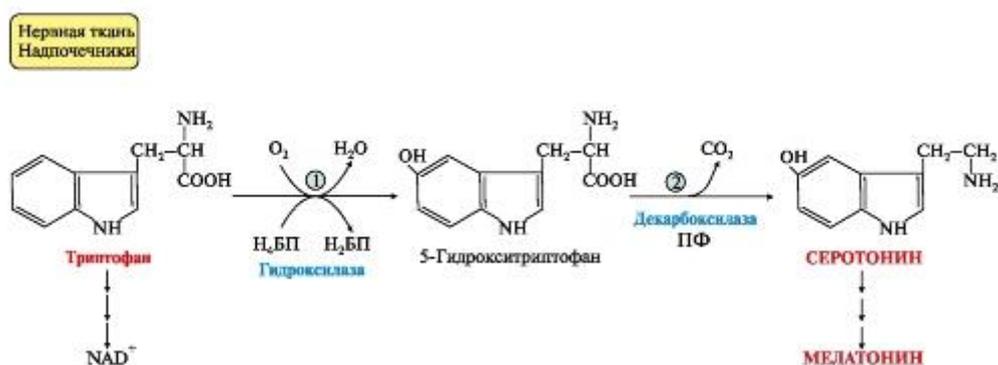


Рис. 7.47. Синтез серотонина, мелатонина и NAD⁺ из триптофана

- В нервной ткани и надпочечниках из триптофана синтезируется 5-гидрокситриптофан под действием фенилаланингидроксилазы с коферментом H₄BP (1). Фермент обладает специфичностью и к другим ароматическим аминокислотам и гидроксилирует фенилаланин.
- 5-Гидрокситриптофан в результате действия декарбоксилазы ароматических аминокислот (ДОФА-декарбоксилазы) превращается в серотонин (2). Этот фермент также декарбоксилирует триптофан и ДОФА.
- Большая часть триптофана превращается в кинуренин и затем через несколько стадий в кофермент NAD⁺.

кислоту и NAD⁺, уменьшая потребность организма в витамине PP.

Серотонин - нейромедиатор проводящих путей, образуется в надпочечниках, центральной нервной системе и в небольших количествах в слюнных железах из аминокислоты триптофан (рис. 7.47).

Серотонин - биологически активное вещество широкого спектра действия. Он стимулирует сокращение гладкой мускулатуры, перистальтику кишечника, оказывает сосудосуживающее действие, регулирует артериальное давление, температуру тела, дыхание, обладает антидепрессантным свойством («гормон удовольствия»), принимает участие в аллергической реакции, поскольку в небольших количествах синтезируется в тучных клетках.

В эпифизе (шишковидной железе) серотонин может превращаться в гормон мелатонин (см. рис. 7.47), регулирующий суточные и сезонные изменения метаболизма организма и участвующий в регуляции репродуктивной функции.

Синтез и биологическая роль ацетилхолина

Ацетилхолин синтезируется в нервной ткани и является одним из важнейших возбуждающих нейромедиаторов вегетативной нервной системы.

Предшественником его является аминокислота серин (рис. 7.48).



Рис. 7.48. Синтез ацетилхолина

В синаптической щели при проведении нервного импульса происходит гидролиз ацетилхолина под действием ацетилхолинэстеразы. Нарушение действия ацетилхолина в синапсах в результате аутоиммунного разрушения его рецепторов может вызвать миастению - мышечную слабость.

Синтез и биологическая роль γ -аминомасляной кислоты (ГАМК)

В нервных клетках декарбоксилирование глутамата в α -положении приводит к образованию ГАМК, которая является основным тормозным медиатором высших отделов мозга (рис. 7.49).

Метаболизм ГАМК в головном мозге приводит к образованию сукцината, который используется в цитратном цикле. Инактивация ГАМК возможна и окислительным путем под действием MAO.

Содержание ГАМК в головном мозге в десятки раз выше других нейромедиаторов. Она увеличивает проницаемость постсинаптических

мембран для ионов K^+ , что вызывает торможение нервного импульса; повышает дыхательную активность нервной ткани, улучшает кровоснабжение головного мозга.

Синтез и биологическая роль гистамина

Аминокислота гистидин в разных тканях подвергается действию различных ферментов и включается в разные метаболические пути (рис. 7.50): синтез белков, катаболизм до конечных продуктов, синтез гистамина, образование карнозина и анзерина.



Рис. 7.49. Синтез и катаболизм ГАМК

В печени и коже гистидин подвергается дезаминированию под действием фермента гистадазы с образованием уроканиновой кислоты. Ферменты гистадаза и уроканиназа (см. рис. 7.50) являются гепатоспецифическими, поэтому их определение используется для диагностики поражений печени и нервных клетках.

Гистамин образуется путем декарбоксилирования гистидина в тучных клетках соединительной ткани:



Гистамин образует комплекс с белками и сохраняется в секреторных гранулах тучных клеток. Секретируется в кровь при повреждении ткани (удар, ожог, воздействие эндо- и экзогенных веществ), развитии иммунных и аллергических реакций. Гистамин выполняет в организме человека следующие функции:

- стимулирует секрецию желудочного сока, слюны, т.е. является пищеварительным гормоном;

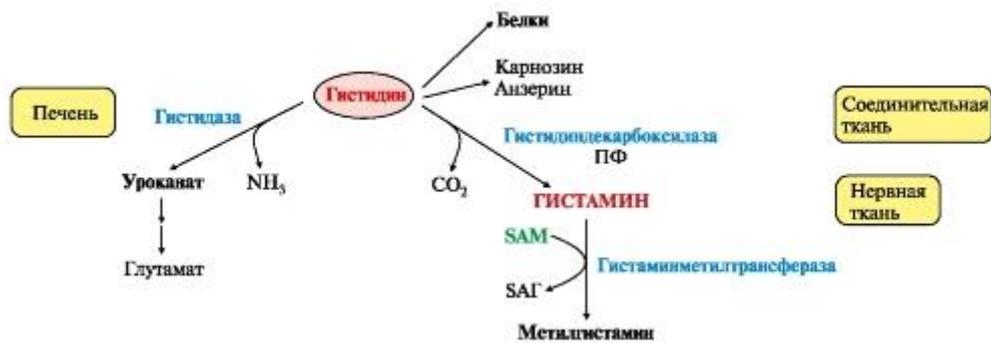


Рис. 7.50. Обмен гистидина и синтез гистамина в тканях

- повышает проницаемость капилляров, вызывает отеки, снижает артериальное давление (но увеличивает внутричерепное давление, вызывает головную боль);
- сокращает гладкую мускулатуру легких, вызывает удушье;
- участвует в формировании воспалительной реакции - вызывает расширение сосудов, покраснение кожи, отечность ткани;
- вызывает аллергическую реакцию;
- выполняет роль нейромедиатора;
- является медиатором боли.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выберите правильные ответы. Серин используется для синтеза:

- А. Ацетилхолина.
- Б. Фосфатидилхолина.
- В. Метионина. Г. Глюкозы.
- Д. Адреналина.

2. Выберите правильные ответы. Глицин является предшественником:

- А. Гема.
- Б. Аденина.
- В. Желчных кислот. Г. Глутатиона.
- Д. Креатина.

3. Выберите правильные ответы.

а) N_4 -фолат и его производные участвуют в:

А. Реакциях декарбоксилирования. Б. Синтезе пуриновых нуклеотидов.

В. Реакциях обмена серина и глицина.

Г. Переносе одноуглеродных фрагментов. Д. Синтезе тимидиловой кислоты.

б) напишите схему образования кофермента N_4 -фолата из соответствующего витамина в печени, перечислите его производные и укажите их биологическую функцию.

4. Выберите правильные ответы. Метионин:

А. Может активироваться и использоваться в реакциях метилирования.

Б. Иницирует процесс трансляции.

В. Участвует в обезвреживании соединений в печени.

Г. Служит источником серы для синтеза цистеина. Д. Превращается в гомоцистеин.

5. Выберите правильный ответ. Креатин:

А. Синтезируется в мышцах.

Б. Фосфорилируется в мышцах.

В. Используется как источник энергии в печени.

Г. Является конечным продуктом обмена аминокислот.

Д. Используется для поддержания кислотно-щелочного баланса в почках.

6. Выполните «цепное» задание.

а) катаболизм фенилаланина в печени начинается с реакции:

А. Декарбоксилирования. Б. Трансметиличования.

В. Дегидрирования.

Г. Гидроксилирования. Д. Трансаминирования.

б) реакцию катализирует фермент:

А. Дегидрогеназа.

Б. Метилтрансфераза.

В. Декарбоксилаза. Г. Гидроксилаза.

Д. Аминотрансфераза.

в) для работы этого фермента необходим кофермент:

А. Пиридоксальфосфат. Б. N_4 -фолат.

В. Тиаминдифосфат.

Г. NAD^+ .

Д. N_4 -биоптерин.

г) дефицит этого кофермента или мутации в гене названного фермента вызывают:

А. Альбинизм.

Б. Алкаптонурию.

В. Микседему (гипотиреоз). Г. Фенилкетонурию.

Д. Паркинсонизм.

д) напишите схему катаболизма фенилаланина в печени, на схеме отметьте реакцию, которая нарушается при данном заболевании.

7. Установите соответствие.

А. Фенилаланинтрансаминаза. Б. Фенилаланингидроксилаза.

В. Тирозингидроксилаза. Г. Дофамингидроксилаза. Д. ДОФА-декарбоксилаза.

1. Превращает Фен в Тир.

2. Образует ДОФА.

3. Синтезирует дофамин.

8. Выберите правильные ответы.

В миокарде и других тканях из аргинина синтезируется NO, который используется для:

А. Расслабления гладкой мускулатуры. Б. Регуляции скорости апоптоза.

В. Активации гуанилатциклазы.

Г. Снижения силы сердечных сокращений.

Д. Регуляции секреции медиаторов и гормонов.

9. Заполните табл. 7.3.

10. Установите соответствие Необходимый витамин:

А. Пантотеновая кислота. Б. Пиридоксин.

В. Рибофлавин.

Г. Никотиновая кислота. Д. Тиамин. Процесс:

1. Синтез биогенных аминов.

2. Инактивация окислительным путем.

3. Непрямое дезаминирование аминокислот

11. Выполните «цепное» задание.

а) в тучных клетках соединительной ткани на гистидин действует фермент:

А. Гистидаза.

Б. Гистидиндекарбоксилаза.

В. Метилтрансфераза.

Г. МАО.

Д. Гистидинаминотрансфераза.

б) продуктом этого фермента являются:

А. Уроканат. Б. Глутамат.

В. Гистамин.

Г. CO_2 .

Д. α -Кетоглутарат.

в) названное соединение используется как:

А. Источник энергии. Б. Медиатор воспаления.

В. Донор одноуглеродного фрагмента. Г. Сосудосуживающее средство. Д. Противоаллергический лекарственный препарат.

г) инактивацию этого соединения в печени осуществляет фермент:

А. Гидроксилаза. Б. Дегидрогеназа.

В. Метилтрансфераза. Г. Декарбоксилаза.

Д. Редуктаза.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. При стоматите и других воспалительных заболеваниях полости рта часто назначают фолиевую кислоту с целью ускорения регенерации слизистой оболочки. Объясните механизм действия витаминного препарата. Для этого:

а) назовите кофермент, который синтезируется из фолиевой кислоты, напишите схему его образования, укажите место синтеза;

б) перечислите производные этого кофермента и их биологическую роль;

в) укажите, как может проявляться гиповитаминоз фолиевой кислоты

2. Креатинин обнаруживается в слюне человека, причем его количество коррелирует с содержанием в крови. Объясните, какую роль играет в организме его непосредственный предшественник. Для этого:

а) назовите соединение, продуктом распада которого является креатинин;

б) напишите схему синтеза этого вещества, укажите ферменты, локализацию реакций;

в) укажите, какова функция этого соединения в тканях;

г) назовите, для диагностики каких заболеваний нужно определять содержание креатинина в крови и моче.

Таблица 7.3

Предшественники и биологическая роль основных биогенных аминов

	Серин	Триптофан	Тирозин	Глутаминовая кислота	Гистидин
Продукты декарбоксилирования					
Биологически активные вещества					
Формулы					
Физиологическая роль					

3. Смешанная слюна является основным источником норадреналина, регулирующего состояние и функционирование слизистых оболочек полости рта, пищевода и желудка. При ксеростомии (ослаблении секреции слюны) развиваются воспалительно-дистрофические процессы в слизистых оболочках тканей этих органов. Объясните биологическую роль катехоламинов. Для этого:

а) напишите схему синтеза катехоламинов в надпочечниках, укажите ферменты;

б) перечислите биологические функции норадреналина, предположите его роль в секреции слюны;

в) напишите реакции инактивации норадреналина и адреналина, укажите ферменты, коферменты.

4. При пародонтите в очаге воспаления повышается содержание гистамина и серотонина. Объясните значение этого явления, вспомнив биологическую роль этих соединений. Для этого:

а) перечислите функции гистамина и серотонина в организме;

б) напишите реакции синтеза гистамина и серотонина, укажите ферменты, их локализацию и необходимые коферменты;

в) назовите способы инактивации биогенных аминов, напишите схемы инактивации гистамина и серотонина.

5. Ноотропные средства используются для стабилизации нарушенных функций мозга при психических заболеваниях, у пожилых людей и детей. Основным препаратом этой группы - пирацетам (ноотропил) является синтетическим аналогом ГАМК, кроме того, он способен усиливать синтез дофамина и повышает уровень норадреналина. Объясните механизм действия этого препарата при заболеваниях мозга. Для этого:

а) вспомните биологическую роль биогенных аминов (ГАМК, дофамина, норадреналина);

б) напишите реакцию синтеза ГАМК, укажите фермент, кофермент;

в) напишите реакцию инактивации ГАМК, назовите фермент.

РАЗДЕЛ 8. ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ



Основные темы раздела:

8.1. Биосинтез и катаболизм пуриновых нуклеотидов. Гиперурикемия и подагра.

8.2. Биосинтез и катаболизм пиримидиновых нуклеотидов.

8.3. Образование дезоксирибонуклеотидов.

8.4. Ферменты синтеза нуклеотидов как мишени действия противовирусных и противоопухолевых препаратов.

В организме нуклеотиды и их производные выполняют многообразные функции.

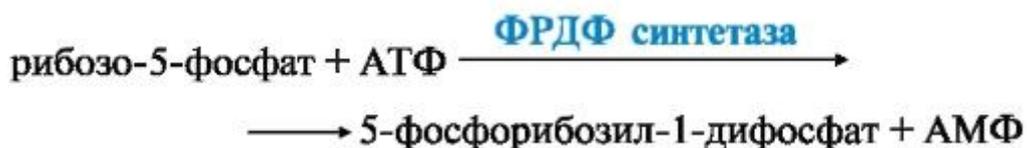
- Рибо- и дезоксирибонуклеозидтрифосфаты являются субстратами в синтезе ДНК и РНК.
- Цикл АДФ-АТФ обеспечивает трансформацию энергии окисления в энергию синтетических процессов и других видов работы клетки.
- Производные нуклеотидов участвуют в синтезе гомо- и гетерополисахаридов, липидов и белков, используются в работе

универсальной системы детоксикации, обеспечивающей выведение чужеродных веществ и конечных продуктов метаболизма из организма.

- АМФ входит в состав коферментов дегидрогеназ - NAD⁺, NADP⁺, FAD, и кофермента ацилирования - HS-КоА.
- цАМФ и цГМФ - вторичные вестники сигнала гормонов, факторов роста, эйкозаноидов, нейромедиаторов и других регуляторных молекул клетки.

Почти все клетки способны к синтезу нуклеотидов, и это главный источник этих молекул в организме. Продукты расщепления нуклеиновых 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 могут быть пентозофосфатный путь превращения глюкозы или пентозы, образующиеся в тканях при распаде нуклеиновых кислот и нуклеотидов.

8.1. БИОСИНТЕЗ И КАТАБОЛИЗМ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ. ГИПЕРУРИКЕМИЯ И ПОДАГРА

Биосинтез пуриновых нуклеотидов происходит путем сборки пуринового гетероциклического основания на остатке рибозо-5-фосфата при участии простых предшественников: глицина, СО₂, амидного азота глутамина, α-аминогруппы аспартата и одноуглеродных производных N₄- фолата (рис. 8.1). Сначала формируется 5-членное кольцо, а затем - 6-членное с образованием первого пуринового нуклеотида - инозинмонофосфата (ИМФ). Источником всех 4 атомов азота пурина являются аминокислоты: два атома поступают из Глн, один - из Асп и еще один - из Гли. Два из пяти углеродных атомов принадлежат Гли, два других - производным N₄-фолата и пятый - из СО₂.

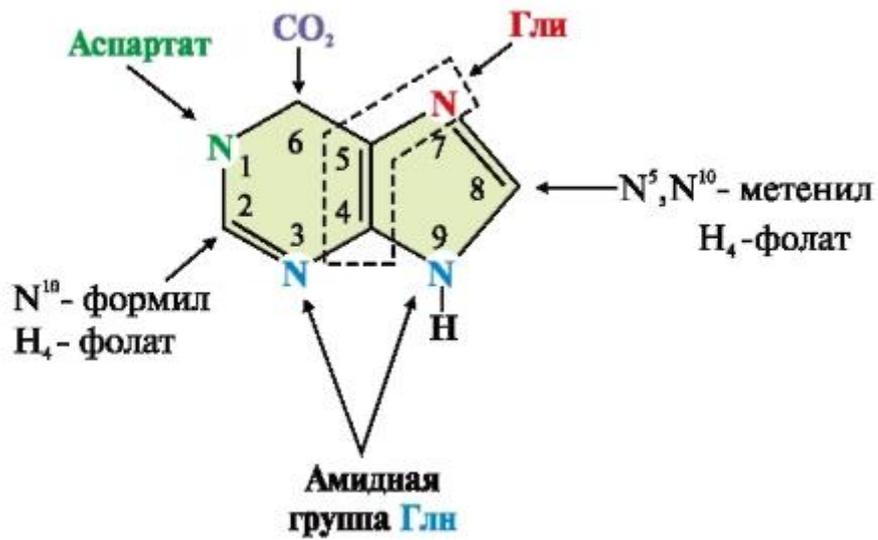


Рис. 8.1. Происхождение атомов Си Nв пуриновом основании

Скорость-лимитирующей и регуляторной стадией процесса является образование 5-фосфори- бозил-1-амин, которую катализирует амидофосфорибозилтрансфераза (рис. 8.2).

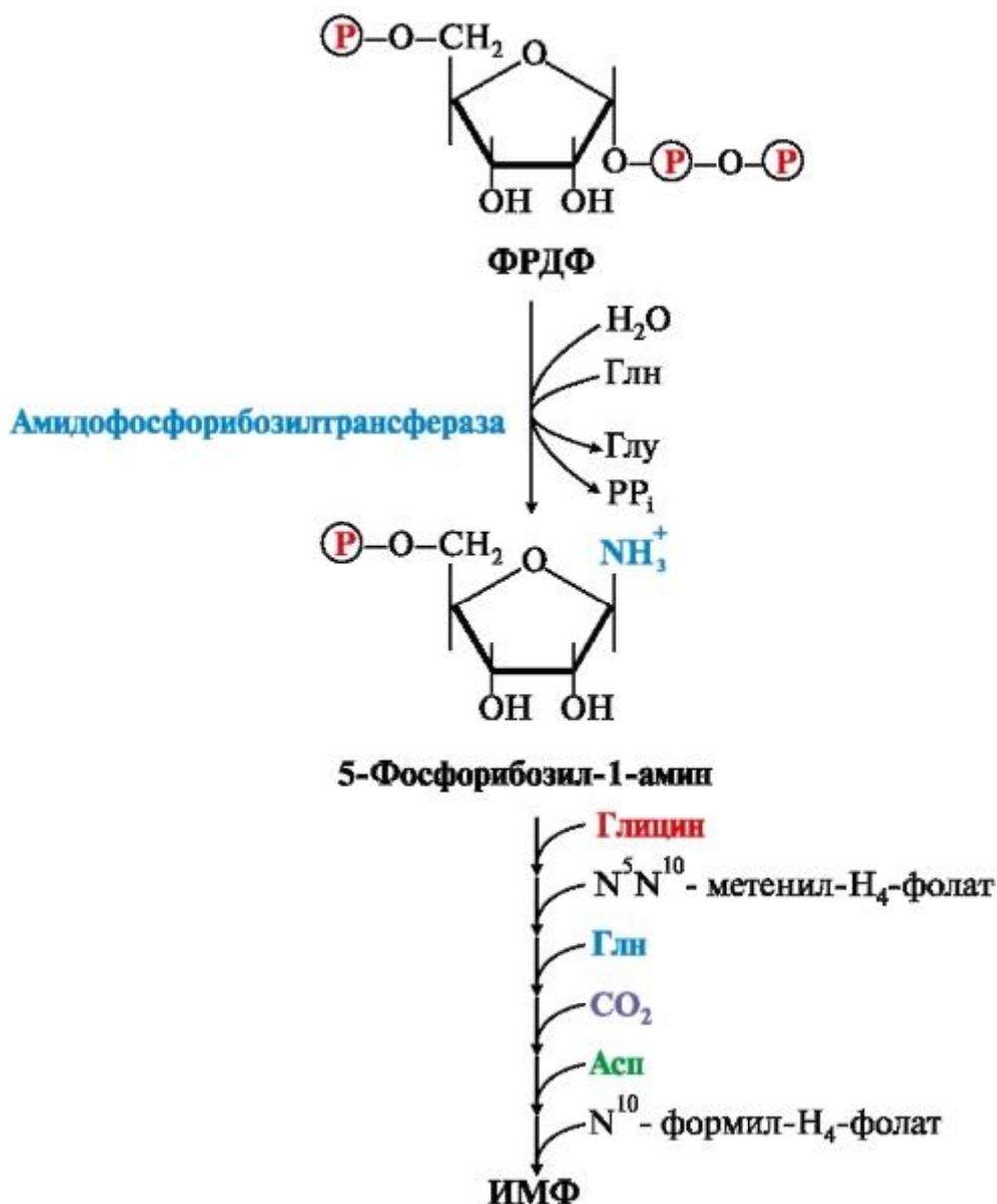


Рис. 8.2. Синтез 5-фосфорибозил-1-амин и образование ИМФ

В ходе этой реакции амидная группа Глн переносится на ФРДФ, замещая пирофосфатный остаток. Синтез первого пуринового нуклеотида - ИМФ включает 10 стадий и идет с затратой 6 моль АТФ. Все реакции протекают в цитозоле клетки. Остальные пуриновые нуклеотиды - АМФ и ГМФ - образуются из ИМФ в каждом случае в ходе двух последовательных реакций (рис. 8.3).

Нуклеозидди- и трифосфаты синтезируются при участии АТФ и ферментов нуклеозидмонофосфаткиназ (НМФ-киназ) и нуклеозиддифосфаткиназ (НДФ-киназ). Так, АДФ образуется в реакции, катализируемой аденилаткиназой:



ГДФ - в реакции, которую катализирует гуанилаткиназа:



НДФ-киназа осуществляет синтез НТФ, в частности превращает ГДФ в ГТФ:

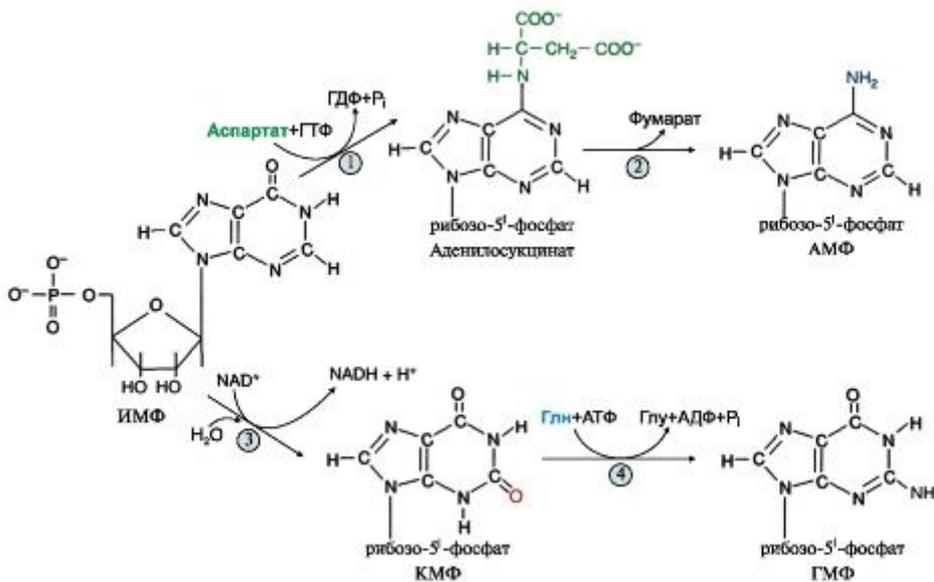


Рис. 8.3. Синтез АМФ и ГМФ из ИМФ

АМФ синтезируется при участии аденилосукцинатсинтетазы (1) и аденилосукциназы (2), ГМФ - при участии ИМФ-дегидрогеназы (3) и ГМФ-синтетазы (4). КМФ - ксантозин-5'-монофосфат

Образование АТФ из АДФ в основном происходит за счет окислительного фосфорилирования или частично в реакциях субстратного фосфорилирования гликолиза, цитратного цикла, в процессе использования креатинфосфата в мышцах.

Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов осуществляется аллостерически. Регуляторными ферментами являются: ФРДФ-синтетаза, амидофосфорибозилтрансфераза, ИМФ-дегидрогеназа, аденилосукцинатсинтетаза (рис. 8.4).

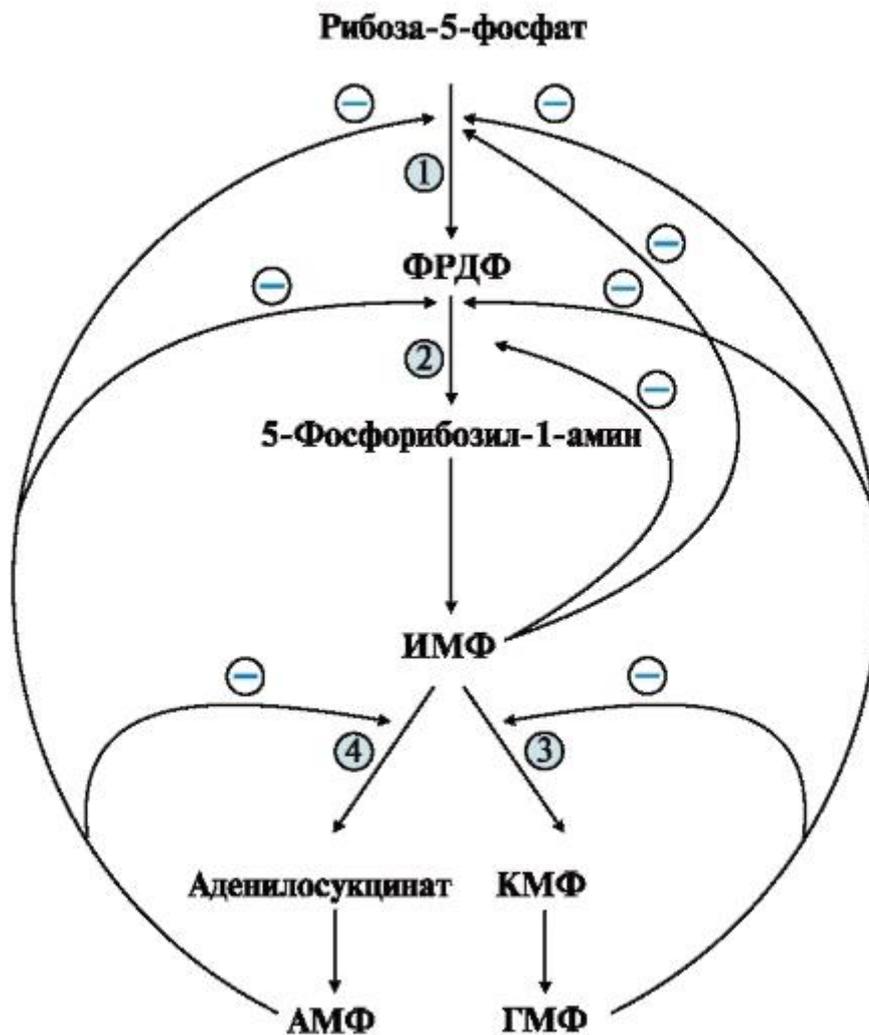


Рис. 8.4. Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов

1 - ФРДФ-синтетаза; 2 - амидофосфорибозилтрансфераза; 3 - ИМФ-дегидрогеназа; 4 - аденилосукцинатсинтетаза

Конечные продукты процесса (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 регуляторных ферментов, находящихся на разветвлении метаболического пути, - аденилосукцинатсинтетазы и ИМФ-дегидрогеназы - снижается лишь при увеличении количества конечного продукта, образующегося в каждой из ветвей. АМФ ингибирует превращение ИМФ в аденилосукцинат, а ГМФ - превращение ИМФ в КМФ, обеспечивая таким образом сбалансированное содержание адениловых и гуаниловых нуклеотидов.

Запасные пути синтеза пуриновых нуклеотидов

В периоды активного роста тканей синтез пуриновых нуклеотидов из простых предшественников не способен полностью обеспечить нуклеиновые кислоты субстратами. Заметную роль в этих условиях играют ферменты запасных путей синтеза или путей спасения нуклеотидов

(рис. 8.5):

- гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфера-

за, катализирующая превращение азотистых оснований гипоксантина и гуанина в нуклеотиды ИМФ и ГМФ с использованием ФРДФ в качестве донора фосфорибозы;

- аденинфосфорибозилтрансфераза, обеспечивающая образование АМФ из аденина и

ФРДФ;

- аденозинкиназа, возвращающая в фонд нуклеотидов нуклеозид-аденозин за счет переноса фосфатного остатка АТФ на 5'-гидрок- сильную группу остатка рибозы.

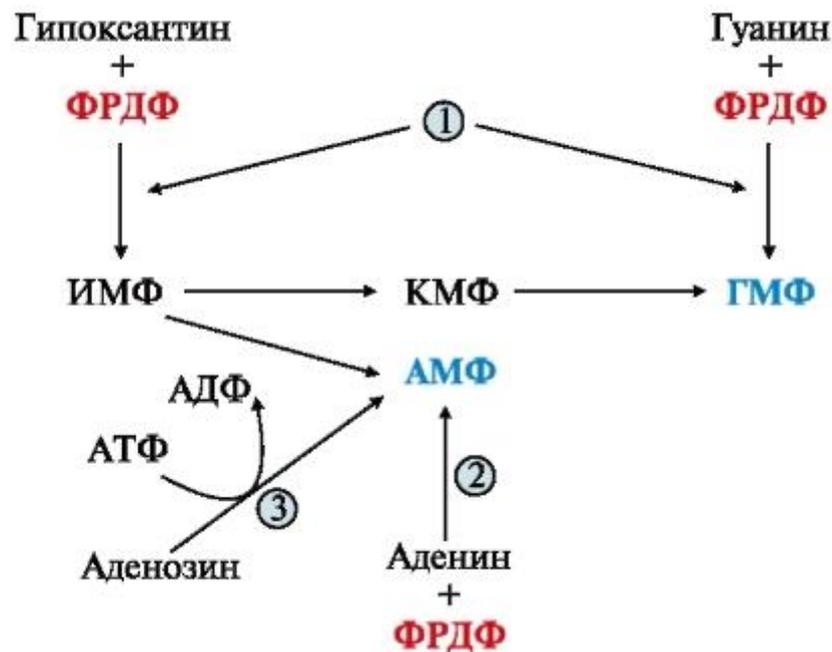


Рис. 8.5. Запасные пути синтеза пуриновых нуклеотидов

1 - гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза;

2 - аденинфосфорибозилтрансфераза; 3 - аденозинкиназа

Катаболизм пуриновых нуклеотидов у человека заканчивается образованием мочевой кислоты. Первоначально нуклеотиды дефосфорилируются в реакциях, катализируемых фосфатазами или нуклеотидазами. Аденозин дезаминируется аденозиндезаминазой с образованием инозина, а затем пурииннуклеозидфосфорилаза расщепляет нуклеозиды до свободных оснований и рибозо-1-фосфата. Ксантиноксидаза, используя молекулярный O_2 , окисляет пуриновые основания в мочевую кислоту. Фермент представляет собой аэробную оксидоредуктазу, простетическая группа которой включает ионы железа (Fe^{3+}), молибдена и FAD (рис. 8.6). Мочевая кислота образуется главным образом в печени и кишечнике, а удаляется из организма с мочой и в небольшом количестве через кишечник. 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 содержание составляет 0,15-0,47 ммоль/л или 3-7 мг/дл. Из организма в сутки выводится от 0,4 до 0,6 г мочевой кислоты и уратов.

Гиперурикемия возникает у пациентов, когда концентрация мочевой кислоты в плазме крови превышает норму. Она является причиной развития подагры - заболевания, 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. Подагра - довольно частое заболевание, ею страдает от 0,3 до 1,7 % населения. У мужчин сывороточный фонд уратов в 2 раза выше, чем у женщин, поэтому мужчины болеют подагрой в 20 раз чаще, чем женщины. Заболевание генетически детерминировано и чаще всего вызывается дефектами

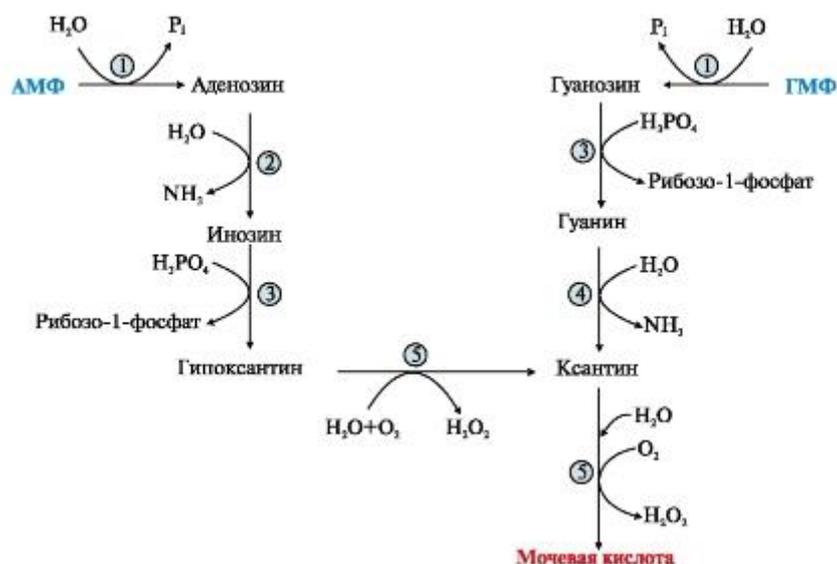


Рис. 8.6. Катаболизм пуриновых нуклеотидов

1 - нуклеотидаза или фосфатаза; 2 - аденозиндезаминаза; 3 - пурипнуклеозидфосфорилаза; 4 - гуаназа; 5 - ксантиноксидаза

ФРДФ-синтетазы, сопровождающимися гиперактивацией либо устойчивостью фермента к ингибированию конечными продуктами синтеза; частичной потерей активности гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы, уменьшающей повторное использование пуринов. При полной потере активности гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы развивается тяжелая форма гиперурикемии - синдром Леша-Нихена, при котором наблюдаются неврологические и психические отклонения. Болезнь наследуется как рецессивный признак, сцепленный с X-хромосомой, и встречается только у мальчиков.

Лечат подагру аллопуринолом (аллопур, милурит, апурин) - 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 растворяется в жидкостях организма, чем мочевая кислота.

8.2. БИОСИНТЕЗ И КАТАБОЛИЗМ ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ

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 CO_2 и только затем взаимодействует с ФРДФ с образованием уридин-5'-монофосфата (УМФ; рис. 8.7).

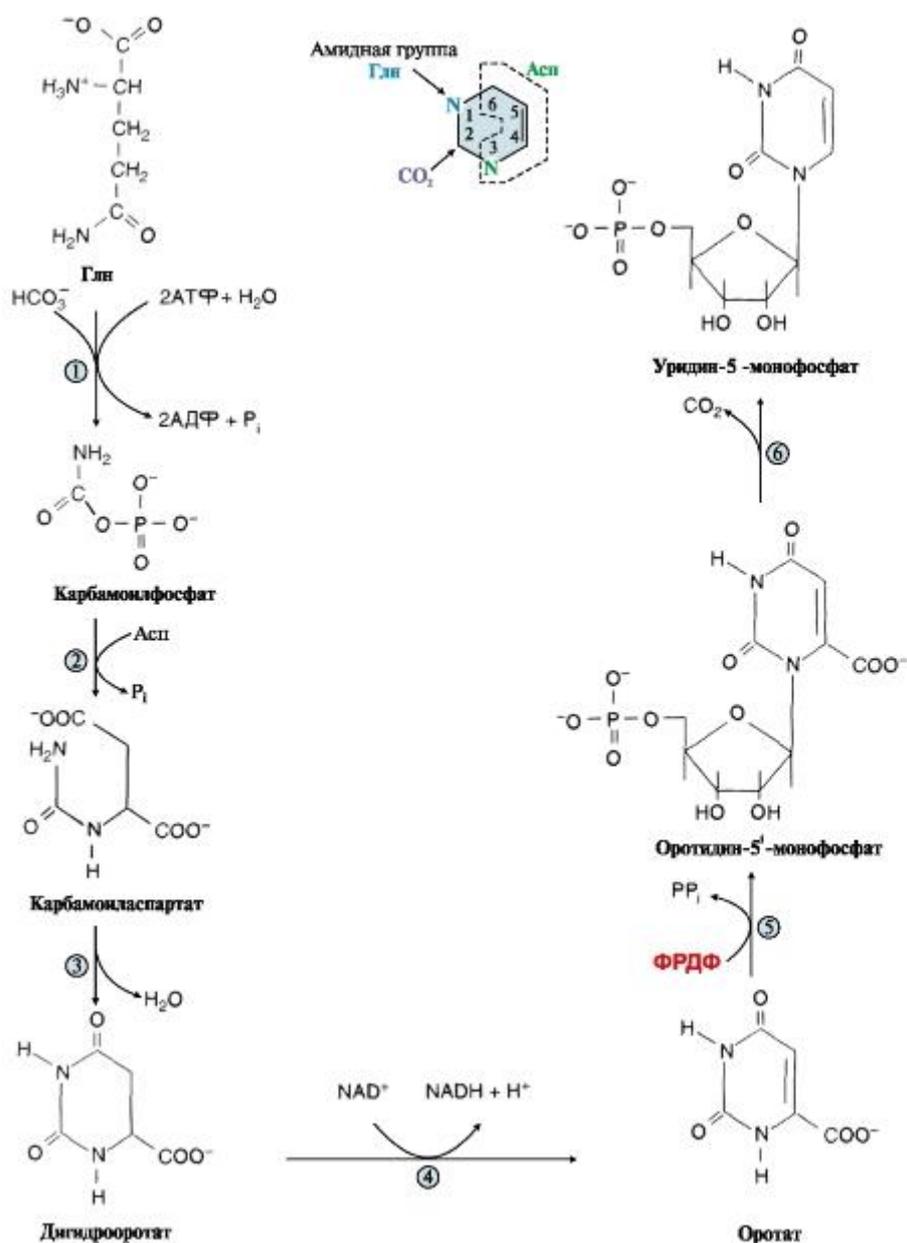


Рис. 8.7. Происхождение атомов пиримидинового кольца и синтез УМФ

КАД-фермент включает: 1 - карбамоилфосфатсинтетазу II, 2 - аспартаттранскарбамоилазу и 3 - дигидрооротазу, 4 - дигидрооротатдегидрогеназу.

УМФ-синтаза имеет активности: 5 - оротатфосфорибозилтрансферазы и 6 - ОМФ-декарбоксилазы

Синтез УМФ протекает в цитозоле клеток и включает 6 стадий, катализируемых 3 ферментами, 2 из которых полифункциональны. На первой стадии идет синтез карбамоилфосфата из Глн и CO_2 с использованием 2 молекул АТФ, последующее присоединение Асп и отщепление H_2O сопровождается образованием циклического производного - дигидрооротата, который является продуктом первого полифункционального белка - КАД-фермента. Название КАД складывается из начальных букв ферментов, которые представляют собой отдельные каталитические домены этого белка: карбамоилфосфатсинтетаза II (КФС II), аспартаттранскарбамоилазы и дигидрооротаза. Далее дигидрооротат окисляется в оротат под действием NAD-зависимой дигидрооротатдегидрогеназы и при участии бифункционального фермента - УМФ-синтазы превращается в УМФ.

УМФ фосфорилируется в УТФ в две стадии. Первую стадию катализирует специфический фермент - УМФ-киназа:



а во второй стадии участвует НДФ-киназа с широкой субстратной специфичностью



Еще один пиримидиновый нуклеотид - цитидинтрифосфат (ЦТФ) - образуется из УТФ под действием ЦТФ-синтетазы, которая, используя энергию АТФ, замещает кетогруппу урацила амидной группой Глн:



Регуляция синтеза пиримидиновых нуклеотидов

Активность регуляторных ферментов синтеза пиримидиновых нуклеотидов контролируется аллостерически по механизму отрицательной обратной связи: УТФ ингибирует активность КФС II в составе КАД-фермента; УМФ и

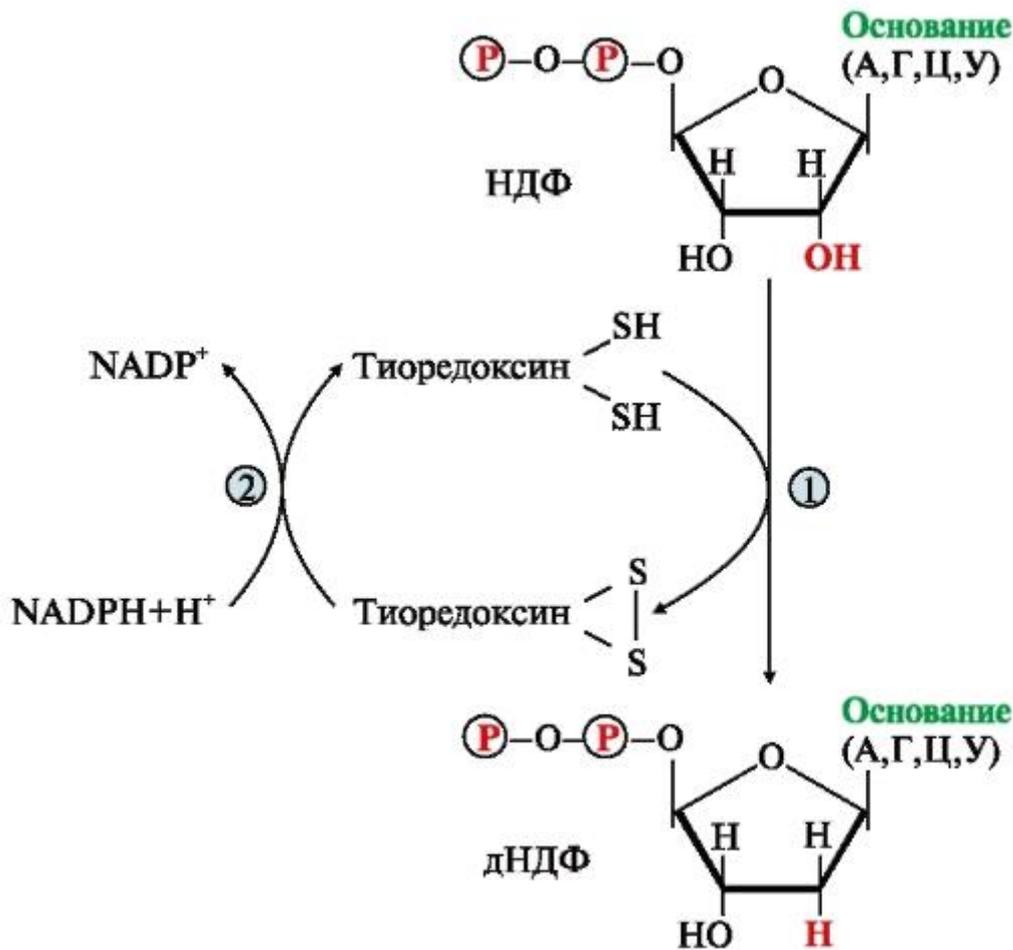


Рис. 8.8. Восстановление рибонуклеозиддифосфатов в дезоксипроизводные
 Восстановителем НДФ является тиоредоксин, сульфгидрильные группы которого окисляются в ходе этой реакции. Окисленный тиоредоксин восстанавливается тиоредоксинредуктазой с участием NADPH. 1 - рибонуклеотидредуктаза; 2 - тиоредоксинредуктаза

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 пурииннуклеозидфосфорилазы (см. рис. 8.6). Недостаточность ферментов приводит к накоплению в В- и Т-лимфоцитах дАТФ и дГТФ, которые аллостерически ингибируют рибонуклеотидредуктазу и лишают клетки предшественников ДНК.

Синтез тимидиловых нуклеотидов катализирует тимидилатсинтазный комплекс, в который входят: тимидилатсинтаза, катализирующая включение одноуглеродного радикала в молекулу

дУМФ, дигидрофолатредуктаза, обеспечивающая восстановление H_2 -фолата в H_4 -фолат с участием NADPH, и сериноксиметилтрансфераза, осуществляющая перенос оксиметильной группы Сер на H_4 -фолат с образованием N^5N^{10} -метилен- H_4 -фолата (рис. 8.9).

Среди запасных путей синтеза определенное значение имеет

- тимидинкиназа, катализирующая фосфорилирование тимидина:



8.4. ФЕРМЕНТЫ СИНТЕЗА НУКЛЕОТИДОВ КАК МИШЕНИ ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОВИРУСНЫХ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Аналоги азотистых оснований, нуклеозидов и нуклеотидов широко используются в медицинской практике в качестве лекарственных препаратов, поскольку они могут: ингибировать

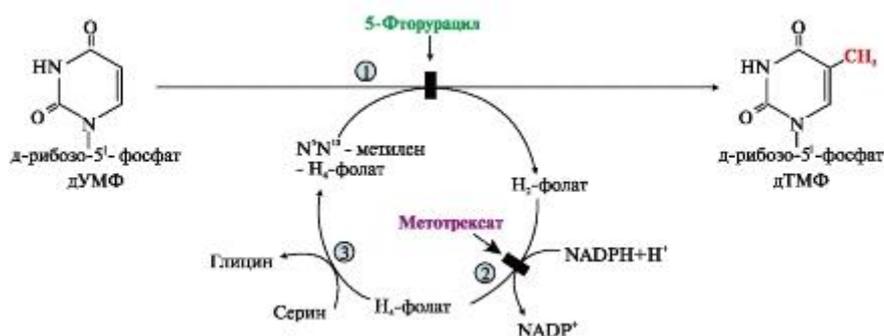


Рис. 8.9. Синтез тимидин-5'монофосфата (ТМФ) и ингибирование этого процесса

- 1 - тимидилатсинтаза; 2 - дигидрофолатредуктаза; 3 - сериноксиметилтрансфераза

Таблица 8.1

Некоторые противоопухолевые и противовирусные препараты

Препарат	Механизм действия	Область применения
5-Фторурацил	Превращается в рибо- и дезоксирибонуклеотиды, которые ингибируют тимидилатсинтазу и рост цепей РНК	Лечение солидных опухолей желудка, желудочно-кишечного тракта, молочной железы, легких и др.
Метотрексат	Структурный аналог фолиевой кислоты, ингибирует дигидрофолатредуктазу, нарушает синтез пуриновых нуклеотидов и превращение дУМФ в дТМФ	Химиотерапия опухолей
Ацикловир (ацикло-гуанозин)	Превращается в соответствующий НТФ и останавливает синтез вирусной ДНК	Лечение герпетических инфекций
Азидотимидин (АЗТ)	Фосфорилируется с образованием АЗТ-ТФ и блокирует репликацию вируса иммунодефицита	Лечение СПИДа

определенные ферменты, участвующие в синтезе нуклеотидов или нуклеиновых кислот; включаться в растущие цепи РНК или ДНК и останавливать рост цепей. Наиболее часто используемые препараты приведены в табл. 8.1.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Установите соответствие.

Напишите формулу пурина, пронумеруйте атомы углерода и подберите к ним соединения, в виде которых они включаются в молекулу

А. Метенил-Н₄-фолат. Б. Формил-Н₄-фолат.

В. Глицин

Г. СО₂.

Д. Метилен-Н₄-фолат.

2. Установите соответствие.

К реакциям синтеза пуриновых нуклеотидов подберите недостающие компоненты.

А. Рибозо-5-фосфат.

Б. АТФ.

В. ГТФ. Г. ФРДФ. Д. ИМФ.

1. Глн + ? → 5-фосфорибозиламин + Глу + Н₄Р₂О₇.

2. ? + АТФ - ФРДФ + АМФ.

3. ИМФ + аспартат + ? - аденилосукцинат + ГДФ + Н₃РО₄.

3. Установите соответствие.

К реакциям синтеза пиримидиновых нуклеотидов подберите недостающие компоненты.

А. ФРДФ.

Б. Карбамоилфосфат.

В. Карбамоиласпартат.

Г. ЦТФ. Д. УМФ.

1. Оротат + ? \rightarrow ОМФ + $\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$.

2. CO_2 + Глн + 2АТФ - ? + 2АДФ + H_3PO_4 .

3. ? - Дигидрооротат + H_2O .

4. Выберите правильные ответы. Фосфорибозилдифосфат:

А. Образуется при взаимодействии рибозо- 5-фосфата и АТФ.

Б. Участвует в превращении уридина в УМФ.

В. Является одним из субстратов гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы.

Г. Участвует в превращении оротата в оротидин-5'-монофосфат (ОМФ).

Д. Образуется в реакции, катализируемой ФРДФ-синтетазой.

5. Выберите правильные ответы. Гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза:

А. Возвращает гуанин и гипоксантин в фонд нуклеотидов.

Б. Превращает аденин в АМФ.

В. Часто малоактивна у пациентов, страдающих гиперурикемией.

Г. Неактивна у мальчиков с синдромом

Леша-Нихена. Д. Участвует в ресинтезе нуклеотидов из нуклеозидов по запасным путям.

6. Выберите правильные ответы. Причиной гиперурикемии могут быть:

А. Суперактивация ФРДФ-синтетазы.

Б. Устойчивость амидофосфорибозилтрансферазы к действию аллостерических ингибиторов.

В. Снижение активности ксантиноксидазы. Г. Снижение скорости реутилизации пури-

новых оснований. Д. Избыточное поступление нуклеиновых кислот с пищей.

7. Выберите правильный ответ.

Для синтеза дезоксирибонуклеотидов требуются:

А. Субстраты - 4 НТФ.

Б. Рибонуклеотидредуктаза.

В. Низкомолекулярный белок тиоредоксин. Г. Тиоредоксинредуктаза.

Д. NADPH + H⁺.

8. Выберите правильный ответ. 5-Фторурацил является ингибитором:

А. Дигидрофолатредуктазы. Б. Рибонуклеотидредуктазы.

В. КФС II.

Г. Тимидилатсинтазы. Д. УМФ-синтазы.

9. Вспомните особенности синтеза дезоксирибонуклеотидов и заполните табл. 8.2.

Компоненты реакций	Биосинтез дНДФ	Биосинтез дТМФ
Субстраты		
Ферменты		
Доноры Н ₂ в реакциях восстановления		
Донор СН ₃ -группы		
Ингибиторы		

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. После внутривенного введения животным ¹⁵N-аспартата радиоактивная метка появляется в составе нуклеиновых кислот разных органов и тканей. Изобразите пуриновые и пиримидиновые основания, которые входят в состав ДНК и РНК и укажите, какие атомы будут содержать метку. Правильность выбора иллюстрируйте схемами соответствующих реакций.

2. ФРДФ является общим субстратом в синтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов de novo из простых предшественников и по запасным путям. Объясните, почему суперактивация фермента ФРДФ-синтетазы приводит к гиперурикемии. Для этого:

а) напишите реакцию образования ФРДФ;

б) на схемах синтеза пуриновых нуклеотидов *de novo* и по запасным путям отметьте реакции, идущие с использованием ФРДФ;

в) укажите, что происходит с конечными продуктами этих процессов, если они образуются в избытке.

3. В клинике, куда пациент поступил с жалобами на острые боли в области мелких суставов, у него была диагностирована подагра и назначено лечение аллопуринолом. Объясните, почему аллопуринол облегчает состояние больного. Для этого:

а) напишите схему процесса, скорость которого будет изменена у этого больного;

б) объясните механизм действия аллопуринола;

в) укажите, какое вещество будет конечным продуктом катаболизма пуринов при лечении этим препаратом.

4. Метотрексат - структурный аналог фолиевой кислоты - является эффективным противоопухолевым препаратом и широко используется в клинике. Он снижает скорость синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов и тормозит рост и размножение быстрорастущих клеток. Укажите, какие стадии синтеза нуклеотидов будут ингибированы при использовании этого лекарства. Для этого:

а) назовите производные N_4 -фолата, которые обеспечивают включение углеродных атомов в азотистые основания нуклеотидов;

б) ответ иллюстрируйте формулами азотистых оснований, на которых отметьте положение этих атомов в гетероциклических кольцах.

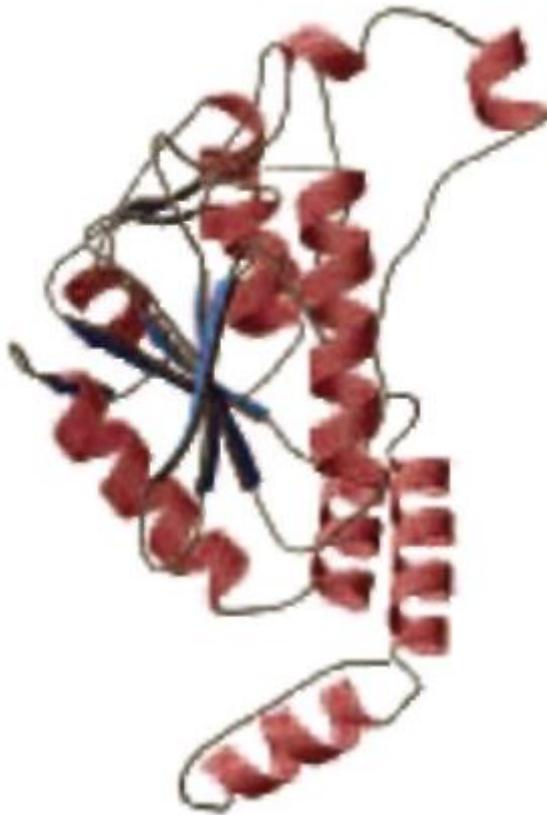
5. Ростовые факторы стимулируют клетку к вступлению в G_1 -фазу клеточного цикла, в ходе которой индуцируется синтез ферментов, катализирующих образование дезоксирибонуклеотидов из рибонуклеотидов. Какие дезоксирибонуклеотиды являются субстратами синтеза ДНК? Какие ферменты участвуют в их образовании? Ответ иллюстрируйте соответствующими схемами.

6. Структурный аналог тимина - 5-фторурацил - оказывает сильное цитостатическое действие, его часто используют в химиотерапии опухолей. Синтез какой нуклеиновой кислоты нарушается в присутствии этого препарата? Для ответа на вопрос:

а) укажите, ингибитором какого процесса будет этот препарат;

б) иллюстрируйте схемами соответствующих реакций правильность Вашего ответа.

РАЗДЕЛ 9. ОБМЕН И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ



Основные темы раздела:

9.1. Строение триацилглицеролов

9.2. Ассимиляция пищевых жиров.

9.3. Гипертриацилглицеролемиа I типа, гиперхиломикронемия.

9.4. Синтез жирных кислот и триацилглицеролов в печени и жировой ткани.

9.5. Мобилизация жиров.

9.6. Окисление жирных кислот.

9.7. Участие гормонов в регуляции окисления жирных кислот в печени.

9.8. Кетоновые тела.

- 9.10. Эйкозаноиды.
- 9.11. Активные формы кислорода и перекисное окисление липидов.
- 9.12. Строение холестерина и распределение его в тканях.
- 9.13. Ассимиляция пищевого холестерина.
- 9.14. Синтез холестерина в печени и поступление его в ткани.
- 9.15. Метаболизм ЛПВП, их роль в обмене холестерина.
- 9.16. Синтез желчных кислот, регуляция процесса. Желчнокаменная болезнь.
- 9.17. Гиперхолестеролемиа. Механизм развития атеросклероза.

Липиды в организме человека представлены большой группой соединений. В ней присутствуют как гидрофобные вещества: триацилглицеролы (ТАГ), эфиры холестерина (ЭХ), так и амфифильные, у которых есть гидрофобная часть и гидрофильная (полярная «головка»), например глицерофосфолипиды, сфинголипиды (см. раздел 4).

Липиды выполняют множество функций:

- участвуют в формировании мембран, например глицерофосфолипиды, сфинголипиды, холестерол;
- являются предшественниками коферментов, например жирорастворимый витамин К;
- образуют энергетический запас организма, выполняют функцию теплоизоляционной и механической защиты - триацилглицеролы (ТАГ);
- используются на построение желчных кислот, стероидных гормонов, витамина D₃ - холестерол;
- участвуют в передаче гормональных сигналов, например ФИФ₂, активации ферментов - фосфатидилсерин и т.д.

Нарушение обмена липидов приводит к атеросклерозу, ожирению, желчнокаменной болезни.

9.1. СТРОЕНИЕ ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ (ТАГ)

ТАГ (жиры) являются сложными эфирами жирных кислот и трехатомного спирта глицерола. К 3 гидроксильным группам глицерола присоединены 3 остатка жирных кислот (рис. 9.1).

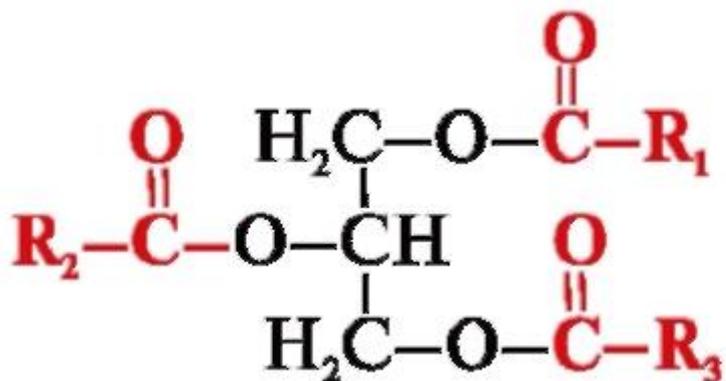
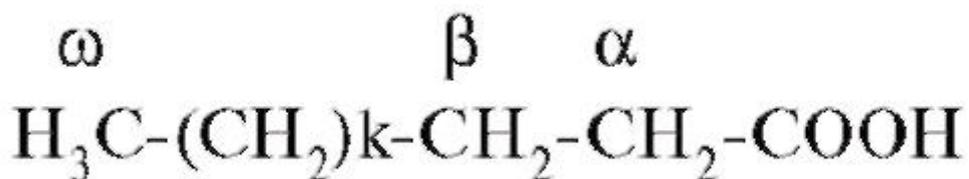


Рис. 9.1. Молекула ТАГ

ТАГ - гидрофобные молекулы. ТАГ различаются строением жирнокислотных радикалов (R_1 , R_2 , R_3). ТАГ хранятся в жировых клетках (адипоцитах)

В состав ТАГ, эфиров холестерина, фосфолипидов, гликолипидов входят жирные кислоты с разным строением радикала (R), в зависимости от которого их можно разделить на две группы - насыщенные и ненасыщенные (табл. 9.1).

Нумерация углеродных атомов в жирной кислоте начинается с C -атома карбоксильной группы. Помимо цифровой нумерации углеродных атомов, используют обозначения с помощью греческих букв:



Последний углеродный атом метильной группы (H_3C -) независимо от длины цепи обозначают буквой ω (омега). Для характеристики строения

Таблица 9.1

Жирные кислоты

Насыщенные не содержат двойных связей	Ненасыщенные (в положении 2 ТАГ) содержат двойные связи
$H_3C-CH_2-CH_2-(CH_2)_k-COOH$ Общая формула $C_nH_{2n+1}COOH$	$H_3C-(CH_2)_l-CH=CH-(CH_2)_d-COOH$ Общая формула $C_nH_{(2n-1-2m)}COOH$, где
k, l, d – количество $(-CH_2-)$ звеньев; n – количество углеродных атомов в радикале; m – количество двойных связей радикале.	
Миристиновая C_{14} $C_{13}H_{27}COOH$ Пальмитиновая C_{16} $C_{15}H_{31}COOH$ Стеариновая C_{18} $C_{17}H_{35}COOH$	Моноеновые Пальмитоолеиновая $C_{16:1}$ $C_{15}H_{29}COOH$ Олеиновая $C_{18:1}$ $C_{17}H_{33}COOH$
	Полиеновые Линолевая $C_{18:2}$ $C_{17}H_{31}COOH$ Линоленовая $C_{18:3}$ $C_{17}H_{29}COOH$ Арахидоновая $C_{20:4}$ $C_{19}H_{37}COOH$

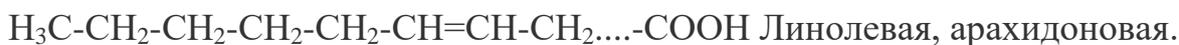
ненасыщенной жирной кислоты, например, пальмитоолеиновой $C_{16:1}$, после двоеточия указывают количество двойных связей. По положению первой двойной связи по отношению к концевой метильной группе (ω -положение) полиеновые (полиненасыщенные) жирные кислоты разделены на две группы: ω -3 и ω -6.

ω -3



Линоленовая, эйкозапентаеновая.

ω -6



В организме человека могут синтезироваться жирные кислоты с четным числом углеродных атомов - насыщенные и ненасыщенные, но с одной двойной связью. Полиеновые жирные кислоты линолевая $C_{18:2}$, линоленовая $C_{18:3}$ в организме человека не синтезируются, поэтому называются незаменимыми, или эссенциальными. Они поступают с пищей, в основном, с растительными маслами: оливковым, подсолнечным, кукурузным, льняным, пальмовым.

Полиеновые ω -3 жирные кислоты, например эйкозапентаеновая, синтезируется морским планктоном. Некоторые виды рыб, поедая планктон, накапливают эту жирную кислоту в составе жиров. Человек получает ω -3 жирные кислоты с жирами морских рыб. Полиеновые жирные кислоты являются предшественниками эйкозаноидов - группы гормонов местного действия. В клетках

тканей эти жирные кислоты включены в структуру фосфолипидов и гликолипидов мембран.

В составе подкожного жира человека насыщенные жирные кислоты: пальмитиновая, миристиновая, стеариновая - составляют ~ 40%. Остальная часть приходится на ненасыщенные жирные кислоты - пальмитоолеиновую, олеиновую и линолевою.

9.2. АССИМИЛЯЦИЯ ПИЩЕВЫХ ЖИРОВ

Ассимиляция включает все этапы метаболизма пищевых триацилглицеролов, начиная с переваривания в кишечнике и заканчивая распределением продуктов гидролиза: глицерола и жирных кислот по тканям.

В полости рта ТАГ не подвергаются никаким изменениям, так как слюнные железы не синтезируют расщепляющие их ферменты. Процесс переваривания ТАГ происходит в тонкой кишке.

Подготовка жира к перевариванию - эмульгирование

В гидрофильной среде тонкой кишки гидрофобные молекулы ТАГ пищи собираются в большие липидные капли. Фермент панкреатическая липаза может гидролизовать ТАГ только на поверхности этой капли.

Поэтому для увеличения поверхности контакта фермента с молекулами ТАГ липидные капли подвергаются эмульгированию (рис. 9.2)

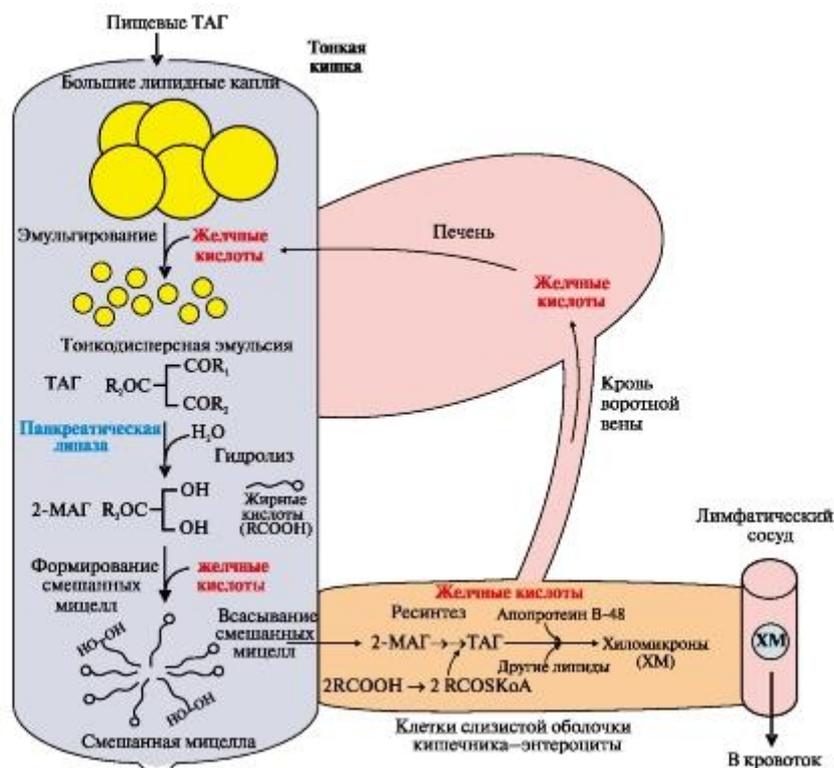


Рис. 9.2. Переваривание и всасывание пищевых ТАГ

ТАГ эмульгируют желчные кислоты (поверхностно-активные вещества): холевая, дезоксихолевая и их производные с глицином и таурином - гликохолевая и таурохолевая (рис. 9.3). Они синтезируются в печени и поступают в кишечник в составе желчи, которая содержит много желчных кислот и небольшое количество холестерина и фосфолипидов.

Таким образом, желчные кислоты на этом этапе ассимиляции:

- эмульгируют жиры и облегчают взаимодействие молекул ТАГ с панкреатической липазой;
- стабилизируют тонкодисперсную эмульсию.

Переваривание (гидролиз) жира

Гидролиз жира катализирует фермент поджелудочной железы панкреатическая липаза. В составе панкреатического сока присутствует белок колипаза, который в тонком кишечнике подвергается частичному протеолизу. После отщепления пептида изменяется конформация колипазы, повышается ее сродство к неактивной форме панкреатической липазы, она присоединяется к ферменту и его активирует

(рис. 9.4).

Оптимальное значение рН для панкреатической липазы ~ 8,0 поддерживается в основном бикарбонатами (HCO_3^-) панкреатического сока и желчи.

Панкреатическая липаза гидролизует сложноэфирные связи в положении 1 и 3 ТАГ, поэтому основными продуктами гидролиза являются жирные кислоты и 2-моноацилглицеролы (рис. 9.5). Гидролиз эфиров холестерина, фосфолипидов идет под действием специфических гидролаз панкреатического сока.

Нарушение переваривания и всасывания продуктов гидролиза может быть вызвано уменьшением секреции желчи, панкреатического сока, содержащего липазу.

При этих нарушениях увеличивается количество жиров, выводимых с калом - возникает стеаторея (жирный стул).

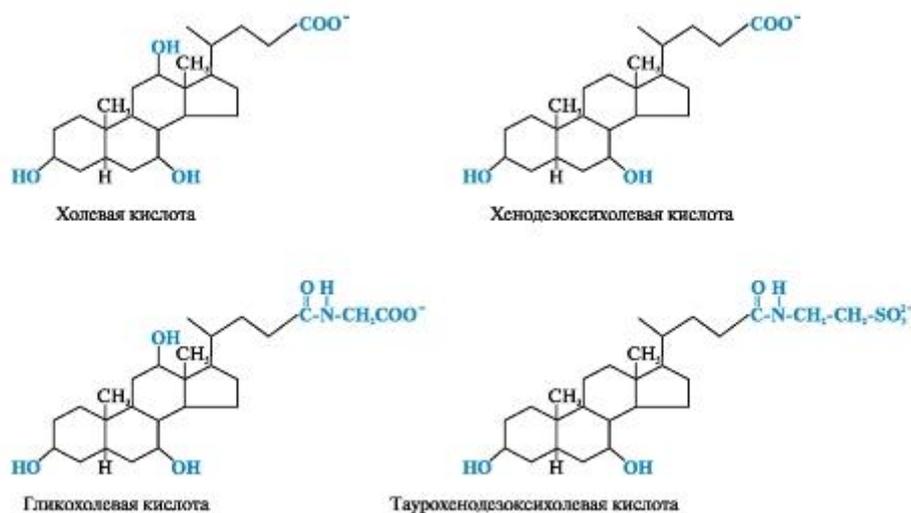


Рис. 9.3. Желчные кислоты

Желчные кислоты амфифильны - они имеют гидрофобную и гидрофильную части. Гидрофобной частью желчная кислота погружается в липидную каплю, гидрофильная остается на поверхности. Полярные группы желчных кислот имеют отрицательный заряд, отталкиваясь, они растягивают поверхность липидной капли, и происходит ее дробление - эмульгирование. Обратное слипание маленьких капель в большую липидную каплю невозможно, так как тонкодисперсная эмульсия стабилизирована желчными кислотами



Рис. 9.4. Регуляция активности панкреатической липазы

Одна молекула панкреатической липазы связывает 2 молекулы колипазы_{акт.}. Такое строение активной липазы делает ее устойчивой к действию трипсина (трипсин - протеолитический фермент, гидролизующий белки)



Рис. 9.5. Гидролиз ТАГ панкреатической липазой

При длительной стеаторее развивается недостаточность незаменимых пищевых веществ липидной природы: полиеновых жирных кислот (линолевой C_{182} , линоленовой C_{183}); жирорастворимых витаминов А, D, Е, К.

Образование смешанных мицелл

Продукты гидролиза липидов - 2-моноацил- глицеролы, жирные кислоты, холестерол, лизофосфатидная кислота, а также жирорастворимые витамины и желчные кислоты образуют смешанные мицеллы.

Формирование мицелл происходит самопроизвольно, так как в этом процессе участвуют амфифильные соединения. В состав гидрофобного ядра мицеллы входят ацильные остатки жирных кислот, 2-моноацилглицеролов, неполярные группы холестерола и желчных кислот. Большую роль в формировании мицелл играют молекулы лизофосфатидной кислоты (продукт гидролиза фосфолипидов) и желчные кислоты, которые с помощью своих отрицательно-заряженных групп образуют гидрофильную оболочку.

Поэтому мицеллы в водной среде кишечника

находятся как бы в растворенном состоянии. Желчные кислоты и их соли стабилизируют смешанные мицеллы и способствуют их всасыванию в клетки кишечника.

Всасывание смешанных мицелл

При соприкосновении с поверхностью слизистой оболочки ворсинок кишечника, липидные составляющие смешанных мицелл проходят внутрь энтероцитов. Вместе с продуктами гидролиза липидов в клетки кишечника всасываются жирорастворимые витамины А, D, Е, К и желчные кислоты. Желчные кислоты поступают через воротную вену в печень. Из печени секретируются в желчный пузырь и могут опять участвовать в

эмульгировании. Этот путь желчных кислот называется энтерогепатической циркуляцией.

Ресинтез жира в клетках слизистой оболочки кишечника (энтероцитах)

Продукты переваривания пищевых жиров включаются в реакции ресинтеза (рис. 9.6). Этому процессу предшествует активация жирных кислот при участии кофермента А (НБ-КоА), который является производным пантотеновой кислоты (витамина В₅).

Формирование транспортной формы экзогенных липидов - хиломикронов (ХМ)

Образованные в ходе ресинтеза ТАГ, эфиры холестерина, фосфолипиды являются гидрофобными или амфифильными молекулами. Транспорт их по крови возможен только в комплексе с белками, поэтому в клетках кишечника формируются особые частицы, состоящие из липидов и белков - липопротеины (табл. 9.2):

Таблица 9.2

Содержание (в %) основных компонентов липопротеинов

Липопротеин	Состав липопротеина, %			
	ТАГ	Х + ЭХ	Апопротеины	ФЛ
ХМ	85*	5	2	3
ЛПОНП	55*	17	10	18
ЛПНП	26	38	11	23
ЛПНП	7	50*	22	21
ЛПВП	3	20	50*	27

Примечание: Х - холестерол; ЭХ - эфиры холестерина; ФЛ - фосфолипиды. Цифры, отмеченные звездочкой (*) необходимо запомнить.

- в энтероцитах для транспорта экзогенных липидов формируются хиломикроны

(ХМнезрелые);

- в печени для транспорта эндогенных липидов образуются липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП);

- в крови ЛПОНП превращаются в липопротеины промежуточной плотности (ЛППП) и далее в липопротеины низкой плотности (ЛПНП), которые доставляют холестерол в ткани;

- в печени формируются липопротеины высокой плотности (ЛПВП), которые переносят холестерол из клеток тканей и других липопротеинов в печень.

Любой липопротеин состоит из липидного ядра, содержащего гидрофобные ТАГ и эфиры холестерола, и наружного слоя из амфифильных молекул - фосфолипидов, холестерола и апопротеинов (рис. 9.7).

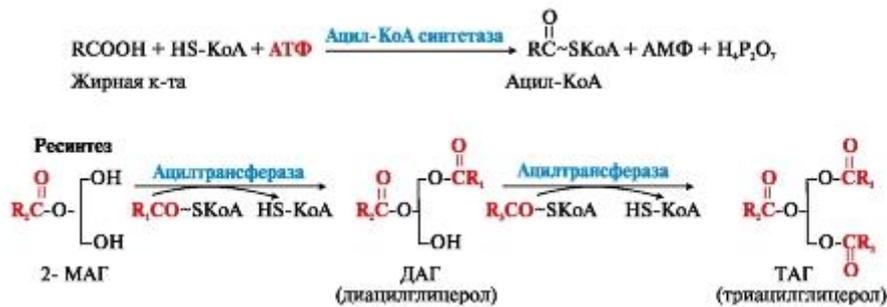


Рис. 9.6. Ресинтез ТАГ

Ресинтезированный жир отличается от пищевого жирнокислотным составом, так как в процессе могут участвовать жирные кислоты, синтезированные в энтероцитах. В клетках кишечника также происходит ресинтез эфиров холестерола и фосфолипидов.



Рис. 9.7. Строение липопротеина плазмы крови

Апопротеины (белки) по положению в частице разделяются на интегральные и периферические. Интегральные апопротеины встраиваются в липопротеины на стадии их формирования в клетках кишечника или печени и остаются в частице на протяжении ее метаболизма. Примером таких белков может служить апопротеин В-48 в составе хиломикронов (ХМ) или В-100 в составе ЛПОНП. Периферические белки синтезируются в печени, клетках кишечника, поэтому включаются в ХМ, ЛПВП и ЛПОНП. Однако при контакте липопротеинов в крови они могут переходить с одной частицы на другую. Примером могут служить апопротеины С-II, А-I и Е.

Транспорт хиломикронов через лимфу в кровь

Сформированные в клетках кишечника $\text{ХМ}_{\text{незрелые}}$ путем экзоцитоза попадают в лимфу,

незрелые -¹

затем в кровь и разносятся по сосудам. ХМ - крупные частицы, рассеивают свет, поэтому при высокой концентрации ХМ в крови плазма становится мутной (молочного цвета). Натошак концентрация ТАГ в крови составляет

0,55-1,65 ммоль/л. Через 3-4 ч после приема пищи, содержащей жиры, концентрация ТАГ в крови возрастает и превышает норму в 3-4 раза.

«Созревание» хиломикронов

В клетках кишечника формируются функционально «незрелые» ХМ. «Созревание» ХМ заключается в том, что они получают от ЛПВП апопротеины С-II и Е, играющие важную роль в дальнейшем метаболизме их (рис. 9.8):

- С-II - активатор фермента липопротеинлипазы;

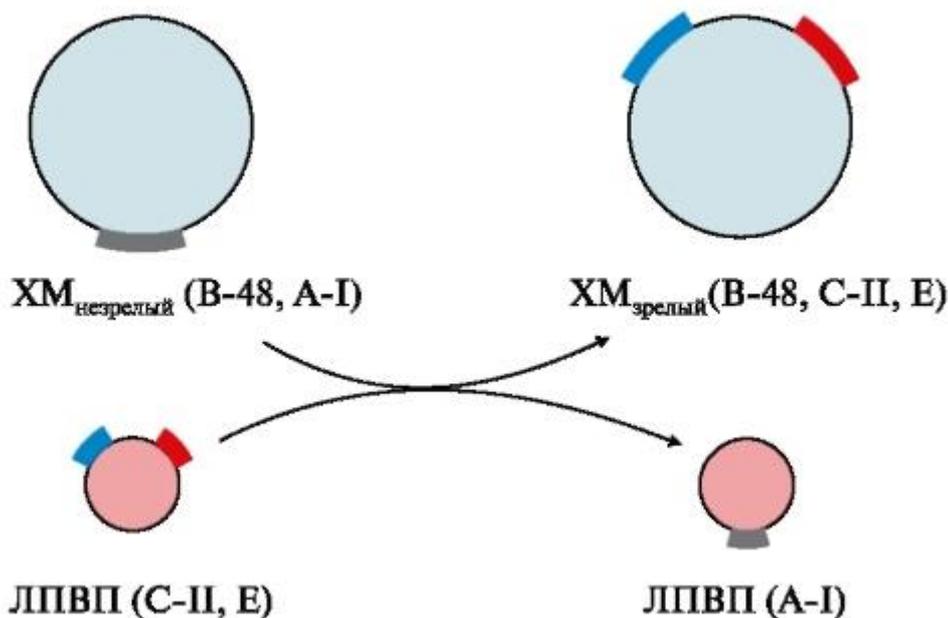


Рис. 9.8. «Созревание» хиломикронов

- Е - лиганд к рецептору клеточной мембраны гепатоцитов.

Оба белка синтезируются в печени и включаются в ЛПВП. При контакте этих липопротеинов в крови с ХМ возможен переход периферических апопротеинов с одного липопротеина на другой.

Действие липопротеинлипазы (ЛП-липазы)

Фермент ЛП-липаза синтезируется и секретируется в основном клетками жировой и мышечной тканей и прикрепляется к наружной поверхности клеток эндотелия капилляров этих тканей (рис. 9.9). Фермент имеет центр, обеспечивающий узнавание апопротеина С-II в составе ХМ и каталитический центр, в котором протекает гидролиз ТАГ хиломикронов до глицерола и свободных жирных кислот (рис. 9.10).

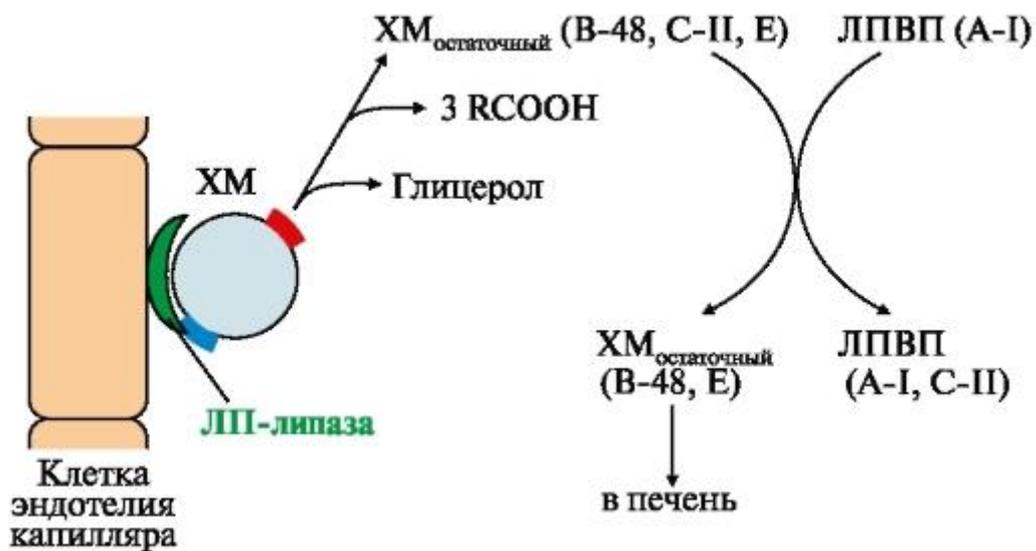


Рис.9.9. Образование хиломикрон_{остаточных} (ХМ_{ост})

Фермент ЛП-липаза активируется при взаимодействии с апопротеином С-II и полярными головками фосфолипидов в составе ХМ. Количество жира в составе ХМ постепенно снижается, уменьшается размер частиц. Оставшиеся крошечные ХМ называются остаточными. На поверхности частиц находятся 2 апопротеина - С-II и Е. Апопротеин Е обеспечивает связывание ХМ_{ост} с рецепторами печени

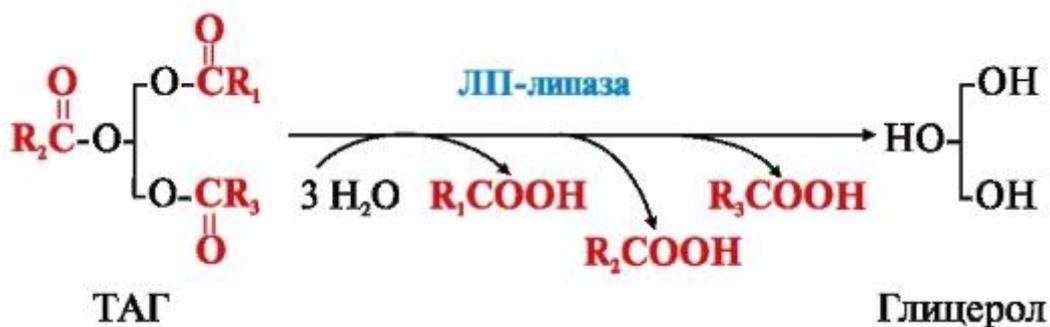


Рис. 9.10. Действие ЛП-липазы на ТАГ хиломикронов

В тканях присутствуют ЛП-липазы, имеющие разное сродство к апопротеину С-II. Самое высокое сродство, а значит, и активность имеет ЛП-липаза сердечной мышцы. Низкой активностью обладает фермент эндотелия капилляров жировой ткани, но гормон инсулин индуцирует синтез фермента ЛП-липазы в адипоцитах, поэтому в абсорбтивный период на поверхности эндотелия капилляров жировой ткани возрастает количество молекул этого фермента. Гидролиз ТАГ хиломикронов протекает более интенсивно, образуется много жирных кислот, которые усваиваются адипоцитами.

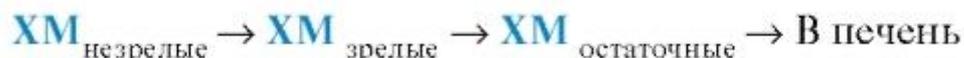
Транспорт продуктов гидролиза в ткани

Продукты гидролиза ТАГ - глицерол и жирные кислоты - поступают в кровь. Глицерол водорастворим и не требует переносчика, а жирные кислоты (RCOOH) перемещаются по крови в комплексе с белком альбумином. Глицерол включается в метаболизм только в печени, т.к. в клетках органа есть фермент глицеролкиназа, который превращает глицерол в глицерол-3-фосфат. В абсорбтивный период жирные кислоты используются для синтеза ТАГ, в основном в жировой ткани. Глицерол-3-фосфат может включаться в синтез ТАГ и фосфолипидов или окисляется до ДАФ, который является промежуточным метаболитом гликолиза и глюконеогенеза.



9.3. ГИПЕРТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛЕМИЯ I ТИПА, ГИПЕРХИЛОМИКРОНЕМИЯ

После приема пищи, содержащей ТАГ, повышается концентрация ХМ в крови - развивается физиологическая гиперхиломикронемия. ХМ имеют в своем составе до 85% ТАГ, поэтому гиперхиломикронемия сопровождается гипертриацилглицеролемией. Снижение содержания ТАГ до нормы зависит от активности метаболизма ХМ в крови, который проходит следующие стадии:



Скорость удаления ХМ из кровотока зависит от:

- содержания ЛПВП и структуры С-II и E;
- скорости переноса апопротеинов С-II и E с ЛПВП на ХМ;
- активности ЛП-липазы.

Нарушения структуры любого белка, участвующего в этих превращениях, приводит к семейной гиперхиломикронемии и гипертриацилглицеролемии I типа. У больных образуются ксантомы в коже и сухожилиях, наблюдается сужение просвета сосудов - нарушение памяти, функций поджелудочной железы.

9.4. СИНТЕЗ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ В ПЕЧЕНИ И ЖИРОВОЙ ТКАНИ

В абсорбтивный период в печени и жировой ткани инсулин активирует синтез жирных кислот и ТАГ. После приема пищи, содержащей углеводы и жиры, повышается концентрация в крови глюкозы (140-160 мг/дл), гормона инсулина, хиломикронов.

В печени инсулин индуцирует синтез глюкокиназы (K_T -10 ммоль/л), которая катализирует фосфорилирование глюкозы. С помощью этой реакции глюкоза оказывается «запертой» в клетке, так как образованный глюкозо-6-фосфат из клетки выйти не может.

В жировой ткани инсулин стимулирует встраивание в мембрану адипоцитов переносчиков глюкозы ГЛЮТ-4 (см. раздел 6). Осуществляется облегченная диффузия глюкозы в клетки, где она превращается в глюкозо-6-фосфат под действием гексокиназы ($K_T < 0,1$ ммоль/л). Кроме того, в адипоцитах инсулин индуцирует синтез ЛП-липазы, поэтому в этих клетках синтез ТАГ идет преимущественно с использованием жирных кислот, которые поступают из крови. В печени и жировой ткани может идти синтез ТАГ из глюкозы. Образование субстратов для синтеза жирных кислот и ТАГ из углеводов, регуляция инсулином

Глюкоза является источником всех субстратов для этого процесса (рис. 9.11).



Рис. 9.11. Происхождение субстратов для синтеза жирных кислот и ТАГ
Инсулин повышает скорость гликолиза, активируя дефосфорилирование ферментов этого процесса: пируваткиназы и бифункционального фермента (печень), а также индуцирует синтез глюкокиназы (печень), фосфофруктокиназы и пируваткиназы. Образованный в ходе гликолиза

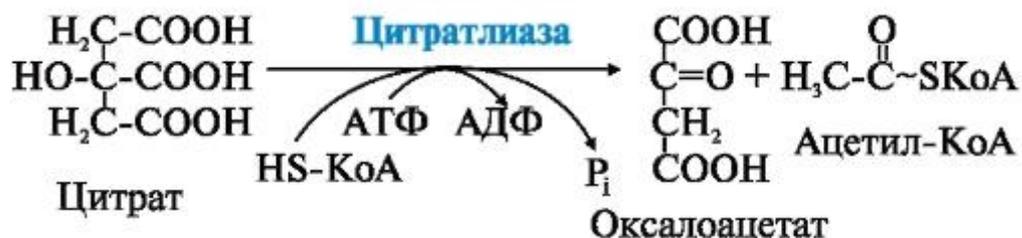
пируват поступает в митохондрии и активирует ПДК (аллостерическая регуляция). Продукт ПДК - ацетил-КоА включается в ЦТК, а также активирует фермент пируваткарбоксилазу, которая обеспечивает ЦТК необходимым количеством оксалоацетата.

В абсорбтивный период повышение АТФ, NADH в митохондриях приводит к снижению активности аллостерических ферментов ЦТК, но в наибольшей степени снижается скорость самой медленной реакции, которую катализирует изоцитратдегидрогеназа. Цитрат переносится из митохондрий в цитозоль, где под действием цитратлиазы превращается в ацетил-КоА и оксалоацетат. Биотин-зависимый фермент ацетилКоА-карбоксилаза катализирует образование из ацетил-КоА - основного субстрата для пальмитоилсинтетазы - малонил-КоА. Синтез жирных кислот идет с использованием большого количества кофермента NADPH, который образуется под действием NADP⁺-зависимых дегидрогеназ ПФПути и малик-фермента.

Инсулин индуцирует синтез ферментов, обеспечивающих метаболизм цитрата в цитозоле клетки, и синтез жирных кислот - цитратлиазу, малик-фермент, глюкозо-6-фосфат дегидрогеназу, ацетил-КоА-карбоксилазу, пальмитоилсинтетазу.

Синтез жирной кислоты

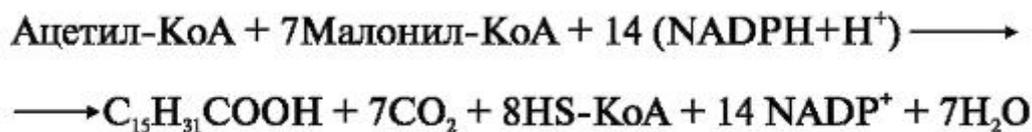
Жирные кислоты синтезируются из ацетилКоА, который образуется при аэробном окислении глюкозы. Роль переносчика ацетилных групп из митохондрий выполняет цитрат, который в цитозоле расщепляется на ацетил-КоА и оксалоацетат.



В цитозоле ацетил-КоА карбоксилируется и превращается в малонил-КоА - второй субстрат, необходимый для образования жирной кислоты. Для синтеза пальмитиновой кислоты требуются 1 молекула ацетил-КоА и 7 молекул малонил-КоА.

группы. Одна из SH-групп принадлежит цистеину (-CH₂-SH), другая - остатку тиоэтаноламина (-NH-CH₂-CH₂-SH) (рис. 9.13).

Суммарное уравнение синтеза пальмитиновой кислоты:



Образованная пальмитиновая кислота используется для синтеза ТАГ и фосфолипидов (рис. 9.14). Она также является предшественником других жирных кислот, синтезируемых в организме, - насыщенных (миристиновой, стеариновой и др.) и моноеновых (пальмитоолеиновой, олеиновой и др.). Синтез триацилглицеролов (ТАГ)

Субстратами для синтеза ТАГ являются гли-церол-3-фосфат, который образуется из глюкозы (жировая ткань, печень) или глицерола (печень) и ацил-КоА. Присоединение ацильных остатков катализируют ацилтрансферазы (E₁, E₂, E₃). Образованные в жировой ткани ТАГ депонируются в адипоцитах. Жир, синтезированный в печени, «упаковывается» в ЛПОНП, которые выходят в кровь.

Сформированные в печени эндогенные липиды - ТАГ, фосфолипиды, холестерол и его эфиры - поступают в кровь в составе ЛПОНП_{незрелых}, которые содержат: 55% ТАГ, фосфолипиды, эфиры холестерола, холестерол и апопротеин В-100.

В крови происходит «созревание» ЛПОНП, которое заключается в появлении на поверхности частиц 2 периферических белков - С-II и Е (рис. 9.15). Как и в случае образования «зрелых» ХМ, источником этих белков являются ЛПВП, которые тоже синтезируются в печени и постоянно циркулируют в крови.

ЛПОНП с помощью апопротеина С-II «узнаются» ЛП-липазой, которая гидролизует жиры в составе липопротеинов. Содержание ТАГ снижается постепенно, и ЛПОНП превращаются в ЛППП, а затем в ЛПНП, которые содержат мало жира (7%), но много холестерола и его эфиров.

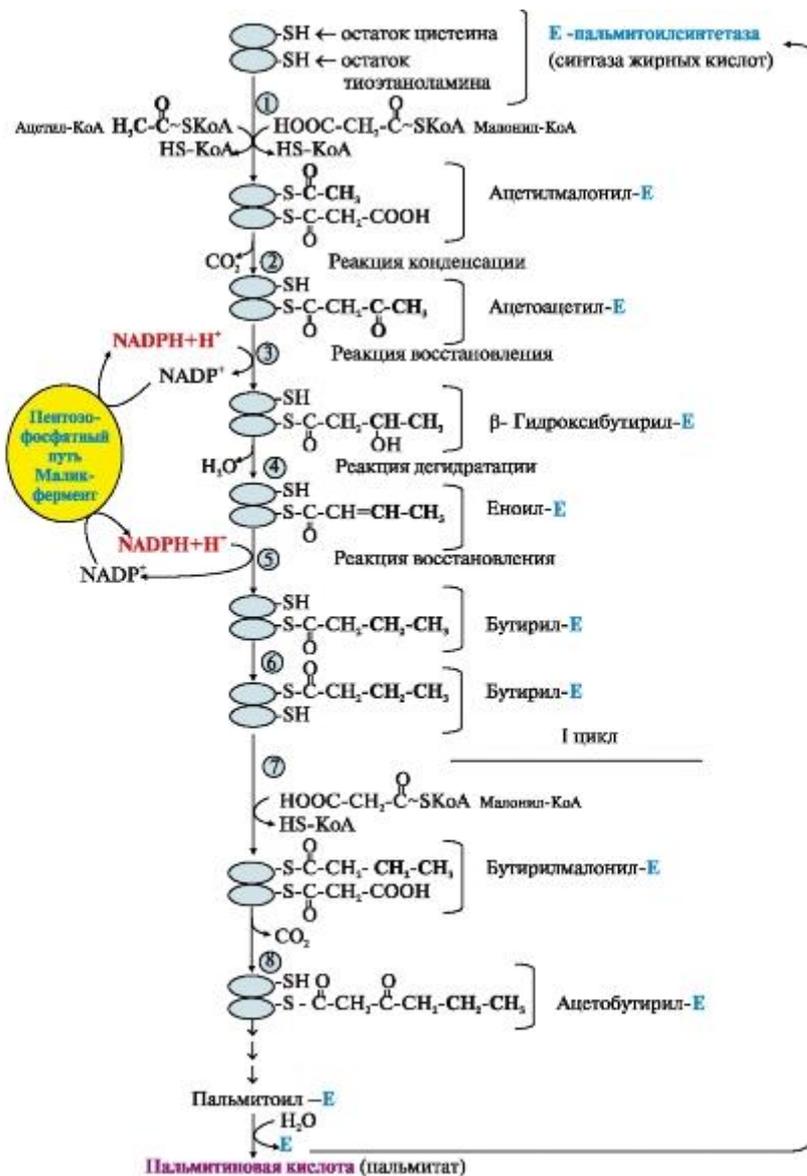


Рис. 9.13. Синтез пальмитиновой кислоты

1 - ацетильный и малонильный остатки переносятся на SH-группы пальмитоилсинтетазы; 2 - декарбоксилирование малонильного остатка и конденсация 2 ацетильных остатков; 3 - восстановление β-карбонильной группы, донором водорода является кофермент NADPH, образованный в ПФПути и малик-ферментом; 4 - дегидратация приводит к формированию двойной связи между α- и β-углеродными атомами; 5 - восстановление и образование бутирильного фрагмента с участием NADPH; 6 - перенос радикала бутирила на SH-группу цистеина, закончился 1-й цикл синтеза; 7 - присоединение нового малонильного остатка; 8 - декарбоксилирование малонильного остатка и его конденсация с бутирильным остатком. После завершения 7 циклов образуется пальмитоил-E, который гидролитически отделяется от пальмитоилсинтетазы. Ацетил-КоА идет на

построение только 2 из 16 углеродных атомов пальмитиновой кислоты,
остальные поступают из малонил-КоА

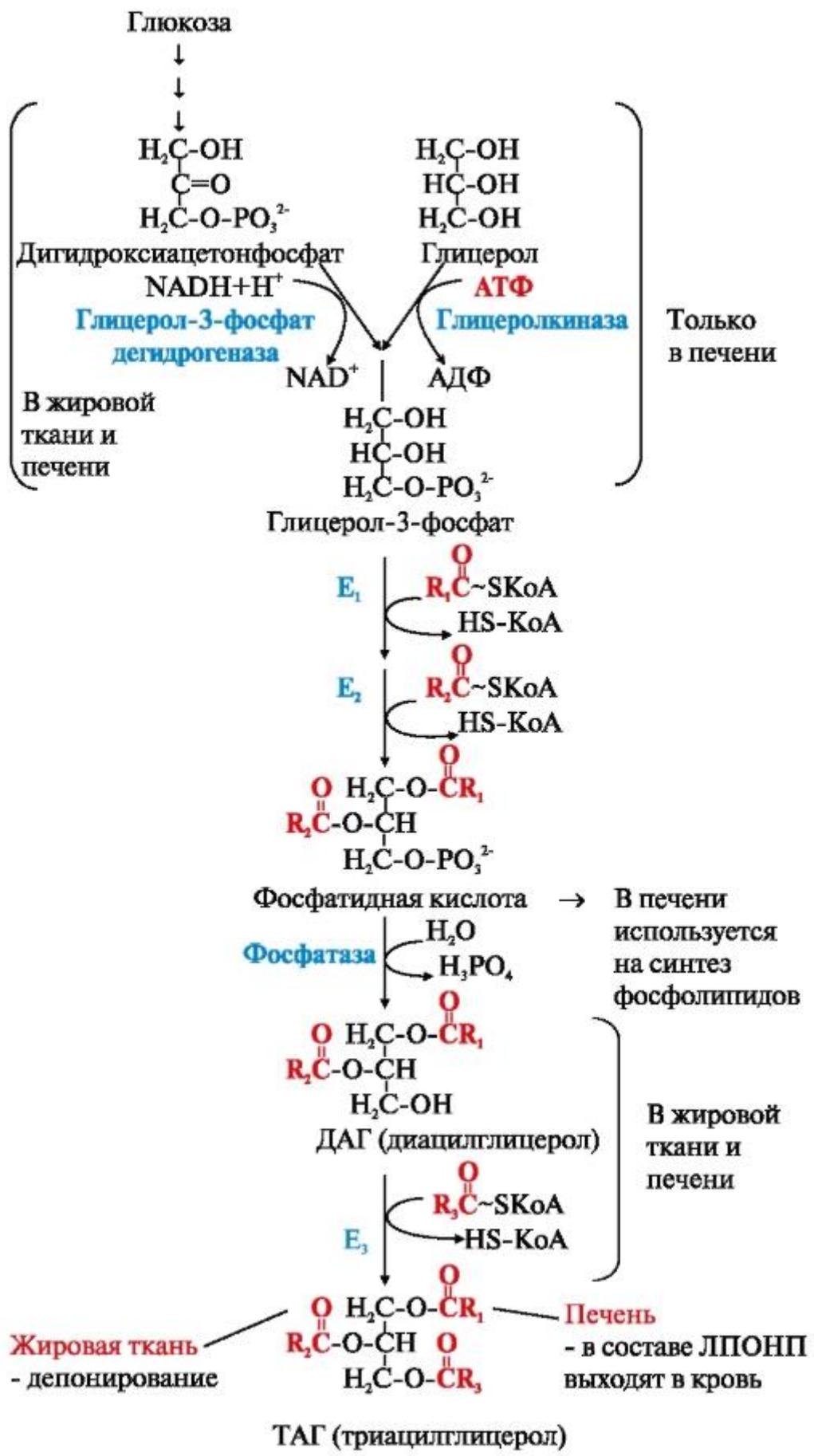


Рис. 9.14. Синтез триацилглицеролов в печени и жировой ткани

E₁, E₂, E₃, - ацилтрансферазы

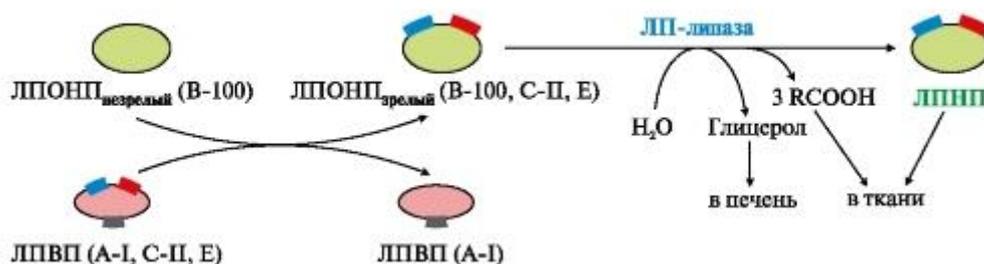


Рис. 9.15. Метаболизм ЛПОНП

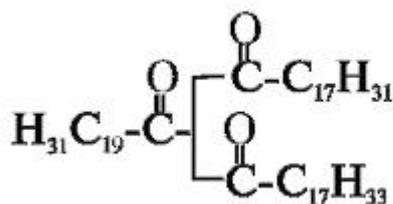
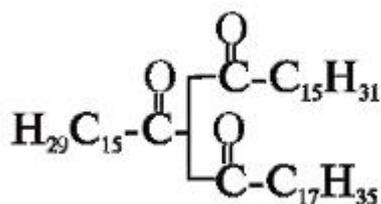
Глицерол, поступающий в печень, может участвовать в синтезе ТАГ. Жирные кислоты по крови перемещаются к тканям в комплексе с белком альбумином. Концентрация жирных кислот в крови в абсорбтивный период очень низкая, так как они активно используются на образование ТАГ в жировой ткани и менее активно - в печени.

При гипертриацилглицеролемии I типа в крови наряду с ХМ повышается содержание

ЛПОНП.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. а) Рассмотрите структурные формулы молекул жиров. Определите, в состав каких масел (твердых или жидких) входят эти ТАГ. Объясните, почему вы так считаете.



б) Назовите масла, которые считают наиболее полезными для организма.

2. а) Напишите реакции гидролиза ТАГ, харак-

терного для жидких жиров (см. задание 1а), в кишечнике. Назовите фермент и его активатор. Объясните механизм влияния желчных кислот и HCO_3^- (бикарбонат-иона) на скорость этой реакции.

3. а) Перенесите табл. 9.2. в тетрадь и к названи-

ям желчных кислот допишите соответствующие формулы.

Таблица 9.2

Желчные кислоты

Желчные кислоты		
Первичные	Парные	
Холевая	Гликохолевая	Таурохолевая
Хенодезоксихолевая	Гликохенодезоксихолевая	Таурохенодезоксихолевая

* При написании формул желчных кислот выделите синим цветом полярные группы.

б) Установите порядок событий. Желчные кислоты:

А. Синтезируются в печени.

Б. Током воротной вены возвращаются в печень.

В. Эмульгируют жиры.

Г. Участвуют в формировании смешанных мицелл.

Д. Стабилизируют тонкодисперсную эмульсию жиров пищи.

4. а) Выберите правильные ответы. Продукты гидролиза липидов формируют смешанные мицеллы, в состав которых входят:

А. Витамины А, D, Е, К. Б. Жирные кислоты.

В. 2-МАГ.

Г. Желчные кислоты. Д. Холестерол.

б) Закончите предложение.

Компоненты смешанных мицелл проникают в клетки... .

в) Напишите реакции активации жирной кислоты и ресинтеза ТАГ, протекающие в этих клетках. Назовите ферменты, укажите, к какому классу они относятся.

5. а) Выберите правильные ответы: Сформированные в энтероцитах хиломикроны

содержат:

А. Триацилглицеролы. Б. Фосфолипиды.

В. Холестерол.

Г. Эфиры холестерина. Д. Апопротеин В-100. б) Одно из положений тестового задания 5а) указано неверно. Как его нужно сформулировать, чтобы оно стало правильным? Запишите его.

б. а) Закончите предложение.

Образованные в слизистой оболочке кишечника липопротеины взаимодействуют в крови с ЛПВП, которые формируются в . .

б) Выберите правильные ответы:

В ходе взаимодействия ХМ_{незрелых} с ЛПВП:

незрелых

А. Образуются ХМостаточные

Б. Происходит перенос апопротеинов С-II и Е на ХМ.

В. Идет гидролиз ТАГ в составе ХМ.

Г. Образуются ХМзрелые

Д. ХМ получают 2 периферических белка.

в) Объясните функцию апопротеинов С-II и Е в метаболизме ХМ.

7. а) Напишите реакцию гидролиза ТАГ под

действием ЛП-липазы, укажите локализацию фермента и способ его активации. б) Дополните предложение недостающими словами.

В . период наиболее активно идет превращение ХМзрелых в ХМостаточные в эндотелии капилляров жировой ткани, так как гормон . индуцирует синтез . в адипоцитах.

г) Установите соответствие. Использование в тканях:

А. Активируются с участием HS-КоА.

Б. Превращается в печени в глицерол-3- фосфат.

В. Фосфорилируется в жировой ткани под действием глицеролкиназы.

Г. Участвует в реакции, катализируемой

ацилтрансферазой. Д. Транспортируется по крови в составе

ХМ.

Продукты гидролиза ТАГ:

1. Глицерол.

2. 2-МАГ.

3. Жирные кислоты.

8. а) Перенесите в тетрадь рис. 9.11, дополните

его недостающими метаболитами гликолиза и укажите ферменты гликолиза и

ОПК.

б) Назовите гормон, активирующий синтез ТАГ в печени и жировой ткани.

Выберите правильные ответы. Этот гормон:

А. Синтезируется в клетках островков Лангерганса поджелудочной железы.

Б. Секретируется в кровь в постабсорбтивный период.

В. Обеспечивает поступление глюкозы в

адипоциты. Г. Повышает активность глюкокиназы в печени.

Д. Активирует в печени синтез ТАГ из глюкозы.

в) Напишите регуляторную реакцию синтеза жирных кислот и укажите:

- локализацию;
- класс фермента и его кофермент;
- способы регуляции;
- гормон, активирующий эту реакцию;
- гормоны, снижающие скорость реакции.

г) Выберите правильные ответы. Синтезированная в печени пальмитиновая кислота:

А. Используется на построение линоленовой кислоты.

Б. В абсорбтивный период окисляется в печени до ацетил-КоА.

В. Используется на построение фосфолипидов.

Г. Превращается в арахидоновую кислоту. Д. Участвует в синтезе ТАГ.

д) Напишите схему процесса, в котором образуется один из продуктов, выбранных Вами в задании 82.

е) Выберите правильный ответ.

Продукты, образованные в печени с использованием пальмитиновой кислоты:

А. Остаются в печени.

Б. Участвуют в построении фосфолипидов.

В. Включаются в состав ЛПОНП. Г. Сгорают в ЦТК.

Д. Гидролизуются до глицерола и жирных кислот.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. При энзимотерапии нарушений пищеварения больным назначают препараты, содержащие пищеварительные ферменты, - пензитал или фестал. Компонентами пензитала являются ферменты панкреатического сока, в состав фестала, кроме этих ферментов, входят желчные кислоты (компоненты желчи). Какое из этих лекарств следует рекомендовать больному с нарушением пищеварения, которое вызвано желчнокаменной болезнью и сопровождается стеатореей? Для ответа на вопрос: а) опишите этапы ассимиляции пищевых жиров; б) напишите реакции, происходящие при переваривании жиров, укажите фермент и его активатор; в) перечислите функции желчных кислот и биологическое значение энтерогепатической циркуляции.

2. В ходе генетического обследования у ребенка было установлено нарушение структуры гена апопротеина С-II. В крови уровень ТАГ превышал норму в несколько раз. При осмотре пациента были обнаружены ксантомы на коже. Объясните причину гипертриацилглицеролемии у этого ребенка. Для этого:

а) опишите строение и созревание липопротеинов, транспортирующих пищевые жиры;

б) укажите роль апопротеина С-II в усвоении пищевого жира тканями;

в) назовите все возможные причины возникновения гипертриацилглицеролемии I типа.

3. Перенесите в тетрадь и заполните таблицу 9.3, используя метаболическую схему задания 8а.

4. Девушке с избыточной массой тела подруга рекомендовала принимать препарат ксеникал, чтобы похудеть. Действующее вещество этого лекарства - орлистат, имея структурное сходство с ТАГ, ингибирует панкреатическую липазу. Пациентам, которые принимают ксеникал, рекомендована гипокалорийная диета, поэтому девушка исключила из рациона жиры, но не снизила потребление углеводов. Лечение было рассчитано на 6 мес, но уже по истечении половины срока девушка поняла, что не худеет и даже немного прибавила в весе. Поэтому она обратилась к врачу, который посоветовал пациентке снизить содержание углеводов в пище. Объясните рекомендации врача. Для этого:

а) изобразите схемы метаболических путей, активация которых привела к повышению веса девушки;

б) назовите гормон, ускоряющий эти метаболические пути, объясните механизмы его действия, на схемах метаболических путей укажите реакции, которые этот гормон активирует.

Таблица 9.3

Регуляция синтеза ТАГ в печени

Процесс	Регуляторный фермент	Механизм активации фермента			
		Фосфо- /дефосфорилирование	Индукция/репрессия транскрипции	↑ или ↓ количества аллостерического регулятора	Ассоциация /диссоциация
		А	Б	В	Г
Гликолиз	1. 2. 3.				
ОПК	1. 2. 3. 4.				
ПФП	1.				
Синтез жирных кислот и ТАГ	1. 2. 3. 4.				

9.5. МОБИЛИЗАЦИЯ ЖИРОВ

ТАГ - важные источники энергии в организме человека. Среди основных питательных веществ ТАГ самые калорийные. В некоторых органах - печени, сердце, скелетных мышцах - в состоянии покоя (постабсорбтивный период) примерно половину необходимой энергии поставляют жирные кислоты, образующиеся в ходе гидролиза ТАГ. При физической нагрузке, длительном голодании использование жиров значительно возрастает. При голодании мобилизацию жирных кислот из жировой ткани активирует гормон глюкагон, при физической нагрузке и стрессе - адреналин (рис. 9.16).

Гормон глюкагон и адреналин взаимодействуют с рецепторами адипоцитов и активируют аденилатциклазную систему. ПКА фосфорилирует гормончувствительную ТАГ-липазу. Активный фермент отщепляет один остаток жирной кислоты от ТАГ, ДАГ-липаза и МАГ-липаза завершают гидролиз жира (рис. 9.17). Продукты реакций - жирные кислоты и глицерол - поступают в кровь. Глицерол усваивается печенью, а жирные кислоты могут использовать многие ткани. В состоянии голода, стресса, при физической работе повышается концентрация жирных кислот в крови.

Около 95% энергии, образующейся при окислении в тканях продуктов гидролиза ТАГ, приходится на жирные кислоты и только 5% - на глицерол.

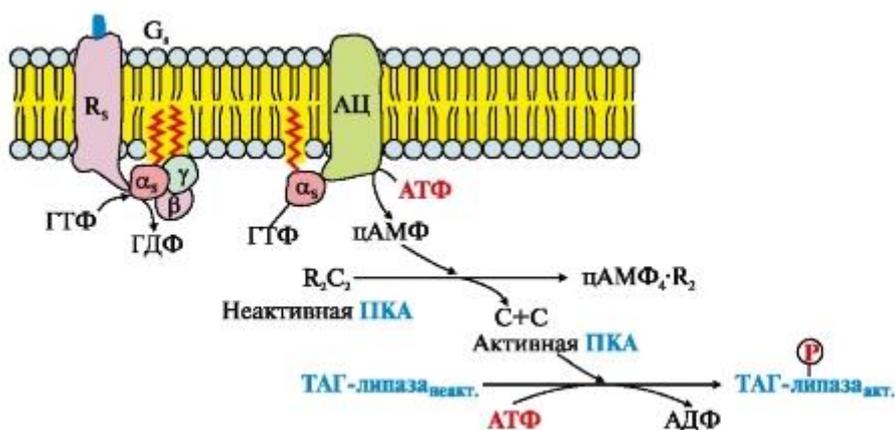


Рис. 9.16. Регуляция активности ТАГ-липазы глюкагоном и адреналином

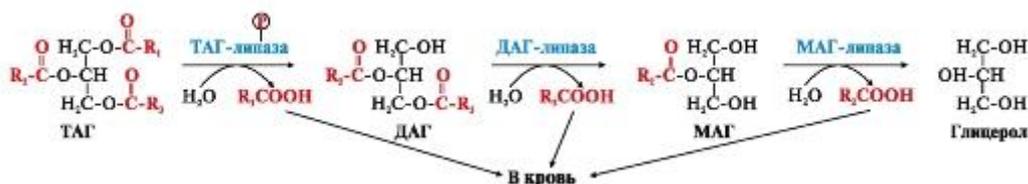


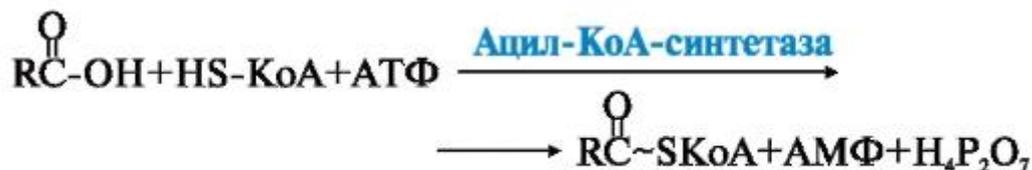
Рис. 9.17. Гидролиз ТАГ липазами жировой ткани

9.6. ОКИСЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

К тканям жирные кислоты доставляются кровью в комплексе с белком альбумином. Отделившись от альбумина, они проходят сквозь клеточные мембраны в цитозоль. Транспорт жирных кислот в пределах цитозоля осуществляют специальные внутриклеточные белки-переносчики.

Поступление жирной кислоты в митохондрии, регуляция процесса

Свободные жирные кислоты не способны пройти через внутреннюю мембрану. Их прохождению в митохондриальный матрикс предшествует несколько химических превращений. Эти реакции катализируют ферменты наружной и внутренней мембран митохондрий (рис. 9.18). Ацил-КоА-синтетаза с затратой энергии АТФ присоединяет жирнокислотный остаток к коферменту А. В этой реакции образуется ацил-КоА, который представляет собой высокоэнергетическое соединение.



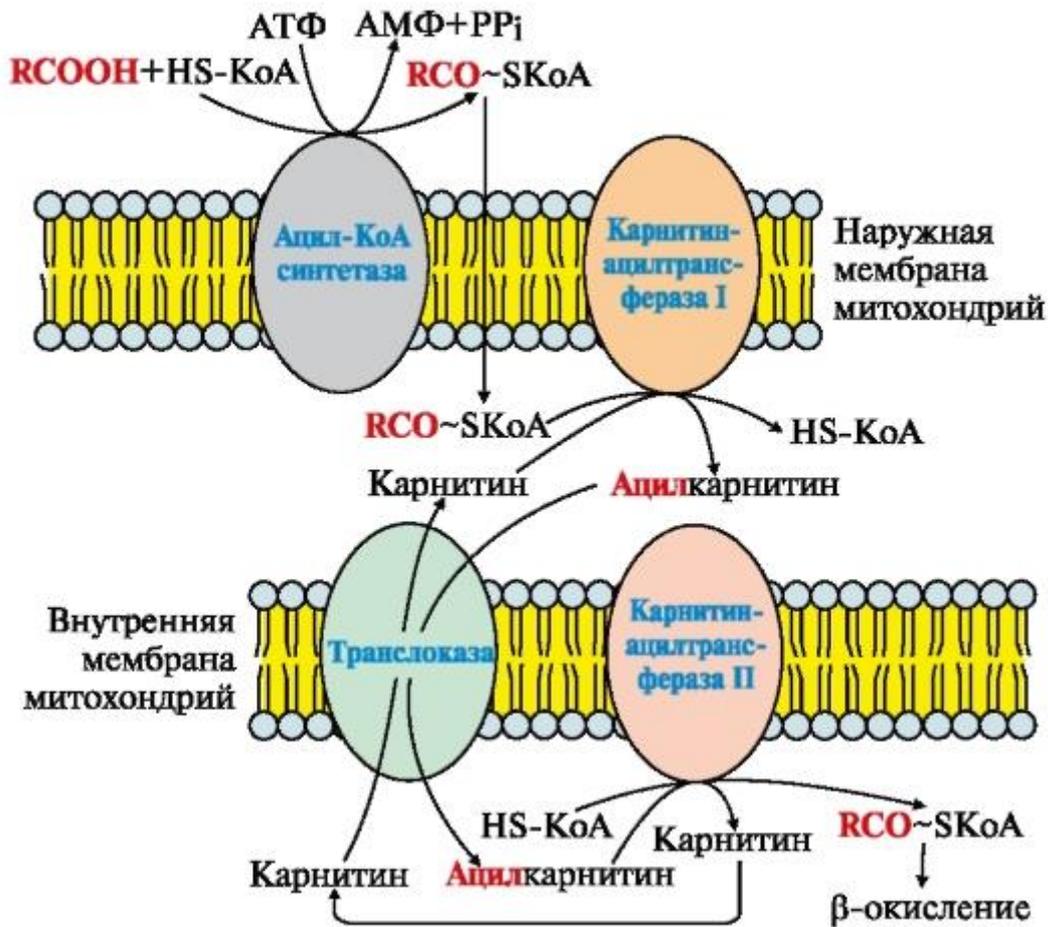


Рис. 9.18. Транспорт длинноцепочечных жирных кислот в матрикс митохондрий

Активацию жирной кислоты катализирует ацил-КоАсинтетаза. Ацил-КоА простой диффузией проходит через наружную мембрану в межмембранное пространство. Фермент карнитинацилтрансфераза I присоединяет жирнокислотный остаток к молекуле карнитина (рис. 9.19). Образованное вещество ацилкарнитин переносится транслоказой из межмембранного пространства в матрикс митохондрий. Фермент внутренней мембраны карнитинацилтрансфераза II катализирует обратную реакцию - превращение ацилкарнитина в карнитин и ацил-КоА, который включается в процесс β-окисления. Карнитин с помощью той же транслоказы возвращается в межмембранное пространство

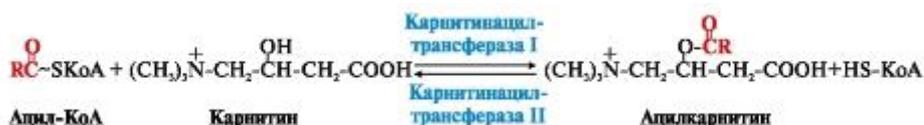


Рис. 9.19. Метаболизм ацилкарнитина

Карнитин образуется в клетках всех органов и тканей, но особенно его много содержится в мышцах. Ферменты карнитинацилтрансферазы различаются по локализации и строению. Карнитинацилтрансфераза I - аллостерический фермент

Карнитинацилтрансфераза I - регуляторный фермент

активаторы - АДФ, АМФ, ацил-КоА ингибиторы - АТФ, малонил-КоА (печень)

Катаболизм жирных кислот в мышцах регулируется соотношением АТФ/АДФ, т.е. при повышении АТФ в клетке активность карнитинацилтрансферазы I снижается. Жирные кислоты не поступают в митохондрии, и β -окисления не происходит. В печени основным аллостерическим регулятором этого фермента является малонил-КоА.

Окисление жирных кислот

Полное окисление жирных кислот в митохондриях до CO_2 и H_2O включает три этапа:

- β -окисление - специфический путь катаболизма, в ходе которого образуются ацетилКоА (рис. 9.20) и восстановленные коферменты NADH и FADH_2 ;
- цитратный цикл, в котором окисление молекул ацетил-КоА до CO_2 приводит к образованию NADH и FADH_2 и ГТФ;
- ЦПЭ, где идет окисление NADH и FADH_2 , образованных в реакциях β -окисления и цитратного цикла.

Образованный ацетил-КоА «сгорает» в ЦТК с энергетическим выходом - 12 АТФ, а окисление восстановленных коферментов FADH_2 и NADH в ЦПЭ приносит 5 АТФ (2 + 3). Молекула пальмитиновой кислоты (C_{16}) распадается до 8 молекул ацетил-КоА за 7 циклов β -окисления.

Наиболее активно реакции β -окисления идут в сердечной, скелетных мышцах и печени. Жирные кислоты не окисляются в нервной ткани, так как жирные кислоты не проходят гематоэнцефалический барьер, и эритроцитах, потому что в этих клетках нет митохондрий.

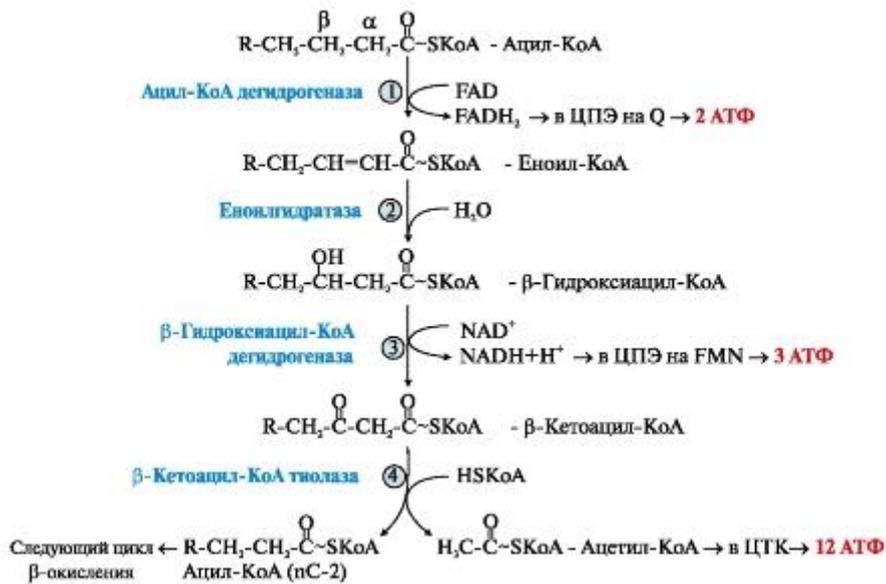


Рис. 9.20. Окисление жирных кислот

1 - каждый цикл β -окисления начинается с реакции дегидрирования ацил-КоА FAD-зависимой дегидрогеназой. Водород от α - и β -углеродных атомов жирной кислоты принимает кофермент FAD (FADH); 2 - фермент еноилгидратаза присоединяет воду по двойной связи еноил-КоА, и образуется β -гидроксиацил-КоА; 3. β -гидроксиацил-КоА окисляется NAD⁺-зависимой дегидрогеназой; 4 - образованный β -кетоацил-КоА укорачивается на

2 углеродных атома (молекула ацетил-КоА) под действием β -кетоацил-КоА-тиолазы. Таким образом, в каждом цикле β -окисления от жирной кислоты отщепляется молекула ацетил-КоА, уменьшая ее на 2 углеродных атома. При этом в 2 окислительных реакциях каждого цикла образуются FADH и NADH. Ацил-КоА (nC-2) включается в следующий цикл β -окисления.

Энергетический выход при окислении насыщенной жирной кислоты до CO₂ и H₂O можно рассчитать по формуле:

$[n/2 \cdot 12 + (n/2 - 1) \cdot 5] - 1$, где:

- n - количество C-атомов в жирной кислоте;
- n/2 - количество молекул ацетил-КоА, образованных в процессе β -окисления;
- 12 - количество АТФ, синтезирующихся при окислении ацетил-КоА в ЦТК;
- (n/2 - 1) - количество циклов β -окисления;

- 5 - количество молекул АТФ, образованных в каждом цикле за счет 2 реакций дегидрирования;
- 1 - затрата 1 молекулы АТФ на активацию жирной кислоты.

9.7. УЧАСТИЕ ГОРМОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ПЕЧЕНИ

В клетках печени происходят синтез и окисление жирных кислот. Направление метаболизма жирных кислот зависит от физиологического состояния организма и скорости поступления жирных кислот в митохондрии. Процесс переноса через митохондриальную мембрану в матрикс регулируется на стадии образования ацилкарнитина под действием карнитинацилтрансферазы I.

Этот фермент в печени ингибируется малонилКоА - основным субстратом синтеза жирных кислот. Скорость образования этого вещества зависит от действия гормонов глюкагона, адреналина и инсулина на печень (рис. 9.21).



Рис. 9.21. Влияние гормонов глюкагона и адреналина на скорость окисления жирных кислот в печени

Гормон глюкагон или адреналин взаимодействует с рецепторами аденилатциклазной системы. Активированная протеинкиназа А фосфорилирует фермент ацетил-КоА-карбоксилазу. В фосфорилированной форме он неактивен, поэтому скорость образования малонил-КоА снижается. Замедляется синтез жирных кислот, так как малонил-КоА - субстрат этого процесса. Малонил-КоА - основной ингибитор β-окисления в печени. Снижение содержания ингибитора приводит к повышению активности

карнитинацилтрансферазы I. Образованный ацилкарнитин с помощью переносчика проходит через внутреннюю мембрану в матрикс митохондрий

9.8. КЕТОНОВЫЕ ТЕЛА

В митохондриях печени ацетил-КоА, образованный в ходе β -окисления, может включаться в два процесса: цитратный цикл и синтез кетоновых тел. К кетоновым телам относят: ацетоацетат, β -гидроксибутират и ацетон (рис. 9.22). Синтезированные в печени молекулы поступают в кровь, ацетоацетат и β -гидроксибутират окисляются в периферических тканях. Ацетон полностью удаляется из организма с мочой, потом и выдыхаемым воздухом. В норме синтез кетоновых тел незначительно увеличивается в постабсорбтивный период и составляет 1-2 мг/дл в крови. Скорость этого процесса возрастает при длительной мышечной работе, длительном голодании (~50 мг/дл) или некоторых заболеваниях, например сахарном диабете (300-400 мг/дл).

Таким образом, при голодании в крови повышается концентрация не только жирных кислот, но и кетоновых тел.

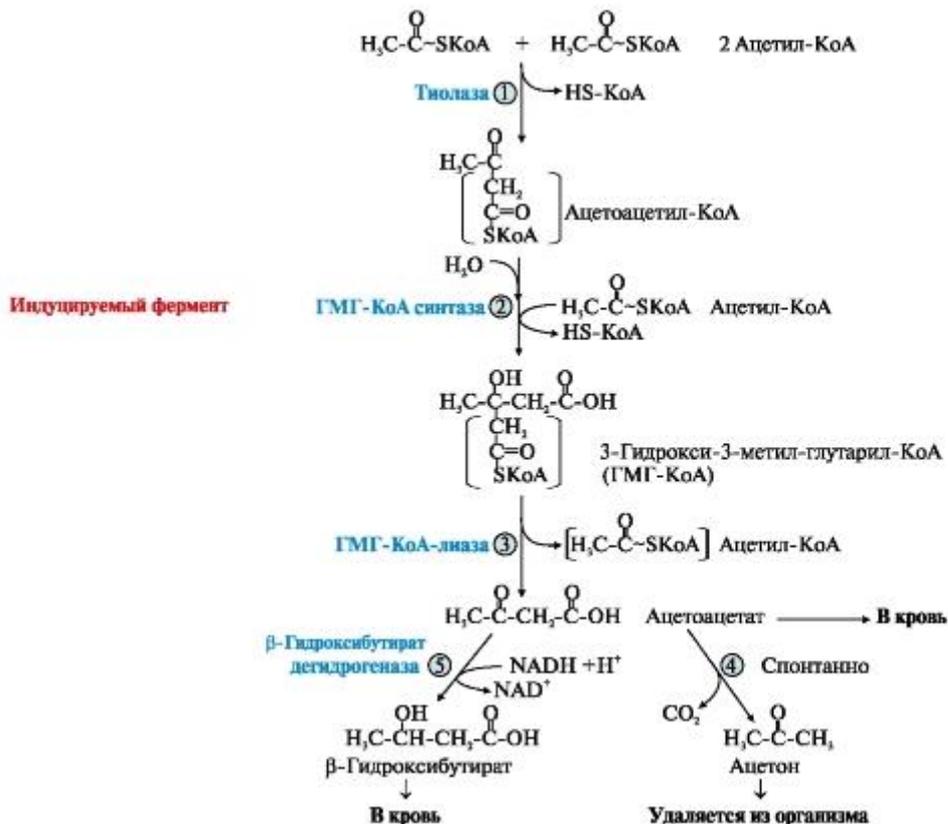


Рис. 9.22. Синтез кетоновых тел

1 - фермент тиолаза соединяет 2 ацетильных остатка; 2 - ГМГ-КоА-синтаза (индуцируемый фермент) присоединяет еще один ацетильный остаток к молекуле ацетоацетил-КоА; 3 - ГМГ-КоА-лиаза отрезает ацетильный остаток, включенный в молекулу ГМГ-КоА в 1-й реакции; образованный ацетоацетат может выходить в кровь и использоваться в других тканях в качестве источника энергии; 4 - при высокой концентрации ацетоацетата часть его неферментативно декарбокксилируется с образованием ацетона, который полностью удаляется из организма с потом, мочой и выдыхаемым воздухом; 5 - при повышении содержания NADH в митохондриях гепатоцитов основное количество ацетоацетата восстанавливается, образованный β -гидроксibuтират поступает в кровь

Регуляция процесса синтеза кетоновых тел

В печени при длительном голодании и продолжительной физической работе (рис. 9.23):

- гормоны глюкагон, адреналин активируют β -окисление, что приводит к повышению скорости образования ацетил-КоА и NADH;
- в митохондриях снижается содержание ингибитора ГМГ-КоА-синтазы - HS-КоА, так как возрастает использование этого кофермента в реакциях β -окисления;
- гормоны активируют глюконеогенез, возрастает включение оксалоацетата в этот процесс и соответственно снижается его поступление в ЦТК;
- активируется экспрессия гена ГМГ-КоА-синтазы, участвующей в синтезе кетоновых тел.

Окисление кетоновых тел

Ацетоацетат и β -гидроксibuтират транспортируются кровью и активно окисляются в большинстве тканей (рис. 9.24). В отличие от жирных кислот, они проходят через гематоэнцефалический барьер и являются топливными молекулами для нервной ткани.

Энергетический выход при окислении кетоновых тел до CO_2 и H_2O :

β -Гидроксibuтират $3 - 1 + 2 \times 12 = 26$ АТФ.

Ацетоацетат $-1 + 2 \times 12 = 23$ АТФ.

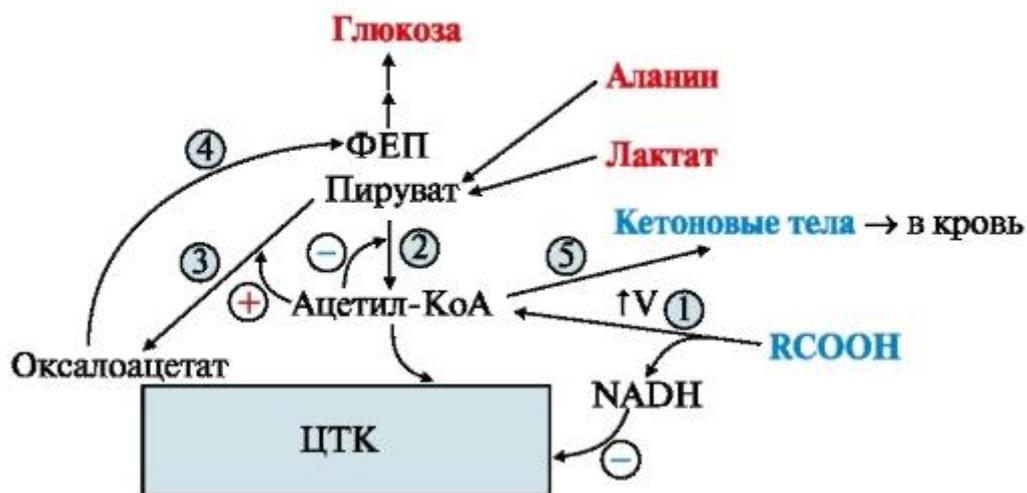


Рис. 9.23. Регуляция синтеза кетоновых тел

1. - повышение скорости β -окисления приводит к образованию большого количества ацетил-КоА и NADH, который не успевает полностью окисляться в ЦПЭ; 2 - ацетил-КоА ингибирует ПДК, поэтому пируват, образованный из аминокислот и лактата, превращается не в ацетил-КоА, а в оксалоацетат; 3 - ацетил-КоА активирует пируваткарбоксилазу, которая катализирует эту реакцию; 4 - гормоны глюкагон, адреналин, кортизол при длительном голодании стимулируют глюконеогенез, поэтому возрастает использование оксалоацетата в этом процессе. Продукт β -окисления - NADH ингибирует аллостерические ферменты ЦТК. Повышение синтеза фосфоенолпирувата (ФЕП) из оксалоацетата приведет к снижению образования цитрата и скорости ЦТК; 5 - не использованный в ЦТК ацетил-КоА идет на синтез кетоновых тел.

Кетоновые тела не используются эритроцитами, так как в этих клетках нет митохондрий, и печени, потому что в митохондриях гепатоцитов отсутствует фермент сукцинил-КоА-ацетоацетаттрансфераза.

В норме содержание кетоновых тел в крови очень невелико, однако при длительном голодании, а также сахарном диабете оно может быть высоким. Повышение концентрации кетоновых тел в крови называется кетонемией, в моче - кетонурией. Ацетоацетат и β -гидроксибутират являются кислотами, которые в крови диссоциируют на анион и протон, например:



Небольшое повышение концентрации H^+ в крови не влияет на рН, потому что функционирующие буферные системы, связывая свободные протоны, препятствуют отклонению его от

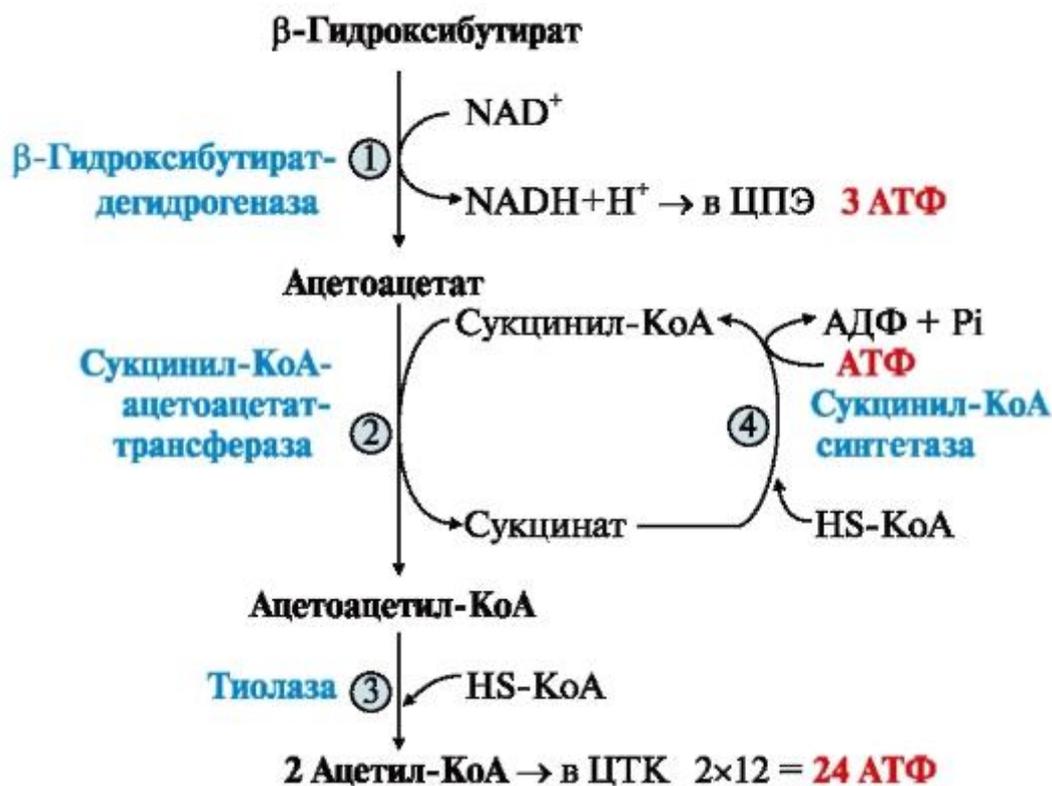


Рис. 9.24. Окисление кетонových тел

Катаболизм кетонových тел происходит в митохондриях. В реакции 1 образуется $NADH$, который окисляется в ЦПЭ. Энергетический выход равен 3 АТФ; в реакции 2 ацетоацетат активируется, источником кофермента А является промежуточный метаболит цитратного цикла - сукцинил-КоА. Катализирует реакцию сукцинил-КоА-ацетоацетат-трансфераза (этого фермента нет в печени). Убыль сукцинил-КоА восполняется в реакции 4, которая протекает с затратой энергии АТФ. В реакции 3 из ацетоацетил-КоА под действием тиолазы образуется 2 молекулы ацетил-КоА, окисление которых до CO_2 происходит в ЦТК и сопровождается синтезом 24 АТФ нормы. Однако когда концентрация H^+ превышает емкость буферных систем, рН крови снижается (ацидоз). Ацидоз, вызванный повышением уровня кетонových тел, носит название кетоза или кетоацидоза. Изменение рН приводит к нарушению функций белков и ферментов крови.

Кетоацидоз наблюдается у больных, страдающих тяжелой формой сахарного диабета и не получающих инсулина. Увеличение кислотности обусловлено

высокой скоростью синтеза в печени и поступления в кровь ацетоацетата, β -гидроксибутирата и пониженной способностью (мышц) или потребностью (нервная ткань) использования этих молекул тканями. рН снижается до 6,8 при норме 7,4, такой сдвиг кислотно-основного равновесия может угрожать жизни больного.

9.9. ЭЙКОЗАНОИДЫ

Эйкозаноиды - это большая группа регуляторных молекул (паракринных гормонов). Они образуются и функционируют практически во всех органах и тканях. Субстратами для их синтеза являются полиненасыщенные жирные кислоты с 20 углеродными атомами, такие как:

Эйкозатриеновая 20:3 } ω -6 жирные кислоты
 Эйкозатетраеновая 20:4 }
 Эйкозапентаеновая 20:5 – ω -3 жирная кислота

Основное количество эйкозаноидов образуется из эйкозатетраеновой (арахидоновой) жирной кислоты, которая поступает с пищей или образуется из эссенциальной жирной кислоты - линолевой (18:2). В клетках арахидоновая кислота входит в состав фосфолипидов мембран (рис. 9.25).



Рис. 9.25. Высвобождение арахидоновой кислоты из мембран

Сигнальная молекула взаимодействует с рецептором аденилатциклазной системы и активирует фосфолипазу A₂

В цитозоле клеток арахидоновая кислота может превращаться в разные по строению эйкозаноиды. В каждом типе клеток синтезируется преимущественно один тип эйкозаноидов (рис. 9.26).

Эйкозаноиды секретируются в межклеточное пространство и взаимодействуют с рецепторами близлежащих клеток другого фенотипа (паракринная регуляция) или того же фенотипа



Рис. 9.26. Образование разных типов эйкозаноидов

А. Все эйкозаноиды можно разделить на 3 группы: простагландины (PG), тромбоксаны (TX) и лейкотриены (LT). Эйкозаноиды образуются в очень малых количествах, время их жизни - минуты или даже секунды; Б. Общая структурная формула PG; 8, 9, 10, 11, 12 - С-углеродные атомы формируют 5-членный цикл с заместителями X и Y в положении 9 и 11, где X, как правило, OH-гидроксильная группа, Y - O= - кетогруппа.

(аутокринная регуляция). При аутокринной регуляции рецептор может находиться в мембране клетки, секретирующей этот эйкозаноид (рис. 9.27).

Эйкозаноиды действуют на клетки-мишени через специфические мембранные рецепторы. Передача сигнала эйкозаноидов идет посредством активации аденилатциклазной, гуанилатциклазной или инозитолфосфатной системы. Поэтому в клетках-мишенях в зависимости от системы передачи сигнала может изменяться уровень цАМФ, цГМФ, ИФ₃ и Ca²⁺.

В норме количество эйкозаноидов недостаточно для связывания рецептором и активации соответствующей сигнальной системы. Но при патологических состояниях может активироваться фосфолипаза A_2 , это приведет к повышению синтеза и секреции эйкозаноидов в межклеточное пространство.



Рис. 9.27. Паракринный и аутокринный механизмы регуляции

Эйкозаноиды регулируют:

- тонус гладкомышечных клеток, поэтому влияют на артериальное давление;
- состояние бронхов и кишечника;
- функции макрофагов, поэтому стимулируют развитие воспалительной реакции;
- активность тромбоцитов, которые участвуют в процессе свертывания крови;
- агрегацию и хемотаксис лейкоцитов.

Роль эйкозаноидов в развитии воспалительного процесса

Воспаление - естественная реакция тканей на повреждение. Большую роль в цепи реакций, приводящих к воспалению, играют эйкозаноиды. Они секретируются из клеток поврежденных тканей и стимулируют развитие воспалительной реакции. Поэтому для снижения или даже подавления воспалительного процесса используют лекарственные препараты, снижающие синтез эйкозаноидов. По строению действующего вещества препараты разделены на две группы: стероиды, подавляющие высвобождение арахидоновой кислоты из фосфолипидов мембран, и нестероиды, ингибирующие фермент циклооксигеназу. Так действуют аспирин и другие нестероидные противовоспалительные средства кеторол, кетанов (рис. 9.28).



Рис. 9.28. Действие аспирина - специфического необратимого ингибитора циклооксигеназы

Фермент циклооксигеназа ингибируется аспирином и другими нестероидными противовоспалительными средствами. В активном центре присутствует ОН-группа серина, к которой присоединяется ацетильный остаток от ацетилсалициловой кислоты

Гормон кортизол и его синтетические аналоги (стероиды) стимулируют синтез белков липокортинов, которые ингибируют фосфолипазу A_2 . Снижаются высвобождение арахидоновой кислоты из клеточных мембран и синтез эйкозаноидов. Лекарственные препараты, например гидрокортизон, бетаметазон используются при лечении длительно текущих воспалительных процессов.

Роль эйкозаноидов в свертываемости крови

При повреждении эндотелия сосудов в клетках активируется образование простациклинов (PGI_2 , PGE_2 и т.д.). Они взаимодействуют с рецепторами тромбоцитов и снижают их способность к агрегации. Действуя на рецепторы эндотелиальных клеток сосудов, простациклины препятствуют сужению сосудов (рис. 9.29).

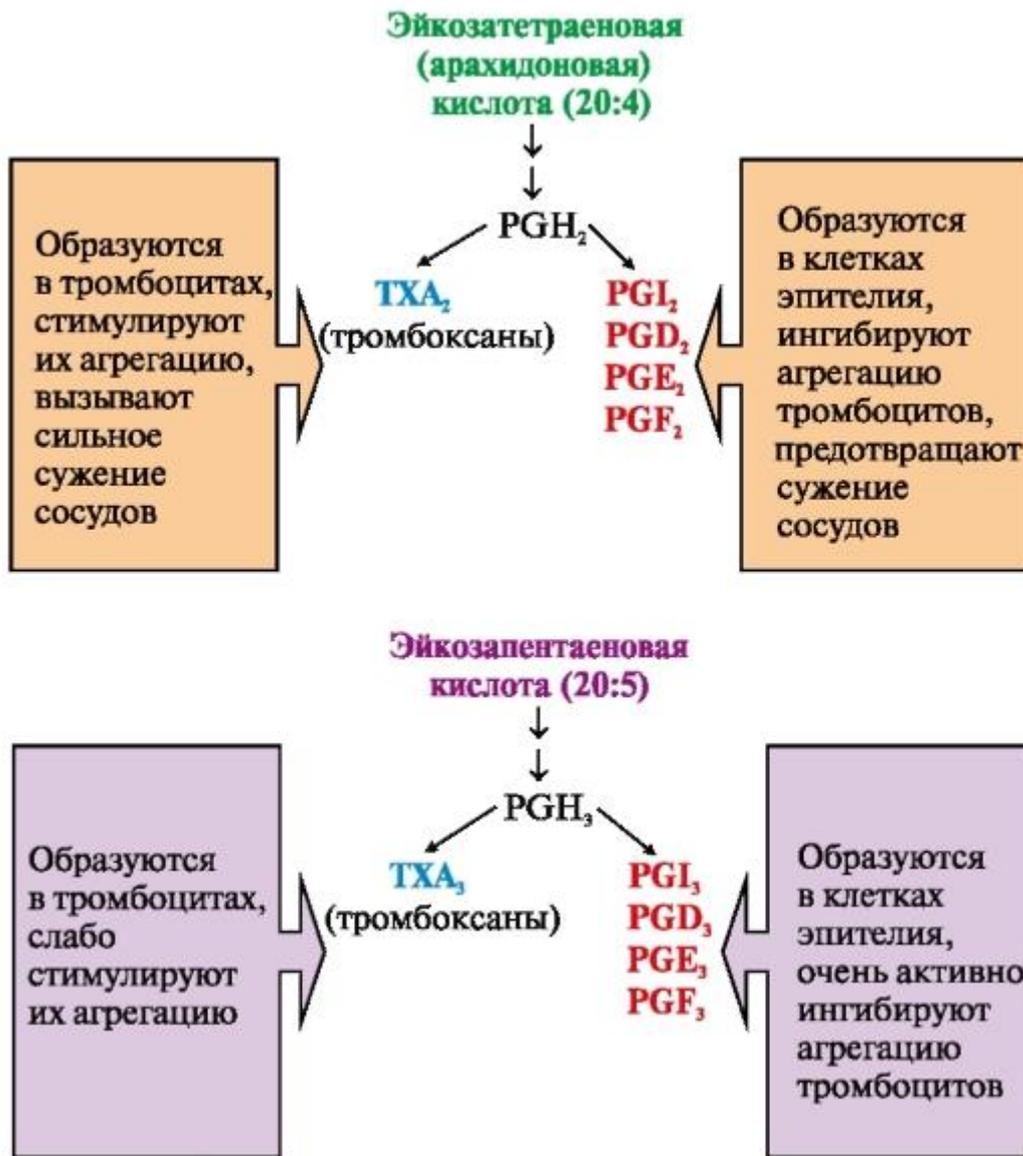


Рис. 9.29. Типы тромбоксанов и простаглицлинов, образованных из ω -3 и ω -6 жирных кислот

В то же время в области повреждения сосудистой стенки активируются тромбоциты, которые секретируют тромбоксаны (TXA₂). Они активируют тромбоциты и стимулируют их агрегацию, а действуя на рецепторы эндотелиальных клеток, вызывают сужение просвета сосуда в области повреждения.

Из полиеновых жирных кислот с 20 углеродными атомами, но разным числом и положением в цепи двойных связей синтезируются эйкозаноиды с незначительным отличием в структуре. Например, из эйкозопентаеновой жирной кислоты (20:5) образуются не PGI₂, а PGI₃ которые имеют более высокое сродство к рецепторам тромбоцитов, поэтому PGI₃ более активно препятствуют тромбообразованию.

А образованные из эйкозапентаеновой жирной кислоты (20:5) тромбоксаны (ТХА₃) имеют низкое сродство к рецепторам этих же клеток и поэтому менее активно стимулируют тромбообразование и сужение сосудов.

В связи с этим, людям с повышенным риском тромбообразования рекомендуют препараты, содержащие ω -3 жирные кислоты - линоленовую, эйкозапентаеновую жирные кислоты.

9.10. АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ

Около 90% кислорода, поступающего в клетки тканей, используется для функционирования ЦПЭ. Остальные 10% участвуют в микросомальном окислении (раздел 13) и реакциях, катализируемых гидроксилазами, диоксигеназами, оксидазами (см. раздел 7) и др. В реакциях, протекающих с участием кислорода, могут образовываться продукты его неполного восстановления, которые отделяются от фермента и начинают самостоятельную жизнь в клетке. В норме около 2% кислорода образует активные формы: O_2^- , H_2O_2 и OH^* . Это происходит во время поэтапного переноса электронов на O_2 в ходе окислительно-восстановительных реакций. Супероксид-анион, гидроксильный радикал проявляют высокую химическую активность. Они могут вступать в реакцию с самыми различными молекулами, например нуклеиновыми кислотами, белками, углеводами, липидами, и забирать или отдавать им электрон. Наиболее подвержены действию активных форм кислорода остатки полиненасыщенных жирных кислот в составе мембранных липидов. Активные радикалы атакуют CH_2 -группу между двойными связями в молекуле жирной кислоты.

Перекисное окисление жирнокислотных остатков уменьшает гидрофобность липидов, изменяет конформацию липидов и белков в мембранах, вызывает образование ковалентных сшивок между молекулами мембран. Повреждение мембран приводит к нарушению их функций и метаболизма в клетках.

Обеспечивают инактивацию активных форм кислорода ферменты супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза (см. раздел 15).

Природные антиоксиданты являются витаминами. К ним относятся витамины Е (α -, β -, γ - токоферол), С и каротиноиды - предшественники витамина А. Эти вещества способны

окисляться, т.е. отдавать электрон. Свободные радикалы жирных кислот выступают в роли акцептора электронов, восстанавливая их, антиоксиданты прерывают цепную реакцию ПОЛ.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. При феохромоцитомах (опухолях хромоффинной ткани надпочечников) увеличен синтез и секреция адреналина. Содержание жирных кислот в крови больных в десятки раз выше, чем у здоровых.

а) Выберите правильные ответы. Адреналин повышает в крови концентрацию

жирных кислот, потому что:

А. Взаимодействует с рецепторами жировой ткани.

Б. Активирует β -окисление в печени.

В. Повышает активность ТАГ-липазы.

Г. Снижает поступление жирных кислот в

мышцы. Д. Активирует липолиз.

б) Напишите реакции, которые ускоряет адреналин в жировой ткани.

Укажите, какие ткани активно используют метаболиты, поступающие в кровь из жировой ткани.

2. При интенсивной физической нагрузке жирные кислоты активно усваиваются мышцами, где подвергаются окислению (рис. 9.30.):

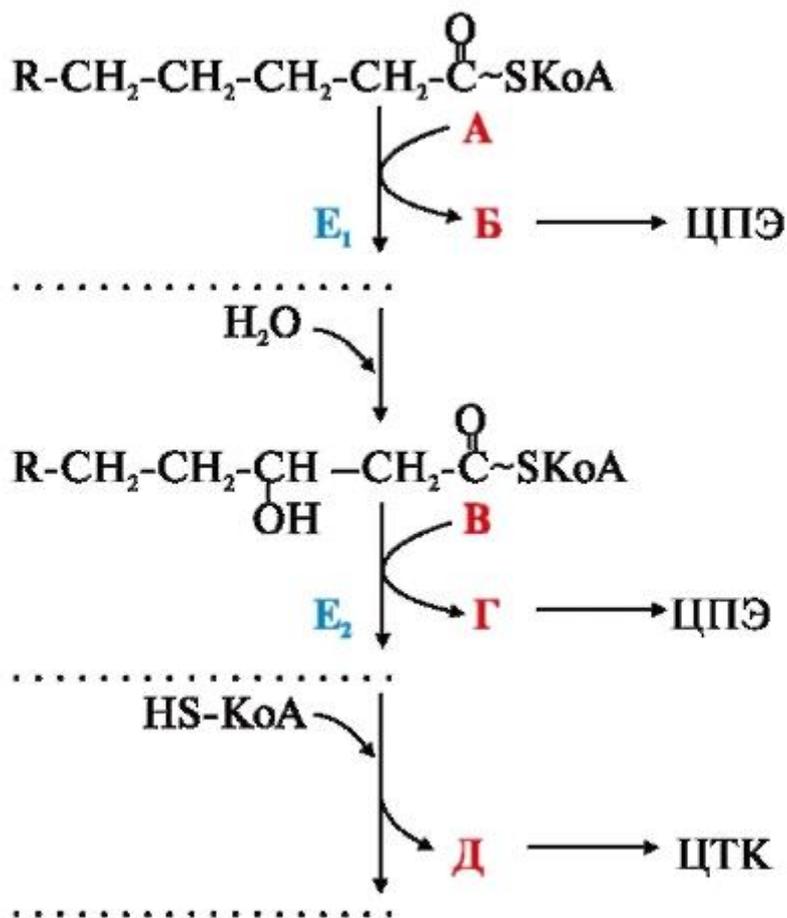


Рис. 9.30. Окисление жирных кислот в мышцах

а) Перенесите схему окисления жирных кислот в тетрадь, допишите недостающие формулы (...), коферменты и назовите ферменты E_1 и E_2 .

мулы (...), коферменты и назовите ферменты E_1 и E_2 .

ты E_1 и E_2 .

б) Установите соответствие.

К цифре подберите соответствующую букву, указанную на схеме:

1. Кофермент NAD^+
2. Субстрат NADH -дегидрогеназы.
3. Передает 2H^+ и $2e^-$ на убихинон (Q).
4. В состав кофермента входит окисленная форма витамина B_2 .
5. Может образоваться из пирувата.

г) Рассчитайте, сколько молекул АТФ синтезируется за один цикл β -окисления.

д) Выберите правильные ответы: Катаболизм жирных кислот до CO_2 включает:

А. ЦПЭ.

Б. Гликолиз.

В. β -Окисление.

Г. Цитратный цикл. Д. Липолиз.

3. Выберите правильные ответы.

Голодание в течение нескольких дней сопровождается:

А. Снижением концентрации инсулина в крови.

Б. Повышением концентрации глюкагона.

В. Снижением активности пальмитоилсинтетазы в печени и жировой ткани.

Г. Повышением концентрации жирных

кислот в крови. Д. Увеличением скорости гидролиза жира в адипоцитах.

4. Выберите правильные ответы.

В печени к концу 3-х суток голодания:

А. Увеличивается использование жирных кислот.

Б. Активно идет β -окисление.

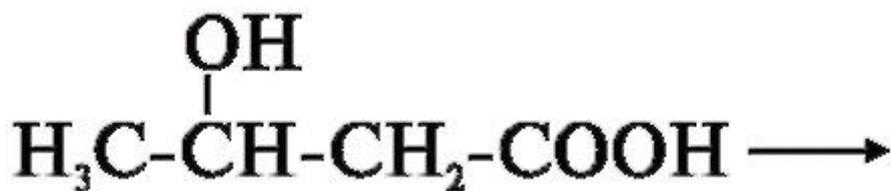
В. В митохондриях синтезируется ацетоацетат.

Г. Активирована ацетил-КоА-карбоксилаза. Д. Повышено количество митохондриальной ГМГ-КоА-синтазы.

5. При голодании в печени синтезируются кетоновые тела.

а) Укажите, какие ткани используют кетоновые тела.

б) Напишите реакции катаболизма кетоновых тел, укажите ферменты, рассчитайте энергетический выход при окислении:



в) Укажите, как влияет снабжение тканей O_2 на интенсивность окисления кетоновых тел.

Ответ поясните.

г) Назовите причины ацидоза и состояния организма, при которых он наблюдается.

д) Установите соответствие.

А. Являются основными субстратами для синтеза глюкозы.

Б. При длительном голодании активно используется нервной тканью.

В. Может окисляться в аэробных и анаэробных условиях.

Г. Транспортируется кровью в составе

липопротеинов. Д. Активно окисляется печенью в период голодания.

1. Жирные кислоты.

2. Кетоновые тела.

3. Глюкоза.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Молодой человек в пятницу вечером поступил в клинику с переломом нижней челюсти.

Дежурный врач наложил больному шины, не объяснив при этом, что пациент должен питаться через трубочку. В понедельник на обходе больной пожаловался врачу на слабость, головокружение, запах ацетона изо рта. У него была взята кровь по cito! Результаты анализа показали, что в крови снижен уровень глюкозы и повышен уровень кетоновых тел. Как объяснить полученные результаты? Для ответа на вопрос:

- а) укажите, содержание каких гормонов повышено в крови у больного, который не принимал пищу в течение 3 дней и объясните механизм действия одного из них на клетки-мишени;
- б) напишите схемы процессов обмена липидов, которые активируют эти гормоны в клетках-мишенях;
- в) объясните причину повышения уровня кетоновых тел в крови;
- г) укажите место их синтеза и роль в метаболизме;
- д) предположите, каковы будут дальнейшие действия врача после ознакомления с результатами анализа.

2. а) Перенесите табл. 9.4. в тетрадь, заполните колонки, характеризующие топливные молекулы организма человека.

б) Используя данные табл. 9.4, ответьте на вопросы, какой из энергоносителей является:

Таблица 9.4

Топливные молекулы (энергоносители) организма

Топливные молекулы	Глюкоза	Кетоновые тела	Жирные кислоты
Синтезируется в организме (где?)			
Поступает в составе пищи			
Депонируется в организме в форме (где?)			
Окисляются в организме (где?)			
Концентрация в крови ↑, в период?			
Концентрация в крови ↓, в период?			
Катаболизм требует участия O ₂			

- а) универсальным источником энергии для всех клеток;
- б) основным источником энергии для большинства тканей и органов в постабсорбтивном периоде;
- в) основным источником энергии для нервной ткани в постабсорбтивном периоде;
- г) дополнительным источником энергии для нервной ткани при длительном голодании;
- д) единственным источником энергии для эритроцитов.

3. Почему кетоновые тела не могут стать единственным источником энергии для нервной ткани? Для ответа на вопрос:

- а) напишите реакции окисления кетоновых тел до ацетил-КоА;
- б) представьте схему использования ацетилКоА в митохондриях нейронов;
- в) объясните, какое вещество, участвующее в этом процессе, образуется из глюкозы;
- д) рассчитайте энергетический выход при окислении β -гидроксибутирата до CO_2 и H_2O .

4. Для обработки корневых каналов при лечении пульпита и периодонтита в качестве противовоспалительных средств применяют препарат крезофен. Он содержит структурный аналог глюкокортикоидов дексаметазон. Объясните механизм противовоспалительного действия дексаметазона. Для этого:

- а) напишите схему реакции, протекающей в клетках тканей зуба и пародонта, которую подавляет дексаметазон;
- б) представьте схему превращения продукта этой реакции в гормоны местного действия;
- в) укажите функции этих веществ в тканях.

9.11. СТРОЕНИЕ ХОЛЕСТЕРОЛА И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЕГО В ТКАНЯХ

Холестерол относится к группе стероидов - циклических соединений, молекулы которых содержат 4 конденсированных кольца. Из холестерина могут синтезироваться другие стероиды: желчные кислоты, гормоны, витамин D₃. Эти вещества в основном различаются по количеству и строению полярных групп.

Холестерол имеет единственную гидроксильную группу, остальная часть молекулы гидрофобна (рис. 9.31).

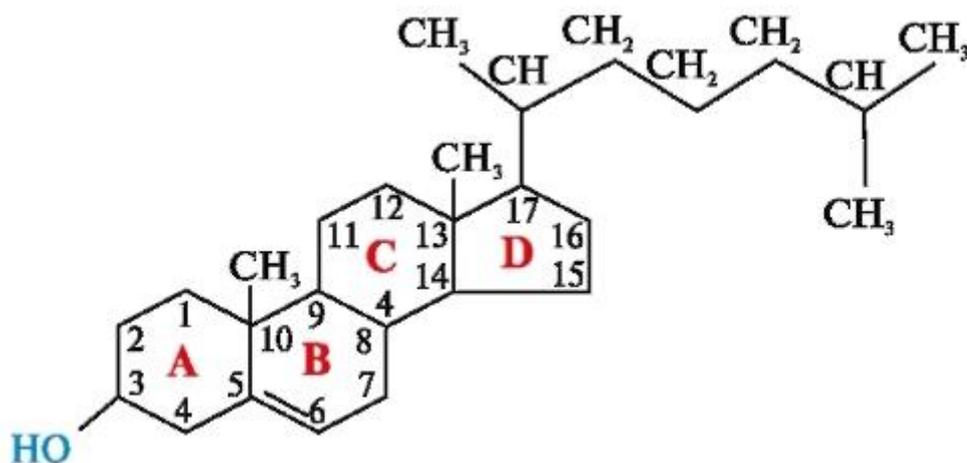


Рис. 9.31. Строение холестерина

Четыре конденсированных кольца А, В, С, D создают жесткую структуру, поэтому присутствие холестерина в мембранах клеток способствует упорядоченности и устойчивости липидного бислоя мембран, его большей компактности

В организме человека содержится 140 г холестерина и его эфиров. Этот фонд создается экзогенным холестерином, поступающим с пищей, и эндогенным, синтезируемым в организме (рис. 9.32). Основная часть (93%) холестерина находится в клетках тканей и около 7% в составе липопротеинов крови.

Холестерол используется на построение клеточных мембран и синтез стероидных гормонов (кортизола, альдостерона, кальцитриола, эстрогенов и андрогенов), витамина D₃, желчных кислот.



Рис. 9.32. Образование и распределение фонда холестерина в организме человека

В мембранах клеток присутствует свободный холестерол, но каждая клетка имеет небольшой запас холестерина, этерифицированного жирными кислотами, - олеиновой (C_{181}) или линолевой (C_{182}). Эфиры холестерина депонируются в липидных каплях цитоплазмы. Объем депо зависит от метаболизма клетки, т.е. возможности активного синтеза эндогенного холестерина и использования холестерина для синтеза других стероидов. В крови основное количество холестерина и его эфиров находится в составе ЛПНП и ЛПВП.

Холестерол выводится из организма с кожным салом, со слюной и другими секретами в форме желчных кислот, в виде продуктов катаболизма стероидных гормонов, в составе мембран слущенного эпителия.

9.12. АССИМИЛЯЦИЯ ПИЩЕВОГО ХОЛЕСТЕРОЛА

Холестерол и его эфиры в значительном количестве содержатся в продуктах животного происхождения, особенно много его в яичном желтке, сливочном масле и мясе. В растительных продуктах холестерина нет.

Поступающие с пищей холестерол и его эфиры проходят те же этапы ассимиляции, что и другие липиды. В кишечнике молекулы экзогенного холестерина и его эфиров входят в состав больших липидных капель (см. рис. 9.1).

- На первом этапе эти вещества подвергаются эмульгированию под действием желчных кислот.
- Фермент панкреатического сока холестеролэстераза катализирует гидролиз эфиров холестерина

(рис. 9.33).

- В кишечнике холестерол и жирные кислоты включаются в состав смешанных мицелл, содержащих продукты гидролиза ТАГ, фосфолипидов, жирорастворимые витамины. Молекулы, составляющие смешанную мицеллу, проходят в энтероциты.

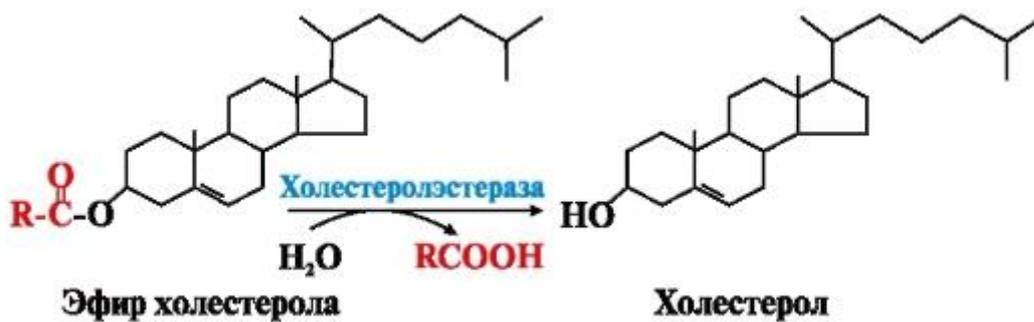


Рис. 9.33. Гидролиз эфиров холестерина в кишечнике

- В этих клетках протекает ресинтез ТАГ, фосфолипидов, эфиров холестерина и синтез апопротеинов, необходимых для формирования транспортной формы экзогенных липидов - хиломикронов.
- Ресинтез эфиров холестерина в энтероцитах катализирует фермент ацил-холестерол-ацилтрансфераза (АХАТ).



- В клетках кишечника образуются $\text{ХМ}_{\text{незр}}$, содержание холестерина и его эфиров в этих частицах составляет около 5%.
- Через лимфу они поступают в кровь, где при контакте с ЛПВП происходит их «созревание». В ходе этого процесса на поверхности ХМ появляются два белка - апопротеины С-II и Е.
- Апопротеин С-II обеспечивает взаимодействие ХМ с ферментом эндотелия капилляров ЛП-липазой и его активацию. Под действием ЛП-липазы идет гидролиз основного составляющего ХМ - триацилглицеролов.



Холестерол и его эфиры в составе $\text{ХМ}_{\text{ост}}$ эндоцитозом поступают в клетки печени. В лизосомах идет гидролиз всех составляющих $\text{ХМ}_{\text{ост}}$, кроме холестерина. Печень использует холестерол на построение мембран, синтез желчных кислот, формирование ЛПОНП и ЛПВП.

9.13. СИНТЕЗ ХОЛЕСТЕРОЛА В ПЕЧЕНИ И ПОСТУПЛЕНИЕ ЕГО В ТКАНИ

Холестерол синтезируется из ацетил-КоА в печени, клетках кишечника, коре надпочечников, коже, репродуктивных органах.

Наиболее активно этот процесс протекает в печени, которая синтезирует около 80%

эндогенного холестерина. Исходные субстраты: ацетил-КоА, восстановленный кофермент - NADPH и источник энергии АТФ образуются в реакциях катаболизма глюкозы (см. рис. 9.11). В абсорбтивный период в цитозоле клеток печени одновременно с синтезом жирных кислот и ТАГ идет образование холестерина (рис. 9.34).

Регуляция синтеза холестерина в печени

Процесс регулируется на стадии превращения ГМГ-КоА в мевалоновую кислоту. Существуют два основных способа контроля за скоростью этой реакции: изменение количества или активности ГМГ-КоА-редуктазы (рис. 9.35).

- Регуляция на уровне транскрипции. Стероиды - холестерол и желчные кислоты - подавляют транскрипцию гена ГМГ-КоА-редуктазы и синтез этого фермента.
- Регуляция протеолиза ГМГ-КоА-редуктазы.

Холестерол и желчные кислоты не только снижают синтез новых молекул ГМГ-КоА редуктазы, но и стимулируют их протеолиз, т.е. деградацию функционально активного фермента.

- Фосфорилирование-дефосфорилирование. Глюкагон, гормон постабсорбтивного состояния, взаимодействует с мембранными рецепторами аденилатциклазной системы. Активированная ПКА фосфорилирует фермент-посредник - киназу

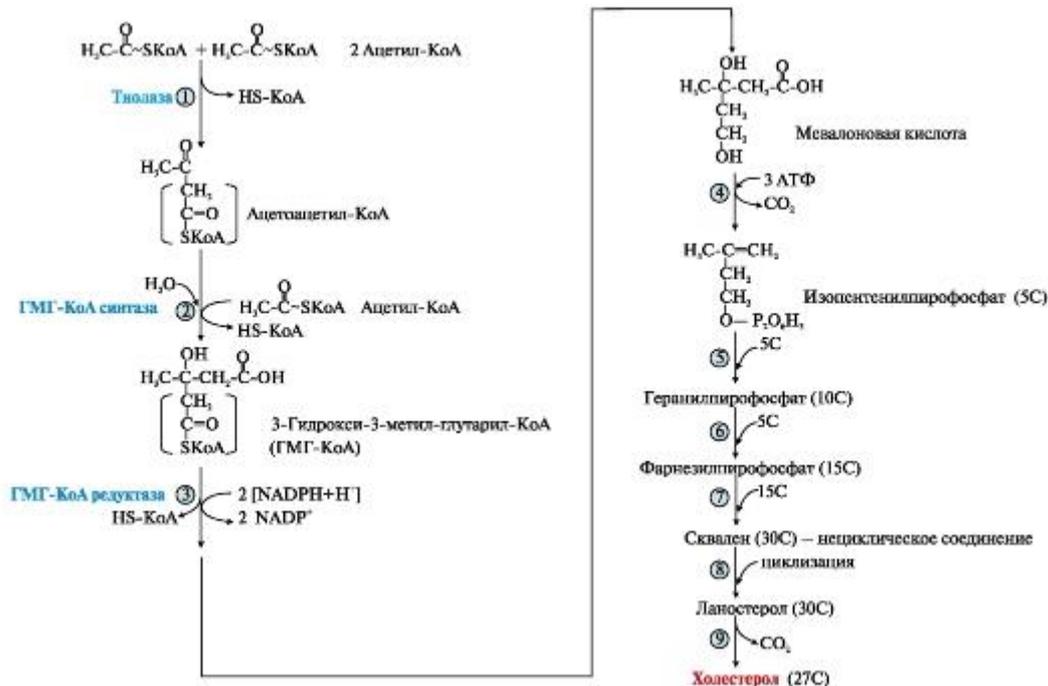


Рис. 9.34. Синтез холестерина в печени

1. - фермент тиолаза соединяет 2 ацетильных остатка; 2 - ГМГ-КоА-синтаза присоединяет еще один ацетильный остаток к молекуле ацетоацетил-КоА; 3 - регуляторную реакцию синтеза холестерина катализирует фермент ГМГ-КоА-редуктаза, использующая 2 молекулы кофермента NADPH; 4 - образованная мевалоновая кислота в ходе фосфорилирования и декарбоксилирования превращается в активированную структурную единицу - изопентенилпирофосфат; 5, 6, 7 - на этих этапах соответствующие ферменты соединяют 6 изопентенильных групп с образованием 30-углеродного нециклического соединения сквалена; 8 - линейная молекула сквалена превращается в циклическое соединение ланостерол; 9 - в ходе завершающей стадии происходят сложные реакции отщепления 3 углеродных атомов в форме CO_2 от молекулы ланостерола. Образованная молекула холестерина состоит из 27 углеродных атомов и имеет свободную НО-группу у 3-го углеродного атома в цикле А

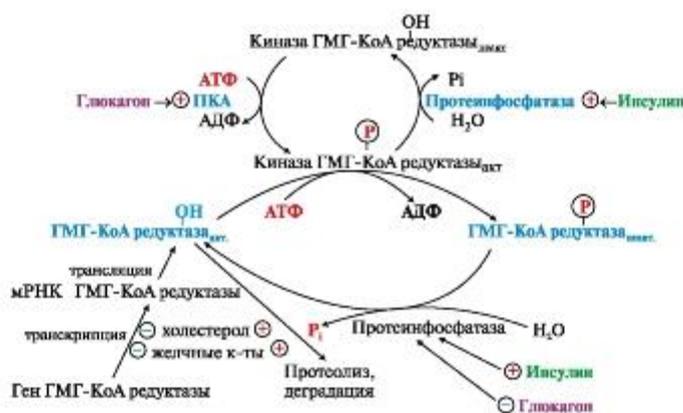


Рис. 9.35. Регуляция синтеза холестерина

+ активация; - ингибирование

ГМГ-КоА-редуктазы. Присоединение фосфатного остатка активирует фермент. Киназа ГМГ-КоАредуктазы_{акт} в свою очередь фосфорилирует ключевой фермент синтеза холестерина - ГМГ-КоАредуктазу и переводит ее в неактивную форму. Поэтому в постабсорбтивный период или при голодании более суток скорость синтеза холестерина в печени снижена.

Дефосфорилирование киназы ГМГ-КоАредуктазы и ГМГ-КоА-редуктазы происходит под действием протеинфосфатазы, которую активирует инсулин. В абсорбтивный период ГМГ-КоАредуктаза дефосфорилирована и активна, поэтому в печени синтез холестерина идет с высокой скоростью.

Формирование в печени транспортной формы холестерина для доставки его в ткани

Большая часть синтезированного холестерина и его эфиров удаляется из печени в составе ЛПОНП. Эти частицы содержат 55% ТАГ, фосфолипиды и апобелки, основным из которых является апопротеин В-100. Дальнейший метаболизм этих липопротеинов включает этап созревания, который заключается в переносе 2 апопротеинов - С-II и Е с ЛПВП на ЛПОНП (см. рис. 9.15).

Под действием ЛП-липазы идет гидролиз ТАГ в составе зрелых ЛПОНП. Содержание жира снижается с 55 до 7%, что приводит к увеличению доли холестерина и его эфиров до 50%. Размер обезжиренных частиц ЛПНП уменьшается, а их

плотность повышается. ЛПНП имеют на поверхности 2 функционально важных белка - С-II и Е. В крови при контакте липопротеинов происходит обратный переход апопротеина С-II, в некоторых случаях и апопротеина Е с ЛПНП на ЛПВП.

Катаболизм ЛПНП и использование холестерина в тканях

Все ткани имеют рецепторы к апопротеину В-100 (апоВ-100-рецепторы) (рис. 9.36), поэтому захват частиц идет путем рецептор-зависимого эндоцитоза. Комплекс ЛПНП-рецептор включается в эндосому и сливается с лизосомой. Лизосомные ферменты гидролизуют все компоненты ЛПНП, кроме холестерина. У здоровых людей период полураспада ЛПНП в крови составляет от

Высвободившийся из лизосом холестерол способен:

- идти на построение мембран, использоваться, для синтеза других стероидов;
- подавлять синтез холестерина в клетке, выступая в роли регуляторного фактора экспрессии гена ГМГ-КоА-редуктазы, а также активировать деградацию этого фермента;
- уменьшать количество апоВ-100-рецепторов в плазматической мембране, снижая экспрессию гена этого рецептора;
- частично этерифицироваться под действием фермента АХАТ и в форме эфиров сохраняться в липидных каплях цитоплазмы.



Рис. 9.36. Рецептор-зависимый эндоцитоз ЛПНП клетками тканей

Рецептор связывает частицу ЛПНП, общее число рецепторов на одной клетке может варьировать от 15 000 до 70 000. Взаимодействие ЛПНП с рецепторами происходит в области специальных образований мембраны - окаймленных ямок. После связывания ЛПНП специфическими рецепторами окаймленные ямки втягиваются и образуют эндосомы. Кислая среда в эндосомах (\sim рН 5,0) способствует диссоциации комплексов ЛПНП-рецептор. Освободившийся рецептор возвращается в плазматическую мембрану. Период жизни рецептора 1-2 сут. Количество рецепторов к ЛПНП (апоВ-100-рецепторов) в мембране клеток регулируется холестерином. Чем выше содержание холестерина в клетке, тем меньше рецепторов в мембране

9.14. МЕТАБОЛИЗМ ЛПВП, ИХ РОЛЬ В ОБМЕНЕ ХОЛЕСТЕРОЛА

В печени формируются ЛПВП, содержащие наибольшее по сравнению с другими частицами количество фосфолипидов и белков (50%). Они имеют дисковидную форму и называются

ЛПВП_{предшественники}. Основные белки ЛПВП - это

апопротеины А-I, С-II, Е, фермент лецитин-холестерол-ацилтрансфераза (ЛХАТ).

В крови ЛПВП_{пред} проходят ряд превращений: обмениваются белками и липидами с другими липопротеинами, принимают холестерол с поверхности ЛПНП и мембран клеток. Выполнение этой функции ЛПВП связано с присутствием фермента ЛХАТ, который катализирует реакцию переноса ацильного остатка от лецитина (фосфатидилхолина) на гидроксильную группу холестерола (рис. 9.37.). Поверхностный белок апопротеин



Рис. 9.37. Реакция этерификации холестерола

А-I активирует этот фермент. В ходе реакции образуются эфиры холестерола, которые, будучи нерастворимыми в полярных липидах наружного слоя липопротеинов, погружаются в гидрофобное

ядро ЛПВП.

На освободившиеся места путем простой диффузии перемещаются новые молекулы холестерола из клеточных мембран и ЛПНП. Гидрофобное ядро пополняется эфирами холестерола, пока дисковидная частица не превратится в сферическую (рис. 9.38). Образованный лизолецитин связывается с альбумином и уносится с поверхности ЛПВП₃ током крови.

Недостаток фосфатидилхолина в наружном слое ЛПВП₃ устраняют липид-переносящие белки, которые восполняют убыль этого фосфолипида, а также частично освобождают гидрофобное ядро от эфиров холестерола, перенося

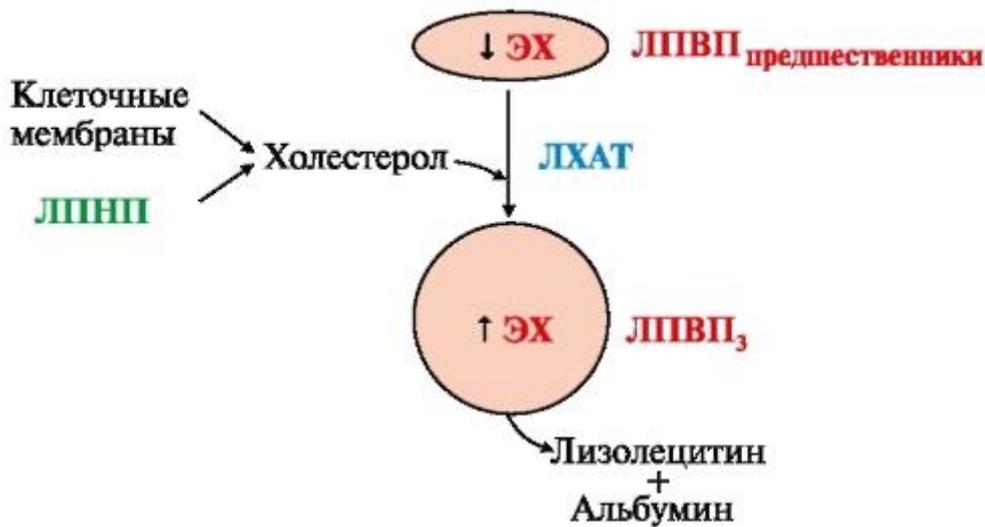


Рис. 9.38. Образование ЛПВП₃

его на ЛПОНП (рис. 9.39). Изменения в составе частиц восстанавливают их антиатерогенные свойства, т.е. способность «собирать» холестерол из ЛПНП и мембран клеток, такие липопротеины называются ЛПВП₂. Таким образом, ЛПВП освобождают от избытка холестерола клеточные мембраны ЛПНП и снижают вероятность развития гиперхолестеролемии и атеросклероза.

При недостатке фосфатидилхолина может замедляться формирование в печени ЛПВП, что приведет к повышению содержания в крови ЛПНП, перегруженных холестеролом, и гиперхолестеролемии.

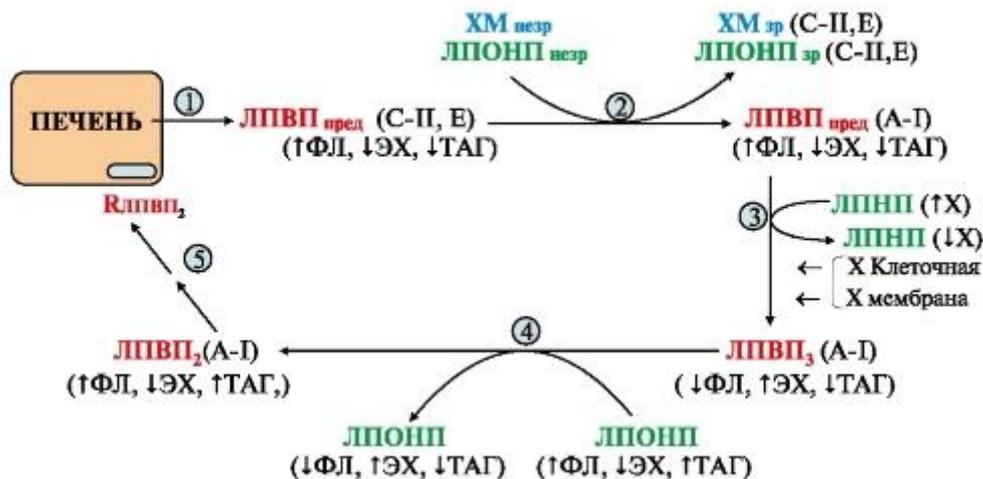


Рис. 9.39. Метаболизм ЛПВП

1 - в печени формируются ЛПВП_{пред}; 2 - в крови они отдают апобелки С-II и Е ХМ и ЛПОНП; 3 - ЛПВП забирают холестерол с поверхностного слоя ЛПНП и клеточных мембран. Фермент АХАТ превращает холестерол в

ацилхолестерол. Частицы приобретают сферическую форму за счет пополнения гидрофобного ядра эфирами холестерина и называются ЛПВП₃; 4 - с помощью липид-переносящих белков идет обмен фосфолипидами (ФЛ), эфирами холестерина (ЭХ) и ТАГ между ЛПВП₃ и ЛПОНП. Пополнив содержание фосфатидилхолина (лецитина), ЛПВП₂ могут продолжить сбор холестерина из клеточных мембран и ЛПНП; 5 - катаболизм ЛПВП происходит в

9.15. СИНТЕЗ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ, РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССА. ЖЕЛЧНОКАМЕННАЯ БОЛЕЗНЬ

Желчные кислоты синтезируются в печени из холестерина. За сутки образуется 200-600 мг желчных кислот. В процессе синтеза происходят реакции гидроксирования, восстановления двойной связи между 5-м и 6-м углеродными атомами в В-цикле и частичного окисления боковой цепи холестерина. Ключевую реакцию образования желчных кислот катализирует 7 α -гидроксилаза. Фермент локализован в мембране ЭР и является одной из изоформ цитохрома P₄₅₀ (см. раздел 13). В реакции используются кислород и восстановленная форма кофермента NADPH (рис. 9.40).

Конечными продуктами синтеза являются хенодезоксихолевая и холевая кислоты - первичные желчные кислоты. В печени они конъюгируют с глицином и таурином и превращаются в парные желчные кислоты: гликохолевую, таурохолевую, гликохенодезоксихолевую и таурохенодезоксихолевую (см. рис. 9.3). Конъюгированные желчные кислоты обладают большей амфифильностью и эмульгирующей способностью. Эти свойства обуславливают их участие в процессах эмульгирования липидов, образования и стабилизации смешанных мицелл.

клетками кишечника. С калом за сутки выводится 0,3-0,5 г (5-10%) желчных кислот, остальная часть через воротную вену возвращается в печень (рис. 9.41). В гепатоцитах вторичные желчные кислоты превращаются в первичные, а потери в кишечнике восполняется синтезом новых молекул. Каждая образованная молекула желчной кислоты проходит энтерогепатический круг 6-8 раз, прежде чем выведется из организма.

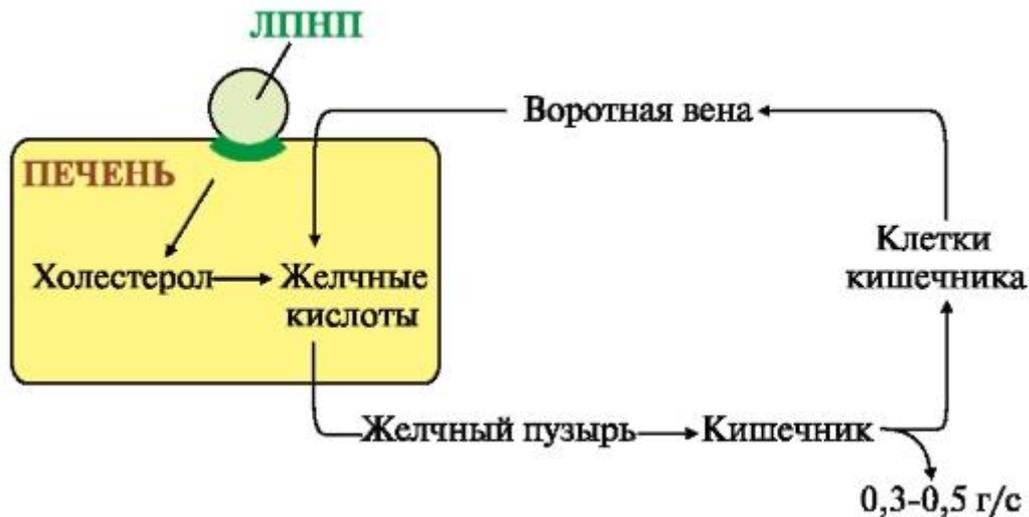


Рис. 9.41. Энтерогепатическая циркуляция желчных кислот

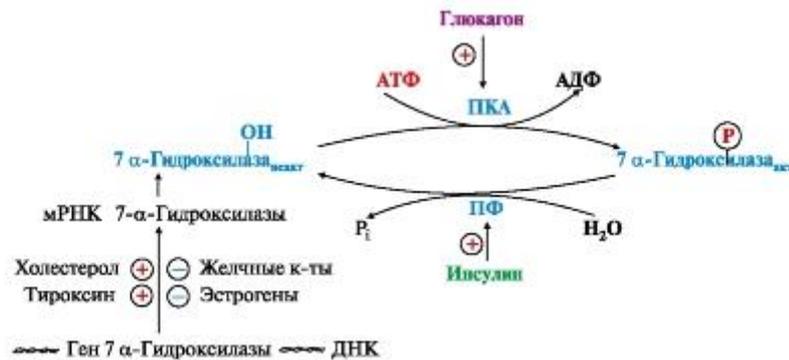


Рис. 9.42. Регуляция синтеза желчных кислот в печени

Гормон глюкагон взаимодействует с мембранными рецепторами аденилатциклазной системы. Фермент ПКА фосфорилирует и активирует 7а-гидроксилазу. Возрастает скорость ключевой реакции процесса. Таким образом, глюкагон в постабсорбтивный период стимулирует синтез желчных кислот. Гормон инсулин в абсорбтивный период, взаимодействуя с рецепторами, активирует протеинфосфатазу, которая катализирует дефосфорилирование 7а-гидроксилазы и ее инактивацию. Холестерол, его производные - желчные кислоты, эстрогены, а также гормон щитовидных желез тироксин регулируют количество фермента. Молекулы этих веществ

связываются с определенными регуляторными зонами ДНК - энхансерами или сайленсерами, поэтому усиливают (+) или подавляют (-) экспрессию гена 7 α -гидроксилазы, соответственно изменяется количество этого фермента в клетке

Регуляция синтеза желчных кислот

Ключевым ферментом процесса является 7 α -гидроксилаза, которая катализирует первую реакцию синтеза желчных кислот. Активность 7 α -гидроксилазы регулируется фосфорилированием/дефосфорилированием и на уровне экспрессии гена (рис. 9.42).

Желчнокаменная болезнь

При желчнокаменной болезни в желчном пузыре образуются камни в результате осаждения и кристаллизации компонентов желчи. Причина - нарушение соотношения липидов, входящих в состав мицелл желчи. Это может быть вызвано повышением активности ГМГ-КоА-редуктазы в печени или понижением активности 7 α -гидроксилазы в печени.

Камни, образующиеся в желчном пузыре, могут быть однородными и состоять только из холестерина или неоднородными - холестерол-билирубиновыми. Для лечения болезни на начальной стадии образования камней можно применять хенодезоксихолевую кислоту, которая медленно растворяет осадок холестерина. Если камни неоднородные, то их удаляют в основном хирургическим путем.

9.16. ГИПЕРХОЛЕСТЕРОЛЕМИЯ. МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Гиперхолестеролемия является одной из форм гиперлиппротеинемии. Это нарушение липидного обмена сопровождается повышением в крови фракции атерогенных ЛПНП, которые содержат более 50% холестерина и его эфиров. Гиперхолестеролемия может привести к развитию атеросклероза.

Причины гиперхолестеролемии

Семейная гиперхолестеролемия вызвана мутациями в гене апоВ-100-рецептора. Мутации в разных участках этого гена могут приводить к снижению количества апоВ-100-рецепторов в плазматической мембране клеток или неправильному положению в мембране (вне окаймленной ямки) и нарушению эндоцитоза (рис. 9.43). Повышаются содержание ЛПНП и время

их циркуляции в крови, концентрация холестерина у больных может превышать норму в 4 раза (норма 200 ± 50 мг/дл). Время полураспада ЛПНП возрастает до 4-6 сут (норма $2\frac{1}{2}$ сут), что способствует образованию измененных, модифицированных форм ЛПНП, обладающих высокой атерогенностью.

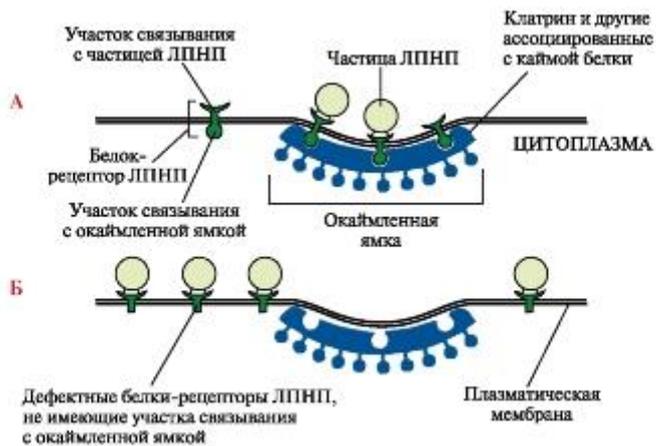


Рис. 9.43. Положение рецептора ЛПНП в норме и при нарушении его структуры

А. Положение апоВ-100-рецепторов в окаймленной ямке. Б. Положение апоВ-100-рецепторов вне окаймленной ямки

Наследственные дефекты апоВ-100. Нарушения структуры этого апобелка снижает комплементарность апоВ-100 к апоВ-100-рецептору и поступления ЛПНП в клетки. Повышение содержания ЛПНП в крови приводит к гиперхолестеремии.

Вторичные гиперхолестеремии. Причиной гиперхолестеремии может стать гиперкалорийное питание, вызванное избыточным содержанием в рационе углеводов и липидов, так как все субстраты для синтеза холестерина - ацетил-КоА, NADPH, АТФ - образуются из углеводов. Избыточный синтез ТАГ и холестерина в печени вызывает повышенное формирование ЛПОНП, которые в крови превращаются в ЛПНП. Но поглощение липопротеинов клетками тканей зависит не от количества ЛПНП в крови, а от количества рецепторов в плазматических мембранах, которое в свою очередь регулируется холестерином. В крови повышается содержание ЛПНП, а следовательно, и холестерина.

Вторичные гиперхолестеремии могут быть вызваны химическими модификациями белков и липидов ЛПНП.

Типы модификаций:

- гликозилирование апоВ-100 в составе ЛПНП или апоВ-100-рецепторов. В норме у здоровых людей с очень небольшой скоростью протекает неферментативное гликозилирование этих

белков. Остатки глюкозы присоединяются к свободным H_2N -группам белков, изменяется их конформация. Модифицированные ЛПНП* не узнаются рецепторами и остаются в крови. У больных сахарным диабетом этот процесс протекает очень активно. • перекисное окисление липидов ЛПНП. ПОЛ подвергаются жирные кислоты в составе липидов липопротеинов. Постоянно возникающие в организме свободные радикалы активируют образование гидроперекисей полиненасыщенных жирных кислот фосфолипидов, ТАГ и эфиров холестерина. Образовавшиеся гидроперекиси могут реагировать с N^H -группами апоВ-100. При этом изменяются заряд апобелка, конформация и сродство к апоВ-100-рецепторам.

Возрастают время циркуляции ЛПНП* в крови и степень их повреждения, поэтому снижается вероятность их взаимодействия с апоВ-100-рецепторами. Эти частицы как чужеродные поглощаются макрофагами с помощью сквенджер-рецепторов ($R_{\text{мусорщиков}}$).

Количество сквенджер-рецепторов не регулируется холестерином, поэтому макрофаги захватывают очень много модифицированных ЛПНП*, придающих этим клеткам характерный пенистый вид (рис. 9.44).

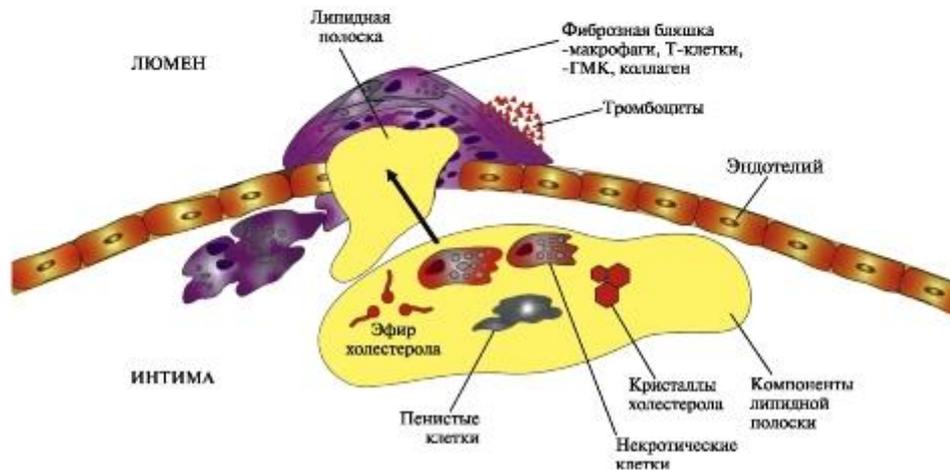
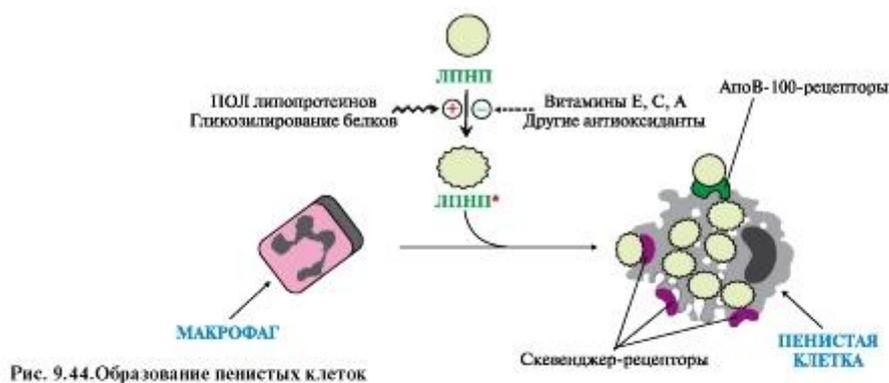


Рис. 9.45. Атеросклеротическая бляшка

Пенистые клетки перемещаются под слой эндотелия и вызывают его повреждение. В область дефекта устремляются тромбоциты, которые с помощью регуляторных факторов стимулируют увеличение количества и активности гладкомышечных клеток. Активный метаболизм этих клеток приводит к образованию бляшки (рис. 9.45).

Механизм развития атеросклеротической бляшки заключается в следующем:

- повышается содержание ЛПНП в крови;
- повышается время жизни ЛПНП;
- повышается содержание в крови поврежденных в результате ПОЛ и гликозилирования ЛПНП*;
- понижается поглощение ЛПНП* клетками тканей;
- повышается поглощение ЛПНП* макрофагами с помощью сквенджер-рецепторов;

- перегруженные холестерином макрофаги превращаются в «пенистые» клетки;
- «пенистые» клетки проникают под слой эндотелиальных клеток;
- повышение количества «пенистых» клеток вызывает повреждение эндотелия.

На поврежденной поверхности происходит агрегация тромбоцитов и секреция: Тромбоксанов ТХА₂, которые: Т агрегацию тромбоцитов и вызывают сокращение стенки сосуда.

Тромбоцитарного фактора роста, который:

↑ деление (пролиферацию) ГМК и их миграцию в область повреждения; ↑ секрецию ГМК - коллагена, эластина; ↑ рост бляшки ↓ просвет сосуда;

Т вероятность образования тромба в области бляшки.

Внутри атеросклеротической бляшки клетки погибают. Разрыв оболочки бляшки вызывает кровотечение, происходит быстрое образование тромба, закрывающего сосуд. Если эти события произошли в коронарной артерии, развивается инфаркт миокарда, в артериях мозга - инсульт, в сосудах десны - пародонтоз.

Для оценки риска развития у пациента атеросклероза и выбора лечения врачу необходимо знать не только концентрацию холестерина в крови, но и его содержание в составе антиатерогенных ЛПВП. Эти данные используются для расчета коэффициента атерогенности:

$$K = \frac{X_{\text{общ}} - X_{\text{ЛПВП}}}{X_{\text{ЛПВП}}},$$

где $X_{\text{общ}}$ - общий холестерол крови; $X_{\text{ЛПВП}}$ - холестерол в составе ЛПВП.

Для здорового человека примерно 30 лет коэффициент равен 3,0-3,5. У больных этот показатель возрастает до 5,0 или выше.

Подходы к снижению уровня холестерина в крови:

- Гипокалорийная диета с низким содержанием углеводов и липидов. Потребление пищи, содержащей холестерин, должно быть максимально снижено.
- Прием витаминов С, Е, А, которые являются антиоксидантами, снижают ПОЛ, предотвращают повреждение липидов липопротеинов и образование ЛПНП* с повышенной атерогенностью.
- Назначение препаратов, например омакора, содержащих ω -3 жирные кислоты - эйкозапентаеновую ($C_{20:5}$) и докозапентаеновую ($C_{22:5}$), так как они являются предшественниками простагландинов (PGI) и тромбоксанов (TXA₂), которые снижают риск тромбообразования (см. рис. 9.29).
- Использование препаратов, адсорбирующих желчные кислоты в кишечнике и разрывающих цикл энтерогепатической циркуляции, например холестида, холестирамина. Исключение

части желчных кислот из процесса ассимиляции пищевых липидов приводит к снижению скорости эмульгирования, переваривания и формирования смешанных мицелл. Потери желчных кислот при таком лечении превышают норму (0,3-0,5 г/сут). Убыль компенсируется синтезом новых молекул желчных кислот из холестерина. Потребности в холестерине удовлетворяются за счет увеличения синтеза апоВ-100-рецепторов и эндоцитоза ЛПНП клетками печени. В результате снижается содержание ЛПНП и холестерина в крови.

При хронической гиперхолестеремии и атеросклерозе рекомендован ежедневный прием статинов - ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы (мевакор, закор и др.), которые полностью подавляют синтез холестерина в печени. В этих условиях в печени увеличиваются синтез апоВ-100-рецепторов и эндоцитоз ЛПНП.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выберите правильный ответ.

а) Метаболический путь

Ацетил-КоА->Ацетоацетил-КоА->ГМГ-КоА-> Мевалоновая кислота->...->

А. Протекает в митохондриях.

Б. Использует ацетил-КоА, образованный в ходе β -окисления.

В. Ингибируется инсулином.

Г. Приводит к образованию холестерина. Д. Протекает без использования энергии

АТФ.

б) Дополните схему метаболического пути, выбранного вами в задании 1а; первые 3 реакции процесса напишите формулами.

2. Выполните «цепное» задание.

а) укажите, какой из липопротеинов (рис. 9.46) обеспечивает доставку холестерина в клетки всех тканей (заштрихованная часть - доля холестерина в липопротеине).

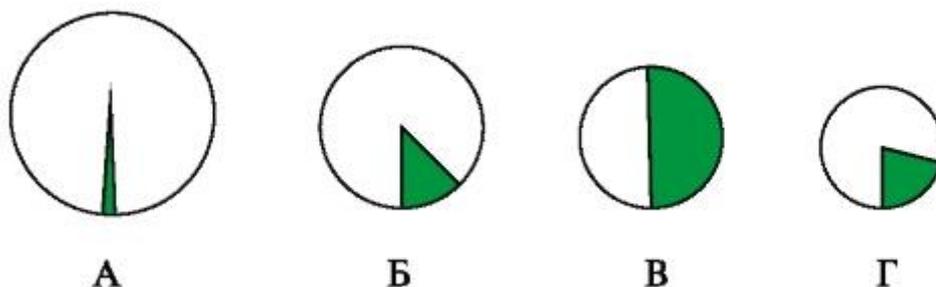


Рис. 9.46. Липопротеины

б) эти липопротеины образуются в крови, проходя этапы метаболизма:

А. ХМнезр - ХМзр

Б. ЛПОНП - ЛППП - ЛПНП.

В. ЛПВПнезр - ЛПВП₃.

в) повышение концентрации в крови этих липопротеинов приводит к:

А. Гипертриацилглицеролемии. Б. Гиперхолестеролемии.

В. Гиперхиломикронемии.

г) длительная гипер . приводит к:

А. Образованию ксантом в коже. Б. Ожирению печени.

В. Развитию атеросклероза.

д) при этом заболевании рекомендуют:

А. Повысить потребление углеводов.

Б. Снизить содержание в рационе продуктов растительного происхождения.

В. Использовать ингибиторы 7 α -гидроксилазы.

Г. Принимать витамины Е, С, А.

е) выполнение этой рекомендации должно привести к снижению содержания в крови:

А. ЛПВП. Б. ЛПОНП.

В. ЛПНП*. Г. ХМ.

3. Выберите правильный ответ.

а) Нарушение метаболического пути холестерол - 7 α -гидроксихолестерол - . . - хенодезоксихолевая кислота - конъюгат приводит к:

А. Триацилглицеролемии. Б. Ожирению.

В. Желчнокаменной болезни.

Г. Снижению концентрации холестерина в

крови. Д. Хиломикронемии.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. При обследовании больного с пародонтозом было выявлено атеросклеротическое поражение сосудов десны. Помимо лекарственной терапии, врач назначил больному диету с пониженным количеством углеводов и жиров. Объясните влияние такого питания на концентрацию холестерина в крови. Для этого:

а) напишите схему, показывающую связь между обменом углеводов и холестерина;

б) укажите роль гормонов в регуляции синтеза холестерина в печени;

в) объясните механизм транспорта холестерина в ткани и укажите возможные нарушения этого процесса у больного.

2. Для установления риска развития атеросклероза, помимо определения количества общего холестерина в крови, дополнительно рассчитывают коэффициент атерогенности. Напишите схему синтеза холестерина, формулу для расчета коэффициента и объясните:

а) почему в расчете коэффициента необходимо учитывать уровень ЛПВП в крови;

б) метаболизм ЛПВП и ЛПНП (формирование, взаимодействие с другими липопротеинами т.д.).

3. После введения животным в течение 3 дней глюкозы, содержащей меченые атомы углерода (^{14}C), обнаружили, что метка появляется в изопентенилпирофосфате, а затем в структуре желчных кислот. Как это происходит? Для ответа на вопрос:

а) объясните, в каком процессе изопентенилпирофосфат является промежуточным метаболитом и будет ли сохраняться радиоактивная метка в конечном продукте;

б) напишите схему включения ^{14}C в состав желчных кислот и укажите орган, в котором это происходит;

в) укажите, будут ли обнаруживаться в организме животных меченные ^{14}C желчные кислоты, через месяц после прекращения введения меченой глюкозы.

4. Больным с жировым перерождением печени и гиперхолестеролемией рекомендуют принимать витамин В₄ (холин). Известно, что в организме человека холин идет на синтез ацетилхолина, фосфатидилхолина, сфингомиелина. Почему образование одного из этих веществ может облегчить состояние больного? Для ответа на вопрос:

а) напишите формулу холина и фосфатидилхолина (лецитина) (см. раздел 4);

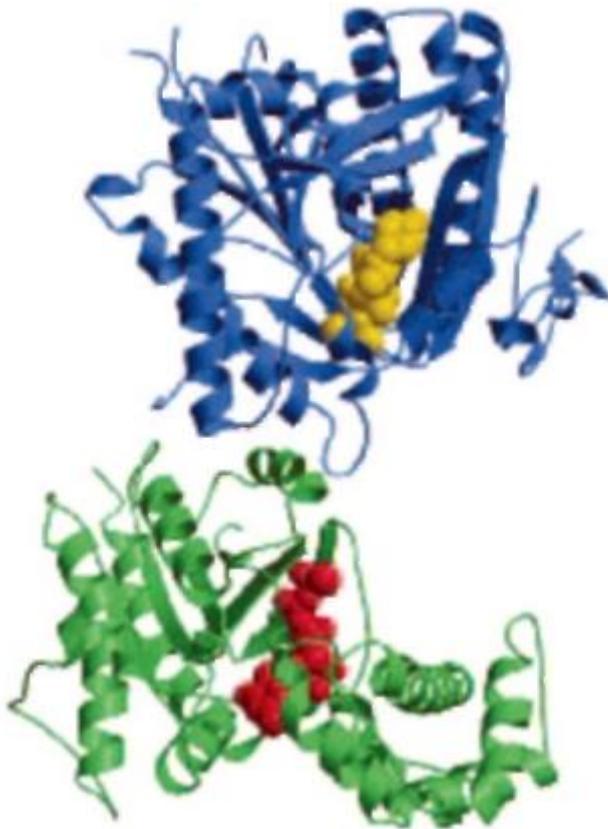
б) назовите, формирование каких липопротеинов должно повыситься в результате лечения;

в) укажите, какие из этих липопротеинов являются антиатерогенными;

г) представьте схему метаболизма этих частиц;

д) объясните роль лецитина в проявлении их антиатерогенной активности.

РАЗДЕЛ 10. ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА



Основные темы раздела:

- 10.1. Роль гормонов в регуляции метаболизма.
- 10.2. Регуляция обмена углеводов, липидов и аминокислот.
- 10.3. Регуляция метаболизма основных энергетических субстратов.
- 10.4. Сахарный диабет.
- 10.5. Регуляция водно-солевого обмена.
- 10.6. Нарушения водно-солевого обмена.
- 10.7. Регуляция обмена кальция и фосфатов.
- 10.8. Гипо- и гиперкальциемия.

10.1. РОЛЬ ГОРМОНОВ В регуляции МЕТАБОЛИЗМА

Постоянство гомеостаза в организме обеспечивают регуляторные системы:

- Центральная и периферическая нервная система - за счет передачи сигналов посредством нервных импульсов и нейромедиаторов.
- Эндокринная система - с помощью гормонов, которые синтезируются в специализированных клетках и кровью транспортируются к тканям-мишеням.
- Паракринная и аутокринная системы - при участии сигнальных молекул, секретируемых из клеток в межклеточное пространство и действующих на те же или соседние клетки. Так действуют эйкозаноиды, гистамин, гормоны желудочно-кишечного тракта и цитокины. Цитокины (интерлейкины, факторы роста и дифференцировки клеток, интерфероны) - низкомолекулярные гликопротеины, которые выполняют роль медиаторов при воспалительных процессах, механических травмах, вирусных инфекциях.
- Иммунная система - посредством специфических белков - антител, Т-рецепторов, белков главного комплекса гистосовместимости.

Все уровни регуляции в организме интегрированы и действуют как единое целое.

Взаимосвязь нервной и эндокринной систем регуляции

Клетки центральной нервной системы воспринимают сигналы из внешней и внутренней среды. По нейронам нервных клеток сигналы поступают в гипоталамус, где синтезируются пептиды - релизинг-гормоны: либерины или статины. Они регулируют синтез и секрецию гормонов передней доли гипофиза (тропных гормонов), причем либерины стимулируют, а статины тормозят эти процессы. Тропные гормоны являются гликопротеинами. Они секретируются в кровь и транспортируются к эндокринным железам, стимулируя синтез соответствующих гормонов в эндокринных периферических железах. Эти гормоны поступают в кровоток, взаимодействуют с белками-рецепторами клеток-мишеней и, изменяя скорость транспорта веществ в клетки, активность или количество специфических белков и ферментов, влияют на метаболизм (рис. 10.1). Гормоны задней доли гипофиза - антидиуретический гормон (вазопрессин) и окситоцин - представляют собой пептиды, которые синтезируются в гипоталамусе, поступают в гипофиз и оттуда секретируются в кровь.

Синтез гормонов в организме регулируется по механизму отрицательной обратной связи. Под их влиянием изменяются скорости метаболических путей в тканях-мишенях и, следовательно, количество образующихся в них метаболитов. Это является сигналом для торможения синтеза гормонов гипоталамуса, гипофиза и эндокринных желез.

Мозговое вещество надпочечников, в хромоаффинных клетках которого синтезируется гормон адреналин, находится под непосредственным контролем центральной нервной системы.

Секреция гормонов поджелудочной железы - инсулина и глюкагона - определяется уровнем глюкозы в крови.



Рис. 10.1. Связь между нервной и эндокринной системами

Классификация гормонов

Существует несколько способов классификации гормонов в соответствии с принципом, на котором они основаны.

По химическому строению гормоны делятся на:

- пептидные (гормоны гипоталамуса, гипофиза, инсулин, глюкагон, паратгормон, кальцитонин);
- производные аминокислоты тирозина (адреналин, трийодтиронин, тироксин);
- стероидные (кортизол, альдостерон, кальцитриол, эстрадиол, тестостерон, прогестерон).

В зависимости от биологических функций, которые регулируют гормоны, выделяют группы, контролируемые:

- обмен углеводов, липидов, аминокислот (инсулин, глюкагон, адреналин, кортизол, соматотропин, тироксин);
- водно-солевой обмен (альдостерон, антидиуретический гормон, предсердный натриуретический фактор);
- обмен кальция и фосфатов (паратгормон, кальцитриол, кальцитонин);
- репродуктивную функцию (гонадотропные гормоны, эстрогены, тестостерон);
- функции эндокринных желез (тропные гормоны гипофиза).

В связи с тем, что некоторые гормоны влияют на разные процессы в обмене веществ, классификация по биологическим функциям является достаточно условной. Например, кортизол не только ускоряет глюконеогенез в печени, но и подавляет иммунные реакции. Антидиуретический гормон наряду с увеличением реабсорбции воды вызывает сужение сосудов.

Гормоны отличаются и по механизму передачи сигнала в клетку. Первый этап передачи гормонального сигнала - это обратимое взаимодействие гормонов с белками-рецепторами, которые могут находиться в мембране, цитоплазме или ядре клетки-мишени (рис. 10.2).

- С помощью мембранных рецепторов передают сигналы пептидные гормоны и адреналин. Активация рецепторов вызывает каскад реакций, приводящих к изменению активности и/или количества белков в клетке.
- С мембранным каталитическим рецептором - тирозиновой протеинкиназой взаимодействует инсулин.
- С цитоплазматическими или ядерными рецепторами связываются поступающие в клетку стероидные гормоны и тироксин. Комплекс гормон-рецептор взаимодействует с регуляторными участками ДНК - энхансерами или сайленсерами

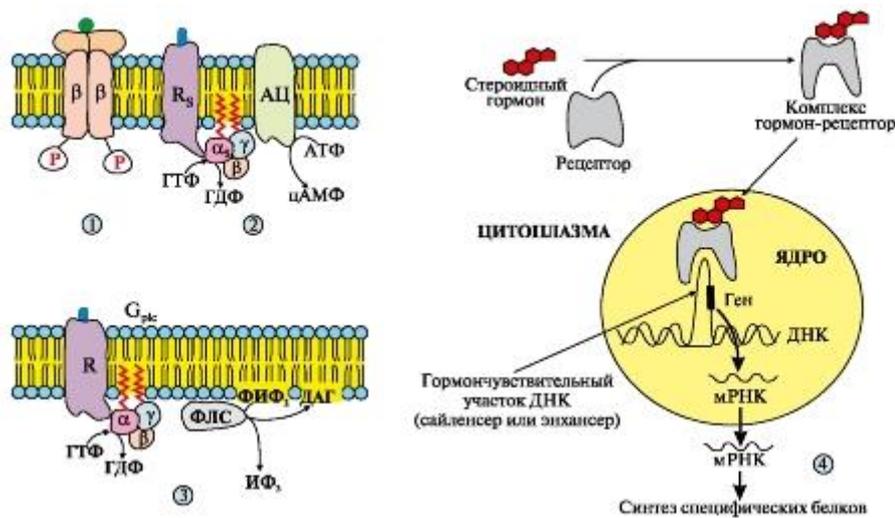


Рис. 10.2. Механизмы передачи гормонального сигнала в клетку

1 - с помощью каталитического рецептора; 2 - при участии мембранного рецептора и G-белка, взаимодействующего с аденилатциклазой; 3 - при участии мембранного рецептора и G-белка, активирующего фосфолипазу C; 4 - с помощью внутриклеточного (цитоплазматического, ядерного, митохондриального) рецептора, образующего комплекс гормон-рецептор, который связывается с гормончувствительными участками ДНК (энхансерами или сайленсерами)

(см. разделы 3 и 4). Это приводит к изменению скорости транскрипции структурных генов и, как правило, изменяет скорость трансляции, а значит, и количество специфических белков, участвующих в метаболизме.

Ответ клетки на сигнал пептидных гормонов и адреналина зависит от:

- структуры рецептора, например адреналин может взаимодействовать как с α -, так и с β -рецепторами;
- количества рецепторов в клетке-мишени;
- типа мембранных G-белков (например, существуют G-белки, стимулирующие - G_s и ингибирующие - G_i активность аденилатциклазы, активирующие фосфолипазу C - G_{plc});
- специфичности ферментов, участвующих в образовании вторичных вестников сигнала (вторичных мессенджеров);
- химической природы вторичных посредников, роль которых могут играть цАМФ, цГМФ, инозитолтрифосфат, диацилглицерол, Ca^{2+} ;
- характера метаболизма в клетке-мишени, например, адреналин в жировой клетке ускоряет липолиз, а в печени - мобилизацию гликогена.

10.2. РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ, ЛИПИДОВ И АМИНОКИСЛОТ

Обмен углеводов, липидов и аминокислот главным образом регулируют инсулин, глюкагон, кортизол и адреналин.

Универсальным энергетическим субстратом для всех тканей является глюкоза, причем ее уровень в крови контролирует синтез и секрецию гормонов поджелудочной железы - инсулина и глюкагона. Нормальный суточный ритм питания, включающий 3-разовый прием сбалансированной по составу пищи, состоит из абсорбтивного периода, составляющего от 1 до 4 ч после приема пищи, и постабсорбтивного периода, наиболее характерного во время ночного сна. Повышение концентрации глюкозы при пищеварении стимулирует секрецию инсулина. Уровень глюкагона в абсорбтивный период остается невысоким, так как его секреция ускоряется при снижении концентрации глюкозы в крови.

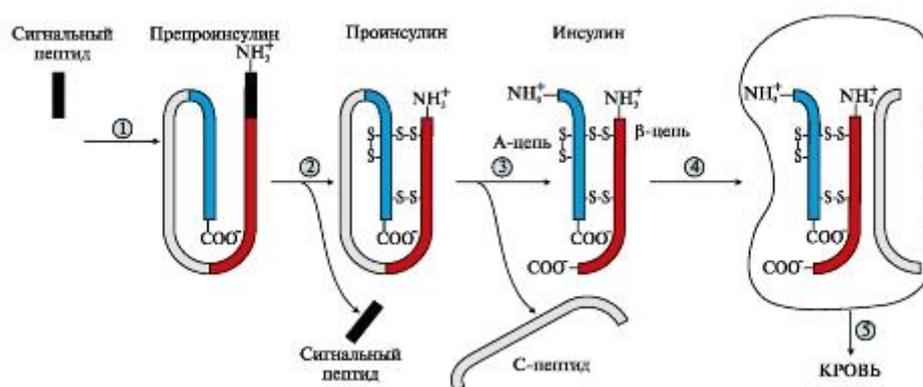


Рис. 10.3. Этапы синтеза и посттрансляционной модификации инсулина

1 - элонгация сигнального пептида на полирибосомах ЭР с образованием препроинсулина; 2 - отщепление сигнального пептида от препроинсулина; 3 - частичный протеолиз проинсулина с образованием инсулина и С-пептида; 4 - включение инсулина и С-пептида в секреторные гранулы; 5 - секреция инсулина и С-пептида из β -клеток поджелудочной железы в кровь

Инсулин

Инсулин-гормон пептидной природы, который синтезируется в β -клетках островков Лангерганса поджелудочной железы в виде неактивного предшественника препроинсулина. Синтез последующая посттрансляционная модификация инсулина включают несколько этапов. Сначала синтезируется N-концевой сигнальный пептид, обеспечивающий прохождение растущей полипептидной цепи в полость ЭР. Элонгация сигнального пептида

заканчивается синтезом препроинсулина. По мере погружения полипептидной цепи в полость ЭР сигнальный пептид отщепляется и образуется проинсулин. Он поступает в аппарат Гольджи, где подвергается частичному протеолизу с образованием инсулина и С-пептида, которые включаются в состав секреторных гранул (рис. 10.3).

Инсулин состоит из 2 полипептидных цепей: А (21 аминокислота) и В (30 аминокислот) и содержит 3 дисульфидные связи, 2 из которых соединяют цепи А и В, а третья находится в цепи А (рис. 10.4).

В печени и почках инсулин гидролизуется ферментом инсулиназой. Полупериод жизни (ТS) инсулина 3-10 мин, а С-пептида 30 мин, поэтому при дифференциальной диагностике диабета определяют концентрацию С-пептида в крови.

Сигналом для секреции инсулина из поджелудочной железы в кровь служит повышение уровня глюкозы в крови в абсорбтивный период (рис. 10.5).

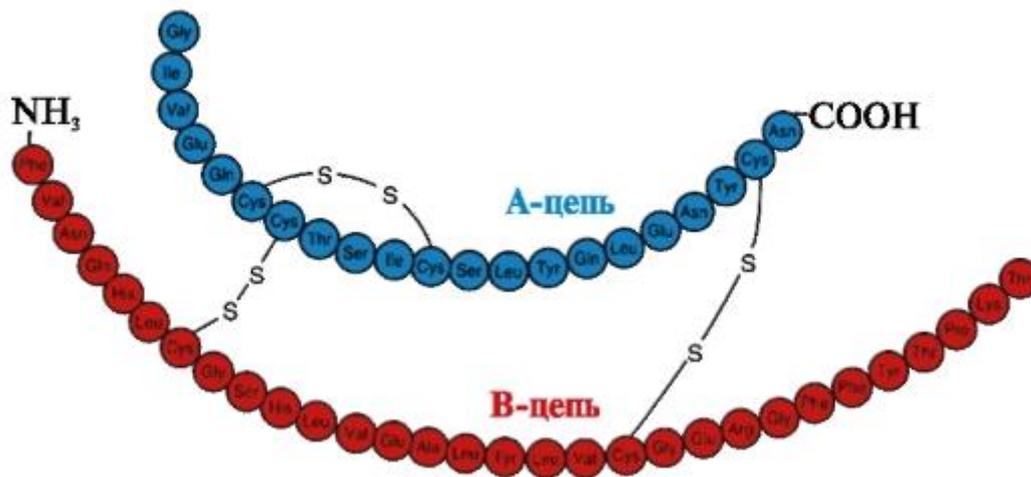


Рис. 10.4. Структура инсулина

Инсулин влияет на скорость транспорта в клетки глюкозы, жирных кислот, аминокислот, ионов, вызывает фосфорилирование-дефосфорилирование белков (ферментов), изменяя их активность, контролирует экспрессию определенных генов.

Плазматические мембраны большинства клеток имеют рецепторы гормона, являющиеся тирозиновой протеинкиназой. Связывание инсулина с α -протомерами рецептора приводит к изменению его конформации и

аутофосфорилированию β -протомеров, которые фосфорилируют белки - субстраты инсулинового рецептора. Эти белки инициируют каскад реакций, приводящий к активации специфических протеинкиназ. Протеинкиназы фосфорилируют специфические фосфопротеинфосфатазы, фосфодиэстеразу цАМФ и цГМФ, а также белковые факторы, ускоряющие экспрессию структурных генов (рис. 10.6).

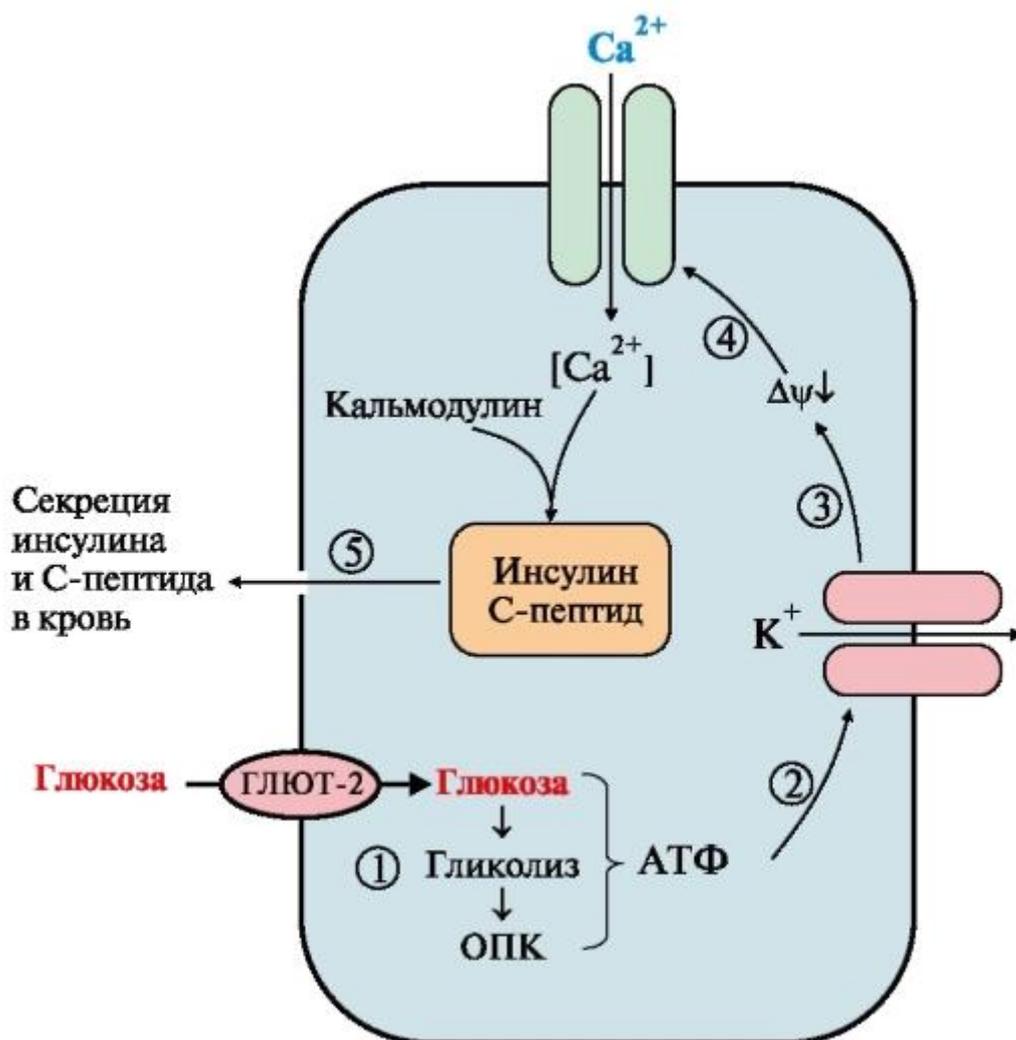


Рис. 10.5. Стимуляция секреции инсулина при поступлении глюкозы в β -клетки поджелудочной железы

1 - глюкоза поступает в β -клетку с помощью белков-переносчиков ГЛЮТ-2 и включается в аэробный распад до CO_2 и H_2O ; 2 - повышение образования АТФ в клетке вызывает изменение конформации интегрального белка плазматической мембраны - АТФ-зависимого K^+ -канала; 3 - АТФ-зависимый K^+ -канал закрывается, что вызывает деполяризацию плазматической мембраны; 4 - деполяризация мембраны открывает потенциалзависимые Ca^{2+} -каналы и Ca^{2+} по градиенту концентрации поступает в клетку; 5 -

кальмодулин в комплексе с Ca^{2+} стимулирует экзоцитоз гранул, содержащих инсулин и С-пептид

Скелетные мышцы и жировая ткань являются инсулинзависимыми тканями, так как глюкоза поступает в них при участии инсулина. В клетках этих тканей гормон стимулирует перемещение белков-переносчиков глюкозы ГЛЮТ-4 из цитоплазмы в плазматическую мембрану, ускоряет транспорт в них глюкозы и, таким образом, снижает уровень глюкозы в крови (см. раздел б).

В печени инсулин ускоряет аэробный распад глюкозы, синтез гликогена, ПФП превращения глюкозы, синтез жирных кислот и жиров, синтез холестерина (рис. 10.7).

В мышцах под действием инсулина повышается активность гликогенсинтазы и увеличивается скорость синтеза гликогена.



Рис. 10.6. Этапы передачи сигнала инсулином

В мышцах и печени инсулин также активирует фермент фосфодиэстеразу, который гидролизует цАМФ, превращая его в АМФ. Это приводит к замедлению мобилизации гликогена.

В жировой ткани инсулин стимулирует синтез жиров, активируя ацетил-КоА-карбоксилазу и индуцируя синтез синтазы жирных кислот. Гормон ускоряет поступление жирных кислот в адипоциты, так как индуцирует синтез ЛП-липазы. Вместе с тем инсулин тормозит мобилизацию ТАГ в адипоцитах, так как вызывает активацию фосфодиэстеразы. Этот фермент гидролизует цАМФ, а уменьшение содержания цАМФ приводит к снижению активности протеинкиназы А, вследствие чего снижается активность ТАГ-липазы и тормозится липолиз.

Действие инсулина направлено на ускорение анаболических процессов в абсорбтивный период: увеличение поступления глюкозы, жирных кислот и аминокислот в ткани, синтеза гликогена в печени и мышцах, синтеза жирных кислот и ТАГ в печени и жировой ткани, синтеза белков во многих тканях. Кроме того, инсулин по паракринному механизму тормозит секрецию гормона глюкагона α -клетками поджелудочной железы.

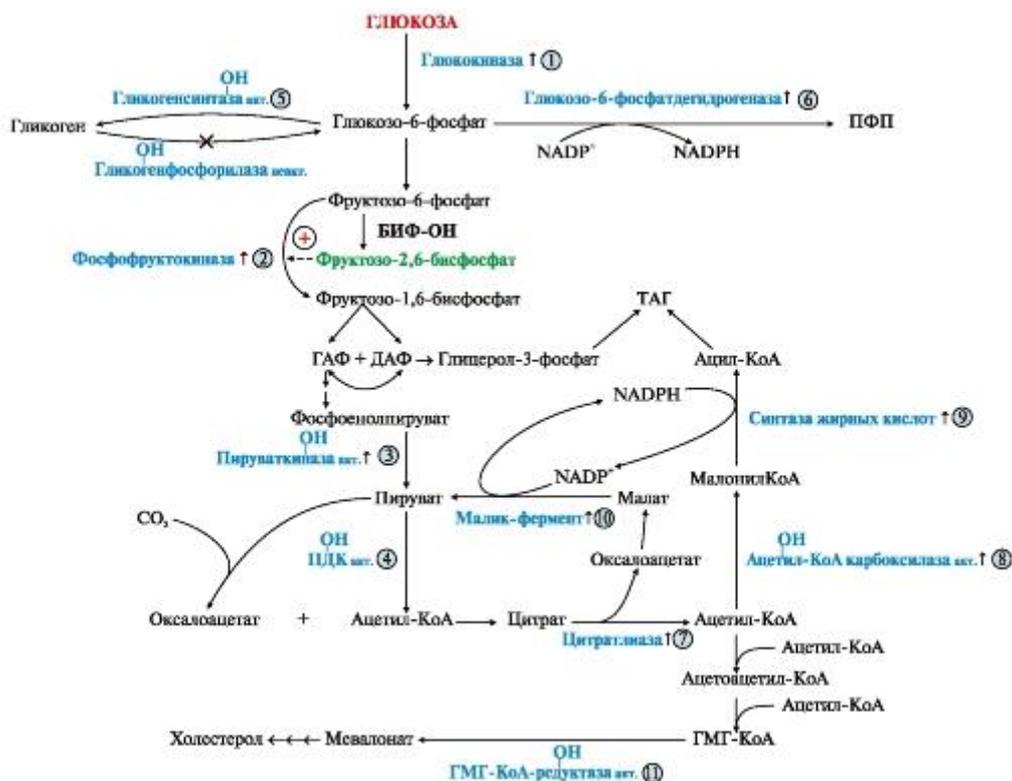


Рис. 10.7. Влияние инсулина на метаболизм углеводов, жирных кислот, ТАГ и холестерина в печени

Инсулин в печени ускоряет: аэробный распад глюкозы, так как индуцирует синтез глюкокиназы (1), фосфофруктокиназы (2), пируваткиназы (3), а также вызывает активацию фосфофруктокиназы (2), пируваткиназы (3), ПДК (4), синтез гликогена за счет активации гликогенсинтазы (5); ПФП превращения глюкозы, вызывая увеличение экспрессии гена глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (6); синтез жирных кислот и ТАГ, индуцируя синтез цитратлиазы (7), ацетил-КоА-карбоксилазы (8) и синтазы жирных кислот (9), малик-фермента (10), а также активируя ацетил-КоАкарбоксилазу; синтез холестерина, поскольку активирует ГМГ-КоА-редуктазу(11). Ферменты, индуцируемые инсулином, обозначены ↑

Глюкагон

Глюкагон - пептидный гормон, состоящий из 29 аминокислот.

Предшественник гормона - препроглюкагон - синтезируется α -клетками поджелудочной железы и превращается в глюкагон в результате частичного протеолиза. Глюкагон - «гормон голода», сигналом для его секреции является снижение уровня глюкозы в крови. Ткани-мишени - печень и жировая ткань. Глюкагон передает сигнал в клетки с помощью аденилатциклазной системы, вызывая увеличение концентрации цАМФ, который

активирует протеинкиназу А. глюкагона составляет 3-6 мин, он подвергается протеолизу в печени и почках.

В жировой ткани глюкагон активирует ТАГ-липазу и, следовательно, ускоряет мобилизацию жира. Это приводит к увеличению концентрации жирных кислот и глицерола в крови.

В печени глюкагон в постабсорбтивный период тормозит синтез и ускоряет мобилизацию гликогена, а при голодании более суток повышает скорость глюконеогенеза из глицерола, аминокислот и лактата (рис. 10.8).



Рис. 10.8. Влияние глюкагона на метаболизм углеводов в печени
 Глюкагон в печени ускоряет: мобилизацию гликогена, активируя гликогенфосфорилазу (1); глюконеогенез, индуцируя синтез фосфоенолпируваткарбоксикиназы (2) и фруктозо-1,6-бисфосфатазы (3), снижая образование фруктозо-2,6-бисфосфата. Ферменты, индуцируемые глюкагоном, обозначены Т

Кроме того, глюкагон в печени ингибирует ацетил-КоА-карбоксилазу, снижая образование аллостерического ингибитора регуляторного фермента β -окисления карнитинацилтрансферазы - малонил-КоА. Избыточное поступление жирных кислот и активация регуляторного фермента стимулируют β -окисление жирных кислот и увеличение образования ацетил-КоА. При голодании в митохондриях гепатоцитов скорость реакций ЦТК снижена, поэтому ацетил-КоА в основном используется для синтеза кетонных тел (рис. 10.9). Таким образом,

стимуляция глюкагоном липолиза в жировой ткани вызывает ускорение кетогенеза в печени.

Глюкагон ускоряет мобилизацию гликогена и синтез глюкозы из аминокислот, лактата и глицерола в печени, а также гидролиз ТАГ в жировой ткани, обеспечивая тем самым энергетическими субстратами разные ткани.

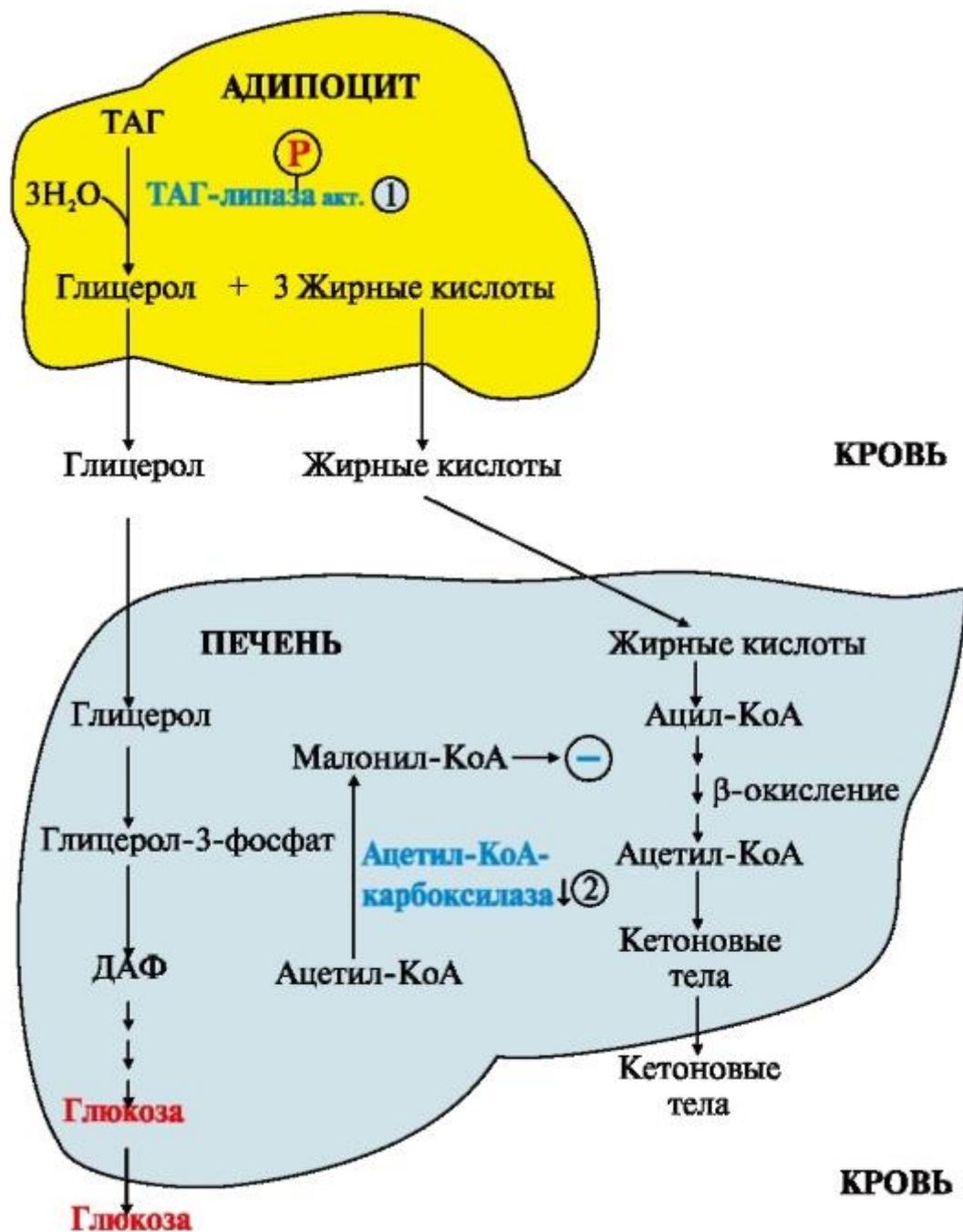


Рис. 10.9. Влияние глюкагона на метаболизм жиров и жирных кислот в жировой ткани и печени

В жировой ткани глюкагон ускоряет мобилизацию ТАГ, активируя ТАГ-липазу (1). В печени глюкагон, ингибируя ацетил-КоА-карбоксилазу (2), тормозит образование малонил-КоА - аллостерического ингибитора регуляторного фермента β -окисления карнитинацилтрансферазы

Кортизол

Кортизол - стероидный гормон, который синтезируется в коре надпочечников и относится к глюкокортикоидам. Синтез и секреция кортизола регулируются гипоталамо-гипофизарной системой и стимулируются при продолжительных стрессах, голодании, боли, переохлаждении организма, длительных тяжелых физических нагрузках, травмах. При голодании секрецию кортизола ускоряет глюкагон. Сигналы, поступающие в центральную нервную систему, стимулируют синтез в гипоталамусе релизинг-гормона кортикотропинлиберина. Последний увеличивает в гипофизе синтез и секрецию адренокортикотропного гормона (АКТГ). АКТГ кровью доставляется в кору надпочечников, где вызывает увеличение

синтеза и секреции кортизола. Кортизол к тканям-мишеням транспортирует белок транскортин. Рецепторы гормона есть в мышцах, печени, соединительной и лимфоидной тканях. При высоком уровне в крови он тормозит секрецию кортикотропинлиберина и АКТГ по принципу отрицательной обратной связи (рис. 10.10).

Катаболизм кортизола и других кортикостероидов происходит в печени. В результате этого они, за исключением кортикостерона и альдостерона, превращаются в конечные продукты катаболизма - 17-кетостероиды, которые выводятся из организма с мочой в количестве 12-17 мг/сут у мужчин и 7-12 мг/сут у женщин.

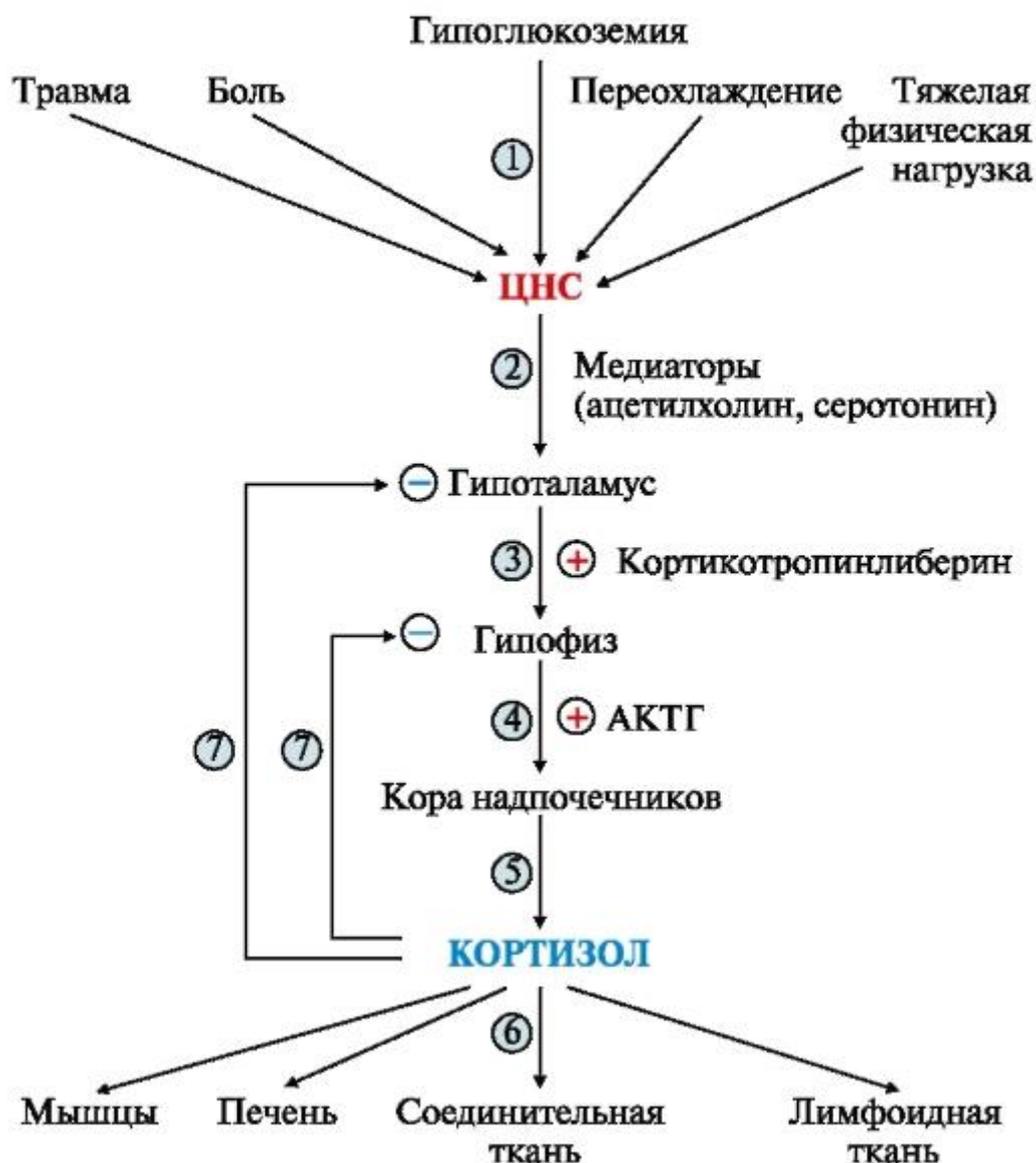


Рис. 10.10. Регуляция секреции кортизола

1 - сигналы из внешней и внутренней среды поступают в центральную нервную систему (ЦНС); 2 - в гипоталамусе активируется синтез кортикотропинлиберина; 3 - кортикотропинлиберин взаимодействует с рецепторами гипофиза и увеличивает синтез АКТГ; 4 - АКТГ из гипофиза поступает в кровь, транспортируется в кору надпочечников и стимулирует синтез кортизола; 5 - кора надпочечников секретирует кортизол в кровь, где он связывается с белком-переносчиком транскортином; 6 - кортизол поступает в клетки-мишени; 7 - кортизол тормозит синтез кортикотропинлиберина и АКТГ по принципу отрицательной обратной связи. В тканях-мишенях кортизол взаимодействует с внутриклеточными рецепторами, затем комплекс гормон-рецептор связывается с регуляторными

зонами ДНК и изменяет экспрессию генов специфических белков и ферментов.

В мышцах взаимодействие комплекса гормон- рецептор с участками ДНК сайленсерами приводит к снижению экспрессии генов мышечных белков (рис. 10.11, А).

Кортизол, ускоряя протеолиз мышечных белков, увеличивает поступление аминокислот из мышц в кровь, а затем в печень.

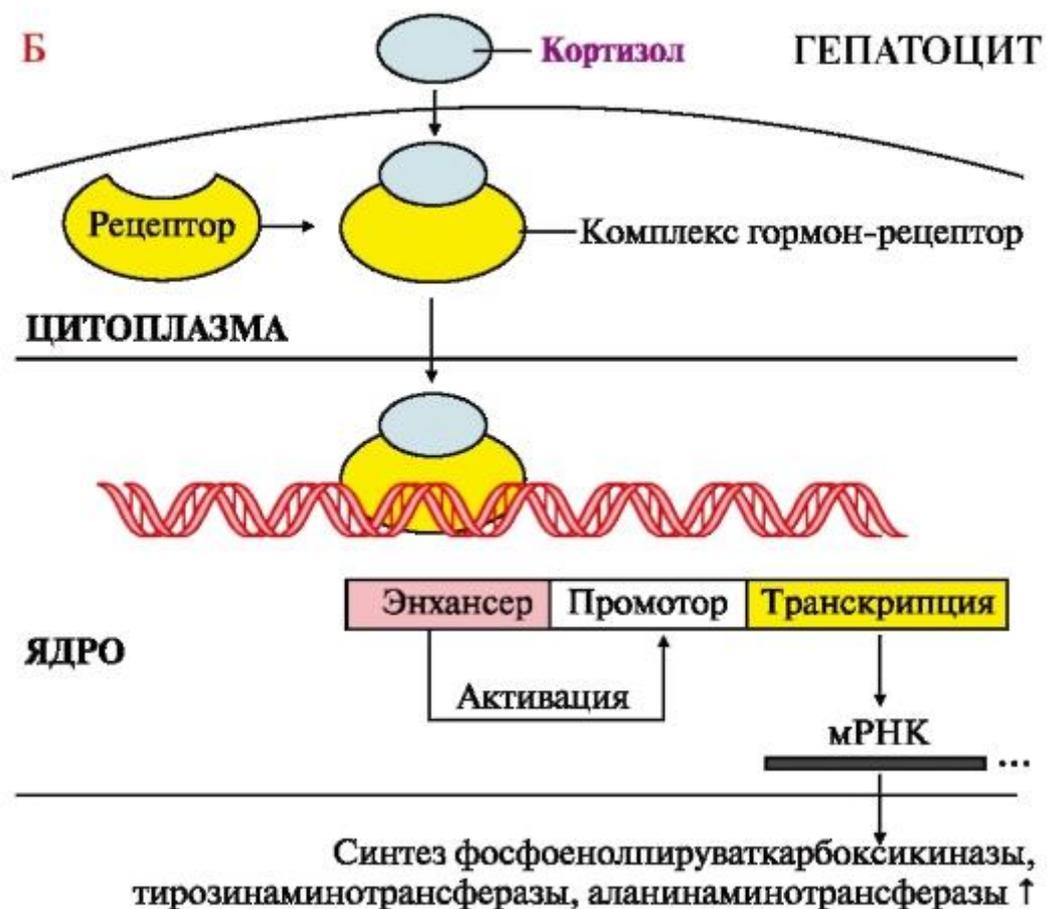
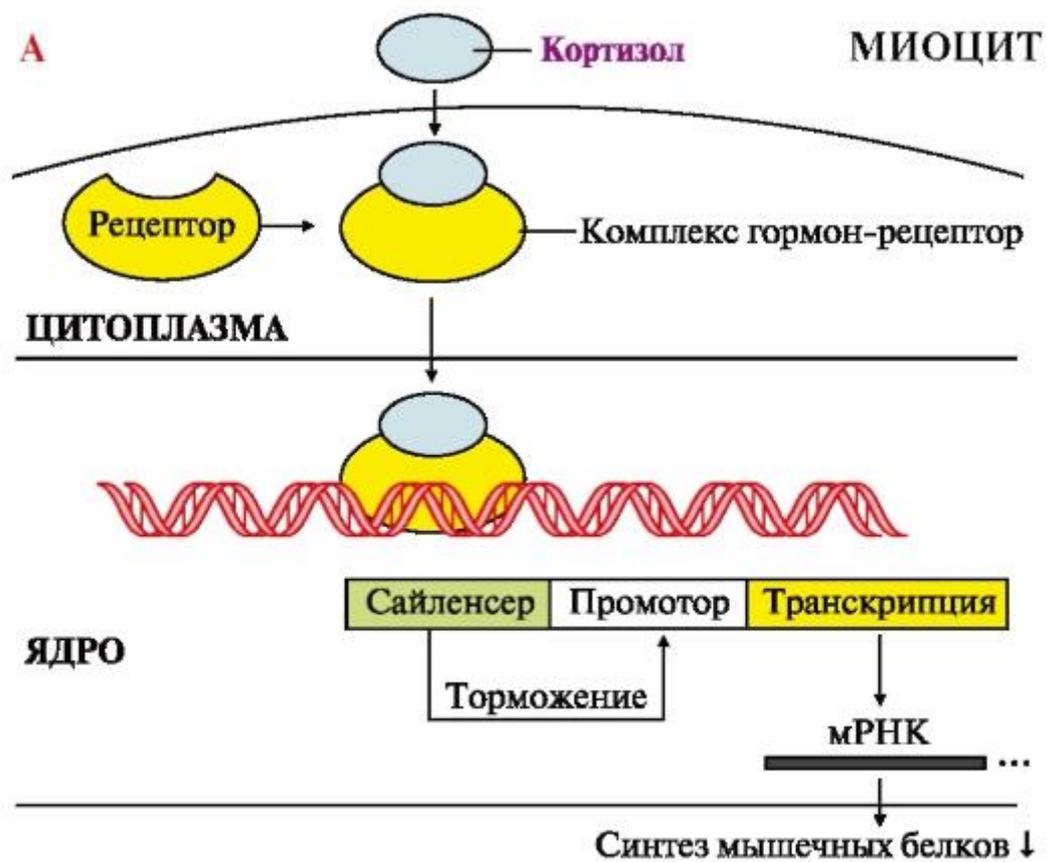


Рис. 10.11. Регуляция транскрипции генов кортизолом в мышцах (А) и печени (Б)

В печени комплекс гормон-рецептор соединяется с гормончувствительными энхансерными участками ДНК и повышает экспрессию генов, кодирующих АЛТ, тирозинаминотрансферазу и фосфоенолпируваткарбокскиназу (рис. 10.11, Б). В результате ускоряется катаболизм аминокислот, а образующиеся при этом безазотистые остатки гликогенных и кетогликогенных аминокислот включаются в глюконеогенез. Повышение скорости этого метаболического пути приводит к увеличению поступления глюкозы из печени в кровь.

Вместе с тем кортизол тормозит транспорт глюкозы и аминокислот в ткани.

В жировой ткани кортизол стимулирует липолиз. В соединительной ткани этот гормон тормозит синтез белков коллагена и фибронектина.

Кортизол угнетает иммунный ответ организма и подавляет воспалительные реакции.

Следовательно, действие кортизола направлено на обеспечение адаптации организма в стрессовой ситуации.

Нарушения метаболизма кортизола

Гиперкортицизм возникает в результате гиперпродукции кортизола при опухолях гипофиза (болезнь Иценко-Кушинга) или коркового слоя надпочечников (синдром Иценко-Кушинга). Гиперпродукция кортизола сопровождается:

- снижением толерантности к глюкозе, обусловленным повышением скорости глюконеогенеза в печени;
- мышечной слабостью и уменьшением мышечной массы вследствие торможения синтеза мышечных белков;
- ухудшением заживления ран, истончением кожи, остеопорозом, пародонтозом, вызванными угнетением синтеза белков соединительной ткани коллагена и фибронектина;
- задержкой Na^+ (гипернатриемией) и потерей K^+ (гипокалиемией), гипертензией, обусловленными тем, что кортизол в незначительной степени проявляет свойства минералокортикоидов.

Если при гиперкортицизме гиперглюкоземия наблюдается в постабсорбтивном периоде, то такое нарушение называют стероидным диабетом.

Гипокортицизм может быть обусловлен первичной или вторичной недостаточностью функций коры надпочечников. Первичная недостаточность (болезнь Аддисона или бронзовая болезнь) развивается при аутоиммунном или туберкулезном

поражении этой ткани. У больных уменьшается масса тела, снижается артериальное давление и наблюдается специфическая пигментация кожи, вызванная увеличением синтеза общего предшественника АКТГ и меланоцитстимулирующего гормона.

Вторичная недостаточность возникает при снижении синтеза АКТГ вследствие инфекционного поражения гипофиза.

Адреналин

Адреналин синтезируется в мозговом слое надпочечников из тирозина (см. раздел 7).

Секреция гормона в кровь увеличивается при стрессе и интенсивной физической нагрузке. Мозговой слой надпочечников находится под контролем центральной нервной системы. В тканямишени адреналин передает сигнал посредством мембранных рецепторов. Существует несколько типов адренергических рецепторов α (α_{1A} , α_{1B} ,

α_{1D} , α_{1A} , α_{1B} , α_{1C})и β (β_1 , β_2 , β_3).

В печени есть два вида рецепторов адреналина:

β_2 -рецепторы передают сигнал в клетку с помощью аденилатциклазной системы, а α_{1B} -рецепторы - посредством инозитолфосфатной. В обоих случаях это приводит к активации протеинкиназ, фосфорилирующих гликогенфосфорилазу и гликогенсинтазу, в результате чего гликогенфосфорилаза становится активной, а гликогенсинтаза инактивируется. Таким образом адреналин в печени ускоряет мобилизацию гликогена и увеличивает поступление глюкозы в кровь, поэтому при стрессе и интенсивной физической работе в крови повышается концентрация глюкозы.

В мышцах адреналин передает сигнал через β_2 -рецепторы. Это вызывает активацию протеинкиназы А, которая активирует гликогенфосфорилазу и

инактивирует гликогенсинтазу, фосфорилируя их. В итоге в мышцах тормозится синтез гликогена и ускоряется его мобилизация, а образующийся в результате этого процесса глю- козо-6-фосфат используется как энергетический субстрат в гликолизе.

В жировой ткани адреналин действует через β ,-рецепторы и аденилатциклазную систему. В результате этого протеинкиназа А становится активной и фосфорилирует гормончувствительную ТАГ-липазу, что сопровождается ее активацией. Фермент катализирует реакцию гидролиза ТАГ с образованием глицерола и жирных кислот, поступающих из жировой ткани в кровь и периферические органы (рис. 10.12).



Рис. 10.12. Влияние адреналина на метаболизм поджелудочной железы, печени, жировой ткани и мышц

Адреналин: 1 - в поджелудочной железе тормозит секрецию инсулина и стимулирует секрецию глюкагона; 2 - в печени и мышцах ускоряет гликогенолиз;

3 - в мышцах повышает скорость мобилизации гликогена и включение глюкозо-6-фосфата в гликолиз;

4 - в жировой ткани стимулирует липолиз

Следовательно, при стрессе и интенсивной мышечной работе адреналин в мышцах и печени ускоряет мобилизацию гликогена и тормозит его синтез, а в жировой ткани стимулирует липолиз.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выберите правильные ответы. Гормоны различаются по:

А. Химической природе. Б. Месту синтеза.

В. Механизму передачи сигнала в клетку.

Г. Влиянию на скорость метаболических путей.

Д. Вторичным посредникам, участвующим в передаче сигнала.

2. Выберите правильные ответы. Инсулин:

А. Синтезируется в печени.

Б. Снижает уровень глюкозы в крови.

В. Имеет рецепторы в большинстве тканей. Г. Стимулирует транспорт глюкозы в

нервную ткань Д. Состоит из 2 полипептидных цепей.

3. Выберите правильные ответы. Глюкагон:

А. Синтезируется в α -клетках поджелудочной железы.

Б. Передает сигнал в клетку с помощью аденилатциклазной системы.

В. Взаимодействует с внутриклеточными рецепторами.

Г. Секретируется в кровь при снижении уровня глюкозы в крови. Д. Является стероидом.

4. Выберите правильные ответы. Кортизол:

А. Синтезируется в коре надпочечников.

Б. Взаимодействует с внутриклеточными рецепторами.

В. Тормозит синтез мышечных белков.

Г. Стимулирует мобилизацию гликогена в мышцах.

Д. Ускоряет глюконеогенез в печени.

5. Установите соответствие. Причины:

А. Торможение синтеза коллагена в соединительной ткани.

Б. Угнетение синтеза мышечных белков.

В. Ускорение мобилизации гликогена в печени.

Г. Повышение скорости глюконеогенеза в печени.

Д. Увеличение поступления глюкозы в жировую ткань и мышцы. Симптомы гиперкортицизма:

1. Снижение толерантности к глюкозе.

2. Мышечная слабость.

3. Истончение кожи.

6. Дополните предложения недостающими словами. При длительном лечении кортикостероиды

угнетают синтез основного белка соединительной ткани... . Клинически это проявляется в ... слоя дермы и... мышц на участках введения этих гормонов.

7. Выберите правильные ответы. Адреналин:

А. Передает сигнал в гепатоциты с помощью α_1 - и β_2 -рецепторов.

Б. Активирует в печени инозитолфосфатную систему.

В. Вызывает повышение концентрации глюкозы в крови.

Г. Увеличивает концентрацию жирных

кислот в крови. Д. Ускоряет катаболизм белков в мышцах.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Люди, постоянно и часто питающиеся в «фаст фуд», обычно склонны к полноте и ожирению. Какие изменения метаболизма при таком питании приводят к ожирению? Для ответа на вопрос:

- а) назовите гормон, концентрация которого повышена в крови людей, часто употребляющих много жиров и легкоусвояемых углеводов;
- б) объясните влияние этого гормона на поступление в жировую ткань глюкозы и жирных кислот;
- в) опишите механизм передачи гормонального сигнала в ткани-мишени;
- г) напишите схемы метаболических путей, которые ускоряет этот гормон в жировой ткани, отметьте регуляторные реакции.

2. У пациента, не страдающего сахарным или стероидным диабетом, который пришел на прием к врачу по поводу удаления зуба, уровень глюкозы в крови в постабсорбтивный период составил 7,5 ммоль/л. Объясните причину изменения уровня глюкозы в крови у пациента. Для ответа на вопрос:

- а) укажите гормон, концентрация которого повысилась в крови пациента, место его синтеза и ткани-мишени;
- б) опишите механизм передачи сигнала этого гормона в клетки-мишени;
- в) напишите схему метаболического пути, ускорение которого привело к изменению уровня глюкозы в крови.

3. Глюкагон - контринсулярный гормон. Приведите аргументы в пользу этого утверждения. Для этого:

- а) опишите механизмы передачи сигнала глюкагоном и инсулином в ткани-мишени;
- б) представьте схемы метаболических путей, которые ускоряет глюкагон, но тормозит инсулин в тканях-мишенях;
- в) укажите, как влияет каждый гормон на уровень глюкозы в крови.

4. В крови больного, жалующегося на мышечную слабость, ухудшение заживления ран, остеопороз и пародонтоз, концентрация глюкозы в крови натощак составляла 8 ммоль/л, мочевины - 10 ммоль/л, кетоновых тел - 2 мг/дл, уровень инсулина и С-пептида соответствовал норме. При этом отмечалось повышение содержания мочевины, и 17-кетостероидов в суточной моче. Объясните причины гиперглюкоземии и азотемии в этом случае. Почему у больного наблюдаются перечисленные выше симптомы? Назовите заболевание, которым страдает пациент? Для ответа на вопросы:

- а) укажите место синтеза гормона, гиперпродукция которого наблюдается у больного;

б) опишите механизм регуляции синтеза и секреции этого гормона и представьте схему передачи гормонального сигнала в клетку;

в) напишите схемы метаболических путей, изменение скоростей которых привело к гипергликоземии и азотемии, отметьте регуляторные реакции.

5. Спортсменам-культуристам, наращивающим мышечную массу, тренеры запрещают длительные тяжелые физические нагрузки. Объясните причины такой рекомендации. Для этого:

а) укажите гормон, увеличение секреции которого при интенсивных длительных тренировках вызывает снижение мышечной массы;

б) опишите механизм действия гормона в тканях-мишенях;

в) перечислите процессы, скорость которых изменяется под действием этого гормона.

10.3. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ОСНОВНЫХ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ СУБСТРАТОВ

Функциональная активность всех тканей организма требует затрат энергии, которая образуется в процессе катаболизма. В абсорбтивный период в организм поступают углеводы, жиры и белки, которые перевариваются в желудочнокишечном тракте. Затем продукты переваривания всасываются клетками кишечника, оттуда транспортируются кровью в разные ткани и включаются в метаболизм, а в некоторых тканях запасаются, для того чтобы использоваться в постабсорбтивный период, при голодании, напряженной физической работе и стрессе.

Переключение метаболизма с абсорбтивного состояния на постабсорбтивное и при последующем голодании, а также обеспечение тканей основными энергетическими субстратами, необходимыми для сохранения жизнедеятельности, в основном осуществляют гормоны инсулин, глюкагон, кортизол и адреналин.

Метаболизм углеводов, жиров и белков в абсорбтивный период

При пищеварении в крови повышаются концентрации глюкозы, аминокислот, хиломикронов и ЛПОНП. Увеличение уровня глюкозы в крови стимулирует секрецию гормона инсулина β -клетками поджелудочной железы. Инсулин секретируется при концентрации глюкозы в крови выше 80

мг/дл, причем секреция ускоряется с увеличением уровня глюкозы в крови (рис. 10.13). Это приводит к повышению индекса инсулин/глюкагон.

Инсулин ускоряет поступление глюкозы в инсулинзависимые ткани мышцы и жировую ткань, а жирных кислот - из ЛПОНП и ХМ в разные ткани.

Печень улавливает около 60 г глюкозы из 100 г, содержащихся в крови.

В печени инсулин стимулирует:

- синтез гликогена;
- аэробный распад глюкозы, который обеспечивает образование АТФ и субстратов, необходимых для синтеза ТАГ и холестерина;

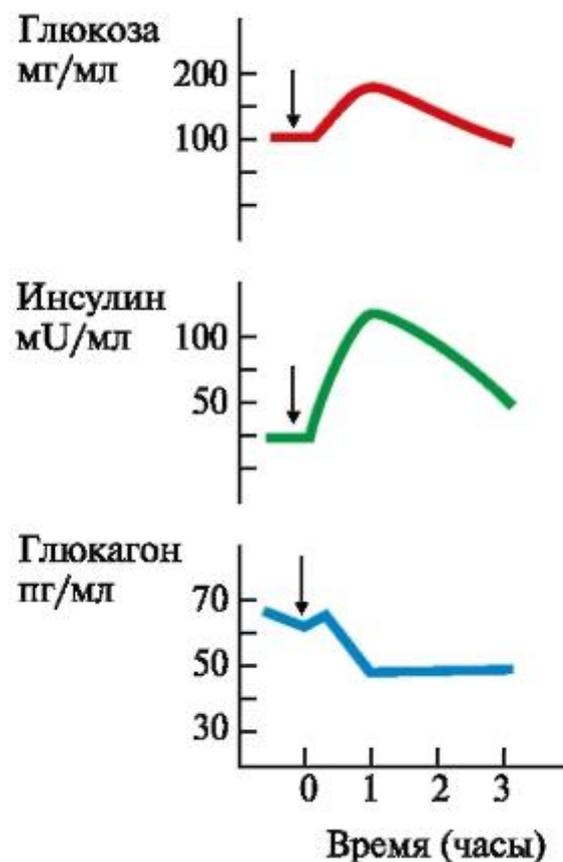


Рис. 10.13. Концентрация глюкозы, инсулина и глюкагона в крови после приема пищи, содержащей углеводы

- ПФПуть превращения глюкозы, в котором вос - становится кофермент $NADP^+$. $NADPH$ требуется для восстановительных реакций синтеза жирных кислот и холестерина;

- синтез ТАГ, фосфолипидов, холестерина, включающихся в состав ЛПОНП и

ЛПВП предшественников, которые поступают в кровь.

В мышечной ткани в период пищеварения глюкоза является основным энергетическим субстратом. В этой ткани инсулин стимулирует:

- синтез гликогена;
- гликолиз;
- синтез мышечных белков.

Жировая ткань у человека массой тела около 70 кг составляет примерно 14 кг, а у тучных людей может достигать 70% массы. В абсорбтивный период адипоциты заполнены жиром.

В жировой ткани под действием инсулина повышается скорость:

- аэробного распада глюкозы и ПФП превращения глюкозы;
- синтеза ТАГ, причем жирные кислоты для этого процесса могут синтезироваться в адипоцитах из глюкозы или поступать в них из ХМ и ЛПОНП в результате гидролиза ТАГ под действием липопротеинлипазы.

При пищеварении во всех тканях активируются анаболические процессы и запасаются энергетические субстраты: в печени и мышцах - гликоген, в жировой ткани - ТАГ.

Метаболизм углеводов, жиров и белков в постабсорбтивный период и при голодании

Переваривание и всасывание углеводов заканчивается через 2 ч после приема пищи, а белков и жиров - через 4-6 ч.

При полном голодании характерные изменения метаболизма отмечаются в течение 1-х суток (I фаза голодания), недели (II фаза) и нескольких недель (III фаза). Время между завершением пищеварения и следующим приемом пищи соответствует постабсорбтивному состоянию, т.е. продолжается от 4 до 12 ч после абсорбтивного периода.

I фаза голодания. В течение постабсорбтивного периода и при дальнейшем голодании уровень глюкозы в крови постепенно снижается, поэтому концентрация инсулина уменьшается и повышается концентрация глюкагона. Снижается индекс инсулин/глюкагон.

В печени глюкагон ускоряет гликогенолиз, и через 12 ч после приема пищи концентрация глюкозы в крови составляет около 80 мг/дл («4,4 ммоль/л). После 16 ч голодания уровень глюкозы в крови поддерживается не только за счет мобилизации гликогена, но и благодаря ускорению глюконеогенеза глюкагоном и кортизолом. Запас гликогена в печени исчерпывается за сутки.

В жировой ткани глюкагон ускоряет мобилизацию жира, поэтому к концу 1-х суток голодания концентрация жирных кислот в крови повышается до верхней границы нормы (0,9 ммоль/л), концентрация кетоновых тел соответствует норме (1,1-2,2 мг/дл).

Азотистый баланс при голодании отрицательный.

II фаза голодания характеризуется дальнейшим снижением индекса инсулин/глюкагон, вызванным ускорением синтеза и секреции глюкагона. Кроме того, продолжает повышаться синтез и секреция другого контринсулярного гормона - кортизола.

Ускорение глюконеогенеза глюкагоном и кортизолом в печени обеспечивает поддержание концентрации глюкозы в крови на уровне « 70 мг/дл.

Глюкагон стимулирует липолиз в жировой ткани. Это приводит к повышению концентрации жирных кислот в крови в 2-3 раза по сравнению с нормой.

В этот период голодания отмечается кетонемия, а при концентрации кетоновых тел выше 3 мг/дл их обнаруживают в моче (кетонурия).

Увеличение образования ацетоацетата и β -гидроксибутирата является следствием

ускорения катаболизма жирных кислот в печени. Повышение скорости β -окисления жирных кислот обусловлено увеличением их поступления из жировой ткани в печень и активацией регуляторного фермента этого процесса - карнитинацилтрансферазы. Ускорение этого метаболического пути увеличивает образование конечного продукта - ацетил-КоА. В связи с тем что при голодании скорость реакций ЦТК в митохондриях печени снижена, а активность регуляторного фермента синтеза кетоновых тел ГМГ-КоА-синтазы повышена, то ацетилКоА в основном используется для их синтеза (см. раздел 9). Во II фазу голодания жирные кислоты и кетоновые тела становятся важными энергетическими субстратами для многих тканей, даже мозг наряду с глюкозой начинает активно окислять ацетоацетат и β -гидроксибутират. Увеличение концентрации кетоновых тел в крови опасно

для организма, так как это приводит в кетоацидозу - снижению кислотнощелочного резерва и смещению рН крови в кислую область. При неферментативном декарбоксилировании ацетоацетата образуется ацетон. Он выводится из организма с мочой, потом и выдыхаемым воздухом, поэтому от голодающего человека ощущается запах ацетона.

Глюкоза не поступает в мышцы из-за низкой концентрации инсулина, поэтому эта ткань получает энергию за счет окисления жирных кислот и кетоновых тел.

В крови повышается концентрация мочевины (азотемия) и увеличивается ее содержание в суточной моче (азотурия). Это является следствием ускорения катаболизма мышечных белков и дезаминирования аминокислот в печени под влиянием кортизола.

III фаза наступает при продолжении голодания более недели. В этом случае основными энергетическими субстратами становятся жирные кислоты и кетоновые тела. Использование глюкозы разными тканями снижается, так как к 4-5-й неделе голодания концентрация глюкозы в крови уменьшается до 60-65 мг/ дл. Мозг преимущественно переходит на энергообеспечение за счет окисления кетоновых тел. Скорость катаболизма белков и глюконеогенез из аминокислот тормозится, вследствие чего синтез и выведение мочевины из организма уменьшаются. Снижение количества белков сопровождается атрофией тканей, а потеря от 1/3 до 1/2 всех белков организма несовместима с жизнью.

10.4. САХАРНЫЙ ДИАБЕТ

При абсолютной или относительной недостаточности инсулина возникает сахарный диабет, сопровождающийся нарушениями метаболизма углеводов, жиров и белков. Количество больных диабетом в мире постоянно растет, и, если по данным ВОЗ, в 2003 г. этим заболеванием страдали 180 млн человек, то к 2010 г. ожидается 230 млн заболевших.

В зависимости от механизмов развития патологических процессов различают две формы заболевания:

- инсулинзависимый сахарный диабет (ИЗСД) - диабет I типа, на долю которого приходится 10-20% случаев заболеваний.
- инсулиннезависимый сахарный диабет (ИНСД) - диабет II типа, которым страдают

80-90% больных.

ИЗСД возникает вследствие разрушения β -клеток поджелудочной железы, вызванного:

- аутоиммунными реакциями, обусловленными генетическими дефектами белков иммунной системы;
- вирусной инфекцией;
- некоторыми токсическими нитро- и аминокислотными веществами.

ИНСД может быть связан с:

- мутацией генов, контролирующей синтез и секрецию инсулина;
- повышением скорости катаболизма инсулина в печени;
- нарушением механизмов передачи сигнала инсулином в клетки, например, при генетических дефектах рецепторов инсулина, уменьшении их количества или образования антител к рецепторам и генетическими нарушениями структуры белков, участвующих в передаче гормонального сигнала в клетку.

Развитие сахарного диабета могут спровоцировать ожирение, стресс, гиподинамия.

Изменения метаболизма при сахарном диабете

При диабете I типа концентрация инсулина в крови снижена, а при II типе может быть снижена, оставаться в норме или даже превышать ее, но при этом наблюдается инсулинорезистентность клеток-мишеней. В обоих случаях возникает недостаточность содержания инсулина в крови по отношению к содержанию глюкозы - абсолютная (при ИЗСД) или относительная (в большинстве случаев ИНСД), поэтому индекс инсулин/глюкоза снижается. Это приводит к тому, что даже в абсорбтивный период метаболизм углеводов, жиров и белков в печени, мышцах и жировой ткани осуществляется в режиме голодания и обуславливает основные проявления сахарного диабета (рис. 10.14).

Гиперглюкоземия в постабсорбтивный период - снижение толерантности к глюкозе у больных сахарным диабетом вызывается:

- уменьшением поступления глюкозы в инсулинзависимые ткани (мышцы и жировую ткань);
- торможением синтеза гликогена в печени и мышцах;

- снижением синтеза жиров из глюкозы в печени и жировой ткани;
- ускорением глюконеогенеза из аминокислот и глицерола в печени.

При повышении уровня глюкозы в крови выше почечного порога (более 180 мг/дл) она поступает в мочу и тогда наблюдается глюкозурия.

Кетонемия возникает из-за абсолютной или относительной избыточности глюкогона по отношению к инсулину. Глюкогон ускоряет липолиз в жировой ткани. Это приводит к увеличению поступления жирных кислот в печень, где они окисляются в митохондриях и превращаются в ацетил-КоА, который используется для синтеза кетоновых тел. Повышение концентрации в крови кетоновых тел и лактата приводит к снижению буферной емкости крови и вызывает кето- и лактоацидоз. Кетоновые тела выводятся из организма в основном с мочой, поэтому следствием кетонемии является появление кетоновых тел в моче - кетонурия.

Азотемия развивается из-за снижения синтеза белков в некоторых тканях под влиянием кортизола. Вследствии этого увеличивается поступление аминокислот в кровь и затем печень, где они дезаминируются, а освобождающийся аммиак включается в синтез мочевины. Повышение концентрации мочевины в крови увеличивает ее поступление в мочу - возникает азотурия.

Гиперлиппротеинемия связана с повышением концентрации ЛПОНП и ЛПНП в крови. Недостаточность инсулина вызывает снижение синтеза и активности ЛП-липазы и, таким образом, снижение скорости утилизации ЛПОНП и ХМ.

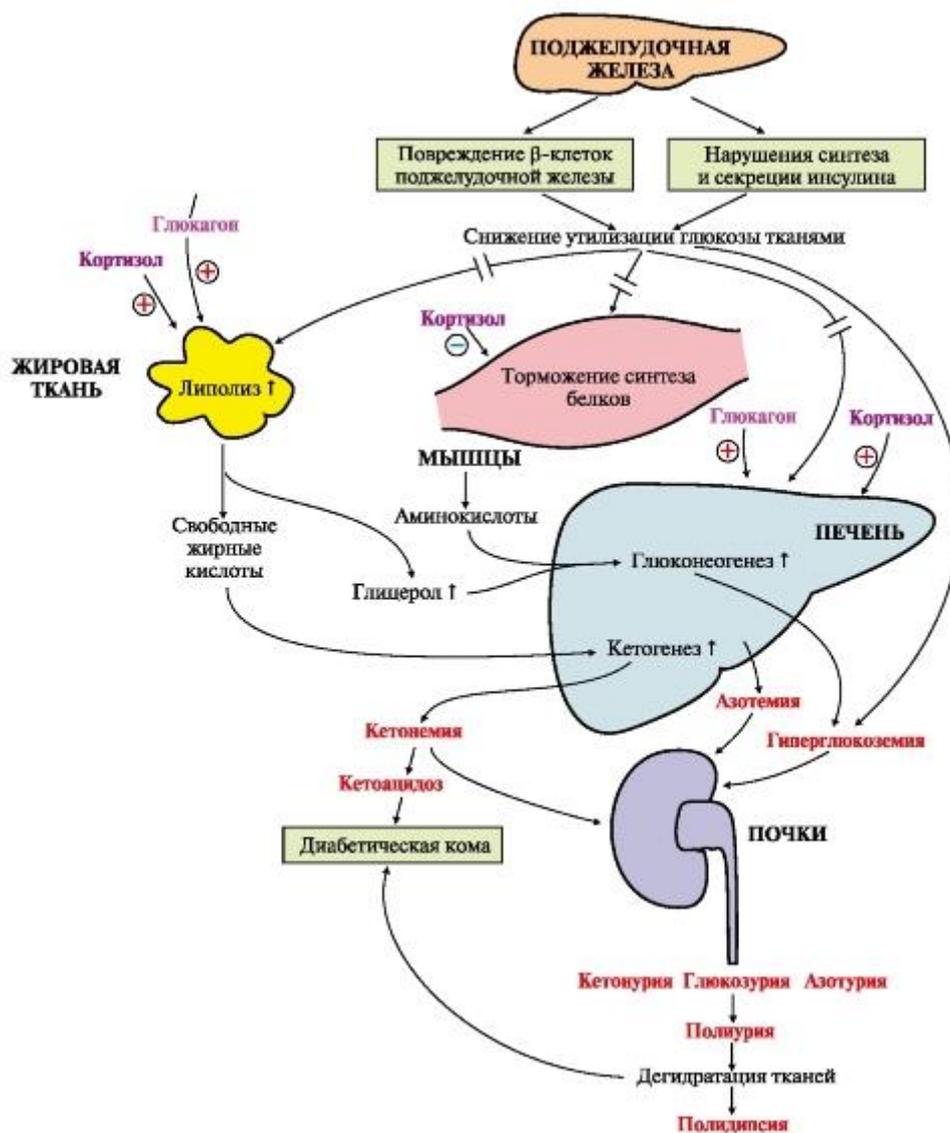


Рис. 10.14. Основные изменения метаболизма при сахарном диабете

Вместе с тем к гиперлиппротеинемии приводит неферментативное гликозилирование апопротеинов и рецепторов ЛПНП, которое нарушает взаимодействие рецепторов с липопротеинами и снижает их поступление в клетки.

Полиурия при сахарном диабете обусловлена тем, что выведение из организма глюкозы, кетоновых тел, мочевины сопровождается потерей большого количества жидкости (до 3-4 л и более в сутки). Дегидратация тканей вызывает чувство жажды - полидипсию.

Острые и поздние осложнения сахарного диабета

Острые осложнения сахарного диабета являются следствием нарушения обмена углеводов, жиров и белков. Клинически они проявляются как

диабетическая кома. В зависимости от механизма возникновения различают три формы коматозных состояний.

Гиперосмолярная кома. Гипергликоземия, кетонемия, азотемия вызывают повышение осмотического давления, которое компенсируется поступлением жидкости из клеток и

межклеточного пространства в кровь. Потеря воды и электролитов приводит к дегидратации тканей. Полиурия вызывает уменьшение общего объема циркулирующей жидкости и сопровождается снижением артериального давления, нарушением периферического кровообращения, гипоксией тканей, сердечной и почечной недостаточностью.

Кетоацидотическая кома. Кетонемия приводит к кетоацидозу - снижению рН крови.

Лактоацидотическая кома. Нарушение периферического кровообращения уменьшает снабжение тканей кислородом. В связи с этим ускоряется анаэробный гликолиз и увеличивается образование лактата, который поступает в кровь, вызывая снижение рН - лактоацидоз (см. раздел 6). При инсулинотерапии сахарного диабета передозировка инсулина может привести к снижению уровня глюкозы в крови и гипогликемической коме, опасной для жизни. Коматозные состояния сопровождаются тошнотой, рвотой, слабостью, заторможенностью, потерей сознания.

Основная причина поздних осложнений сахарного диабета - ферментативное и неферментативное гликозилирование (гликирование) белков разных тканей. Глюкоза легко присоединяется к аминогруппам лизина, аргинина и N-концевых аминокислот с образованием шиффовых оснований, которые в дальнейшем могут превращаться в другие более стабильные соединения, образующие ковалентные сшивки в белках.

В результате таких модификаций изменяются заряд белков, их конформация, структура активного центра, свойства и функции. Степень повреждения белков зависит от скорости их обновления.

Гликозилирование гемоглобина сопровождается гипоксией тканей. Гликозилированный гемоглобин Hb(A1c) имеет высокое сродство к кислороду, что приводит к снижению поступления кислорода в ткани.

Гликозилирование липопротеинов и их рецепторов нарушает транспорт липидов в ткани и вызывает гиперлиппротеинемию.

В результате гликозилирования белков хрусталика глаза кристаллинов происходит помутнение хрусталика и развивается катаракта, приводящая к слепоте.

Одними из наиболее характерных осложнений сахарного диабета являются микро- и макроангиопатии. Они развиваются в результате гликозилирования компонентов базальных мембран сосудов и межклеточного матрикса - коллагена и эластина и повышения образования протеогликанов и гликопротеинов (см. раздел 11). Изменение структуры этих веществ приводит к утолщению базальных мембран и нарушению метаболизма в тканях. Несмотря на то что молекулярный механизм возникновения ангиопатий одинаков, патологические процессы развиваются в соответствии с особенностями функционирования определенной ткани. Макроангиопатии сопровождаются атеросклерозом крупных и средних сосудов мозга, сердца и нижних конечностей.

Микроангиопатии проявляются как нефропатии (нарушения функций почечных клубочков), ретинопатии (отеки и кровоизлияния в сетчатку), нейропатии.

Кроме того, поздние осложнения сахарного диабета могут быть вызваны ускорением превращения глюкозы в спирт сорбитол под действием фермента альдозоредуктазы. Поскольку сорбитол не включается в метаболизм, то он накапливается, вызывая повышение осмотического давления в клетках сетчатки и хрусталика глаза, клубочков почек, эндотелия, сопровождающееся отеком тканей.

Лечение сахарного диабета включает:

- низкокалорийную диету;
- дозированную физическую нагрузку;
- ингибиторы α -гликозидаз (акарбоза, миглитол), снижающие всасывание углеводов из кишечника;
- сенситайзеры инсулина (глитазоны), повышающие чувствительность тканей к инсулину;
- секретогены инсулина (производные сульфонилмочевины), стимулирующие секрецию инсулина;

- бигуаниды, ускоряющие периферическую утилизацию глюкозы и тормозящие глюконеогенез;
- инсулинотерапию.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выберите правильные ответы. В абсорбтивный период:

- А. В мышцах активируется синтез гликогена.
- Б. В жировой ткани ускоряется аэробное окисление глюкозы.
- В. В печени стимулируется образование ЛПОНП.
- Г. Отмечается алиментарная гиперглюкоземия.
- Д. В крови повышается концентрация свободных жирных кислот.

2. Выберите правильные ответы. Для II фазы голодания характерны:

- А. Кетонемия. Б. Азотемия.
- В. Гипоглюкоземия.
- Г. Гиперлиппротеинемия. Д. Ацидоз.

3. Выберите правильные ответы.

При голодании в течение недели уровень глюкозы в крови поддерживается за счет:

- А. Глюконеогенеза из лактата.
- Б. Синтеза глюкозы из аминокислот.
- В. Мобилизации гликогена в печени. Г. Глюконеогенеза из глицерола.
- Д. Снижения поступления глюкозы в мышцы и печень.

4. Выберите правильные ответы.

Причиной повышения концентрации кетоновых тел в крови при голодании являются:

- А. Ускорение глюконеогенеза.
- Б. Снижение индекса инсулин/глюкагон.
- В. Ускорение липолиза в жировой ткани. Г. Ускорение β -окисления в печени.
- Д. Активация ГМГ-КоА-синтетазы в митохондриях печени.

5. Выберите правильные ответы. Причиной ИЗСД могут быть:

А. Аутоиммунное разрушение β -клеток поджелудочной железы.

Б. Вирусная инфекция.

В. Генетический дефект рецептора инсулина.

Г. Повреждение β -клеток нитросоединениями.

Д. Повышение скорости катаболизма инсулина в печени.

6. Выберите правильные ответы. ИНСД может возникнуть в результате:

А. Аутоиммунного разрушения рецепторов инсулина.

Б. Нарушения превращения препроинсулина в инсулин.

В. Уменьшения количества рецепторов инсулина.

Г. Генетических дефектов белков и ферментов, участвующих в передаче сигнала инсулина в клетку.

Д. Нарушения секреции инсулина.

7. Выберите правильные ответы.

Повышение концентрации глюкозы в крови при сахарном диабете обусловлено:

А. Ускорением мобилизации гликогена в мышцах.

Б. Повышением скорости глюконеогенеза в печени.

В. Снижением транспорта глюкозы в жировую ткань.

Г. Уменьшением поступления глюкозы в

нервную ткань. Д. Снижением синтеза ТАГ в жировой ткани.

8. Дополните предложения недостающими словами, используя схему, представленную на рис. 10.5.

Препараты сульфонилмочевины относятся к Взаимодействие этих лекарств с рецепторами приводит в закрытию ...-каналов и повышению отношения АТФ /АДФ.

Увеличение концентрации . в цитоплазме вызывает деполяризацию мембраны, открывание ...-каналов и повышение уровня ... в β -клетке, который стимулирует Ca^{2+} -зависимый экзоцитоз ... и ... в кровь.

9. Установите соответствие. Механизм действия:

- А. Ингибируют глюконеогенез в печени.
- Б. Снижают всасывание глюкозы в кишечнике.
- В. Угнетают мобилизацию гликогена в печени.
- Г. Повышают чувствительность тканей к инсулину.
- Д. Стимулируют секрецию инсулина.

Препараты:

1. Ингибиторы α -гликозидаз.
2. Секретогены инсулина.
3. Сенситайзеры инсулина.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ.

1. В приемное отделение больницы поступила девушка, потерявшая сознание на улице. Родственники пациентки пояснили, что она страдает анорексией и отказывается принимать пищу в течение 5 нед. Обследование показало, что уровень глюкозы в крови пациентки составлял 55 мг/дл, кетоновых тел - 20 мг/дл, рН крови 7,1. Объясните причины изменений показателей крови пациентки, которые привели к потере сознания. Для этого:

- а) укажите уровень глюкозы, кетоновых тел и рН крови в норме;
- б) представьте схемы процессов, ускорение которых привело к кетонемии;
- в) перечислите энергетические субстраты, используемые мозгом, мышцами и печенью при длительном голодании;
- г) напишите схему метаболического пути, объясняющую роль кетоновых тел в организме.

2. Снижение толерантности к глюкозе у больных сахарным диабетом устанавливают с помощью сахарной нагрузки. Для этого сначала у пациента определяют уровень глюкозы в крови натощак, затем дают выпить раствор глюкозы из расчета 1 г на 1 кг массы тела и определяют концентрацию глюкозы в крови каждые 30 мин в течение 3 ч. Сахарные кривые (графики

зависимости концентрации глюкозы от времени) для здорового и больного сахарным диабетом представлены на рис. 10.15. Объясните ход представленных на рисунке кривых.

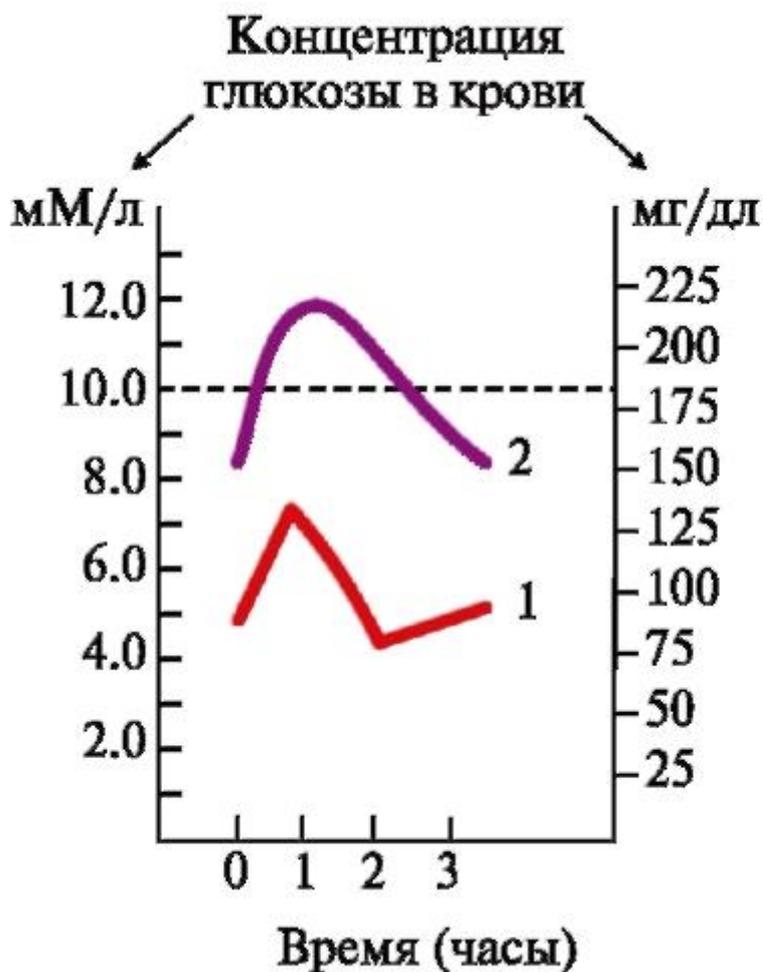


Рис. 10.15. Определение толерантности к глюкозе у здорового (1) и больного сахарным диабетом (2)

3. У больного после длительного лечения сахарного диабета гликлазидом (производное сульфомочевины) возникла гипогликемия. Лекарственные препараты - производные мочевины являются секретогенами инсулина. При связывании гликлазида с рецепторами плазматических мембран β -клеток поджелудочной железы закрываются мембранные K^+ -каналы. Объясните механизм снижения уровня глюкозы в крови пациента при лечении секретогенами инсулина. Для этого:

- опишите регуляцию секреции инсулина глюкозой;
- укажите роль этого гормона в поступлении глюкозы в инсулинзависимые ткани;

в) напишите схемы метаболический путей, ускорение которых под влиянием инсулина приводит к снижению уровня глюкозы в крови.

4. Женщина, страдающая сахарным диабетом, обратилась в стоматологическую клинику за консультацией по поводу дентальной имплантации с последующим протезированием. Однако стоматолог объяснил пациентке, что при сахарном диабете этот метод лечения не рекомендуется. Объясните причины противопоказания дентальной имплантации больным сахарным диабетом, описав механизмы развития поздних осложнений сахарного диабета.

10.5. РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНО-СОЛЕВОГО ОБМЕНА

В составе всех жидких сред организма и секретов присутствует вода. Она составляет ~ 70% массы тела. Баланс воды в организме формируется из воды, поступающей с пищей (около 2,2 л) и образующейся в организме (метаболическая вода - 0,3-0,4 л) в результате функционирования ЦПЭ, а также реакций дегидратации и гидроксирования (рис. 10.16).

Воду организма подразделяют на внутриклеточную (~ 70%) и внеклеточную (~ 30%). Около 6% внеклеточной воды находится в крови, остальная - во внеклеточном матриксе. Между этими тремя объемами идет постоянный обмен жидкостью. Снижение количества воды в организме ~на 12% может привести к смерти.

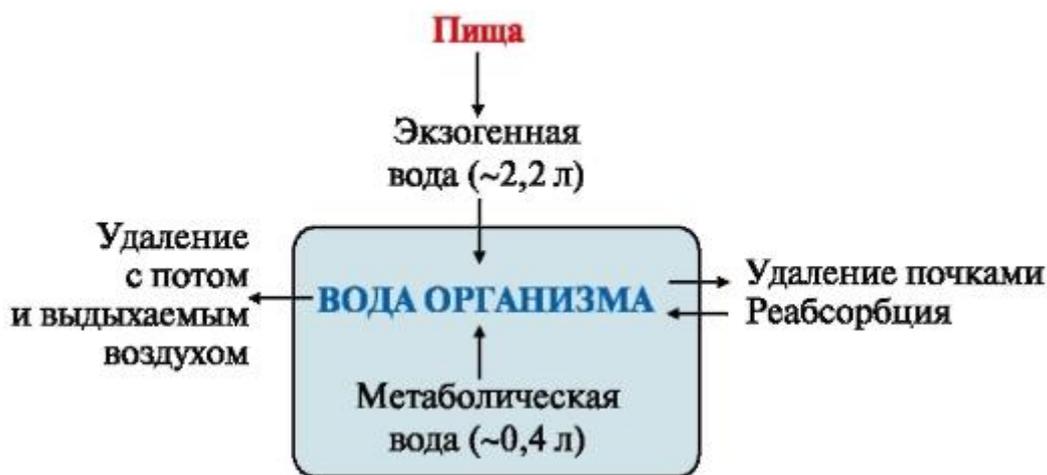


Рис. 10.16. Баланс воды в организме Вода является:

- средой для протекания многих реакций;
- средством транспорта веществ в клетке, межклеточном пространстве, между органами (лимфатическая и кровеносная системы);

- средой, в которой формируется нативная конформация белков; жидким составляющим слезы, слюны, десневой жидкости, пота, мочи, секретов пищеварительных желез;

- условием для формирования двойного липидного слоя мембран.

В организме строго контролируются основные параметры жидкой среды: рН, осмотическое давление и объем.

рН среды

рН межклеточной жидкости и плазмы крови одинаковы и составляют в норме 7,36. Поддержание рН обеспечивают буферные системы и экскреторная работа почек. рН внутри клеток разного фенотипа или в разных отсеках одной клетки может быть различным и определяется особенностями метаболизма клеток или их органелл. В первую очередь от рН зависит конформация биологических макромолекул, в частности каталитическая активность ферментов. Даже небольшие сдвиги рН могут приводить к значительным изменениям скорости некоторых жизненно важных для организма ферментативных реакций.

Осмотическое давление

В норме этот показатель практически одинаков для межклеточной жидкости и плазмы крови. Он зависит от растворенных в воде солей, белков, содержание которых варьирует от 2,5 до 325 мг/дл. Наибольшую концентрацию и влияние на осмотическое давление имеет соль NaCl, присутствующая в этих средах в диссоциированном состоянии

(Na⁺, Cl⁻). Поддержание определенного осмотического давления в первую очередь регулируется выделением или задержкой H₂O или NaCl.

Объем

Объем жидкостей организма зависит от массы тела человека. Важнейшей его характеристикой является водный баланс, который в норме должен обеспечить равенство количества воды, поступающей или образующейся в организме, и количеством жидкости, экскретируемой из организма.

Поддержание основных параметров в норме осуществляют почки, а регуляторную функцию выполняют гормоны вазопрессин (антидиуретический гормон - АДГ), альдостерон и предсердный натриуретический фактор (ПНФ).

При больших потерях организмом жидкости координирует действие гормонов альдостерона и вазопрессина ренин-ангиотензин-альдостероновая система.

Вазопрессин (АДГ)

АДГ является пептидом из 9 аминокислот. Он синтезируется в нейронах гипоталамуса, по аксонам транспортируется в заднюю долю гипофиза и хранится там в составе секреторных гранул. Сигналом, вызывающим секрецию гормона, является повышение осмотического давления внеклеточной жидкости (рис. 10.17). Осморецепторы гипоталамуса реагируют на эти изменения, сигнал передается в заднюю долю гипофиза, и гормон секретируется из окончаний аксонов в кровь.



Рис. 10.17. Регуляция секреции АДГ

АДГ имеет 2 типа мембранных рецепторов - V_1 и V_2 , которые различаются по тканевой локализации, системе передачи сигнала и имеют разное сродство к гормону. V_1 -рецепторы находятся на гладкомышечных клетках сосудов. При взаимодействии АДГ с рецепторами этого типа активируется инозитолфосфатная система, повышение

концентрации Ca^{2+} приводит к сужению сосудов. V_1 -рецепторы имеют низкое сродство к гормону, поэтому при физиологических концентрациях АДГ связывается только V_2 -рецепторами. V_2 -рецепторы имеют

эпителиальные клетки дистальных канальцев и собирательных трубочек почек.

В эпителиальных клетках дистальных канальцев почек присоединение АДГ к α -рецепторам приводит к активации аденилатциклазной системы (рис. 10.18).



Рис. 10.18. Передача сигнала АДГ на U_2 -рецепторы почечных канальцев

PKA фосфорилирует специфический белок в ядре клеток-мишеней, который активирует транскрипцию гена белка аквапорина-2 (AQP2).

Синтезированный в цитоплазме белок встраивается в апикальную мембрану дистальных канальцев и собирательных трубочек (рис. 10.19). С помощью образованного аквапорином канала вода из мочи поступает в клетку, затем со стороны базолатеральной мембраны в кровь.

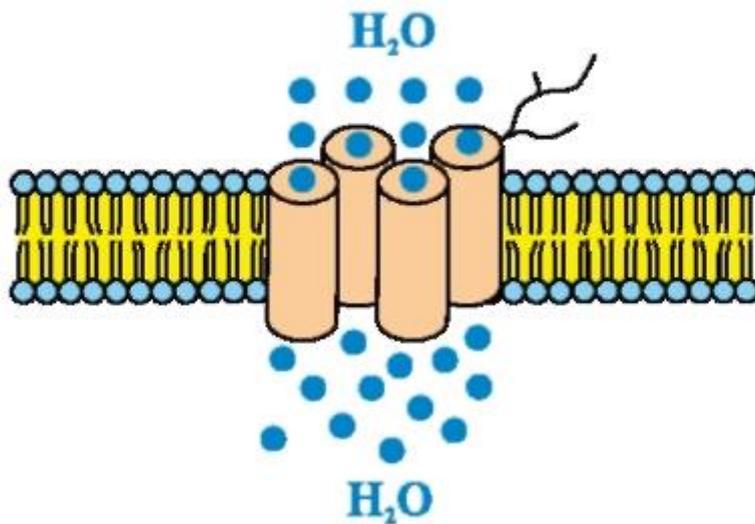


Рис. 10.19. Водный канал апикальной мембраны, образованный AQP2. AQP - семейство мембранных пор для воды. Синтез AQP2 индуцирует АДГ. AQP5 принимает участие в формировании слезной жидкости, слюны, секретов желез воздухоносных путей.

Объем выделяемой мочи уменьшается, и осмотическое давление внеклеточной жидкости приходит к норме. Вторым источником для увеличения объема жидкости в организме является вода, потребление которой вследствие жажды возрастает (рис. 10.20).

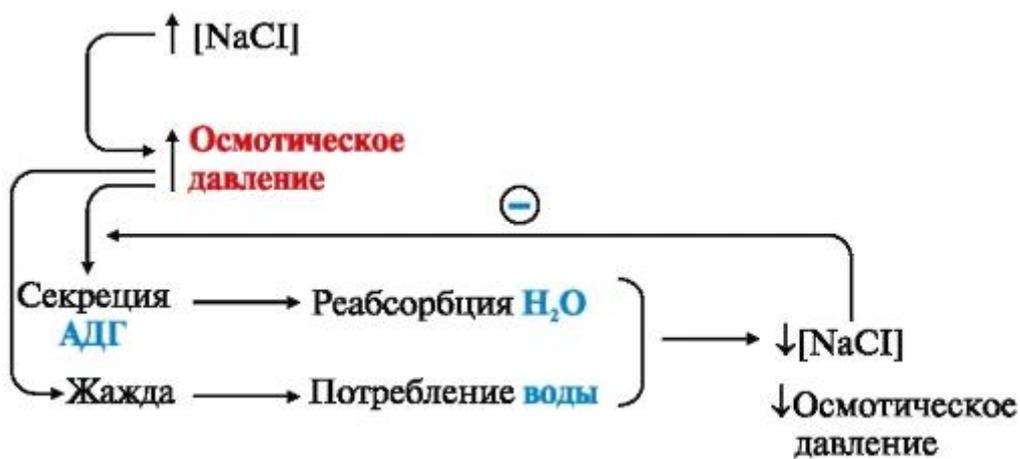


Рис. 10.20. Регуляция осмотического давления вазопрессином (АДГ)

АДГ сохраняет в норме объем жидкости в организме и не влияет на количество выделяемого

NaCl.

Альдостерон

Альдостерон - стероидный гормон, синтезируется из холестерина в клубочковой зоне коры надпочечников (рис. 10.21).

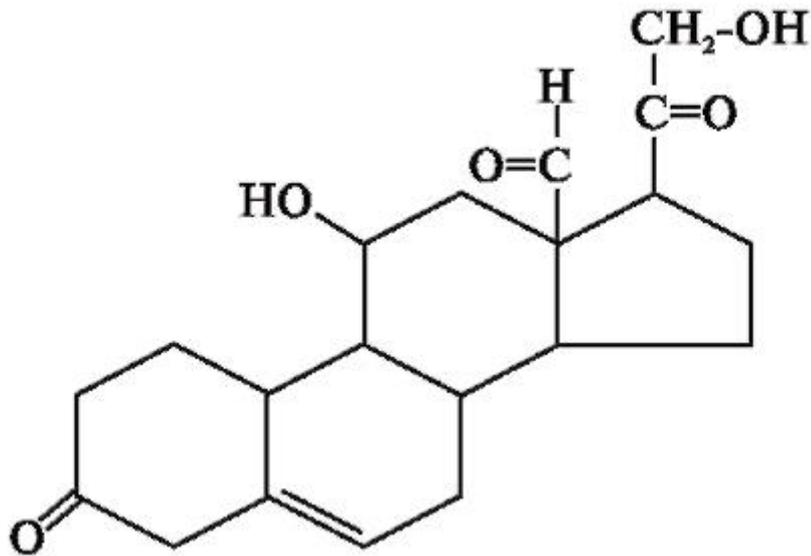


Рис. 10.21. Строение альдостерона

Альдостерон - липофильный гормон. По крови перемещается в комплексе с белком альбумином. Его инактивация происходит в печени

Образование и секреция гормона регулируются ионами натрия и калия. При снижении осмотического давления секреция гормона в кровь возрастает. Самым мощным регуляторным фактором является ангиотензин II - один из белков системы ренин-ангиотензин-альдостерон (рис. 10.22).

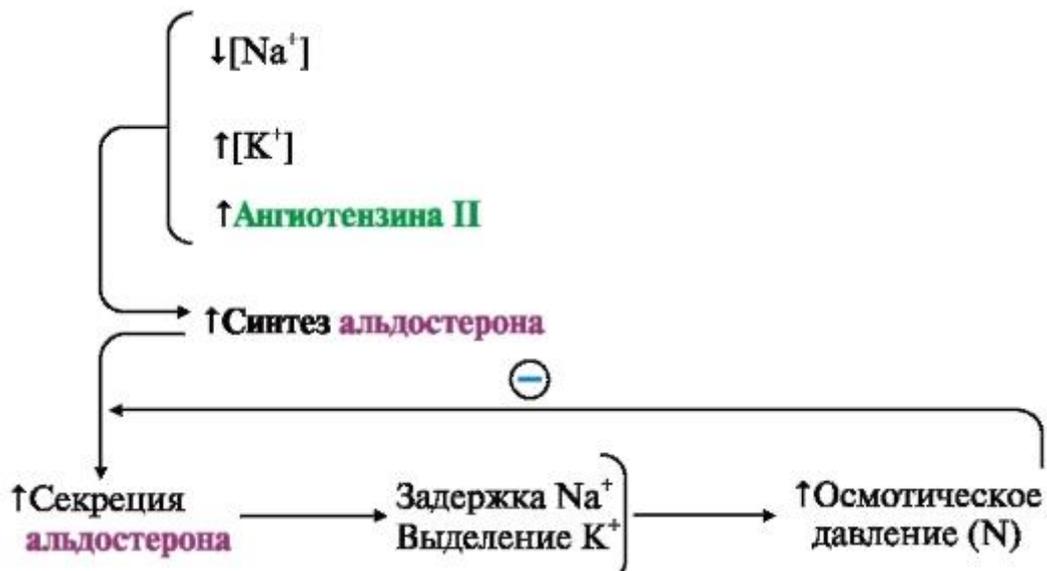


Рис. 10.22. Регуляция синтеза и секреции альдостерона

Ангиотензин II взаимодействует с рецепторами мембран клеток коры надпочечников и активирует инозитолфосфатную систему. В клетках-мишенях идет фосфорилирование специфических ферментов, ответственных за синтез альдостерона. Образующийся гормон, действуя на клетки-мишени, вызывает реабсорбцию Na^+ и экскрецию K^+ . Задержка натрия в организме приводит к восстановлению осмотического давления и снижению синтеза и секреции гормона в кровь

Клетками-мишенями альдостерона являются эпителиальные клетки почечных канальцев. Гормон проходит через мембрану и взаимодействует с внутриклеточными рецепторами (см. рис. 4.16). В ядре комплекс гормон-рецептор присоединяется к регуляторным зонам ДНК и индуцирует экспрессию генов, специфических ферментов и белков-переносчиков. Как следствие в апикальной мембране повышается содержание переносчиков Na^+ и K^+ (рис. 10.23). Возрастает реабсорбция ионов натрия в эпителиальную клетку и секреция K^+ через калиевые переносчики в просвет канальцев. Для переноса Na^+ из клетки в кровь гормон индуцирует синтез Na^+, K^+ -АТФ-азы. Для обеспечения работы АТФ-азы энергией альдостерон стимулирует синтез первого фермента ЦТК - цитратсинтазы, поэтому в эпителиальных клетках почечных канальцев повышается активность энергетического обмена. Гормон также оказывает влияние на содержание ионов натрия в слюне. При формировании слюнного секрета альдостерон стимулирует реабсорбцию эпителиальными клетками протоков слюнных желез.

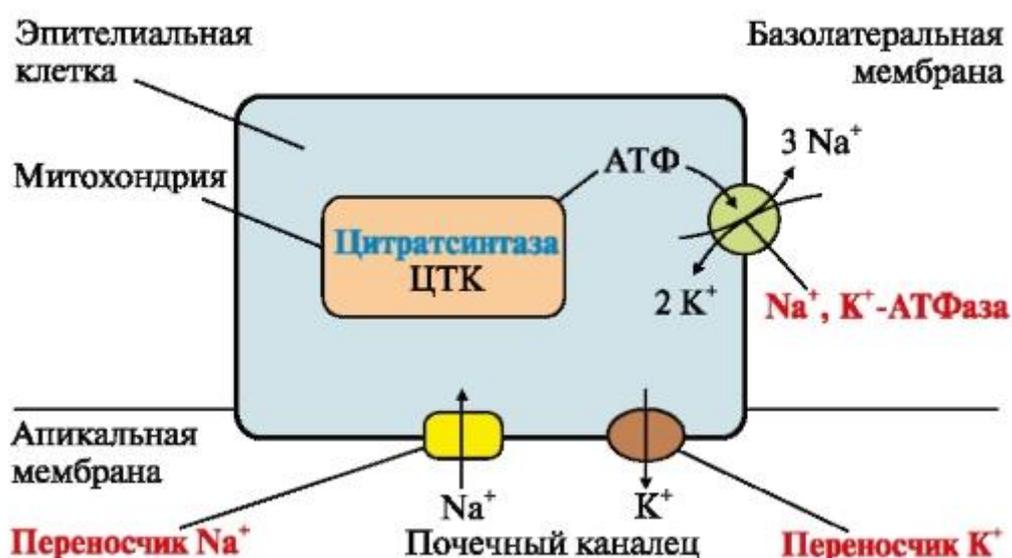


Рис. 10.23. Функция индуцированных альдостероном белков эпителиальных клеток почечных канальцев

Система ренин-ангиотензин-альдостерон

Система ренин-ангиотензин-альдостерон играет важную роль в восстановлении объема крови и артериального давления при кровотечении, сильной рвоте, поносе и обильном потоотделении.

Ключевую роль в этой системе играет фермент ренин, который синтезируется юкстагломерулярными клетками, окружающими приносящую артериолу почечного клубочка. Эти клетки выполняют функцию рецепторов, реагирующих на растяжение стенки артериолы. Уменьшение объема крови приводит к снижению давления (растяжения) на юкстагломерулярные клетки и секреции ренина в кровь (рис. 10.24).

Ренин - протеолитический фермент, его субстратом является белок крови ангиотензиноген, который синтезируется и секретируется печенью в кровь. Ренин отщепляет с N-конца ангиотензиногена пептид ангиотензин I из 10 аминокислот. Ангиотензин-превращающий фермент (АПФ), локализованный на мембране эндотелиальных клеток сосудов легких, катализирует образование ангиотензина II из ангиотензина I. Под действием АПФ (карбоксидипептидилпептидазы) с C-конца ангиотензина I отщепляется дипептид.

Ангиотензин II взаимодействует с мембранными рецепторами гипоталамуса, гладкомышечных клеток сосудов, клетками канальцев нефрона и клубочковой зоны коры надпочечников и передает сигнал через инозитолфосфатную систему. Действуя на гипоталамус, ангиотензин II вызывает жажду. В коре надпочечников пептид повышает синтез и секрецию

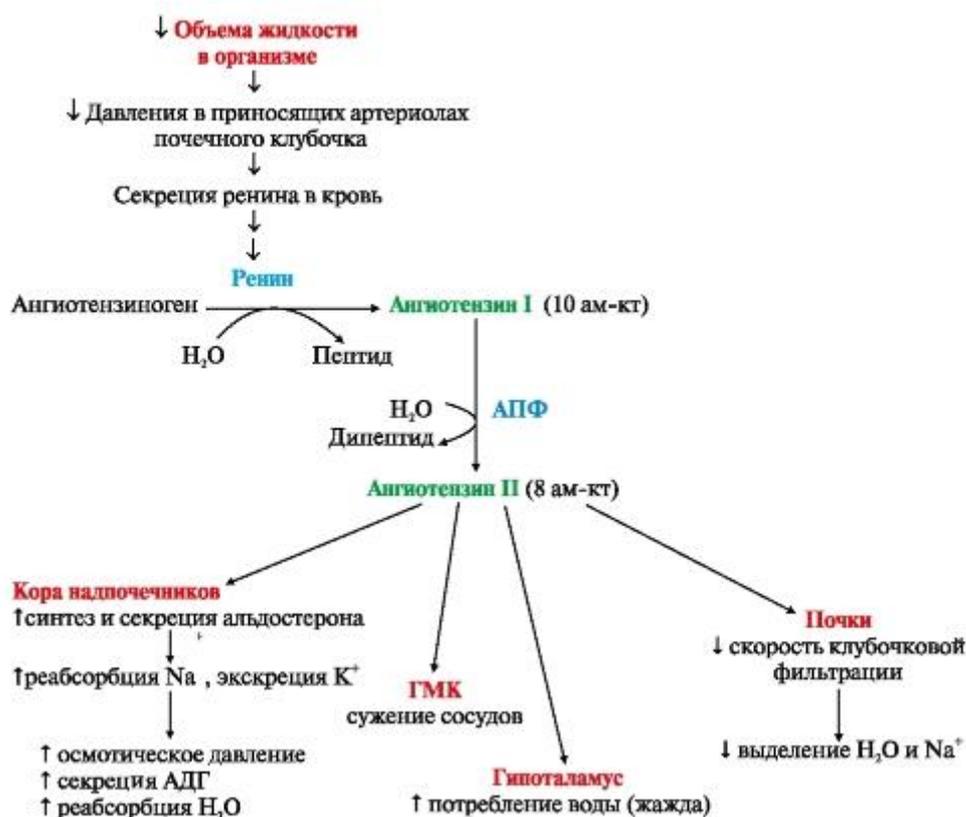


Рис. 10.24. Регуляция объема внеклеточной жидкости и артериального давления системой ренин-ангиотензин- альдостерон альдостерона, в почках стимулирует увеличение реабсорбции задержку H_2O . Передавая

сигнал на гладкомышечные клетки, вызывает сужение сосудов.

Нормализация артериального давления повышает растяжение стенки артериолы почечного клубочка, что является сигналом к прекращению секреции ренина в кровь. Препараты капотен, энап - ингибиторы АПФ часто используются при повышении артериального давления.

Предсердный натриуретический фактор (ПНФ)

Гормон ПНФ состоит из 28 аминокислотных остатков. Он синтезируется в кардиоцитах предсердия и секретируется в кровь. Сигналом, вызывающим секрецию гормона, является повышение артериального давления (рис. 10.25).

ПНФ действует на клубочковую зону почек на стадии формирования первичной мочи и увеличивает выведение $NaCl$ и H_2O . Гормон подавляет секрецию ренина, альдостерона и вазопрессина, т.е. отключает функционирование системы ренин-ангиотензин-альдостерон.

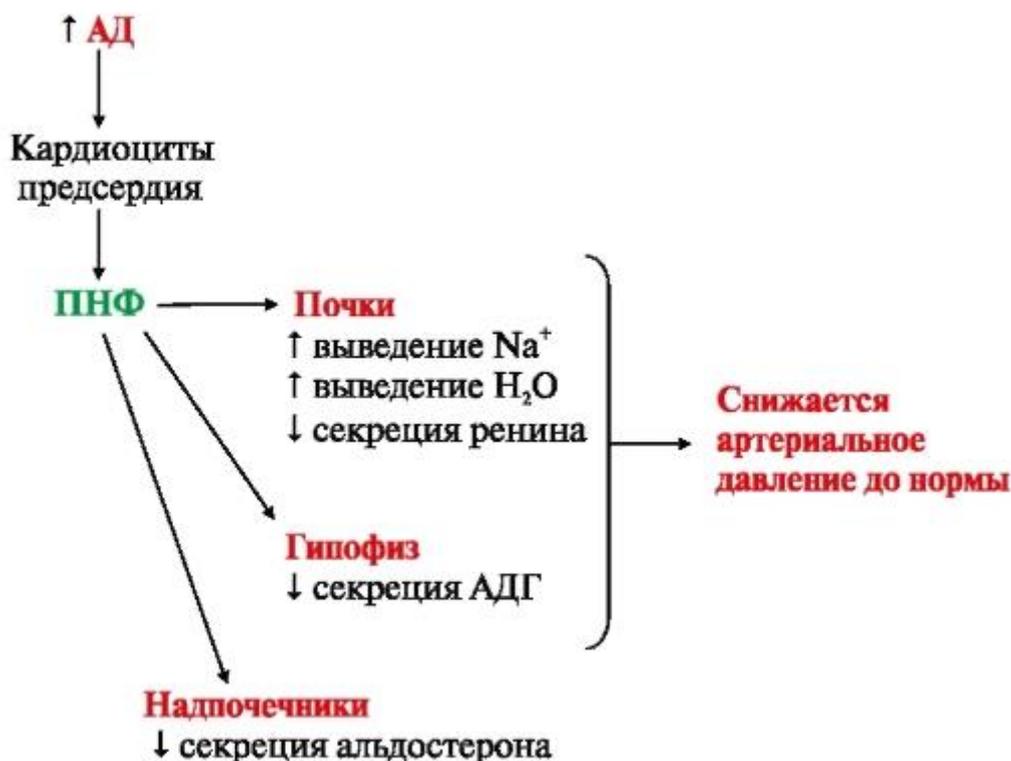


Рис. 10.25. Регуляция водно-солевого обмена ПНФ

Рецепторы гормона локализованы в мембранах клетокмишеней и являются каталитическими рецепторами. Присоединение гормона повышает гуанилатциклазную активность рецептора, возрастает уровень цГМФ, который активирует ПКГ (см. рис. 4.15). ПКГ фосфорилирует специфические белки, участвующие в реализации гормонального сигнала

10.6. НАРУШЕНИЯ ВОДНО-СОЛЕВОГО ОБМЕНА

Несахарный диабет

Основными симптомами несахарного диабета являются повышение объема выделяемой мочи, в тяжелых случаях до 20 л/с, ее низкая плотность (менее 1,010, норма 1,020) и компенсаторная жажда.

Различают две основные формы этого заболевания - нейрогенную и нефрогенную. Причинами нейрогенной формы являются повреждения гипоталамуса или гипофиза, генетические дефекты структуры пре-про-гормона АДГ, нарушения посттрансляционных модификаций гормона, т.е. образования из пре-про-гормона вазопрессина. Причинами нефрогенной формы являются нарушения структуры рецептора АДГ ($R_{адг}$) или механизма передачи сигнала от рецептора в ядро.

Первичный гиперальдостеронизм (синдром Конна)

Заболевание вызвано гиперсекрецией альдостерона клетками коры надпочечников (рис. 10.26). В большинстве случаев причиной является гормонпродуцирующая опухоль надпочечников (аденома).

Почечная гипертензия

Причиной избыточной секреции ренина могут стать сужение (стеноз) почечной артерии и уменьшение давления в приносящей артериоле почечного клубочка. Стеноз может быть вызван опухолью в области одной из почечных артерий. Снижение давления на юктагломерулярные клетки является сигналом к секреции ренина в кровь. Активация системы ренин-ангиотен-зин-альдостерон в условиях, когда объем крови находится в норме, приводит к повышению артериального давления (гипертензии) (рис. 10.27). Для лечения почечной гипертензии назначают ингибиторы АПФ.



Рис. 10.26. Механизм развития гипертензии при гиперальдостеронизме

Повышенная секреция альдостерона приводит к избыточной задержке Na^+ (гипернатриемии) и потере K^+ (гипокалиемии). Возрастает осмотическое давление, это служит сигналом секреции АДГ, который активирует реабсорбцию воды в почках. Постоянная реабсорбция Na^+ и H_2O увеличивает объем жидкости в организме и повышает давление крови. Лечение ингибиторами АПФ неэффективно.



Рис. 10.27. Механизм развития гипертензии при стенозе почечной артерии

Ангиотензин II вызывает быстрое сужение сосудов и повышение артериального давления. Возросшее потребление воды, реабсорбция NaCl и

H₂O в почках увеличивают объем плазмы крови, что приводит к развитию еще более тяжелой клинической картины

10.7. РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА КАЛЬЦИЯ И ФОСФАТОВ

Неорганические элементы, необходимые организму человека, можно разделить на два класса: макроэлементы и микроэлементы. Макроэлементы, к которым относятся кальций, магний, натрий, калий, фосфор, сера и хлор, требуются организму в относительно больших количествах. На первом месте в перечисленном списке стоит вездесущий кальций, его содержание в организме составляет ~1,2 кг.

Кальций:

- служит структурным компонентом неорганического вещества минерализованных тканей;
- участвует в регуляции секреции гормонов и медиаторов;
- является кофактором многих ферментов и белков; в комплексе с кальмодулином регулирует активность кальций-кальмодулинзависимых ферментов;
- участвует в свёртывании крови;
- является посредником в передаче сигнала ряда гормонов, медиаторов и других сигнальных молекул.

99% кальция и 87% фосфора находится в составе минерализованных тканей (кости, эмаль, дентин, цемент) в форме гидроксиапатита кальция Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ (ГАП). Всего 1% кальция находится в жидкостях организма, он может быть связан с цитратом, белками или другими молекулами. Между фондом кальция минерализованных тканей и жидкостей организма идет постоянный обмен. Обмен кальция и фосфатов регулируют паратгормон (ПТГ), кальцитриол и кальцитонин.

Основная задача этих гормонов - поддержание концентрации кальция в крови в норме - 9-11 мг/дл (2,12-2,6 ммоль/л) (рис. 10.28).



Рис. 10.28. Поддержание концентрации кальция в крови в норме

Паратгормон

ПТГ синтезируется в паращитовидных железах в виде пре-про-гормона (рис. 10.29).

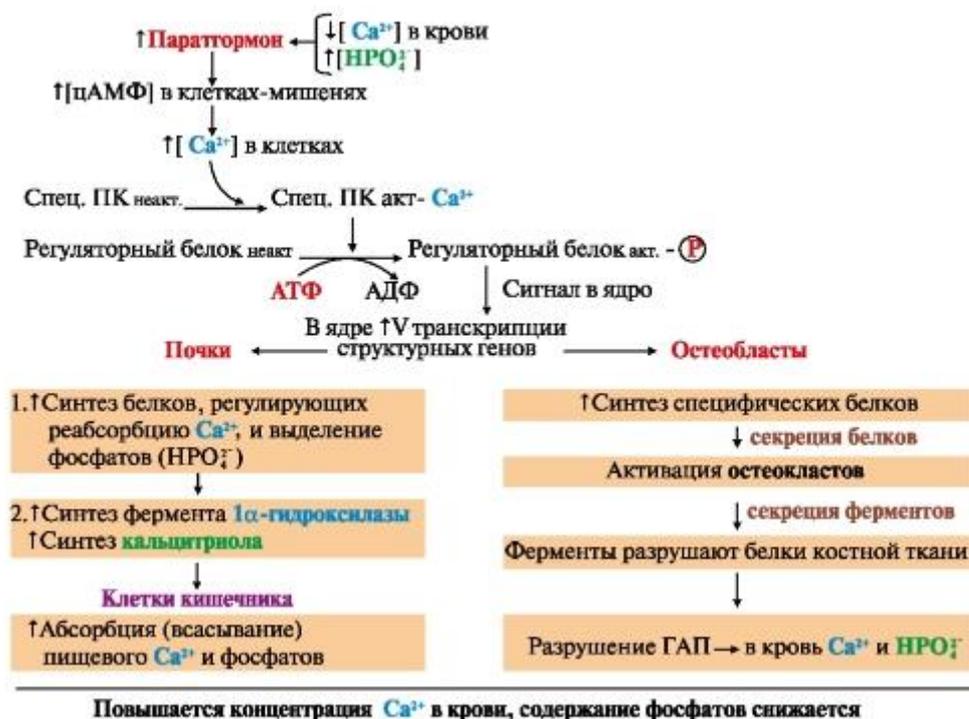


Рис. 10.29. Регуляция обмена Ca^{2+} и фосфатов ПТГ

В ходе посттрансляционной модификации - отщепления части пептидной цепи - он превращается в гормон, пептидная цепь которого включает 84 аминокислотных остатка. Сигналом к секреции ПТГ в кровь являются снижение концентрации Ca^{2+} и повышение уровня HPO_4^{2-} в крови. Гормон имеет мембранные рецепторы, входящие в состав аденилатциклазной системы. Основные органы-мишени - кости и почки. В клетках-мишенях гормон повышает уровень цАМФ, который стимулирует выход кальция из органелл клетки.

Ионы кальция активируют Ca^{2+} -зависимую протеинкиназу, которая фосфорилирует регуляторные белки цитозоля клеток. Перенося сигнал в ядро, они индуцируют транскрипцию определенных генов. В результате образуются белки, обеспечивающие повышение концентрации Ca^{2+} в крови. Так остеобласты секретируют белки, которые связываются рецепторами остеокластов. Ответом на полученный сигнал будет секреция ферментов, катализирующих гидролиз структурных белков матрикса. Протеолиз коллагена минерализованной ткани приводит к разрушению гидроксиапатитов и вымыванию Ca^{2+} и фосфатов в кровь. В мембраны клеток дистальных канальцев почек встраиваются белки и осуществляют реабсорбцию Ca^{2+} , при этом содержание фосфатов в первичной моче повышается.

Одним из белков, количество которого при действии гормона на почки возрастает, является 1 α -гидроксилаза. Этот фермент катализирует ключевую реакцию синтеза кальцитриола, который усиливает абсорбцию Ca^{2+} и фосфатов в кишечнике.

Кальцитриол

Кальцитриол является стероидным гормоном, он образуется из витамина D_3 (холекальциферола), который поступает с пищей и может синтезироваться в коже из холестерина под действием УФО (рис. 10.30). Реакции превращения D_3 в гормон протекают в печени и почках. ПТГ индуцирует синтез ключевого фермента процесса - 1 α -гидроксилазу почек и ускоряет синтез и секрецию гормона в кровь. Поэтому можно сказать, что сигналом на секрецию гормона в кровь является снижение концентрации кальция в крови.

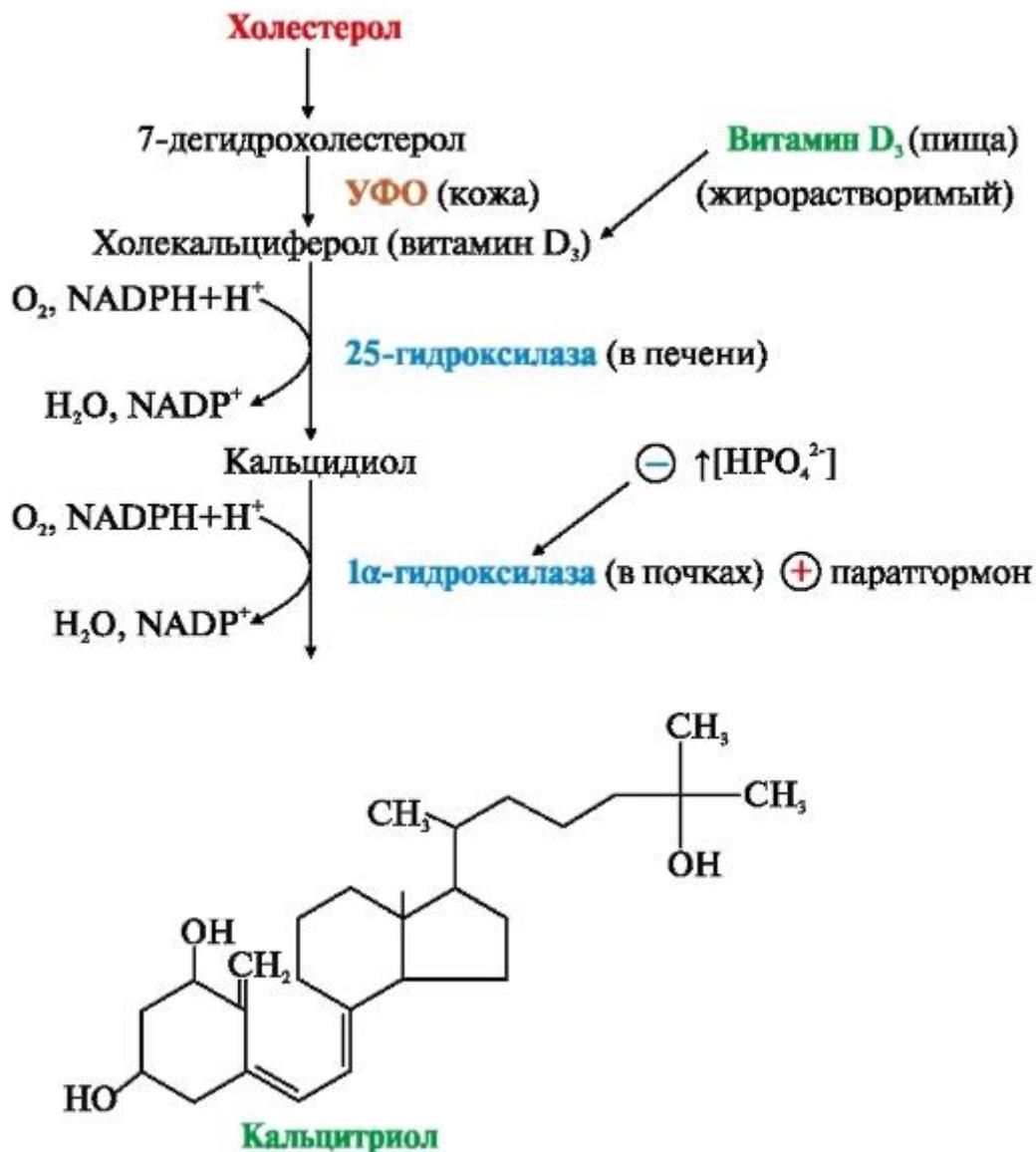


Рис. 10.30. Синтез кальцитриола

Как и все стероидные гормоны, кальцитриол проходит через мембраны клеток-мишеней и взаимодействует с внутриклеточными рецепторами. Образованный комплекс присоединяется к регуляторным зонам ДНК и активирует транскрипцию структурных генов. В энтероцитах, остеобластах, эпителиальных клетках канальцев нефрона повышается количество индуцированных гормоном белков (рис. 10.31).

Кальцитонин

Кальцитонин образуется в С-клетках паращитовидных желез, К-клетках щитовидной железы и представляет собой пептид из 32 аминокислотных остатков. Сигналом к секреции является повышение концентрации Ca²⁺ в крови. Рецепторы гормона являются интегральными белками цитоплазматических мембран клеток-мишеней. Кальцитонин передает

сигнал посредством аденилатциклазной системы, гормон снижает активность остеокластов и подавляет реабсорбцию Ca^{2+} из почечных канальцев (рис. 10.32).



Рис. 10.31. Регуляция обмена Ca^{2+} и фосфатов кальцитриолом



Рис. 10.32. Регуляция обмена Ca^{2+} и фосфатов кальцитонином

10.8. ГИПО- И ГИПЕРКАЛЬЦИЕМИЯ

Гипопаратиреоз

Причиной гипокальциемии является снижение секреции ПТГ или нарушение передачи сигнала гормона. Гипопаратиреоз может быть вызван врожденным недоразвитием, удалением и аутоиммунной деструкцией паращитовидных желез.

Гипокальциемии могут наблюдаться и при нормальной концентрации ПТГ в крови, так как в этом случае причиной являются нарушение структуры рецептора или их аутоиммунная деструкция.

У больных снижается мобилизация кальция и фосфатов из костной ткани, наблюдаются уменьшение реабсорбции кальция и задержка фосфатов в дистальных канальцах почек. Синтез кальцитриола замедляется, и развиваются гипокальциемия и гиперфосфатемия (рис. 10.33).

При недостатке ПТГ или нарушении трансдукции его сигнала в крови изменяются соотношения кальций/фосфат и натрий/калий.

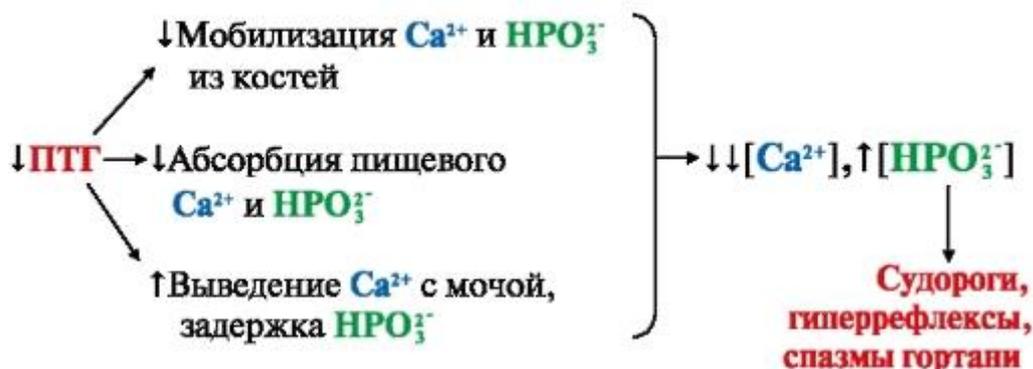


Рис. 10.33. Гипокальциемия и гиперфосфатемия при гипопаратиреозе

Это вызывает нарушение проницаемости клеточных мембран нервных клеток и процессов поляризации в области синапсов. В результате повышения нервно-мышечной возбудимости возрастает судорожная активность.

Возникают изменения зубочелюстной системы: у детей - нарушения формирования зубов, у больных всех возрастных групп - кариес и дефекты эмали.

Гиперпаратиреозы

Гиперпаратиреоз может быть вызван гормонпродуцирующей опухолью паращитовидных желез или нарушением выработки кальцитриола (почечная форма). При гиперфункциональной аденоме избыток секреции гормона приводит к активации синтеза кальцитриола, вымыванию кальция и фосфатов из костной ткани, повышенной реабсорбции кальция в почках и абсорбции в кишечнике (рис. 10.34). На ранних стадиях заболевания у больных наблюдаются расшатывание и выпадение зубов, это объясняется остеопорозом костной ткани и деструкцией альвеолы.

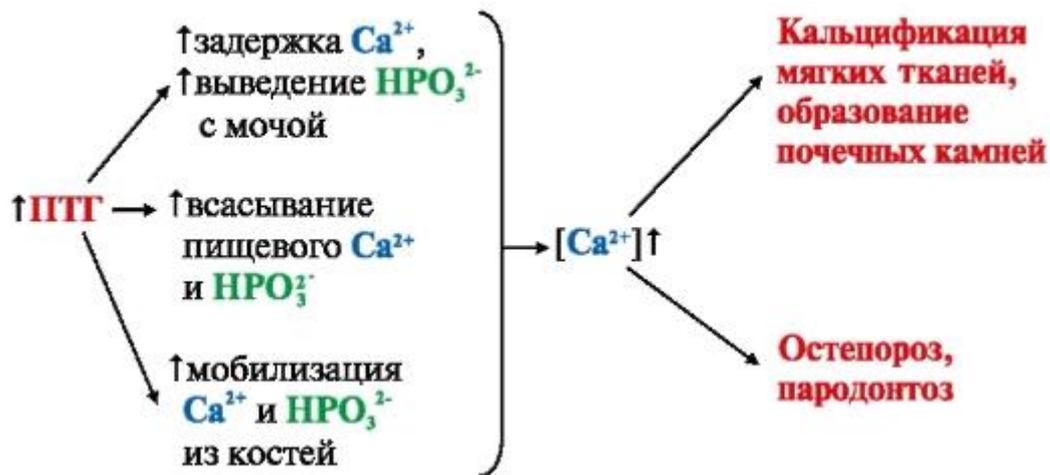


Рис. 10.34. Гиперкальциемия и осложнения при гиперпаратиреозе

Рахит

При недостаточности кальцитриола или нарушении передачи его сигнала клеткам-мишеням у детей развивается рахит. У больных наблюдаются нарушение минерализации растущей костной ткани (остеомалация), замедленное прорезывание зубов. Недостаток кальцитриола может быть вызван дефицитом витамина D₃ в пище, нарушением всасывания жирорастворимых витаминов А, D₃, Е, К (при стеаторее), недостатком УФО (инсоляция), снижением активности 1α-гидроксилазы почек. Снижение синтеза и секреции кальцитриола нарушает усвоение пищевого кальция и фосфатов. Для ребенка, костная ткань которого находится в состоянии постоянного роста, потеря этого источника Ca²⁺ приведет к замедлению процесса формирования гидроксиапатитов. Усугубляет ситуацию ПТГ, секреция которого возрастает (рис. 10.35). Активируются остеокласты, еще больше замедляющие процесс минерализации, что вызывает различные деформации скелета. Основными методами лечения рахита являются введение витамина D₃, сеансы УФО, молочное питание или применение препаратов, содержащих кальций.



Рис. 10.35. Механизм развития рахита

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выберите правильный ответ. Альдостерон:

А. Стимулирует сужение сосудов. Б. Образуется из тирозина.

В. В клетках-мишенях активирует аденилатциклазу.

Г. Синтезируется в мозговом веществе

надпочечников. Д. Вызывает задержку ионов натрия в

почках.

2. Выберите правильные ответы. Гиперпродукция альдостерона может быть вызвана:

А. Избыточным потреблением жидкости. Б. Снижением секреции АДГ.

В. Увеличением секреции ренина. Г. Аденомой коры надпочечников. Д. Гипертензией.

3. Выберите правильный ответ.

При гиперальдостеронизме наблюдается:

А. Гипертензия.

Б. Избыточная задержка NH_3 .

В. Полиурия.

Г. Повышенная реабсорбция Ca^{2+} . Д. Уменьшение объема внеклеточной жидкости.

4. Установите соответствие.

А. Сопровождается повышением концентрации кетоновых тел в крови.

Б. Приводит к нарушению синтеза мочевины в печени.

В. Вызван снижением секреции вазопрессина.

Г. Наблюдается при нарушении обмена

Ca^{2+} и HPO_4^{2-} .

Д. Может быть результатом гиперпродукции АКТГ.

1. Сахарный диабет.

2. Стероидный диабет.

3. Несахарный диабет.

5. Заполните табл. 10.1.

Таблица 10.1

Влияние гормонов на процесс абсорбции, реабсорбции и мобилизации Ca^{2+} и HPO_4^{2-} в тканях-мишенях

Ткань	Паратгормон ($\uparrow\downarrow$) ПТГ	Кальцитонин ($\uparrow\downarrow$)	Кальцитриол ($\uparrow\downarrow$)
Кость			
Почки			
Кишечник			

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. У больных, страдающих хроническим заболеванием почек, наблюдаются расшатывание и выпадение зубов.

Завершите схему (рис. 10.36), отражающую нарушения гормонального статуса обмена кальция и фосфатов, приводящие к данному симптомокомплексу.

2. В терапевтическое отделение поступил пациент с жалобами на слабость и диарею в течение дня. На основании проведенных анализов поставлен диагноз холеры. Известно, что в клетках кишечника холерный токсин, вырабатываемый возбудителем холеры, модифицирует α_8 -субъединицу G_8 -белка (см. рис. 4.17). Это приводит к длительной активации аденилатциклазы, повышению синтеза молекул цАМФ, которые в этих

клетках регулируют работу мембранных переносчиков Na^+/Cl^- и $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ (рис. 10.37).

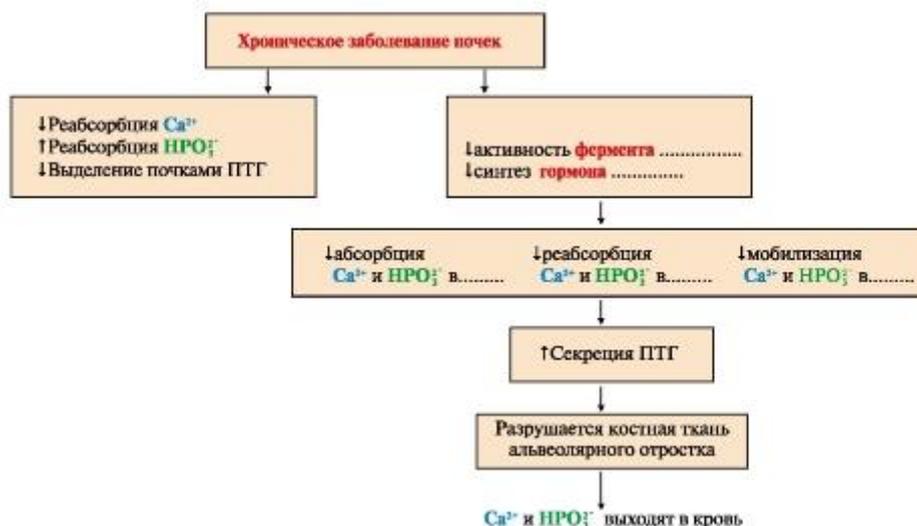


Рис. 10.36. Нарушение гормонального статуса и обмена кальция и фосфатов при хроническом заболевании почек

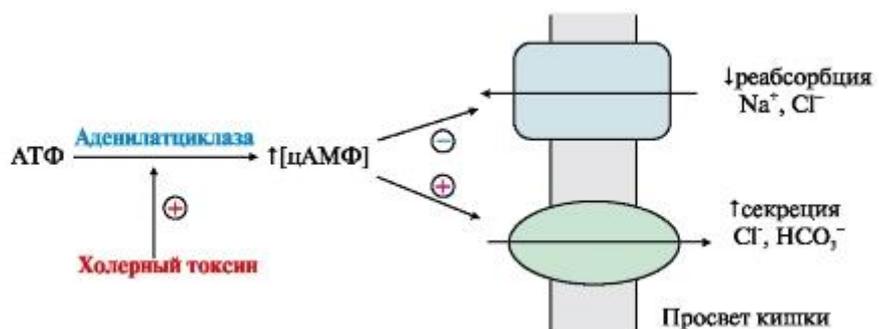


Рис. 10.37. Механизм действия холерного токсина

Секреция и снижение всасывания большого количества ионов стимулируют интенсивный приток H_2O в кишечник. И если объем суточной секреции всех пищеварительных желез в норме составляет 8 л, то при холере организм больного теряет примерно в 10 раз больше жидкости. Какая система регуляции водно-солевого обмена должна активироваться у больного? Для ответа на вопрос:

- представьте схему восстановления объема жидкости в организме;
- опишите все этапы функционирования этой системы;
- назовите гормоны, поддерживающие водносолевой баланс в организме человека;
- опишите механизм действия и эффекты этих гормонов.

3. Молодой человек на празднике пива в Лужниках выпил несколько литров пива, как он сам говорит, то ли 6 л, то ли 8 л. На закуску шла сушеная соленая рыба. Проведенная после праздника ночь была очень беспокойной, у него наблюдался повышенный диурез. Объясните механизмы нормализации водного баланса у юноши. Для этого:

- а) укажите, уровень какого гормона, участвующего в регуляции водно-солевого обмена, повышен у него в крови после праздника в Лужниках;
- б) нарисуйте схему передачи сигнала этого гормона клеткам-мишеням;
- в) опишите механизм его влияния на поддержание оптимального объема и осмотического давления плазмы крови и межклеточной жидкости.

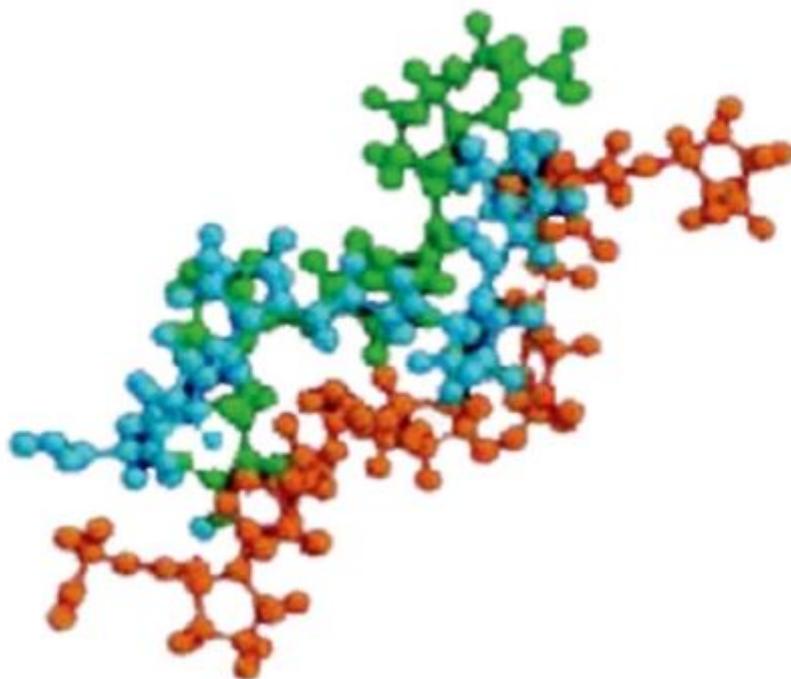
4. В стоматологическую клинику обратилась пациентка по поводу появляющихся дефектов эмали и прогрессирующего кариеса. В процессе сбора анамнеза врач выяснил, что в прошлом году она перенесла операцию по удалению паращитовидных желез. Проведенный анализ показал снижение соотношения кальций/фосфат в крови больной. Врач рекомендовал витамин D₃ и диету, богатую солями кальция. Объясните причину изменения этого показателя крови и обоснованность рекомендации врача. Для этого:

- а) назовите гормон, уровень которого снижен у больной после операции; опишите роль этого гормона в регуляции обмена кальция и фосфатов;
- б) представьте схему, объясняющую роль витамина D₃ в обмене Ca²⁺;
- в) опишите как назначенное лечение и диета должны улучшить состояние пациентки.

5. Женщине в период беременности врач назначил препарат «Кальций Адванс», содержащий витамин D₃, магний и др. Объясните, почему врач назначил беременной этот препарат. Для ответа на вопросы укажите:

- а) причины повышения потребности в кальции при беременности;
- б) гормоны, обеспечивающие поддержание уровня Ca²⁺ в крови;
- в) за счет каких источников эти гормоны обеспечивают поддержание концентрации кальция в крови в норме;
- г) почему необходимым компонентом препарата, назначенного беременной, является витамин D₃ и магний.

РАЗДЕЛ 11. БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ



Основные темы раздела:

- 11.1. Гликозамингликаны.
- 11.2. Коллагены.
- 11.3. Эластин.
- 11.4. Адгезивные белки.
- 11.5. Минерализованная соединительная ткань.
- 11.6. Минеральный состав и строение апатитов в твердых тканях.
- 11.7. Органические вещества минерализованных тканей.
- 11.8. Ремоделирование костной ткани.
- 11.9. Регуляция ремоделирования, роста и развития костной ткани.
- 11.10. Маркеры метаболизма костной ткани.
- 11.11. Особенности строения и метаболизма тканей зуба.

Ткани организма человека состоят не только из клеток. Часть их объема занимает внеклеточное пространство, заполненное сложной сетью макромолекул, составляющих внеклеточный(межклеточный) матрикс. В состав матрикса входят разнообразные полисахариды и белки, которые

самопроизвольно организуются в упорядоченную структуру. Ткань, в которой внеклеточный матрикс занимает значительно больший объем, чем клетки, называется соединительной тканью (рис. 11.1).

У человека соединительная ткань обеспечивает:

- активный обмен метаболитами и ионами между кровью и тканями;
- формирование структуры органов и тканей в эмбриогенезе и постнатальном периоде;
- подвижность трущихся поверхностей суставов, так как она образует покрывающий их хрящ;
- защиту от внешних воздействий, регулируя функциональное состояние фагоцитов и клеток иммунной системы;
- регенерацию и замещение дефектов путем стимулирования функциональной активности и пролиферации клеток ткани

Доля соединительной ткани в разных органах различна; в коже, костях она является основным компонентом. Существуют различия в количественном соотношении разных типов макромолекул и способе их организации во внеклеточном матриксе разных органов. Это способствует образованию разнообразных форм матрикса, которые обеспечивают функциональные потребности определенной ткани. Соединительная ткань может быть минерализованной, образовывать твердые как камень структуры кости или зуба, может формировать прозрачное вещество роговицы глаза или принимать форму каната, придавая сухожилиям огромную прочность на разрыв.

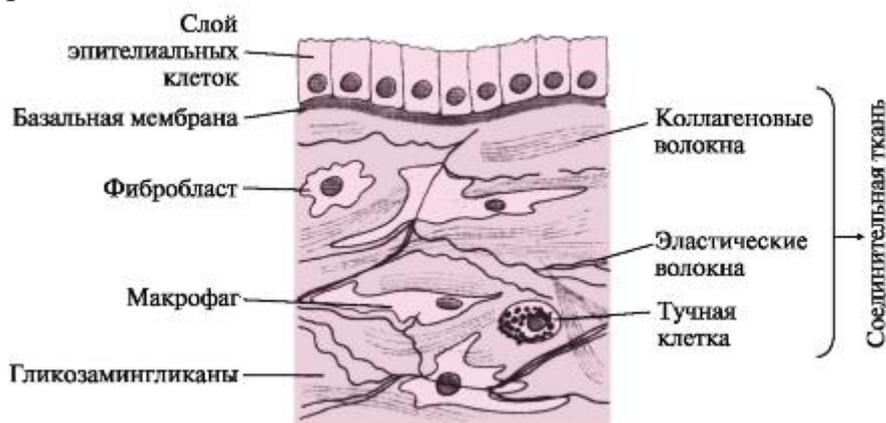


Рис. 11.1. Организация: внеклеточный матрикс-базальная мембрана-эпителий

Соединительная ткань контактирует со слоем эпителиальных клеток. На границе между эпителием и внеклеточным матриксом присутствует базальная мембрана - очень тонкая плотная пленка.

Макромолекулы внеклеточного матрикса в основном синтезируются и секретируются находящимися в нем клетками. В большинстве типов соединительных тканей в этих процессах участвуют главным образом фибробласты. В некоторых специализированных тканях, таких, как хрящ и кость, эту функцию выполняют другие клетки, например хрящ образуют хондробласты, а кость - остеобласты.

Внеклеточный матрикс неминерализованной соединительной ткани образуют макромолекулы двух основных классов: полисахариды - гликозамингликаны (ГАГ), присутствующие как в свободном состоянии, так и ковалентно присоединенные к белку; фибриллярные белки двух типов - структурные коллаген и эластин и адгезивные фибронектин, ламинин, нидоген.

Молекулы ГАГ и протеогликанов образуют гидратированную гелеподобную среду, в которую погружены фибриллярные белки. Водная фаза полисахаридного геля способствует диффузии питательных веществ, метаболитов и гормонов между кровью и клетками ткани. Коллагеновые волокна организуют порядок и укрепляют матрикс, а резиноподобные эластические структуры придают ему упругость. Адгезивные белки, взаимодействуя с клетками, коллагеном и ГАГ, обеспечивают интеграцию компонентов матрикса.

11.1. ГЛИКОЗАМИНГЛИКАНЫ

ГАГ - это длинные неразветвленные полисахаридные цепи, состоящие из повторяющихся дисахаридных звеньев $-[A-B]_n-$ (табл. 11.1). Их называют ГАГ потому, что один из двух остатков в дисахариде - всегда аминсахар N-ацетилглюкозамин или N-ацетилгалактозамин. У многих ГАГ один остаток аминсахара сульфатирован, другой представляет собой глюконовую кислоту. Наличие у многих сахарных остатков сульфатных или карбоксильных групп придает ГАГ большой отрицательный заряд. Все сахара синтезируются из глюкозы. В зависимости от строения углеводных остатков, характера связей между ними, а также числа и положения сульфатных групп различают 4 главные группы ГАГ: гиалуроновую кислоту, хондроитинсульфат и дерматансульфат, гепарансульфат и гепарин, кератансульфат.

Синтез гликозамингликанов

Все ГАГ, за исключение гиалуроновой кислоты, связаны с белком и образуют протеогликаны. Белковая часть этих соединений очень мала и составляет не более 5%. Полипептидные цепи (коровый белок) протеогликанов синтезируются на рибосомах ЭР, а ГАГ образуются главным образом в аппарате Гольджи. Предшествует синтезу полисахарида присоединение к остатку серина в белке специального линкерного трисахарида (-ксилозагалактоза-галактоза-), выполняющего роль затравки для роста ГАГ (рис. 11.2). Остальная часть цепи ГАГ, построенная из повторяющихся дисахаридных единиц (А и В), синтезируется путем последовательного присоединения углеводных остатков (рис. 11.3). Синтез гиалуроновой кислоты катализируют гиалуронатсинтетазы, связанные с внутренней поверхностью плазматической мембраны. По мере удлинения полимерной цепи гиалуроновая кислота выводится через мембрану на наружную поверхность. Вне клетки гиалуроновая кислота может взаимодействовать с гиалуронат-связывающими белками и участвовать в образовании агрекана.

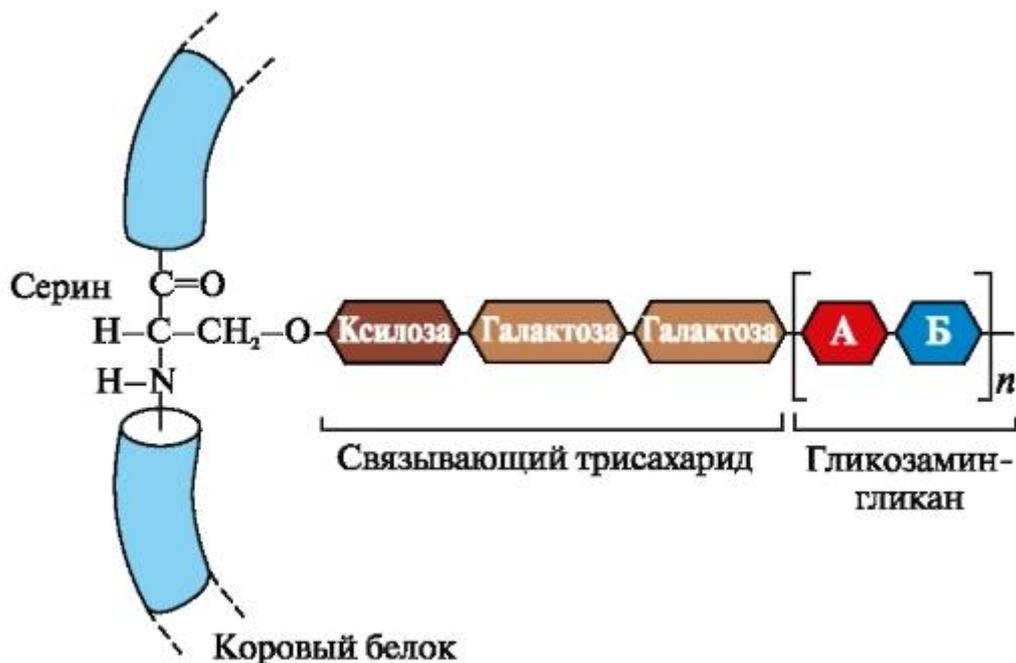


Рис. 11.2. Связь линкерного участка ГАГ с серином корового белка

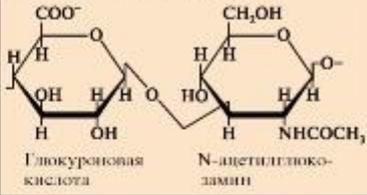
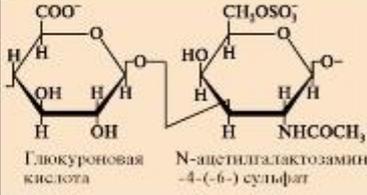
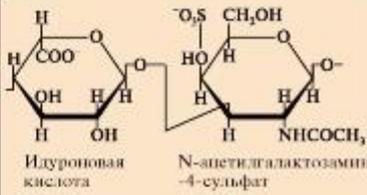
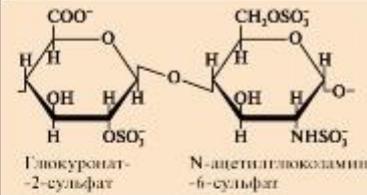
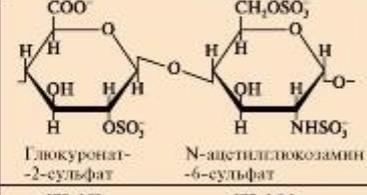
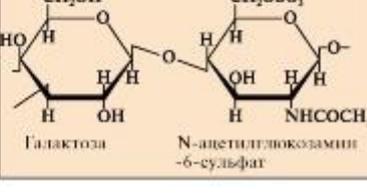
Каждую реакцию построения линкерного трисахарида и дальнейший рост цепи катализируют специфические гликозилтрансферазы. Сахара, участвующие в процессе, предварительно активируются:

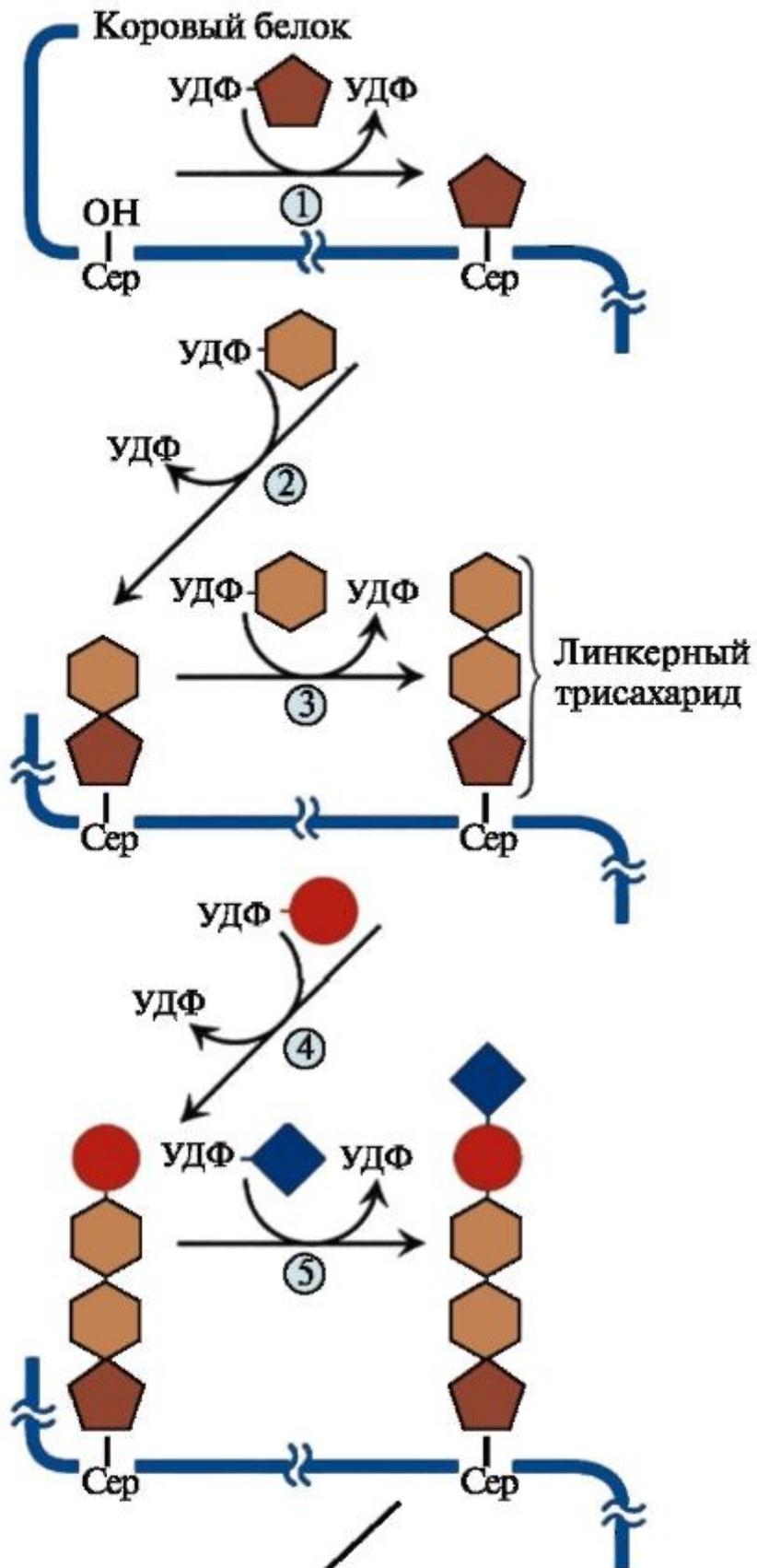


Реакция заключается в присоединении молекулы УМФ к фосфорилированному моносахариду (подобная реакция протекает в ходе синтеза гликогена).

Таблица 11.1

Структура и распространение гликозамингликанов в организме

Группа	Гликоз-амингликан	Мол. масса	Дисахаридная единица -[А-В]-	Наличие -SO ₃ ⁻	Связь с белком	Распределение в организме
1	Гиадурионовая кислота	4000-8·10 ⁴	 <p>Глюкуроновая кислота N-ацетилглюкозамин</p>	-	-	Синовиальная и глазная жидкость, стекловидное тело, хрящ
2	Хондроитин-сульфат	5000-50000	 <p>Глюкуроновая кислота N-ацетилгалактозамин-4-(6-) сульфат</p>	+	+	Хрящ, роговица, кости, кожа, артерии
	Дерматан-сульфат	15000-40000	 <p>Идурионовая кислота N-ацетилгалактозамин-4-сульфат</p>	+	+	Кожа, кровеносные сосуды, сердце, сердечные клапаны
3	Гепаран-сульфат	5000-12000	 <p>Глюкуронат-2-сульфат N-ацетилглюкозамин-6-сульфат</p>	+	+	Легкие, артерии, поверхность клеток, базальные мембраны
	Гепарин	6000-25000	 <p>Глюкуронат-2-сульфат N-ацетилглюкозамин-6-сульфат</p>	+	+	Легкие, петени, кожа, тучные клетки
4	Кератан-сульфат	4000-19000	 <p>Галактоза N-ацетилглюкозамин-6-сульфат</p>	+	+	Хрящ, роговица, межпозвоночные диски



Этапы 4 и 5 повторяются пока синтез цепи не будет завершен



Рис. 11.3. Синтез хондроитинсульфата

По мере удлинения цепи многие углеводные остатки модифицируются путем сульфатирования и эпимеризации (перемещение функциональных групп в молекуле сахара). Источником $-SO_3^-$ -групп является соединение 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат (ФАФС). Присоединение сульфатных групп значительно увеличивает отрицательный заряд протеогликанов

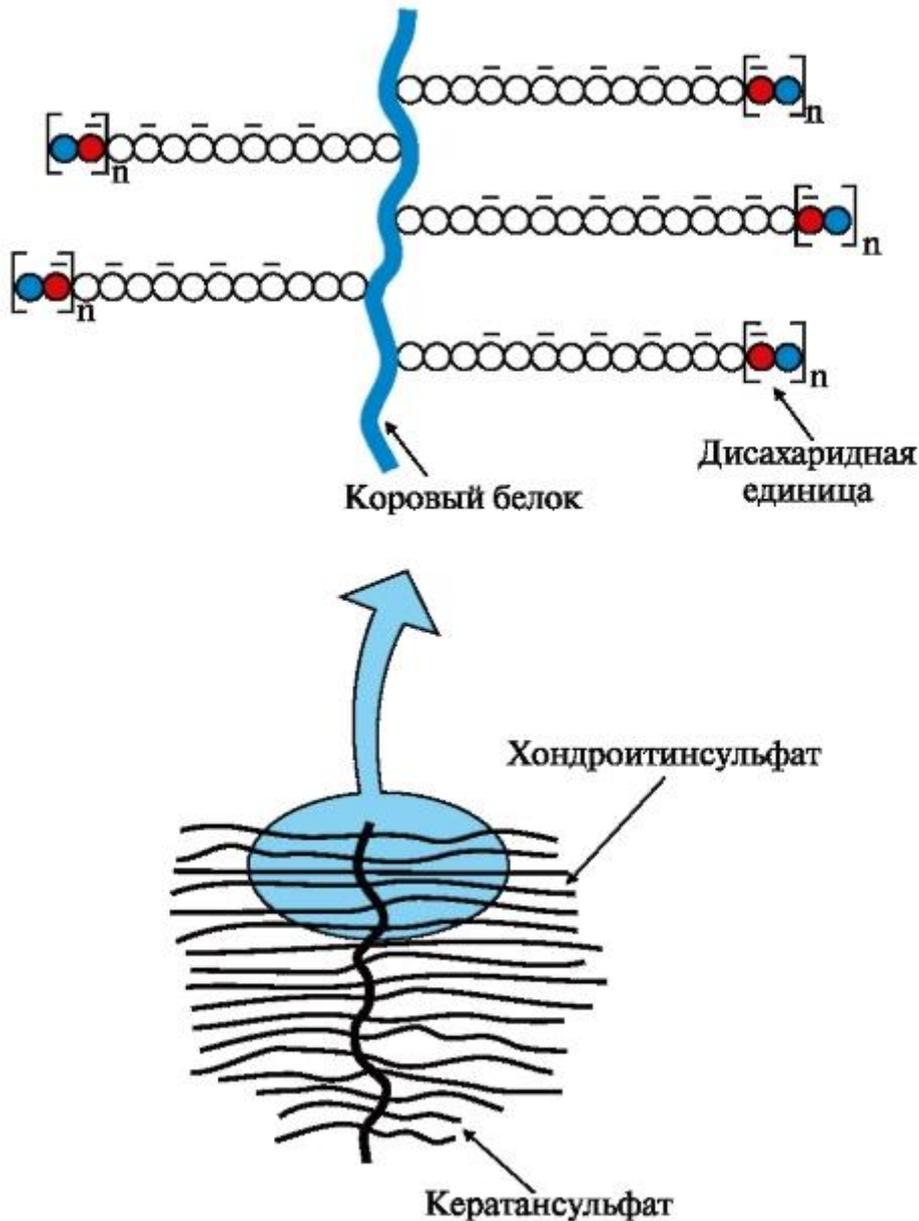


Рис. 11.4. Структура протеогликана «ершик для мытья бутылок»

По завершении синтеза вся молекула протеогликана выходит из клетки. Синтезированные молекулы могут существенно различаться по содержанию белка, длине, числу и типу гликозамингликановых цепей в молекуле. Длина и состав цепей ГАГ могут сильно варьировать, так же как и пространственное

расположение гидроксильных, сульфатных и карбоксильных групп вдоль цепи (рис. 11.4).

В межклеточном пространстве протеогликаны могут образовывать гигантские агрегаты с участием гиалуроновой кислоты, например агрекан (рис. 11.5).

Благодаря высокой плотности отрицательных зарядов полисахаридные цепи связывают множество осмотически активных ионов: Na^+ , Ca^{2+} , K^+ . Высокая концентрация ионов удерживает воду во внеклеточном матриксе, вызывая разбухание и загустевание матрикса. Например, молекула гиалуроновой кислоты может связывать от 200 до 500 молекул воды. Особая структура и способность к гидратации внеклеточного матрикса определяют степень жесткости в сочетании с эластичностью и упругостью.

Комплексы из протеогликанов и коллагенов в позвоночных и суставных дисках повышают

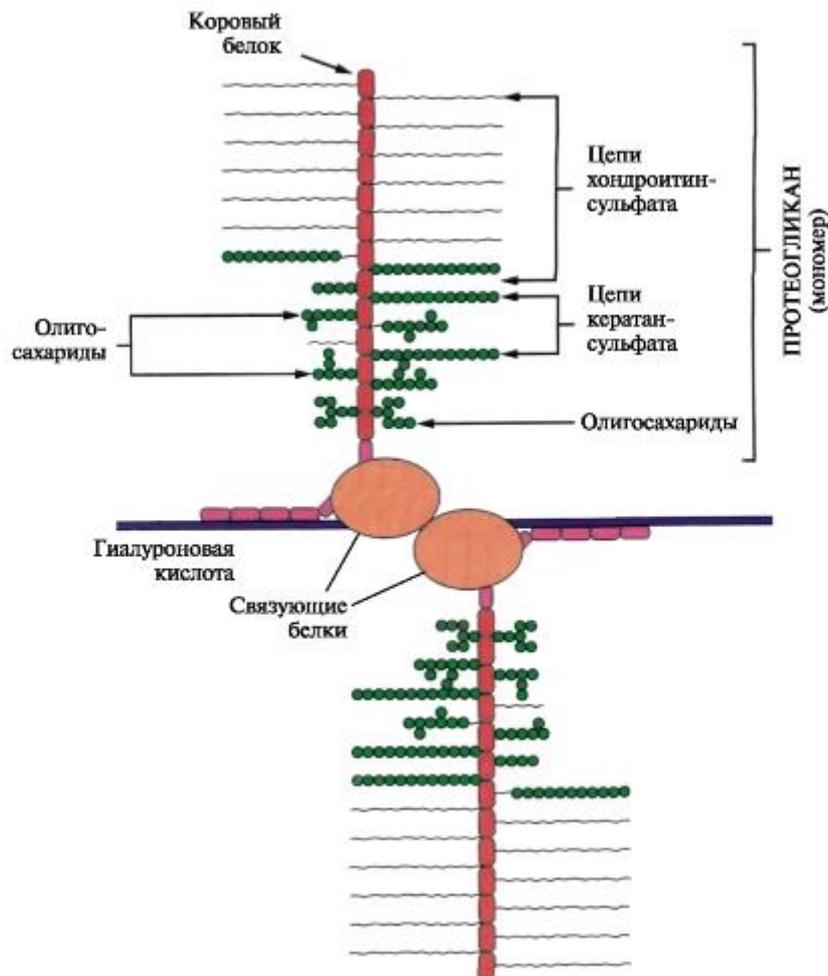


Рис. 11.5. Строение агрекана хрящевого матрикса

Образованная структура может включать более сотни протеогликановых мономеров, нековалентно присоединенных к одной молекуле гиалуроновой кислоты. Комплекс стабилизируют связующие белки, которые одновременно соединены как с коровым белком протеогликана, так и с цепью гиалуроновой кислоты. Мол. масса такого образования может превышать 10^8 Д и занимать объем, равный объему бактериальной клетки. Такой сложный по строению протеогликан, как агрекан, является основным структурным элементом хрящевого матрикса, содержит около 100 цепей хондроитинсульфата и около 60 цепей кератансульфата.

их устойчивость к ударам, смягчая трение, возникающее между костями. Эти диски сдавливаются в течение дня, восстанавливают эластичность ночью, но постепенно деформируются с возрастом (рис. 11.6).

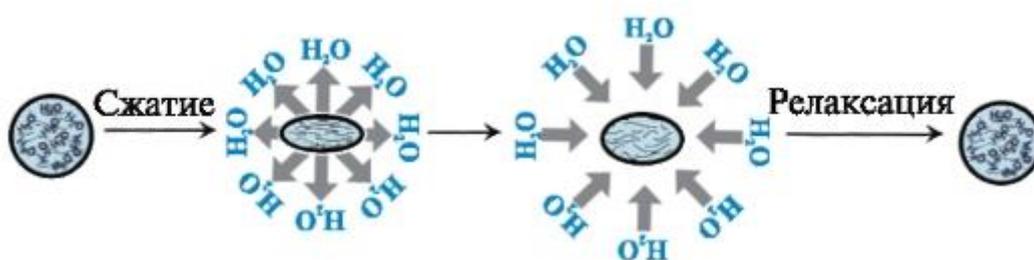


Рис. 11.6. Рессорная функция ГАГ

Катаболизм гликозамингликанов

Распад ГАГ и протеогликанов происходит в лизосомах. Белковые составляющие молекул гидролизуют лизосомные протеазы, а цепочки ГАГ последовательно расщепляют ряд кислых гликозидаз и сульфатаз. При отсутствии одного из ферментов, участвующих в катаболизме, весь процесс распада нарушается. Фрагменты молекул ГАГ накапливаются в лизосомах. Лизосомные болезни, являющиеся следствием накопления ГАГ, называются мукополисахаридозами (по первоначальному названию ГАГ - мукополисахариды).

11.2. КОЛЛАГЕНЫ

Коллагены - это семейство очень сходных белков с некоторыми различиями в зависимости от их тканевой локализации. Их синтезируют и секретируют главным образом клетки соединительной ткани, они составляют приблизительно 30% общего количества белка в организме человека.

Молекулы коллагенов имеют трехспиральную структуру, сформированную скручиванием 3 полипептидных цепей, названных α -цепями.

Аминокислотный состав α -цепей коллагена

Содержание аминокислот в каждой из цепей может варьировать от 600 до 3000. Цепь полипептида состоит из повторяющихся триплетов $-\text{[Гли-X-Y]}_n-$, где X и Y могут быть любыми аминокислотами, но чаще всего X - это пролин, а Y - гидроксипролин (рис. 11.7). Присутствие в каждом триплете глицина - аминокислоты, практически не имеющей радикала, обеспечивает плотность укладки 3 полипептидных цепей.

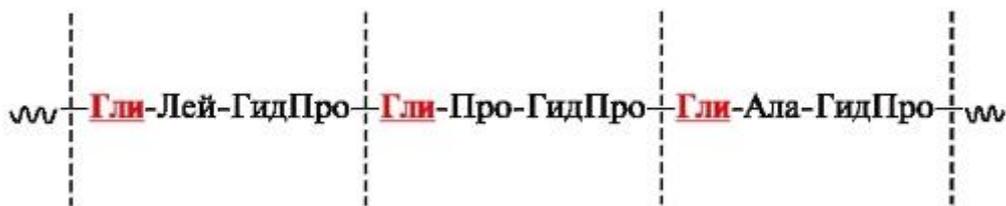


Рис.11.7. Аминокислотный состав фрагмента α_1 -цепи коллагена

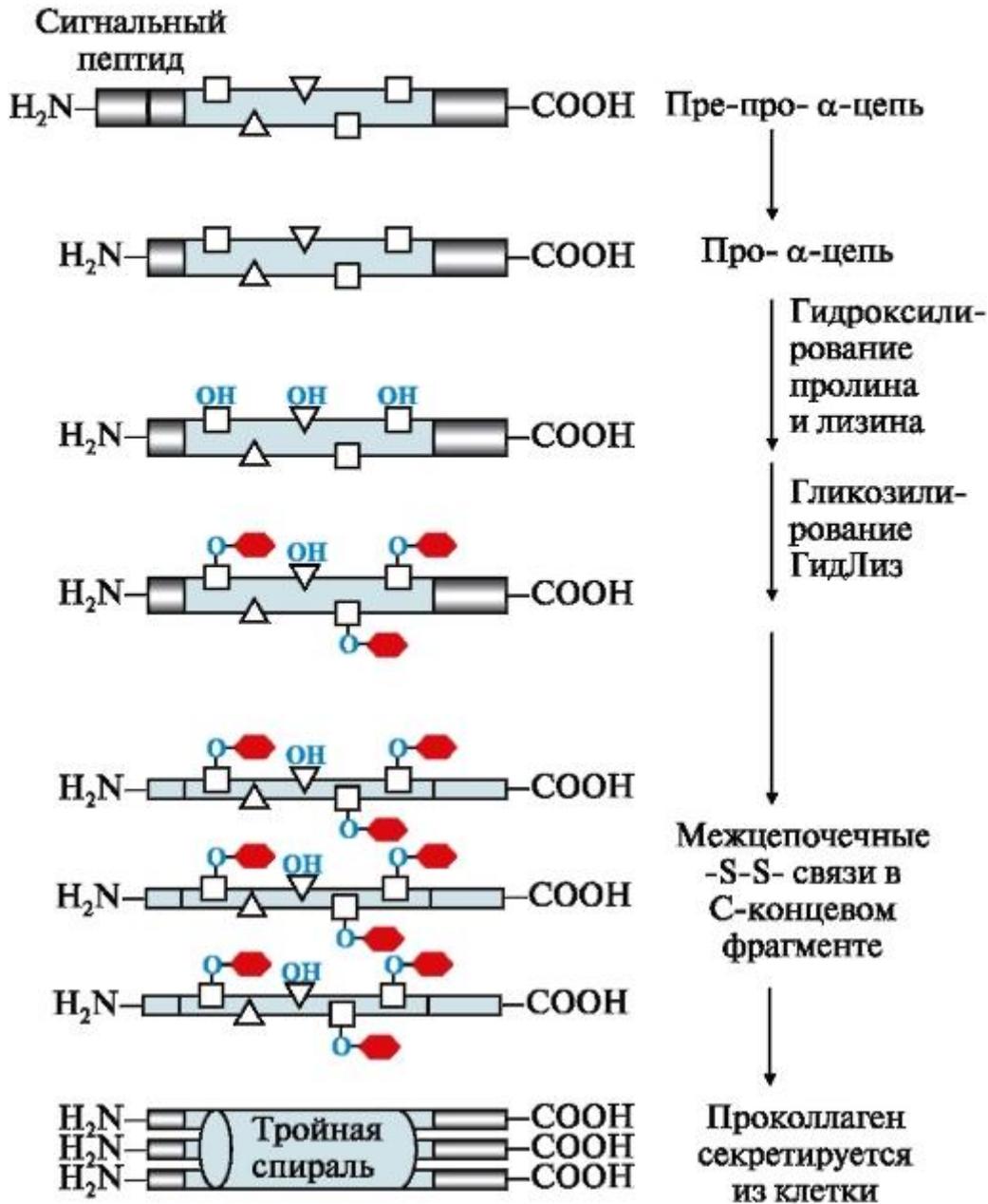
Коллаген содержит в основном заменимые аминокислоты, поэтому является неполноценным белком. Так, в полипептидной цепи нет триптофана и цистеина, очень мало метионина, тирозина и гистидина. Кроме гидроксипролина, присутствует другая нестандартная аминокислота - гидроксизин, эти производные образуются введением гидроксильной группы в аминокислотные остатки пролина и лизина.

Синтез и формирование фибрилл коллагена

Весь процесс от начала образования полипептидных молекул на рибосомах до формирования фибрилл протекает в два этапа. Первый происходит в фибробластах соединительной ткани и называется внутриклеточным этапом. Синтез белка идет на рибосомах, связанных с мембраной ЭР.

Одновременно образуются многие молекулы пре-про- α -цепей коллагена (рис. 11.8).

Внутриклеточные стадии синтеза коллагена



Внеклеточные стадии синтеза коллагена



Рис. 11.8. Модификации цепей коллагена и этапы формирования тропоколлагена

На N-конце растущей пре-про-α-цепи присутствует гидрофобный сигнальный пептид из 100 аминокислот, функция которого заключается в облегчении перемещения молекул белка в просвет ЭР. После отщепления сигнального пептида образуется про-α-цепь

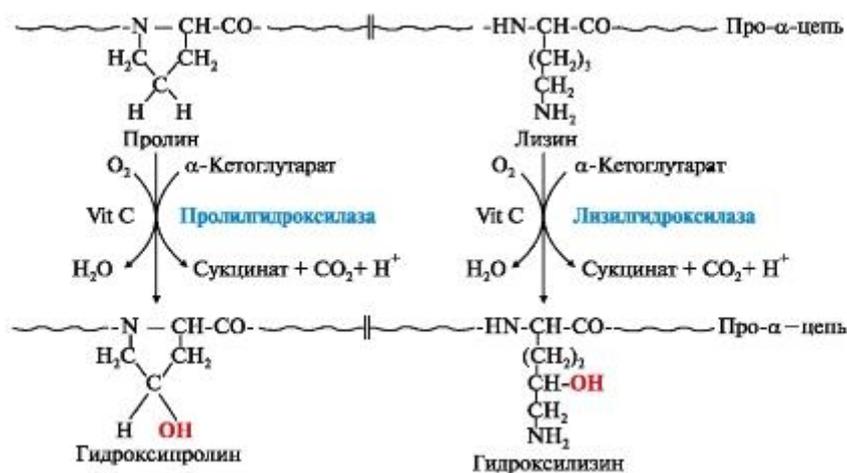


Рис. 11.9. Гидроксилирование аминокислотных остатков пролина и лизина молекул пре-про-коллагена в полости ЭР

Остатки гидроксипролина участвуют в образовании водородных связей, стабилизирующих трехспиральную структуру коллагена. Присутствующие в молекуле лизин и гидроксилизин необходимы для образования ковалентных связей при сборке коллагеновых фибрилл

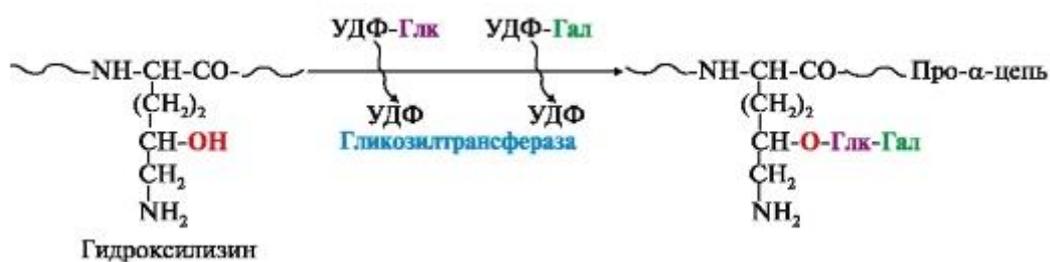


Рис. 11.10. Гликозилирование аминокислотных остатков гидроксилизина

В полости ЭР остатки пролина и лизина гидроксилируются с образованием гидроксипролина и гидроксилизина (рис. 11.9). Катализируют эти реакции железосодержащие (Fe^{2+})

ферменты пролилгидроксилаза и лизилгидроксилаза. Для поддержания восстановленной формы Fe^{2+} необходимо присутствие восстановителя аскорбиновой кислоты (витамина С).

Следующая посттрансляционная модификация радикалов - гликозилирование остатков гидроксизина - происходит одновременно с формированием трехспиральной структуры и прекращается по завершении спирализации. К ОН-группам радикала гидроксизина специфические гликозилтрансферазы могут присоединять остатки галактазы, галактозы и глюкозы и в С-концевых участках молекул остатки маннозы (рис. 11.10). Правильную ориентацию цепей относительно друг друга обеспечивают N- и С-концевые фрагменты про- α -цепей, имеющие глобулярную структуру и содержащие остатки цистеина.

Образование внутрицепочечных дисульфидных мостиков в N-концевом участке молекулы препятствует спирализации фрагмента из 100 аминокислотных остатков. Внутри- и межцепочечные дисульфидные связи в С-концевом фрагменте из 250 аминокислотных остатков обеспечивают правильную ориентацию про- α -цепей и в то же время мешают спирализации этого участка. Они также предотвращают образование крупных коллагеновых фибрилл в клетках, что приводило бы к нарушению функций этих клеток и всей соединительной ткани.

Структуры, состоящие из 3 про- α -цепей, включаются в секреторные гранулы и поступают во внеклеточное пространство. Первой модификацией внеклеточного этапа является частичный протеолиз N- и С-концевых неспирализованных фрагментов. Гидролиз пептидных связей сразу в 3 цепях катализируют специфические пептидазы. В результате образуется молекула тропоколлагена.

Тропоколлаген представляет собой палочкообразную молекулу. Три спирально навитые друг на друга полипептидные цепи имеют равную длину, в каждой из которых содержится около 1000 аминокислотных остатков.

Объединению тропоколлагена в микрофибриллы - фибрилlogenезу - предшествует еще одна модификация остатков лизина в составе трехспиральной молекулы. Внеклеточный Ca^{2+} -содержащий фермент лизилоксидаза катализирует реакции дезаминирования лизина и гидроксизина. Образуются аллизин (альдегид лизина) и гидроксиаллизин (альдегид гидроксизина), обладающие высокой реакционной способностью (рис. 11.11).

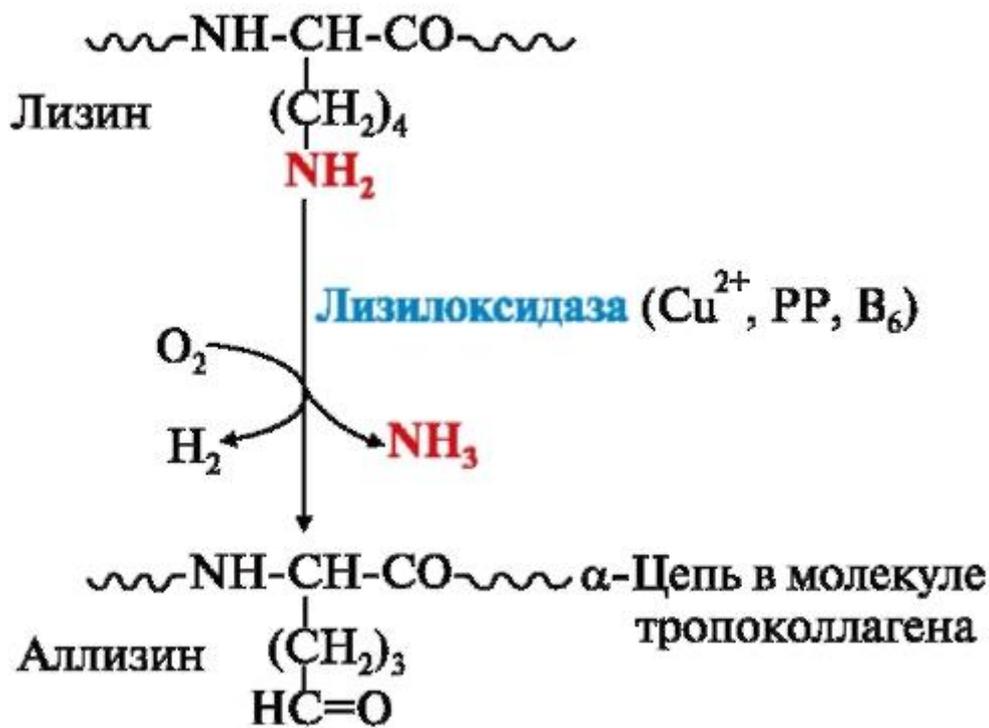


Рис. 11.11. Внеклеточная модификация радикалов лизина

Фибриллогенез

Образование коллагеновых микрофибрилл - самопроизвольный процесс. Молекулы тропоколлагена расположены параллельными рядами (рис. 11.12).

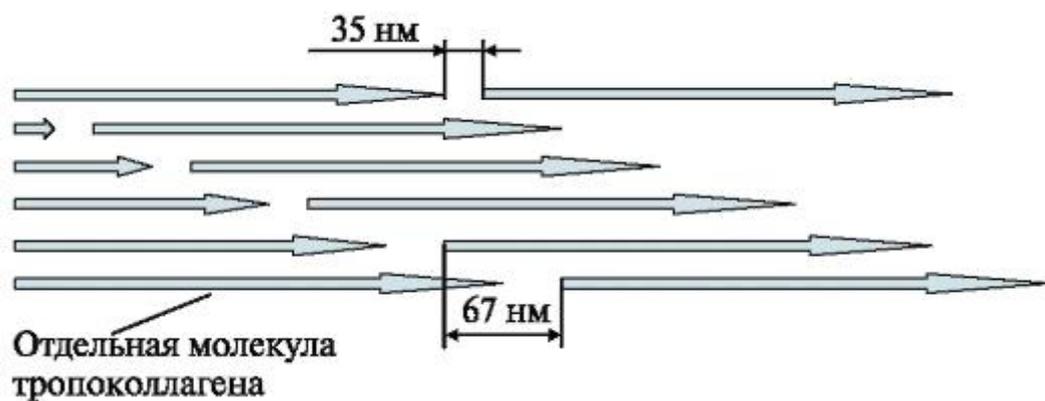
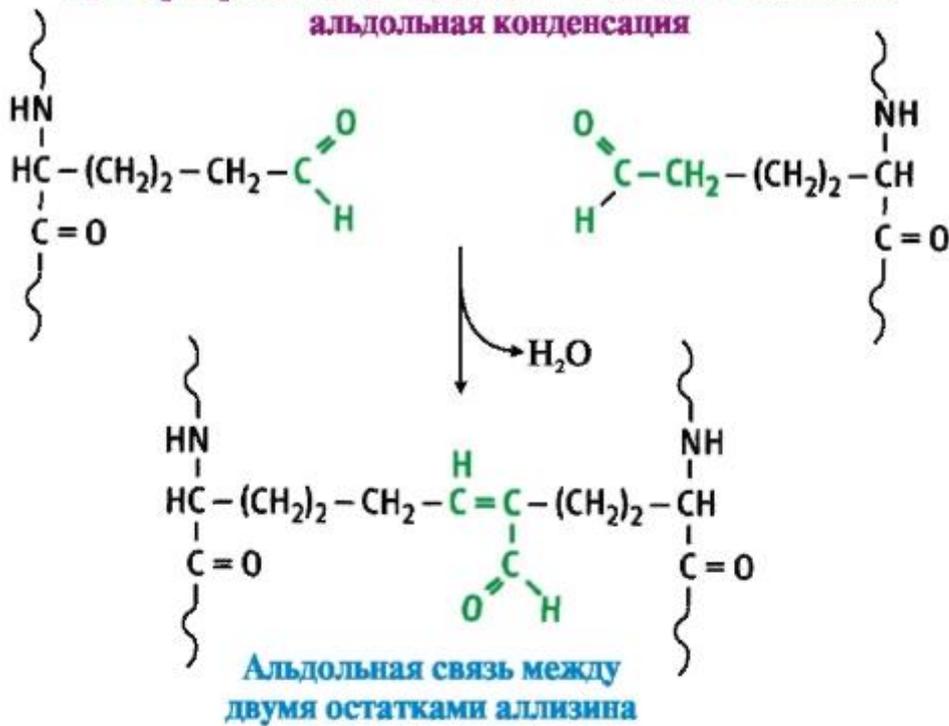


Рис. 11.12. Расположение молекул тропоколлагена в коллагеновых фибриллах

В каждом ряду может находиться несколько молекул тропоколлагена, расстояние между которыми ~ 35 нм. В параллельных рядах отдельные молекулы тропоколлагена смещены на $\frac{1}{4}$ относительно друг друга (67 нм)

Структура фибрилл стабилизируется путем самопроизвольного формирования межмолекулярных ковалентных сшивок между группами лизина, аллизина, гидроксизина или гидроксизина (рис. 11.13).

А. Формирование межцепочечных связей в коллагене — альдольная конденсация



Б. Формирование межцепочечных связей в коллагене — Шиффово основание

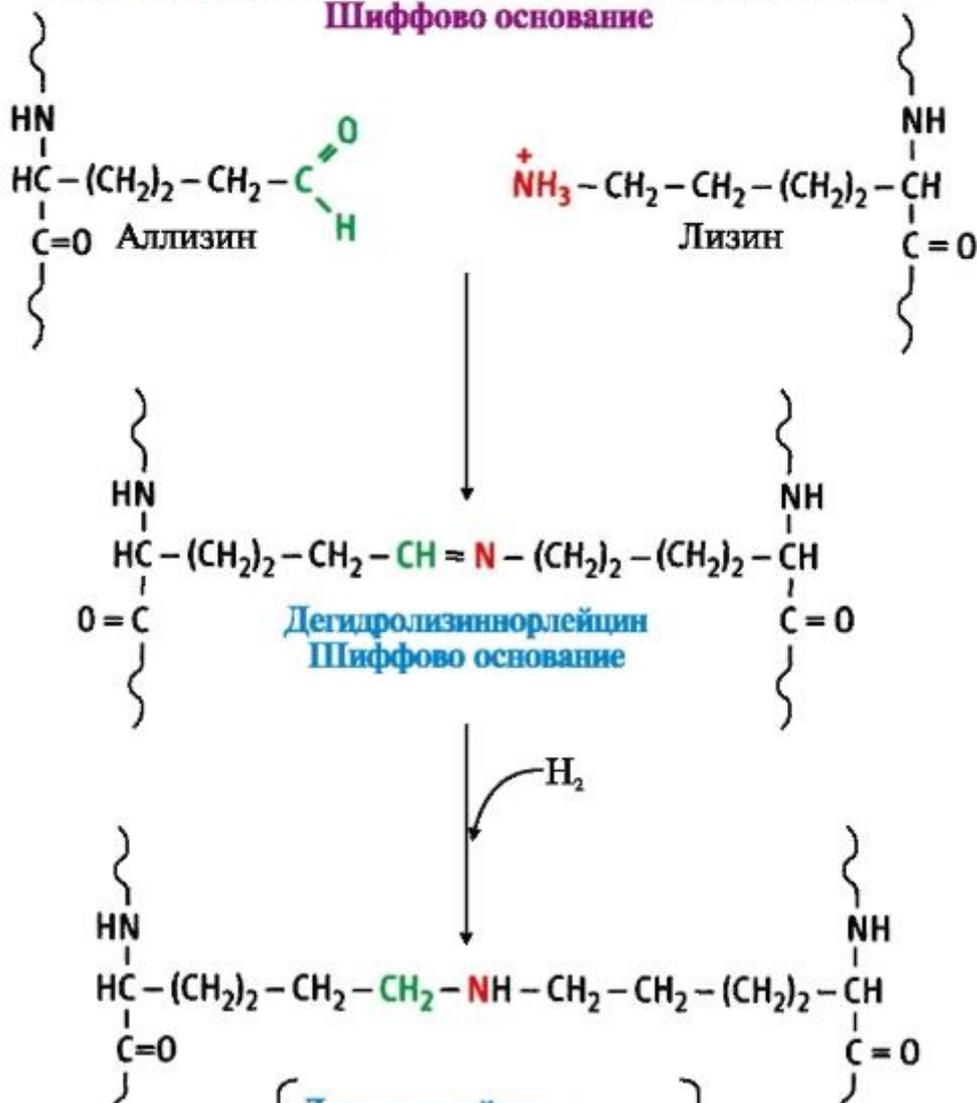


Рис. 11.13. Образование ковалентных межцепочечных связей, стабилизирующих структуру микрофибрилл коллагена

Ковалентные связи такого типа встречаются только в коллагене и эластине. Количество и тип сшивок в разных тканях различаются. Образование большего или меньшего числа сшивок в коллагене зависит от прочности ткани на растяжение. Например, в ахилловом сухожилии, для которого прочность на разрыв очень важна, такие сшивки в коллагене особенно многочисленны. Прочность коллагеновых волокон обусловлена водородными связями между пептидными цепями коллагена; строением тройной



Рис. 11.14. Формирование коллагенового волокна

спирали из полипептидных цепей; множеством ковалентных связей между молекулами тропоколлагена; сдвигом молекул тропоколлагена на $\frac{1}{4}$ относительно друг друга в микрофибрилле коллагена.

Коллагеновые микрофибриллы отличаются по толщине и структурной организации в различных тканях. Например, в коже они расположены наподобие прутьев в плетеных изделиях и поэтому сопротивляются нагрузкам по всем направлениям. В сухожилии они собраны в параллельные пучки, уложенные вдоль главной оси (рис. 11.14). В зрелой костной ткани и роговице их расположение напоминает чередующиеся слои в фанере: фибриллы каждого слоя уложены параллельно друг другу почти под прямым углом к фибриллам соседних слоев.

Размер, структуру и расположение коллагеновых фибрилл определяют клетки соединительной ткани. Они могут экспрессировать один или несколько генов, кодирующих разные типы молекул пре-про- α -цепей, и таким образом влиять на все последующие этапы внутриклеточных и внеклеточных модификаций, а также укладку коллагеновых фибрилл.

Типы коллагена

Коллагены - полиморфные белки. Идентифицировано 20 различных α -цепей коллагена, каждая из которых кодируется отдельным геном. В разных тканях экспрессируются различные комбинации этих генов. Наиболее распространены коллагены I, II, III и IV типов. Коллагены I, II, III типа - фибриллярные белки. Из них особенно широко распространен коллаген I типа. Молекулы коллагена IV типа встречаются только в базальной мембране, вместо фибрилл они образуют плоскую сеть, которая составляет значительную часть всей базальной мембраны.

Тройная спираль коллагенов II и III типа содержит 3 идентичные цепи, их структура может быть записана так: $[\alpha_1(\text{II})]_3$ и $[\alpha_1(\text{III})]_3$. Коллагены I и IV типа образованы двумя разными α -цепями, поэтому записывается: $[\alpha_1(\text{I})]_2\alpha_2(\text{I})$ и $[\alpha_1(\text{IV})]_2\alpha_2(\text{IV})$.

Катаболизм коллагена

Коллаген - медленно обменивающийся белок. Время его полужизни составляет недели или даже месяцы. В катаболизме молекул участвует коллагеназа - металлопротеиназа, которая гидролизует сразу 3 нити в одном и том же месте

между остатками глицина и лейцина (изолейцина). Образующиеся растворимые пептиды под действием пептидгидролаз расщепляются до ди- и трипептидов (рис. 11.15).

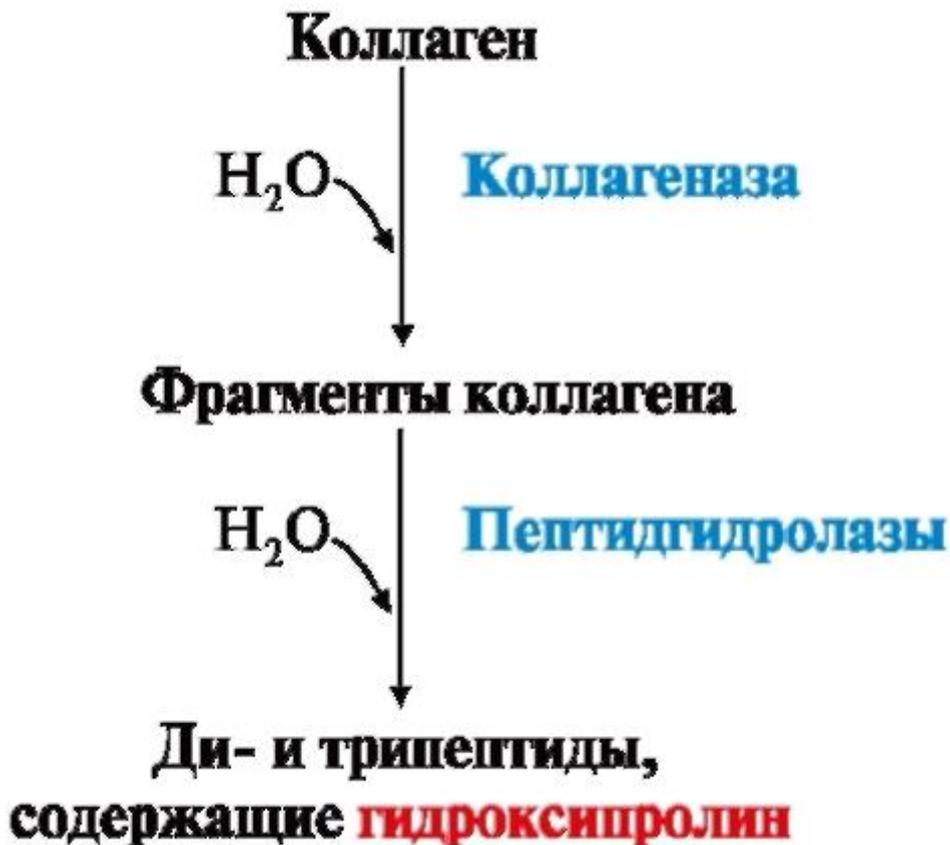


Рис. 11.15. Катаболизм коллагена

Коллагеназа - Ca^{2+} , $/p^{2+}$ -зависимый фермент (оптимальное рН 8,5), в клетках тканей неактивна. Синтез и секрецию фермента осуществляют фибробласты и макрофаги. Скорость синтеза фермента регулируется на уровне транскрипции.

Макромолекулы внеклеточного матрикса могут повреждаться, например, в результате гликозилирования (неферментативного присоединения остатков глюкозы к аминокислотным остаткам белков) или протеолиза. Такие изменения приводят к нарушению взаимодействия и расположения отдельных элементов в соединительной ткани. На участке повреждения активируются металлопротеиназы, которые разрушают неправильно ориентированные макромолекулы. Рецепторы фибробластов реагируют на изменение структуры окружения увеличением синтеза и секреции компонентов матрикса. По количеству гидроксипролина, выделяемого за сутки с мочой, можно судить об активности процесса катаболизма коллагена,

так как эта аминокислота встречается только в коллагене. У здорового человека за сутки экскретируется 15-50 мг гидроксипролина.

При старении:

- снижается скорость обмена коллагена;
- увеличивается количество поперечных связей между молекулами тропоколлагена, что делает их более жесткими и хрупкими;
- уменьшается соотношение ГАГ/коллаген;
- уменьшается количество связанной воды;
- увеличивается сухость кожи, изменяются механические свойства хрящей и сухожилий, понижается прозрачность роговицы глаза.

11.3. ЭЛАСТИН

Эластичность, необходимая для функционирования кровеносных сосудов, легких, связок и кожи, обеспечивается комплексом волокон внеклеточного матрикса этих тканей. Резиноподобные свойства определяются особенностями состава и строения эластина. В отличие от большого семейства коллагенов, структура молекулы кодируется только одним геном.

Белок построен из 750 аминокислотных остатков. Молекулы содержат много аминокислот с гидрофобными радикалами. Глицин, валин, аланин и пролин составляют 70% общего количества аминокислот полипептида. В состав цепи входит небольшое количество гидроксипролина и совсем нет гидроксизина и углеводных фрагментов. Полимерные молекулы не имеют строго определенной конформации, как, например, в фибриллах коллагена. При натяжении упорядоченность структуры возрастает.

Синтез эластина и формирование полимерных структур

Мономерная форма эластина синтезируется на рибосомах и называется тропоэластином. В полости ЭР происходит гидрокселирование пролина - это единственная внутриклеточная модификация эластина. Во внеклеточном пространстве лизилоксидаза катализирует образование радикалов аллизина на участках пептидной цепи имеющих определенную последовательность аминокислот: -Лиз-Ала-Ала-Лиз- и -Лиз-Ала-Ала-Ала- Лиз-. Химически активный альдегид взаимодействует с другими остатками аллизина и лизина. Четыре радикала сближаются друг с другом и превращаются в десмозин (пиридинолин) или в похожий по

структуре изодесмозин (изопиридинолин) (рис. 11.16). В образовании этих структур могут принимать участие 2, 3 или 4 молекулы тропоэластина (рис. 11.17). Кроме десмозинов, в эластине встречаются поперечные сшивки лизиннорлейцина, образованные двумя радикалами лизина.

Эластические волокна состоят не только из эластина. Они содержат также гликопротеин, который в основном распределен в виде микрофибрилл по поверхности волокна. Микрофибриллы секретируются во внеклеточное пространство чуть раньше цепей тропоэластина и, возможно, обеспечивают правильную ориентацию молекул полимера в матриксе.

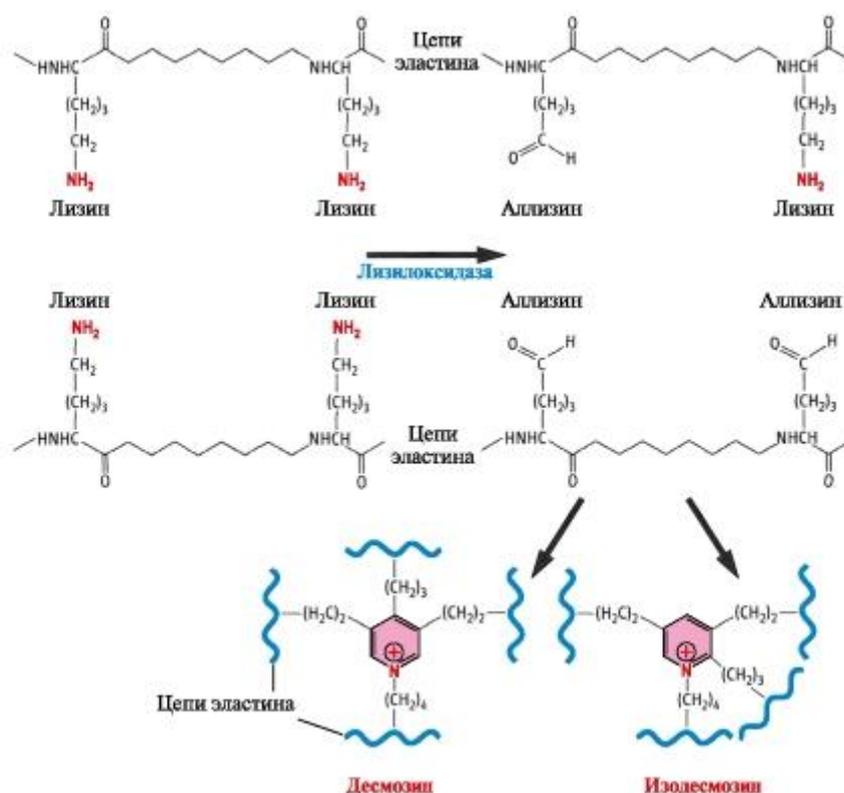


Рис. 11.16. Десмозин, изодесмозин - многоцепочечное перекрестное соединение в молекуле эластина



Рис. 11.17. Межцепочечные связи, формирующие структуру эластина

Сшитые между собой, произвольным образом изогнутые эластические волокна могут растягиваться и снова сжиматься в двух направлениях, подобно резине. 1-,2-,3-4 - отдельные цепи эластина.

Катаболизм эластина

Время полураспада эластина составляет около 75 лет, поэтому за всю жизнь человека обновляется только половина эластина. Протеолиз белка происходит под действием эластазы, которая секретируется во внеклеточное пространство нейтрофилами, она активна в слабощелочной среде (оптимальное рН 7,5-8,5), не обладает абсолютной специфичностью и может гидролизовать, помимо эластина, коллаген, иммуноглобулины и другие белки.

11.4. АДГЕЗИВНЫЕ БЕЛКИ

Внеклеточный матрикс содержит несколько адгезивных гликопротеинов: фибронектин, ламинин, нидоген, которые, взаимодействуя с другими макромолекулами и клетками, способствуют их ориентации в соединительной ткани. Один из них, фибронектин, большой, образующий фибриллы гликопротеин. Это димер, состоящий из двух субъединиц, каждая содержит около 2500 аминокислотных остатков. Субъединицы свернуты в серию глобулярных доменов, которые вблизи карбоксильных концов соединены 2 дисульфидными мостиками (рис. 11.18). Отдельные домены предназначены для связывания с другими молекулами фибронектина, коллагеном, сульфатированными ГАГ, интегриновыми рецепторами клеток и ферментом трансглутаминазой. Этот фермент обеспечивает образование ковалентной связи между остатками глутамина и лизина 2 молекул фибронектина, фибронектина и коллагена или фибронектина и других белков.

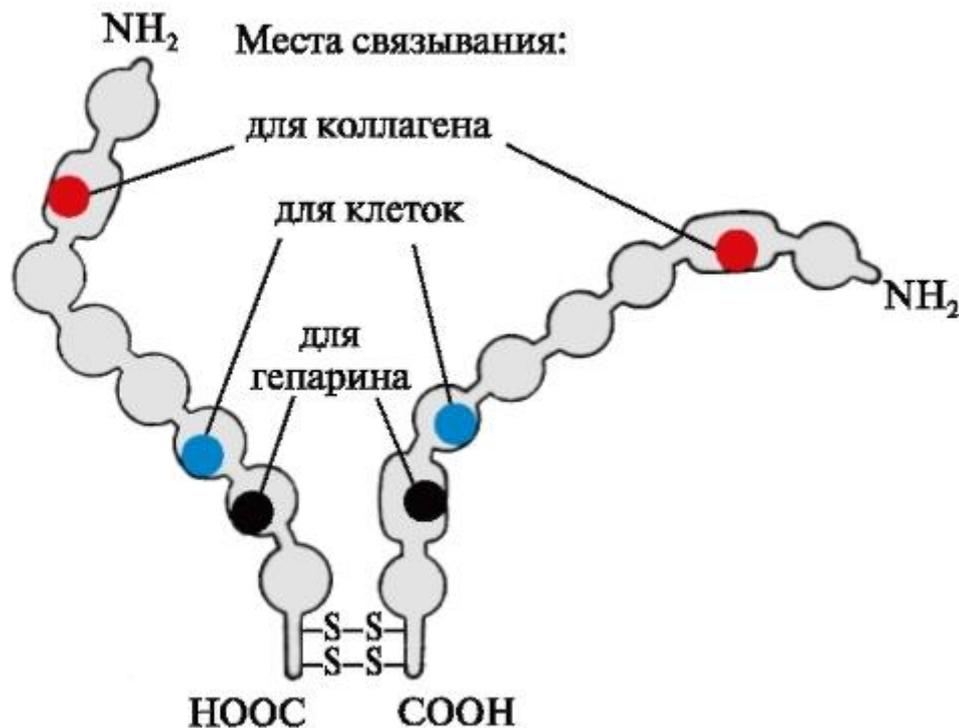


Рис. 11.18. Структура фибронектина

Две полипептидные цепи сходны, но не идентичны. Каждая цепь имеет ряд глобулярных доменов.

Подобно эластину фибронектин кодируется только одним геном. Однако в фибробластах, эндотелиальных, эпителиальных и гладкомышечных клетках мРНК цепи фибронектина подвергается разным вариантам альтернативного сплайсинга. В зависимости от типа

клеток образуется один или несколько вариантов сплайсинга. Поэтому молекулы фибронектина могут значительно различаться по структуре и функциональной активности.

Эндотелиальные клетки, секретируют внеклеточный адгезивный гликопротеин ламинин - основной белок базальных мембран. Он состоит из 3 пептидных цепей: α , β и γ , имеющих доменное строение (рис. 11.19).

Глобулярные домены ламинина связываются с другими молекулами ламинина, белками клеточных мембран - интегринами, протеогликанами базальной мембраны, гликопротеинами клеточной поверхности и белком нидогеном. С-концевые группы ламинина могут присоединять Ca²⁺ и образовывать сетевидные структуры с помощью Ca-зависимого взаимодействия.

В. Фибробластах. Г. Тучных клетках.

в) в этих клетках на полирибосомах одновременно с синтезом пре-про-белка происходит модификация аминокислотных остатков Про и Лиз:

А. Фосфорилирование. Б. Гидроксилирование.

В. Сульфатирование. Г. Гликозилирование.

г) модифицированные молекулы пре-про-белка, поступают в:

А. Цитозоль. Б. Полость Э Р.

В. Межклеточное пространство. Г. Аппарат Гольджи.

д) в этом отсеке происходят:

А. Отщепление С-концевого пептида и гликозилирование гидроксипролина.

Б. Ацилирование фосфосерина.

В. Отщепление N-концевого сигнального пептида и гликозилирование гидроксизина.

Г. Частичный протеолиз С-концевого пептида и восстановление дисульфидных мостиков

Напишите схему происходящей модификации, назовите ферменты.

е) по завершении этого процесса формируются:

А. Альдольные сшивки между аминокислотными остатками про-белка.

Б. Дисульфидные связи и С-концевых участках структуры из 3 пептидных цепей.

В. Структуры из 2 цепей про-белка.

Г. Ковалентные связи между аминокислотными остатками гидроксипролина.

ж) образованные молекулы:

А. Поступают в фибробласт. Б. Выходят в кровь.

В. Поглощаются макрофагами.

Г. Секретируются в межклеточное пространство.

з) на следующем этапе эти молекулы (выберите правильные ответы):

А. Гидролизуются специфическими проколлагенпептидазами.

Б. Подвергаются воздействию лизилоксидазы.

В. Разрушаются под действием эластазы. Г. Превращаются в тропоколлаген.

и) после завершения этих модификаций молекулы белка:

А. Формируют микрофибриллы.

Б. Связываются дисульфидными мостиками.

В. Подвергаются дополнительному гидроксигированию.

Г. Гидролизуются коллагеназой.

к) причиной нарушения данной структуры могут быть (выберите правильные ответы):

А. Мутации в гене ферментов, участвующих в модификациях радикалов аминокислот белка.

Б. Снижение активности коллагеназы - Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависимого фермента.

В. Недостаток в организме Si^{2+} , витаминов С, РР, В₆.

Г. Мутации в гене пре-про-белка. Д. Повышенная активность эластазы. 2.

Выполните «цепное» задание.

а) интегрирующую роль в организации межклеточного матрикса выполняет:

А. Фибронектин. Б. Коллаген.

В. Коровый белок. Г. Эластин.

б) этот белок состоит из:

А. 3 пептидных цепей. Б. 2 пептидных цепей

В. Из нескольких пептидных цепей, соединенных альдольными связями.

Г. Одной полипептидной цепи, стабилизированной внутрицепочечными дисульфидными мостиками.

в) пептидные цепи белка имеют:

А. Один центр для связывания лиганда. Б. Аллостерический центр.

В. Доменное строение.

Г. Фосфорилированные остатки серина.

г) наличие такой структуры позволяет белку взаимодействовать с:

А. Специфическим лигандом. Б. Несколькими лигандами.

В. Катионами.

Г. Ингибиторами и активаторами.

д) одним из этих соединений является:

А. Ионы Mg^{2+} .

Б. Фермент трансглутаминаза.

В. Дисахарид глюконовая кислота-N- ацетилгалактозамин.

Г. Кофермент пиридоксальфосфат.

е) этот лиганд обеспечивает образование связей белка с (выберите правильные ответы):

А. Фибронектином Б. Коллагеном

В. Гиалуроновой кислотой Г. Протеогликанами

ж) изобразите строение этого белка, на рисунке покажите, в чем заключается его интегрирующая роль в организации матрикса.

3. Установите соответствие. Фермент:

А. Проллилгидроксилаза. Б. Лизилгидроксилаза.

В. Лизилоксидаза.

Г. Трансглутаминаза.

Д. Специфическая гликозилтрансфераза.

Функция:

1. Участвует во внеклеточной модификации лизина.

2. Образует сшивки с участием Лиз и Глн.

3. Катализирует гидроксилирование иминокислоты.

4. Дополните предложения недостающими словами и запишите его в тетрадь.

Некоторые патогенные бактерии секретируют фермент ... , которая гидролизует ... связь в цепях Это приводит к нарушению структуры . матрикса, ускорению . микроорганизмов и развитию воспалительного процесса.

Таблица 11.2

Посттрансляционные модификации цепей коллагена и эластина

Белок	Фермент	Простетическая группа	Локализация реакции	Значение модификации для формирования структуры волокна
Коллаген				
Эластин				

Пептидную; коллагена; коллагеназу; проникновения; внеклеточного.

5. Перенесите табл. 11.2 в тетрадь и заполните колонки.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Латиризм - заболевание, характеризующееся деформацией позвоночника, смещением суставов, деминерализацией костей, суставными кровотечениями. Эти симптомы развиваются вследствие ингибирования лизилоксидазы. Почему снижение активности этого фермента приводит к таким тяжелым последствиям? Для ответа на вопрос:

- напишите реакцию, которую катализирует этот фермент, укажите состав простетической группы;
- покажите участие продуктов этой реакции в формировании структуры фибриллярных белков внеклеточного матрикса;
- объясните, как изменится функциональная активность этих белков при нарушении этого процесса.

2. Препарат баларпан, который используется в качестве действующего вещества при лечении сухой роговицы глаз, содержит сульфатированный гликозамингликан. Объясните, почему применение этого лекарства повышает влажность поверхности глаза. Для этого:

- напишите формулу дисахаридной единицы одного из сульфатированных гликозамингликанов;
- опишите свойства макромолекул, построенных из таких дисахаридных звеньев;
- представьте схему синтеза этих структур в организме человека, назовите ферменты и локализацию процесса.

3. Во время Великой Отечественной войны в первую блокадную зиму у населения Ленинграда наблюдалась массовая вспышка цинги. У взрослых и детей кровоточили десны, расшатывались

и выпадали зубы, появлялись мелкие подкожные кровоизлияния, возникали внутренние кровотечения. Наряду с авитаминозом С люди испытывали дефицит витаминов группы В (РР, фолиевой кислоты и др.). Для лечения в осажденном городе наладили производство настоя из игл хвойных деревьев и раствора дрожжей, которыми снабжали госпитали, детские дома, школы, предприятия. Какие витамины содержатся в зеленых листьях и дрожжах, кроме уже названных? Объясните роль этих витаминов в метаболизме соединительной ткани. Для этого:

- а) назовите коферменты, в состав которых входят эти витамины;
- б) напишите схемы реакций и процессов с участием этих коферментов;
- в) объясните причины развития гингивита, пародонтита у жителей блокадного Ленинграда.

4. Буллезный эпидермолиз - редкое наследственное заболевание соединительной ткани, характеризующееся множественным образованием пузырей на коже, поражением эпителиальной ткани. При дистрофическом типе этого заболевания наблюдают поражения кожи и слизистых оболочек, вызванные нарушением синтеза ламинина. Объясните роль ламинина в организации структуры внеклеточного матрикса. Для этого:

- а) укажите, в состав какой специфической структуры соединительной ткани он входит;
- б) опишите особенности строения ламинина и назовите макромолекулы, с которыми он взаимодействует;
- в) укажите роль Ca^{2+} в метаболизме этого белка.

11.5. МИНЕРАЛИЗОВАННАЯ СОЕДИНИТЕЛЬНАЯ ТКАНЬ

Специализированные виды минерализованной соединительной ткани - кость, дентин, цемент, эмаль зуба - характеризуются высоким содержанием минерального компонента, главной составной частью которого являются гидроксиапатиты кальция $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Все ткани, кроме эмали, состоят из клеток, погруженных в твердый межклеточный матрикс. В состав матрикса входят такие органические

соединения, как коллаген I типа, ГАГ и различные гликопротеины.

Основное отличие этих тканей заключается в разной степени минерализации - отношении минерального компонента к органическому. Этот показатель

возрастает в следующей последовательности: кость < цемент < дентин < эмаль.

Костная система состоит из 206 костей, отличающихся по размеру и форме (трубчатые, плоские, кубовидные). Кости взаимосвязаны суставами различных типов, обеспечивающими разнообразие движений и поддержание положения тела.

При нормальном развитии костной системы в эмбриональном периоде хрящевая ткань постепенно замещается более твердой костной тканью - происходит новообразование кости или моделирование. После рождения рост скелета продолжается, но основная клеточная активность направлена на ремоделирование кости, т.е. перестройку уже имеющейся структуры кости.

Костный обмен или ремоделирование включает резорбцию (разрушение) костной ткани и костеобразование, в течение которого идут обновление и реорганизация органической матрицы и ее минерализация. Эти процессы ускоряются при: изменении физической нагрузки на ткань, например снижение массы тела при похудании, смещении зубов под воздействием брекетов, локальных воспалительных процессах при ревматоидном артрите и пародонтите, гормональных изменениях, вызванных дефицитом эстрогенов или гиперпаратиреозом.

Костная система определяет размер и форму тела, защищает внутренние органы, играет основную роль в минеральном гомеостазе, содержит кроветворные клетки.

Минерализованный матрикс костной ткани - уникальный секреторный продукт, создаваемый преимущественно остеобластами и остеоцитами. Для кости характерно сочетание органического (35%) и неорганического (65%) веществ. Гидроксиапатит кальция - минерал, придающий костям прочность и твердость, является главным хранилищем в организме кальция (99%), фосфора (85%), натрия и магния (65%). Коллаген I типа придает костям прочность на разрыв и наряду с неколлагеновыми белками участвует в построении матрицы, необходимой для формирования гидроксиапатитов на стадии костеобразования.

Основные клетки костной ткани

Функциональную активность кости определяют специфические клетки, в частности остеобласты, остеоциты и остеокласты.

Остеобласты синтезируют коллаген, другие специфические белки и ферменты, обеспечивающие минерализацию. Эти клетки имеют рецепторы для паратгормона, кальцитриола, эстрогенов, цитокинов, факторов роста, а также специализированных регуляторных белков.

Поверхность кости покрыта тонким слоем неминерализованного костного матрикса, называемого остеоидом. Неактивные остеобласты - выстилающие клетки - представляют собой уплощенные клетки, расположенные вдоль остеоида (рис. 11.20). Активированные остеобласты - это крупные клетки, связанные с поверхностью остеоида, они стимулируют формирование и дифференцировку остеокластов. В ходе минерализации остеобласты заключаются в костный матрикс и становятся остеоцитами.

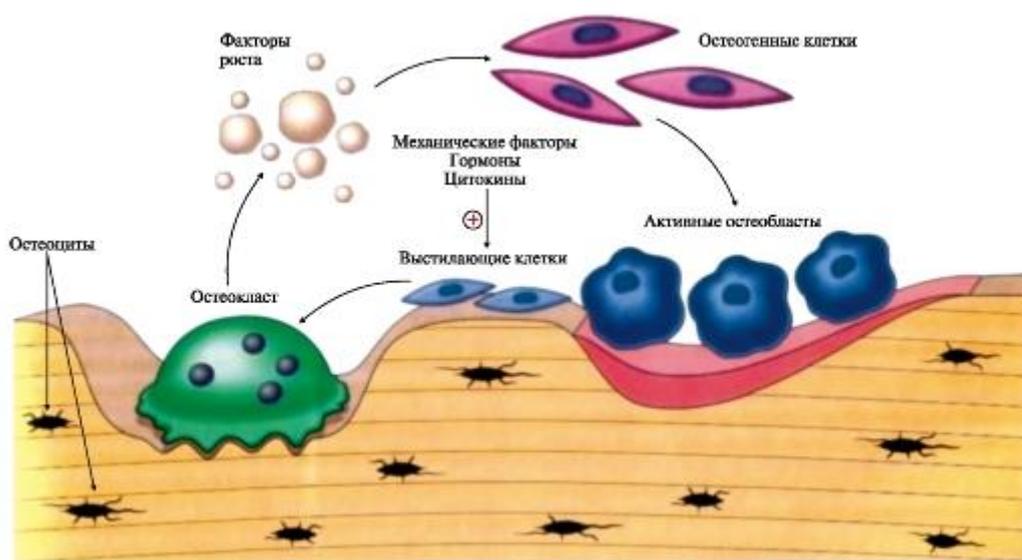


Рис. 11.20. Взаимосвязь процессов костной резорбции и образования кости

Активированные поверхностные остеобласты (выстилающие клетки) стимулируют деление и дифференцировку остеокластов. Зрелые остеокласты разрушают кость, а регуляторные молекулы (цитокины), высвободившиеся в ходе этого процесса из матрикса, стимулируют дифференцировку остеобластов, которые синтезируют органические компоненты матрикса и создают условия для его минерализации

Остеоциты занимают небольшие полости (лакуны), которые распределены по всему внеклеточному матриксу. Остеоциты, заключенные в костный матрикс, не синтезируют компоненты матрикса, но они остаются метаболически активными и играют важную роль в ремоделировании кости. Эти клетки сообщаются друг с другом посредством сложной системы канальцев, по которым проходят кровеносные сосуды. От каждой лакуны

отходит много таких канальцев, содержащих отростки остеоцитов, с помощью которых эти клетки обмениваются сигналами и метаболитами.

Остеоциты распределены по всей костной ткани и играют первостепенную роль в контроле посекундных колебаний уровня кальция и фосфатов в сыворотке крови. Клетки обладают способностью реагировать на изменения напряжения матрикса, вызванное механическим воздействием. В ответ они секретируют медиаторы, которые инициируют костное ремоделирование, обеспечивающее адаптацию костной ткани к механической нагрузке.

Остеокласты представляют собой клетки, формирующиеся при активации костного ремоделирования. Их предшественниками являются моноциты крови, которые, реагируя на сигналы специализированных молекул, мигрируют в участки, где стимулируется резорбция кости. Дифференцировку и образование остеокластов инициируют простагландины, регуляторные белки: цитокины, инсулиноподобный фактор роста (IGF-1), трансформирующий фактор роста (TGF- β). В активации остеокластов важную роль играют секреторные белки остеобластов.

Активный многоядерный остеокласт содержит 6-12 ядер и формируется путем слияния циркулирующих в крови одноядерных клеток-предшественников (моноцитов). В активированном состоянии он связан с поверхностью кости (рис. 11.21), синтезирует и секретирует ферменты, разрушающие органические составляющие костного матрикса. Остеокласты, с помощью специальных секреторных белков остеобластов, прикрепляются к кости чистой зоной. Эта область клеточной мембраны не секретирует ферменты, участвующие в разрушении органической основы матрикса. Фермент остеокластов карбоангидраза II катализирует образование угольной кислоты, которая диссоциирует на HCO_3^- и протоны H^+ , необходимые для создания кислой среды в области резорбции.

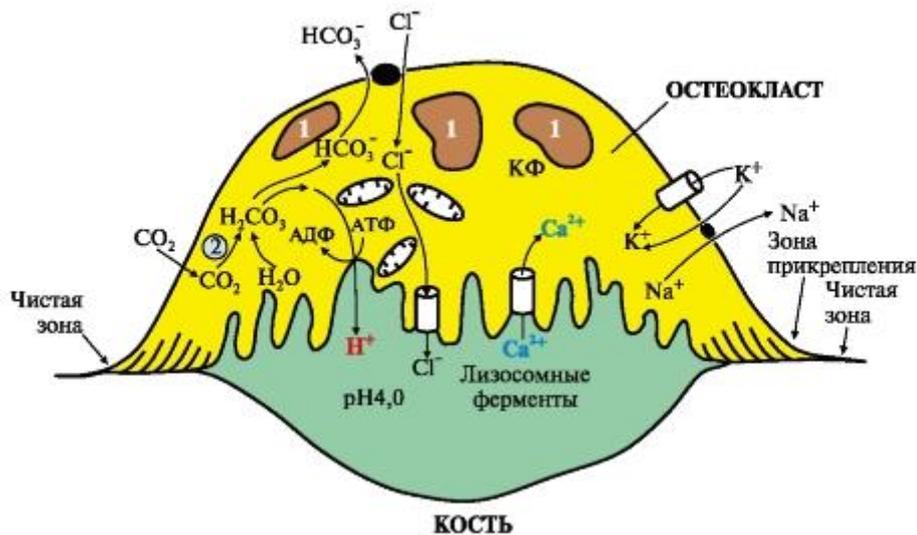


Рис. 11.21. Активация остеокласта в процессе костной резорбции

1 - ядра остеокласта; 2 - фермент карбоангидраза II; КФ - кислая фосфатаза.

Продолжительность жизни остеокластов - 3-4 нед, затем они утрачивают ядро и становятся неактивными



Из клетки в зону резорбции перекачиваются протоны при помощи H⁺-АТФ-аз, H⁺,K⁺-АТФ-аз, переносчиков Cl⁻/H⁺, встроенных в мембрану.

Поверхность остеокласта поляризуется, и образуются многоточечные выросты - «щеточная» каемка. Создание микросреды рН 3,5-4,0 в зоне резорбции необходимо для функционирования ферментов и деминерализации матрикса. Остеокласт секретирует в замкнутое пространство, ограниченное «щеточной» каемкой и костной поверхностью, ряд ферментов, которые гидролизуют белки, ГАГ и ускоряют разрушение органической основы матрицы.

11.6. МИНЕРАЛЬНЫЙ СОСТАВ И СТРОЕНИЕ АПАТИТОВ В ТВЕРДЫХ ТКАНЯХ

Костная ткань содержит 1200 г кальция и 580 г фосфора, которые в основном включены в кристаллы гидроксиапатитов Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ по размеру соответствующие кристаллам, обнаруженным в дентине и цементе зуба (рис. 11.22). В этой структуре ионы занимают положение в соответствии с их

размерами, величинами зарядов и удерживаются за счет электростатических взаимодействий.

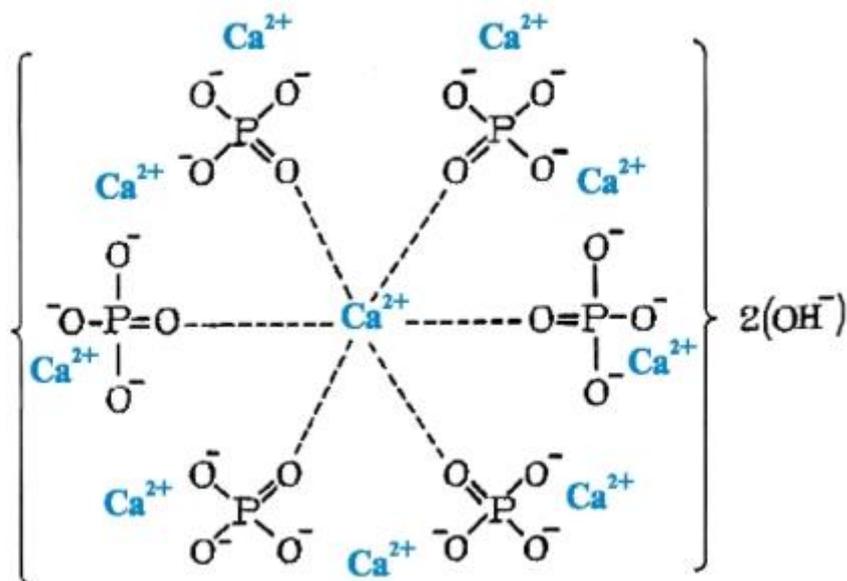


Рис. 11.22. Элементарная ячейка гидроксиапатита

Кристалл гидроксиапатита состоит из 2000 элементарных ячеек. Прочность связи между ионами прямо пропорциональна величине заряда и обратно пропорциональна квадрату расстояния между ними. Оптимальное расстояние между ионами Ca^{2+} и PO_4^{3-} , необходимое для формирования кристалла гидроксиапатита, задается матрицей, которая образована коллагеном I типа, неколлагеновыми белками, ГАГ, фосфолипидами и цитратом. Изменение строения или количества любого вещества, формирующего матрицу, приводит к нарушению минерализации или образованию кристаллов неправильной структуры, а значит, к снижению прочности костной ткани.

Гидроксиапатиты, образованные *in vitro*, формируют кристаллы в виде гексагональных призм (рис. 11.23). Каждый кристалл покрыт гидратной оболочкой (гидратный слой) толщиной - 1 нм. Межпризменное пространство, отделяющее кристаллы друг от друга, составляет 62,5 нм.

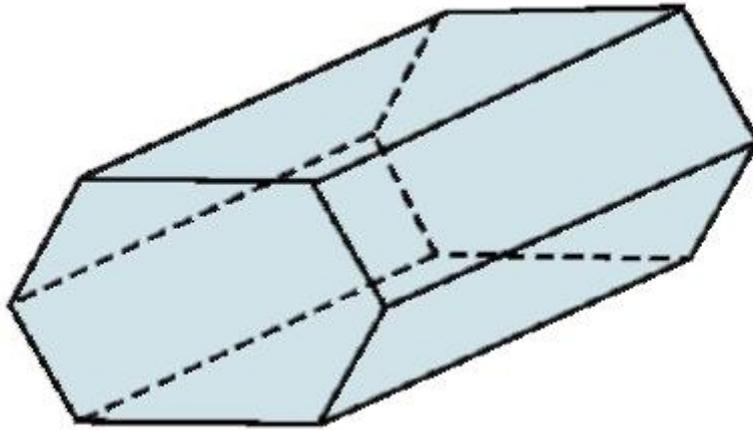


Рис. 11.23. Гексагональная форма модельного кристалла гидроксиапатита

Апатиты являются довольно устойчивыми соединениями, однако они легко обмениваются ионами с молекулами, находящимися в окружающей среде. В результате, в их составе могут появляться другие ионы. Гидратный слой кристаллов

содержит легкообмениваемый пул кальция, участвующий в быстром обмене ионов между костной тканью и внеклеточной жидкостью. Если во внеклеточной жидкости увеличивается концентрация Ca^{2+} и фосфатов, образуются соли, которые депонируются в гидратном слое. Но при снижении концентрации этих веществ в среде они легко уходят из этого фонда.

Медленно обмениваемый пул состоит из солей фосфата кальция, которые находятся в составе кристаллов гидроксиапатитов. Мобилизация кальция из этого источника регулируется паратгормоном и кальцитриолом.

Изоморфные замещения

Молярное кальциево-фосфатное соотношение (Ca/P) характеризует состав гидроксиапатитов, который для элементарной ячейки кристалла $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ равен 10/6 (1,67). Для биогенных апатитов, образованных в организме человека, молярный коэффициент Ca/P варьирует от 1,33 до 2,0. Это вызвано изоморфными замещениями - заменой ионов кальция, фосфата или гидроксильных групп в апатите другими ионами. Наиболее часто Ca^{2+} замещается Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mo^{2+} , реже - Mg^{2+} , Pb^{2+} . Ионы кальция поверхностного слоя кристаллов могут на короткое время замещаться Na^+ , K^+ . При недостатке в пище кальция стронций активно усваивается организмом и занимает его место в кристалле гидроксиапатита. Стронциевый апатит $\text{Ca}_9\text{Sr}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ характеризуется повышенной хрупкостью. В

покидать гидратный слой, не проникая в кристаллы. Другие ионы, например Na^+ , F^- , по градиенту концентрации проходят гидратную оболочку и проникают в поверхностные слои кристалла.

II стадия может продолжаться несколько часов. В течение этого времени происходит обмен ионами Ca^{2+} , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , Sr^{2+} , F^- гидратного и поверхностного слоев кристаллов гидроксиапатитов. Проходя гидратную оболочку, они диффундируют в поверхностные слои кристаллов.

На III стадии происходит перемещение ионов Ca^{2+} , PO_4^{3-} , Sr^{2+} , F^- из поверхностного слоя в глубь кристаллов. Продолжительность процесса от нескольких дней до нескольких месяцев. Степень замещения зависит от концентрации и радиуса иона, продолжительности ионного обмена. Изоморфные замещения в структуре гидроксиапатитов чаще всего приводят к изменению молярного соотношения Ca/P, снижению прочности, размера и устойчивости кристаллов к физическим и химическим воздействиям.

11.7. ОРГАНИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА МИНЕРАЛИЗОВАННЫХ ТКАНЕЙ

Основными органическими веществами минерализованных тканей являются белки, протеогликаны, фосфолипиды и цитрат, составляющие 1% в эмали зуба и 30% в костной ткани. Большинство белков костного матрикса встречается и в неминерализованных тканях на разных стадиях их развития.

Белки костной ткани

К белкам кости относят коллаген I типа и группу неколлагеновых белков, синтезируемых в основном остеобластами. Коллаген I типа (остеоколлаген) является гетерополимером и состоит из двух α_1 -цепей и одной α_2 -цепи $[\alpha_1(\text{I})]_2\alpha_2(\text{I})$. Он содержит больше гидроксипролина, чем коллаген I типа сухожилий и кожи, но мало остатков гидроксизина, поэтому в меньшей степени гликозилирован. В процессе гликозилирования к остаткам гидроксизина гликозилтрансфераза присоединяет галактозу, а не дисахариды (галактозу-глюкозу). Между лизином, аллизином и гидроксизинном образуется меньше межцепочечных ковалентных связей (см. тему 11.2). В то же время в коллагене кости присутствуют специфические структуры, нехарактерные для коллагена I типа других тканей, - пиридинолин (десмозин) и дезоксипиридинолин (изодесмозин), имеющиеся в структуре эластина неминерализованной соединительной ткани (см. тему 11.3.). Они устойчивы к деградации, высвобождаются во время резорбции кости в свободной форме (пиридинолин и дезоксипиридинолин)

или в составе пептидов и поступают в кровь и мочу. Определение уровня пиридинолина, дезоксипиридинолина и пиридинолин-содержащих пептидов в моче используется для диагностики остеопороза.

Еще одним отличием костного коллагена является присутствие в молекуле фосфорилированных остатков серина, которые частично сохраняются в минерализованном матриксе и участвуют в связывании кальция.

Особенности строения коллагена I типа костной ткани, дентина, цемента, а также специфические неколлагеновые белки определяют способность межклеточного матрикса к минерализации.

Большинство неколлагеновых белков костного матрикса встречается и в других тканях,

Таблица 11.3

Неколлагеновые белки матрикса костной ткани

Секреторные белки остеобластов	Функция
Остеонектин Фибронектин Тромбоспондин	Обеспечивают адгезию клеток
Остеонектин Сиалопротеин кости	Ca ²⁺ -связывающий белок Ca ²⁺ -связывающий белок
Остеокальцин	Участвует в минерализации
Коллагеназа Щелочная фосфатаза	Протеолиз коллагена Дефосфорилирование белков
Инсулиноподобный фактор роста (IGF-1) Трансформирующий фактор роста (TGF-β) Тромбоцитарный фактор роста (PDGF)	Факторы роста
Цитокины: интерлейкин-1 (IL-1) интерлейкин-6 (IL-6)	Регуляторные гликопротеины

но только в минерализованном матриксе они участвуют в процессах остеогенеза и дентогенеза, а также в ремоделировании костной ткани (табл. 11.3).

Большинство неколлагеновых белков костного матрикса является гликопротеинами или гликофосфопротеинами.

Остеонектин - гликопротеин, который наряду с костной тканью присутствует также в базальных мембранах и эпителии. Он синтезируется и секретируется зрелыми остеобластами и функционально активными остеоцитами. Белок содержит много аминокислотных остатков Глу, Асп, которые с помощью Ca²⁺ присоединяются к фосфатным остаткам (PO₄³⁻) гидроксиапатитов (рис. 11.24).

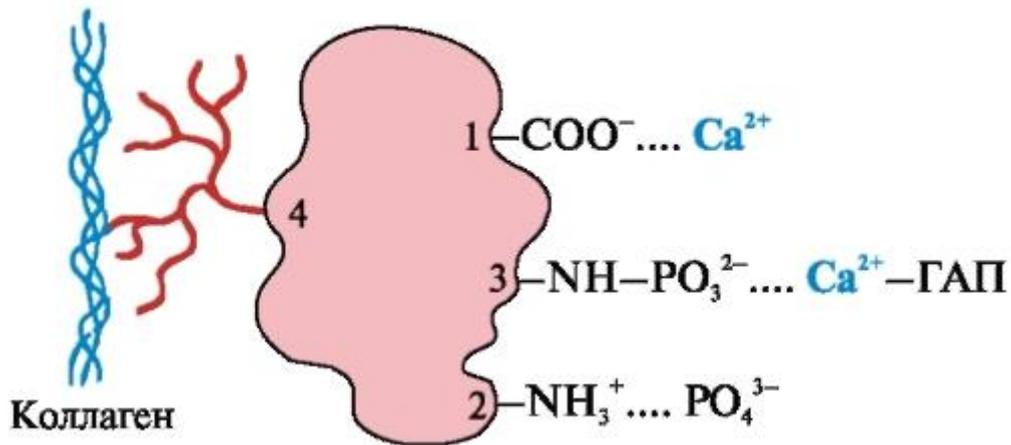


Рис. 11.24. Взаимодействие остеонектина со специфическими лигандами

Функциональные группы остеонектина: 1 - остатки Глу, Асп; 2 - аминокислотные остатки Лиз; 3 - фосфорилированные остатки Лиз; 4 - углеводный фрагмент

Остеонектин имеет центры связывания со многими структурами внеклеточного матрикса соединительной ткани: коллагеном, альбумином, тромбоспондином, тромбоцитарным фактором роста PDGF) и клеточными рецепторами. Взаимодействие с лигандами регулируют ионы Ca^{2+} , присоединение которых изменяет заряд, конформацию белка и увеличивает его сродство к коллагену и гидроксиапатитам. В связывании коллагена костного матрикса участвует углеводная составляющая остеонектина. Способность связывать Ca^{2+} , коллаген I типа и гидроксиапатиты позволяет остеонектину формировать центры кристаллизации и инициировать процесс минерализации костной ткани.

Остеокальцин - уникальный белок тканей кости и зубов, он занимает второе место после остеонектина по содержанию в минерализованных тканях. Остеокальцин синтезируется и секретируется остеобластами, остеоцитами и одонтобластами.

Остеокальцин является низкомолекулярным белком, состоящим из 49 аминокислотных остатков, из которых несколько (3-5) представлены γ -карбоксихлутаминовой кислотой (γ -Глу, или gla). Образование γ -Глу происходит во время посттрансляционной модификации белка-предшественника, реакцию катализирует витамин K-зависимый фермент глутамилкарбоксилаза (рис. 11.25).

Рис. 11.26. Взаимодействие остеокальцина с фосфолипидами мембраны остеокласта

Другие катионы тоже способны взаимодействовать с остеокальцином, но с разной степенью сродства ($\text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Ba}^{2+}$). Присоединяя Ca^{2+} , остеокальцин снижает концентрацию этих ионов в межклеточном матриксе. Уменьшается связывание кальция с остеоонектином, и, таким образом, замедляется образование центров кристаллизации, поэтому кость не подвергается избыточной

минерализации. Содержание остеокальцина ограничено в местах минерализации и повышено в растущих тканях кости.

Экспрессия гена остеокальцина регулируется кальцитриолом, который повышает транскрипционную активность гена белка в остеобластах. Концентрация остеокальцина в крови является показателем интенсивности метаболизма кости. При снижении синтеза и секреции остеокальцина наблюдается усиление минерализации кости. Определение его содержания в сыворотке крови используется в качестве чувствительного и специфического метода для характеристики активности остеобластов.

Gla-протеин матрикса - белок, родственник остеокальцину, но секретируется остеобластами на более ранних стадиях развития кости. В составе Gla-протеина присутствуют 5 остатков γ -Глу, с помощью которых он участвует в Ca^{2+} -зависимом взаимодействии с полярными головками липидов мембран остеокластов (рис. 11.27). Gla-протеин активирует остеокласты и снижает скорость минерализации.



Рис. 11.27. Активирующее действие Gla-протеина на остеокласты

Сиалопротеин кости - гликопротеин, который синтезируется остеобластами и одонтобластами. Около 50% массы молекулы приходится на углеводы, из них 12% составляет сиаловая кислота (N-ацетилнейраминовая кислота).

Сиалопротеин кости присутствует только в минерализованных тканях: костях, дентине и цементе. Его можно считать фосфопротеином, так как приблизительно 30% остатков серина в белке фосфорилированы. В молекуле есть несколько участков, содержащих повторы глутаминовой кислоты [-Глу-]п, сульфатированные остатки тирозина, а также гликозамингликановые цепи кератансульфата.

Все функциональные группы, образованные в ходе посттрансляционных модификаций белка, - $-PO_3^{2-}$, остатки сиаловой кислоты (-COO), а также повторы аминокислотных остатков Глу имеют отрицательный заряд, позволяющий сиалопротеину взаимодействовать с Ca^{2+} и гидроксиапатитами. В составе белка имеется последовательность -Арг-Глу-Асп- (RGD-последовательность), комплементарная рецепторам интегрина ($\alpha\gamma\beta 3$) остеокластов (рис. 11.28).

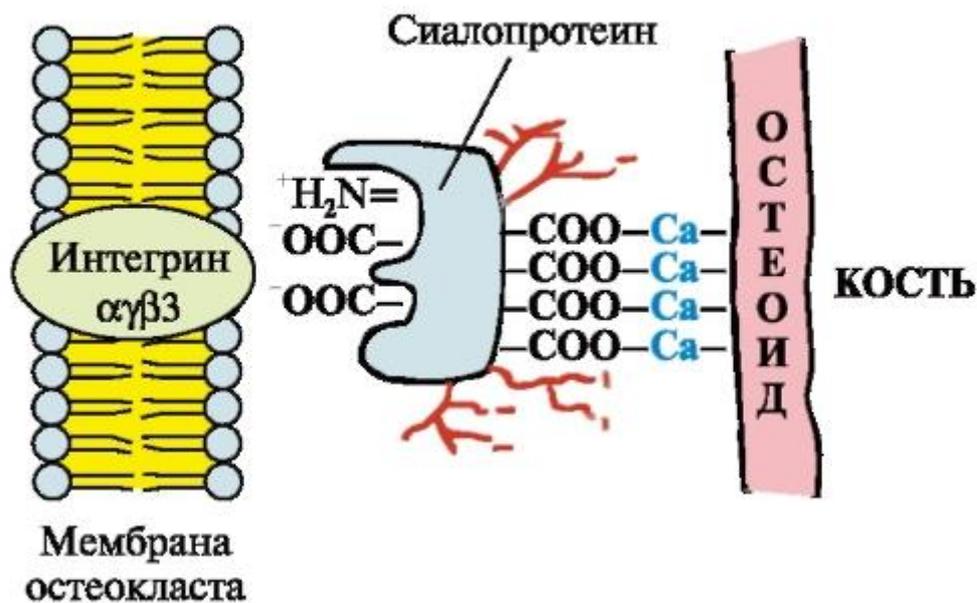


Рис. 11.28. Участие сиалопротеина в прикреплении остеокластов к поверхности кости

Взаимодействие сиалопротеина с $\alpha\gamma\beta3$ -рецепторами остеокластов вызывает их активацию и прикрепление чистой зоны клеток к поверхности кости. В развивающихся тканях гликопротеин регулирует резорбцию матрикса кости и его минерализацию.

Остеопонтин - белок, подобный сиалопротеину кости, но с более низким содержанием углеводов. Он синтезируется и секретируется остеобластами и остеоцитами. В ходе образования зрелой молекулы подвергается множественным посттрансляционным модификациям,

таким, как гликозилирование с участием сиаловой кислоты (N-ацетилнейраминовой кислоты), сульфатирование и фосфорилирование по остаткам серина. В молекуле есть несколько повторов, богатых аспарагиновой кислотой [-Асп-]п, которые могут связываться с гидроксиапатитами минерализованного матрикса. В центре белковой молекулы находится фрагмент -Арг-Глу-Асп- (RGD-последовательность), комплементарный рецепторам интегринов ($\alpha\gamma\beta3$) «чистой» зоны остеокластов. Взаимодействие с остеопонтином стимулирует прикрепление остеокластов к минерализованной поверхности кости. На этих участках костной ткани содержание остеопонтина выше чем других белков более чем в 10 раз.

Активированные остеокласты в области «щёточной» каемки секретируют кислую фосфатазу, которая отщепляет остатки фосфорной кислоты от остеопонтинина и сиалопротеина кости. Дефосфорилирование белков изменяет их заряд и конформацию, вызывая потерю сродства к $\alpha\beta_3$ -рецепторам остеокластов и отделение от клетки. Происходит снижение активности остеокластов и переход к следующей стадии ремоделирования. Таким образом, если в фосфорилированной форме адгезивные белки остеопонтин, сиалопротеин кости стимулируют костную резорбцию и тормозят рост гидроксиапатитов, то в дефосфорилированной они теряют связь с остеокластами. Снижение активности остеокластов сопровождается замедлением процесса разрушения костной ткани (рис. 11.29).

Синтез и секрецию остеопонтинина остеобластами активируют кальцитриол и другие сигнальные молекулы, регулирующие ход минерализации. Кальцитриол в несколько раз повышает экспрессию гена остеопонтинина и секрецию зрелого белка клетками.

Тромбоспондин - секреторный адгезивный гликопротеин, который синтезируется многими типами клеток соединительной ткани и играет важную роль в метаболизме матрикса. Он имеет последовательность -Арг-Глу-Асп-, что позволяет ему связываться с поверхностью клеток и другими структурами межклеточного матрикса. В неминерализованных тканях тромбоспондин локализуется преимущественно на базальных мембранах и связанных с ними эпителиальных клетках кровеносных сосудов, мышечных волокон.

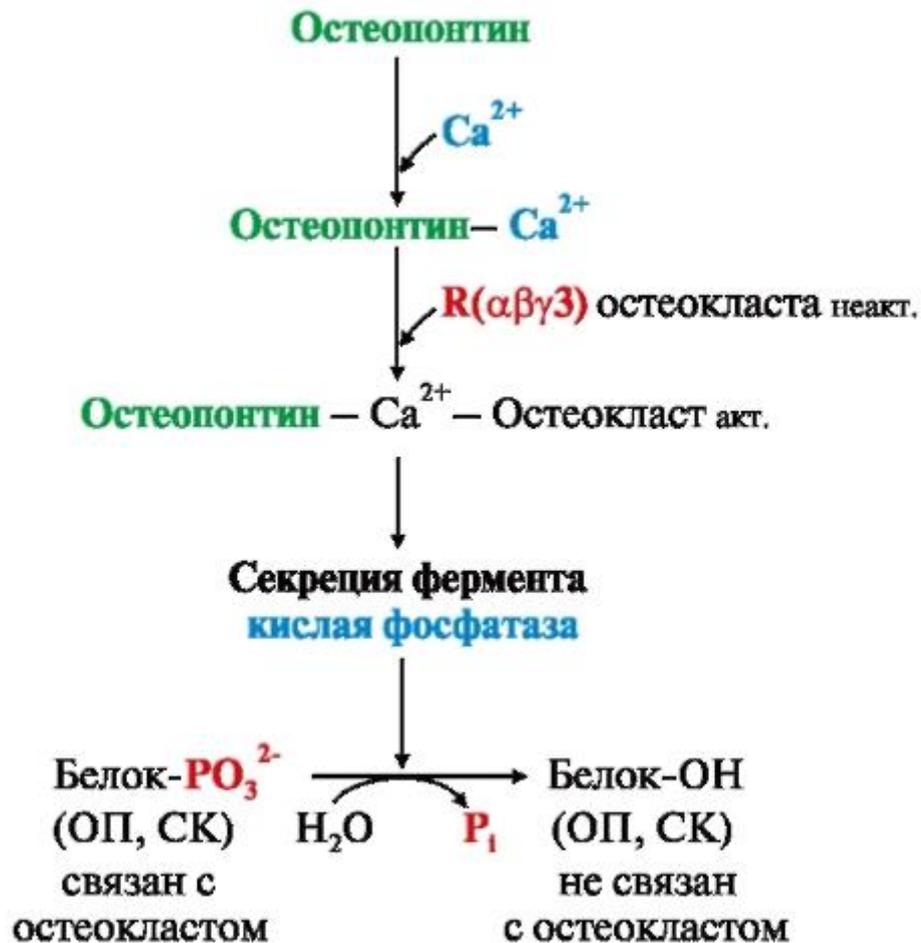


Рис. 11.29. Влияние остеопонтина на активность остеокластов

ОП - остеопонтин; СК - сиалопротеин кости

В костной ткани тромбоспондин синтезируется остеобластами и находится в остеоиде. Он является одним из самых крупных гликопротеинов минерализованного матрикса и состоит из 3 идентичных субъединиц, связанных друг с другом дисульфидными мостиками. Каждая субъединица имеет несколько доменов, которые комплементарны многим белкам и компонентам матрикса, таким, как гепарансульфатсодержащие протеогликаны, фибронектин, ламинин, коллаген I типа, остеонектин, а также ионы кальция (рис. 11.30).

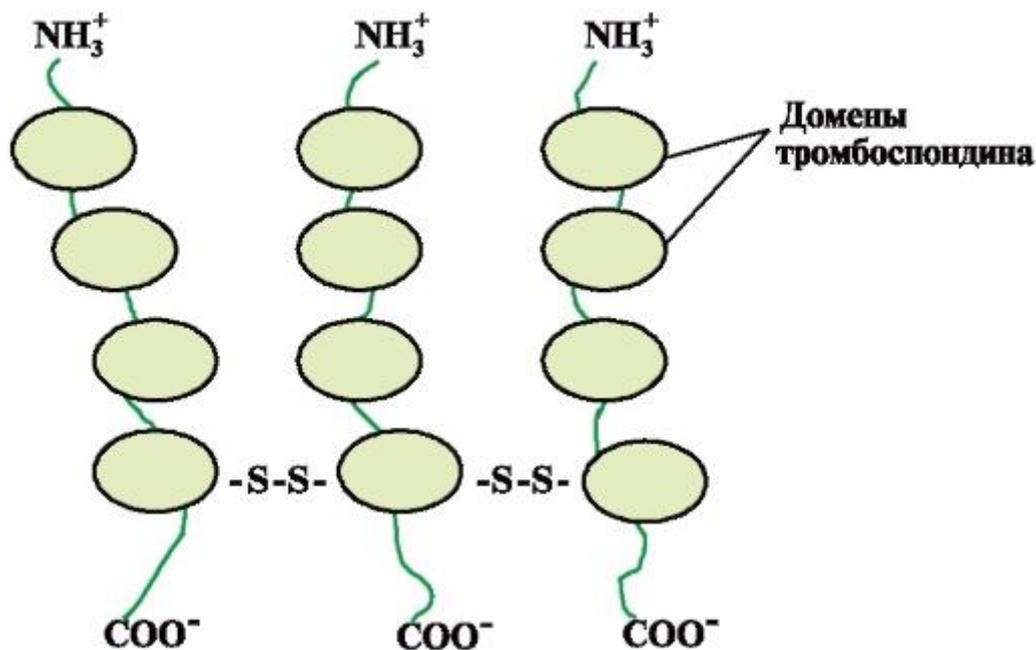


Рис. 11.30. Структура тромбоспондина

Отдельные домены содержат специфические последовательности аминокислот, обеспечивающие взаимодействие тромбоспондина с рецепторами интегринов клеток костной ткани. Сродство центров связывания к интегринам клеточных мембран регулируется ионами кальция.

Факторы роста и дифференцировки остеогенных клеток

Дифференцировка и количество остеобластов, участвующих в процессе остеогенеза и костного ремоделирования, регулируется несколькими ростовыми факторами. Большая часть этих белков синтезируется и секретируется остеобластами. Используя механизмы аутокринной и паракринной регуляции, они стимулируют миграцию предшественников остеобластов к поверхности кости, где происходят их созревание и остеогенез.

IGF-1 костной ткани вырабатывается остеобластами, стимулирует пролиферацию и дифференцировку остеобластов и остеокластов. Рецептор этого фактора роста является тирозиновой протеинкиназой (см. раздел 4). В период роста и развития организма наблюдается наиболее высокое содержание IGF-1. При остеопорозе секреция IGF-1 снижается.

TGF- β минерализованных тканей также синтезируется и секретируется остеобластами. Он активирует пролиферацию остеобластов и дифференцировку преостеобластов по аутокринному механизму. Белок

участвует в регуляции процесса репарации и ремоделирования, стимулирует синтез в остеобластах основного белка матрикса кости коллагена I типа и щелочной фосфатазы, которая повышает концентрацию ионов PO_4^{3-} в зоне минерализации.

PDGF - мощный активатор и митоген клеток мезенхимного происхождения. Он взаимодействует с рецепторами остеогенных клеток, активация которых приводит к повышению скорости матричных процессов (синтез ДНК, РНК, белка) и митозу (рис. 11.31). Количество этого белка возрастает при репарации перелома кости.

Внеклеточные ферменты костной ткани

Неколлагеновыми белками костной ткани, которые синтезируются остеобластами и остеокластами, являются ферменты, обеспечивающие нормальный метаболизм ткани

Щелочная фосфатаза - гликопротеин, связанный с клеточной мембраной остеобластов с помощью фосфатидилинозитолгликанового якоря (рис. 11.32). На стадии минерализации фермент

① Фактор роста

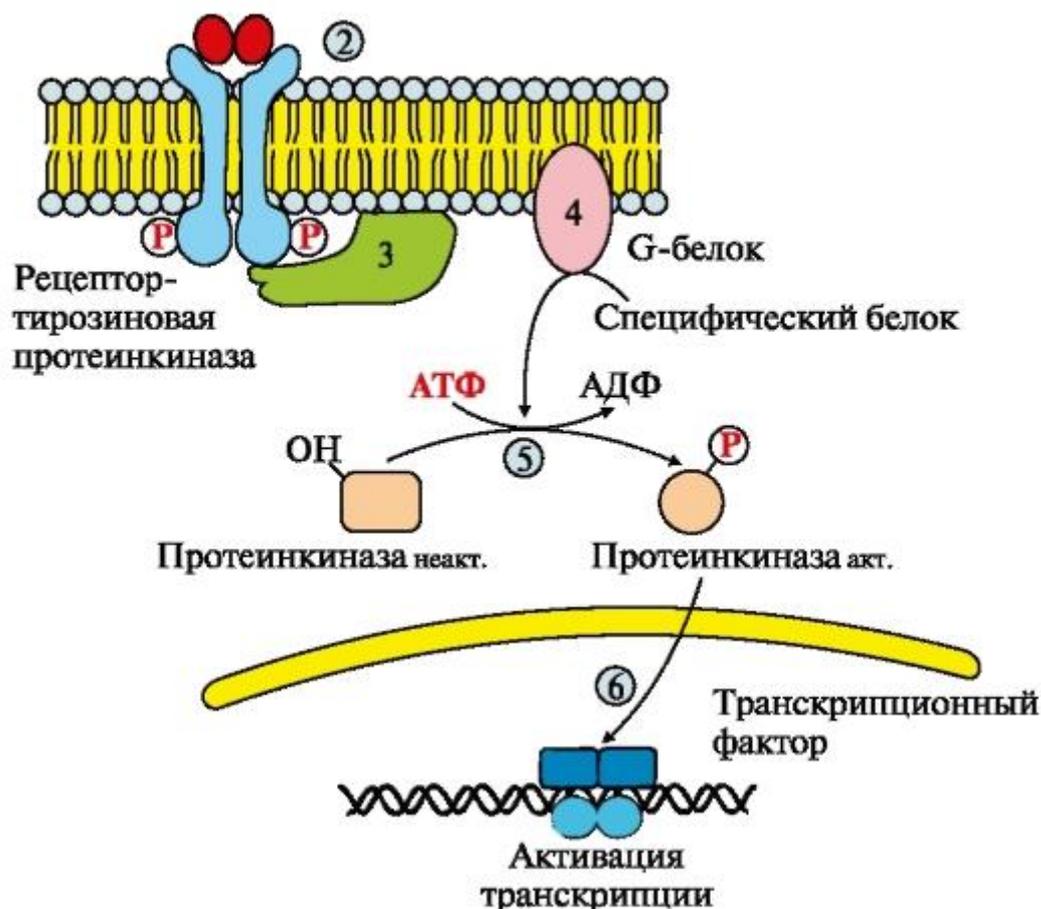


Рис. 11.31. Действие фактора роста на клетку

Присоединение фактора роста (1) к рецептору (2) изменяет его конформацию и стимулирует аутофосфорилирование рецептора (на рисунке не показано), это увеличивает сродство комплекса гормон-рецептор к специфическому белку (3), участвующему в трансдукции сигнала. Комплекс гормон-рецептор-белок 3 взаимодействует с G-белком (4). Образованный тетрамер (гормон-рецептор-белок 3-G-белок), проявляя киназную активность, фосфорилирует (5) протеинкиназу. Протеинкиназа_{акт} активирует (6) транскрипционный фактор, который инициирует транскрипцию специфических генов

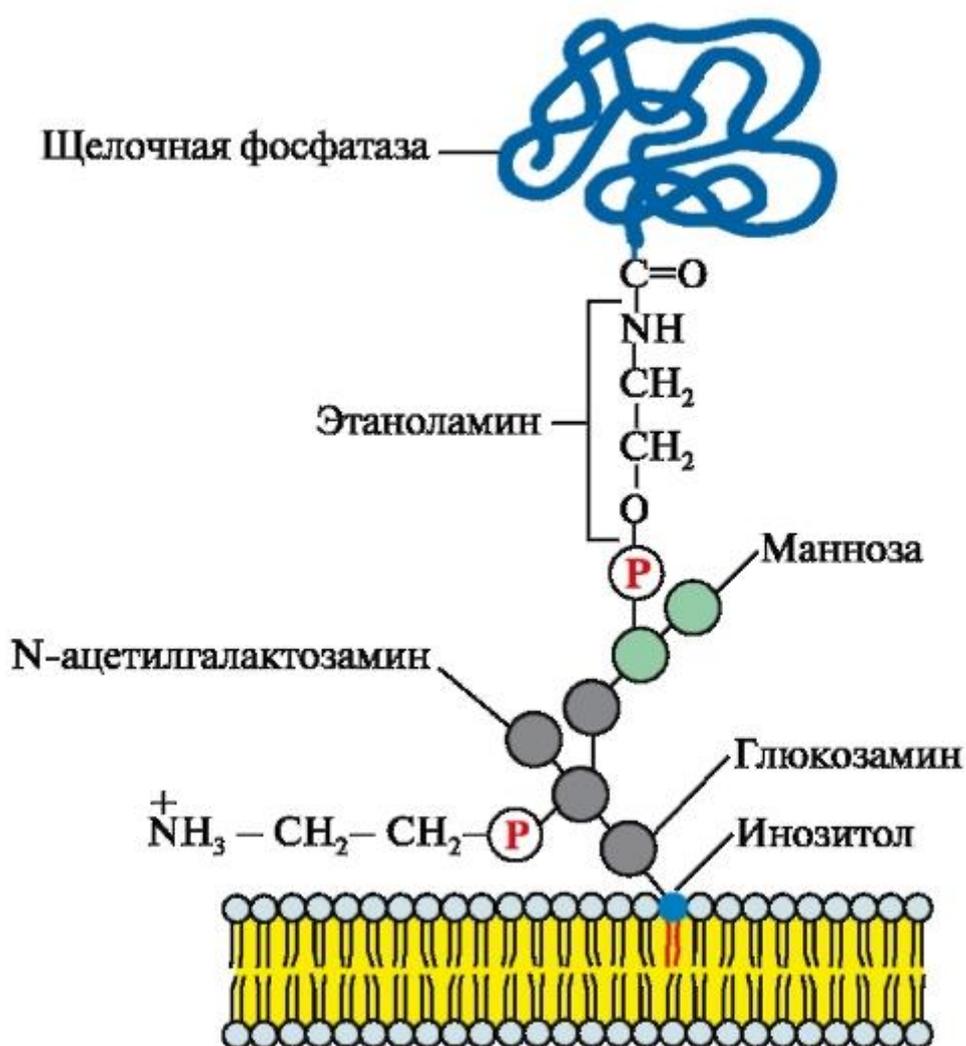
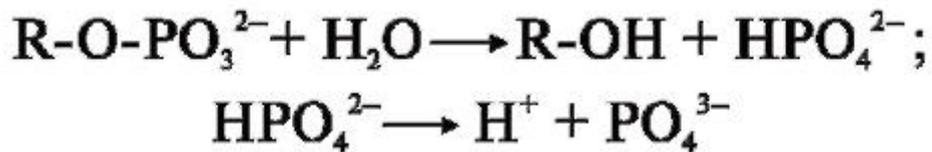


Рис. 11.32. Прикрепление щелочной фосфатазы к мембране с помощью инозитолфосфатного якоря

может отделяться от наружной поверхности мембраны остеобласта под действием фосфолипазы С. Оптимальный рН фермента 9,6, поэтому щелочная фосфатаза проявляет активность только на стадии минерализации.

Фермент катализирует реакцию дефосфорилирования фосфорорганических соединений матрикса кости:



Локально повышая концентрацию PO_4^{3-} , щелочная фосфатаза способствует образованию центров кристаллизации и формированию гидроксиапатитов. Проявляя фосфотрансферазную активность, фермент может переносить фосфатные остатки от одного органического соединения на другое:



Это приводит к изменению активности фосфопротеинов, участвующих в регуляции минерализации. Секреция фермента остеобластами возрастает в период интенсивного образования органических составляющих матрикса и минерализации.

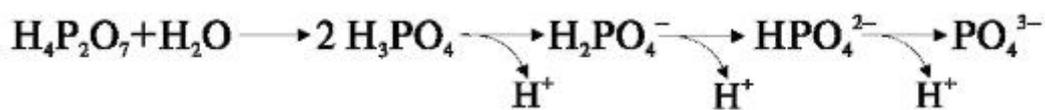
Щелочная фосфатаза, отделившаяся от мембраны остеобластов, может высвободиться в кровоток. В крови в основном представлены 3 изоформы фермента: печеночная, костная и почечная. Они кодируются одним геном, различия в структуре появляются только в результате посттрансляционных модификаций. Костная щелочная фосфатаза составляет приблизительно 50% общего содержания всех изоформ.

Кислые фосфатазы - группа лизосомных ферментов, катализирующих реакции дефосфорилирования белков в кислой среде ($pH_{opt} \sim 5,2$). Существует 5 изоформ фермента (костной ткани, предстательной железы, тромбоцитов, селезенки), которые различаются по электрофоретической подвижности и субстратной специфичности. Секрецию кислой фосфатазы стимулирует присоединение остеокластов к костной поверхности с помощью остеопонтина и сиалопротеина кости. Фермент активен на костной поверхности, обращенной к «щёточной» каемке. Дефосфорилируя остеопонтин и сиалопротеин кости, кислая фосфатаза нарушает прикрепление остеокластов к поверхности кости и замедляет скорость резорбции.

Уровень кислой фосфатазы в крови повышается при различных метаболических заболеваниях минерализованных тканей, сопровождающихся увеличением скорости костного ремоделирования.

Пирофосфатаза секретируется остеобластами в зону минерализации.

Фермент катализирует гидролиз пирофосфата:



Продукты реакции - ионы PO_4^{3-} участвуют в образовании гидроксиапатитов. Формирование центров кристаллизации и минерализация костной ткани может происходить только в присутствии активной пирофосфатазы. И наоборот, снижение активности фермента и повышение концентрации пирофосфата замедляют процесс минерализации.

Протеогликаны

Протеогликаны костного матрикса составляют приблизительно 10% фракции неколлагеновых белков. Содержание и состав этой фракции изменяются в зависимости от стадии развития и типа минерализованной ткани.

Гликозамингликановые цепи протеогликанов в основном состоят из хондроитина, дерматана и кератана (см. тему 11.1). Больше всего в межклеточном матриксе костной ткани содержится хондроитинсульфатов: хондроитин-4- и хондроитин-6-сульфата.

Благодаря большому содержанию сульфогрупп ($-\text{SO}_3^{2-}$) хондроитинсодержащие протеогликаны в гидратированном состоянии способны занимать в межклеточном матриксе большое по объему пространство, которое в дальнейшем должно стать костью. Отрицательно заряженные хондроитинсульфаты и кератансульфаты протеогликанов, связывая ионы Ca^{2+} , активно участвуют в минерализации костной ткани. В зоне кальцификации происходит гидролиз корового белка протеогликанов под действием протеаз. Разрушение гликозамингликановых цепей способствует высвобождению Ca^{2+} в зоне минерализации (рис. 11.33).

Высокополимерные хондроитинсодержащие протеогликаны замещаются двумя малыми протеогликанами декорином и бигликаном, которые внедряются в минерализованный матрикс и сохраняются в нем.

Декорин и бигликан синтезируются остеобластами, но не являются специфическими белками для костной ткани. Эти протеогликаны очень сходны по своей химической природе, однако их коровые белки кодируются

разными генами. Оба белка имеют не более двух гликозамингликановых цепей, но различаются по локализации и функции. Так, декорин, взаимодействуя с молекулами коллагена, регулирует размер и расположение фибрилл. В ходе формирования кости оба белка продуцируются остеобластами, но когда клетки оказываются в минерализованном матриксе и превращаются в остеоциты, то экспрессируется только бигликан.

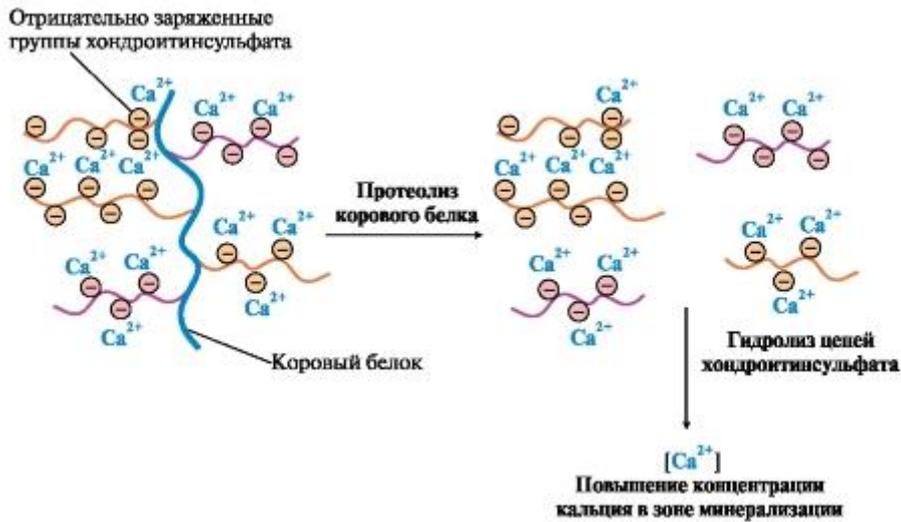


Рис. 11.33. Катаболизм хондроитинсульфатов в костной ткани

Органические небелковые соединения костного матрикса

Липиды костной ткани представлены глицерофосфолипидами, сфинголипидами и холестерином в составе мембран клеток. Секреторные кислые глицерофосфолипиды: фосфатидилсерин и фосфатидилинозитолбисфосфат (см. раздел 4) участвуют в минерализации матрикса. Эти сложные липиды синтезируются остеобластами и поступают во внеклеточное пространство костного матрикса. Остаток фосфорной кислоты и карбоксильная группа серина в составе фосфатидилсерина заряжены отрицательно и способны связывать ионы кальция (рис. 11.34). Фосфатидилсерин играет ведущую роль в:

- связывании Ca^{2+} на начальных этапах минерализации;
- обеспечении Ca^{2+} непрерывно растущих кристаллов гидроксиапатитов;
- образовании связи гидроксиапатитов с белковой матрицей.

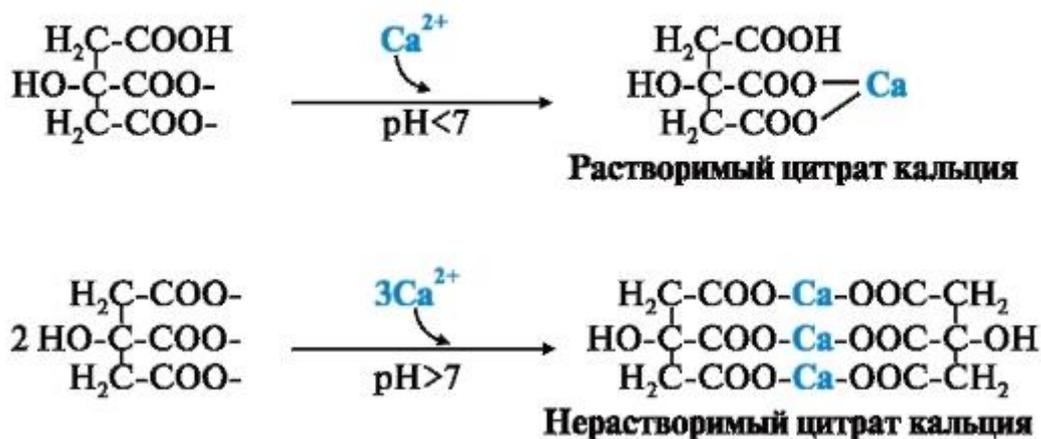


Рис. 11.36. Образование солей цитрата кальция при разных значениях pH среды

В кислой среде (pH < 7,0) часть карбоксильных групп протонируется и теряет заряд, тогда цитрат образует растворимую соль. При снижении концентрации H⁺ (pH > 7,0) вероятность образования растворимых солей очень мала, но возрастает связывание кальция сразу с двумя молекулами цитрата и формирование нерастворимых солей.

Длительное воздействие паратгормона на остеобласты приводит к увеличению содержания цитрата в межклеточном матриксе кости на 25-30%. В результате возрастает образование растворимого цитрата кальция, что способствует разрушению солей кости и сохранению кальция в сыворотке крови.

Костная ткань, благодаря гидроксиапатитам, обладает уникальной способностью абсорбировать различные молекулы, содержащиеся в циркулирующей крови. К ним относятся альбумин, β₂-микроглобулин, иммуноглобулины, гемоглобин, трансферрин, α₁-антитрипсин и др. Поэтому, помимо веществ органической природы, которые синтезируются клетками костной ткани, в матриксе присутствуют белки, поступающие из сыворотки. Они составляют примерно треть общего количества неколлагеновых белков минерализованного матрикса.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выберите правильные ответы. Остеобласты:

- А. Выстилают поверхность кости.
- Б. Формируют большую часть костного матрикса до его кальцификации.
- В. Являются многоядерными клетками. Г. Участвуют в минерализации кости.
- Д. Играют важную роль в активизации остеокластов.

2. Выберите правильные ответы. Остеоциты:

- А. Заключены в костный матрикс. Б. Связаны с остеоидом.
- В. Участвуют в моделировании и ремоделировании кости.
- Г. Сообщаются друг с другом с помощью отростков. Д. Покоящиеся остеокласты.

3. Установите соответствие.

- А. Активируются в период резорбции кости Б. Участвуют в формировании эмали зуба
- В. Синтезируют большую часть белков костного матрикса
- Г. Занимают лакуны в костной ткани
- Д. Теряют ядро на стадии дифференцировки.

1. Остеобласты

2. Остеокласты

3. Остеоциты

4. Выполните «цепное» задание.

а) 65% костной ткани составляют неорганические компоненты -

б) эти соединения:

- А. Синтезируются в остеобластах. Б. Формируются в остеокластах.
- В. Состоят в основном из кальция и фосфатов.
- Г. Образуются в ходе резорбции.
- Д. Могут содержать ионы Al^{3+} , SO_4^{2-} .

в) их формирование обеспечивается (выберите правильные ответы):

А. Повышенной активностью остеокластов. Б. Присутствием органической матрицы.

В. Определенным строением неколлагеновых белков.

Г. Присутствием во внеклеточном пространстве сульфатированных протеогликанов.

Д. Снижением рН среды в течение продолжительного времени.

г) оптимальные условия процесса способствуют формированию структуры, характеризующейся коэффициентом который варьирует от 1,33 до 2,0;

д) изменения значения коэффициента вызваны . замещениями в структуре вещества.

е) возможные варианты замещений (выберите правильные ответы):

А. $Mg^{2+} \rightarrow Ca^{2+}$. Б. $NH_3^+ \rightarrow Ca^{2+}$.

В. $CO_3^{2-} \rightarrow PO_4^{3-}$. Г. $F^- \rightarrow OH^-$.

Д. $Ba^{2+} \rightarrow Ca^{2+}$.

ж) замещения могут протекать в несколько стадий, на 1-й стадии в обмене участвуют только ионы ., ., .

з) на 2-й стадии происходят замещения ионов .

и) на 3-й стадии ионы из этого слоя перемещаются в:

А. Гидратный слой. Б. Глубь кристалла.

В. Окружающую биологическую жидкость.

к) обмен ионов этого слоя может привести к снижению (выберите правильные ответы):

А. Соотношения Са/Р.

Б. Прочности кристаллов.

В. Устойчивости к воздействию химических веществ.

Г. Скорости роста кристаллов. Д. Образования более упорядоченных и устойчивых структур.

5. Заполните табл. 11.4.

6. Выполните «цепное» задание.

а) для диагностики остеопороза в крови и моче человека определяют концентрацию:

А. γ -Глу и Глу.

Б. Пролина и гидроксипролина.

В. Пиридинолина и дезоксипиридинолина. Г. Лизина и гидроксизина.

б) эти соединения присутствуют в костной ткани в составе:

А. Протеогликанов. Б. Коллагена I типа.

В. Сиалопротеина кости. Г. Бигликана.

в) в белке они образуются в результате конденсации аминокислотных остатков:

А. Глутамата и γ -Глу.

Б. Гидроксипролина и глицина.

В. Аллизина и фосфосерина. Г. Лизина и аллизина.

Таблица 11.4

Неколлагеновые белки костной ткани

Белок	Гликопротеин	Доменный белок	Содержит остатки γ -Глу	Имеет участок, комплементарный $\alpha\beta\gamma$ -рецепторам	Функция
Остеопонтин					
Сиалопротеин					
Остеокальцин					
Остеонектин					
Gla-протеин					
Тромбоспондин					

г) один из двух аминокислотных остатков образуется в результате посттрансляционной модификации:

А. Гидроксилирования. Б. Фосфорилирования.

В. Окислительного дезаминирования. Г. Гликозилирования.

д) эту модификацию цепей коллагена костной ткани катализирует фермент:

А. Пролилгидроксилаза. Б. Лизилгидроксилаза.

В. Протеинфосфатаза. Г. Лизилоксидаза.

7. Выполните «цепное» задание.

а) остеобласты синтезируют коллаген I типа и группу . белков.

б) к этой группе относятся белки:

А. Остеопонтин.

Б. Костный сиалопротеин.

В. Остеокальцин. Г. Остеонектин.

Д. Все перечисленные.

в) аминокислотные радикалы белков подвергаются ряду посттрансляционных модификаций(выберите правильные ответы):

А. Гликозилированию. Б. Фосфорилированию.

В. Карбоксилированию. Г. Декарбоксилированию. Д. Ацилированию.

г) модификации позволяют этим белкам (выберите правильные ответы):

А. Погружаться в липидный бислой мембран остеобластов.

Б. Участвовать в активации остеокластов.

В. Активировать минерализацию матрикса.

Г. Замедлять минерализацию матрикса. Д. Взаимодействовать с остеоидом.

8. Установите соответствие.

А. Углеводная часть белка составляет 50%. Б. Содержит аминокислотные остатки

γ-Глу.

В. Может взаимодействовать с коллагеном. Г. Дефосфорилируя фосфопротеины,

повышает концентрацию PO_4^{3-} . Д. В ходе минерализации подвергаются гидролизу, обеспечивая процесс Ca^{2+} .

1. Остеонектин.

2. Остеокальцин.

3. Протеогликаны.

9. Выберите правильные ответы. Остеопонтин:

А. Является секреторным белком остеобластов.

- Б. Содержит углеводные остатки сиаловой кислоты.
- В. Взаимодействует с интегринными $\alpha\upsilon\beta 3$ мембраны остеокластов.
- Г. Регулирует активность остеокластов. Д. Имеет центры для связывания кальция.

10. Установите соответствие.

А. Фосфорилированный остеопонтин. Б. Дефосфорилированный остеопонтин.

1. Имеет высокое сродство к $\alpha\upsilon\beta 3$ -рецепторами интегрина остеокластов.
2. Форма белка, образующаяся под действием кислой фосфатазы.
3. Синтезируется остеокластами.
4. Является субстратом щелочной фосфатазы.
5. Подвергается посттрансляционному карбоксилированию.

11. Установите соответствие

Функция:

А. Пирофосфатаза. Б. Кислая фосфатаза.

В. Цитратсинтаза. Г. Карбонгидраза.

Фермент:

1. Обеспечивает повышение концентрации H^+ в зоне резорбции.
2. Дефосфорилирует остеопонтин и сиалопротеин кости.
3. Катализирует гидролиз $H_4P_2O_7$.
4. Повышает концентрацию цитрата в зоне минерализации.

12. Выберите правильные ответы.

В костной ткани цитрат:

А. Участвует в энергетическом обмене остеобластов и остеокластов.

Б. Снижает количество ионов Ca^{2+} .

В. Образует растворимые соли кальция и способствует разрушению кости.

Г. Синтезируется в ЦТК. Д. Может формировать растворимые и нерастворимые соли кальция.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Остеопетроз («мраморная болезнь») - редкое заболевание, которое является следствием дисфункции остеокластов. Одна из форм заболевания вызывается недостаточностью карбоангидразы II. Почему снижение активности этого фермента приводит к нарушению функции остеокластов? Для ответа на вопрос:

- а) напишите реакцию, которую катализирует карбоангидраза II остеокластов, и схему диссоциации образованного продукта;
- б) укажите, как повышение концентрации одного из продуктов диссоциации влияет на структуру мембраны остеокласта;
- в) опишите механизмы транспорта этих ионов из клетки;
- г) объясните, как снижение концентрации ионов повлияет на активность ферментов, вызывающих резорбцию костного матрикса.

2. В Забайкалье вдоль берегов реки Уров местность загрязнена радионуклидами, в частности стронцием (Sr^{40}). У местных жителей и животных наблюдают частые переломы и недоразвитие конечностей. Объясните влияние радиоактивного стронция на прочность костной ткани. Для этого:

- а) представьте формулу основного апатита костной ткани у здорового человека;
- б) опишите изменения, происходящие в структуре апатитов у жителей этой местности, подтвердив соответствующей реакцией;
- в) укажите значение соотношения Ca/P в норме и его изменение при данной патологии;
- г) приведите примеры замещения других ионов апатитов кости, как изменяется их устойчивость и прочность;
- д) назовите условия, определяющие интенсивность таких превращений.

3. Несовершенный остеогенез - это группа наследственных болезней, характеризующаяся хрупкостью костей и резорбцией альвеолярного гребня. Эти заболевания вызваны точечными мутациями в генах, кодирующих пре- α_1 - и α_2 -цепи коллагена I типа. Если мутация происходит в N-концевом сигнальном пептиде этих цепей, то течение болезни легкое или умеренное. При нарушении первичной структуры C-концевого или срединного

фрагмента цепи пре-про-коллагена болезнь протекает очень тяжело и приводит к внутриутробной гибели плода или смерти ребенка вскоре после рождения. Почему мутации по типу замены нуклеотида с изменением смысла кодона в гене препро- α_1 - и α_2 -цепи коллагена приводят к разным формам течения болезни? Для ответа на вопрос:

- а) представьте схему этапов синтеза коллагена, укажите N-концевой сигнальный пептид, C-концевой и срединный участки цепи пре-про-коллагена;
- б) опишите роль этих фрагментов в формировании коллагенового волокна;
- в) объясните, какие из этих этапов нарушаются в результате мутаций в генах пре-про- α_1 - и α_2 -цепей коллагена I типа.

4. В медицине известны наследственные заболевания, вызванные генетическими изменениями в структуре транскрипционных факторов, рецепторов факторов роста, а также белков, участвующих в функционировании сигнальных систем. У больных отмечают внутриутробное нарушение развития скелета и последующее ухудшение состояния после рождения. Какую роль играют факторы роста в развитии костной ткани? Для ответа на вопрос:

- а) опишите функционирование одной из сигнальных систем, в активации которой принимает участие фактор роста;
- б) укажите, нарушения в структуре каких белков могут сделать передачу сигнала невозможной;
- в) объясните, какие клетки минерализованной ткани являются мишенями факторов роста, синтез каких веществ они регулируют в этих клетках и их роль в процессе новообразования кости.

5. Мукополисахаридозы представляют собой группу болезней лизосомного накопления. Они вызваны недостатком ферментов, расщепляющих дерматансульфат, гепарансульфат, хондроитинсульфат. Пациенты с этими заболеваниями часто имеют низкий рост вследствие дефекта развития костного скелета и деформацию грудной клетки. Какую роль играют протеогликаны в развитии костной ткани? Для ответа на вопрос:

- а) опишите принцип построения протеогликана;
- б) напишите формулы дисахаридных звеньев хондроитинсульфата, гепарансульфата и дерматансульфата;

в) представьте схему катаболизма протеогликанов костной ткани и объясните их роль в минерализации матрикса.

11.8. РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ

На первый взгляд, костная ткань не подвергается никаким изменениям, но на самом деле постоянно обновляется. Каждые 10 лет старая костная ткань человека заменяется новой, интенсивность обмена определяется соотношением скоростей резорбции и костеобразования. В альвеолярной кости процессы перестройки протекают более активно, чем в других костях скелета, соответствуя изменению функциональной нагрузки на зубочелюстной аппарат.

У детей и подростков образование новой костной ткани происходит быстрее, чем резорбция, ее плотность увеличивается, достигая максимума к 18 годам. В этот период альвеолярная кость формируется и растет. Затем наступает равновесие - оба процесса идут с одинаковой скоростью. Ежегодно происходят обновление и ремоделирование 5-10% скелета. Но когда возраст человека приближается к 40 годам, скорость костеобразования постепенно снижается по сравнению с резорбцией, наблюдается медленное уменьшение массы костной ткани и высоты альвеолярного гребня - развивается остеопороз.

Процесс обновления (ремоделирования) заключается в относительно быстрой резорбции (2-3 нед), а затем сравнительно медленном образовании (2-3 мес) новой кости. Оба этапа тесно связаны между собой по времени и месту происходящих реакций. Они находятся под контролем системных факторов (гормонов) и группы локальных цитокинов, которые могут быть включены в матрикс костной ткани. В цикле ремоделирования кости различают активацию, резорбцию, реверсию, костеобразование (минерализацию) и покой (рис. 11.37).

Основную роль в местном контроле за процессами резорбции и костеобразования играют остеобласты. Они не только синтезируют компоненты органической матрицы костной ткани, но и управляют перестройкой кости. Остеобласты имеют рецепторы к многим первичным стимуляторам резорбции и при получении сигнала секретируют цитокины и другие регуляторные белки, активирующие этот процесс. Из матрикса в период его разрушения высвобождаются факторы роста (см. тему 11.5, рис.

11.20), они активируют остеобласты, которые обеспечивают образование в местах резорбции всех структурных компонентов новой ткани.

Активация

Эта стадия начинается с воздействия на клетки остеобластного происхождения: остециты, выстилающие клетки и преостеобласты стимулирующих факторов. Активированные остеобласты секретируют сигнальный белок (цитокин) - фактор, стимулирующий образование колоний моноцитов. К поверхности кости мигрируют частично дифференцированные мононуклеарные преостеокласты. Другое сигнальное вещество - белок RANKL (receptor activator of nuclear factor KB ligand) играет ключевую роль в молекулярной регуляции ремоделирования костной ткани, он синтезируется остеобластами и, присоединяясь к специфическим мембранным рецепторам преостеокластов, стимулирует формирование крупных многоядерных остеокластов, способных резорбировать кость.

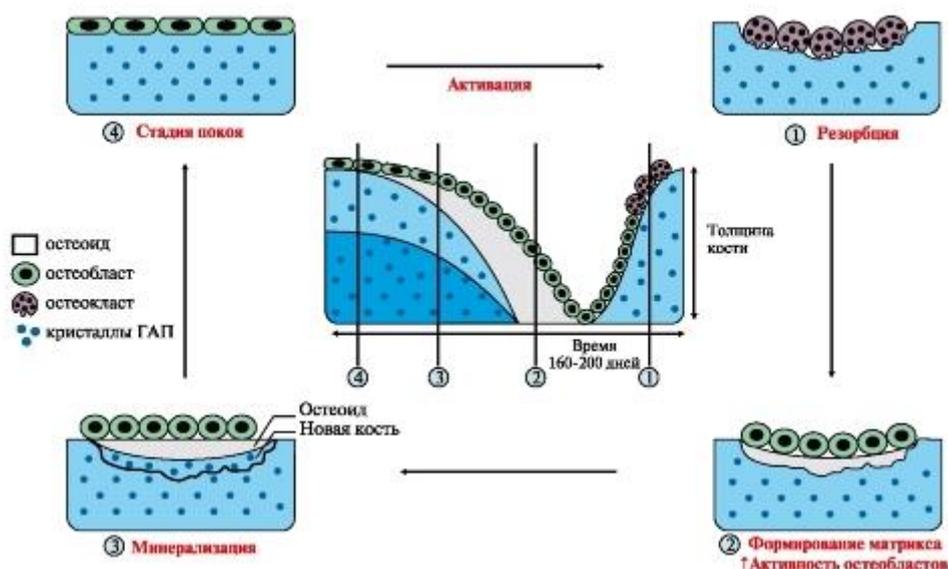


Рис. 11.37. Основные стадии костного ремоделирования

Таким образом, остеобласты регулируют образование функционально активных колоний остеокластов (рис. 11.38). Клетки обоих типов - остеобласты и остеокласты, участвующие в ремоделировании, собираются в многочисленных участках обновления (3-4 млн), разбросанных по всему скелету.

Кроме того, остеобласты секретируют нейтральную коллагеназу, которая гидролизует коллаген остеоида (неминерализованный слой) и готовит кость к связыванию с чистой зоной мембраны остеокласта. Неколлагеновые белки остеобластов - остеокальцин, сиалопротеин, остеопонтин, G1a-протеин -

участвуют в прикреплении колоний остеокластов к поверхности кости и их активации.

Остеобласты синтезируют и выделяют во внеклеточное пространство остеокласт-ингибирующий фактор остеопротегерин. Этот гликопротеин является структурным аналогом рецептора $RANKL$ мембраны остеокласта. Остеопротегерин, связывая $RANKL$, снижает его активирующее действие на преостеокласты (рис. 11.39).

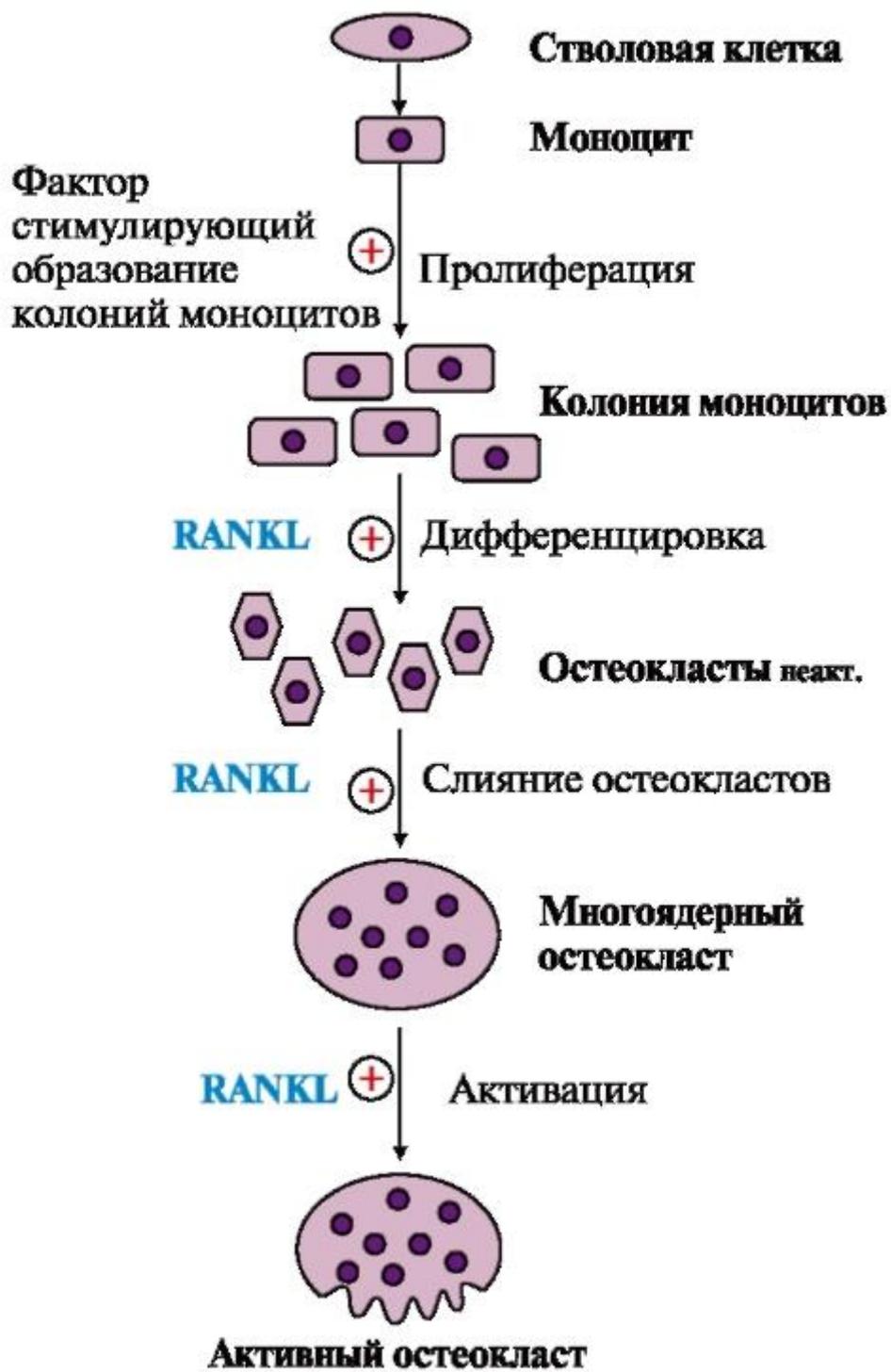


Рис. 11.38. Участие белка RANKL в активации остеокластов

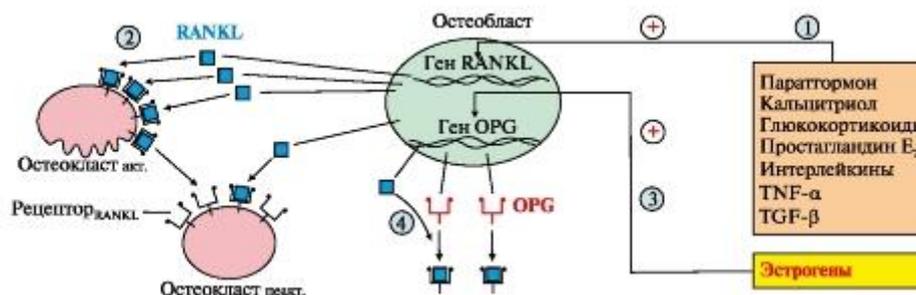


Рис. 11.39. Регуляция активности остеокластов белком остеопротегерином (OPG)

1 - действие локальных или системных факторов на остеобласты активирует экспрессию гена белка RANKL - активатора остеокластов, которые имеют к нему рецепторы; 2 - взаимодействие белка с рецептором RANKL (R_{RANKL}) стимулирует образование активных многоядерных остеокластов, включающихся в процесс ремоделирования; 3 - эстрогены стимулируют экспрессию гена белка остеопротегерина (OPG), который является структурным аналогом R_{RANKL} остеокластов; 4 - секретируемый остеобластами OPG конкурирует с R_{RANKL} за связывание с регуляторным белком, поэтому активирующее действие RANKL на остеокласты снижается

Резорбция

Активированные остеокласты являются фагоцитами для кости. Клетки с высокой скоростью синтезируют и секретируют лизосомальную коллагеназу, которая способна гидролизовать тройную спираль коллагена. H^+ -АТФ-аза, H^+/K^+ - АТФ-аза и переносчики Cl/H^+ участка мембраны остеокласта («щёточной» каемки), обращенного к резорбируемой поверхности, создают оптимальное значение среды (рН 3,5-4,0), необходимое для проявления ферментативной активности коллагеназы и других ферментов. Источником протонов (H^+) являются угольная кислота (H_2CO_3), цитрат, продукция которого возрастает в остеобластах в этот период. Гидролиз коллагена приводит к нарушению порядка в структуре матрицы и делает доступными для разрушения другие органические составляющие матрикса. Продукты гидролиза путем эндоцитоза поступают в остеокласт со стороны «щёточной» каемки и высвобождаются из него со стороны базальной мембраны, которая контактирует с кровеносным сосудом.

Кислая среда в области резорбции способствует вымыванию кальция из апатитов. Первыми высвобождаются ионы Ca^{2+} легко обменивающихся солей гидратной оболочки кристаллов. При этом неколлагеновые белки, взаимодействуя с ними, препятствуют обратному процессу. Активированные

остеобласты увеличивают секрецию цитрата, который в кислой среде образует растворимые соли с Ca^{2+} и таким образом снижает вероятность восстановления

гидроксиапатитов. Помимо цитрата кальция, образуются растворимые соли кальция с фосфатом и карбонатом, которые поступают в кровь.

Реверсия

Локальные ростовые факторы высвобождаются из матрикса и взаимодействуют с рецепторами остеобластов, которые являются тирозиновыми протеинкиназами. Изменение конформации рецептора приводит к его активации и дает начало каскаду реакций фосфорилирования белков, в том числе специфических факторов транскрипции. В остеобластах возрастает экспрессия генов белков матрикса костной ткани, а также ферментов, участвующих в синтезе этих белков и небелковых компонентов. Активные остеокласты синтезируют и секретируют кислую фосфатазу, которая дефосфорилирует остеопонтин и сиалопротеин, обеспечивающие прикрепление клеток в зоне резорбции. Связь остеокластов с поверхностью кости ослабевает, поэтому постепенно снижается резорбция и возрастает скорость костеобразования, т.е. наступает непродолжительное равновесие в интенсивности этих процессов. В течение этой стадии ремоделирования резорбция идет одновременно с формированием костной ткани.

На резорбированной поверхности остеобласты формируют цементирующую линию (слой из секреторных гликопротеинов), способную удерживать колонии остеобластов. В области, окруженной остеокластами, резорбция длится около

2 нед. Затем остеокласты в соответствии с генетической программой разрушаются путем апоптоза. При недостатке эстрогенов этот процесс может задерживаться.

Костеобразование

Процессу минерализации предшествует увеличение поступления O_2 в костную ткань (усиление оксигенации), способствующее активации аэробного гликолиза, общего пути катаболизма, окислительного фосфорилирования АДФ. Повышение образования АТФ в остеобластах необходимо для того, чтобы обеспечить энергией синтез коллагена, неколлагеновых белков матрикса, протеогликанов, кислых глицерофосфолипидов, специфических ферментов.

Первым начинает формироваться остеоид, и только когда его толщина превышает $6 \cdot 10^{-6}$ м, он начинает минерализовываться. Скорость процесса зависит от содержания кальция, фосфатов, ряда микроэлементов и тормозится пирофосфатом.

На этой стадии остеобласты образуют мембранные тельца, или мембранные везикулы, небольшого размера ~ 100 нм (рис. 11.40). Эти пузырьки являются зонами нуклеации, где начинается формирование центров кристаллизации и рост

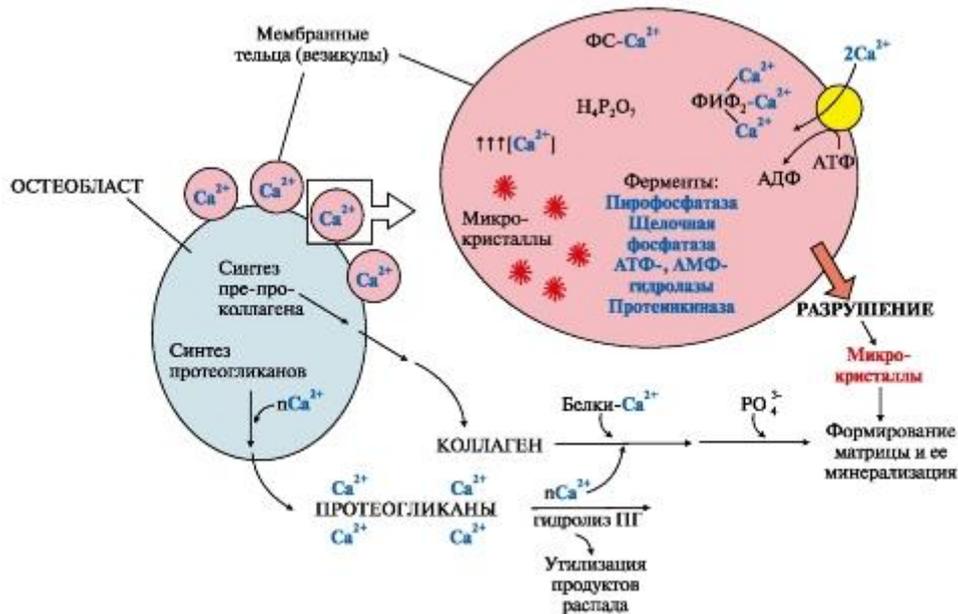
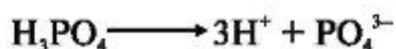


Рис. 11.40. Этапы процесса минерализации костной ткани

Ca^{2+} , глицерофосфолипидов и ферменты пирофосфатазу, щелочную фосфатазу, АТФ- и АМФгидролазы, протеинкиназу. Ca^{2+} -АТФ-азы закачивают в мембранные везикулы Ca^{2+} на стадии их формирования, поэтому его концентрация в этих структурах в 20-25 раз выше, чем в остеобластах. Значительная часть Ca^{2+} в пузырьках связана с отрицательно заряженными глицерофосфолипидами - фосфатидилсеринем и фосфатидилинозитолбисфосфатом. Высокую концентрацию PO_4^{3-} в везикулах поддерживают АТФ- и АМФ-гидролазы, щелочная фосфатаза, которая дефосфорилирует фосфопротеины.



Содержимое мембранных везикул представляет собой перенасыщенный раствор фосфата кальция. Процесс, происходящий в этих пузырьках, протекает в 2 этапа: вначале идет нуклеация, т.е. образование плотного осадка, а затем - рост микрокристаллов гидроксиапатитов. Неколлагеновые белки, коллаген, протеогликаны обеспечивают рост кристаллов, поэтому в их отсутствие образование больших структур невозможно.

Остеобласты, обеспечив формирование и метаболизм мембранных везикул, продолжают выполнять свою функцию, в частности заполнять резорбированную полость органическими компонентами межклеточного матрикса. К этим веществам относятся хондроитинсульфатсодержащие протеогликаны, которые секретируются из клеток в комплексе с кальцием, гликопротеины, остеокальцин и другие белки. В межклеточном пространстве завершается формирование молекул коллагена I типа, происходит частичный гидролиз цепей протеогликанов, что обеспечивает повышение концентрации кальция в зоне минерализации.

Образование микрокристаллов в везикулах вызывает разрушение частиц и высвобождение содержимого пузырьков в зону минерализации. Одним из главных ферментов, обеспечивающих минерализацию, является пирофосфатаза. Она расщепляет пирофосфат и повышает концентрацию PO_4^{3-} во внеклеточном пространстве. Таким образом, в зоне минерализации значительно возрастает концентрация Ca^{2+} и PO_4^{3-} , которые очень специфично связываются белками матрицы - начинается процесс внеклеточного формирования центров кристаллизации.

Важным условием формирования центров кристаллизации является присутствие фосфопротеинов на участке минерализации. Фосфорилирование белков матрикса по аминокислотным остаткам Сер, Тре, Лиз катализируют протеинкиназы (рис. 11.41).

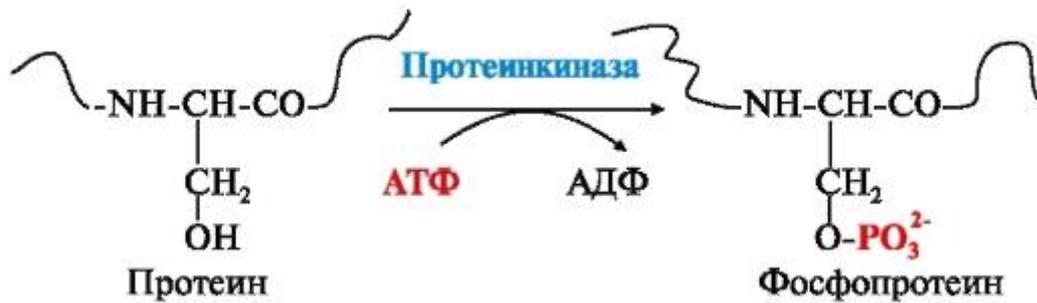


Рис. 11.41. Фосфорилирование белков матрикса

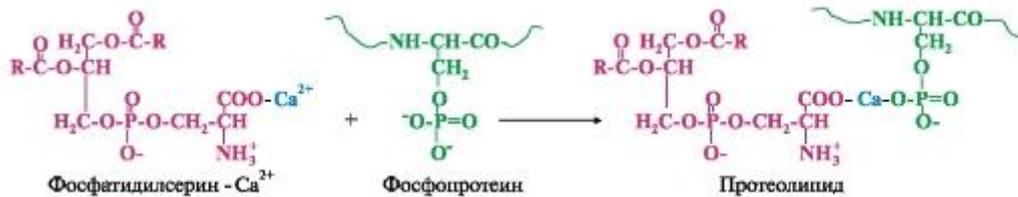


Рис. 11.42. Инициация кристаллизации с участием глицерофосфолипидов

Начало образованию центров кристаллизации могут дать протеолипиды, которые образуются при взаимодействии фосфопротеинов и кислых фосфолипидов, связанных с кальцием

(рис. 11.42).

Наиболее активно Ca^{2+} и PO_4^{3-} связываются неколлагеновыми белками остеонектином и Gla- протеином, синтез и секреция которых возрастает на стадии костеобразования (рис. 11.43, 11.44).

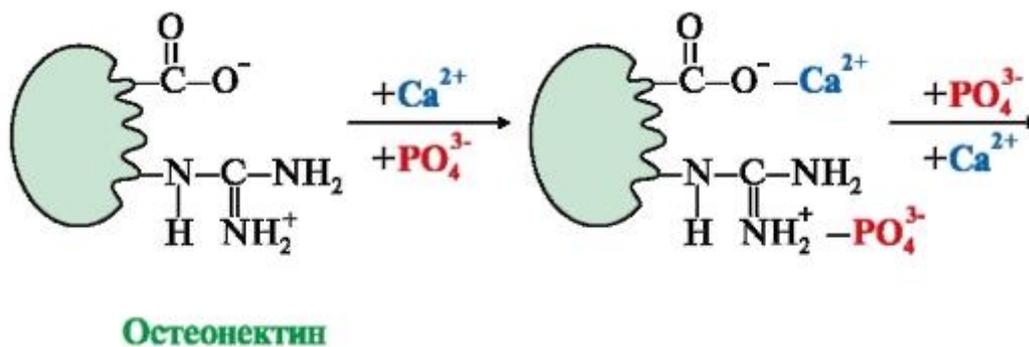


Рис. 11.43. Участие остеонектина в минерализации

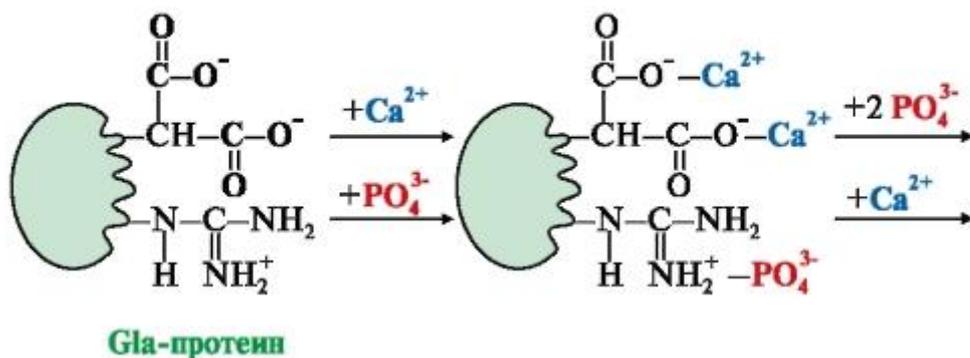


Рис. 11.44. Роль Gla-протеина в построении кристаллов ГАП

Эти белки располагаются между фибриллами коллагена, обеспечивая их правильную ориентацию и участие в образовании апатитов. Центры кристаллизации формируются в каналах, образованных микрофибриллами коллагена (рис. 11.45).

В формировании центров кристаллизации особую роль играют гликозилированные остатки гидроксизина в молекуле коллагена. В межклеточном матриксе происходит отщепление остатка галактозы, что способствует усилению положительного заряда в радикале (рис. 11.46).

NH_3^+ -Группы лизина взаимодействуют с ионами PO_4^{3-} , которые, связывая ионы Ca^{2+} , обеспечивают ориентированный рост микрокристаллов.

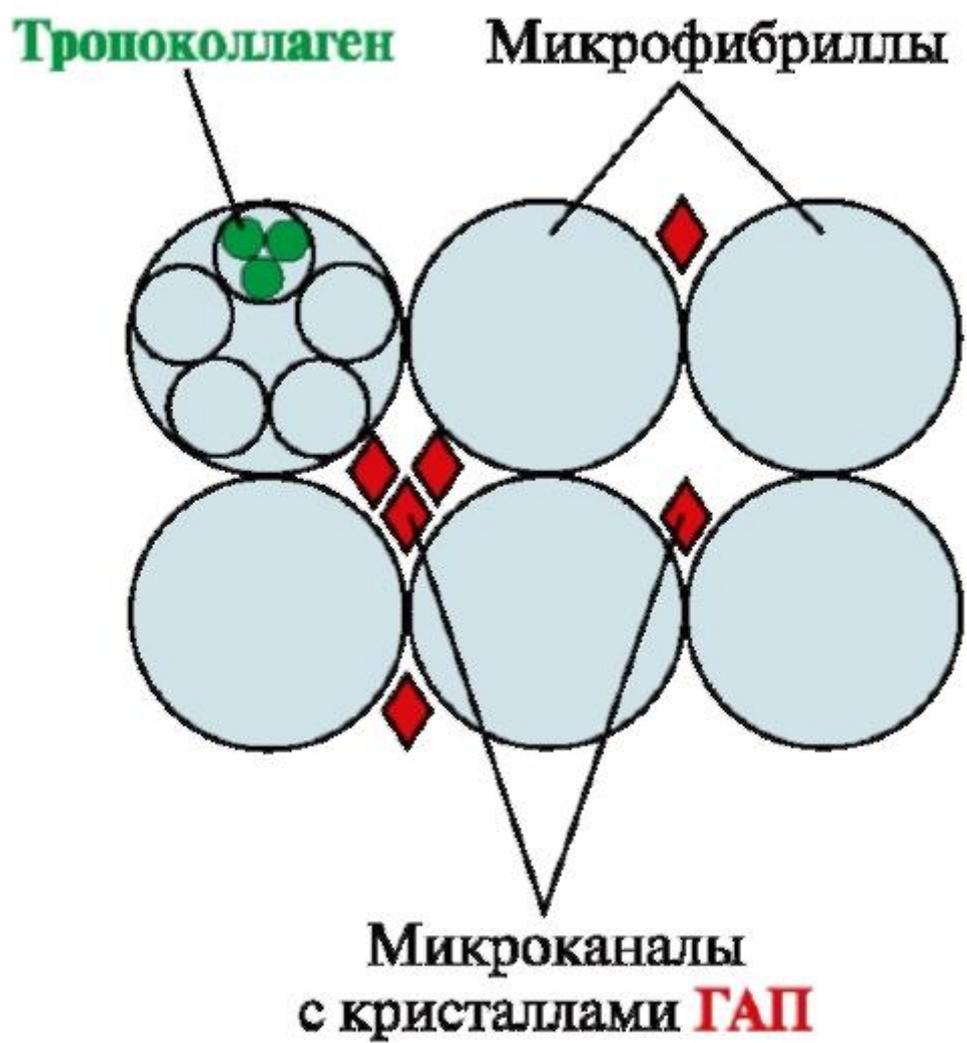


Рис. 11.45. Положение кристаллов ГАП в микроканалах

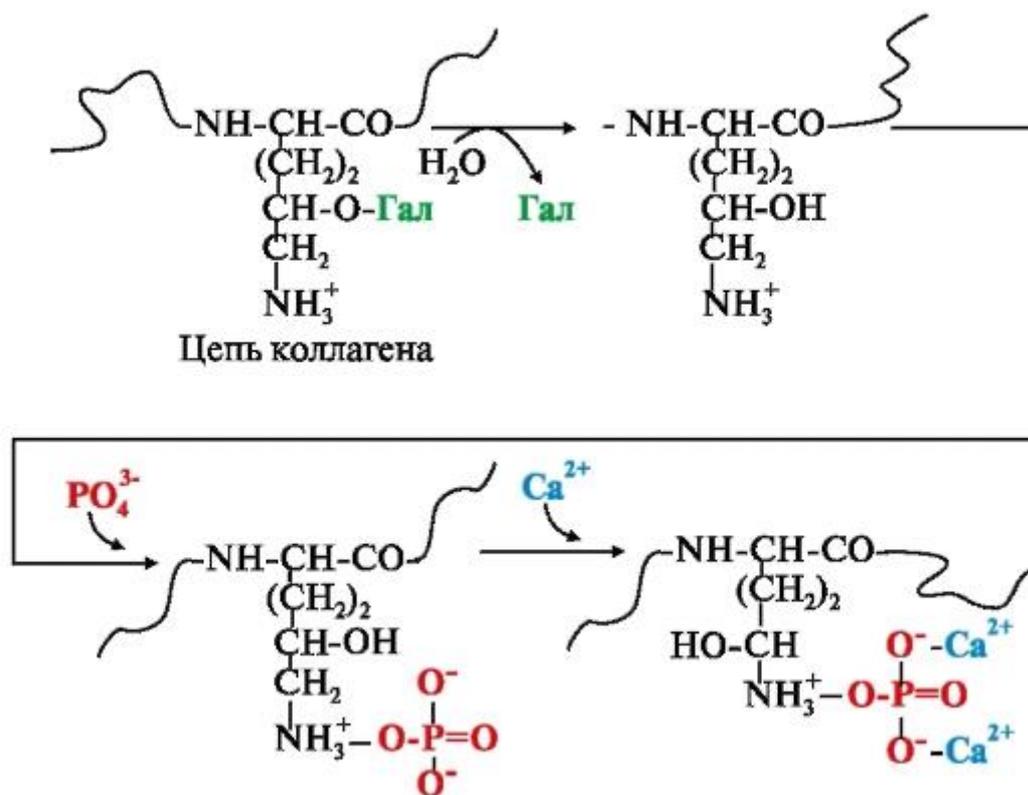


Рис. 11.46. Образование центров кристаллизации с участием волокон коллагена

Формирование центров кристаллизации является началом высокоорганизованного роста кристаллов гидроксиапатита. По завершении процесса наступает этап покоя, остеобласты оказываются замурованными в минерализованном матриксе, теряют активность и превращаются в остеоциты.

Ремоделирование обеспечивает постоянный обмен неорганических и органических составляющих минерализованной ткани, необходимый для поддержания прочности кости на протяжении жизни.

11.9. РЕГУЛЯЦИЯ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ, РОСТА И РАЗВИТИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ

Перестройка костной ткани - это естественный непрерывный регулируемый процесс разрушения и одновременно восстановления костной ткани. Начало перестройки могут вызвать изменения физических факторов, к которым можно отнести парциальное давление кислорода, механические нагрузки на кость или микрповреждения кости.

Снижение оксигенации костной ткани (недостаточное снабжение кислородом) вызывает активацию анаэробного гликолиза в остеокластах,

конечным продуктом которого является лактат. Накопление лактата приводит к лактоацидозу.



Снижение pH в клетке стимулирует секрецию остеокластами лизосомных ферментов: коллагеназ, гликозидаз, сульфатаз, способных разрушать структурные белки и гликопротеины матрикса. Гидролиз органической основы матрицы нарушает связь с ней кристаллов гидроксиапатитов. А высокое содержание протонов (H^+) способствует ускорению изоморфных замещений, вытеснению Ca^{2+} из кристаллической решетки гидроксиапатитов и их быстрому разрушению.

Продукты распада белков, гликозамингликанов, гидроксиапатитов поступают в кровь, причем Ca^{2+} , PO_4^{3-} могут усваиваться остеобластами и использоваться для восстановления минеральной составляющей костной ткани.

Локальные и системные факторы, регулирующие функции костных клеток Факторы, воздействующие на остеобласты, остеокласты и осуществляющие регуляцию роста и развития тканей кости, можно разделить на локальные (местные) и системные.

Местными регуляторами являются цитокины, факторы роста, присутствующие в минерализованном матриксе, простагландины, которые секретируются клетками костной ткани и участвуют в паракринной и аутокринной регуляции.

К системным факторам регуляции относят в первую очередь паратгормон, кальцитриол, кальцитонин, эстрогены и андрогены. Регуляцию метаболизма кости в разной степени осуществляют почти все другие гормоны - соматотропный гормон, тироксин, глюкокортикоиды, инсулин, глюкагон, паротин.

Паратгормон (паратиреоидный гормон, см. раздел 10) стимулирует резорбцию костной ткани, повышая активность остеокластов. Однако мембранные рецепторы к гормону имеют только остеобласты и остециты.

Передача сигнала осуществляется при участии аденилатциклазной системы. Образующийся цАМФ активирует протеинкиназу А, которая фосфорилирует переносчик ионов кальция, что приводит к повышению концентрации Ca^{2+} в цитозоле остеобластов. Ионы Ca^{2+} образуют комплекс с кальмодулином, который взаимодействует с кальций-кальмодулин-зависимыми киназами и их активирует (рис. 11.47). Активированные протеинкиназы передают сигнал гормона на хроматин, в клетке подавляется синтез коллагена и неколлагеновых белков, активирующих минерализацию матрикса, а также снижается экспонирование на мембране остеобластов щелочной фосфатазы.



Рис. 11.47. Влияние паратгормона на активность остеобластов и остеокластов

В то же время гормон увеличивает продукцию и секрецию цитокинов, активирующих остеокласты, и неколлагеновых белков, обеспечивающих прикрепление остеокластов к поверхности кости, а также ферментов нейтральной коллагеназы и цитратсинтазы.

Цитокины взаимодействуют с мембранными рецепторами остеокластов, дальнейшая передача сигнала в ядро идет при участии ряда протеинкиназ. В клетке активируется экспрессия генов: карбоангидразы, коллагеназы, других лизосомных ферментов, а также мембранных белков: H^+ -АТФ-азы, H^+/K^+ -АТФ-азы, переносчика Cl^-/H^+ .

Паратгормон контролирует продолжительность резорбции. При увеличении в остеобластах концентрации цАМФ и Ca^{2+} они присоединяются в регуляторные центры рецептора гормона. Это приводит к изменению конформации рецептора и снижению его сродства к паратгормону, а следовательно, к ослаблению гормонального сигнала. Активированные остеокласты секретируют кислую фосфатазу, которая дефосфорилирует адгезивные белки, поэтому они теряют связь с поверхностью кости и интенсивность резорбции постепенно снижается.

Кальцитриол [1,25-дигидроксиголекальци-ферол, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, см. раздел 10] проходит в клетки-мишени: остеобласты, преостеобласты, моноциты, которые имеют ядерные рецепторы к гормону.

Биологический эффект на полученный сигнал зависит от природы клетки-мишени. Так, активируя рецепторы преостеобластов, кальцитриол стимулирует дифференцировку клеток, а также повышает синтез и секрецию коллагена и щелочной фосфатазы. Воздействие гормона на хроматин зрелых остеобластов вызывает репрессию синтеза этих белков, но индуцирует синтез неколлагенных белков, активирующих остеокласты, - остеокальцина, остеопонтина, сиалопротеина. При действии кальцитриола на моноциты увеличивается скорость образования зрелых многоядерных остеокластов (рис. 11.48).

Кальцитонин (см. раздел 10) является очень мощным прямым ингибитором активности остеокластов и процесса образования зрелых остеокластов. Каждая клетка имеет около 300 000 рецепторов к кальцитонину, передача сигнала гормона происходит с помощью G-белков двух типов, которые могут активировать аденилатциклазу или фосфолипазу C. Любой путь трансдукции сигнала приводит к поступлению Ca^{2+} в цитозоль остеокласта из зоны резорбции, это вызывает деполяризацию мембраны, нарушение Ca^{2+} -зависимой связи клетки с поверхностью кости, исчезновение «щёточной» каемки и переход клетки в неактивное состояние (рис. 11.49).

Кальцитонин оказывает большее влияние на процесс минерализации молодых растущих костей, поэтому образование новой костной ткани



Рис. 11.48. Влияние кальцитриола на активность остеобластов и остеокластов



Рис. 11.49. Влияние кальцитонина на активность остеокластов

у детей и подростков происходит быстрее, чем резорбция.

Кортизол (см. раздел 10) подавляет синтез белков минерализованного матрикса. Основные мишени глюкокортикоидов - остеобласты. В клетке гормон образует комплекс с цитоплазматическим рецептором, который проникает в ядро и взаимодействует с регуляторными зонами хроматина. Он тормозит пролиферацию, замедляет синтез коллагена I типа, некоторых неколлагеновых белков, протеогликанов и остеоонектина.

Кортизол не только замедляет костеобразование, но и вызывает костную резорбцию, так как индуцирует синтез рецепторов к паратгормону и мембранных G-белков, участвующих в передаче сигнала.

Половые гормоны эстрогены и андрогены

Половые гормоны оказывают большое влияние на костную ткань в течение всей жизни человека. Они контролируют достижение пика костной массы и скорость ее дальнейшего снижения.

Женские половые гормоны эстрогены и прогестины синтезируются в яичниках из холестерина, наиболее активный из них 17β -эстрадиол. Как все стероидные гормоны, он передает сигнал на внутриклеточные рецепторы клеток-мишеней. В минерализованной соединительной ткани внутриклеточные рецепторы к 17β -эстрадиолу имеют остеобласты. Эстроген, воздействуя на хроматин, вызывает экспрессию гена белка остеопротегерина, это приводит к снижению скорости образования многоядерных остеокластов и замедлению процесса резорбции кости (рис. 11.50). Гормон стимулирует в остеобластах синтез коллагена I типа, щелочной фосфатазы, остеоонектина, других органических веществ матрикса костной ткани. Женские половые гормоны вызывают раннюю минерализацию, поэтому в период полового созревания происходит остановка роста скелета. У девочек-подростков при недостаточной выработке эстрогенов наблюдаются изменения в тканях пародонта и нарушения формирования костной ткани.



Рис. 11.50. Влияние эстрогенов на ремоделирование костной ткани

В почках гормон повышает количество фермента 1α -гидроксилазы, который участвует в синтезе кальцитриола, а также индуцирует в энтероцитах синтез рецепторов к этому гормону. Кальцитриол - основной гормон, обеспечивающий всасывание кальция в кишечнике, поэтому при снижении уровня эстрогенов в клетках кишечника уменьшается количество рецепторов гормона и снижается всасывание пищевого кальция.

Недостаток Ca^{2+} приводит к нарушению процесса ремоделирования кости и преобладанию резорбции над костеобразованием.

С возрастом снижается уровень эстрогенов в крови, уменьшается синтез белка остеопротегерина, сдерживающего резорбцию, а с наступлением менопаузы он вообще прекращается. Активированные остеокласты резорбируют больший объем кости, а остеобласты не успевают устранять следы разрушения, и развивается остеопороз.

Андрогены (основной тестостерон) инициируют синтез в остеобластах фактора, ингибирующего дифференцировку преостеокластов, т.е. замедляют остеоиндукцию (формирование кости), поэтому наступление половой зрелости тормозит рост скелета в длину. Анаболический эффект гормонов наиболее активно проявляется в присутствии гормона роста.

Гормоны щитовидной железы тироксин (T_4) и трийодтиронин (T_3) участвуют в регуляции ремоделирования кости. При гипертиреозе гормоны повышают экскрецию кальция с мочой, увеличивается интенсивность обмена кости, костеобразование начинает отставать от резорбции, это может приводить к потере кости. При недостатке тиреоидных гормонов замедляются образование и минерализация костной ткани.

Соматотропный гормон (гормон роста) повышает активность остеобластов, которые стимулируют остеокласты, в результате чего происходит очаговая деминерализация ранее образованной кости. В этих зонах гормон, действуя на остеобласты, индуцирует увеличение объема органической основы кости и ее минерализацию.

Инсулин активирует метаболизм остеобластов, стимулирует синтез костного матрикса, обеспечивает минерализацию костной ткани. Однако у больных сахарным диабетом наблюдается уменьшение плотности костной ткани по сравнению со здоровыми людьми, что является следствием метаболических и гормональных изменений при данном заболевании.

11.10. МАРКЕРЫ МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ

Биохимические маркеры - это вещества, изменение содержания (активности) которых в крови и других биологических жидкостях свидетельствует о скорости ремоделирования, патогенезе

заболеваний костной ткани, эффективности лечения, а также позволяет выявлять больных, страдающих быстрой потерей костной массы. Различают биохимические маркеры формирования и резорбции кости, характеризующие активность остеобластов и остеокластов.

Все заболевания костной ткани сопровождаются нарушением процесса ремоделирования кости, а также изменением содержания биохимических маркеров.

Для большинства патологических состояний характерно ускорение ремоделирования с усилением процесса резорбции кости. Скорость костеобразования при этом может быть или снижена, или нормальной, или даже повышена, но она всегда будет ниже скорости резорбции. Происходит нарушение нормального соотношения между процессами резорбции и формирования кости.

Маркерами формирования костной ткани являются остеокальцин, N- и C-концевые пептиды коллагена I типа. Остеокальцин синтезируется остеобластами и включается во внеклеточное пространство кости, однако часть остеокальцина попадает в кровоток. Гормоны, ингибирующие активность остеобластов, снижают его содержание в костной ткани и крови.

Определение уровня остеокальцина в сыворотке крови позволяет установить риск развития остеопороза у женщин; проводить мониторинг костного метаболизма во время менопаузы и после нее, а также во время гормональной заместительной терапии; выявлять пациентов с дефицитом гормона роста, гипо- и гипертироидизмом, хроническими заболеваниями почек; контролировать эффективность терапии преднизолоном больных, страдающих гиперкортицизмом (см. раздел 10), и лечения рахита у детей раннего возраста. Содержание остеокальцина в крови детей, больных рахитом, находится в обратной зависимости от концентрации паратгормона. Поскольку для большинства заболеваний костной ткани характерно ускорение ремоделирования с усилением резорбции, для контроля за состоянием больного и эффективностью его лечения используют главным образом маркеры резорбции кости.

Основными биохимическими показателями, используемыми в клинической практике в качестве критерия резорбции костной ткани, служит определение содержания гидроксипролина мочи, продуктов деградации коллагена пиридинолина,

дезоксипиридинолина, специфических пептидов коллагена I типа, гликозидов гидроксизина. Однако гидроксипролин, который присутствует в коллагене неминерализованных тканей, не может служить специфическим тестом для оценки резорбции кости. Повышение содержания в моче пиридинолина и дезоксипиридинолина наблюдается в период активного метаболизма костной ткани. Одним из показателей интенсивности ремоделирования и соотношения скоростей резорбции и костеобразования является определение в крови содержания белков остеопротегерина и RANKL.

Остеопротегерин (OPG), или остеокластингибирующий фактор, является основным регулятором активности остеокластов. Снижение продукции остепротегерина остеобластами при нормальной продукции белка RANKL, т.е. дисбаланс системы RANKL/OPG, наблюдается при серьезных нарушениях ремоделирования кости.

11.11. ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ И МЕТАБОЛИЗМА ТКАНЕЙ ЗУБА

Зуб состоит из зубной пульпы, похожей на костный мозг, и 3 минерализованных тканей: эмали, дентина и цемента. Коронка и корень состоят из дентина. Он окружает пульпу, которая заполняет полость зуба, в ней находятся кровеносные сосуды и нервные окончания. На выступающей части зуба дентин контактирует с эмалью, а погруженные в челюсть корни зуба - с цементом.

Все минерализованные ткани зуба, кроме зрелой эмали, содержат небольшое количество клеток с длинными отростками, которые участвуют в построении органической основы минерализованного матрикса. В состав матрицы входят сложные белки, протеогликаны и другие органические вещества, а минеральная составляющая в основном представлена апатитами.

Эмаль зуба

Эмаль, покрывающая коронку зуба, - самая твердая и плотная ткань организма, имеет сложное строение и химический состав. На неорганические компоненты зрелой эмали приходится 96- 97% ее массы, на органические - всего 0,4-0,8%, оставшуюся часть составляет вода. Вода эмали включает две

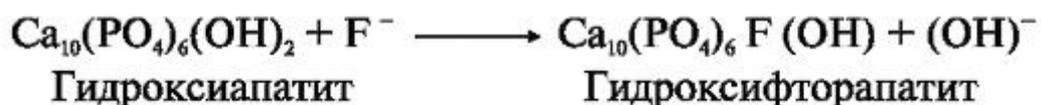
фракции: свободную воду, которая испаряется при высушивании зуба, и связанную

(кристаллическую) воду, которая составляет гидратную оболочку кристаллов апатита.

Минеральным компонентом эмали является фосфат кальция в виде кристаллов гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Элементарная ячейка структуры эмали содержит ионы натрия, магния, калия, а также цинка, олова, железа, которые присутствуют в очень небольших количествах. Они неравномерно распределены в слое эмали, их содержание постепенно уменьшается по направлению от поверхности эмали к эмалево-дентинной границе.

Толщина слоя эмали в различных участках коронки неодинакова и колеблется от 1,62-1,7 мм на уровне жевательных бугорков зубов и до 0,01 мм в области шейки зуба. Наибольшей минерализованностью, твердостью и вместе с тем хрупкостью обладает поверхностный слой эмали. В этом слое максимально содержание фтора - 5г/кг.

Апатиты эмали. Основным апатитом эмали, как и других тканей зуба, является гидроксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ и 8-кальциевый фосфат $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6\text{H}_2\text{O}$. Если строение основного апатита соответствует формуле $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, то соотношение Ca/P равен 1,67. В гидроксиапатитах эмали зуба на уровне элементарных ячеек кристаллов происходят интенсивные изоморфные замещения. Эти процессы возможны благодаря важнейшему свойству эмали - ее проницаемости. Размеры имеющихся пор позволяют проникать в эмаль различным ионам, которые адсорбируются на ее поверхности. Однако только небольшое количество ионов может включаться в структуру апатитов, это Ca^{2+} , PO_4^{3-} , F^- , Sr^{2+} , Cl^- . Некоторые из этих веществ входят в состав реминерализующих средств для профилактики кариеса. Изоморфные замещения изменяют структуру кристаллов, что отражается на свойствах эмали, например включение ионов магния может снизить резистентность эмали к кариесу. Важное значение имеет участие F^- в изоморфном замещении, при этом образуются гидроксифторапатиты и фторапатиты.



С образованием новых фтористых соединений меняется кристаллическая решетка, повышается ее плотность, уменьшается пространство

между кристаллами, снижается проницаемость эмали. Повышается устойчивость эмали к кариесу и неблагоприятным воздействиям, например снижению pH слюны. В эмали содержится около 0,66% фторапатитов.

Количество фторапатитов и гидроксифторапатитов уменьшается в направлении от поверхности эмали к эмалево-дентинной границе. В более глубоких слоях эмали содержание фтора в апатитах снижается, но возрастает количество карбонатапатитов (рис. 11.51).

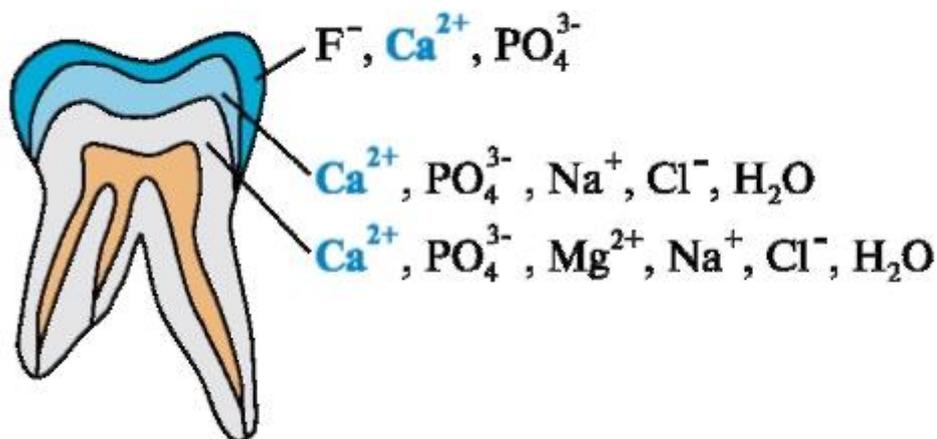


Рис. 11.51. Распределение минеральных элементов в зрелой эмали зуба

Поступление в эмаль высоких концентраций фтора приводит к образованию фторида кальция (CaF_2), практически нерастворимого вещества, которое быстро исчезает с поверхности зубов при $\text{pH} > 7,0$. Вместе с фтором эмаль теряет ионы кальция. Избыточное содержание F^- в воде и почве сопровождается разрушением апатитов зубов и вызывает флюороз.

В эмали зуба также содержатся хлорапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$ и карбонатапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$. Карбонатапатиты эмали могут образовываться как в поверхностных слоях, так и в непосредственной близости от эмалево-дентинной границы. Основным источником HCO_3^- в тканях зуба является

аэробное окисление глюкозы, происходящее в одонтоблестах и микроорганизмах зубного налета. Поэтому при употреблении пищи, богатой углеводами, количество карбонатапатитов в эмали увеличивается.

Накопление этих соединений свыше 3-4% общей массы гидроксиапатитов приводит к развитию кариеса.

Интенсивность образования стронциевых апатитов $\text{Ca}_9\text{Sr}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ зависит от содержания стронция и кальция в пище и воде. Ионы стронция вытесняют Ca^{2+} из кристаллической решетки апатита, но сами в ней не удерживаются.

При недостатке кальция и повышении содержания стронция замещение происходит более активно,

это увеличивает проницаемость эмали и возможность диффузии в нее других ионов.

Реакции изоморфного замещения значительно активируются в условиях дефицита в организме Ca^{2+} и PO_4^{3-} , который может возникать при недостатке их в пище или из-за нарушения всасывания в тонкой кишке. Свободные места в кристаллической решетке гидроксиапатитов занимают ионы, присутствующие в избытке. И наоборот, поступление в организм продуктов, обогащенных солями кальция, ускоряет выведение из организма антагонистов Ca^{2+} , например стронция. Возможность изоморфного вытеснения чужеродного иона из апатита с помощью кальция или заполнение вакантных мест используется при проведении реминерализующей терапии эмали.

Строение кристаллов эмали. Структурной единицей эмали являются эмалевые призмы, проходящие сквозь всю толщу эмали и построенные из кристаллов разной формы (рис. 11.52). Это могут быть мелкие и плотно упакованные гексагональные кристаллы, а также кристаллы игольчатой, палочковидной и ромбовидной формы.

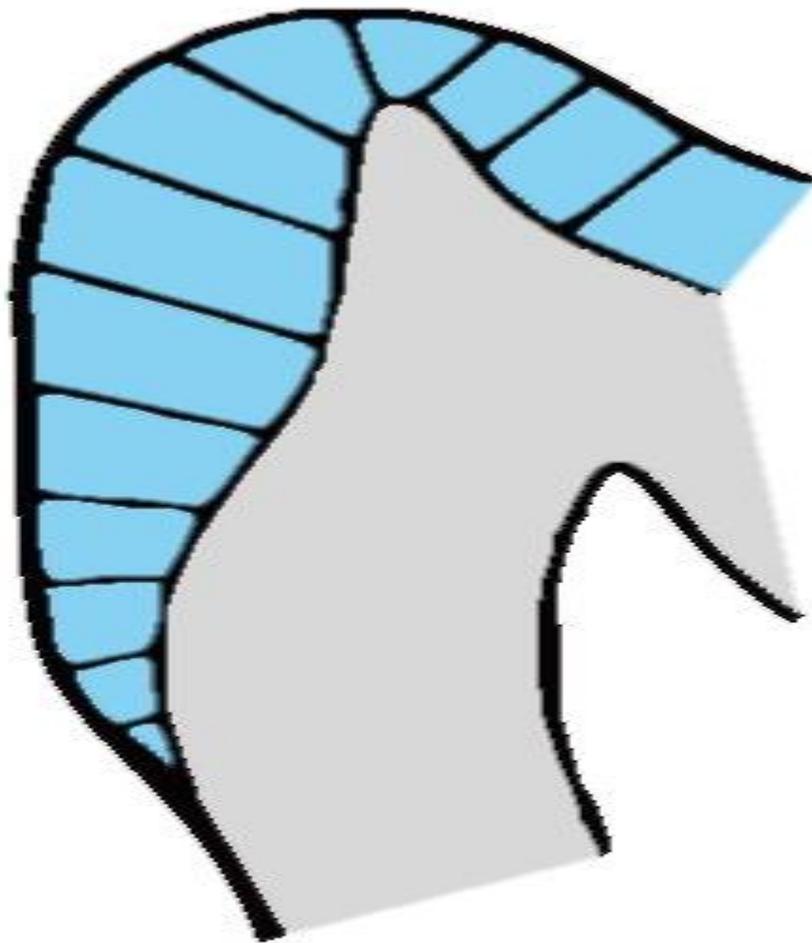


Рис. 11.52. Расположение эмалевых призм в коронке постоянного зуба

Каждый кристалл окружен гидратной оболочкой, которую называют эмалевой лимфой. Она представляет собой слой воды, связанный с кристаллом. Любое проникновение веществ на поверхность или внутрь кристалла требует прохождения через гидратную оболочку. Внутри кристалла тоже присутствует связанная вода, ее называют внутрикристаллической водой, от нее зависят химические свойства, растворимость и проницаемость эмали.

Несмотря на то что общее число атомов каждого элемента в формуле минерала не меняется, апатиты эмали характеризуются своей кристаллохимической индивидуальностью, отличной от других твердых тканей. В свою очередь кристаллохимическая индивидуальность определяется особенностью строения белковой матрицы.

Формирование органической основы эмали. Эктодермальным происхождением эмали объясняется отличие этой ткани от других минерализованных тканей организма. В построении эмали участвуют

клетки амелобласты (синонимы: энамелобласты, адамантобласты), которые синтезируют молекулы, обеспечивающие создание матрицы, транспорт, связывание и депонирование минеральных компонентов, необходимых для формирования апатитов. На начальных этапах содержание белка, секретируемого амело - бластами в межклеточное пространство, составляет 20% массы ткани, кристаллы гидроксиапатита отсутствуют, количество связанного с органическими структурами Ca^{2+} и PO_4^{3-} очень велико. Фибриллярные белки эмбриональной эмали очень богаты пролином и содержит гидроксизин.

В процессе формирования матрицы и ее минерализации (созревание эмали) происходят изменение органического состава ткани и апоптоз амелобластов. Зрелая эмаль - бесклеточная минерализованная ткань и поэтому неспособная к регенерации при повреждениях.

В состав органической составляющей зрелой эмали входят несколько ферментов: сериновые протеазы, металлопротеазы (коллагеназы), фосфатазы, которые участвовали в деградации белков на стадии минерализации и частично сохранились в матриксе. Кроме того, присутствуют свободные аминокислоты (глицин, валин, пролин, гидроксипролин), следы гликозилированных, сульфатированных, фосфорилированных белков, аналогичных неколлагеновым белкам костной ткани. Анализ углеводсодержащих структур гликопротеинов показал присутствие галактозы, глюкозы, маннозы, глюкуроновой кислоты и следы других моносахаридов. В очень небольших количествах в эмали содержатся цитрат и липиды. Органические вещества находятся между кристаллами апатита в виде пучков, пластинок или веретен, они влияют на биохимические и физические процессы, происходящие в эмали зуба.

Около 90% белков эмали составляет амелогенин, имеющий низкую молекулярную массу, остальные 10% представлены энамелином, тафтелином, амелином, последний составляет более 5%.

Амелогенины - гликофосфопротеины, на 25- 30% состоящие из пролина, содержат также много гистидина, глутамина и лейцина. В межклеточном пространстве происходит протеолиз амелогенина, в органической структуре зрелой эмали сохраняются два амелогениновых пептида, один богат тирозином, другой лизином, в их структуру входит ~ 75% всего органического фосфата эмали.

Энамелин фосфорилируется в ходе посттрансляционных модификаций, что обеспечивает его связь с минеральным компонентом эмали. Углеводная составляющая амелогенина и энамелина представлена в основном остатками сиаловой кислоты, галактозамина и глюкозамина.

Тафтелин - фосфорилированный гликопротеин, участвует в образовании центров кристаллизации на начальной стадии минерализации эмали.

В эмали плода, т.е. на этапе развития этой ткани, соотношение амелогенины/энамелины составляет 9:1, в зрелой эмали - 1:1. Следовательно, амелогенины играют большую роль на этапе формирования матрицы и ее минерализации, но в ходе созревания эмали деградируют в 10 раз быстрее энамелинов.

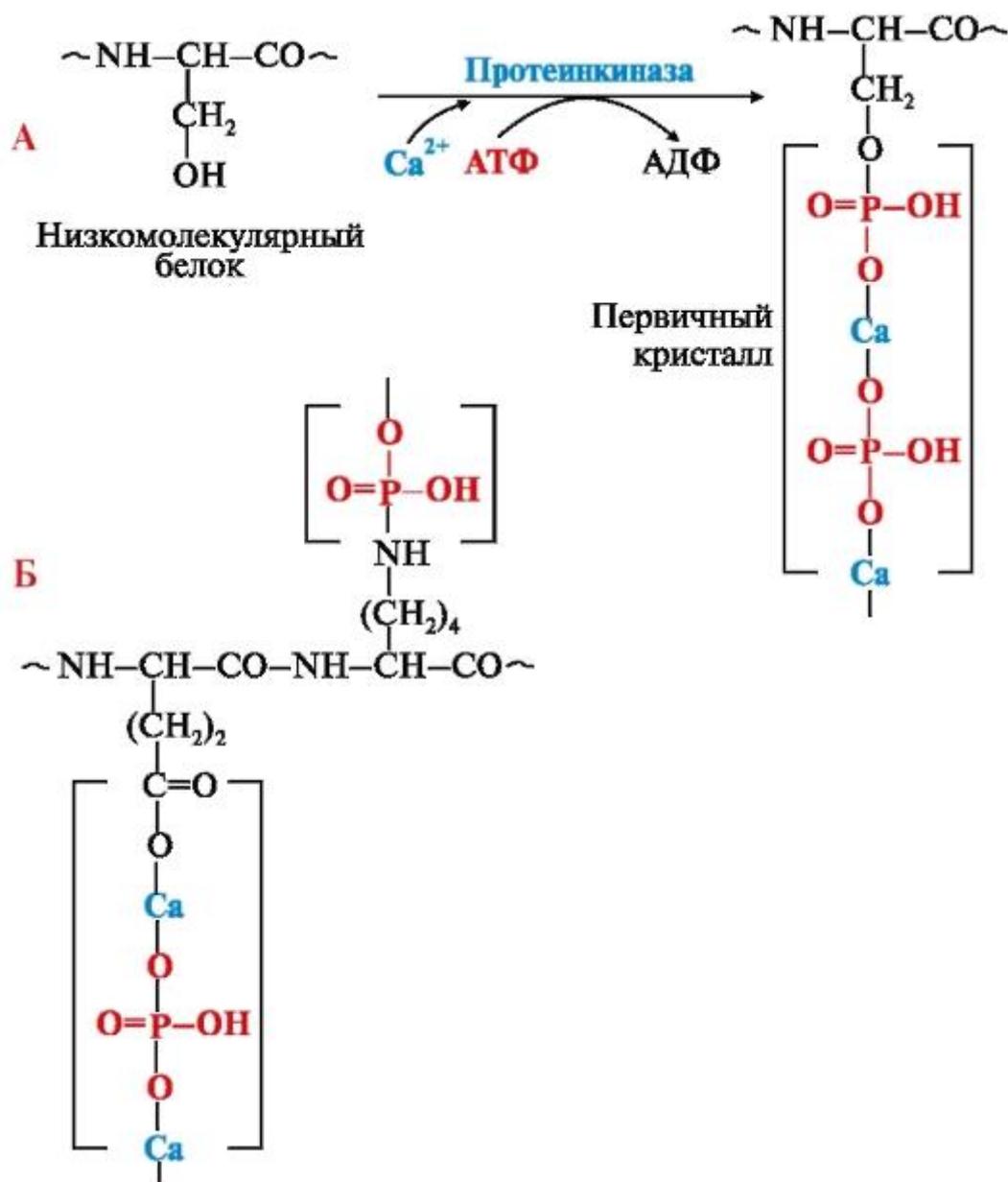


Рис. 11.53. Образование первичного кристалла при участии фосфорилированного серина (А), аминокислотных остатков лизина и глутамата (Б)

Энамелин и тафтелин имеют модифицированные аминокислотные остатки, которые, связывая Ca^{2+} и PO_4^{3-} , обеспечивают образование первичной ячейки гидроксиапатита (первичный кристалл) (рис. 11.53, А). Аминокислотные остатки лизина в белках могут присоединять неорганический фосфат (рис. 11.53, Б) и в процессе дефосфорилирования протеинфосфатазами могут стать источником фосфата, необходимого для образования апатитов.

Кальций-связывающие белки развивающейся эмали содержат остатки γ -карбоксиглутаминовой кислоты подобно белкам костной ткани остеокальцину и Gla-протеину. Дополнительная карбоксильная группа в остатках γ -глутаминовой кислоты присоединяет Ca^{2+} , образует внутрицепочечные и межцепочечные Са-мостики, позволяющие не только удерживать ионы, но и обеспечивать их правильную ориентацию в матриксе (рис. 11.54).

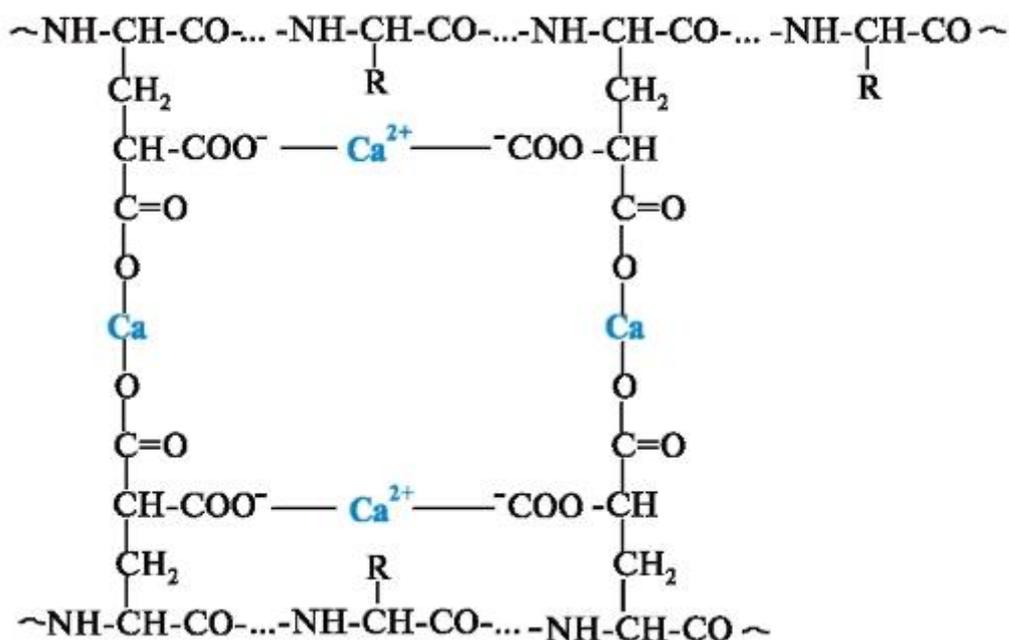


Рис. 11.54. Участие γ -Глу в образовании кальциевых мостиков

В процессе созревания эмали органическая матрица выполняет следующие функции:

- образует каркас, к которому присоединяются кальций-связывающие белки;

- формирует трехмерную матрицу для минерализации с помощью кальций-связывающих белков;
- формирует центры кристаллизации при участии функциональных групп кальций-связывающих белков, фосфолипидов, цитрата;
- ориентирует процесс кристаллизации, обеспечивая упорядоченность, регулярность и прочность образуемой структуры.

Несовершенный амелогенез

Несовершенный амелогенез или наследственная дисплазия эмали могут быть вызваны нарушением обмена веществ в период формирования матрикса эмали и ее минерализации. Причиной могут быть: мутации в генах белков, участвующих в минерализации, нарушение процесса их посттрансляционной модификации, снижение синтеза и секреции энамелобластами цитрата и фосфолипидов, недостаток Ca^{2+} и фосфатов.

Изменения первичной структуры, ошибки в ходе посттрансляционных модификаций белков или снижение активности амелобластов приводят к нарушению минерализации эмали. При этом может формироваться очень тонкий слой эмали или она вовсе отсутствует. Зубы бывают меньших размеров и окрашены в серый или коричневый цвета.

Дентин зуба

Дентин, как и кость, обновляется на протяжении всей жизни человека. От кости дентин отличается меньшим содержанием органических веществ (около 19-21% массы дентина при 35% в костной ткани) и положением клеток. В дентине они расположены на границе дентина и пульпы, а в костной ткани - равномерно по всему объему.

По истечении некоторого времени после прорезывания зуба дентиногенез замедляется и дальнейшее образование дентина (вторичный дентин) идет намного медленнее. Ткань может реагировать на истирание, трение, кариес зуба или повреждение в случае операционных процедур.

Дентин является первичной тканью зуба и появляется раньше эмали и цемента. В области коронки он покрыт эмалью, а в области корня - цементом, т.е. он нигде не взаимодействует с внешней средой и тканями, окружающими зуб. Его формирование обеспечивают специфические клетки - одонтобласты, синтезирующие и секретирующие коллаген и неколлагеновые белки матрикса, цитрат, фосфолипиды, гликозамингликаны.

В полностью сформированном зубе одонтобласты остаются метаболически активными, участвуют в обмене органических веществ с помощью множества клеточных отростков, которые находятся в дентиновых канальцах. По канальцам осуществляются связь с пульпой зуба, эмалью, цементом, поступление питательных и минеральных веществ из пульпы.

Из паренхиматозных клеток пульпы на протяжении всей жизни человека формируются новые одонтобласты. Процесс дифференцировки происходит под контролем регуляторных белков. Метаболизм дентина, т.е. построения матрицы, минерализация, ремоделирование, имеет много общего с костной тканью, но эти процессы протекают более медленно. Дентин отличается от костной ткани количественным и качественным белковым составом, а также содержанием минерального компонента. Активность протекания некоторых метаболических процессов также различна.

В обмене органических веществ участвуют одонтобласты, лежащие на границе дентина и пульпы. При повреждении дентина эти клетки способны восстанавливать матрицу и регулировать ее минерализацию. В стоматологии применяют препараты, стимулирующие этот процесс.

Минеральный состав дентина

Неорганический компонент составляет приблизительно 70-75% общей массы дентина и состоит из гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Кристаллы дентина мельче, чем в эмали, их размеры схожи с кристаллами кости и цемента зуба.

В процессе изоморфных замещений в дентине могут образовываться апатиты, содержащие ионы CO_3^{2-} , Mg^{2+} , F^- , Na^+ , Cl^- . Магний-содержащих апатитов в дентине в 3 раза больше, чем в эмали, максимальное количество находится на границе с эмалью. Содержание фторапатитов меняется в ходе формирования дентина и постепенно увеличивается в 3-4 раза по сравнению с начальной концентрацией. Содержание Na^+ и Cl^- возрастает во внутренних слоях дентина. Дентин содержит больше, чем в эмали, микроэлементов Si^{2+} , Fe^{3+} , Ba^{2+} , Sr^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} .

Органическая основа дентина представлена белками матрикса, цитратом, гликозамингликанами, фосфолипидами. Белковая матрица дентина инициирует минерализацию, делает ее упорядоченной и регулируемой.

На долю основного белка, коллагена I типа, приходится 95% всех органических веществ дентина. В построении матрицы участвуют неколлагеновые белки, связывающие кальций аминокислотными остатками

γ -Глу (кроме Gla-протеина), фосфопротеины, образованные в ходе посттрансляционных модификаций. В дентине присутствуют различные гликопротеины, такие, как фибронектин, остеоонектин, остеокальцин, ферменты, расщепляющие коллаген и участвующие в ремоделировании дентина, а также связанные с мембраной одонтобласта щелочная фосфатаза и Ca^{2+} -АТФ-аза.

В дентине проявляет активность специфический белок, участвующий в минерализации матрикса, - фосфофорин. Он синтезируется только одонтобластами и секретируется в межклеточное пространство. Уникальной особенностью этого белка является его аминокислотный состав - из 1000 аминокислотных остатков 426 приходится на серин и 447 - на аспарагиновую кислоту. Фосфорилирование остатков серина увеличивает в 2 раза количество групп в белке, способных связывать Ca^{2+} , это делает фосфофорин главным участником образования центров кристаллизации (рис. 11.55).

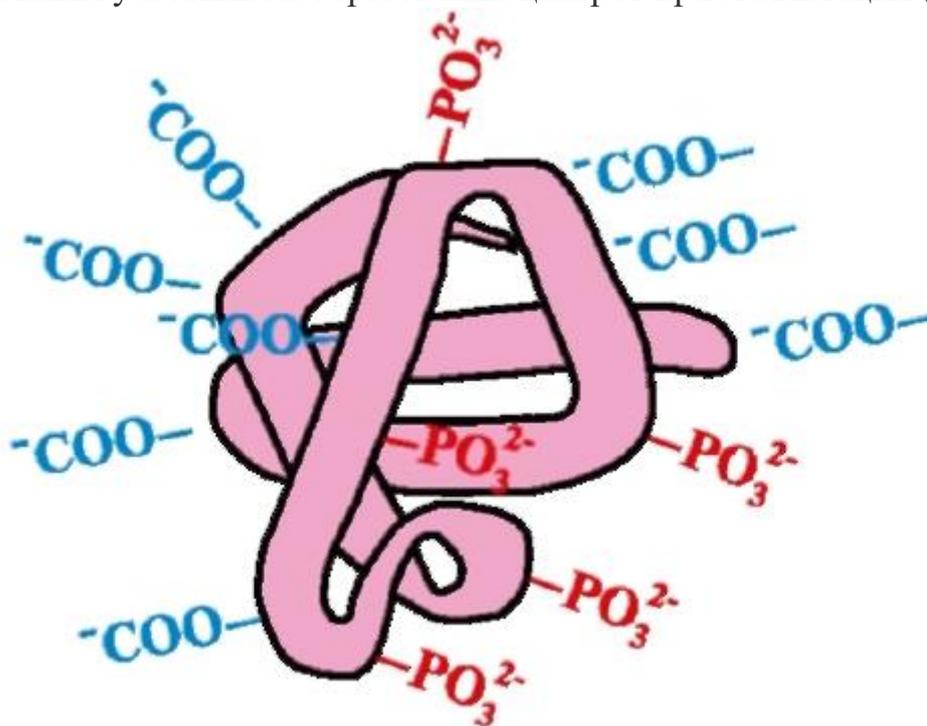


Рис. 11.55. Кальций-связывающий фосфофорин

В дентине присутствуют в небольшом количестве альбумин, β - и γ -глобулины, проникающие в дентин через кровеносные сосуды пульпы.

Помимо белков, в дентине содержится около 1% цитрата; образуя соли с кальцием, он выполняет роль его накопителя. Наличие солей цитрата кальция обеспечивает в любой момент восполнение недостающих ионов в кристаллической решетке гидроксиапатита.

Несовершенный дентиногенез - результат нарушения формирования дентина - вызван мутациями в генах белков одонтобластов. При этой патологии дентина образуется меньше, прорезывание зубов задерживается. Эмаль нормальная, но так как нарушено эмалево-дентинное соединение, она постепенно скалывается. Дентин, не обладающий высокой твердостью, стирается.

Цемент зуба

Начиная от шейки зуба и до вершины корня дентин покрыт тонким слоем цемента. Наибольшая толщина слоя цемента у вершины

корня. Клетки цементного вещества -

это цементобласты и цементоциты. Цемент боковой поверхности зуба не содержит клеток, это бесклеточный, или первичный, цемент. Клеточный, или вторичный, цемент располагается у верхушки корня и содержит клетки цементоциты и цементобласты. Цементоциты, подобно остеоцитам, замурованы в минерализованном матриксе. Функциональную активность проявляют только цементобласты. Поступление питательных веществ и ионов в цемент происходит со стороны пародонта и частично со стороны дентина.

По химическому составу органического и неорганического компонента цемент напоминает грубоволокнистую кость, но, в отличие от нее, не имеет сосудов и не подвержен постоянной перестройке. Органический матрикс составляет 24-26% массы, минеральные вещества - 65-70%, оставшаяся часть приходится на воду.

Органический матрикс цементного слоя состоит преимущественно из коллагена I (90%) и III (5%) типа, причем часть коллагена III типа присутствует в форме тропоколлагена. Некоторые неколлагеновые белки идентичны костным - сиалопротеин кости, остеопонтин, остеонектин. Многие вещества, составляющие органическую основу цемента, представляют собой фосфорилированные и сульфатированные гликопротеины, они взаимодействуют с коллагеном, другими белками и формируют матрицу для гидроксиапатитов. В цементе присутствуют в небольшом количестве гликозамингликаны: хондроитинсульфат, дерматансульфат и гиалуроновая кислота.

Минеральный компонент цемента такой же, как в других минерализованных тканях, - это гидроксиапатит и небольшое количество аморфного фосфата

кальция. В изоморфных замещениях активно участвует F^- , с возрастом его содержание в цементе возрастает. Цементное вещество содержит 0,5-0,9% магния и очень небольшое количество цинка, меди, натрия и серы.

Повышение концентрации H^+ приводит к быстрой декальцификации и разрушению гидроксиапатитов.

В цементе не происходят постоянно процессы де- и реминерализации, т.е. он более резистентен к резорбции, чем костная ткань. Но если резорбция все же происходит, например, в результате травмы, то цементобласты секретируют все необходимые компоненты органической матрицы; ферменты, обеспечивающие необходимую

для минерализации концентрацию ионов Ca^{2+} и PO_4^{3-} и регулирующие функциональную активность белков.

Возможность регенерации или отложение вторичного цемента играет большую роль при стирании эмали и компенсаторном отложении цемента, неудачном удалении зуба, когда в лунке челюсти остаются обломки корня, и пародонтозе.

Пульпа зуба

Пульпа - единственная неминерализованная ткань зуба. Она представляет собой мягкую (рыхлую) соединительную ткань, которая заполняет полость зуба в области коронки и корневой канал зуба, содержащий большое количество нервов и кровеносных сосудов. Пульпу называют энергетическим центром зуба, для нее характерно высокое потребление O_2 , необходимого для аэробного гликолиза, окислительно-восстановительных реакций ОПК. В клетках пульпы протекают матричные процессы - синтез РНК, белков, а также метаболические пути, поставляющие необходимые субстраты и источники энергии для этих процессов. Присутствуют ферменты щелочная и кислая фосфатазы, участвующие в минеральном обмене, идет обмен аминокислот, который обеспечивают трансаминазы и пептидазы.

Клетки пульпы снабжаются питательными веществами по кровеносным сосудам. Из пульпы зуба получают питательные и минеральные вещества дентин и эмаль коронки зуба. Метаболизм твердых тканей зуба в области корня осуществляется посредством диффузии питательных веществ из пульпы и периодонта.

Одна из основных функций пульпы состоит в поддержании структурно-функционального состояния дентина, т.е. возможности синтеза всех

органических компонентов первичного, вторичного и третичного дентина. Каждое сверление или обтачивание зуба, если оно затрагивает дентин, вызывает реакцию со стороны пульпы, которая выражается в образовании вторичного дентина.

Содержащиеся в пульпе макрофаги, дендритные клетки обеспечивают защиту зубной полости и периодонта от инфекции.

Клетки пульпы. Пульпа, заполняющая полость зуба, неоднородна, условно ее разделяют на несколько зон, которые различаются в первую очередь по количеству и разнообразию клеток, а значит, и метаболизму.

Периферическую часть

пульпы и частично участки дентина выстилают высокодифференцированные клетки - одонтобласты. Они имеют отростки, которые пронизывают всю толщу дентина, обеспечивая доставку питательных и минеральных веществ к эмали и дентину. Слой ткани, следующий за периферическим, содержит в основном только короткие отростки одонтобластов.

Следующий слой пульпы состоит из большого количества низкодифференцированных преодонтобластов и небольшого количества мало или недифференцированных эктомезенхимальных клеток, которые являются предшественниками клеток соединительной ткани пульпы. В зависимости от поступающего сигнала клетки могут в ходе дифференцировки превращаться в одонтобласты или фибробласты. С возрастом количество клеток в ткани снижается, что приводит к уменьшению репарационной способности пульпы. В этой зоне проявляют активность фибробласты и Т-лимфоциты.

Основной функцией фибробластов являются формирование и обмен органических структур матрикса пульпы. Получение фибробластами специфических сигналов может повысить их макрофагальную активность, т.е. способность утилизировать коллаген и другие молекулы матрикса.

В центральной зоне пульпы, кроме одонтобластов, фибробластов, мало- и недифференцированных эктомезенхимальных клеток (преодонтобластов), присутствуют макрофаги, дендритные клетки, тучные клетки и т.д.

Макрофаги пульпы захватывают и уничтожают различные микроорганизмы, бактерии или погибшие клетки.

Дендритные клетки не являются фагоцитами, но они участвуют в иммунологическом контроле, их количество возрастает в зубах, пораженных

кариесом. Популяция дендритных клеток и макрофагов составляет 8% общей популяции клеток пульпы, причем содержание дендритных клеток превышает количество макрофагов в 4 раза. Эти клетки поглощают различные антигены, проникающие в пульпу, обеспечивают их процессинг и представление лимфоцитам (рис. 11.56).

Внеклеточный матрикс пульпы. В пульпе зуба присутствует коллаген I и III типа в соотношении 55:45 соответственно. Синтез этого основного белка ткани осуществляют одонтобласты и фибробласты. На стадии формирования матрикса пульпы фибриллы коллагена расположены

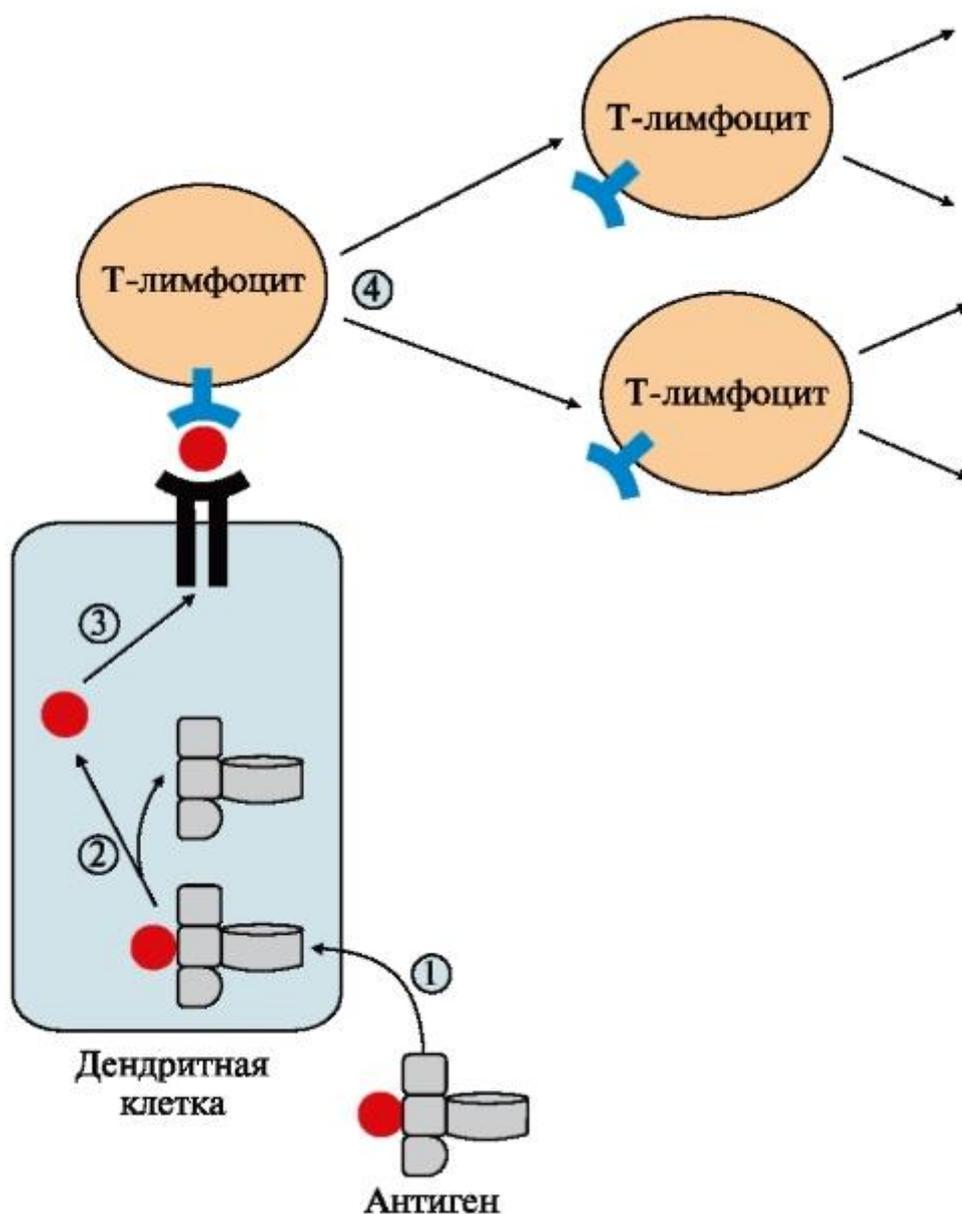


Рис. 11.56. Участие дендритных клеток в активации Т-лимфоцитов

1 - захват антигена дендритной клеткой; 2 - расщепление антигена на фрагменты; 3 - присоединение фрагмента антигена к белковому комплексу (белки главного комплекса гистосовместимости) и встраивание его в мембрану дендритной клетки; 4 - взаимодействие одного из рецепторов Т-лимфоцита с мембранным комплексом активирует лимфоцит, вызывает пролиферацию и дифференцировку Т-лимфоцитов. В результате образуется клон Т-лимфоцитов (Т-киллеров), которые имеют рецепторы к фрагменту данного антигена и могут связать этот антиген и уничтожить его. беспорядочно, с возрастом содержание коллагена увеличивается и возрастает упорядоченность структуры волокон белка.

В состав матрикса пульпы входят гликозамингликаны (хондроитинсульфаты и гиалуроновая кислота), гликопротеины и вода. Эти молекулы взаимодействуют с коллагеном и друг с другом. Они участвуют в переносе питательных веществ от сосудов к клеткам и метаболитов от клеток к сосудам. Изменение структуры или количества одного из веществ межклеточного матрикса с возрастом или в результате заболеваний приводит к нарушениям метаболического и минерального обмена и метаболизма в ткани.

При кариесе происходят деструктивные изменения в одонтоблестах, разрушение коллагеновых волокон, появляются кровоизлияния, снижаются активность ферментов и обмен веществ в пульпе.

Через пульпу осуществляется взаимосвязь организма и тканей зуба. Различные заболевания человека, особенно длительные и тяжелые, отражаются на метаболизме тканей зуба, снижают их способность противостоять внешним повреждающим факторам. И наоборот, заболевания зубов и особенно пульпы могут вызвать патологические процессы в организме.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выберите правильные ответы

Паратгормон:

- А. Взаимодействует с мембранными рецепторами остеобластов.
- Б. Активирует внутриклеточные рецепторы остеокластов.
- В. Стимулирует синтез в клетках-мишенях белка RANKL.
- Г. Вызывает экспрессию гена белка остеопротегерина.
- Д. Способствует вымыванию Ca^{2+} и фосфатов из костной ткани.

2. Установите соответствие

Функция:

- А. Рецептор остеобластов. Б. Активатор остеокластов.
- В. Рецептор RANKL.
- Г. Ингибитор остеобластов.
- Д. Рецептор, участвующий в трансдукции сигнала регуляторного белка.

Белки:

- 1. RANKL.
- 2. R_{RANKL} .
- 3. Остеопротегерин.

3. Выберите правильный ответ

Паротин и кальцитонин:

- А. Вырабатываются большими слюнными железами.
- Б. Относятся к группе стероидных гормонов.
- В. Подавляют вымывание Ca^{2+} из минерализованных тканей.
- Г. Стимулируют секрецию белков, активирующих резорбцию.
- Д. Взаимодействуют с мембранными рецепторами остеобластов.

Таблица 11.5

Гормоны, регулирующие метаболизм костной ткани

Гормон	Клетки-мишени	Механизм передачи сигнала	Изменение метаболизма в клетках-мишенях
Паратгормон			
Кальцитриол			
Кальцитонин			
Эстрогены			

4. Перенесите табл. 11.5 в тетрадь и заполните колонки.

5. Выберите правильные ответы.

Ионы фтора:

А. Участвуют в изоморфных замещениях. Б. Повышают устойчивость эмали к кариесу.

В. Могут образовывать соли CaF_2 . Г. Образуют фторапатиты.

Д. Повышают устойчивость эмали к изменениям pH среды.

6. Выберите правильные ответы.

Флюороз:

А. Наблюдается при образовании стронциевых апатитов.

Б. Сопровождается образованием соли CaF_2 .

В. Развивается при разрушении апатитов эмали.

Г. Повышает кариесрезистентность эмали. Д. Развивается при избыточном поступлении фтора в организм человека.

7. Выберите правильные ответы.

Остеопротегерин:

А. Экспрессируется в остеобластах.

Б. Является растворимым рецептором.

В. Активирует процесс ремоделирования. Г. Взаимодействует с белком RANKL.

Д. Регулирует интенсивность процесса ремоделирования.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. При очередном осмотре стоматолог диагностировал у пациента пародонтоз в начальной стадии. При обследовании в крови больного обнаружена повышенная концентрация кальция, белка остеокальцина, паратгормона.

Содержание

фосфатов ниже нормы. Какому заболеванию могут соответствовать эти данные? Для ответа на вопрос:

- а) опишите действие на ткани-мишени гормона, содержание которого повышено в крови больного;
- б) объясните строение белка остеокальцина и его функцию в костной ткани;
- в) назовите другие специфические белки костной ткани, опишите особенности их строения;
- г) укажите другие маркеры костного метаболизма, содержание которых должно быть повышено в крови и моче больного.

2. У взрослых ген остеопротегерина экспрессирован во многих тканях: в сердце, легких, почках, костях, печени, плаценте, мозге. Однако у женщин при возрастном остеопорозе снижаются синтез и секреция этого гликопротеина. Какую роль играет этот белок в метаболизме костной ткани? Для ответа на вопрос:

- а) опишите регуляцию синтеза и секреции этого белка клетками костной ткани;
- б) представьте схему, объясняющую роль белка в регуляции ремоделирования;
- в) объясните причины снижения синтеза и секреции остеопротегерина при данных формах остеопороза.

3. Всем известно ощущение оскомины после обильного потребления кислых фруктов. При этом зубы становятся очень чувствительными к горячей и холодной пище. Но это ощущение проходит, если ежедневно чистить зубы зубной пастой, содержащей фтор. Как можно объяснить это явление? Для ответа на вопрос:

- а) укажите, в какой форме (ионизированной или неионизированной) будут находиться соединения, содержащиеся в кислых фруктах, в слюне при $pH \sim 7,0$;

б) напишите реакции, объясняющие изменения в структуре гидроксиапатитов, которые будут вызывать эти вещества;

в) объясните, почему применение зубной пасты, содержащей фтор, постепенно снимет неприятное ощущение. Напишите соответствующие реакции.

4. К стоматологу обратилась женщина с жалобами на расшатывание зубов у дочери-подростка. После осмотра врач направил пациентку на анализ уровня паратгормона и эстрогенов в крови. Почему изменение концентрации именно этих гормонов, с точки зрения врача, могло быть причиной этого явления у девочки? Для ответа на вопрос:

а) укажите, метаболизм какой ткани может быть нарушен у девочки;

б) объясните влияние паратгормона и эстрогенов на обмен веществ в этой ткани;

в) предположите, уровень какого из гормонов будет в норме, а какого - ниже нормы у девочки.

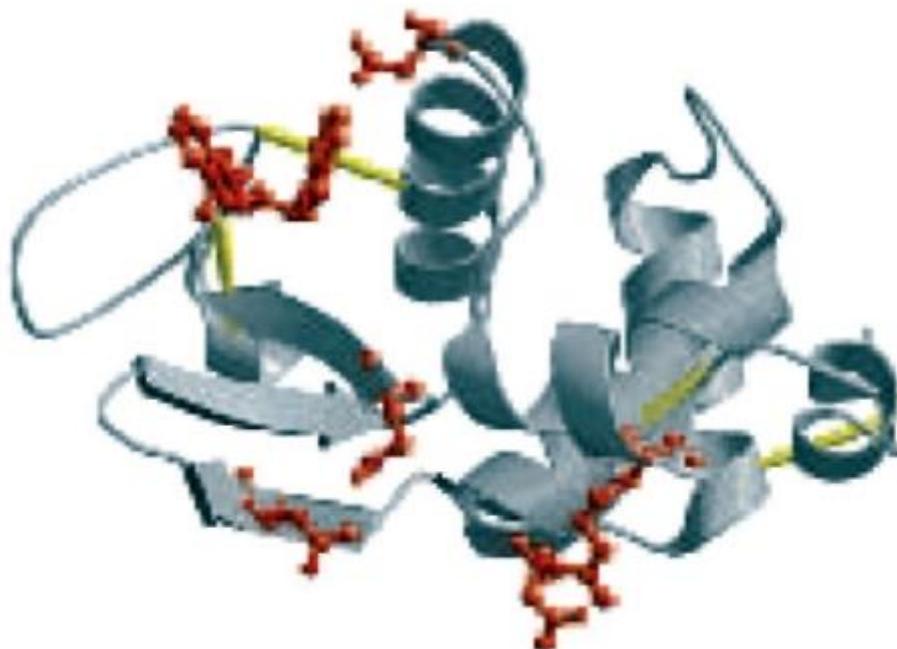
5. Одними из наиболее известных противокариозных средств защиты являются фториды. Они могут поступать в эмаль с питьевой водой или непосредственно на поверхность зуба при использовании фторидсодержащих зубных паст. Имея информацию о высоком спросе на фторидсодержащие зубные пасты, производители жевательной резинки решили тоже включить в состав своей продукции фториды. Однако при консультации со стоматологами они были вынуждены отказаться от этой идеи. Почему стоматологи запретили вводить фториды в состав жевательной резинки? Для ответа на вопрос объясните:

а) механизм противокариозного действия фторидов;

б) почему применение фторидсодержащих зубных паст полезно, а использование жевательной резинки, содержащей фториды, опасно для зубов;

в) к каким последствиям могло привести неконтролируемое использование такой продукции детьми и подростками.

РАЗДЕЛ 12. БИОХИМИЯ СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ



Основные темы раздела:

- 12.1. Формирование слюнного секрета.
- 12.2. Регуляция секреции слюны.
- 12.3. Неорганические компоненты слюны и ротовой жидкости.
- 12.4. Белки и ферменты смешанной слюны.
- 12.5. Органические вещества небелковой природы.
- 12.6. Биологически активные вещества слюны.
- 12.7. Защитные системы полости рта.
- 12.8. Десневая жидкость.
- 12.9. Образование зубного налета и развитие кариеса.
- 12.10. Зубной камень и воспаление тканей пародонта.
- 12.11. Слюна как предмет лабораторной диагностики.

Слюна является одной из важнейших жидкостей организма. Слюнные железы, формирующие этот секрет, наряду с поджелудочной железой и печенью относят к железам пищеварительного тракта.

Слюна выполняет ряд важнейших функций:

- принимает участие в очищении полости рта от остатков пищи, налета и бактерий;
- нейтрализует кислоты и щелочи;
- обеспечивает поступление ионов, необходимых для поддержания структуры гидроксиапатитов эмали;
- поддерживает видовой состав микрофлоры полости рта, формирует защитный барьер из муцина, железосодержащих белков и лейкоцитов;
- проявляет противобактериальные, противогрибковые и противовирусные свойства;
- участвует в образовании пелликулы зубов, предотвращает осаждение из слюны перенасыщенного раствора фосфата кальция;
- смачивает и размягчает твердую пищу, способствуя формированию пищевого комка, обеспечивает первый этап гидролиза крахмала пищи;
- регулирует образование пищеварительных соков в желудочно-кишечном тракте.

12.1. ФОРМИРОВАНИЕ СЛЮННОГО СЕКРЕТА

В полости рта находится не чистый секрет слюнных желез (проточная слюна), а биологическая жидкость, которая называется ротовой жидкостью или смешанной слюной. Она представляет собой суммарный секрет всех слюнных желез, включающий слущенные клетки эпителия (детрит полости рта), совокупность микроорганизмов, формирующих микрофлору полости рта, содержимое десневых карманов, десневую жидкость, продукты жизнедеятельности микрофлоры мягкого зубного налета, распада мигрирующих из слизистой оболочки лейкоцитов, остатки пищевых продуктов и др. (рис. 12.1).



Рис. 12.1. Формирование смешанной слюны

Проточная слюна человека является смешанным секретом больших и малых слюнных желез, расположенных на губах, кончике и корне языка, передней поверхности твердого нёба. К большим относят 3 пары слюнных желез: околоушные, поднижнечелюстные и подъязычные. Объем проточной слюны составляет 0,5-2 л в сутки, большую часть (70%) приходится на поднижнечелюстные слюнные железы, 25% - на околоушные, 4% - на подъязычные и только 1% - на малые слюнные железы.

Слюна - это вязкая жидкость с pH 6,8-7,4. Она состоит из воды (99,4%), органических и

неорганических веществ, составляющих 2/3 и 1/3 соответственно.

Химический состав секрета отдельных желез неодинаков. Околоушные железы продуцируют жидкую слюну, сходную с сывороткой крови, содержащую фермент α -амилазу и небольшое количество специфических гликопротеинов. Муцинпродуцирующие клетки подъязычных и поднижнечелюстных желез вырабатывают вязкий секрет с большим количеством гликопротеина - муцина и других белков.

Метаболизм ацинарных клеток

Процесс образования проточной слюны протекает в два этапа. В ходе первого этапа идет формирование первичного секрета, который включает специфические белки и гликопротеины, синтезированные в ацинарных клетках, а также органические и неорганические вещества, поступающие в

слюну из крови путем трансэндотелиального транспорта (рис. 12.2). Он осуществляется:

- парацеллюлярно через межклеточные контакты (размер частиц не более 10 нм) или межклеточные щели (размер частиц не более 100 нм) путем ультрафильтрации, т.е. переноса веществ из области более высокого в область более низкого гидростатического давления;
- трансцеллюлярно - простой диффузией (CO_2 , NH_3 , стероидные гормоны, H_2O и др.) или посредством микропиноцитозных везикул и трансэндотелиальных каналов;



Рис. 12.2. Транспорт молекул из крови в слюну

- активным транспортом, а также облегченной диффузией через латеральную и апикальную мембраны эпителиальных клеток.

Большинство электролитов, альбумин, иммуноглобулины G, A и M, витамины, гормоны, лекарственные препараты и вода поступают в слюну из крови. Существует четкая корреляция между содержанием ряда веществ в плазме крови и слюне (табл. 12.1).

Большая часть белков слюны постоянно синтезируется ацинарными (секреторными) клетками, меньшая часть - эпителиальными клетками протоков, некоторые в составе микропиноцитозных везикул попадают из крови в клетки, а затем экзоцитозом в слюну.

Таблица 12.1

Основные характеристики слюны и крови (Ritschel и Thompson)

Параметры	Смешанная слюна	Плазма
Объем (количество)	500–1500 мл/сут	4,3% массы тела
Скорость секреции, мл/мин	0,6 (0,1–1,8)	
рН	6,7 (5,6–7,9)	7,4
Вода, %	98 (97–99,5)	91,5 (90–93)
Общий белок, г/100 мл	0,3 (0,15–0,64)	7,3 (6–8)
Альбумин, г/100 мл		4,5 (4–5)
Муцин, г/100 мл	0,27 (0,08–0,6)	
Аминокислоты, мг/100 мл	0,1–40	0,98
Электролиты, ммоль/л:		
калий	8–40	3,5–5,5
натрий	5–100	135–155
кальций	1,5–2	4,5–5,2
фосфат	5,5–14	1,2–2,2
хлорид	5–70	100–106
Сухой остаток, г/л	6 (3,8)	80

Необходимые субстраты (аминокислоты, жирные кислоты, глюкозу) для образования органических молекул клетки получают из крови.

Синтез белков и постоянно протекающий в клетках активный обмен ионов требуют больших энергетических затрат. Необходимое для этих процессов количество АТФ образуется в ходе аэробного окисления глюкозы и β -окисления жирных кислот. Эти метаболические пути связаны с функционированием ЦПЭ, для работы которой требуется достаточное снабжение слюнных желез кислородом.

Вблизи апикальной области мембраны клеток слюнных желез находятся многочисленных гранулы, содержащие запас секреторных молекул. После стимуляции они сливаются с мембраной и их содержимое выделяется в слюнный проток.

В формировании проточной слюны принимают участие эпителиальные клетки протоков слюнных желез, которые реабсорбируют Cl^- и секретируют в слюну лизоцим и другие белки. Состав первичной слюны при прохождении через слюнные протоки меняется в основном



Рис. 12.3. Формирование слюнного секрета

Ацинарные клетки выделяют изотонический секрет. Эпителиальные клетки протоков реабсорбируют Na^+ и Cl^- из первичного секрета, а секретируют K^+ , глюкозу и белки. В результате образуется гипотонический окончательный секрет

за счет изменения содержания электролитов. Реабсорбция Na^+ в протоках слюнных желез протекает аналогично реабсорбции Na^+ в канальцах почек и регулируется альдостероном. Функционируют две системы транспорта ионов: переносчики Na^+ , по которым ионы попадают из протоков в клетку, и Na^+ , K^+ -АТФ-аза, выкачивающая ионы натрия против градиента концентрации из эпителиальных клеток в кровь (рис. 12.3).

Секрет обогащается электролитами K^+ , HCO_3^- (компонент одной из буферных систем), другими ионами, небольшим количеством I^- , глюкозой, поступающими из крови путем трансэндотелиального транспорта или из клеток

протоков. Слюна, выделяемая в полость рта, является гипотонической, осмотическое давление слюны составляет $\frac{1}{6}$ давления в ацинарных клетках.

12.2. РЕГУЛЯЦИЯ СЕКРЕЦИИ СЛЮНЫ

Внеприема пищи небольшое количество слюны выделяют подъязычные и поднижнечелюстные железы человека. При отсутствии внешней стимуляции (жевание, вкусовые раздражители) секрет слюнных желез называется нестимулированной слюной. Скорость ее секреции составляет $\sim 0,3$ мл/мин, причем она возрастает в середине дня и снижается до $0,1$ мл/мин ночью. Объем секрета зависит не только от пола, возраста, но и от физического и эмоционального состояния организма и даже сезона года. У женщин скорость слюноотделения ниже, чем у мужчин, наиболее активно слюна выделяется у детей 5-8 лет. Объем секреции нестимулированной слюны зависит от обезвоживания организма, освещенности помещения, положения тела и приема медикаментов.

Слюна секретируется в ответ на импульс возбуждения. В течение большей части дня (вне приема пищи) частота нейроимпульсов низкая, это обеспечивает нестимулированный уровень тока слюны.

При поступлении пищи в ротовую полость происходит раздражение механо-, термо- и хеморецепторов слизистой оболочки. Возбуждение этих рецепторов поступает в ЦНС (центр слюноотделения в продолговатом мозге). От ЦНС по эфферентным волокнам возбуждение доходит до слюнных желез, и они начинают выделять слюну. Этот путь представлен парасимпатическими и симпатическими волокнами. Ацетилхолин, выделяющийся при раздражении парасимпатической системы, взаимодействует с рецепторами слюнной железы и вызывает выделение большого количества жидкой слюны, которая содержит много солей и мало органических веществ. При возбуждении симпатических волокон, высвобождается норадреналин, который стимулирует секрецию небольшого количества густой вязкой слюны, в состав которой входит мало солей и много органических веществ (рис. 12.4). Такое же действие на слюнные железы оказывает гормон адреналин.

Нейропептид субстанция Р освобождается из капсаицин-чувствительных афферентных нервов и регулирует увеличение проницаемости ацинарной клетки для белков плазмы крови. Вазоактивный кишечный полипептид относится к нейропептидам, регулирующим тонус кровеносных

сосудов и секреторную функцию эпителиальных клеток слизистой оболочки ротовой полости и желудочно-кишечного тракта.

Парасимпатические и симпатические медиаторы, влияя на слюнные железы, повышают кровоснабжение, метаболизм, секрецию, активность гладкомышечных структур слюнных протоков и выведение слюны. От соотношения сигналов управления зависит скорость секреции, количество и состав секрета.

Кроме того, количественный и качественный состав слюны после стимуляции зависит от характера раздражителя, вызывающего секрецию. Имеет значение сухая или влажная пища, ее консистенция, степень измельчения и вкусовые раздражители. Чем крупнее частицы пищи, тем большее стимулирующее действие оказывает она на работу слюнных желез. Твердая пища способствует самоочищению зубов, вызывает



Рис. 12.4. Регуляция секреции слюны

увеличение слюноотделения и содержания в слюне α -амилазы. Среди вкусовых стимуляторов наибольшей эффективностью обладают кислоты, например 5% раствор лимонной кислоты может повысить скорость слюноотделения до 7 мл/мин. Изменение режима питания и состава пищи влияет на скорость секреции, минеральный и органический состав слюны. Слюноотделение регулируется с помощью не только безусловных, но и условных рефлексов. Вид и запах пищи, звуки, связанные с приготовлением пищи, воспоминание о пище вызывают условно-рефлекторное слюноотделение.

Биохимический состав слюны и ее физикохимические показатели отражают состояние обмена веществ в организме. С возрастом наблюдается

постепенное снижение скорости слюноотделения, содержание минеральных компонентов в смешанной слюне повышается, но снижаются рН и активность некоторых ферментов.

Секреция нестимулированной слюны связана с выполнением одной из основных ее функций - защитной, в то время как большой стимулированный ток слюны необходим для улучшения пищеварения (формирования пищевого комка и проглатывания).

Механизм регуляции секреторной активности ацинарных клеток

Регуляторные молекулы передают сигнал на рецепторы базолатеральной мембраны ацинарной клетки. Трансмембранная передача сигнала осуществляется двумя системами: аденилатциклазной и инозитолфосфатной, а также рецепторами, связанными с ионными каналами.

Норадреналин, передавая сигнал с помощью аденилатциклазной системы, приводит к повышению концентрации в клетке цАМФ, который регулирует активность протеинкиназы А. ПКА_{акт} фосфорилирует специфические белки, стимулирующие слияние секреторных пузырьков с клеточной мембраной и высвобождение их содержимого в слюнный проток. Процесс экзоцитоза регулируется Ca²⁺, повышение концентрации которого вызывают ацетилхолин, субстанция Р и вазоактивный кишечный полипептид (рис. 12.5).

В клеточной мембране ацинарных клеток присутствуют белки-переносчики других ионов, которые обеспечивают формирование электролитной составляющей слюны. Перемещение ионов идет по механизму пассивного транспорта, с помощью регулируемых каналов и активного транспорта с участием АТФ-аз (рис. 12.6).

Вода проходит в слюну по каналам, образованным аквапоринами 5 (AQP5) апикальной части клеточных мембран поднижнечелюстных, околоушных и подъязычных желез. Количество поступающей в проток воды зависит от содержания ионов натрия и хлора в первичном секрете.

Секрет ацинарных клеток является изотоническим и по содержанию электролитов почти не отличается от сыворотки крови. В поднижнечелюстных и околоушных слюнных железах обмен ионов зависит от скорости секреции слюны. При увеличении объема секрета ионный состав

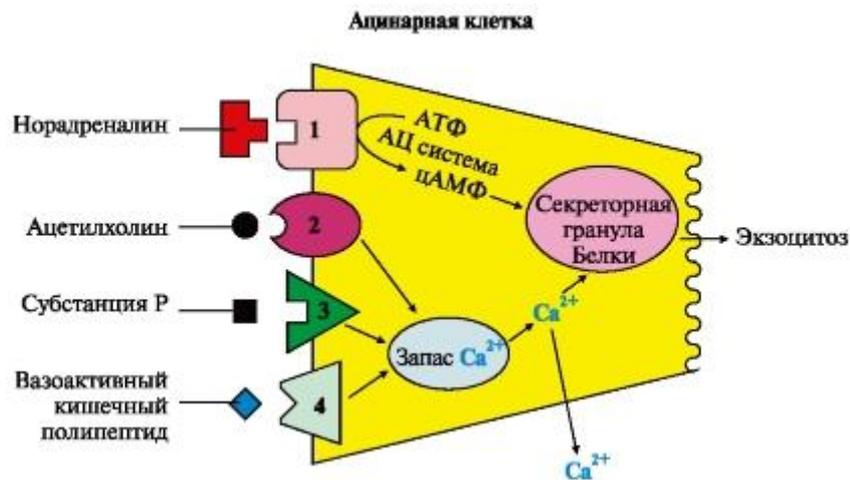


Рис. 12.5. Регуляция экзоцитоза содержимого секреторных гранул

1 - рецептор норадреналина (адреналина); 2 - рецептор ацетилхолина; 3 - рецептор нейромедиатора Р; 4 - рецептор вазоактивного кишечного полипептида. Ацетилхолин, передавая сигнал по инозитолфосфатному пути, вызывает повышение концентрации инозитол-1,4,5-трифосфата (ИФ₃), который регулирует поток ионов кальция из эндоплазматического ретикулума в цитозоль клетки. Повышение содержания кальция в цитозоле клетки может также происходить при участии Ca^{2+} -переносчика цитоплазматической мембраны, работа которого регулируется G-белком

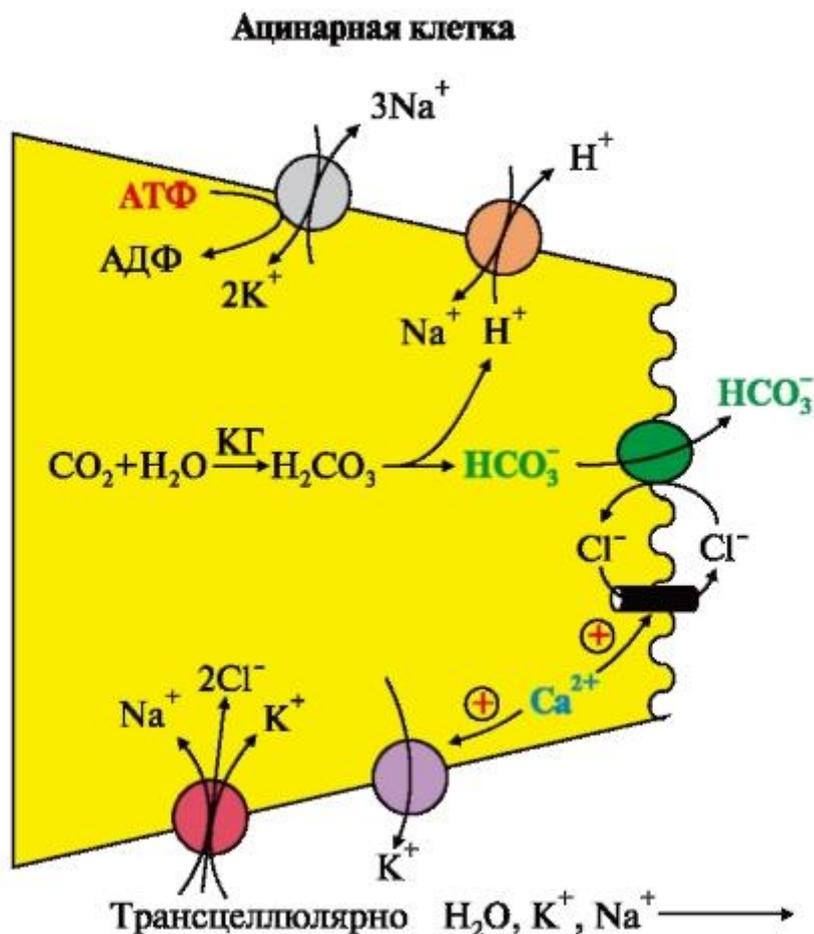


Рис. 12.6. Функционирование переносчиков базолатеральной и апикальной частей мембраны ацинарной клетки

HCO_3^- , Cl^- (антипорт) - функционирование согласовано с Ca^{2+} -зависимым каналом Cl^- ; Na^+ , K^+ -АТФаза - работа сопряжена с Na^+ , K^+ -переносчиком, Ca^{2+} -зависимым каналом K^+ и сложным переносчиком $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$.

Образованные и поступившие в клетку CO_2 и H_2O под действием карбоангидразы (КГ) превращаются в угольную кислоту (H_2CO_3), которая диссоциирует на H^+ и HCO_3^- , последний из них входит в буферную систему слюны.

конечной слюны становится аналогичным составу первичной слюны.

Содержание Na^+ и K^+ в секрете подязычных желез не зависит от скорости секреции.

Воздействие на клетки желез сигнальных молекул не только вызывает выделение слюны, но и стимулирует поступление из крови субстратов, необходимых для синтеза органических компонентов слюны, которые включаются в секреторные гранулы.

12.3. НЕОРГАНИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ СЛЮНЫ И РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ

Неорганическая составляющая смешанной слюны представлена макро- и микроэлементами (табл. 12.2) Минеральные вещества могут находиться как в ионизированной форме, так и в составе органических и неорганических соединений. Концентрация анионов и катионов в секрете зависит от скорости слюноотделения, которая в свою очередь регулируется многими факторами.

Ионы калия и натрия являются важнейшими компонентами слюны.

Секрецию K^+ постоянно осуществляют эпителиальные клетки протоков в основном поднижнечелюстных и околоушных желез. Концентрация K^+ в составе секретов поднижнечелюстных желез равна 8-14 ммоль/л, Na^+ - 6-13 ммоль/л, околоушных - 25-49 и 2-8 ммоль/л соответственно. В смешанной слюне содержание калия в норме в 1,5-4 раза выше, чем в плазме крови, и составляет 12,8-25,6 ммоль/л, натрия - 4,8-30,4 ммоль/л. Соотношение концентрации ионов калия и натрия - коэффициент

Таблица 12.2

Минеральный состав смешанной слюны и плазмы крови

Вещества	Слюна, ммоль/л	Плазма крови, ммоль/л
Na^+	4,8–30,4,0	130–150
K^+	12,8–25,6	3,6–5,0
Cl^-	11–20	97–108
$Ca_{\text{общ}}$	0,75–3,0	2,1–2,8
	2,2–6,5	1,0–1,6
	3–7	3–5
	20–60	25
	0,5–1,2	0,1–0,2
	0,3	0,1
	0,1	0,01
	0,001–0,15	0,15

K^+/Na^+ - очень важный показатель состояния электролитного обмена в организме. Вместе с другими ионами они определяют осмотическое давление, буферную емкость и мицеллярную структуру слюны.

Концентрация K^+ и Na^+ в смешанной слюне меняется в течение суток, причем при длительной гиперсаливации концентрация K^+ в слюне снижается (рис. 12.7.). Ионов натрия в слюне намного меньше, чем в плазме, но их содержание значительно возрастает при увеличении скорости секреции слюны и может достигать 130 ммоль/л.

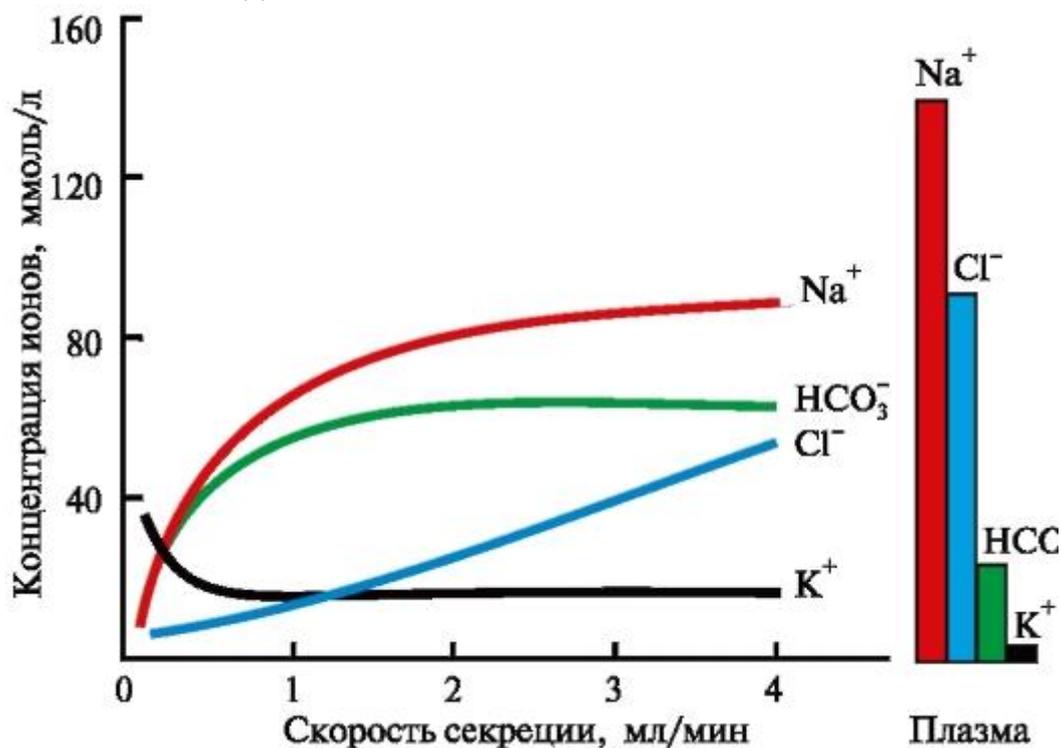


Рис. 12.7. Изменение концентрации ионов в слюне в зависимости от скорости секреции

Бикарбонаты (HCO_3^-) являются компонентами буферной системы слюны, они секретируются в основном околоушными и поднижнечелюстными железами. С увеличением объема слюны, выделяемой железами в минуту, содержание бикарбонатов повышается и может достигать максимальных значений ~ 60 ммоль/л.

pH слюны. Смешанная слюна имеет pH, близкое к нейтральному, - 5,6-7,9. pH зависит от скорости слюноотделения, поэтому pH днем выше, чем ночью, а также от гигиенического состояния полости рта и состава пищи.

В поддержании оптимального pH основную роль играют буферные системы, которые определяют буферную емкость слюны, т.е. ее способность нейтрализовать кислоты и щелочи.

Сохранение оптимального pH в полости рта осуществляется 3 буферными системами: белковой, фосфатной $[\text{Na}_2\text{HPO}_4]/[\text{NaH}_2\text{PO}_4]$ и бикарбонатной $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$.

Бикарбонатная система обеспечивает 80% буферных свойств слюны, хотя является не очень стабильной, так как карбоангидраза легко превращает HCO_3^- в CO_2 .

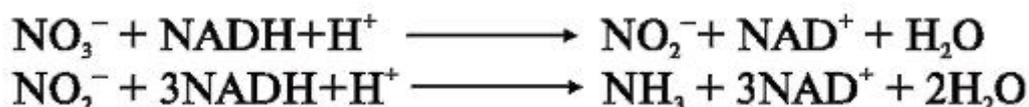


pH Ротовой жидкости зависит от содержания NH_3 . Источниками аммиака являются:

- мочевины, попадающая в слюну из крови; ее гидролиз происходит под действием бактериального фермента уреазы:



- нитраты, которые ферментами нитрат- и нитритредуктазами превращаются в NH_3 :



Повышение содержания NH_3 в ротовой жидкости приводит к смещению pH в слабощелочную сторону. Существенное влияние на pH слюны оказывают микроорганизмы, окисляющие глюкозу анаэробным путем, конечным продуктом которого является лактат.

pH полости рта определяет защитные функции слюны, т.е. ее нейтрализующие и минерализующие свойства, активность ротовой микрофлоры, градиент и скорость ионообменных процессов.

Тиоцианаты (KSCN , NaSCN , роданиды), йодиды поступают в слюну из плазмы крови или образуются бактериальными ферментами, их концентрация в слюне не превышает 0,01%. В печени тиоцианаты образуются в процессе обезвреживания цианидов (солей синильной кислоты) под действием фермента роданазы (тиосульфатцианидтрансферазы).

Источником цианида калия являются пищевые продукты растительного

происхождения, в основном горький миндаль, косточки абрикосов, вишни и др.



Количество тиоцианатов в слюне увеличивается при воспалении тканей пародонта, а также в 4-10 раз превышает норму у курящих.

Тяжелые металлы. При увеличении в плазме крови содержания тяжелых металлов Ag^+ , Hg^{2+} ,

Pb^{2+} выше физиологической нормы возрастает их поступление в слюну. В ротовой полости присутствуют продукты жизнедеятельности микроорганизмов, одним из которых является H_2S . Сероводород взаимодействует с ионами тяжелых металлов, образуются сульфиды, которые адсорбируются на эмали в области шейки зуба, образуя «свинцовую каемку».

Кальций и фосфаты. Минерализующая функция ротовой жидкости зависит от содержания в ней Ca^{2+} и фосфатов. Концентрация этих ионов в слюне может достаточно сильно варьировать, что отражается на реминерализующих свойствах слюны, а значит, и на резистентности тканей зуба к кариесу.

Основным источником ионов кальция являются поднижнечелюстные железы, которые выделяют приблизительно 75% всего кальция смешанной слюны. В 2 раза меньше его содержится в секрете околоушных желез. Концентрация кальция в первичном секрете невысокая, но затем она увеличивается до 2,1-2,3 ммоль/л за счет реабсорбции воды в слюнных протоках.

Содержание кальция в смешанной слюне незначительно отличается от такового в плазме. В течение жизни человека количество этих ионов в слюне увеличивается, достигая максимального значения в среднем возрасте. В слюне присутствует 50% ионизированного кальция, около 15% приходится на Ca^{2+} , связанный с белками, остальная часть находится в составе солей цитрата и фосфата. Соотношение концентрации ионизированного кальция к общему - коэффициент $\text{Ca}^{2+}/\text{Ca}_{\text{общ}}$ показывает долю легко мобилизуемого

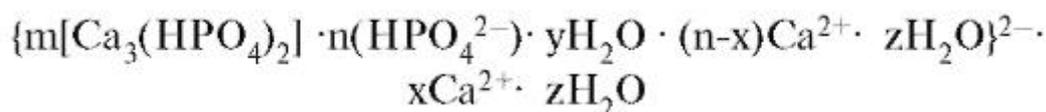
кальция, способного участвовать в реминерализации эмали. В норме он равен 0,54, его снижение может привести к появлению свободных мест в кристаллической решетке эмали и увеличению ее проницаемости для других ионов.

Общего фосфата в слюне в 2-3 раза больше, чем в плазме, его концентрация составляет 7 ммоль/л, из которых от 70 до 95% приходится на неорганический фосфат, который представлен ионами HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- и PO_4^{3-} . Небольшое количество фосфата входит в состав фосфопротеинов слюны.

Смешанная слюна перенасыщена ионами фосфата и кальция, однако в нормальных условиях это не приводит к отложению минеральных компонентов на поверхности зубов. Этому препятствуют мицеллярное строение слюны, а также

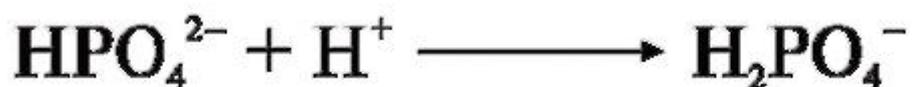
присутствующие в ротовой жидкости специфические белки, которые предотвращают спонтанную преципитацию из растворов, перенасыщенных кальцием и фосфатами.

Мицеллы слюны. Поддержание нерастворимых солей кальция в псевдорастворенном состоянии в составе слюны возможно благодаря формированию коллоидных образований - мицелл. Состав мицеллы описывается следующей формулой:



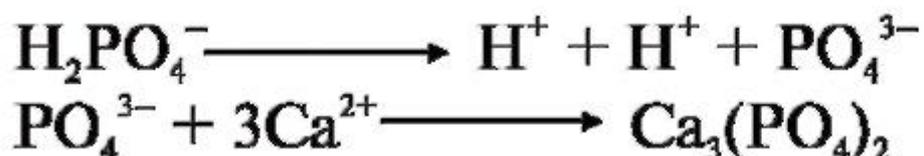
Ядро мицеллы состоит из молекул фосфата кальция $\text{t}[(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)]$, на поверхности которого в качестве потенциалопределяющих ионов распределяются находящиеся в избытке ионы гидрофосфата (HPO_4^{2-}), окруженные водно-белковой оболочкой. В адсорбтивном и диффузном слоях мицеллы находятся ионы кальция. Способность некоторых белков слюны связывать кальций привлекает их в диффузный слой, что повышает устойчивость мицеллы

Ионы K^+ и Na^+ при физиологических концентрациях и значениях pH смешанной слюны, близких к нейтральному, обеспечивают устойчивость коллоидных мицелл. Изменение состава, количества или pH слюны отражается на структуре мицелл и реминерализующих свойствах слюны. Снижение pH приводит к протонированию фосфатных групп потенциалобразующего слоя:



Суммарный отрицательный заряд мицеллы уменьшается, и ионы кальция вымываются из диффузного слоя, уменьшается устойчивость мицелл, и повышается вероятность их агрегации. Слюна становится недонасыщенной кальцием и неорганическим фосфатом, она не может принимать участие в реминерализации, а при сохранении pH 6,2 в течение продолжительного времени превращается в слюну деминерализующую.

При повышении pH слюны происходит быстрое депротонирование $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$, образованные ионы PO_4^{3-} , взаимодействуя с кальцием, формируют труднорастворимые соли $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ зубного камня.



Увеличение концентрации K^+ и Na^+ в смешанной слюне вызывает потерю потенциалобразующим слоем фосфат-ионов и образование растворимых солей K_2HPO_4 или Na_2HPO_4 , что, вероятно, дает начало камнеобразованию.



Процесс сопровождается изменением структуры мицелл, потере их устойчивости и коагуляции. Микроскопическое исследование высушенных капель ротовой жидкости, взятой у обследуемых, показало, что они имеют разное микрокристаллическое строение. Образование микрокристаллов может характеризовать реминерализующую способность слюны. Изменение строения кристаллов

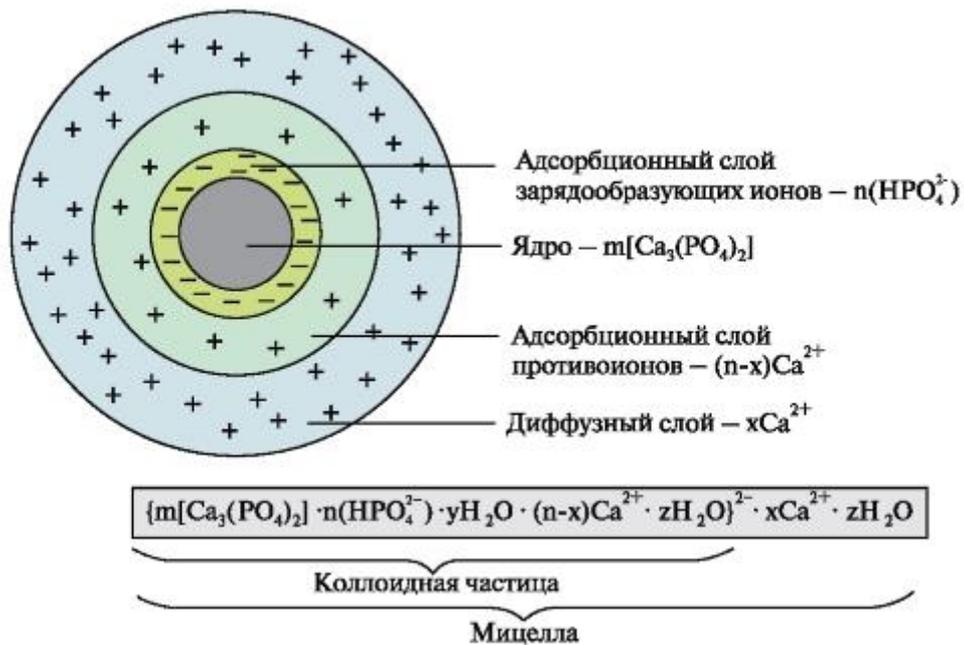


Рис. 12.8. Строение мицеллы фосфата кальция

наблюдается у пациентов с активным течением кариеса, а также при различных патологических состояниях организма в целом.

Слюна, доставляя в эмаль зуба кальций, фосфат и другие ионы, способствует уменьшению микропространств в кристаллической решетке. С помощью компонентов слюны эти вещества активно связываются с поверхностными слоями эмали, а при насыщении слюны минеральными ионами диффундируют из ротовой жидкости в эмаль. Поскольку слюна пересыщена фосфатом и кальцием, она в течение определенного времени обеспечивает созревание и уплотнение структуры эмали после прорезывания зуба.

Существует тесная связь между состоянием зубов и функцией слюнных желез. Уменьшение секреции (гипосаливация) или полное отсутствие слюны (ксеростомия) отражается на реминерализующих свойствах слюны, а значит, и резистентности тканей зуба к кариесу.

тестовые задания и задачи

1. Дополните предложения недостающими словами.

А. Смесь секретов всех слюнных желез называется ... слюной.

Б. В сутки выделяется около ... литров этой смеси секретов.

В. Большую часть объема, примерно 70%, составляет секрет . желез.

Г. Эти железы относятся к ... слюнным железам.

2. Выберите правильные ответы.

В состав смешанной слюны входят:

А. Секреты больших слюнных желез. Б. Лейкоциты крови.

В. Микроорганизмы.

Г. Продукты метаболизма микроорганизмов.

Д. Секреты малых слюнных желез.

3. Дополните предложения недостающими словами.

А. Формирование слюнного секрета происходит в . этапа.

Б. Первый этап протекает в . клетках.

В. Из крови путем трансцеллюлярного и парацеллюлярного транспорта в секрет поступает много разных . .

Г. Поэтому в полость ацинуса выделяется . слюна.

Д. В слюнных протоках эта слюна теряет ионы . и становится гипотонической.

Е. В смешанной слюне концентрация ионов . выше, чем ионов . .

Ж. При увеличении скорости секреции концентрация ионов . в слюне увеличивается.

4. Выберите правильные ответы.

В регуляции секреции слюны участвуют сигнальные молекулы:

А. Адреналин.

Б. Норадреналин.

В. Субстанция Р. Г. Ацетилхолин.

Д. Вазоактивный кишечный полипептид.

5. Дополните предложения недостающими словами.

А. От соотношения электролитов в слюне зависят значение . и ее буферная емкость.

Б. Этот показатель смешанной слюны равен .

В. Он поддерживается 3 буферными системами, из них . - самая главная

Г. Образование компонентов этой системы происходит при участии фермента . .

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Смешанная слюна больных с синдромом Конна (опухоль пучковой зоны коры надпочечников) содержит меньше натрия и хлора, но больше калия по сравнению с нормой. Объясните, уровень какого гормона повышен в крови больных и как он влияет на ионный состав слюны. Для этого:

а) представьте механизм действия этого гормона на клетки-мишени(см. Главу 10.5);

б) поясните его влияние на обмен ионов;

в) назовите клетки-мишени гормона, действуя на которые он нарушает электролитный состав слюны.

2. У больного с патологией полости рта взяли слюну для анализа минерального состава.

Результаты анализа позволили построить модель мицеллы фосфата кальция, представленную на рис. 12.9. К каким последствиям могут привести такие изменения в структуре мицеллы? Для ответа на вопрос:

а) укажите нарушения в составе мицеллы (для сравнения используйте рис. 12.8);

б) объясните, изменение концентрации каких ионов может стать причиной этого;

в) опишите последствия такого отклонения состава мицеллы от нормы.

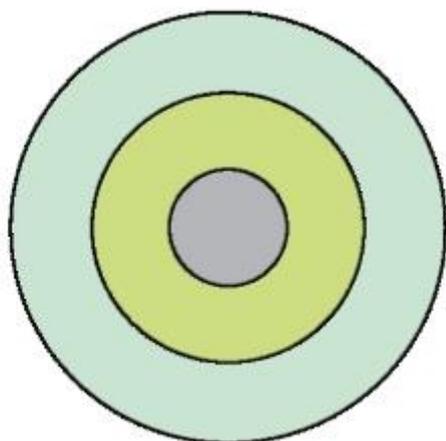


Рис. 12.9. Модель мицеллы фосфата кальция больного с патологией полости рта

3. При наследственном заболевании муковисцидозе, вызванном мутациями в гене белка, обеспечивающего транспорт ионов хлора через апикальную часть мембраны в проток, наблюдается повышение содержания Cl^- в ацинарных клетках. Это приводит к усилению притока в эти клетки Na^+ и H_2O . Какие изменения состава и объема слюны наблюдаются при данном заболевании? Для ответа на вопрос:

- а) представьте схему апикальной части цитоплазматической мембраны ацинарной клетки, на схеме укажите Ca^{2+} -зависимый канал для Cl^- ;
- б) объясните, почему нарушение секреции ионов хлора ацинарными клетками приведет к снижению буферной емкости слюны; перечислите буферные системы слюны;
- в) укажите причину ксеростомии при данном заболевании;
- г) объясните, какие изменения в структуре эмали зубов наблюдаются у больных муковисцидозом и почему.

4. Известно, что многие синтетические курареподобные лекарственные средства - структурные аналоги ацетилхолина при приеме внутрь вызывают ксеростомию. Объясните это явление. Для этого представьте схему регуляции секреции слюны и поясните:

- а) как курареподобные лекарственные средства влияют на активность связывания ацетилхолина с рецептором, укажите механизм их действия;
- б) причину ксеростомии при приеме лекарств, которые являются структурными аналогами ацетилхолина;
- в) влияние снижения скорости секреции слюны на состояние полости рта.

12.4. БЕЛКИ И ФЕРМЕНТЫ СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ

Смешанная слюна содержит белки, липиды, углеводы, витамины, гормоны, органические кислоты, азотсодержащие соединения небелковой природы. Количество этих веществ зависит от состояния ротовой полости и всего организма.

Органические компоненты в смешанной слюне составляют 0,8-3,0 г/л, что в 10-15 раз меньше, чем в крови. Основная часть белков (90%) синтезируется в слюнных железах, 10% приходится на белки, которые попадают в слюну из

клеток слизистой оболочки полости рта, десневой бороздки, крови или имеют бактериальное происхождение.

Многие синтезируемые в железистых клетках белки представлены полиморфными группами, имеющими незначительное различие по первичной структуре, например белки, богатые пролином (~13 представителей), гистатины, содержащие много гистидина (~5), белки, богатые тирозином (статхерин и др.), низко- и высокомолекулярные муцины, а также несколько пероксидаз. Некоторые белки существуют в единичной форме, к ним относятся факторы роста эпителия, лактоферрин, антигенспецифические вещества, определяющие группу крови, а также секреторный компонент, который завершает формирование иммуноглобулинов sIgA. Многие белки слюны полифункциональны, т.е. могут выполнять не одну, а несколько функций (рис. 12.10).

Проявление той или иной функции белка определяется конформацией, которая в свою очередь зависит от заряда, связи с другими белками, гидроксиапатитами эмали зуба, ионами кальция, молекулами воды. Например, богатые пролином белки проявляют антибактериальную активность только после абсорбции на поверхности эмали. Обязательным условием проявления активности статхеринов и гистатинов является сохранение структуры α -спирализованных доменов. Муцины слюны должны иметь не менее 5 межцепочечных дисульфидных мостиков. Изменение pH слюны, ее электролитного состава или снижение содержания одного из белков отражается на функциях слюны.

Большинство белков, синтезируемых ацинарными клетками, являются гликопротеинами и имеют в своей структуре специфический углеводный фрагмент, который может составлять до 70% его молекулярной массы (рис. 12.11).



Рис. 12.10. Полифункциональность белков слюны

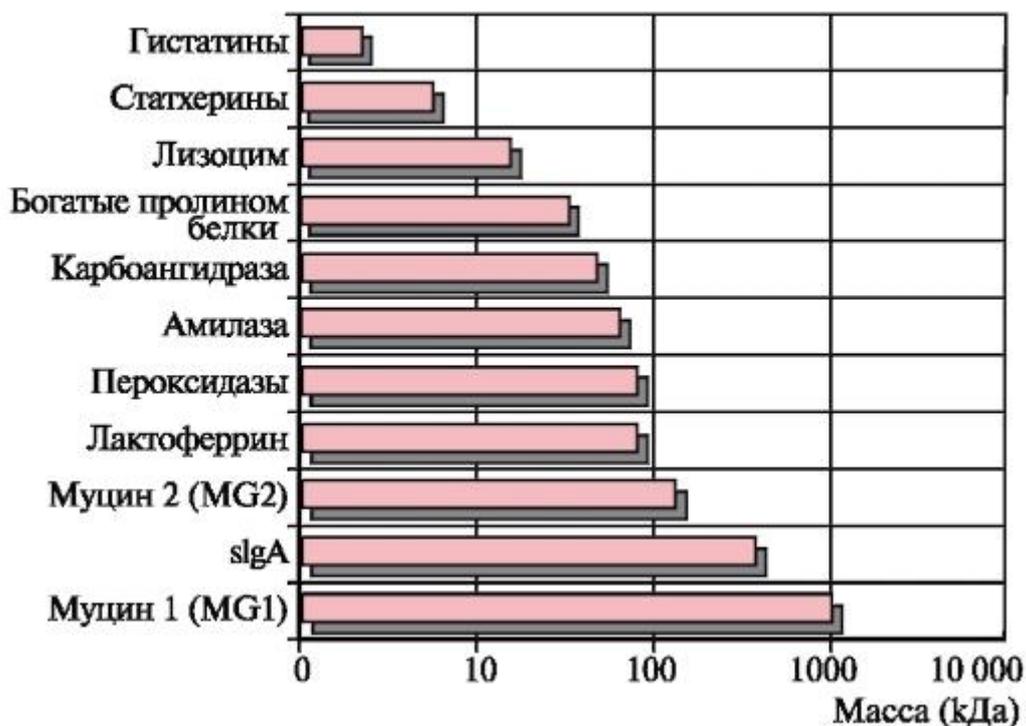


Рис. 12.11. Молекулярная масса основных белков слюны

Присутствие в белках слюны полярных радикалов аминокислот и углеводных цепей обеспечивает высокую степень гидратированности макромолекул.

Муцины слюны. Биосинтез и структура муцинов

Муцины (от англ. *mucus* - слизь) - это гликопротеины, обладающие специфическими свойствами. Для них характерны большая молекулярная масса и высокое содержание углеводов (50-70% массы молекулы). В слюне

человека присутствуют муцин 2 (MG2) с мол. массой около 100 кД и муцин 1 (MG1) имеющий значительно большую массу - 1000 кД. В муцинах содержится много остатков серина, треонина, пролина (до 50%) и углеводных цепей

гетерополисахаридов. Углеводные компоненты связаны N- и O-гликозидными связями с аминокислотными остатками аспарагина, серина или треонина.

В муцинах благодаря высокому содержанию серина и треонина сотни (или больше) углеводных цепочек связываются с НО-группой радикалов этих аминокислот. Большое количество пролина обеспечивает формирование особой конформации белкового остова, способного разместить на себе сотни олигосахаридных фрагментов. Другой особенностью аминокислотного состава муцинов является высокое содержание цистеиновых остатков, образующих дисульфидные (-S-S-) связи при формировании олигомерной структуры муцинов.

Углеводный состав муцинов представлен 5 типами моносахаров: фукозой (Fuc), галактозой (Gal), N-ацетилглюкозамином (GlcNAc), N-ацетилгалактозамином (GalNAc) и сиаловой кислотой. Моносахара образуют олигосахаридные цепи, содержащие от 1 до 22 (в среднем 8-10) моносахаридных остатков. Муцины отличаются числом цепочек, приходящихся на молекулу, в среднем около 400, хотя оно может достигать и 800 на 1 молекулу.

Муцины слюны в основном синтезируются высокоспециализированными клетками поднижнечелюстных и подъязычных желез. Синтез полипептидной цепи муцинов, как и других гликопротеинов, происходит на полирибосомах, связанных с эндоплазматическим ретикуломом. Растущий пептид переносится через мембрану ретикулума в его полость, там происходит N-гликозилирование

муцинов на участке -Асн-Х-Сер-Тре-, где Х - любая аминокислота, кроме Про и Асп. На амидную группу аспарагина синтезирующегося белка переносится не отдельный моносахарид, а уже сформированный фрагмент - Glc-Man-GlcNAc. Синтезированный белок поступает в аппарат Гольджи, где происходят удлинение олигосахарида, связанного N-гликозидной связью, и O-гликозилирование.

О-гликозилирование начинается с присоединения GalNAc-трансферазой GalNAc к Сер или Тре. Дальнейшее гликозилирование идет путем добавления различных углеводных остатков специфическими гликозилтрансферазами. Завершается О-гликозилирование в аппарате Гольджи (рис. 12.12).

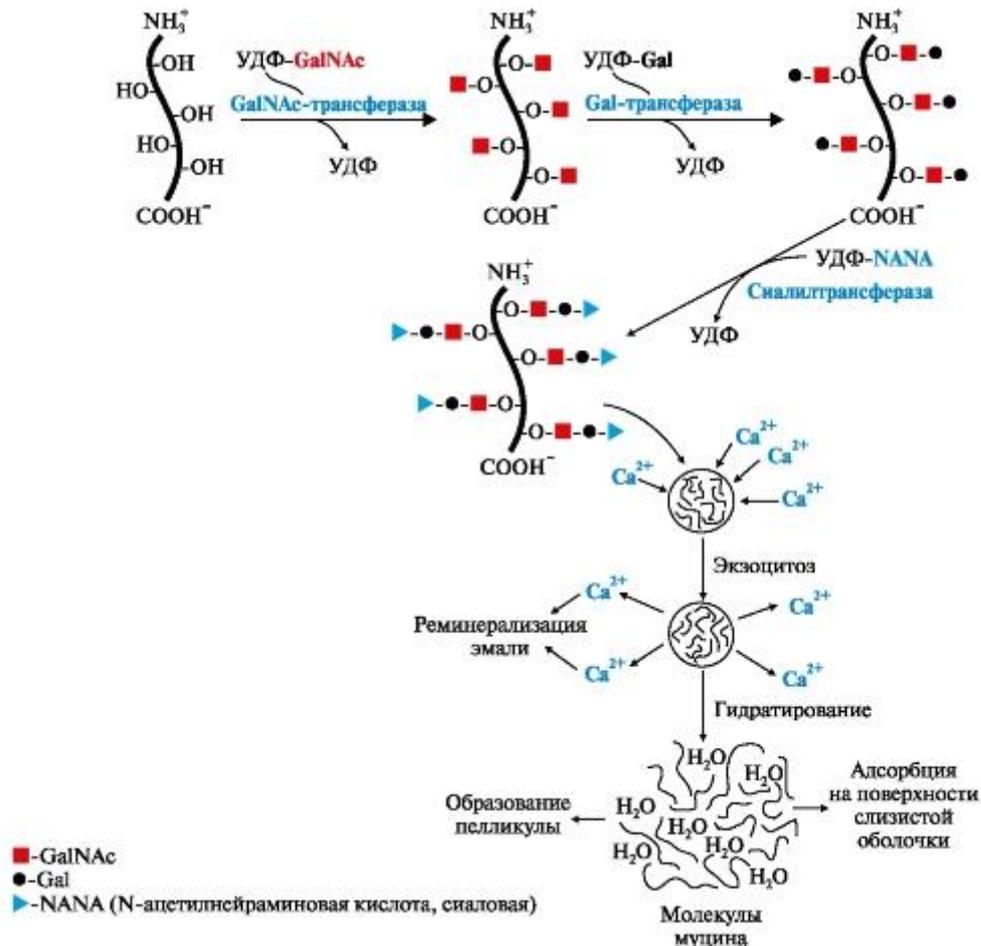


Рис. 12.12. Синтез и секреция муцинов

N-гликозилирование, которое происходит в процессе синтеза белка, играет важную роль в формировании олигомерных структур и внутриклеточном транспорте муцинов. O-связанные олигосахаридные цепи обеспечивают специфическое взаимодействие между олигомерами и защиту внеклеточного муцина от протеаз. N-гликозилирование на рисунке не показано. После завершения гликозилирования муцины упаковываются в секреторные гранулы. Отрицательно заряженные группы муцинов связывают Ca²⁺, это снижает заряд молекул и обеспечивает плотную упаковку в составе гранул. Секреция муцинов осуществляется по механизму экзоцитоза, при этом из гранул освобождается много кальция, который участвует в реминерализации эмали и поддержании стабильности мицелл фосфата кальция. Секреция муцинов сопровождается увеличением их объема примерно в 600 раз в

течение 40 мс за счет быстрого гидратирования. Такое увеличение объема обеспечивается гидрофильностью углеводных цепей муцинов и силами отталкивания между соседними молекулами, которые имеют отрицательный заряд.

Между отдельными молекулами муцина возникают дисульфидные мостики, образованные остатками цистеина. Появление связей, объединяющих сильно гидратированные молекулы белка, приводит к формированию структур, придающих слюне вязкость и обладающих высокими адгезивными свойствами. Молекулы муцина образуют слизистую пленку (пелликулу), имеющую невысокий отрицательный заряд. Пелликула выполняет роль селективного фильтра и защитного барьера для эмали от пищевых кислот и продуктов жизнедеятельности микроорганизмов.

Взаимодействие муцинов с полярными головками липидов мембран с образованием слизистой пленки защищает клетки ротовой полости от неблагоприятных механических, химических, тепловых, бактериальных и вирусных воздействий.

Специфические слюнные белки

В секретах желез присутствует несколько специфических слюнных белков, характеризующихся преобладанием одной или нескольких аминокислот. К ним относятся белки, богатые пролином (PRP), статхерины, гистатины и цистатины. Четыре семейства слюнных белков обладают набором функций, которые обеспечивают защиту эмали зуба и мягких тканей полости рта. Эти белки, в отличие от sIgA, лактоферрина, лизоцима, слюнных пероксидаз, специфичны для слюны и не встречаются в других жидкостях организма человека. Кроме того, белки, богатые пролином, статхерины, гистатины и цистатины полифункциональны, почти все имеют домен, который обеспечивает их прикрепление к эмали зуба или эпителиальным клеткам, в то время как другие домены проявляют антибактериальную и противогрибковую функции или выступают ингибиторами протеаз бактериального и лизосомного происхождения, причем некоторые функции этих протеинов проявляются только при условии адсорбции на твердой поверхности зуба.

Белки, богатые пролином. Секреты околоушных и поднижнечелюстных желез содержат несколько видов белков, богатых пролином, которые составляют 70% всех белков секрета и подразделяются на кислые, основные

и гликозилированные. Содержание в этих протеинах аминокислоты пролина варьирует от 20 до 40%.

Кислые белки, богатые пролином, образуя связи с гидроксиапатитами эмали, изменяют

свою конформацию и приобретают способность связывать Ca^{2+} . Они предотвращают деминерализацию, ингибируют рост кристаллов фосфата кальция в перенасыщенном слюнном секрете. Присоединяя ионы кальция, приобретают способность с помощью С-концевых доменов связывать многочисленные микроорганизмы полости рта, особенно *Actinomyces viscosus*, образовывать микробные колонии зубного налета, адсорбируясь на поверхности эмали зубов.

Гликозилированные белки, богатые пролином, способны гидратироваться подобно муцинам, поэтому участвуют в смачивания пищевого комка и обеспечивают его проглатывание.

Основные белки, богатые пролином, связывая танин, содержащийся в пище, защищают слизистую оболочку полости рта. Поступление в организм пищи с большим содержанием танинов вызывает индукцию синтеза этих белков. Основные белки, богатые пролином, могут взаимодействовать с мембраной стрептококков, нарушать её проницаемость и вызывать гибель микроорганизмов.

Статхерины - фосфопротеины, богатые тирозином, присутствуют в секрете околоушных желез. На N-концах молекул находятся высокоотрицательные повторы (-Асп-Сер-Сер-Глу-Глу-), содержащие фосфорилированные остатки серина. Они связывают Ca^{2+} и препятствуют образованию фосфорно-кальциевых солей на поверхности зуба, в ротовой полости и в слюнных железах (рис. 12.13).

Взаимодействуя с гидроксиапатитами эмали, статхерины образуют димеры, изменяют свою конформацию и приобретают способность связывать микроорганизмы.

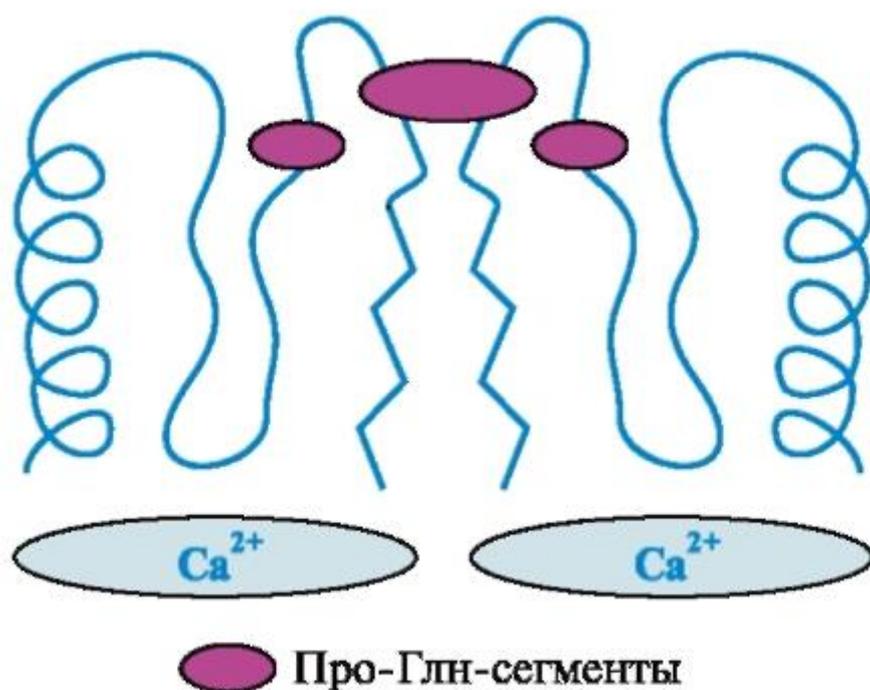


Рис. 12.13. Адсорбция статхеринов на поверхности эмали

Цистатины - кислые белки, состоящие из 121 аминокислотного остатка, синтезируются в клетках околоушных и поднижнечелюстных желез. Один из цистатинов присутствует в пелликуле зуба. Он взаимодействует с гидроксиапатитами эмали зуба с помощью фосфорилированных остатков серина. Одна из изоформ цистатинов ингибирует лизосомные ферменты - цистеиновые (катепсины В, Н и L) и сериновые (катепсины А) протеазы, специфически связываясь в их активном центре. В слюну протеазы попадают в составе белков слущенного эпителия, при снижении рН ротовой жидкости они проявляют повышенную протеолитическую активность и могут гидролизовать белки слюны.

Гистатины - низкомолекулярные белки с высоким содержанием гистидина поступают в слюну в составе секретов околоушных и поднижнечелюстных желез человека. В слюне присутствуют небольшие катионные белки, они образуются в результате частичного протеолиза более крупных гистатинов.

Связываясь с кристаллами гидроксиапатитов эмали гистатины участвуют в формировании пелликулы зуба. Взаимодействуя с фосфатами, они ингибируют рост кристаллов гидроксиапатитов в слюне. Их бактерицидное свойство основано на способности образовывать в клеточной мембране бактерий спиралевидную структуру, это увеличивает ее проницаемость и

вызывает гибель микроорганизмов. Наиболее активно эта защитная функция проявляется у гистатинов в отношении *C. Albicans*. Гистатины инактивируют протеазы, секретируемые микроорганизмами ротовой полости, а также являются адсорбентами для танинов.

Анионные гликопротеины содержатся в секрете поднижнечелюстных слюнных желез, имеют большое количество остатков серина - 18 на 100 аминокислот и 600-800 олигосахаридных цепей (рис. 12.14).

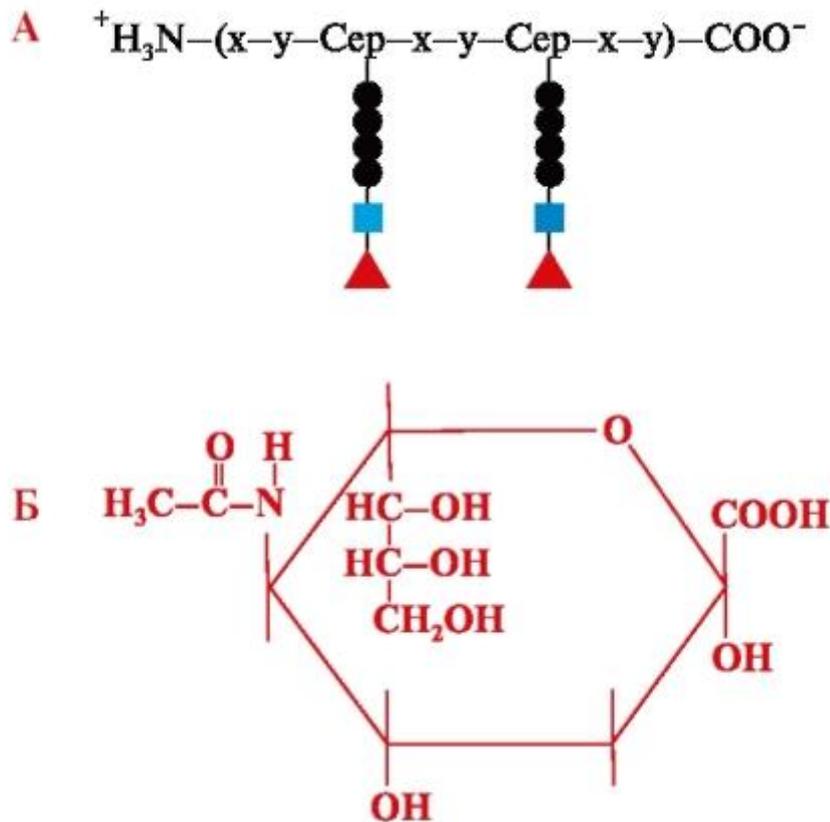


Рис. 12.14. Структура анионных гликопротеинов

А: ■ GalNAc (N-ацетилгалактозамин); ▲ N-ацетил-нейраминавая (сиаловая) кислота; x и y - любые аминокислоты; Б - N-ацетилнейраминавая (сиаловая) кислота

Известно, что патогенные вирусы выделяют фермент нейраминидазу, с помощью которой связываются с остатком N-ацетилнейраминавой кислоты в составе гликолипидов и гликопротеинов мембран клеток человека. В дисахаридном остатке анионного гликопротеина концевым соединением является N-ацетилнейраминавая кислота, которая выполняет функцию рецептора для проникающих в организм вирусов. Анионные гликопротеины, блокируя нейраминидазу вирусов, препятствуют их прикреплению к клеткам.

Катионные гликопротеины в небольшом количестве присутствуют в секрете околоушных желез. Суммарный положительный заряд белков обеспечивает присутствие большого количества лизина, аргинина и гистидина. Углеводная часть присоединена к аминокислотным остаткам аспарагина и глутамина и представляет собой олигосахариды, содержащие N-ацетилгалактозу,

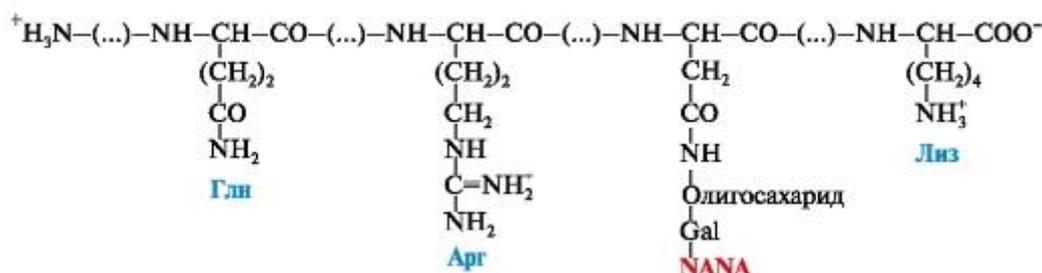


Рис. 12.15. Структура катионных гликопротеинов

L-фукозу, галактозу и N-ацетилнейраминную кислоту (рис. 12.15).

Положительно заряженные радикалы аминокислот катионных гликопротеинов взаимодействуют с отрицательно заряженными фосфатными группами гидроксиапатитов эмали. Под действием ферментов гликозидаз, выделяемых бактериями, осевшими на зубах, белок теряет свои олигосахаридные цепи. Изменяется конформация белка, он переходит в плохо растворимую форму и адсорбируется в составе пелликулы на поверхности эмали.

Группоспецифические (антигенспецифические) вещества слюны

В слюне присутствуют гликопротеины, имеющие небольшую белковую часть (15%) и множество ди- и трисахаридов, связанных с остатками серина, на долю которых приходится 85% массы молекулы.

Изучение строения этих веществ, выделенных из ротовой жидкости разных людей, позволило установить, что первичная структура углеводных цепочек имеет индивидуальные особенности.

Эти ди- и трисахариды в точности повторяют строение концевых фрагментов олигосахаридов наружной поверхности плазматической мембраны эритроцитов у каждого человека (рис. 12.16).



Рис. 12.16. Антигенные детерминанты эритроцитов и гликопротеинов слюны

Поэтому эти гликопротеины слюны получили название группоспецифических, так как соответствуют группам крови, которые определяются строением олигосахарида (в составе гликопротеина или сфинголипида) мембраны эритроцитов. Их также называют антигенспецифическими, так как концевые трисахариды являются антигенами и к каждому из них могут образовываться антитела.

Подобные олигосахариды присутствуют и в других жидких средах организма, например в молоке, моче, а также в составе муцина из секрета бронхов, кишечника, семенной жидкости и выделений шейки матки.

Концентрация группоспецифических гликопротеинов в слюне изменяется довольно в широких пределах - 10-130 мг/л. В ротовую полость они поступают в основном с секретом малых слюнных желез и точно соответствуют группе крови. Анализ слюны на присутствие антигенсодержащих белков используют в судебной медицине для определения группы крови, когда взятие проб крови для этого исследования невозможно.

Лактоферрин

Лактоферрин принадлежит к семейству трансферринов - железосвязывающих и антибактериальных белков. Он присутствует в большинстве секретов: слюне, молоке, слезной жидкости, панкреатическом, желудочном соке и т.д. Белок состоит из двух близких по структуре доменов, имеющих по одному железосвязывающему центру (рис. 12.17).

Присоединение каждого иона железа приводит к одновременному связыванию бикарбоната ($-\text{CO}_3^{2-}$), который компенсирует положительный заряд Fe^{2+} . Кроме Fe^{2+} , лактоферрин может удерживать значительно менее

прочно ионы цинка или меди. В отличие от трансферрина, который теряет связь с Fe^{3+} при pH 5,5, сродство лактоферрина к ионам железа не снижается даже при pH 3,0.

Лактоферрин взаимодействует с гликозамингликанами и протеогликанами мембран эпителия, поэтому на поверхности клеток слизистой оболочки могут возникать участки с высокой концентрацией этого белка. Связывая железо, лактоферрин снижает его содержание в слюне, а значит, и поступление в бактериальную клетку. Это приводит к замедлению образования гемсодержащих ферментов, участвующих в энергетическом обмене бактерий. Недостаток АТФ тормозит развитие и колонизацию патогенной микрофлоры. Кроме того, лактоферрин способен напрямую взаимодействовать с липополисахаридом мембраны *Escherichia coli* и вызывать гибель микроорганизмов.

Лактоферрин играет большую роль в иммунитете полости рта новорожденных. Они получают этот белок с грудным молоком матери в сочетании с секреторными иммуноглобулинами (sIgA).

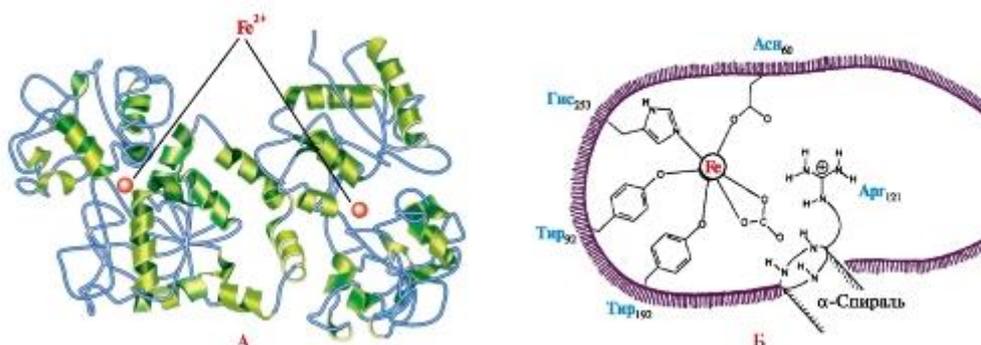


Рис. 12.17. Структура лактоферрина

А - молекула состоит из одной полипептидной цепи, которая образует два близких по структуре домена N и С; Б - в связывании иона железа участвуют аминокислотные остатки Гис₂₅₃, Тир₉₂, Тир₁₉₂ и Асп₆₀ домена N.

Ферменты слюны

В смешанной слюне проявляют активность более 100 ферментов, различающихся по месту синтеза: слюнные железы, клетки эпителия полости рта, бактериальные клетки, лейкоциты. Пищеварительные ферменты слюны, представлены сахаразой, мальтазой, липазой и α -амилазой. Источниками первых 3 ферментов являются в основном микроорганизмы и лейкоциты, но они не вносят существенный вклад в процесс пищеварения в ротовой полости, так как нахождение пищи в этом отделе желудочно-кишечного

тракта очень непродолжительно. α -Амилаза выделяется в ротовую полость в составе слюны околоушных желез, фермент расщепляет α -1,4-гликозидные связи в гликогене и крахмале пищи. Содержание фермента в слюне меняется в течение суток и зависит от приема пищи.

В смешанной слюне присутствуют и другие гликозидазы, которые поступают в слюну в составе секрета слюнных желез, секретируются микроорганизмами или имеют лизосомное происхождение (рис. 12.18). К гликозидазам слюнных желез относится в первую очередь лизоцим (мурамидаза). Как и лактоферрин, он принадлежит к группе веществ неспецифического иммунитета. Лизоцим гидролизует углеводную составляющую бактериальной стенки, что вызывает гибель микроорганизма. Гликозидазы бактериального и лизосомного происхождения могут гидролизовать углеводную составляющую протеинов слюны, гликолипидов и гликопротеинов мембран клеток эпителия ротовой полости.



Рис. 12.18. Гликозидазы слюны

Бактериальные ферменты β -глюкуронидаза, нейраминидаза и гиалуронидаза наиболее активны в кислой среде. Изменение рН слюны в кислую сторону способствует активации этих ферментов, возрастает вероятность разрушения структурных молекул соединительной ткани пародонта - гиалуроновой кислоты, хондроитинсульфатов и дерматансульфатов и развития гингивита. Повышение активности β -глюкуронидазы представляет опасность для муцинов, так как фермент расщепляет их углеводную составляющую. Нарушение структуры пелликулы, в которой основную роль играет муцин, увеличивает вероятность разрушения эмали и развития кариеса.

Щелочная и кислая фосфатазы. Кислая фосфатаза попадает в смешанную слюну в составе секрета больших слюнных желез, а также из бактерий, лейкоцитов и эпителиальных клеток. В слюне присутствуют 4 изоформы кислой

фосфатазы. Активность фермента в слюне, как правило увеличивается при пародонтите, гингивите, кариесе.

Клеточный детрит является источником щелочной фосфатазы (pH_{opt} 9,1-10,5). Активность фермента в слюне очень низка в первую очередь из-за несоответствия pH слюны и pH_{opt} для фермента.

Протеазы слюны. В смешанной слюне присутствуют сериновые и цистеиновые протеазы лейкоцитов, клеток слущенного эпителия и микроорганизмов. Кислые лизосомные протеазы представлены катепсинами А, В, Н, и L, их количество возрастает при гингивитах и пародонтитах. В норме они имеют низкую активность, так как в слюне присутствуют ингибиторы этих ферментов. Последние обладают групповой специфичностью. Слюнные железы выделяют протеазы, ДНКазы и РНКазы, разрушающие белки и нуклеиновые кислоты вирусов. Продукты распада, повышая проницаемость капилляров слизистой оболочки полости рта, стимулируют миграцию лейкоцитов в слюну.

12.5. ОРГАНИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА НЕБЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ

В слюне человека, помимо белков, находятся и другие органические компоненты, например стероидные гормоны - эстрогены, андрогены (тестостерон), прогестерон, кортизол.

В слюне содержится мочевины, концентрация которой варьирует в секретах различных желез, более высокая (280 мг/л) она в слюне из малых губных желез, более низкая (100 мг/л) в секрете поднижнечелюстных желез.

Содержание мочевины в смешанной слюне составляет от 75 до 90% такового в сыворотке крови. Некоторые бактерии ротовой полости секретируют фермент уреазу, который расщепляют мочевины до CO_2 и Образованный аммиак, присоединяя протон, превращается в NH_4^+ -ион, который повышает pH слюны. Бактерии полости рта могут использовать мочевины в качестве источника азота. В слюне присутствуют мочевины и креатинин, содержание которых зависит от их концентрации в крови.

Общее количество липидов в нестимулированном секрете незначительно и составляет 60-70 мг/л. Основное количество приходится на свободные жирные кислоты - пальмитиновую,

стеариновую, эйкозапентаеновую, олеиновую. В слюне есть холестерол и его эфиры, триацилглицеролы и очень небольшое количество фосфолипидов.

Большая их часть поступает с секретом околоушных и поднижнечелюстных желез и только около 2% - из плазмы и клеток слущенного эпителия.

Секрет содержит и другие низкомолекулярные органические вещества - аминокислоты, лактат, пируват. Увеличение содержания в зубном налете лактата и пирувата способствует смещению рН в кислую сторону, активации деминерализации эмали и развитию кариеса.

Углеводы в слюне находятся преимущественно в связанном с белками состоянии. Свободные моносахара образуются при гидролизе ди- и олигосахаридов ферментами микроорганизмов. Образовавшиеся сахара быстро используются микробами ротовой полости в качестве источника энергии и идут на построение декстрана и левана. Глюкоза может поступать в составе секретов слюнных желез, в норме ее концентрация в смешанной слюне составляет 0,06-0,17 ммоль/л. При гипергликоземии ее содержание в секрете околоушных желез значительно увеличивается.

12.6. БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА СЛЮНЫ

Слюнные железы, помимо рефлекторной и экзокринной, обладают эндокринной функцией и участвуют в регуляции гомеостаза многих органов и тканей организма. Они синтезируют и секретируют в слюну ряд биологически активных полипептидов: инсулиноподобный белок, фактор роста нервов (ФРН), фактор роста эпителия (ФРЭ), паротин, ренин, эритропоэтин, тимоциттрансформирующий фактор, фактор роста мезодермы, фактор гранулоцитопоэза.

Фактор роста нервов (ФРН), выделенный из поднижнечелюстных слюнных желез, в неактивной форме представляет собой олигомер, состоящий из 2 α -, 2 β - и 2 γ -цепей (рис. 12.19). Синтез и освобождение ФРН регулируются нейромедиаторами и гормонами. В ходе активации изменяется количество протомеров в белке и происходит частичный протеолиз β -субъединиц.

В организме человека слюнные железы наиболее богаты, но не единственный источник ФРН. Он также синтезируется и секретируется многими

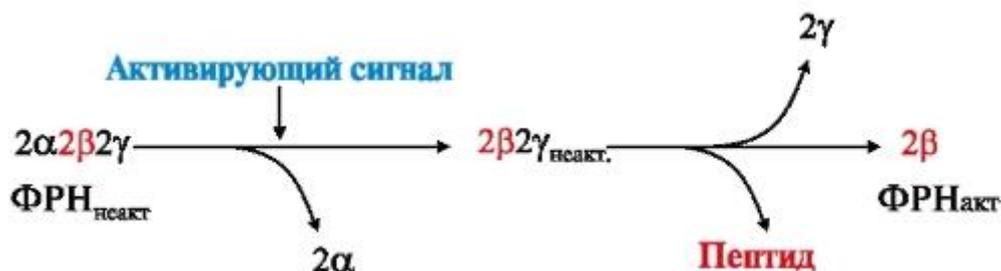


Рис. 12.19. Активация фактора роста нервов

ФРН_{неакт} состоит из двух α-, двух β- и двух γ-цепей. Каждый из протомеров выполняет определенную функцию. Присутствие α-цепи в составе олигомера снижает сродство β- протомеров к рецепторам клеточных мембран. γ-Субъединицы относятся к группе сериновых протеаз, они отщепляют пептид от высокомолекулярного предшественника β-субъединицы

видами клеток разных органов и тканей и участвует в регуляции метаболизма симпатических нервных волокон. ФРН имеет два типа каталитических рецепторов, при активации проявляющие тирозинкиназную активность (рис. 12.20).

Действуя на клетки-мишени, ФРН увеличивает поглощение этими клетками глюкозы, активирует работу N⁺, K⁺-АТФ-азы, гликолиз, образование определенных ферментов, ответственных за синтез нуклеотидов и липидов.

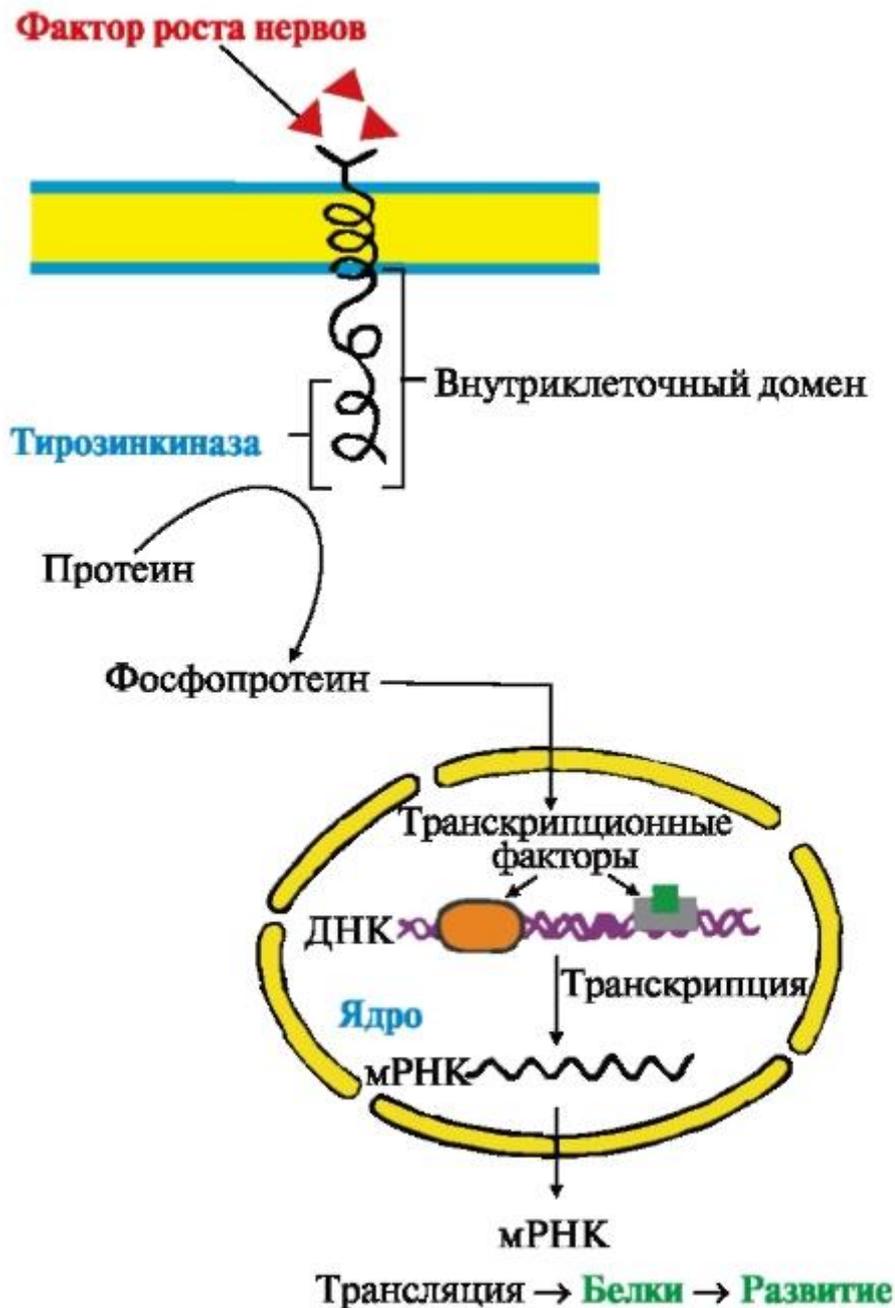


Рис. 12.20. Участие тирозиновой протеинкиназы в передаче сигналов факторов роста

Оказывая мощное противовоспалительное действие, ФРН стимулирует заживление поврежденных тканей ротовой полости. Активируя рецепторы нейроэндокринных клеток желудочно-кишечного тракта, стимулирует образование кишечных гормонов.

Фактор роста эпителия (ФРЭ) - полипептид, построенный из 53 аминокислотных остатков, синтезируется в основном поднижнечелюстными слюнными железами. У человека он содержится в крови, моче, желудочном и панкреатическом соке, грудном молоке, спинномозговой жидкости. Ряд

гормонов - андрогены, прогестины и тироксин - увеличивают синтез и повышают концентрацию в крови этого фактора.

Мишенями для ФРЭ являются эпителиальные клетки слизистой оболочки полости рта, глотки, пищевода, роговицы, молочной железы, легочных альвеол, а также хондроциты эндотелия сосудов. Количество рецепторов к ФРЭ в определенной зоне мембраны может увеличиваться до 40-100 тыс. Образованные комплексы гормон-рецептор погружаются эндоцитозом в клетку и активируют матричные процессы - репликацию, транскрипцию и трансляцию (см. раздел 4).

Вырабатываемый в слюнных железах ФРЭ выделяется в слюну, в составе которой он попадает в желудок и далее в кишечник, при повреждении слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта он оказывает митогенное действие. ФРЭ усиливает пролиферацию и кератинизацию эпителия, снижает секрецию соляной кислоты в желудке, стимулирует заживление язв желудка и двенадцатиперстной кишки, рост сосудов.

Паротин - гормон белковой природы, впервые был обнаружен в секрете околоушных (паротидных) слюнных желез, поэтому был назван паротином. В смешанной слюне он представлен группой близких по структуре молекул: паротином S, A, B и C. Один из представителей этой группы, паротин S, синтезируется поднижнечелюстными слюнными железами.

Гормон регулирует фосфорно-кальциевый обмен и подобно кальцитонину способствует минерализации эмали. Гормон усиливает пролиферацию хряща, стимулирует синтез нуклеиновых кислот и белка в одонтоблестах, минерализацию дентина и костей, понижает концентрацию кальция и глюкозы в плазме крови.

Инсулиноподобный белок имеет сходное с инсулином строение, он состоит из 2 пептидных цепочек - A и B. Белок вырабатывается клетками протоков, при сахарном диабете его содержание в слюне значительно возрастает. Действуя на клетки-мишени, он повышает использование этими клетками глюкозы и образование энергетического запаса - гликогена.

Калликреин слюны - это специфическая сериновая протеаза, гидролизующая в белках пептидные связи, образованные преимущественно катионогенными аминокислотами (аргинин, лизин). Помимо этого, фермент может проявлять эстеразную активность и катализировать гидролиз эфирных связей в фосфопротеинах. Калликреины слюны образуются в клетках слюнных желез

и могут секретироваться как в активной, так и в неактивной форме в виде прекалликреина. Основная функция калликреина - частичный протеолиз специфических белков с образованием активных пептидов брадикинина и каллидина (рис. 12.21).

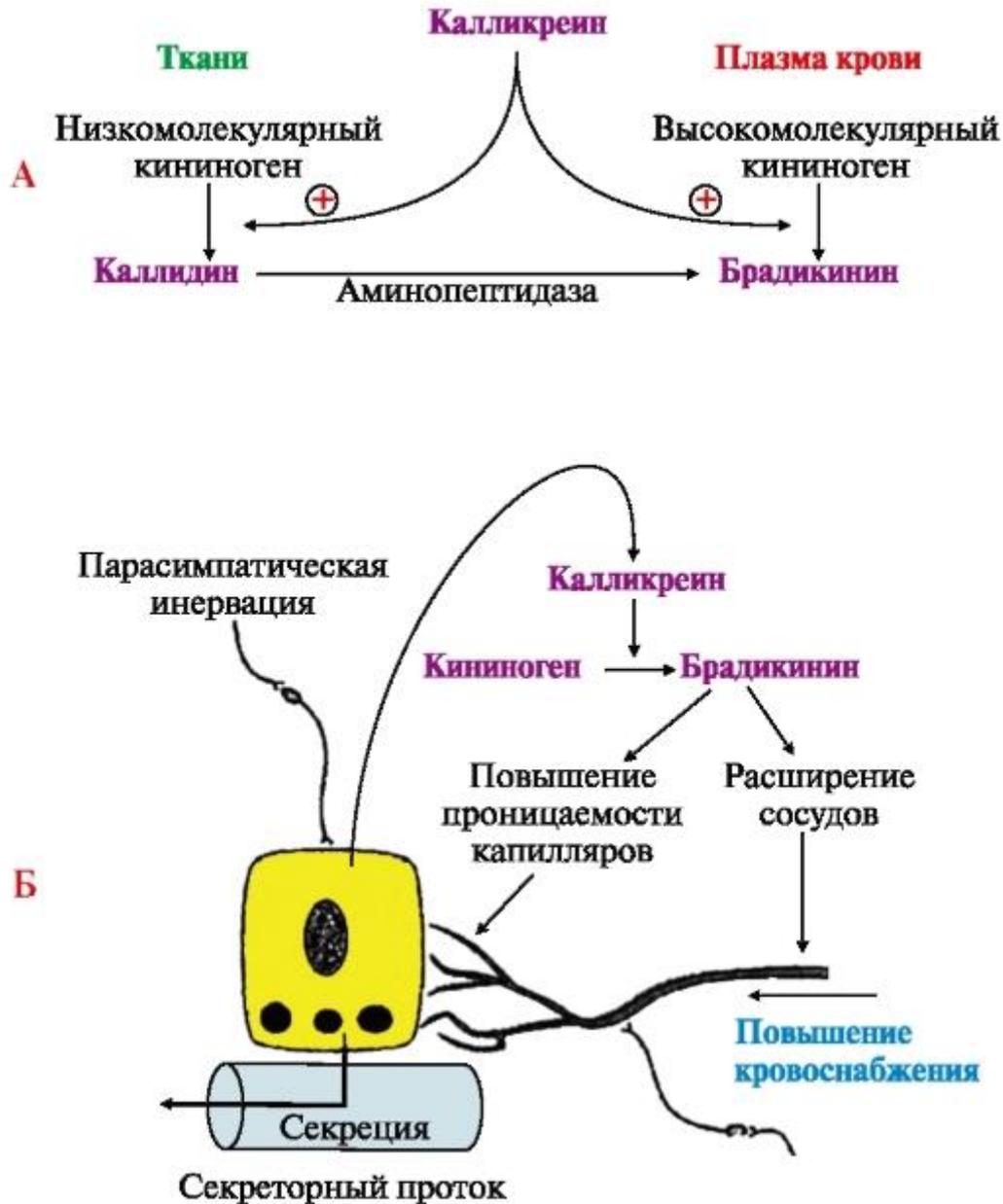


Рис. 12.21. Образование и действие кининов

А - протеолитическое действие калликреина; Б - сосудорасширяющее действие кининов

Кинины обладают множеством физиологических функций. В протоках слюнных желез кинины приводят к изменению локального кровотока, повышению секреции слюнными железами воды и электролитов. Калликреин из смешанной слюны может попадать в клетки слизистой оболочки полости

рта. Образующиеся в результате протеолиза кинины оказывают влияние на процессы микроциркуляции. Избыточное образование кининов способствует развитию воспаления.

Ренин - протеолитический фермент, синтезируется в поднижнечелюстных железах, а также в почках, аденогипофизе и семенниках. Ангиотензин II, образованный под действием ренина, вызывая сужение сосудов, способствует слюноотделению, ускоряет репарацию слизистой оболочки полости рта.

12.7. ЗАЩИТНЫЕ СИСТЕМЫ ПОЛОСТИ РТА

У здорового человека видовой состав микрофлоры полости рта отличается постоянством и лишь количество микробов может существенно изменяться. Это зависит от интенсивности слюноотделения, характера принимаемой пищи, гигиенического состояния полости рта, наличия соматических заболеваний. Увеличение количества микроорганизмов в полости рта может быть обусловлено двумя факторами: нарушением слюнообразования и слюноотделения, расстройством процесса жевания и глотания; затруднением вымывания микроорганизмов слюной, например, при кариесе, патологических зубодесневых карманах, плохо пригнанных несъемных зубных протезах.

Нормальная микрофлора полости рта состоит из нескольких сотен видов микроорганизмов, среди которых больше всего представителей анаэробной микрофлоры. Эти микроорганизмы расщепляют углеводы до молочной кислоты, которая снижает pH и этим подавляет рост гнилостных микроорганизмов, попадающих в полость рта из окружающей среды. Количество обитающих в полости рта микроорганизмов находится в состоянии динамического равновесия благодаря антибактериальным факторам слюны и поступающим в ротовую полость лейкоцитам. Слюна, обладая антибактериальными свойствами, способна контролировать количественный и качественный состав микрофлоры и тем самым поддерживать гомеостаз полости рта.

Защитные системы полости рта подразделяются на неспецифические и специфические. Неспецифические факторы защиты полости рта от кариесогенных и других бактерий обусловлены:

- содержанием в слюне лизоцима, лактоферрина, лактопероксидазы;

- барьерной функцией слизистой оболочки и подслизистого слоя.

Присутствующие в слюне белки системы комплемента и иммуноглобулины обеспечивают проявление бактериостатической и бактерицидной активности ротовой жидкости.

Лизоцим - мурамидаза (от лат. *mirus* - стенка) является гликозидазой, механизм бактериостатического действия которой заключается в расщеплении гликозидной связи между остатками N-аце- тилглюкозамина и N-ацетилмурановой кислоты в полисахаридных цепях муреина (рис. 12.22).

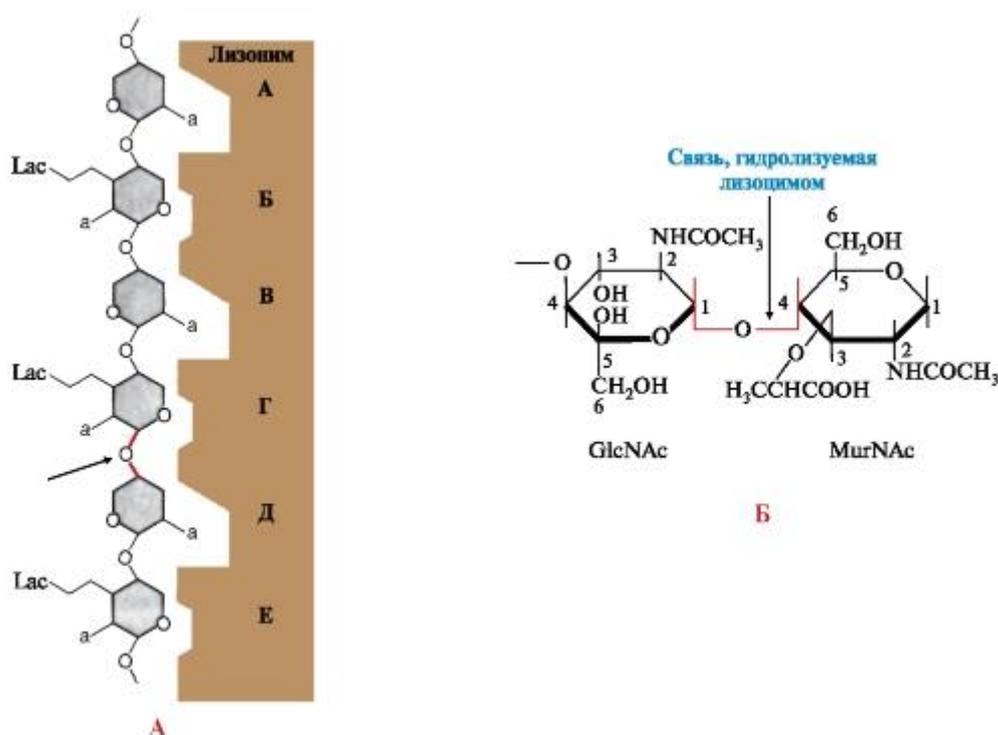


Рис. 12.22. Механизм действия лизоцима

А - положение муреина в активном центре лизоцима. Фермент связывает гексасахарид - фрагмент муреина в участках А-Е. Центры связывания высокоспецифичны к ацетамидным группам (а) и не имеют сродства к лактильным группам (Lac). Лизоцим разрывает гликозидную связь между остатками N-ацетилглюкозамина и N-ацетил- мурановой кислоты, которые находятся в Г- и Д-центрах;

Б - связь, гидролизуемая лизоцимом. GlcNAc-N-ацетилглюкозамин; MurNAc-N-ацетилмурановая кислота

Муреин является гетерополисахаридом в составе гликопротеина клеточной стенки бактерий. Нарушение его структуры приводит к изменению проницаемости мембраны, лизису и фагоцитозу поврежденных клеток.

Заживление ран слизистых оболочек ротовой полости, имеющих контакт с большим количеством различных микроорганизмов, в том числе и патогенных, зависит от активности лизоцима слюны.

У человека лизоцим, помимо слюны, обнаружен в слезах, молоке, на слизистой оболочке носа. Самый богатый источник лизоцима - белок куриного яйца.

Пероксидаза (лактопероксидаза). В ротовой жидкости присутствует небольшое количество пероксида водорода (H_2O_2), который вырабатывают в основном аэробные бактерии. H_2O_2 ферментативно разрушается с образованием супероксидного аниона (рис. 12.23, А). Образованный O_2^- атакует и вызывает гибель анаэробных микроорганизмов, которые не имеют ферментативной защиты от супероксидных анионов.

В полости рта анаэробов присутствует в 10 раз больше, чем аэробов. Увеличение колонии анаэробов, которые вырабатывают лактат, приводит к снижению рН смешанной слюны и активации фермента пероксидазы.

В смешанной слюне проявляют активность две группы пероксидаз, различающиеся по изоэлектрической точке. Пероксидазы являются гемсодержащими гликопротеинами. Они вырабатываются околоушными и поднижнечелюстными слюнными железами или попадает в слюну из гранулоцитов крови. Пероксидазы слюнных желез имеют наибольшую активность при рН 5,0-6,0. Фермент с высокой скоростью катализирует окислительно-восстановительную реакцию, в которой участвуют перекись водорода и ионы I^- , Br^- или SCN^- , попадающие в слюну из крови (рис. 12.23, Б).

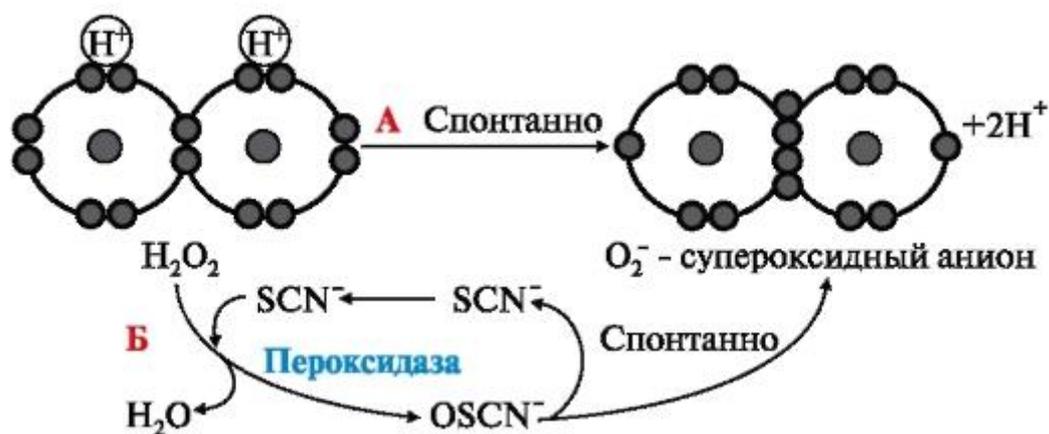


Рис. 12.23. Образование супероксидных анионов

А - спонтанное образование супероксидных анионов; Б - образование супероксидных анионов при участии пероксидазы

Из образовавшегося гипотиоцианата (OSCN^-) спонтанно возникают активные радикалы кислорода, с высокой реакционной способностью повреждающие липиды клеточных мембран анаэробных микроорганизмов. Это способствует восстановлению равновесия между аэробами и анаэробами в ротовой полости. Такой путь образования активного кислорода оказывает в десятки раз более мощное антибактериальное действие, чем ферментативное разрушение пероксида.

Таким образом, биологическая роль пероксидазы слюны заключается в том, что она способствует образованию активных форм кислорода, которые, повреждая мембраны микроорганизмов, ингибируют их рост. В то же время гипотиоцианатион и активные формы кислорода не причиняют вреда эпителиальным клеткам ротовой полости, которые имеют эффективные ферментные системы, быстро инактивирующие эти ионы.

Иммуноглобулины слюны

В слюне присутствуют представители 5 классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, но особые защитные свойства проявляет sIgA.

Секреторный компонент (secretory components - SC) - гликопротеин синтезируется клетками железистого эпителия и экспонируется на поверхности базолатеральной мембраны. Он выполняет функцию рецептора, который специфически взаимодействует с димером $(\text{IgA})_2\text{-J}$. Образованный комплекс путем эндоцитоза поступает в клетку и перемещается к апикальной части мембраны (рис. 12.24).

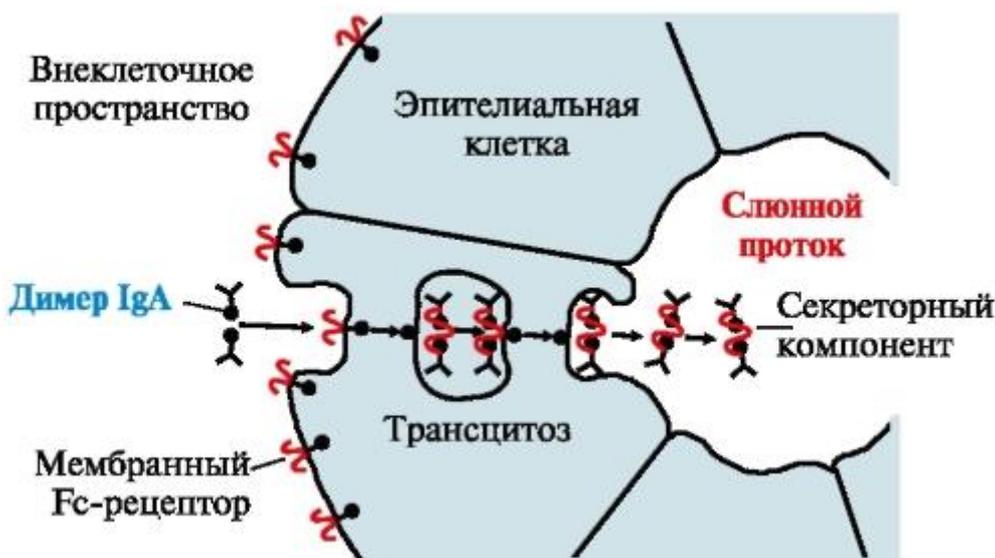


Рис. 12.24. Механизм формирования sIgA

Во время экзоцитоза от SC-рецептора под действием протеолитических ферментов отщепляется трансмембранная часть. В секрет поступает иммуноглобулин, состоящий из 2 мономеров IgA, объединенных J-цепью и содержащий укороченный по сравнению с рецептором SC-гликопротеин (секреторный компонент) (рис. 12.25). Формирование такой сложной структуры повышает устойчивость sIgA к протеолизу ферментами смешанной слюны и воздействию денатурирующих факторов, таких, как температура, изменение pH и др.

Этот класс антител является основным компонентом не только слюны, но и других секретов: слезной жидкости, слизистой оболочки носа, слизистых оболочек кишечника и дыхательных путей. (табл. 12.3). Секреторные иммуноглобулины, связывая бактерии и вирусы, предотвращают их адгезию на поверхности слизистой оболочки.

Содержание sIgA в слюне значительно превышает концентрацию в крови IgA, в то время как содержание остальных иммуноглобулинов

в слюне и сыворотке крови примерно одинаково. Концентрация sIgA в секрете околоушной железы составляет около 90% его общего содержания в слюне, остальные 10% выделяется поднижнечелюстными железами.

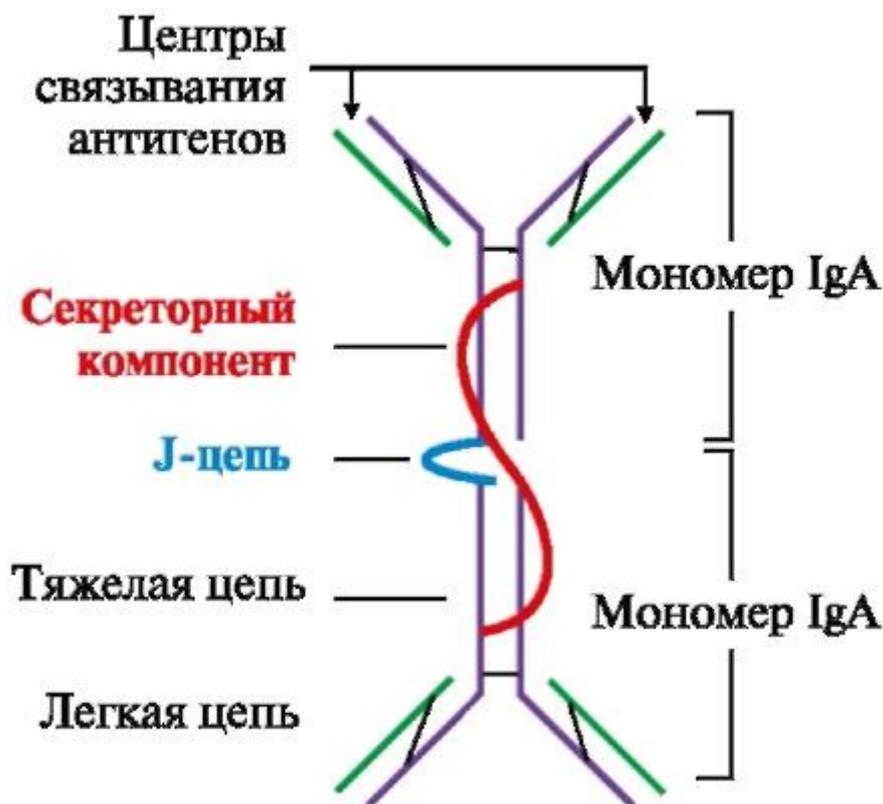


Рис. 12.25. Строение димерной молекулы sIgA

В дополнение к 2 мономерам IgA комплекс содержит также J-цепь и гликопротеин SC - секреторный компонент. Такая структура защищает молекулы sIgA от разрушения протеазами секретов

Таблица 12.3 Содержание sIgA в биологических жидкостях здоровых людей

Биологическая жидкость	Содержание sIgA, мг/л
Сыворотка крови	3,58±1,89
Слюна	207,5±92,2
Моча	14,7±9,5
Слезная жидкость	76,04±17,58

Секреторные иммуноглобулины (sIgA):

- связывая микроорганизмы, подавляют адгезию бактерий на слизистой оболочке полости рта;
- активируя систему комплемента, повреждают мембраны микроорганизмов и вызывают их гибель;
- связывая вирусы, снижают адсорбцию и репродукцию вирусов в эпителиальных клетках слизистой оболочки;
- снижая адгезию кариесогенного стрептококка на эмали зуба, препятствуют развитию кариеса.

К защитной функции слюны относится присутствие в ней ряда факторов свертывающей и противосвертывающей систем крови. Эти белки обеспечивают надежную защиту слизистой полости рта при микротравмах, которые возникают ежедневно во время приема пищи.

тестовые задания и задачи

1. Установите соответствие

Функция:

А. Пищеварительная. Б. Антибактериальная.

В. Буферная.

Г. Антигрибковая.

Д. Защита слизистой оболочки полости рта.

Белки:

1. Пероксидазы.
 2. Карбоангидраза.
 3. Белки, богатые пролином.
2. Выберите правильные ответы.

Гликозилирование белков слюны:

- А. Осуществляется по аминокислотным остаткам серина, треонина и аспарагина.
- Б. Катализируют специфические гликозилтрансферазы.
- В. Обеспечивает появление в слюне антигенспецифических веществ.
- Г. Защищает их от действия протеолитических ферментов. Д. Снижает их растворимость в секрете.

3. Выберите правильные ответы.

Муцины:

- А. Содержат много аминокислотных остатков пролина, серина, треонина.
- Б. Связаны с кальцием в составе секреторных гранул.
- В. На поверхности зуба образует слизистую пленку - пелликулу.
- Г. В кислой среде проявляют протеолитическую активность. Д. Являются гликопротеинами, с большим содержанием сиаловой кислоты.

4. Установите порядок событий.

Этапы формирования функционально активных муцинов:

- А. N-гликозилирование растущего пептида в полости эндоплазматического ретикулума.
- Б. Формирование секреторных гранул, содержащих молекулы муцинов и ионы кальция.
- В. Увеличение объема муцинов за счет гидратирования.
- Г. Синтез полипептидных цепей муцинов на полирибосомах.
- Д. O-гликозилирование белка в аппарате

Гольджи. Е. Экзоцитоз секреторных гранул

5. Установите соответствие. Особенности строения и функционирования:

А. Ингибируют цистеиновые и сериновые протеазы.

Б. Проявляют противогрибковую активность.

В. Содержат много аргинина, лизина, гистидина.

Г. Имеют высокоотрицательные N-конце-

вые повторы. Д. Являются гемопротеинами.

Белки:

1. Гистатины.

2. Статхерины.

3. Цистатины.

6. Установите соответствие.

Проявление активности:

А. Подавляет размножение анаэробных микроорганизмов.

Б. Взаимодействует с фосфатными группами ГАП эмали.

В. Повышает проницаемость бактериальной мембраны.

Г. Замедляет образование железосодержащих ферментов у микроорганизмов.

Д. Имеет два центра связывания антигенов.

Белки слюны:

1. Пероксидаза.

2. Лизоцим.

3. Лактоферрин.

7. Выберите правильные ответы:

К защитным системам полости рта можно отнести:

А. Фермент лизоцим.

Б. Секреторные иммуноглобулины.

В. Буферную систему $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$. Г. Пероксидазу.

Д. α -Амилазу.

8. Установите порядок событий. Формирование секреторных иммуноглобулинов:

А. Происходит эндоцитоз образованного комплекса.

Б. $(\text{IgA})_2\text{-J}$ связывается на мембране эпителиальной клетки с SC-рецептором.

В. В слюну секретируется $(\text{IgA})_2\text{-J- SC}^*$.

Г. Комплекс $(\text{IgA})_2\text{-J-SC}$ экспонируется на апикальной части мембраны.

Д. На стадии экзоцитоза часть SC-рецептора отщепляется от комплекса.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. По сообщениям ученых университета Северной Каролины, новым направлением в предотвращении и лечении пародонтопатий может стать применение гистатинов. Объясните, почему именно эти белки привлекли внимание ученых, разрабатывающих новые методы лечения. Для этого:

а) назовите уникальные белки слюнных желез и укажите особенности их строения;

б) опишите функции этих белков и предположите, какая из них в большей степени вызвала интерес ученых.

2. Танин, содержащийся в продуктах растительного происхождения, таких как айва, хурма, чай, образует ковалентные связи с гликопротеинами слюны, эпителия полости рта и вызывает их денатурацию. Комплексы протейны-танин адсорбируются на поверхности пелликулы и ускоряют образование зубного налета. Реакцией организма на поступление танинов является увеличение содержания в слюне белков, богатых пролином. Объясните это явление. Для этого:

а) укажите функции этих белков и опишите их строение;

б) назовите, секреты каких слюнных желез содержат основное количество белков, богатых пролином.

3. Из слюны животных выделяют ингибиторы протеаз и используют их для получения лекарственных препаратов. Они выпускаются фармацевтическими фирмами под названием трасилол, контрикал, гордокс. Опишите функцию этих белков в слюне. Объясните механизм действия этих препаратов при панкреатите и назовите ферменты, которые они ингибируют.

4. В качестве консервантов косметических средств применяют природные белки лактопероксидазу (пероксидазу), лактоферрин и лизоцим. Объясните механизм их действия в качестве консервантов. Для этого:

а) укажите, в каком секрете присутствуют эти белки;

б) опишите строение каждого из названных белков и поясните механизм антибактериальной активности.

12.8. ДЕСНЕВАЯ ЖИДКОСТЬ

Десневая жидкость или жидкость десневой бороздки - это сложная биологическая среда организма, которая играет важную роль в поддержании нормального состояния тканей пародонта. Она заполняет щелевидное пространство между поверхностью зуба и десневым краем (рис. 12.26). Десневая бороздка выстлана эпителием, прикрепляющимся к кутикуле эмали, и имеет глубину 1,0-1,5 мм. В норме дно бороздки находится на уровне эмалево-цементного соединения, но с возрастом оно значительно углубляется. Десневая жидкость представляет собой трансудат сыворотки крови, который поступает в десневую бороздку через посткапиллярные вены. Объем жидкости зависит от времени суток: утром количество трансудата, поступающего в десневую бороздку уменьшается, а вечером увеличивается. За сутки выделяется 0,5-2,4 мл трансудата.



Рис. 12.26. Десневая бороздка

Десневая бороздка расположена между зубом и краевой десной. Эпителий, выстилающий десневую бороздку, обновляется каждые 4-6 дней, а ротовой

эпителий - каждые 6-12 дней. Десневая жидкость бороздки содержит антитела, систему комплемента, нейтрофилы, лимфоциты

У больных с пародонтопатиями изменяются состав и объем десневой жидкости вследствие истечения внеклеточной жидкости из воспаленной слизистой оболочки десен. Десневая жидкость удаляется по лимфатическим сосудам десны, поэтому вещества, содержащиеся в ней, могут проникать не только в ротовую полость, но и в подлежащие ткани.

Основная функция десневой жидкости - защитная. Десневая жидкость, имея рН 6,3-7,93, поддерживает рН смешанной слюны и препятствует его понижению. Она обладает противомикробным действием, так как содержит целый ряд защитных

белков - иммуноглобулины, систему комплемента, а также создает барьерно-амортизационную защиту зуба в ответ на жевательную нагрузку. Изменение количества десневой жидкости отражается на подвижности зубов и может привести к морфологическим изменениям тканей пародонта.

Десневая жидкость содержит электролиты, лейкоциты, микроорганизмы и их метаболиты, межклеточную жидкость тканей десны, белки, ферменты, слущенные клетки эпителия. Поверхностные клетки эпителия, участвующие в прикреплении к эмали, содержат мало митохондрий, активность обменных процессов в них снижена, поэтому скорость их обновления значительно выше, чем других клеток пародонта. Количество и состав десневой жидкости меняются при воспалении пародонта.

Клетки десневой жидкости в основном представлены полиморфноядерными лейкоцитами, количество которых может увеличиваться на разных стадиях пародонтопатии. Десневая жидкость является основным источником поступления лейкоцитов в ротовую жидкость. До прорезывания зубов, а следовательно, до образования десневого желобка в ротовой жидкости лейкоциты отсутствуют.

Микрофлора десневой бороздки очень разнообразна, в большом количестве присутствуют кокковые бактерии. При развитии воспаления в десне состав микрофлоры меняется, грамположительных бактерий становится меньше, но повышается количество спирохет, фузобактерий, лептотрихий и др. Фузобактерии, обитающие в десневых карманах, в ассоциации со спирохетами, населяющими зубную бляшку, - основные возбудители гнойно-воспалительных и язвеннонекротических процессов.

Электролиты десневой жидкости. Хотя десневая жидкость является трансудатом сыворотки крови их минеральный состав различается. Количество N^+ и K^+ в десневой жидкости ниже, чем в плазме крови. При воспалении пародонта содержание этих ионов возрастает. Десневая жидкость является одним из источников фтора в ротовой полости, причем концентрация фтора в десневой жидкости и плазме крови одинакова.

Белки десневой жидкости. Содержание белка в десневой жидкости и плазме крови составляет 60-70 г/л. Из плазмы крови в десневую жидкость поступают альбумин, IgG, IgA, IgM, sIgA, белки системы комплемента.

Система комплемента. Система комплемента представлена 20 белками, которые образуются главным образом в печени, а в десневую жидкость попадают из крови. В сыворотке крови они находятся в неактивном состоянии, но при образовании комплекса антиген-антитело активируются и взаимодействуют друг с другом. Часть белков при этом проявляет протеолитическую активность и осуществляет частичный протеолиз других белков системы (рис. 12.27).

В результате ряда превращений происходит сборка белковых структур на мембранах бактерий. Образованные комплексы формируют в мембране микроорганизмов отверстия (поры), что приводит к нарушению их метаболизма и гибели.

Пептиды, освобождающиеся в процессе активации системы комплемента, усиливают защитную реакцию, вызывая расширение кровеносных сосудов и привлекая фагоцитирующие клетки к местам скопления микроорганизмов (хемотаксис).

Система комплемента

Активация системы комплемента – последовательная активация сериновых протеаз приводит к образованию:

- растворимых биологически активных пептидов
- крупных белков прикрепляющихся к мембране микроорганизма

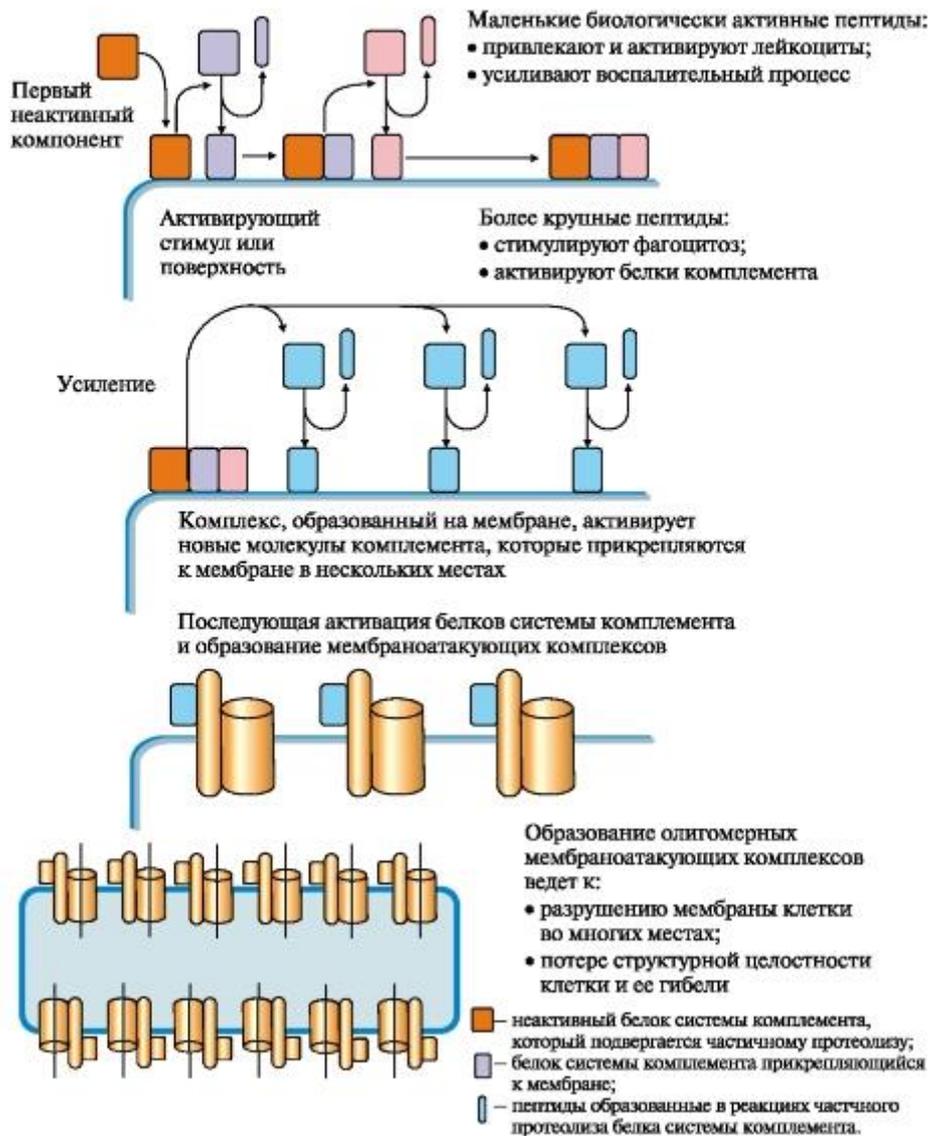


Рис. 12.27. Участие белков системы комплемента в формировании пор в мембранах микроорганизмов

Кроме того, комплемент повышает способность фагоцитирующих клеток связывать, поглощать и разрушать поврежденные микроорганизмы (фагоцитоз) (рис. 12.28).

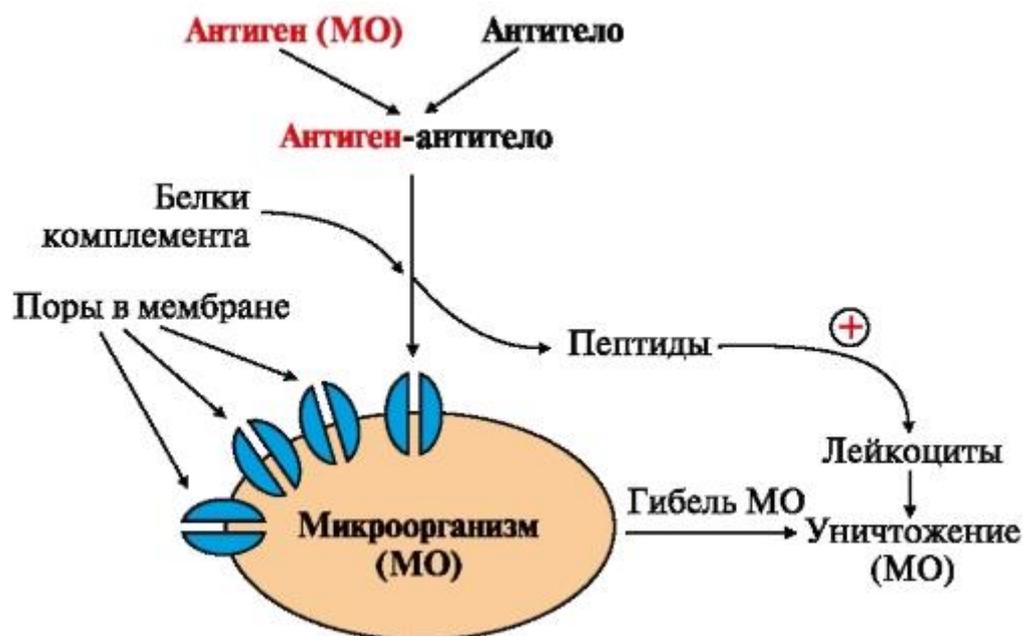


Рис. 12.28. Роль системы комплемента в фагоцитозе, хемотаксисе и освобождении вазоактивных веществ

Белки десневой жидкости, образуя клейкую пленку, соединяют эпителий десневого желобка с поверхностью зуба. Клеточную адгезию обеспечивают белки внеклеточного матрикса фибронектин, ламинин, фибрин (см. раздел 11). Присутствующий в десневой жидкости плазмин гидролизует фибрин пленки и предотвращает формирование более плотной пленки, нарушающей выход десневой жидкости в десневой желобок.

Ферменты десневой жидкости

В десневую жидкость ферменты поступают из плазмы крови, слущенных клеток эпителия, лейкоцитов или имеют бактериальное происхождение. В норме активность этих ферментов не определяется, но она возрастает при развитии воспаления в пародонте. Одним из патогенетических факторов в развитии пародонтопатии является действие бактериальных гидролаз агрессии и инвазии. К ним относятся:

- гиалуронидаза, которая гидролизует гиалуроновую кислоту и таким образом способствует проникновению микробов в глубь тканей пародонта;
- нейраминидаза, отщепляющая нейраминовую кислоту (сиаловую) от гликопротеинов, в результате чего нарушается структура мембран клеток эпителия и повышается вероятность их взаимодействия с микроорганизмами;
- коллагеназа, которая катализирует протеолиз коллагена соединительной ткани и поэтому облегчает миграцию микроорганизмов в ткани пародонта;

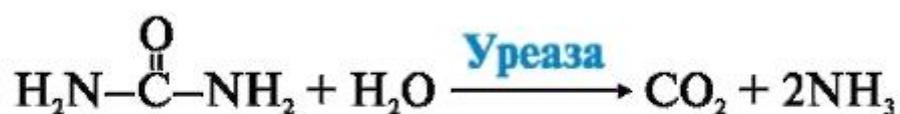
- фосфолипаза С (лецитиназа С), гидролизующая фосфатидилхолин (лецитин) клеточных мембран, вследствие чего увеличивается их проницаемость, нарушается метаболизм и они погибают;
- плазмин (фибринолизин), осуществляющий протеолиз фибрина, который образуется при воспалении и способствует проникновению микробов в глубь пародонта;
- ДНКазы, расщепляющая ДНК и поэтому замедляющая процесс восстановления ткани;
- протеазы, гидролизующие иммуноглобулины, белки системы комплемента, таким образом подавляющие защитные системы десневой жидкости. Слущенные клетки эпителия являются источником ферментов обмена углеводов, аминокислот, жирных кислот, ОПК, неактивной коллагеназы, находящейся в комплексе с ингибитором α_2 -макроглобулином.

Эластаза, обладающая широкой субстратной специфичностью, поступает в десневую жидкость из лейкоцитов. В норме она также ингибирована α_2 -макроглобулином и α_1 -антитрипсином. Оба фермента могут активироваться под действием трипсиноподобных протез (рис. 12.29).

Низкомолекулярные органические вещества десневой жидкости в основном являются продуктами жизнедеятельности бактерий десневой бороздки: аммиак, сероводород, индол, масляная, молочная (лактат), уксусная, пропионовая и муравьиная кислоты. В норме их немного или они вообще отсутствуют, но при воспалении ткани пародонта, вызванном изменением микробной флоры десневой бороздки, количество их резко возрастает.

Каждое из этих веществ имеет свой механизм токсического действия, может нарушать функцию и даже вызывать некроз, в первую очередь эпителиальных клеток.

- Аммиак (NH_3) образуется микроорганизмами в ходе катаболизма аминокислот, а также из мочевины под действием бактериальной уреазы. NH_3 проходит в эпителий десны, где, связывая протон, превращается в NH_4^+ , в результате чего в этих клетках повышается рН.



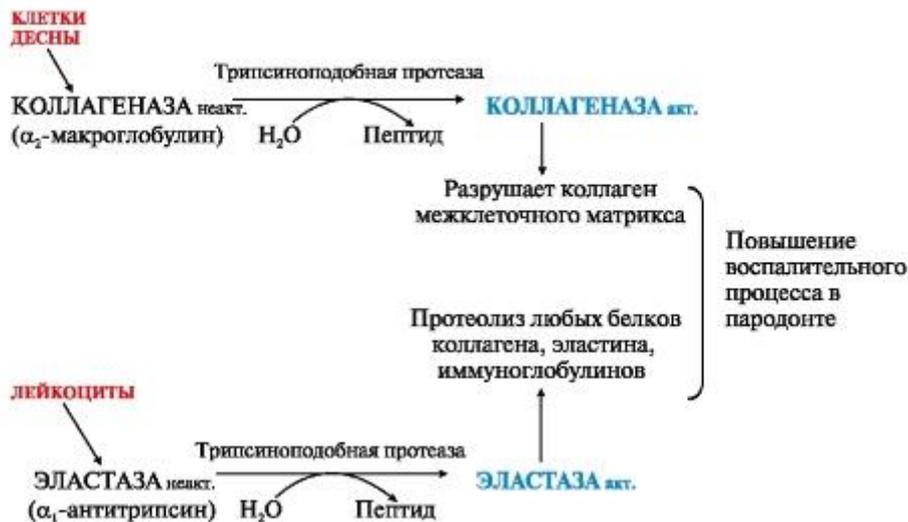


Рис. 12.29. Активация коллагеназы и эластазы

Сохранение оптимального значения рН в клетках обеспечивают две реакции: синтез глутамина и восстановительное аминирование α-кетоглутарата. Повышение скорости этих реакций приводит к снижению содержания NADH, α-кетоглутарата и нарушению энергетического обмена в клетках эпителия (см. раздел 7).



- Низкомолекулярные жирные кислоты синтезируются микроорганизмами из глюкозы, они проходят клеточную, митохондриальную мембраны клеток эпителия и разобщают окисление и фосфорилирование (см. раздел 5). Снижение отношения АТФ/АДФ нарушает процессы синтеза веществ, необходимых для клетки.
- Индол является продуктом превращения триптофана ферментами микроорганизмов, в основном *Porphyromonas gingivalis* (см. раздел 13). Индол поступает в десневую жидкость и оттуда попадает в эпителиальные клетки. Он является чужеродным веществом (ксенобиотиком) для клеток, поэтому его накопление нарушает их метаболизм.
- Сероводород (H₂S) образуется микроорганизмами в ходе катаболизма серосодержащих аминокислот. является ингибитором фермента ЦПЭ

цитохромоксидазы и подавляет энергетический обмен в эпителиальных клетках.

pH десневой жидкости зависит от микробной флоры и содержания продуктов ее жизнедеятельности - аммиака, лактата и низкомолекулярных жирных кислот. Присутствие этих веществ определяет pH (6,3-7,93) десневой жидкости, более высокое, чем pH смешанной слюны.

Ускорение размножения патогенных микроорганизмов и повышение содержания продуктов их метаболизма в десневой жидкости могут происходить при стрессе, бесконтрольном применении антибиотиков, нарушении гигиены полости рта, нерациональном питании.

Большие колонии микроорганизмов нормальной микрофлоры способны вызвать изменения в тканях пародонта. В этих условиях активность местных защитных механизмов недостаточна для подавления их патогенного действия. При воспалении пародонта десневая бороздка увеличивается, образуются пародонтальные карманы, объем и состав десневой жидкости изменяются.

Большую роль в развитии воспалительного процесса играют медиаторы воспаления, такие, биогенные амины (гистамин и серотонин), простагландины и др. (см. раздел 7, 9). При пародонтопатии в десневой жидкости увеличивается содержание преимущественно PGE₁ и PGE₂, которые способствуют расширению сосудов и повышению их проницаемости.

Для анализа состояния тканей пародонта, определения степени тяжести пародонтита и дифференциальной диагностики гингивита и пародонтита активно применяются методы исследования десневой жидкости. Десневую жидкость получают введением полоски фильтровальной бумаги до упора в десневую бороздку на 3-5 мин. Жидкость собирают с помощью микропипетки, реже используется стерильная ватная турунда.

Анализ полученных результатов позволяет оценить:

- интенсивность выделения жидкости;
- содержание свободных аминокислот в десневой жидкости;
- первичное состояние тканей пародонта;
- популяции эпителиальных и соединительнотканых клеток;

- активность ряда ферментов и присутствие продуктов жизнедеятельности микроорганизмов (табл. 12.4).

Таблица 12.4 Показатели десневой жидкости при развитии воспаления в пародонте

Показатели	Гингивит	Пародонтит
Масляная кислота	++	+
Эндотоксины	++	+
Гидроксипролин	—	+
Гликозамингликаны	—	+
Коллагеназа	+	++
Эластаза	—	++
Катепсин D	+	++
Гиалуронидаза	+	++
Лактоферрин	+	+
IgA, IgG, IgM, sIgA	+	+

12.9. ОБРАЗОВАНИЕ ЗУБНОГО НАЛЕТА И РАЗВИТИЕ КАРИЕСА.

Зубной налет является одной из основных патогенетических причин развития кариеса. Начальное поражение кариесом возникает в местах, где создаются благоприятные условия для накопления зубного налета: ямках, фиссурах, на апроксимальных поверхностях и пришеечных областях. Условия ротовой полости - влажная среда, постоянная температура и пищевые продукты - способствуют быстрому размножению микроорганизмов, формирующих резидентную (постоянную) микрофлору. Однако заселение ротовой полости транзитной (преходящей) флорой, состоящей из патогенных бактерий, может стать причиной развития патологических процессов зубочелюстной области. Одним из результатов жизнедеятельности микроорганизмов ротовой полости является появление зубного налета. Зубной налет - это мягкое липкое образование, плотно фиксированное в области шейки зуба или на всей его поверхности. Он формируется в большей степени на поверхностях, имеющих шероховатости, и в зубодесневой области. В силу индивидуальных особенностей у каждого человека имеются определенные участки эмали, на которых отложение зубного налета происходит более интенсивно.

Зубной налет легко снимается зубной щеткой и стирается при пережевывании твердой пищи. Однако через 2 ч после чистки зубов он полностью восстанавливается. Основными составляющими зубного налета являются гликопротеины слюны, микроорганизмы, внеклеточные полисахариды бактериального происхождения, слущенный эпителий слизистой оболочки.

Между зубным налетом и поверхностью эмали существует тонкий безмикробный слой - приобретенная пелликула. Она образуется в результате спонтанной адсорбции и агрегации гликопротеинов, в первую очередь муцинов. Отрицательно заряженные группы этих молекул взаимодействуют с ионами кальция, а основные - с фосфатными группами гидроксиапатитов. Пелликула выполняет защитную функцию, поскольку снижает возможность нежелательных изоморфных замещений в гидроксиапатитах эмали в 4-6 раз. Эта биологическая мембрана может регулировать диффузию различных ионов из слюны в эмаль или из эмали в слюну.

Процесс образования пелликулы значительно ускоряется при снижении рН ротовой жидкости, а также в присутствии ионов кальция и фосфатов. Ионы взаимодействуют с гликопротеинами слюны и, снижая их растворимость, усиливают адгезию этих молекул на поверхности зуба. Пелликула имеет толщину от 1 до 10 мкм, зубной налет - от 5 до 200 мкм. Участие микроорганизмов в образовании пелликулы не обязательно, но их присутствие ускоряет процесс.

Бактерии секретируют лактат, другие органические кислоты, которые вызывают снижение рН ротовой жидкости. Повышение концентрации H^+ подавляет диссоциацию остатков сиаловой кислоты в составе муцинов. Уменьшение заряда макромолекул приводит к их осаждению на поверхности эмали. Другим путем снижения растворимости и стимуляции адсорбции муцинов является их химическая модификация.

Этот процесс осуществляет бактериальный фермент нейраминидаза, которая отщепляет N-аце- тилнейраминовую (сиаловую) кислоту и фукозу, поэтому муцины в составе пелликулы содержат в 10 раз меньше углеводов, чем растворенные в слюне (рис.12.30, 12.31).

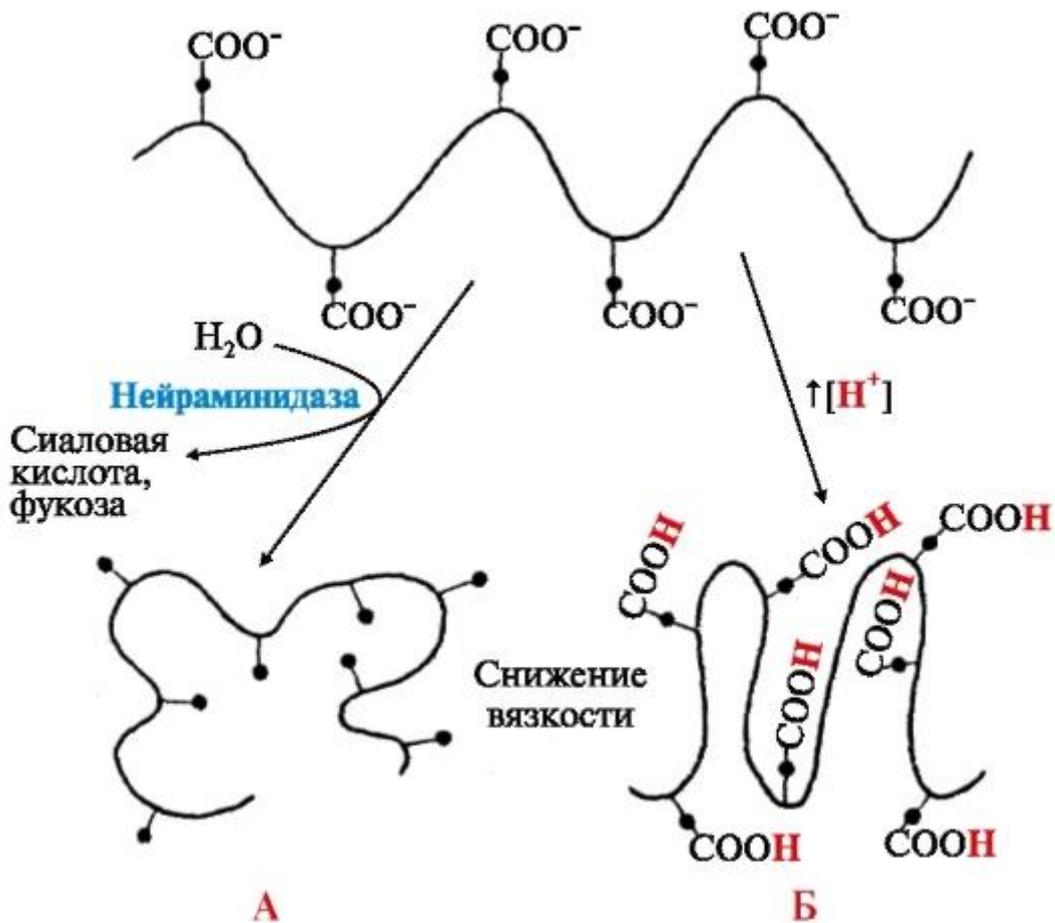


Рис. 12.30. Коагуляция муцина

А - отщепление нейраминидазой бактерий сиаловой кислоты и фукозы; Б - подавление диссоциации сиаловой кислоты

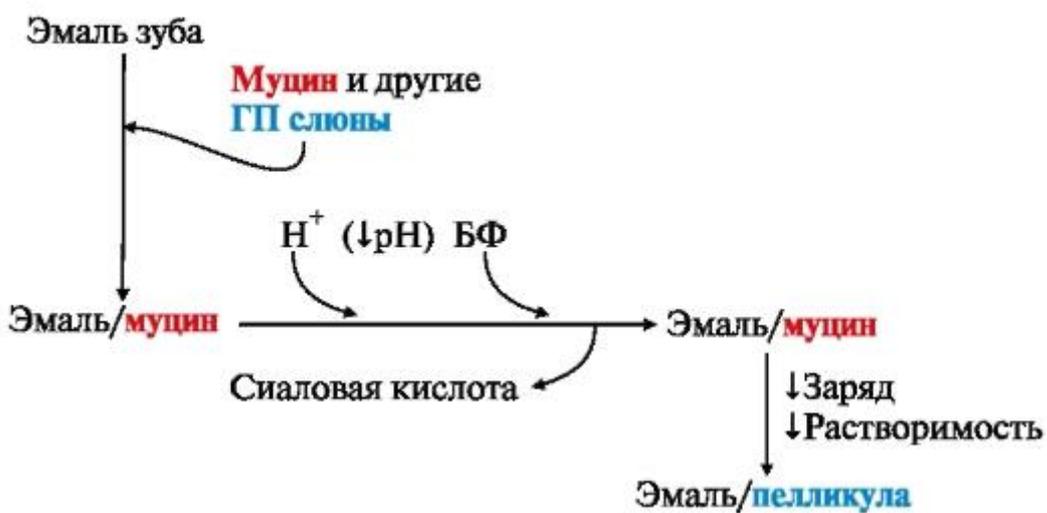


Рис. 12.31. Участие муцина в формировании пелликулы зуба

ГП - гликопротеины; БФ - бактериальные ферменты

После завершения образования пелликулы практически одновременно происходит адсорбция на ее поверхности клеток слущенного эпителия, микроорганизмов и гликопротеинов слюны. Главную роль в образовании зубного налета на гладкой поверхности зуба играют *Streptococcus mutans*. Они синтезируют внеклеточный липкий и нерастворимый полисахарид глюкозыдекстран, который является важным компонентом зубного налета. Синтез декстрана катализирует декстрансахараза (специфическая гликозилтрансфераза). Фермент гидролизует сахарозу до глюкозы и фруктозы, а затем присоединяет молекулы глюкозы α -1,6-, в точках ветвления α -1,3-глико-зидной связью к растущей молекуле декстрана (рис. 12.32). Декстрансахараза специфична только к сахарозе и не катализирует полимеризацию свободных молекул глюкозы или глюкозы из других диили полисахаридов. Из фруктозы синтезируется другой внеклеточный растворимый полисахарид леван. Он играет роль внеклеточного энергетического запаса микроорганизмов.

Гликопротеины, клетки слущенного эпителия и декстран формируют основную среду зубного налета, которая заселяется оральными микроорганизмами, в первую очередь *S.mutans*.

Первоначально в адгезии микроорганизмов участвуют представители резидентной (постоянной) флоры. Первые микробные клетки оседают и размножаются в углублениях на поверхности зуба, а затем, прилипая к декстрану, переходят на гладкую поверхность.

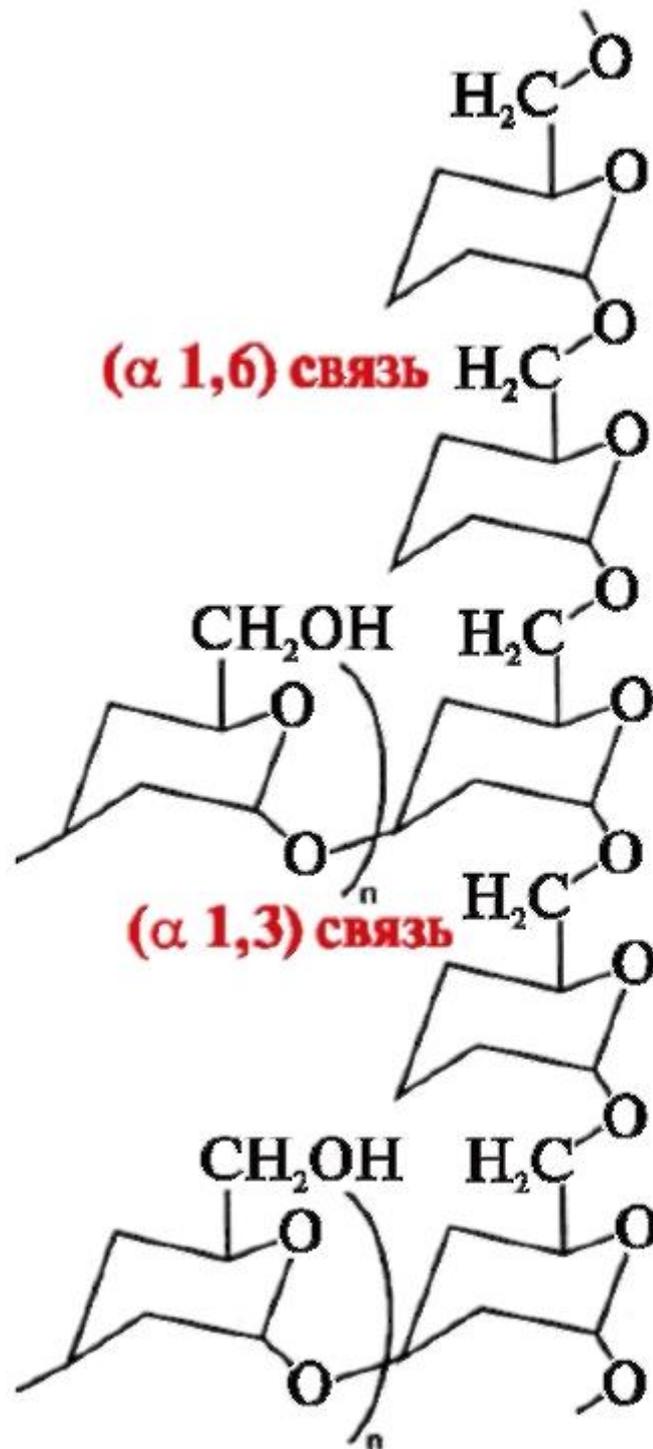


Рис. 12.32. Структура декстрана

Декстрансахараха (гликозилтрансфераза) образует α - 1,6- и α -1,3-гликозидные связи между молекулами глюкозы, образованными при расщеплении сахарозы. Фермент специфичен только к глюкозе сахарозы и не катализирует полимеризацию свободной глюкозы или глюкозы других дисахаридов или полисахаридов

Одни микроорганизмы могут стимулировать образование зубного налета и увеличение его массы, другие не влияют на этот процесс, а третьи тормозят образование налета. Микроорганизмы последней группы секретируют гликозидазы, гидролизуют внеклеточные полисахариды, которые необходимы для адгезии других бактерий.

Многие микробные клетки сами не способны прикрепляться непосредственно к пелликуле, но могут оседать на поверхность других бактерий, образуя связь «клетка к клетке». Например, анаэробные стрептококки обладают высокими адгезивными свойствами по отношению к эпителию и эмали зуба, а также способностью к агрегации с другими бактериями полости рта: бактероидами, фузобактериями. Однако бактероиды, секретируют фермент, который разрушает декстран и снижает адгезию стрептококков.

Весь процесс адгезии протекает очень быстро, и в течение 5 мин количество бактериальных клеток на 1 см² налета увеличивается с 10³ до 10⁵-10⁶. Невысокие концентрации анионов CO₃²⁻, H₂PO₄⁻, HPO₄²⁻ стимулируют адсорбцию микроорганизмов на поверхности эмали зубов.

Если на ранних стадиях развития зубного налета основным клеточным элементом является анаэробная кокковая микрофлора, то затем она сменяется палочковидными и нитевидными формами. В следующем слое формируется густая сеть волокнистых микроорганизмов с включением колоний других видов бактерий. Присутствующие в зубном налете эпителиальные клетки после адсорбции на поверхности пелликулы деградируют.

В течение примерно 8 ч интенсивность адгезии бактерий остается стабильной, но через 1-2 дня зубной налет переходит в стадию зрелой бляшки. Количество прикрепившихся бактерий вновь увеличивается, достигая 10⁷-10⁸/см². Так завершается формирование последнего, поверхностного слоя. Он состоит преимущественно из микроорганизмов, способных усваивать и окислять уксусную, пировиноградную и молочную кислоты, т.е. нейтрализовать кислые продукты метаболизма других бактерий. Зубной налет такого строения представляет наибольшую опасность для эмали зубов, так как синтезируемые бактериями 1-го и 2-го слоев гидролитические ферменты - протеиназы, гликозидазы, а также органические кислоты - молочная, пропионовая, уксусная могут

вызывать гидролиз пелликулы и химические изменения в структуре гидроксиапатитов эмали. В состав зубного налета входят:

- белки слюны, бактериальные и слущенных клеток эпителия;
- углеводы - глюкоза, гексозамины, сиаловая кислота, кислые глюкозамингликаны, полисахариды декстран, продукты гидролиза растворимого полисахарида левана;
- липиды мембран клеток эпителия и бактериальной стенки;
- протеазы, гликозидазы, липазы и другие ферменты, в основном бактериального происхождения.

Химический состав зубного налета зависит от возраста, характера пищи, гигиенического состояния ротовой полости. Он на 78-80% состоит из воды. В зубном налете выделяют клеточную и бесклеточную фракции. Клеточная фракция представляет собой эпителиальные клетки, стрептококки (~70%), вейлонеллы и нейссерии (~15%), а также другие бактерии и дрожжеподобные грибы (~15%). Бесклеточная фракция содержит минеральные вещества, белки и углеводы. Количество макро- и микроэлементов в зубном налете варьирует: в 1 мг сухой массы зубного налета содержится около 3,4 мкг кальция, 8,4 мкг фосфора, 4,2 мкг калия и 1,3 мкг натрия. Кальций и фосфат зубного налета в основном поступают из слюны, но возможен и выход из эмали, причем по мере созревания зубного налета количество этих ионов растет. В зубном налете содержатся ионы кобальта, стронция, железа, магния, марганца, фтора и др. Концентрация фтора в зубном налете может быть в десятки и даже сотни раз больше, чем в слюне (от 6 до 180 мкг/г). Она зависит от количества фтора в питьевой воде. Включение фтора в зубной налет происходит за счет образования соли с кальцием (CaF_2), комплексов с белками налета, включения в апатиты, а также поглощения фтора бактериями.

Зубной налет и кариес зубов

Кариес - это патологический процесс, при котором происходят деминерализация и разрушение твердых тканей зуба с последующим образованием полости.

Причины развития кариеса можно разделить на 3 группы (рис. 12.33):

- неполноценное питание с преобладанием сахарозы, питьевая вода с низким содержанием фтора, болезни и изменения функционального состояния органов, экстремальные воздействия;
- нарушение свойств и состава ротовой жидкости, углеводные пищевые остатки и избыточное накопление зубного налета;
- нарушение резистентности зубных тканей - неполноценная структура, изменение химического состава, генетические дефекты.



Рис. 12.33. Патогенез кариеса

В норме зубная эмаль находится в состоянии динамического равновесия между медленно, но постоянно протекающими процессами де- и реминерализации (см. раздел 11). В процесс созревания эмали ее кристаллическая структура уплотняется, уменьшается количество микропространств, т.е. полноценная минерализация делает ткани зубов резистентными к кариесу. Важнейшая роль в повышении устойчивости к кариесу принадлежит фтору. Относительное замещение гидроксиапатитов фторапатитами $[Ca_{10}(PO_4)_6F_2]$ способствует повышению устойчивости поверхностного слоя эмали к воздействию кислот (кариесрезистентности), но образование, например, карбонатапатитов $[Ca_{10}(PO_4)_5(CO_3)(OH)_2]$ делает эмаль хрупкой и усиливает кариесвосприимчивость.

По мере увеличения зубного налета защитное влияние слюны на эмаль ослабевает, а влияние продуктов метаболизма и ферментов бактерий, живущих в зубном налете, увеличивается. Пористая структура зубного налета (зубной бляшки) позволяет питательным веществам свободно проникать в глубокие слои и обеспечивать активную жизнедеятельность микроорганизмов с образованием лактата и других органических кислот. Протоны (H⁺), образующиеся при их диссоциации, участвуют в замещении кальция в кристаллах гидроксиапатитов эмали или даже вызывают их разрушение (см. раздел 11).



Кислоты растворяют апатиты, причем особенно интенсивно в межпризменных пространствах, так как проникают под поверхностный слой эмали и вызывают его деминерализацию. Структура поверхностного слоя изменяется меньше, поскольку содержит больше фторапатитов. Активное течение этого процесса сопровождается постепенным увеличением микропространств между кристаллами эмалевых призм, куда устремляются микроорганизмы, создавая источник кислотообразования внутри самой эмали. Длительное существование очага деминерализации приводит к растворению и поверхностного, более устойчивого слоя эмали. Кариозный процесс может приостановиться и приобрести длительное течение, но только на стадии белого пятна, до образования кариозного дефекта эмали. Клинически это проявляется образованием пигментированного коричневого или черного пятна.

Микроорганизмы, влияющие на процессы, происходящие в зубном налете и эмали, можно разделить на две группы:

- анаэробные микроорганизмы, продуктами жизнедеятельности которых являются молочная и другие органические кислоты, они снижают pH слюны и внутренних слоев зубного налета;
- аэробные микроорганизмы поверхностного слоя, усваивающие лактат, пируват, уксусную кислоту, аминокислоты и способствующие повышению pH.

Соотношение аэробных микроорганизмов, колонизирующих ротовую полость, к анаэробным, составляет от 1:10 до 1:100. При нарушении этой

пропорции изменяется состав и количество постоянной (резидентной) микрофлоры. Это сопровождается размножением в полости рта транзиторных (преходящих) микроорганизмов, вызывающих кариес и разные формы пародонтопатий (рис. 12.34).

К кариесогенным микроорганизмам относят в первую очередь стрептококки полости рта. Они являются представителями микрофлоры полости рта здоровых людей, но при определенных



Рис. 12.34. Участие микроорганизмов в патогенезе кариеса зубов

условиях могут ускорять развитию кариеса, поскольку активно участвуют в катаболизме углеводов. При этом pH зубного налета может снижаться до критического - 5,0 и даже ниже. Расщепление внеклеточных полисахаридов бактериальными ферментами в кариозной полости и включение продуктов их распада в анаэробный гликолиз приводит к ещё большему накоплению лактата.

Образование кислот в зубном налете и изменение pH наиболее активно происходят, если в полость рта поступают углеводы, и в первую очередь сахара. Присутствие в пище 10 г сахара вызывает увеличение содержания молочной кислоты (лактата) в слюне в 10-16 раз. А при снижении pH до 6,2 слюна из перенасыщенной

кальцием и фосфатом становится недонасыщенной и, следовательно, деминерализующей.

Пути использования сахара бактериями ротовой полости зависят от ее количества в пище. При низкой концентрации сахара быстро гидролизуются до глюкозы и фруктозы, которые включаются в гликолиз, при высоком содержании в пище она не только используется как энергетический субстрат, но и превращается бактериями во внеклеточные полисахариды леван и декстран (рис. 12.35).

Появление различных кислот в зубном налете связано с определенными видами микроорганизмов. Стрептококки синтезируют в основном молочную кислоту, лактобактерии наряду с молочной кислотой могут образовывать пропионовую,



Рис. 12.35. Метаболизм сахарозы под действием бактериальных ферментов полости рта

Продукты гидролиза сахарозы - глюкоза и фруктоза - фосфорилируются и в ходе анаэробного гликолиза превращаются в лактат и другие кислоты.

Пируват может превращаться в ацетат или ацетил-КоА, который используется в цитратном цикле. Промежуточный продукт ЦТК - сукцинил-КоА - является субстратом для синтеза пропионовой кислоты. Совокупность молочной, уксусной, муравьиной, пропионовой кислот образует общий пул кислых продуктов, накапливающихся в зубном налете. Микроорганизмы могут синтезировать гликоген, количество которого составляет до 37% их сухой массы. Гликогенез наиболее активно протекает у *S. mutans*. Леваны растворимы в воде и не могут участвовать в адгезии микроорганизмов. Кариесогенными являются микроорганизмы, синтезирующие декстран, который обеспечивает их прилипание к пелликуле.

уксусную и масляную кислоты, нейссерии и вейллонеллы превращают молочную кислоту в пропионовую и уксусную, а углекислый газ и воду - в пировиноградную и уксусную кислоты.

pH зубного налета зависит не только от скорости образования органических кислот, но и от доступа к нему слюны. Буферные системы слюны, в первую очередь бикарбонатная, способны нейтрализовать кислоты, поэтому зубной налет, в большей степени контактирующий со слюной, имеет и более высокий pH.

Слюна влияет на кариесогенную активность микроорганизмов. Белки секрета помогают прикреплению микробных клеток к поверхности зуба и в тоже время, омывая полость рта, ротовая жидкость способствует их удалению. К противокариозным факторам можно отнести группу микроорганизмов, которые используют в качестве питательных веществ белки и аминокислоты. Образующийся в ходе их метаболизма аммиак, связывая протоны, снижает их участие в изоморфных замещениях.

Кариесогенные ферменты зубного налета. В зубном налете присутствуют свыше 50 различных ферментов, в основном микробного происхождения. Большинство из них оказывает деструктивное действие на ткани зуба. Микроорганизмы вырабатывают гидролазы: протеазы, сульфатазы, фосфатазы, гликозидазы, являющиеся ферментами агрессии (см. главу 12.8). Сульфатазы, отщепляя группы SO_3H , вызывают повреждение белковогликозамингликановых комплексов и поэтому разрушают органическую основы эмали и дентина.

Протеинфосфатазы, дефосфорилирующие белки, нарушают взаимодействие матрицы с кристаллами гидроксиапатитов. Самыми кариесогенными ферментами являются коллагеназа и гиалуронидаза, которые, гидролизуя органическую матрицу дентина, поставляют источник питания бактериям и углубляют кариозную полость.

Развитию кариеса способствуют изменения:

- секреции слюны при ксеростомии;
- белкового состава (содержания в слюне факторов специфической и неспецифической защиты);
- буферной емкости слюны (способности поддерживать рН на оптимальном уровне);
- содержания в слюне кальция, фосфатов и других ионов, определяющих реминерализующий потенциал.

12.10. ЗУБНОЙ КАМЕНЬ И ВОСПАЛЕНИЕ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА

Отложения в зубном налете неорганических веществ, т.е. его минерализация, приводят к образованию зубного камня. Частично минерализованный зубной камень содержит бактерии, полностью сформированный камень - это уже безмикробное образование.

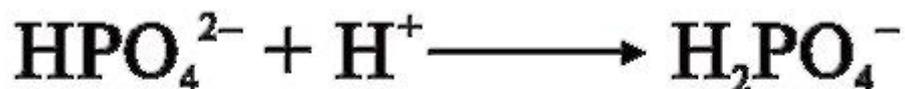
Минерализация органической матрицы налета - образование зубного камня

Источником кальция, фосфатов и других ионов, участвующих в минерализации, является слюна. Интенсивное размножение патогенных микроорганизмов в зубном налете приводит к повышению содержания в слюне продуктов их метаболизма - органических кислот: лактата, ацетата, бутирата и др. (рис. 12.36).

Диссоциируя, кислоты повышают концентрацию протонов в слюне,



которые нарушают строение мицелл фосфата кальция, так как протонируют фосфатные группы диффузного слоя (см. главу 12.3).



В этих условиях ионы кальция смываются с наружного слоя мицеллы и включаются в процесс минерализации зубного налета. Факультативные анаэробы, заселяющие зубной налет, секретируют конечные продукты обмена - азот, аммиак и мочевины.

NH_3 взаимодействует с фосфатными группами:



Анионы HPO_4^{2-} связывают Ca^{2+} и образуют плохо растворимую соль брушит $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, дающую начало формированию зубного камня.

Образованный на начальных стадиях минерал брушит $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ составляет 50% от всех видов апатитов. Зубной камень такого состава легко удаляется, но по мере старения состав его меняется, образуются соединения более сложного строения: октокальцийфосфат и гидроксиапатиты.

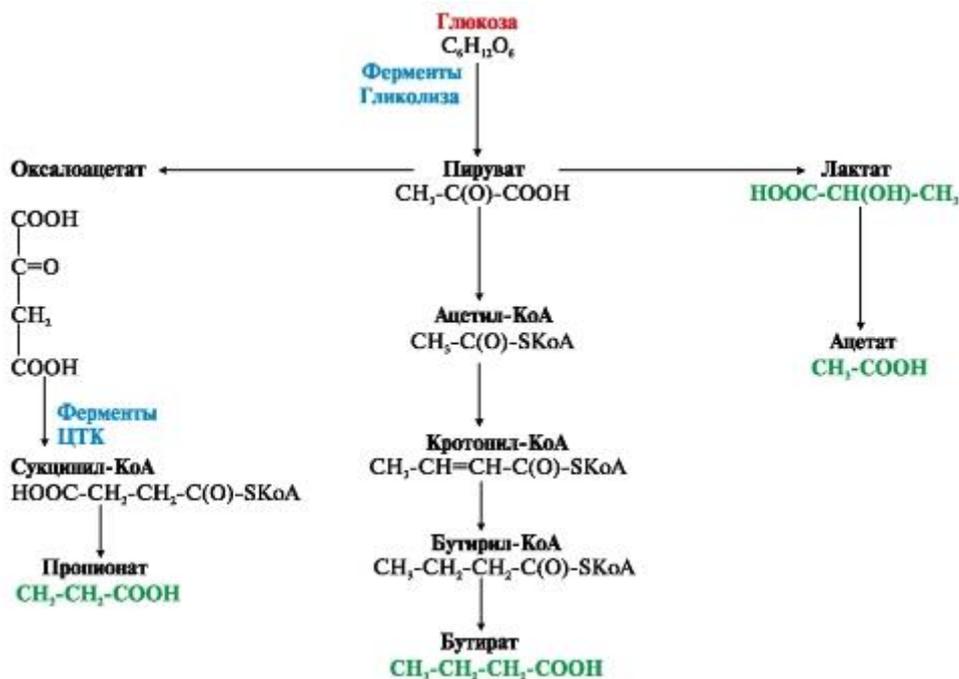
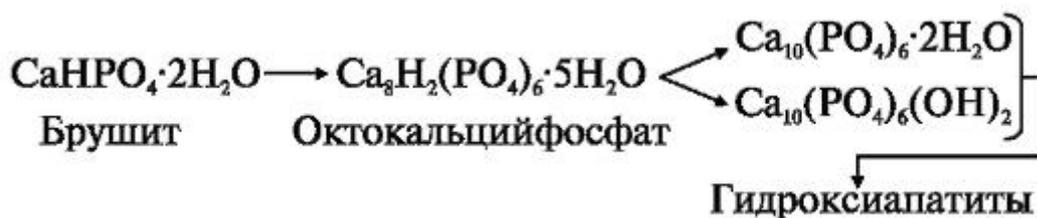


Рис. 12.36. Схема синтеза короткоцепочечных кислот патогенными микроорганизмами полости рта

В небольших количествах в зубном камне присутствуют карбонатапатит, соли магния: струвит ($\text{MgHPO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) и витлоктит ($(\text{CaMg})_3(\text{PO}_4)_2$), фтор в виде фторапатита, фторида кальция (CaF_2) и комплекса с органическими соединениями.

Условиями минерализации зубного налета и образования зубного камня являются:

- участие кислотообразующих микроорганизмов ($\uparrow[\text{H}^+]$);
- повышение в слюне ионов Ca^{2+} и PO_4^{3-} , вызванное снижением устойчивости мицеллы слюны (см. главу 12.3);
- размножение микроорганизмов, продуцирующих NH_3 и мочевины;
- повышение содержания в зубном налете метаболитов, погибших бактерий (Глу, NH_3 , цитрата, α -кетоглутарата и др.), способных удерживать Ca^{2+} и PO_4^{3-} ;

- участие щелочной фосфатазы, которая катализируя гидролиз фосфорорганических соединений и повышает содержание PO_4^{3-} в налете (см. раздел 11).

Зрелый зубной камень состоит из неорганических (70-90%) и органических компонентов. Главными неорганическими веществами являются кальций (39%), фосфор (19%), магний (0,8%) и карбонаты (1,9%). В зубном камне находится большая группа микроэлементов: натрий, цинк,

стронций, бром, медь, марганец, вольфрам, золото, алюминий, железо, фтор. Присутствующие в зубном камне Са-связывающие глико- и фосфопротеины составляют 0,1-2,5%.

В зависимости от локализации различают наддесневой и поддесневой зубной камень. Они имеют разный химический состав, механизм образования и источники кальция и фосфатов.

Наддесневой зубной камень располагается над гребнем десневого края, имеет серовато-желтоватый цвет, который зависит от поступления в организм окислов железа, меди, никотина и других веществ. Он имеет твердую или глиноподобную консистенцию, легко отделяется от зубной поверхности при соскабливании или скалывании. Наддесневой камень встречается чаще всего на щёчных поверхностях больших коренных зубов напротив протока околоушной слюнной железы и на язычных поверхностях передних зубов нижней челюсти. Зубной камень, сформированный у зубодесневого края, приводит к затруднению циркуляции десневой жидкости, а значит, и к нарушению ее защитных функций.

Наддесневой камень обычно относят к слюнному типу, а поддесневой - к сывороточному, имея в виду, что источником кальция и фосфатов в первом случае служит слюна, а во втором - десневая жидкость, являющаяся трансудатом сыворотки

крови. Первый имеет патогенетическое значение при развитии кариеса зубов, второй способствует патологическим процессам в пародонте.

Поддесневой камень образуется под десной, он незаметен при осмотре полости рта. Камень обычно плотный и твердый, темно-коричневого или зеленовато-черного цвета и прочно прикреплен к поверхности зуба.

Патологии пародонта

Мягкий зубной налет, вырабатывающий токсины (NH_3 , H_2S , лактат, индол и др.) вызывает воспаление десны - гингивит. Постепенно между десной и зубом образуется пространство (десневой карман) и на корне зуба накапливаются отложения, которые минерализуются и превращаются в поддесневой камень. Зубной камень, разрушая зубодесневое соединение, способствует распространению инфекции в глубь тканей пародонта.

Пародонтит - воспаление тканей пародонта, сопровождающееся деструкцией десны, периодонта и альвеолярной кости и зуба (рис. 12.37.). Пародонтоз - дистрофическое поражение всех элементов пародонта.

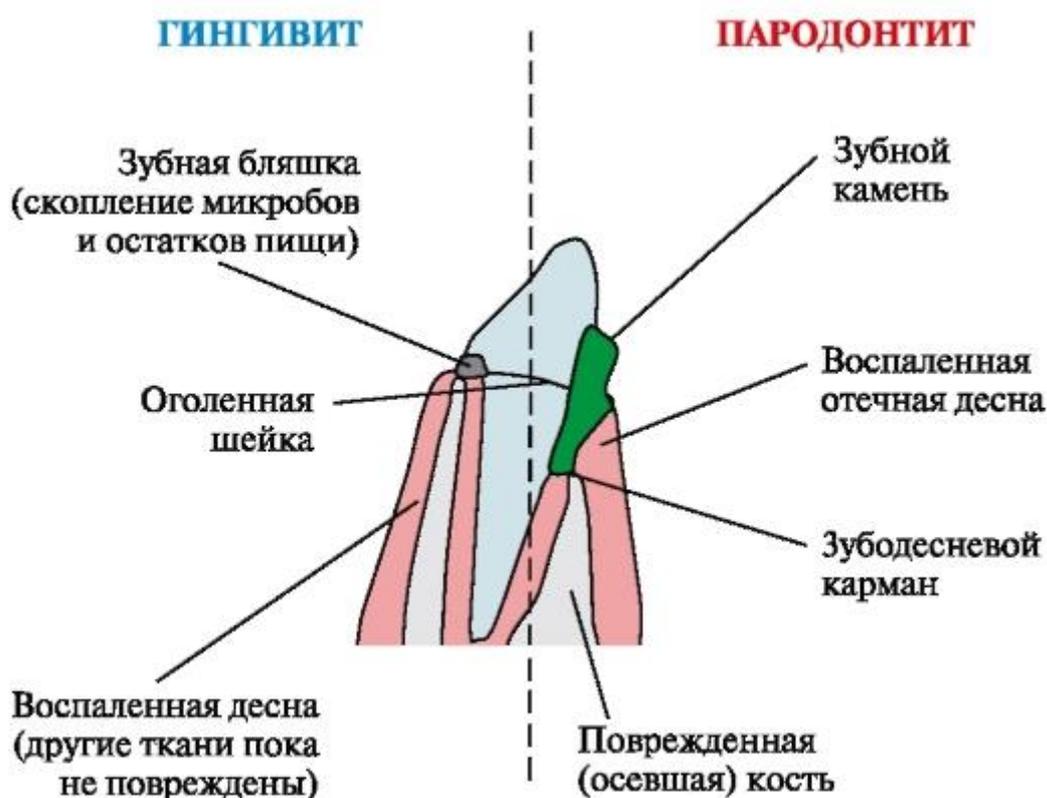


Рис. 12.37. Гингивит и пародонтит

К факторам, стимулирующим развитие воспаления тканей пародонта, относят микроорганизмы полости рта, особенности питания, зубной налет, недостаточную нагрузку на зубочелюстную систему, общее состояние организма.

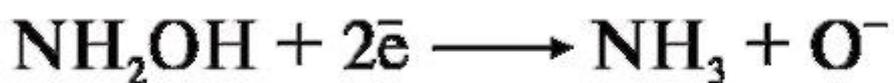
Главным местом обитания микроорганизмов в полости рта являются зубодесневые карманы,

зубной налет и бактериальный налет на слизистой оболочке десны. Если в слюне содержится не более 5 млн/мл микроорганизмов, то в 1 мл содержимого зубодесневого кармана их несколько миллиардов, еще больше

микроорганизмов в зубном налете. Развитие пародонтита находится в прямой зависимости от количества зубного налета и от общего микробного состояния полости рта.

Микроорганизмы зубного налета, зубодесневого кармана и десневой жидкости вырабатывают различные патогенные вещества (см. главу 11.8), которые концентрируются в жидкости зубодесневых карманов, проникают в десну и оказывают повреждающее действие на периодонт.

Помимо уже описанных NH_3 , H_2S , лактата, индола, низкомолекулярных жирных кислот, микроорганизмы зубодесневых карманов вырабатывают амины, например гидроксиламин (NH_2OH), который является сильным окислителем:



Источником электронов могут быть любые гемили Fe^{2+} -содержащие белки: цитохромы ЦПЭ, антиоксидантной защиты и другие ферменты клеток. Гидроксиламин не только нарушает окислительное фосфорилирование в митохондриях, но и вызывает повреждение мембран клеток активными радикалами, так как активирует перекисное окисление липидов.

Воспалительное и токсическое действие на клетки эпителия, периодонта оказывают ферменты, вырабатываемые микроорганизмами зубодесневого кармана и десневой жидкости. Они легко проникают в ткань десны с помощью бактериальной гиалуронидазы (фактор распространения или фермент агрессии), которая вызывает гидролиз основного гликозамингликана межклеточного матрикса. Патогенное действие гиалуронидазы усиливается при совместном действии на межклеточный матрикс ткани фермента коллагеназы.

Бактериальная нейраминидаза, отщепляя остатки N-ацетилнейраминовой кислоты, изменяет строение олигосахаридов мембран клеток эпителия и периодонта. Это стимулирует выработку антител к поврежденным клеткам, усиливают цитотоксическое действие антител белки системы комплемента. Активация системы комплемента сопровождается образованием пептидов, стимулирующих миграцию лейкоцитов в область локализации поврежденных клеток и их уничтожение.

Патогенные свойства проявляют бактериальные фосфолипаза С и ДНК-гидролаза. Фосфолипаза С, катализируя гидролиз фосфолипидов мембран лейкоцитов, вызывает их разрушение и тормозит защитный фагоцитарный ответ. Наиболее агрессивное воздействие на ткани пародонта оказывают бактериальные протеазы. Коллагеназа, гидролизую collagen десны и кости альвеолярного отростка, вызывает разрушение белковой матрицы (стромы) этих тканей. Бактерии зубного налета вырабатывают эластазу, способную разрушать эластин сосудистой стенки и тем самым вызывать повышенную кровоточивость. Микроорганизмы *S. sanguis* продуцируют специфическую протеазу, которая может гидролизовать слюны.

12.11. СЛЮНА КАК ПРЕДМЕТ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

В последнее десятилетие во всем мире возросло внимание исследователей к изучению свойств слюны. Это связано не только с развитием аналитической техники, но и с растущим интересом к уникальным свойствам и диагностическим возможностям ее исследования.

Для стоматологов особый интерес представляет изучение именно ротовой жидкости, так как она представляет собой среду, в которой на протяжении всей жизни находятся органы полости рта. Исследование чистого секрета слюнных желез дает важную информацию об их состоянии, функции в норме и при патологии.

Анализ содержания в слюне минеральных веществ, белков, ферментов и метаболитов используется в диагностике заболеваний тканей полости рта и оценке физиологического состояния организма (рис. 12.38). Исследование слюны при некоторых заболеваниях является альтернативой анализу крови, в ряде случаев не только дополняя, но даже заменяя его.

В настоящее время интерес к исследованию слюны для диагностики заболеваний полости рта расширился, так как появилось множество новых данных о взаимосвязи функций слюнных желез с многими системами организма; разработаны новые методы аналитической и молекулярной диагностики; получение материала для исследования (слюны) значительно проще, чем крови; есть возможность частого (повторного) забора проб при полной безопасности для пациента.

В слюну исследуемые вещества могут попадать трансцеллюлярно, т.е. путем диффузии из крови через плотные соединения между ацинарными клетками;

парацеллюлярно при активном транспорте или ультрафильтрации через клетки слюнных желез; из поврежденной слизистой оболочки или ткани периодонта.

При диагностике инфекционных заболеваний применяют иммуноферментный анализ, при котором в слюне определяют специфические антитела к возбудителям вирусной и бактериальной природы. Как альтернативу анализу крови на присутствие ВИЧ-специфических IgA определяют эти иммуноглобулины в слюне; применяют метод молекулярной диагностики (ПЦР, см. раздел 3), при котором в слюне обнаруживается наличие ДНК или РНК носителя инфекции.



Рис. 12.38. Использование слюны в диагностике

Содержание в слюне вирусной ДНК или РНК при гепатите А, В и С коррелирует с таковым в сыворотке крови. Этим же методом в пробах слюны выявляют присутствие генома вируса гриппа. Используя ПЦР-диагностику ДНК слущенного эпителия, можно выявить гетерозиготных носителей наследственных заболеваний и даже установить родство.

Слюна является источником генетических маркеров (см. главу 12.4). Наличие в ней гликопротеинов, обладающих антигенной специфичностью, строго коррелирует с группами крови. Исследование этих гликопротеинов нашло применение в судебной медицине.

Определение в слюне концентрации стероидных гормонов позволяет оценить состояние надпочечников, гонадотропную функцию, ритмы образования и выделения гормонов.

Изучение метаболизма лекарств можно проводить, используя в качестве объекта исследования смешанную слюну. Для некоторых лекарственных препаратов (фенобарбитал, препараты лития, салицилаты, диазепам и др.) установлена корреляция между количеством лекарства в крови и слюне.

Выявлено четкое соответствие между содержанием NO (см. раздел 7) в слюне и состоянием сердечно-сосудистой системы. Определение содержания NO используют для контроля эффективности лечения.

Диагностику нефритов у маленьких детей проводят по изменению содержания в слюне мочевины, так как при этом заболевании оно значительно возрастает по сравнению с нормой.

Слюну используют как источник биохимических маркеров (норадреналина, дофамина, серотонина, адреналина) для контроля эффективности лечения при хроническом алкоголизме. При алкогольной абстиненции в слюне уровень норадреналина возрастает на 70%, дофамина - на 66%, серотонина - на 114%, адреналина - на 97%.

При некоторых онкологических заболеваниях в слюне определяют содержание онкомаркеров, которые выделяются в кровь в период роста опухоли. Например, при опухоли печени в крови возрастает содержание белка эмбриональных клеток печени α -фетопротеина. При этом в слюне содержание его значительно выше, чем в крови.

Повышение в слюне активности фактора роста эпидермиса наблюдается при опухолях головы и шеи. Развитие заболевания сопровождается

увеличением в крови различных ростовых факторов, стимулирующих пролиферацию, их продуцируют клетки опухоли или нормальные ткани, которые при ее росте травмируются.

У больных раком или предраком желудка значительно снижается содержание лизоцима в слюне, этот показатель используют для прогноза заболевания.

Наследственные и приобретенные порфирии - это болезни, связанные с нарушением синтеза гема (см. раздел 14). Промежуточные продукты, которые называются порфиринами, выходят в кровь. Концентрация порфиринов и продуктов их распада в слюне хорошо коррелирует с их уровнем в крови, поэтому определение содержания порфиринов в слюне можно использовать для диагностики и лечения порфирий.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Выполните «цепное» задание.

а) при воспалении пародонта увеличивается количество:

А. Секрета малых слюнных желез. Б. Десневой жидкости.

В. α -Амилазы в секрете околоушных желез.

Г. Воды, связанной муцинами.

б) эта жидкость выполняет защитную функцию, так как содержит:

А. Иммуноглобулины. Б. Цистатины.

В. Коллагеназу. Г. Гистатины. Д. Эластазу.

в) действие этих молекул усиливается:

А. Гистатинами.

Б. Лактоферрином.

В. Системой комплемента.

Г. Группой белков, богатых пролином.

г) эти белки активируются:

А. Частичным протеолизом. Б. Фосфорилированием.

В. Дефосфорилированием.

Г. Белок-белковой регуляцией.

д) в результате активации образуется:

А. Группа фосфорилированных белков. Б. Комплекс из нескольких белков.

В. Несколько отдельных протомеров.

Г. Группа дефосфорилированных белков.

е) эти белки встраиваются в мембрану:

А. Эпителиальных клеток десневой бороздки.

Б. Микроорганизмов.

В. Лейкоцитов смешанной слюны.

Г. Эпителиальных клеток слюнных протоков.

ж) образованный на мембране комплекс:

А. Связывает новые антигены.

Б. Ингибируется α_2 -макроглобулином.

В. Формирует неселективные поры.

Г. Является неспецифическим рецептором.

з) это приводит к:

А. Образованию комплексов антиген- антитело.

Б. Увеличению количества рецепторов к белкам комплекса.

В. Связыванию комплекса антиген-анти- тело неспецифическими рецепторами.

Г. Нарушению метаболизма и гибели микроорганизмов.

2. Выберите правильные ответы.

Декстраны:

А. Нерастворимые полисахариды.

Б. Мономерным звеном полимера является глюкоза.

В. Синтезируются под действием декстрансахаразы.

Г. Выполняют функцию энергетического

запаса клетки. Д. Образуются только при поступлении с пищей сахарозы.

3. Установите соответствие.

Функция:

А. Является внутриклеточным энергетическим запасом микроорганизмов.

Б. Относится к защитным компонентам слюны.

В. Является внеклеточным энергетическим запасом микроорганизмов.

Г. Обеспечивает адгезию бактерий на поверхности пелликулы.

Д. Снижает вероятность образования зубного налета. Полисахарид:

1. Декстран.

2. Леван.

3. Гликоген.

4. Установите соответствие. Субстрат фермента:

А. Леван.

Б. Декстран.

В. Гликозамингликаны. Г. Коллаген.

Д. Муреин.

Фермент десневой жидкости:

1. Гиалуронидаза.

2. Лизоцим.

3. Эластаза.

5. Выберите правильные ответы.

В состав зубного налета входят:

А. Иммуноглобулины. Б. Микроорганизмы.

В. Гидроксиапатиты.

Г. Внеклеточные полисахариды. Д. Клетки слущенного эпителия.

6. Дополните предложение недостающими словами.

а) между зубным налетом и поверхностью эмали существует безмикробный слой

б) этот слой состоит, в основном, из гликопротеина слюны . .

в) отрицательный заряд гликопротеина обеспечивают остатки ... кислоты.

г) с помощью этих групп он взаимодействует с:

А. Фосфатными группами гидроксиапати-

тов эмали. Б. Ионами Ca^{2+} в структуре эмали.

д) адсорбция гликопротеина ускоряется при:

(выберите правильные ответы)

А. Под действием трипсиноподобной протеиназы.

Б. Гидролизе гликопротеина нейраминидазой.

В. Снижении pH.

Г. Повышении концентрации NH_3 . Д. Увеличении концентрации H^+ .

7. Установите соответствие.

Влияние на состояние клеток эпителия:

А. Разобщает окисление и фосфорилирование.

Б. Вызывает утечку α -кетоглутарата из ЦТК.

В. Образует нерастворимые соли. Г. Стимулирует синтез индола. Д. Ингибирует цитохромоксидазу. Продукты жизнедеятельности микроорганизмов:

1. Масляная кислота.

2. Аммиак.

3. Сероводород.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. В эксперименте на срезах ткани было показано, что при введении в инкубационную среду суспензии зубного налета повреждаются клетки и межклеточный матрикс срезов. Объясните цитотоксическое действие суспензии зубного налета. Для этого:

а) назовите низкомолекулярные вещества и белки, синтезирующиеся микроорганизмами зубного налета;

б) опишите механизм повреждающего действия, представьте схемы каждого из этих веществ на клетки и компоненты межклеточного матрикса срезов ткани.

2. Известно, что употребление кока-колы, фанты, пива, содержащих в большом количестве сахарозу и мальтозу, способствует развитию кариеса. Объясните причины возникновения кариеса при использовании этих напитков. Для этого:

а) укажите рН слюны в норме;

б) объясните, каким образом содержащаяся в этих напитках сахароза и мальтоза могут вызвать изменение рН;

в) опишите структуру соединения, которое могут синтезировать микроорганизмы из сахарозы, и его роль в образовании налета;

г) напишите возможные реакции замещения, протекающие в гидроксипатитах эмали, при снижении рН слюны и объясните возможные последствия.

3. Для пролонгированной энзимотерапии корневых каналов при лечении острых и хронических периодонтитов используют препараты профезим и

иммозимазу, содержащие трипсин, химотрипсин и лизоцим. Аргументируйте обоснованность применения этих препаратов при данных заболеваниях. Для этого:

а) представьте схемы действия ферментов на их субстраты, назовите их класс и подкласс, опишите судьбу продуктов реакции;

б) поясните, почему присутствие этих лекарств в корневом канале ограничено 1-2 сут;

в) объясните, почему одновременно с этими препаратами рекомендовано использование сульфаниламидов, но запрещено применение спирта.

4. Последнее время стоматологи отмечают появление нового заболевания - жвачную болезнь. Вследствие неправильного использования жевательной резинки у больных наблюдается атрофия слюнных желез. Как изменится секреция слюны при этом заболевании? Для ответа на вопрос:

а) перечислите основные функции слюны;

б) укажите, как изменение секреции слюны отразится на состоянии эмали зубов и слизистой полости рта;

в) объясните, какие неприятные симптомы привели этих больных к стоматологам.

5. В криминалистической практике для идентификации личности исследуют разный биологический материал, в том числе и слюну. Какую информацию могут предоставить следственной группе биохимики, проведя анализ гликопротеинов слюны?

6. Иммунологический анализ слюны пациентки дал следующие результаты.

Показатель	Норма	Результат
Наличие крови	Отрицательное	Резко положительный
Уровень саливации, мл за 10 мин	4,0–8,0	5,0
pH	6,4	5,0
Уровень альбумина, мг%	2,4–4,3	14,9

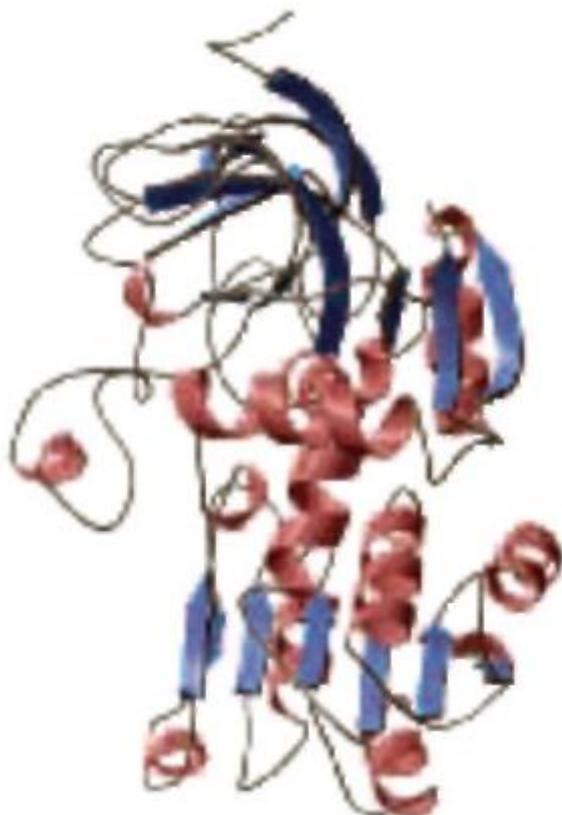
Показатели	sIgA, мг%	IgG, мг%	IgM, мг%	IgE, КЕ/л
Норма	5,6–6,3	5,0–25,0	0	0–2,5
Результат	45,1	17,0	0	0,32

Показатели	sIgA /Alb	sIgA /IgG
Норма	8,0–19,0	0,5–2,5
Результат	3,02	2,6

Используя материалы разделов 1 и 12 учебника, оцените результаты обследования.

Объясните, почему врач рекомендовал наблюдение стоматолога и иммунотерапию препаратом Иммунон.

РАЗДЕЛ 13. ИНАКТИВАЦИЯ ЧУЖЕРОДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ



Основные темы раздела:

13.1. Система микросомального окисления веществ и реакции конъюгации.

13.2. Обезвреживание продуктов метаболизма микрофлоры кишечника.

13.3. Биотрансформация лекарств в печени.

13.4. Основные механизмы фагоцитоза.

Чужеродные вещества, попадающие в организм из желудочно-кишечного тракта, через кожу и легкие и не использующиеся для пластических и энергетических целей, называются ксенобиотиками. К ним относятся лекарства, красители, пестициды, продукты метаболизма кишечной микрофлоры.

Гидрофильные ксенобиотики выводятся из организма с мочой, а гидрофобные могут накапливаться и, взаимодействуя с белками и липидами клеток, нарушать их структуру и функции. В организме есть ряд защитных механизмов, обеспечивающих обезвреживание чужеродных и токсичных веществ, поступающих в него. Обезвреживание ксенобиотиков происходит во многих тканях, но наиболее активно в печени. Этот процесс может состоять из одного или двух этапов. Первый этап обеспечивает повышение гидрофильности чужеродных веществ и включает реакции их гидролиза, окисления, гидроксирования, восстановления,

второй - заключается в конъюгации неизмененных или химически модифицированных на первом этапе веществ с рядом метаболитов. Однако следует отметить, что некоторые полярные ксенобиотики выводятся из организма, не подвергаясь никаким превращениям.

Огромную роль в защите организма от проникающих в него микроорганизмов играет фагоцитоз - один из важнейших механизмов иммунитета.

13.1. СИСТЕМА МИКРОСОМАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ВЕЩЕСТВ И РЕАКЦИИ КОНЪЮГАЦИИ

Первый этап инактивации большинства ксенобиотиков начинается с реакции их окисления ферментами мембран гладкого эндоплазматического ретикулума клеток печени. При выделении из клеток фрагменты этих мембран образуют микросомы, поэтому окисление субстратов при участии электронтранспортной системы, локализованной в мембранах эндоплазматического ретикулума, называют микросомальным окислением. В печени существуют две электронтранспортные цепи микросомальной системы окисления, которые катализируют гидроксирование субстратов (рис. 13.1) и являются монооксигеназами.

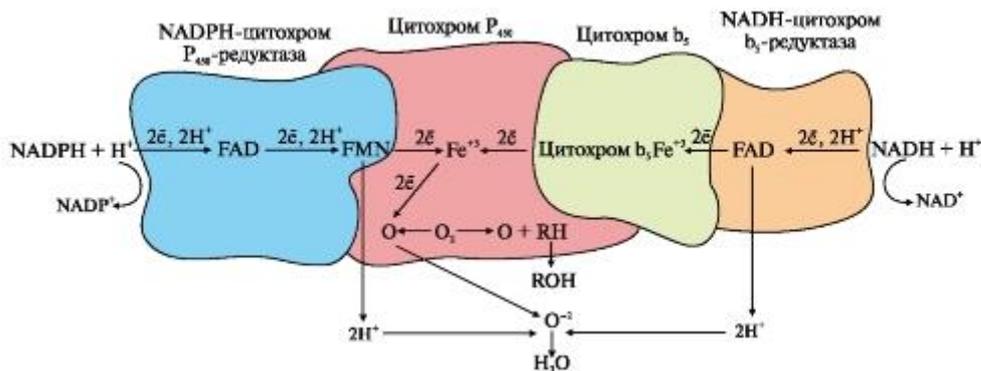


Рис. 13.1.Электронтранспортные цепи микросомального окисления субстратов

RH -субстрат окисления

Одна из них включает гемопротейн цитохром P₄₅₀, который имеет центры связывания для O₂ и гидрофобного субстрата и обладает широкой субстратной специфичностью; фермент NADPH -цитохром P₄₅₀-редуктазу, содержащий коферменты FAD и FMN; NADPH+H⁺ - донор е и H⁺ в этой электронтранспортной цепи; O₂. Другая содержит цитохром P₄₅₀; фермент NADH-цитохром b₅-редуктазу, коферментом которой является FAD; цитохром b₅ - гемопротейн, переносящий е от NADH-цитохром b₅-редуктазы на цитохром P₄₅₀; донор е и H⁺ -

NADH+ H⁺; O₂.

Цитохром P₄₅₀ один атом кислорода включает в молекулу субстрата, а второй восстанавливает с образованием воды за счет переноса е и H⁺ от NADPH+H⁺ при участии цитохром P₄₅₀-редук-тазы (или от NADH+H⁺ с помощью цитохром B₅-редуктазы и цитохрома B₅). Существует около 1000 изоформ цитохрома P₄₅₀ с разной субстратной специфичностью. Синтез изоформ индуцируют их субстраты, этанол, а также некоторые метаболиты, например стероидные гормоны, тироксин, кетоновые тела. Особенностью микросомального окисления является то, что в некоторых случаях ксенобиотики в результате биотрансформации становятся токсичными, например парацетамол превращается в вещество, повреждающее клетки печени и почек, бензпирен табачного дыма - в канцерогенный эпоксид. Цитохром P₄₅₀ участвует не только в реакция гидроксирования ксенобиотиков, но и в ряде других превращений метаболитов, например при синтезе желчных кислот и стероидных гормонов.

Появление в молекулах субстратов полярных групп в результате микросомального окисления повышает гидрофильность веществ и обеспечивает возможность их вступления в реакции конъюгации. Второй этап инактивации - это реакции конъюгации модифицированных на первом этапе или содержащих полярные группы веществ. Они вступают в реакции метилирования, сульфатирования, ацетилирования, соединяются с глутатионом или с глюкуроновой кислотой. Донором метильной группы является SAM, группы $-SO_3H$ - активная форма серной кислоты ФАФС, остатка уксусной кислоты - ацетил-КоА, глюкуроновой кислоты - УДФ-глюкуронат. Эти реакции катализируют трансферазы, имеющие широкую субстратную специфичность (рис. 13.2).

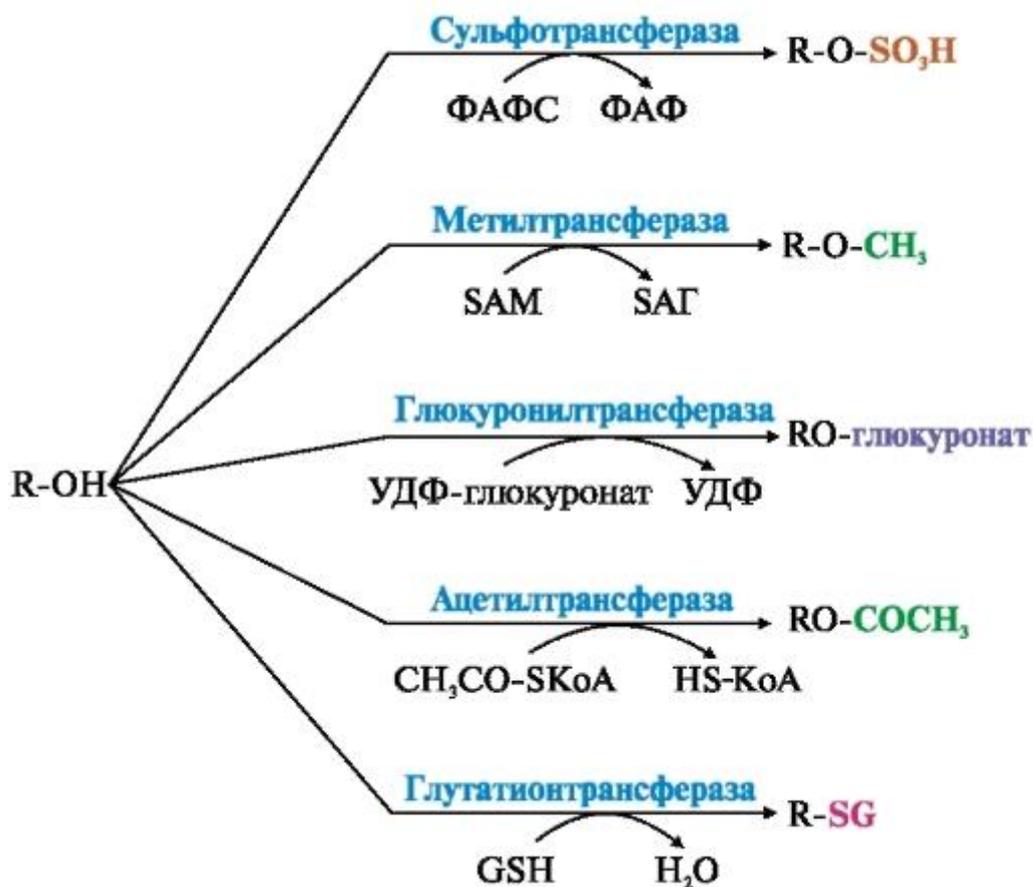


Рис. 13.2. Схема реакций конъюгации

ROH - ксенобиотик или первичный метаболит, образующийся в результате микросомального окисления; GSH - глутатион

Если вещество гидрофобно, то его обезвреживание проходит в два этапа, если - гидрофильно, то первый этап может отсутствовать. Конъюгация снижает реакционную способность веществ и, следовательно, уменьшает их

токсичность, повышает гидрофильность и способствует выведению их из организма.

13.2. ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ПРОДУКТОВ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА

Образование токсичных продуктов из аминокислот под действием микроорганизмов кишечника называют гниением белков в кишечнике. Из тирозина образуются фенол и крезол, из триптофана - скатол и индол. Эти вещества всасываются клетками кишечника, транспортируются кровью по воротной вене в печень, где они конъюгируют с серной или глюкуроновой кислотой (рис. 13.3 и 13.4).

Если в организм попадает бензол, то его обезвреживание происходит в два этапа. Сначала он гидроксيليруется микросомальной системой окисления и превращается в фенол, а потом вступает в реакции конъюгации с ФАФС или УДФглюкуронатом.

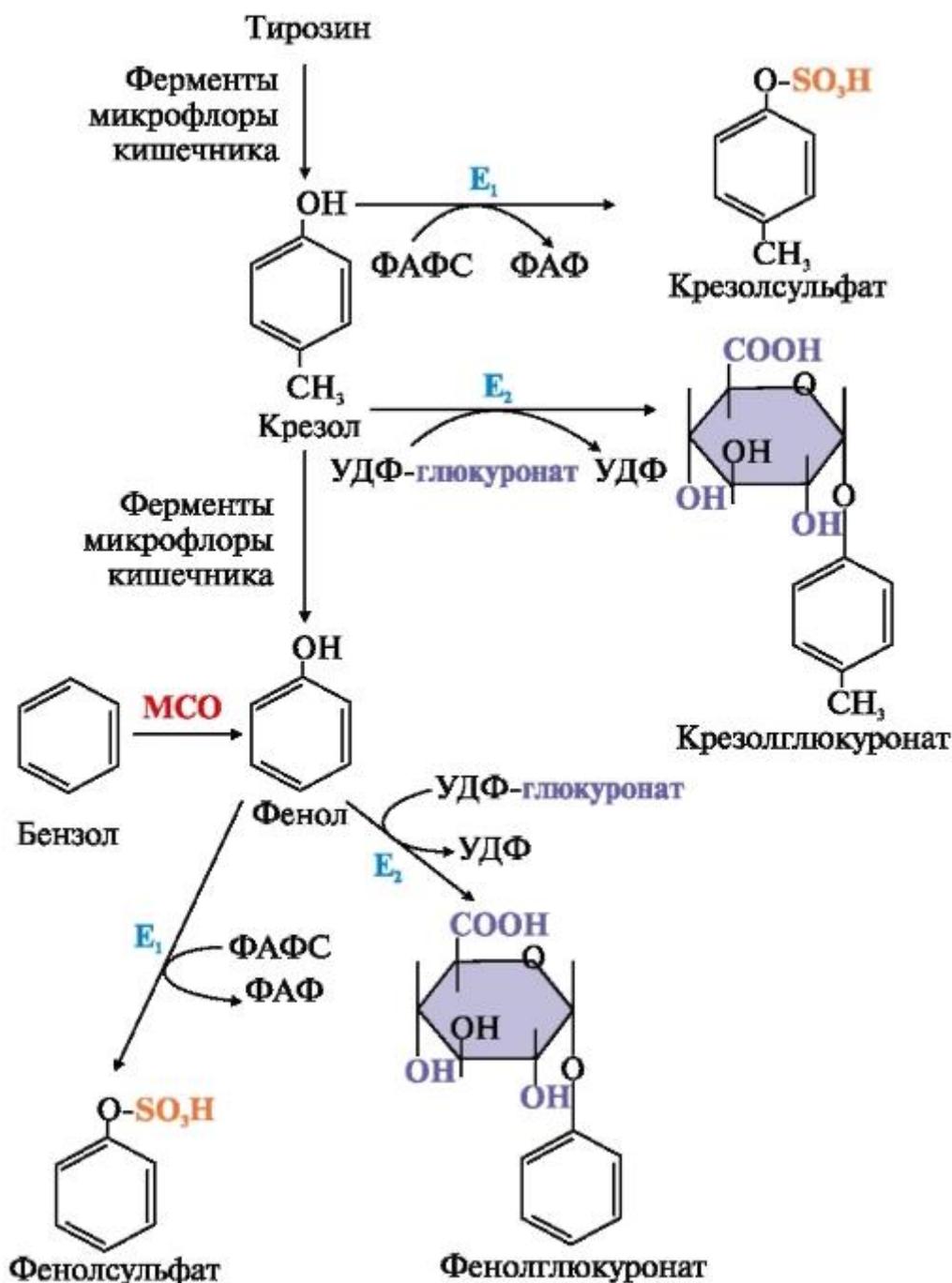


Рис. 13.3. Реакции инактивации фенола, крезола и бензола

E_1 - сульфотрансфераза, E_2 - глюкуронилтрансфераза; МСО - микросомальная система окисления

13.3. БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ЛЕКАРСТВ В ПЕЧЕНИ

Лекарства выводятся из организма в неизмененном виде или подвергаются химической модификации. Последняя может привести не только к инактивации лекарственного препарата, но и к повышению его фармакологической активности, а в некоторых случаях к образованию токсичных продуктов.

Скорость метаболизма лекарственного препарата зависит от возраста (у детей и пожилых людей она, как правило, снижена). Кроме того, она обусловлена генетическими факторами, связанными с полиморфизмом белков, участвующих в биотрансформации в организме. • Аспирин (ацетилсалициловая кислота) сначала гидролизуется и превращается в салициловую

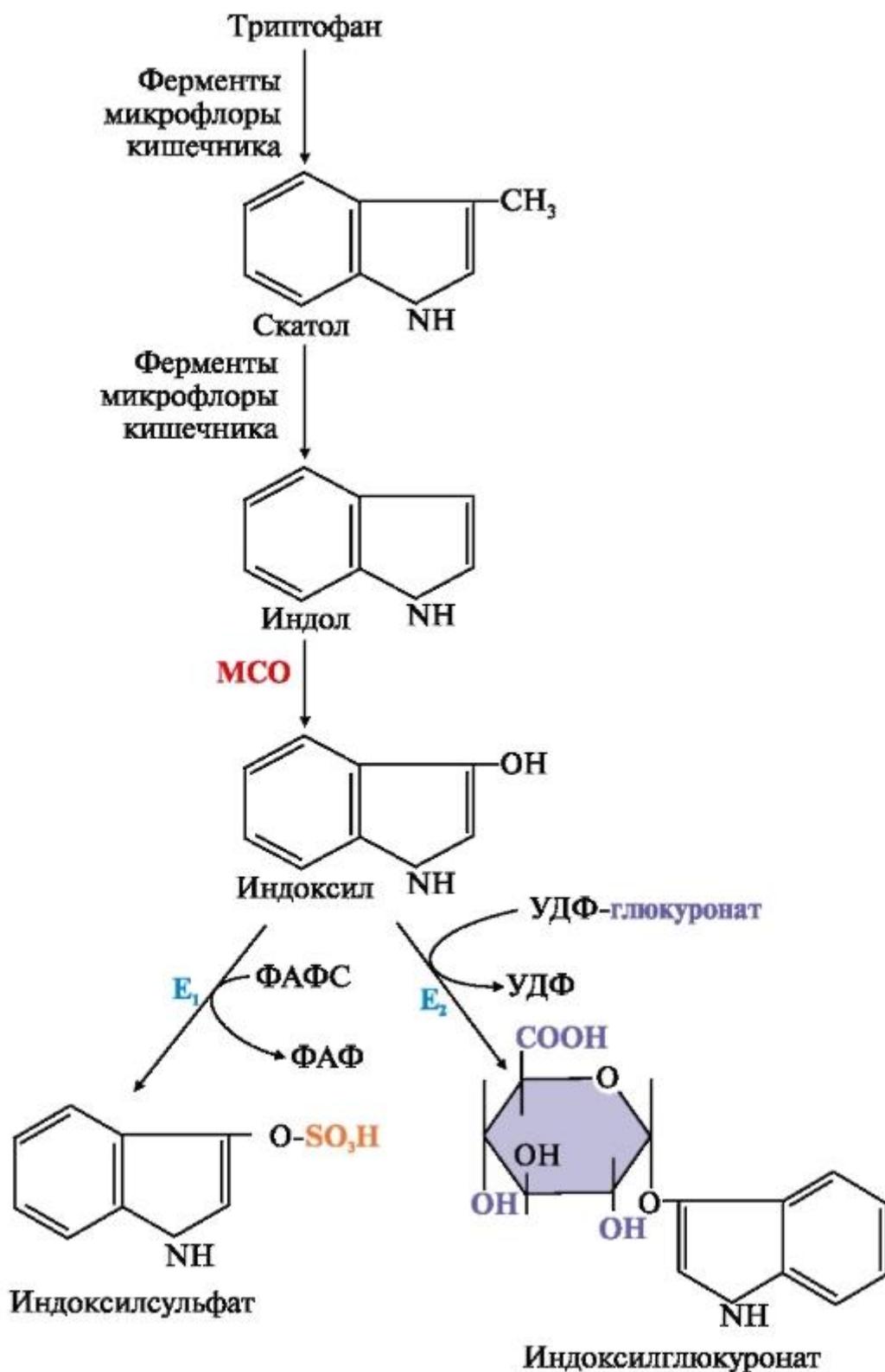


Рис. 13.4. Реакции инактивации индола и скатола

E₁ - сульфотрансфераза, E₂ - глюкуронилтрансфераза; MCO - микросомальная система окисления

кислоту, которая конъюгирует с УДФ-глюкуроновой кислотой (рис. 13.5).

- Сульфаниламиды (альбуцид, сульгин, сульфаметоксазол) - антибактериальные препараты, которые являются структурными аналогами компонента фолиевой кислоты - парааминобензойной кислоты. Они нарушают синтез фолиевой кислоты в бактериях, вызывая их гибель. Сульфаниламиды инактивируются в результате реакций ацетилирования (рис. 13.6).

- Парацетамол (ацетаминофен), входящий в состав многих обезболивающих препаратов (гриппостад, фервекс, пенталгин), может сразу конъюгировать с УДФ-глюкуроновой кислотой или ФАФС. Вместе с тем ацетаминофен в результате

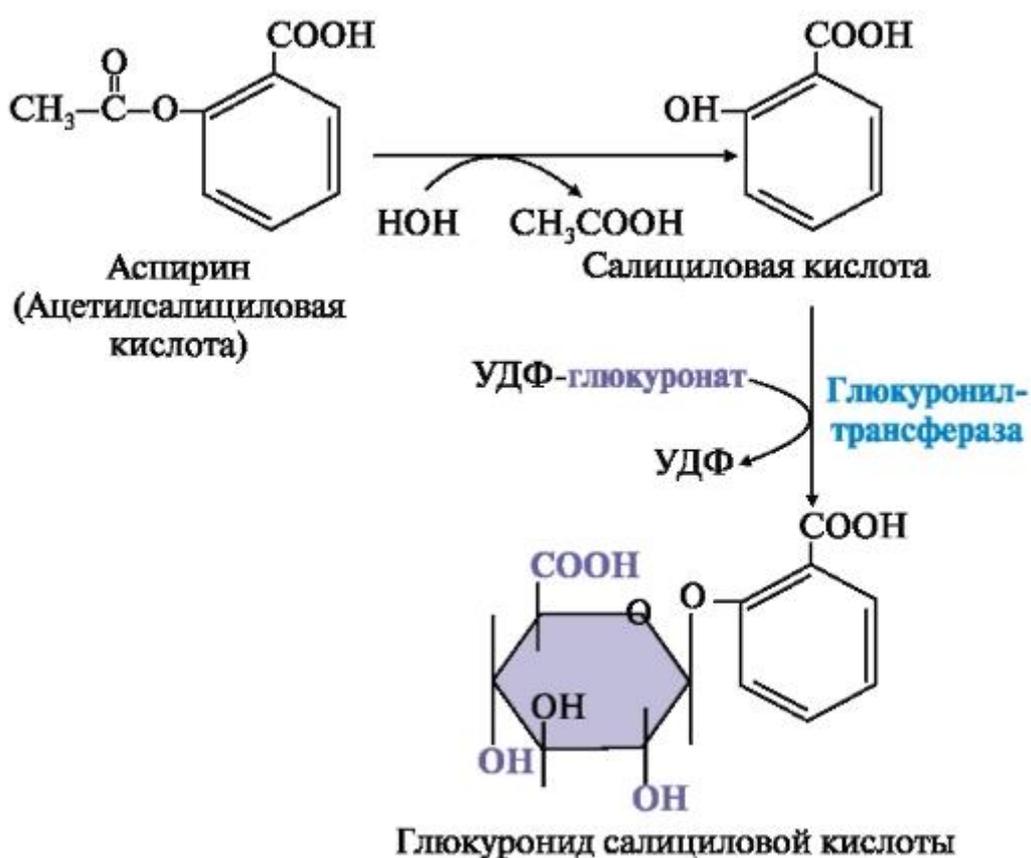


Рис. 13. 5. Рекции инактивации аспирина



Рис. 13.6. Инактивация сульфаниламидов

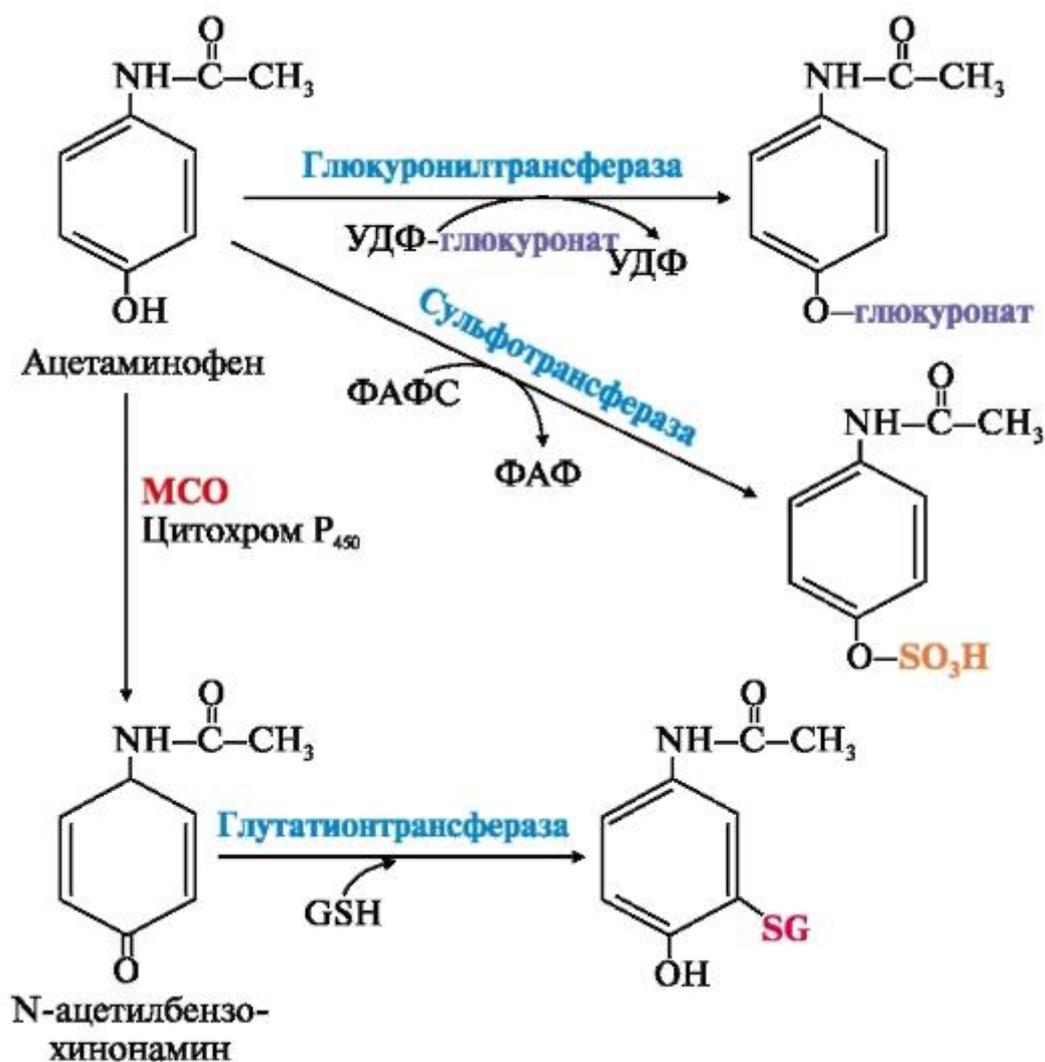


Рис. 13.7. Реакции биотрансформации ацетаминофена

микросомального окисления превращается в продукт (N-ацетилбензохинонамин), вызывающий образования свободных радикалов, которые ускоряют перекисное окисление липидов мембран гепатоцитов и вызывают их разрушение (рис. 13.7). • Лидокаин (ацетанилид), применяющийся в стоматологии для местного обезболивания, сначала гидролизуется с образованием уксусной кислоты и аминбензола. Последний гидроксилируется монооксигеназой микросом с образованием парааминофенола (рис. 13.8).

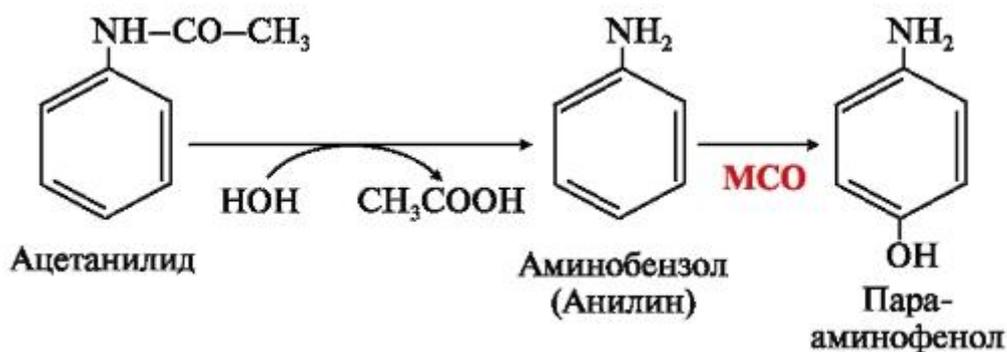


Рис. 13.8. Реакции инактивации ацетанилида

Важную роль в выведении из клеток гидрофобных ксенобиотиков играет транспортная АТФаза - Р-гликопротеин. Этот интегральный белок плазматических мембран гепатоцитов, эпителия почечных канальцев, энтероцитов имеет центры связывания гидрофобных ксенобиотиков и, используя энергию АТФ, выкачивает их из клетки. Синтез Р-гликопротеина индуцируют многие лекарства, и это является одной из причин снижения их эффективности при длительном лечении.

Продукты инактивации ксенобиотиков, образующиеся в печени и других тканях, транспортируются кровью в почки и выводятся из организма с мочой.

13.4. ОСНОВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФАГОЦИТОЗА

От микроорганизмов, поступающих в организм человека, клетки защищаются фагоцитозом. Основную роль в этом процессе играют нейтрофилы и моноциты. Они мигрируют из кровяного русла к очагу воспаления и путем эндоцитоза захватывают бактерии, образуя фагосому. Слияние фагосомы с лизосомами клетки приводит к образованию фаголизосомы, в которой лизосомные ферменты (ДНКазы, РНКазы, протеиназы, фосфатазы, эстеразы и др.) разрушают макромолекулы микроорганизмов.

Фагоцитоз сопровождается резким увеличением потребления кислорода, которое называют респираторным взрывом (рис. 13.9).

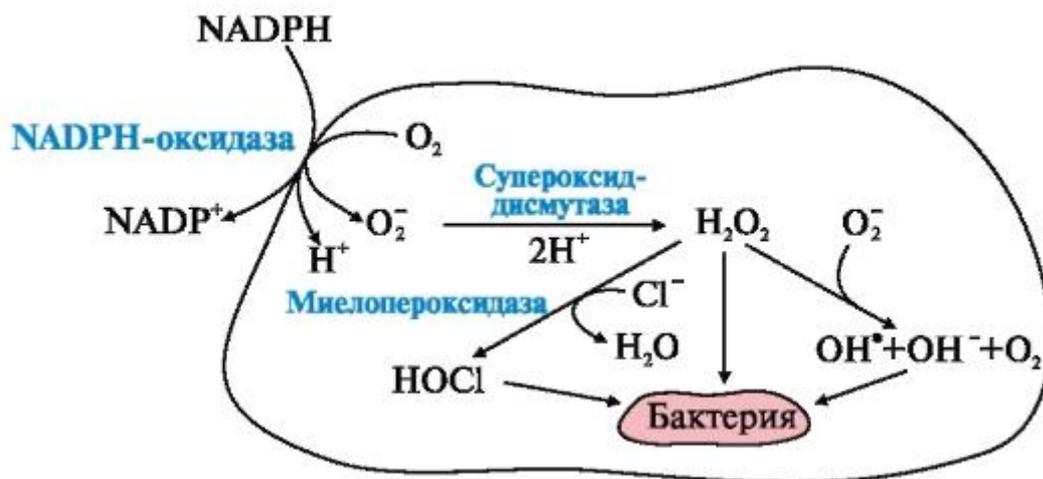


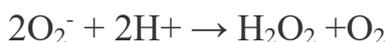
Рис. 13.9. Образование активных форм кислорода фагоцитирующими клетками

Активация NADPH-оксидазы вызывает превращение кислорода в супероксидный анион, который инициирует образование H_2O_2 , OH^\bullet , $HOCl$

Активирующийся при фагоцитозе ферментный комплекс мембран фагосом NADPH-оксидаза, используя кислород, катализирует образование супероксидного аниона:



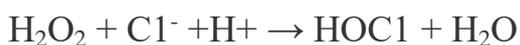
Супероксидный анион ферментом супероксиддисмутазой превращается в пероксид водорода:



Супероксидный радикал и пероксид водорода образуют гидроксил радикал и гидроксил-анион:



Под действием миелопероксидазы образуется гипохлорит:



Супероксидный анион, пероксид водорода, гидроксил-радикал, гипохлорит являются сильными окислителями, вызывают перекисное окисление липидов мембран и их повреждение. Поэтому они оказывают бактерицидное и лизирующее действие на микроорганизмы.

тестовые задания и задачи

1. Выберите правильные ответы. Первичными донорами электронов в микросо-

мальном окислении являются:

- А. Глутатион. Б. FADH_2 .
- В. $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Г. $\text{NADH} + \text{H}^+$.
- Д. FMNH_2 .

2. Выберите правильные ответы.

Цитохром P_{450} :

- А. Содержит гем.
- Б. Имеет центры связывания O_2 и гидрофобного субстрата.
- В. Восстанавливает кислород. Г. Присоединяет H_2O .
- Д. Является интегральным белком мембран эндоплазматического ретикулума.

3. Установите соответствие.

- А. Является FAD- и FMN-зависимым ферментом.
- Б. Присоединяет гидрофобный субстрат и O_2 .
- В. Участвует в реакциях конъюгации. Г. Содержит только кофермент FAD.
- Д. Использует энергию АТФ.

1. NADH -цитохром B_5 -редуктаза.

2. NADPH-цитохром P_{450} -редуктаза.

3. Цитохром P_{450} .

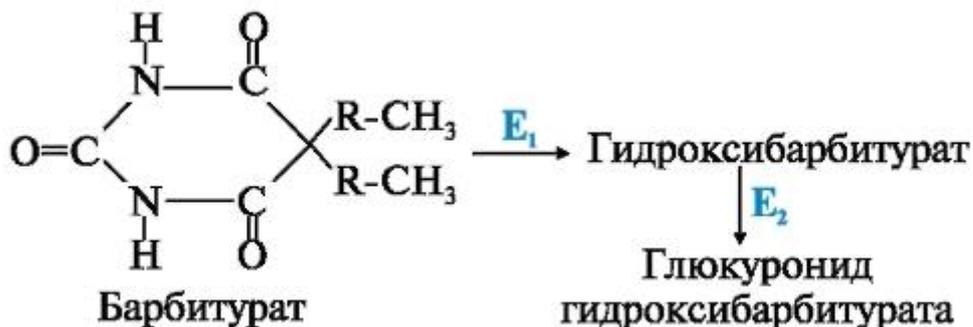
4. Дополните предложения недостающими словами. Ксенобиотики на первом этапе инактивации

могут ., ., ., . . Это приводит к повышению их . и способствует вступлению в реакции. с... ,

5. Барбитурат входит в состав многих лекарственных препаратов, например, валокордина, пенталгина, корвалола, как успокаивающее средство. Его инактивация в печени идет в два этапа. Сначала происходит

гидроксилирование микросомальной монооксигеназой по метильной группе, а затем гидроксибарбитурат конъюгирует с глюконовой кислотой.

Напишите реакции инактивации барбитурата:



6. В схеме микросомального окисления лекарства (рис. 13.10) допишите недостающие компоненты, обозначенные цифрами 1 - 2 - 3 - 4 -

7. Установите соответствие

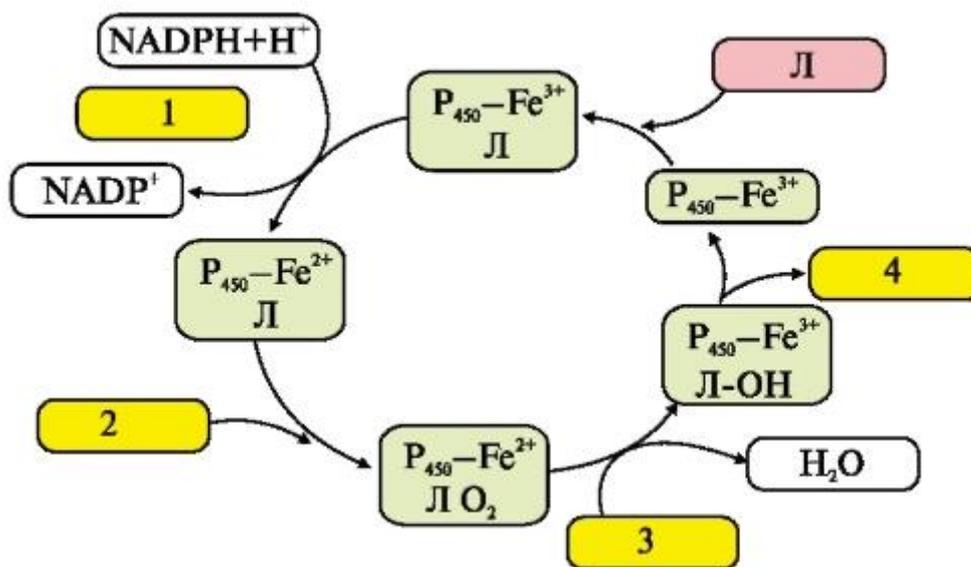


Рис. 13. 10. Схема микросомального окисления ксенобиотика

Л - лекарство

А. Инактивируется в результате ацетилирования.

Б. Подвергается гидролизу.

В. Конъюгирует с глутатионом.

Г. Биотрансформация приводит к образованию токсичных продуктов. Д.

Метилируется SAM.

1. Аспирин.

2. Сульфаниламид.

3. Ацетаминофен.

8. Выберите правильные ответы.

В фагоцитозе участвуют:

А. Миелопероксидаза.

Б. Супероксиддисмутаза.

В. NADPH-оксидаза.

Г. ДНКаза.

Д. Протеазы.

9. Выберите правильные ответы.

Респираторный взрыв:

А. Происходит в фагоцитирующих клетках. Б. Сопровождается увеличением потребления кислорода клетками.

В. Приводит к увеличению образования активных форм кислорода.

Г. Вызывает ускорение перекисного окисления липидов мембран. Д. Оказывает бактерицидное действие.

10. Установите порядок событий. При фагоцитозе:

А. Образуется фаголизосома.

Б. Эндоцитозом бактерии включаются в состав фагосом.

В. NADPH-оксидаза катализирует образование супероксидного аниона.

Г. Миелопероксидаза использует H_2O_2 и Cl^- для синтеза гипохлорита.

Д. Супероксиддисмутаза превращает супероксидный анион в H_2O_2 .

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. При аварии на химическом заводе в воду реки, из которой осуществляют водозабор, попал бензол и возник риск отравления населения. Объясните причины токсичности бензола и представьте пути его обезвреживания в организме. Для этого:

а) опишите механизм микросомального окисления бензола;

б) напишите реакции конъюгации продукта окисления бензола;

в) перечислите индукторы синтеза цитохро-

ма P450.

2. Для стерилизации корневых каналов при лечении пульпита в качестве антисептической повязки стоматологи используют препараты рокль и камфарофенол, содержащие фенол. Объясните механизмы бактерицидного действия фенола и его обезвреживания в организме. Для этого:

а) укажите возможные пути поступления фенола в организм человека;

б) напишите реакцию его инактивации.

3. Пациентке, страдающей циррозом печени и проходящей лечение по поводу периодонтита, стоматолог посоветовал при боли принимать пентальгин-Н. Однако, узнав из инструкции по медицинскому применению препарата, что в его состав входит парацетамол (ацетаминофен), который противопоказан при нарушениях функций печени и почек, женщина отказалась от приема пентальгина-Н. Правильно ли поступила пациентка? Аргументируйте ответ на вопрос. Для этого:

а) напишите реакции биотрансформации парацетамола;

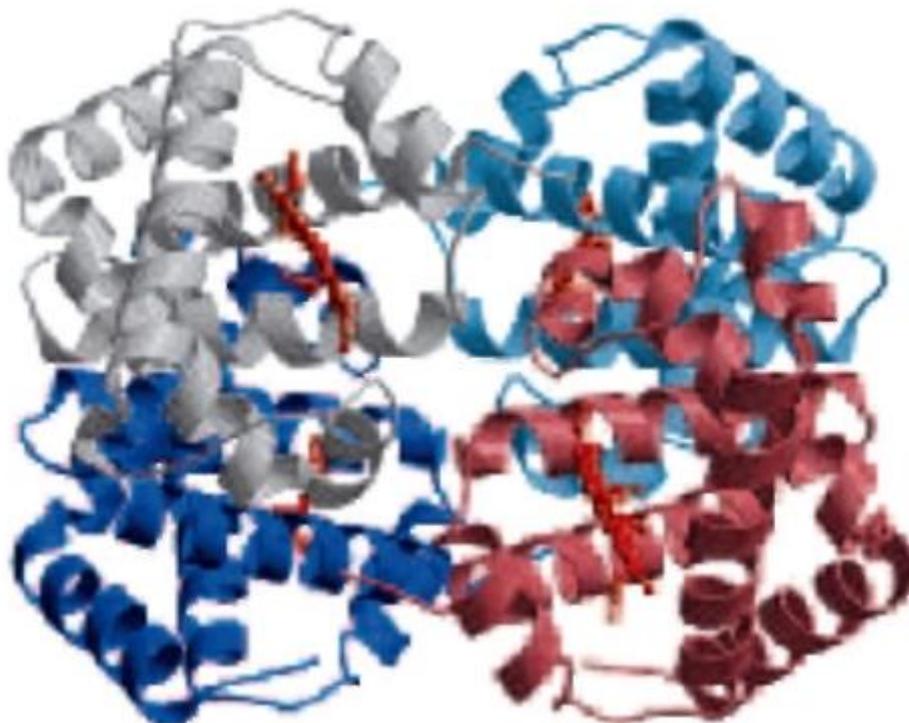
б) объясните причину побочного действия этого вещества.

4. Для инструментальной обработки корневых каналов стоматолог использовал лекарственный препарат паркон, являющийся 3% раствором гипохлорита натрия. Известно, что гипохлорная кислота образуется в фагоцитирующих лейкоцитах. Опишите механизм образования этого вещества при фагоцитозе и объясните его бактерицидное действие. Для этого:

а) перечислите основные этапы фагоцитоза;

б) напишите реакции, ведущие к образованию активных форм кислорода в этом процессе.

РАЗДЕЛ 14. МЕТАБОЛИЗМ ГЕМА И ОБМЕН ЖЕЛЕЗА



Основные темы раздела:

- 14.1. Биосинтез гема и его регуляция.
- 14.2. Обмен железа.
- 14.3. Нарушения метаболизма железа.
- 14.4. Катаболизм гема.
- 14.5. Нарушения катаболизма гема. Желтухи.

Гем является простетической группой гемоглобина, миоглобина, цитохромов, а также коферментом каталазы, пероксидазы, цитохромоксидазы. Гем синтезируется в большинстве клеток, за исключением эритроцитов, не имеющих белоксинтезирующей системы. Железо, необходимое для синтеза гема, поступает в организм с пищей или освобождается при распаде гема.

Катаболизм гема в ретикулоэндотелиальной системе приводит к образованию желчного пигмента билирубина. В результате последовательных реакций, проходящих в печени, кишечнике и почках,

билирубин превращается в конечные продукты распада гема стеркобилин и уробилин, которые выводятся из организма соответственно с калом и мочой.

14.1. БИОСИНТЕЗ ГЕМА И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

Гем состоит из порфирина, который построен из 4 пиррольных колец, связанных между собой метеновыми мостиками, и включенного в его структуру иона двухвалентного железа. Порфирины отличаются друг от друга заместителями в пиррольных кольцах. Гем гемоглобина содержит протопорфирин IX, имеющий 2 винильных, 4 метильных радикала и 2 остатка пропионовой кислоты (рис. 14.1).

Молекула гемоглобина состоит из 4 гемов и белка глобина, образованного 2 α - и 2 β -полипептидными цепями. Субстратами синтеза гема являются глицин, сукцинил-КоА и Fe^{2+} . Первая и три последние реакции синтеза идут в матриксе митохондрий, остальные - в цитоплазме

(рис.14.2).

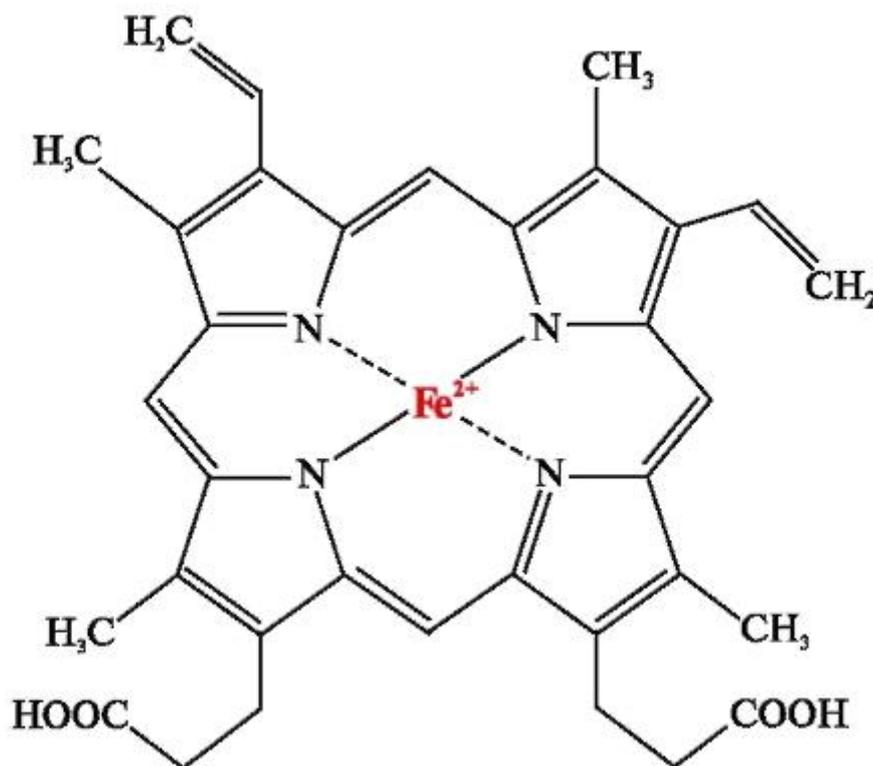


Рис.14.1. Строение гема гемоглобина

Гем гемоглобина представляет собой циклическую структуру - протопорфирин IX, соединенный 2 ковалентными и 2 координационными связями с Fe^{2+} . Протопорфирин IX состоит из 4 пиррольных колец,

связанных между собой метеновыми мостиками и имеющих 4 метильных, 2 винильных радикала и 2 остатка пропионовой кислоты

Регуляция биосинтеза гема. Две первые реакции синтеза гема катализируют аллостерические ферменты. Аллостерическим ингибитором 5-аминолевулинатсинтазы и 5-аминолевулинатдегидратазы является гем (рис. 14.3).

Кроме того, в ретикулоцитах скорость синтеза первого фермента зависит от концентрации железа. При высокой концентрации железа скорость трансляции 5-аминолевулинатсинтазы повышается, при низкой снижается. В связи с тем что 5-аминолевулинатсинтаза является пиридоксальзависимым ферментом, недостаток пиридоксальфосфата и лекарственные препараты, являющиеся его структурными аналогами, снижают ее активность.

Нарушения синтеза гема. Наследственные и приобретенные нарушения, сопровождающиеся повышением содержания промежуточных продуктов синтеза гема - порфириногенов, а также продуктов их окисления в тканях называют порфириями. Эти вещества поступают в кровь, а затем в мочу, окрашивая ее в красный цвет.

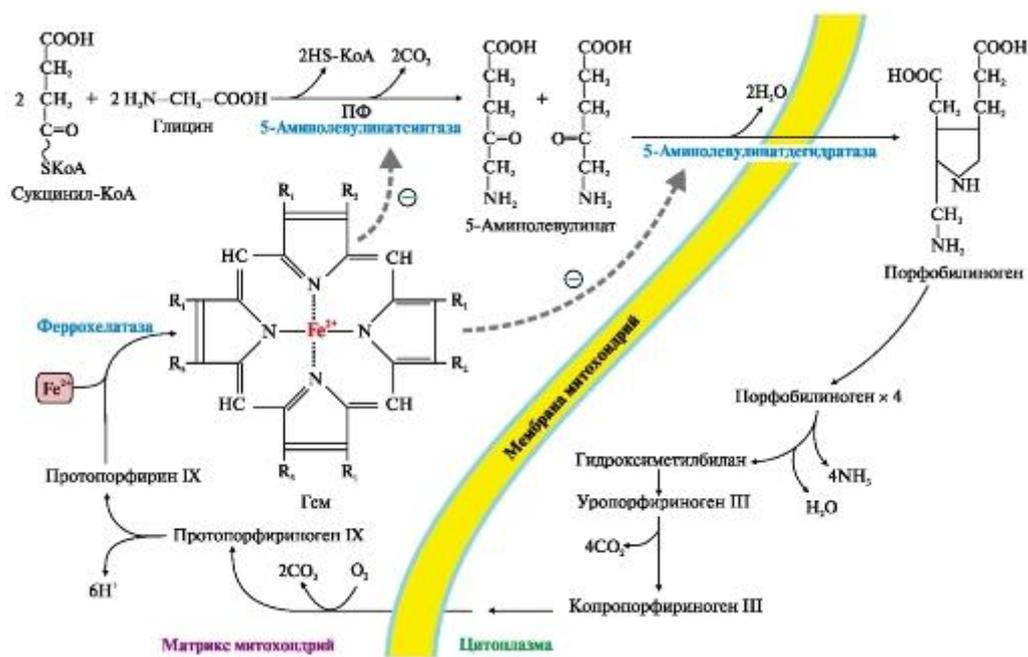


Рис. 14.2. Синтез гема

В матриксе митохондрий из глицина и сукцинил-КоА под действием пиридоксальзависимого фермента 5-аминолевулинатсинтазы образуется 5-аминолевулиновая кислота, которая поступает в цитоплазму. В цитоплазме при участии фермента 5-аминолевулинатдегидратазы происходит конденсация 2 молекул 5-аминолевулината с образованием

порфобилиногена. Далее из 4 молекул порфобилиногена последовательно образуются промежуточные метаболиты - порфириногены. Последний из образующихся в цитоплазме порфириногенов поступает в митохондрии и превращается в протопорфирин IX. Фермент феррохелатаза присоединяет Fe^{2+} к протопорфиру IX, и в результате этой реакции завершается образование гема. R_1-CH_3 ; $R_2-CH=CH_2$; $R_3-CH_2-CH_2-COOH$

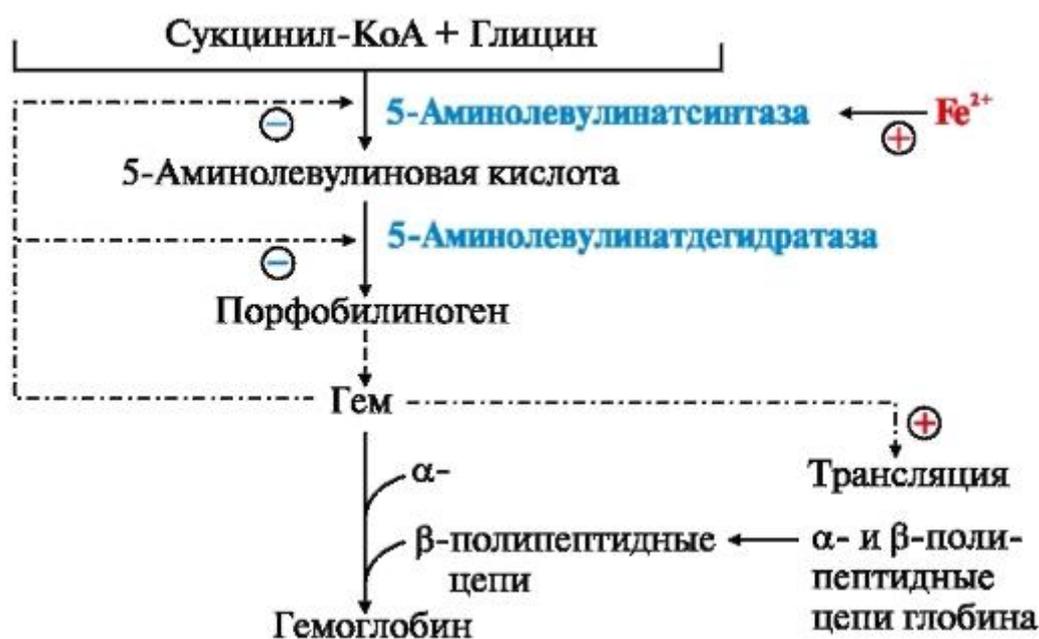


Рис. 14.3. Регуляция синтеза гема и гемоглобина

Гем по принципу отрицательной обратной связи ингибирует 5-аминолевулинатсинтазу и 5-аминолевулинатдегидратазу, а также является индуктором трансляции α - и β -цепей гемоглобина. Fe^{2+} индуцирует синтез 5-аминолевулинатсинтазы

При генетических дефектах ферментов, катализирующих превращения промежуточных метаболитов синтеза гема - порфириногенов, наблюдаются наследственные порфирии. Порфириногены являются нейротоксинами, ускоряют образование активных форм кислорода, которые стимулируют перекисное окисление липидов, вызывающее разрушение клеточных мембран. Вследствие этого порфирии сопровождаются нервно-психическими расстройствами и фотосенсибилизацией (повышение чувствительности кожи к солнечному облучению). Легкие формы наследственных порфирий могут протекать бессимптомно, но прием лекарств, являющихся индукторами синтеза 5-аминолевулинатсинтазы (сульфаниламиды, барбитураты, стероиды, диклофенак, вольтарен), может вызвать обострение болезни.

14.2. ОБМЕН ЖЕЛЕЗА

Железо входит в состав гемсодержащих белков, металлофлавопротеинов, железосерных белков, ферритина и трансферрина. В организме взрослого человека содержится 3-4 г железа. Оно поступает с пищей или высвобождается при распаде эритроцитов. Ионы железа легко вступают в окислительно-восстановительные реакции и образуют хелатные комплексы со многими соединениями, что может привести к изменению свойств и функций этих веществ. В связи с этим транспорт и депонирование железа в организме осуществляют особые белки: железо транспортирует по крови белок трансферрин, а депонирует в клетках ферритин (рис. 14.4). Связывание железа с апобелками сопровождается его окислением, а высвобождение из железосодержащих белков - его восстановлением.

В суточном количестве пищи содержится около 20 мг железа, а всасывается в кишечнике не более 2 мг.

Высвобождению Fe^{3+} из солей органических кислот пищи способствует кислая среда желудка (рН 1,5-2,0). В клетки слизистой оболочки кишечника всасывается только Fe^{2+} . Этот процесс облегчает аскорбиновая кислота (витамин С), так как она восстанавливает железо, содержащееся в пище.

ЖЕЛЕЗА

В клетки кишечника обычно поступает больше железа, чем требуется организму. Поступление избытка железа из энтероцитов в кровь предотвращает белок апоферритин. Этот белок синтезируется в энтероцитах, соединяется с железом, окисляет его и превращается в ферритин. Ферритин остается в клетках слизистой оболочки кишечника и выводится из организма со слущенным эпителием. Количество апоферритина зависит от содержания железа в организме. Когда потребность в железе невелика, скорость синтеза апоферритина повышается и, следовательно, меньше железа поступает из клеток кишечника в кровь. При недостатке железа скорость синтеза апоферритина снижается, поэтому поступление железа в кровь увеличивается.

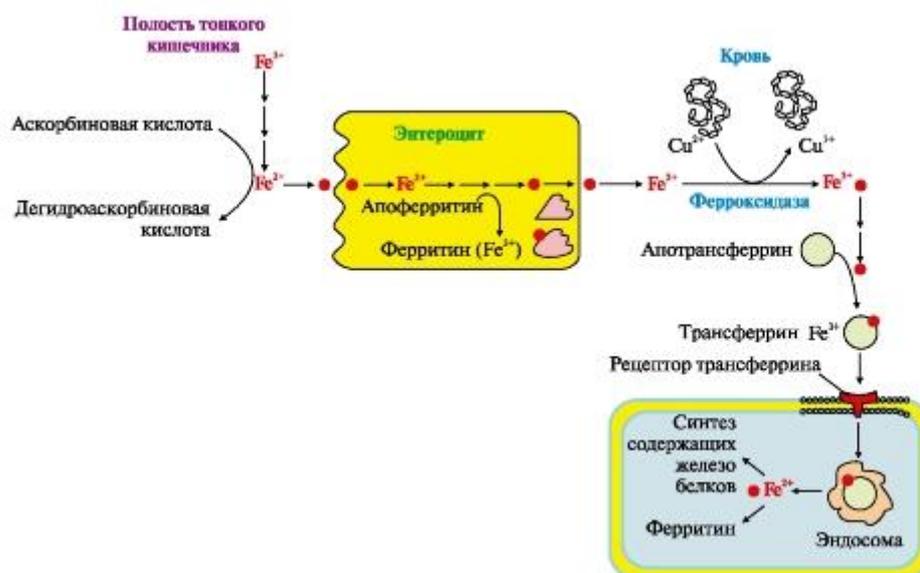


Рис.14.4. Поступление экзогенного железа в ткани

3+

В полости кишечника железо высвобождается из белков и солей органических кислот пищи. Усвоение Fe улучшает аскорбиновая кислота, восстанавливающая его до Fe^{2+} . Поступление Fe^{2+} из клеток слизистой оболочки кишечника в кровь сопровождается окислением железа медьсодержащим ферментом плазмы крови ферроксидазой. Избыток поступившего в клетки слизистой оболочки кишечника железа соединяется с белком апоферри-

3+

тином, который окисляет железо и превращается в ферритин. В крови Fe транспортирует белок плазмы крови трансферрин. В тканях Fe^{2+} используется для синтеза железосодержащих белков или депонируется в ферритине

В плазме крови Fe^{2+} сначала связывает и окисляет медьсодержащий фермент ферроксидоза (белок плазмы крови церулоплазмин), потом Fe^{3+} присоединяется к белку апотрансферрину, в результате чего образуется трансферрин. Трансферрин транспортирует железо по крови, взаимодействует со специфическими рецепторами клеток разных тканей и путем эндоцитоза поступает в клетку. В эндосоме протонный насос создает кислую среду, в которой железо восстанавливается и высвобождается из трансферрина. Комплекс рецептор-апотрансферрин возвращается в

плазматическую мембрану, апотрансферрин высвобождается от рецептора, выходит в кровь и опять соединяется с Fe^{3+} .

Железо в клетках включается в синтез гема, железосодержащих белков и депонируется в белке ферритине. Ферритин - олигомерный белок, состоящий из 24 протомеров. Они образуют полую сферу, внутри которой может содержаться более 3000 ионов Fe^{3+} в виде гидроксидфосфата. При поступлении железа в ферритин оно окисляется тяжелыми протомерами этого белка. Ионы железа могут входить и выходить из полости, образованной протомерами, через каналы белковой части молекулы. Из организма железо выводится со слущенным эпителием, калом и мочой.

14.3. НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЖЕЛЕЗА

Изменения метаболизма железа в организме связаны с нарушениями всасывания, увеличении потребности или потерь железа в организме.

Железодефицитная анемия развивается при недостатке железа в организме. Заболевание может возникнуть при частых кровотечениях, анацидном гастрите, беременности, родах, язвах и опухолях желудочно-кишечного тракта, снижении всасывания железа в кишечнике. При этой форме анемии уменьшается размер эритроцитов, снижаются интенсивность их окраски, содержание в них гемоглобина, насыщение железом трансферрина, содержание ферритина в клетках. Причина этих изменений - уменьшение скорости синтеза гема, апоферритина и гемоглобина из-за дефицита железа в организме. Больных лечат препаратами, содержащими железо.

Гемохроматоз возникает при избытке железа в организме вследствие повышения его всасывания в кишечнике. При этом заболевании железо откладывается в белковой части ферритина, который в результате этого превращается в гемосидерин. Накопление гранул гемосидерина в клетках печени, селезенки и поджелудочной железы повреждает эти клетки и вызывает гемохроматоз. При тяжелых формах болезни содержание железа в организме больных может достигать 100 г. Накопление железа в поджелудочной железе приводит к сахарному диабету, в печени - к циррозу, в кардиоцитах - к сердечной недостаточности. Больных лечат кровопусканиями и препаратами, связывающими железо.

14.4. КАТАБОЛИЗМ ГЕМА

Время жизни эритроцитов составляет около 120 дней, после чего они захватываются клетками ретикулоэндотелиальной системы селезенки, костного мозга и печени, где подвергаются катаболизму. Гемоглобин сначала распадается на гем и глобин. Глобин гидролизует ферментами лизосом, а гем освобождается от железа и в результате ряда последовательных реакций превращается в конечные продукты распада, которые выводятся из организма с калом и мочой. Железо гема используется повторно для синтеза железосодержащих белков. Катаболизм гема - это последовательный процесс, в котором участвуют разные ткани (рис. 14.5).

- Превращение гема в желчный пигмент биливердин. Сначала в ретикулоэндотелиальных клетках печени, костного мозга и селезенки гемоглобин под действием $\text{NADPH}+\text{H}^+$ -зависимой гемоксигеназы теряет белок глобин и Fe^{2+} и превращается в желчный пигмент зеленого цвета биливердин. При этом углерод одного метенового мостика, соединяющего пирролы протопорфирина IX, окисляется O_2 и превращается в CO .
- Восстановление биливердина в билирубин. Биливердин восстанавливается $\text{NADPH}+\text{H}^+$ -зависимой биливердинредуктазой в желчный пигмент красного цвета билирубин. Основная часть билирубина образуется в клетках селезенки и костного мозга и оттуда поступает в кровь.
- Транспорт непрямого (неконъюгированного) билирубина кровью в печень. Билирубин является гидрофобным веществом, поэтому в крови он соединяется с белком альбумином, который транспортирует его в печень. Билирубин, связанный с альбумином, называют непрямым (неконъюгированным) билирубином, так как он не дает положительную качественную реакцию с diazo-реагентом, этому препятствует присутствие альбумина. Непрямой билирубин плохо растворим в воде, токсичен и не фильтруется в мочу из-за того, что он связан с альбумином.
- Конъюгация билирубина с УДФ-глюкуроновой кислотой в печени - образование прямого билирубина. С помощью специфических белков-переносчиков билирубин из крови поступает в клетки печени. В эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов билирубин связывается с двумя остатками глюкуроновой кислоты с образованием диглюкуронид билирубина. Донором глюкуроновой кислоты в реакции, которую катализирует глюкуронилтрансфераза I и II является УДФ-

глюкуроновая кислота. Диглюкуронид билирубин - это прямой (конъюгированный) билирубин, так как он дает положительную качественную реакцию на присутствие билирубина: при его взаимодействии с диазореагентом развивается розовое окрашивание. Прямой билирубин хорошо растворим в воде, нетоксичен и по механизму активного транспорта поступает в желчные протоки. В крови в норме содержится 1,7-17 мкмоль/л (0,3-1,0 мг/дл) билирубина, причем на долю непрямого билирубина приходится 75% общего количества билирубина в крови, а 25% составляет прямой билирубин.

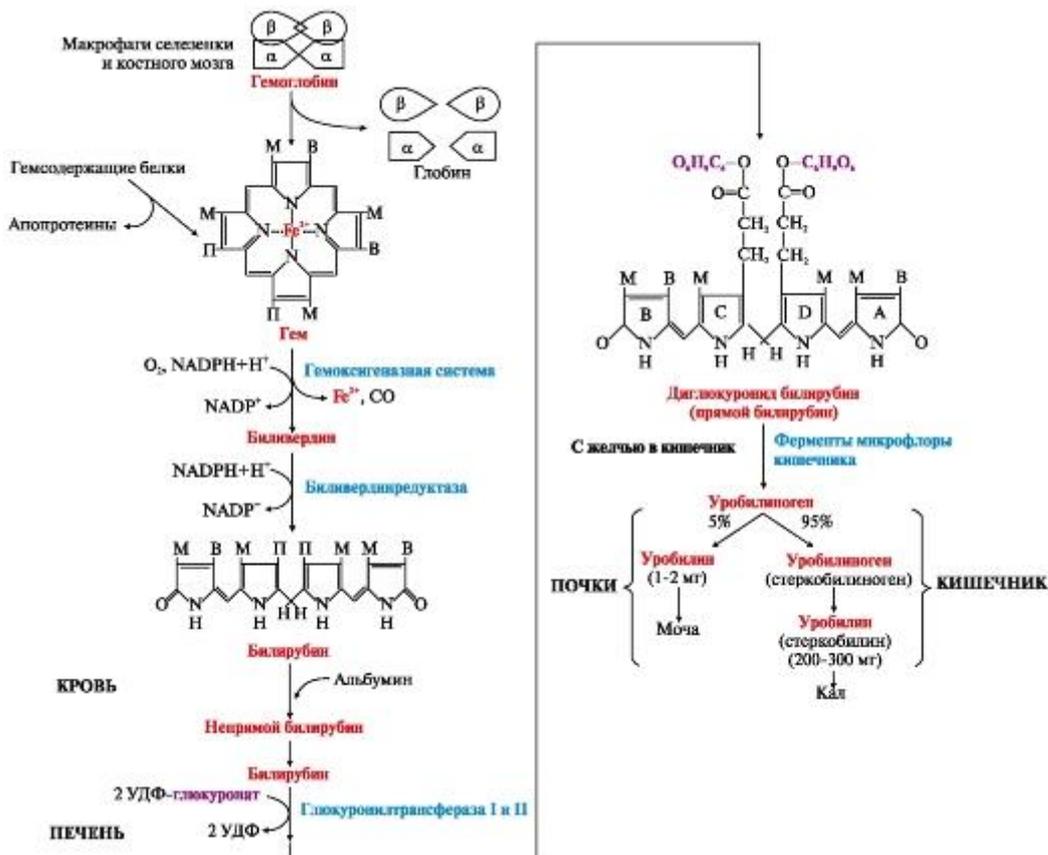


Рис. 14.5. Катаболизм гема

Буквами обозначены заместители в пиррольных кольцах: М - метил, В - винил, П - остатки пропионовой кислоты

- Образование конечного продукта катаболизма гема - уробилиногена. В кишечнике под действием микрофлоры прямой билирубин освобождается от глюкуроновой кислоты и превращается в уробилиноген, небольшая доля которого всасывается в клетки кишечника, поступает в воротную вену и печень. Часть уробилиногена в гепатоцитах превращается в дипирролы, которые поступают с желчью в кишечник и выводятся с калом. Другая часть возвращается в кровь, транспортируется в почки и выводится с мочой.

- Окисление уробилиногена - его превращение в пигменты кала и мочи. Бесцветный уробилиноген, окисляясь кислородом воздуха, превращается в пигменты мочи и кала - уробилин и стеркобилин соответственно. В норме за сутки с калом выводится 200-300 мг стеркобилина, с мочой - 1-2 мг уробилина.

14.5. НАРУШЕНИЯ КАТАБОЛИЗМА ГЕМА. ЖЕЛТУХИ

Некоторые заболевания сопровождаются повышением в крови концентрации билирубина - наблюдается гипербилирубинемия. При концентрации общего билирубина в крови выше 50 мкмоль/л (более 2-3 мг/мл) он поступает из крови в ткани. В этих случаях кожа, склеры глаз, слизистые оболочки желтеют, такие симптомы называют желтухой. Появление прямого билирубина в моче называют билирубинурией, моча при этом становится коричневой.

Для дифференциальной диагностики желтух в крови определяют концентрацию общего, прямого и непрямого билирубина, а в моче и кале - содержание уробилина и стеркобилина соответственно. В зависимости от механизма возникновения различают несколько типов желтухи.

Гемолитическая (надпеченочная) желтуха развивается при ускоренном гемолизе эритроцитов. Причинами гемолиза эритроцитов могут быть генетические дефекты глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы или пируваткиназы, отравление лекарствами, являющимися сильными окислителями, переливание несовместимых групп крови. При этом увеличивается поступление билирубина в кровь по сравнению с нормой. Вследствие того что печень не успевает инактивировать повышенное по сравнению с нормой количество билирубина,

в крови значительно повышается концентрация непрямого билирубина. Непрямой билирубин токсичен, поскольку он является гидрофобным веществом и легко проникает в клетки, нарушая их метаболизм. Уровень непрямого билирубина в крови при гемолитической желтухе повышается в 2-3 раза по сравнению с нормой, так как потенциальная способность гепатоцитов конъюгировать билирубин ограничена. В моче и кале повышено содержание уробилина и стеркобилина соответственно.

Механическая (подпеченочная) желтуха является следствием нарушения секреции желчи, вызванного закупоркой желчных протоков желчными камнями, опухолью или послеоперационными рубцами. В этом случае

прямой билирубин не может поступать в кишечник, а идет в кровь. В крови повышается концентрация непрямого и прямого билирубина, последний фильтруется в мочу, которая приобретает коричневый цвет. В моче и кале отсутствуют уробилин и стеркобилин, поэтому кал больных ахолический (бесцветный).

Печеночно-клеточная (печеночная) желтуха возникает при разных формах гепатита. У больных снижается способность гепатоцитов захватывать билирубин из крови и экскретировать его в кишечник. В крови повышается концентрация прямого и непрямого билирубина, а в моче и кале снижается содержание конечных продуктов распада гема. Поскольку в мочу поступает прямой билирубин, то она становится коричневой, а из-за снижения содержания стеркобилина кал светлый.

Желтуха новорожденных - это физиологическая желтуха, обусловленная, с одной стороны, большим по сравнению со взрослым организмом количеством эритроцитов в расчете на массу тела, а с другой - запаздыванием включения гена глюкуронилтрансферазы, недостаточной способностью гепатоцитов улавливать билирубин из крови и экскретировать прямой билирубин в желчь. Неконъюгированный билирубин может проходить через гематоэнцефалический барьер и вызывать повреждения клеток мозга - билирубиновую энцефалопатию. Для ускорения индукции синтеза глюкуронилтрансферазы новорожденным назначают барбитураты, а в тяжелых случаях переливают кровь. Кроме того для снижения уровня неконъюгированного билирубина используют фототерапию

новорожденных сине-зеленым светом с длиной волны 620 нм. В результате такого облучения билирубин окисляется и превращается в гидрофильные фотоизомеры, которые поступают в почки и выводятся из организма с мочой.

Наследственная желтуха обусловлена генетическими дефектами белков, участвующих в метаболизме билирубина в печени. Например, синдром Жильбера связан с генетическими дефектами белков, захватывающих билирубин из крови, синдром Дубина-Джонсона - с дефектами белков, участвующих в экскреции прямого билирубина в кишечник, а при синдроме Криглера-Найяра нарушена структура глюкуронилтрансферазы.

тестовые задания и задачи

1. Выберите правильные ответы.

В синтезе гема:

- А. Субстратами являются сукцинил-КоА и глицин.
- Б. Первая реакция синтеза гема идет в матриксе митохондрий.
- В. Две молекулы 5-аминолевулиновой кислоты конденсируются с образованием порфобилиногена.
- Г. Феррохелатаза присоединяет железо к порфобилиногену.
- Д. 5-Аминолевулинатсинтаза является аллостерическим регуляторным ферментом синтеза гема.

2. Выберите правильные ответы.

Порфирии:

- А. Вызывают нервно-психические расстройства.
- Б. Сопровождаются фотосенсибилизацией.
- В. Могут проявиться при лечении лекарствами - индукторами синтеза 5-амино- левулинатсинтазы.
- Г. Возникают при авитаминозе Д. Развиваются при генетических дефектах ферментов синтеза гема.

3. Установите порядок событий.

В процессе ассимиляции экзогенного железа:

- А. В полости кишечника железо высвобождается из солей органических кислот пищи.
- Б. Из клеток кишечника железо поступает в кровь.
- В. В клетках слизистой оболочки кишечника железо включается в состав ферритина.
- Г. Аскорбиновая кислота восстанавливает железо.
- Д. Трансферрин транспортирует железо с током крови.

4. Установите соответствие.

- А. Содержит ион меди.
- Б. Взаимодействует с рецепторами клеточных мембран.
- В. Депонирует железо в клетках.
- Г. Является гемсодержащим белком. Д. Локализован в эритроцитах.

1. Трансферрин.
2. Ферритин.
3. Ферроксидаза.
5. Выберите правильные ответы.

Причинами железодефицитной анемии могут быть:

- А. Повторяющиеся кровотечения. Б. Беременность.
- В. Повышение свертываемости крови.
- Г. Операции на органах желудочно-кишечного тракта. Д. Частые роды.
6. Дополните недостающие слова.

Избыток железа аккумулируется в клетках в составе белка... и это приводит к... . Накопление гранул... в печени сопровождается..., в поджелудочной железе - в миокарде -

7. Выполните «цепное» задание.

А) гемоксигеназная система клеток эндоплазматического ретикулума превращает гемоглобин в:

- А. Билирубин. Б. Биливердин.
- В. Вердоглобин.
- Г. Прямой билирубин. Д. Уробилин

б) восстановление этого метаболита NADPH-зависимой редуктазой приводит к образованию:

- А. Гемосидерина.
- Б. Прямого билирубина.
- В. Протопорфирина. Г. Билирубина.
- Д. Стеркобилиногена.

в) выбранный вами промежуточный продукт распада гема поступает в кровь и:

- А. Окисляется.
- Б. Восстанавливается.
- В. Конъюгирует с УДФ-глюкуронатом. Г. Соединяется с альбумином.

Д. Взаимодействует с трансферрином.

г) в результате этого в крови появляется:

А. Прямой билирубин. Б. Непрямой билирубин.

В. Стеркобилиноген. Г. Уробилиноген.

Д. Пирролы.

д) это вещество поступает печень и:

А. Восстанавливается системой микросомального окисления эндоплазматического ретикулума.

Б. Гидролизуется микросомальными гидролазами.

В. Конъюгирует с УДФ-глюкуронатом. Г. Вступает в реакции ОПК.

Д. Превращается в желчные кислоты.

е) эту реакцию катализирует:

А. Феррохелатаза.

Б. Биливердинредуктаза.

В. Глюкуронилтрансфераза. Г. Гемоксигеназа.

Д. Глутатионредуктаза.

ж) выбранный фермент катализирует реакцию, в которой образуется:

А. Уробилин.

Б. Стеркобилин.

В. Прямой билирубин.

Г. Непрямой билирубин. Д. Протопорфирин IX.

з) это вещество (выберите правильные ответы):

А. Является нетоксичным.

Б. Поступает в тонкую кишку.

В. Представляет собой конъюгат с глюкуроновой кислотой.

Г. Выводится из организма с мочой и калом.

Д. Хорошо растворяется в воде. 8. Установите соответствие

А. Связан с альбуминами крови Б. Содержит Fe^{+3}

В. Конъюгирован с глюкуроновой кислотой Г. Выводится из организма с мочой

Д. Образуется в клетках ретикулоэндотелиальной системы.

1. Прямой билирубин

2. Непрямой билирубин

3. Уробилин

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Авитаминоз В6 сопровождается уменьшением размера эритроцитов, снижением интенсивности их окраски и приводит к гипоксии тканей.

Объясните роль витамина В6 в метаболизме эритроцитов. Для этого напишите:

а) схемы синтеза гема и его регуляции;

б) реакцию синтеза гема, в которой участвует кофермент - производное витамина

2. Врач обратил внимание на то, что у больного, длительно принимавшего витамин С и нестероидный противовоспалительный препарат вольтарен, моча приобрела красный цвет, а пребывание на солнце вызвало воспаление кожи. Какова причина этих осложнений? Какое лекарство следует отменить у этого больного? Для ответа на вопросы:

а) назовите заболевание, симптомы которого проявились как побочное действие лекарства;

б) укажите вещества, накопление которых в тканях больного вызвало фотосенсибилизацию;

в) перечислите известные вам причины нарушений синтеза гема.

3. Врач рекомендовал больному, страдающему железодефицитной анемией, лекарственные препараты, содержащие железо: сироп алоэ с железом или ферроплекс. При этом он предупредил пациента о том, что ферроплекс надо глотать не раскусывая, а сироп алоэ пить через соломинку. Обоснуйте рекомендации врача. Для этого:

а) опишите этапы усвоения железа в организме;

б) перечислите причины и симптомы железодефицитной анемии;

в) объясните, почему контакт железа с эмалью зубов может привести к ее разрушению.

4. Двум новорожденным, у которых была обнаружена желтуха, врач назначил фенobarбитал. У одного ребенка через несколько дней состояние улучшилось и симптомы желтухи исчезли. Второму ребенку такое лечение не помогло. Объясните результаты лечения детей. Для этого:

а) опишите механизмы возникновения физиологической желтухи у новорожденных;

б) укажите, как изменяется концентрация билирубина в крови, стеркобилина и уробилина в кале и моче больных детей;

в) перечислите возможные причины желтухи у второго новорожденного.

5. Укажите этапы катаболизма гема, обозначенные цифрами на рис. 14.6.

6. При переливании несовместимой по группе или резус-фактору крови может развиваться гемотрансфузионный шок - тяжелое осложнение, угрожающее здоровью и даже жизни пациента. Одним из проявлений этого состояния является пожелтение слизистых оболочек и склер глаз. Назовите этот симптом и объясните механизм его возникновения при гемотрансфузионном шоке. Для этого:

а) поясните, что может происходить с эритроцитами при переливании несовместимой донорской крови;

б) укажите концентрация какого вещества повыситься при этом в крови пациента и напишите схему его образования и катаболизма до конечных продуктов.

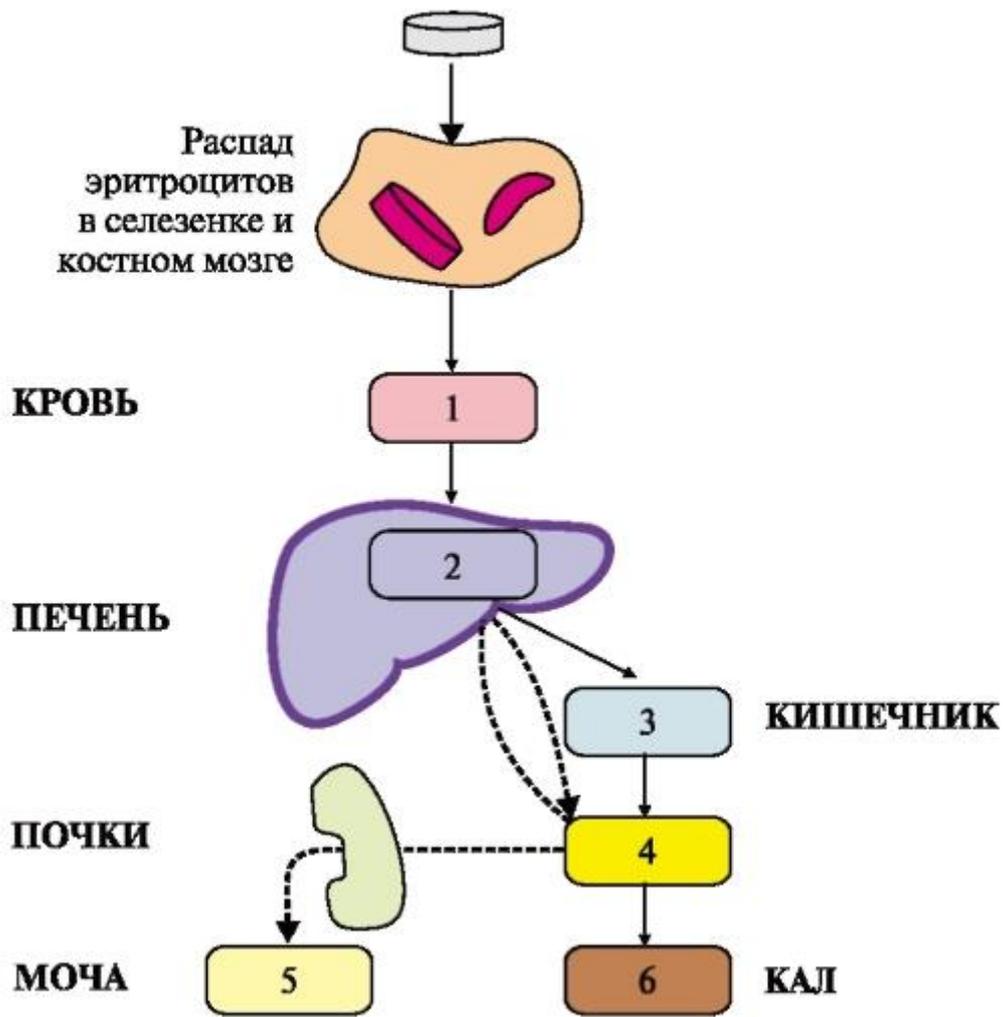
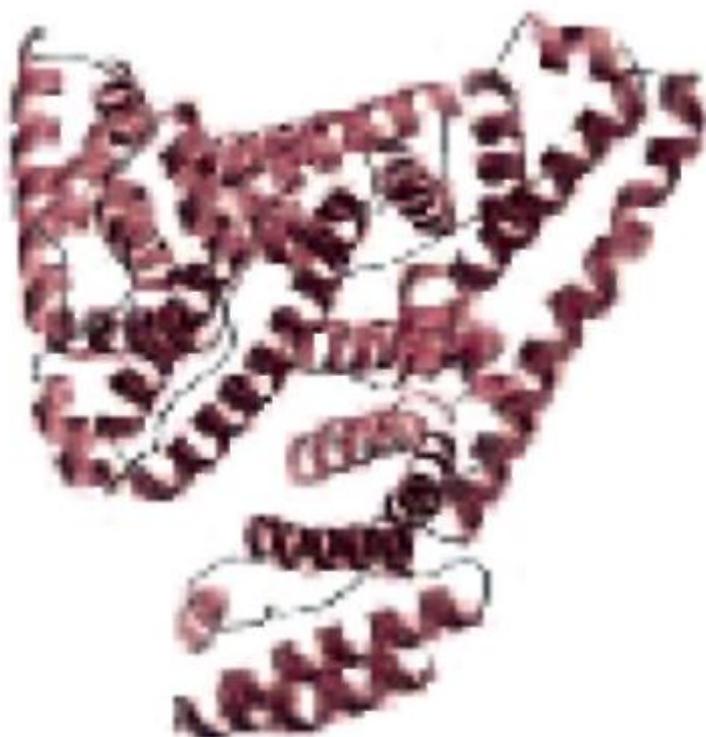


Рис. 14.6 . Схема метаболизма билирубина в разных тканях

РАЗДЕЛ 15. БИОХИМИЯ КРОВИ



Основные темы раздела:

15.1. Метаболизм эритроцитов.

15.2. Основные биохимические механизмы гемостаза.

15.3. Белки плазмы крови.

Кровь - это внутренняя жидкая среда организма, объем которой у взрослого человека составляет 5 - 6 л. Жидкая часть крови - плазма - содержит около 7% белков и низкомолекулярные вещества. Форменные элементы - это клетки крови: эритроциты, тромбоциты, лейкоциты, выполняющие разные функции. Основные функции крови обусловлены тем, что она циркулирует по системе кровеносных сосудов и транспортирует метаболиты между разными органами.

Дыхательная функция крови заключается в переносе кислорода в составе гемоглобина эритроцитов из легких в ткани и углекислого газа из тканей в легкие.

Трофическая функция - это транспорт продуктов переваривания пищи из кишечника в ткани.

Выделительная функция состоит в том, кровь уносит продукты обмена из тканей в выделительные органы.

Кровь выполняет регуляторную функцию, так как доставляет сигнальные молекулы к органаммишениям.

Защитная функция крови включает две стороны. Во-первых, в ней содержатся клеточные (лейкоциты) и гуморальные (антитела) компоненты иммунного ответа. Во-вторых, она обладает способностью свертываться и образовывать тромбы, препятствующие потере крови организмом.

Кровь сохраняет кислотно-щелочное равновесие и водный баланс организма, а также поддерживает температуру тела, осуществляя теплообмен между тканями.

15.1 МЕТАБОЛИЗМ ЭРИТРОЦИТОВ

Эритроциты - высокоспециализированные клетки, 95% сухого остатка которых составляет гемоглобин. Этот гемсодержащий белок переносит кислород от легких к тканям и образующийся в тканях углекислый газ к альвеолам легких. Эритроциты не имеют ядра, митохондрий и других органелл, поэтому не способны к самовоспроизведению и репарации повреждений. Они циркулируют в крови около 120 дней, а затем разрушаются в печени, селезенке и кост-ном мозге. Эритропоэз стимулирует гликопротеин эритропоэтин, который синтезируется в почках.

Двояковогнутая форма эритроцитов, имеющая большую площадь поверхности по сравнению с клетками сферической формы такого же размера, способствует увеличению газообмена между клеткой и внеклеточной средой. Кроме того, такая форма, а также особенности строения цитоскелета и плазматической мембраны обеспечивают высокую пластичность при их прохождении через мелкие капилляры.

Особенности метаболизма эритроцитов обусловлены отсутствием в них митохондрий и других органелл и спонтанным (неферментативным) окислением железа гемоглобина кислородом с образованием метгемоглобина [метHb(Fe³⁺)] и O₂⁻ (супероксидного иона).

В связи с тем что в эритроцитах нет митохондрий, единственный возможный источник энергии в этих клетках - анаэробное окисление глюкозы. Она поступает в клетки из крови с помощью ГЛЮТ-1. Анаэробный гликолиз использует около 90% содержащейся в эритроцитах глюкозы, а 10% приходится на пентозофосфатный путь. АТФ, образующийся при

катаболизме глюкозы, необходим для работы транспортных АТФаз, а также для гексокиназной и фосфофруктокиназной реакций гликолиза. В эритроцитах $\text{NADH} + \text{H}^+$ нужен не только для превращения пирувата в лактат в лактатдегидрогеназной реакции, но и для восстановления метгемоглобина в гемоглобин метгемоглобинредуктазой.

Только в эритроцитах присутствует фермент бисфосфоглицератмутаза, превращающий 1,3-бисфосфоглицерат в 2,3-бисфосфоглицерат, который регулирует сродство гемоглобина к O_2 :



Окислительный этап пентозофосфатного пути превращения глюкозы обеспечивает образование $\text{NADPH} + \text{H}^+$, участвующего в восстановлении глутатиона. Глутатион является донором водорода в системе обезвреживания активных форм кислорода.

В эритроцитах содержится много кислорода, а он потенциально токсичен, так как, присоединяя один электрон, образует супероксидный ион. Основным источником электронов для восстановления O_2 в эритроцитах является неферментативное окисление железа гемоглобина (HbFe^{2+}), превращающегося в метHb(Fe^{3+}) (рис.15.1).

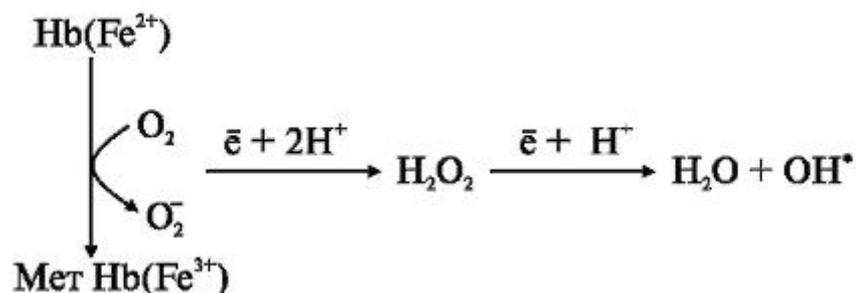


Рис. 15.1. Образование активных форм кислорода в эритроците

O_2^- - супероксидный анион-радикал; OH^* - гидроксилрадикал. Свободные радикалы вызывают образование гидроперекисей в остатках ненасыщенных жирных кислот, входящих в фосфолипиды клеточных мембран. Это приводит к их разрушению и гемолизу эритроцитов

За сутки до 3% гемоглобина может окисляться в метгемоглобин, который не выполняет дыхательную функцию, так как не связывает O_2 . Железо (Fe^{3+}) метгемоглобина восстанавливается NADH-зависимой метгемоглобинредуктазой.

Эритроциты содержат систему ферментов, обезвреживающих активные формы кислорода

(рис. 15.2).

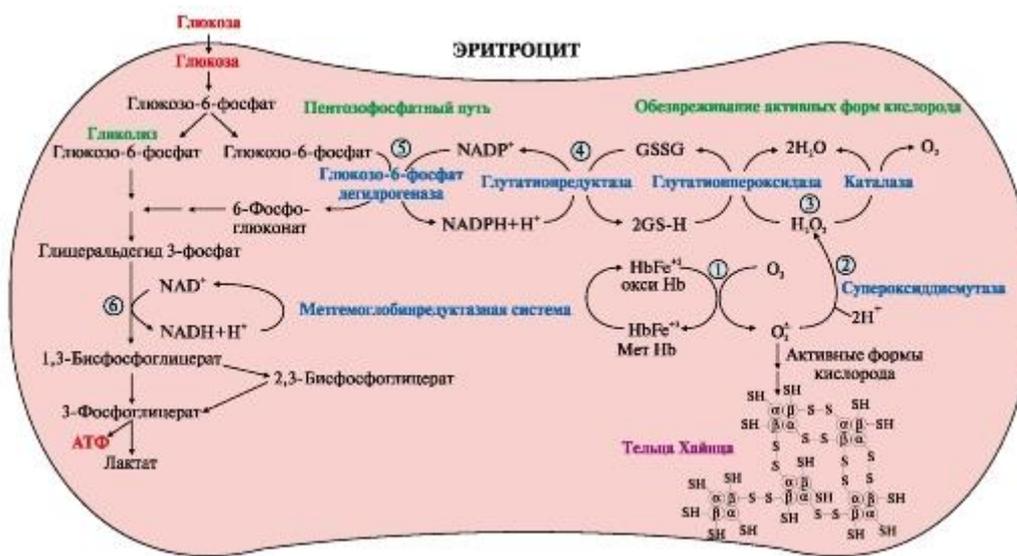


Рис. 15.2. Образование и обезвреживание активных форм кислорода в эритроците

1 - спонтанное окисление Fe^{2+} в геме гемоглобина - источник супероксидного аниона в эритроцитах; 2 - супероксиддисмутаза превращает супероксидный анион в пероксид водорода и O_2 : $O_2^- + O_2^- + 2H^+ - H_2O_2 + O_2$; 3 - пероксид водорода расщепляется каталазой: $2H_2O_2 - 2H_2O + O_2$ или глутатиопероксидазой: $2GSH + H_2O_2 - GSSG + 2H_2O$; 4 - глутатионредуктаза восстанавливает окисленный глутатион: $GSSG + NADPH+H^+ - 2GSH + NADP^+$; 5 - NADPH, необходимый для восстановления глутатиона, образуется на окислительном этапе пентозофосфатного пути превращения глюкозы; 6 - NADH, восстанавливающий железо метгемоглобина метгемоглобинредуктазной системой, образуется в глицеральдегидфосфатдегидрогеназной реакции гликолиза

Нарушение любого звена этой ферментативной системы приводит к снижению скорости обезвреживания активных форм кислорода. В популяции людей часто встречаются генетические дефекты фермента пентозофосфатного пути глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Это

сопровождается снижением образования в эритроцитах $\text{NADPH} + \text{H}^+$ - кофермента глутатионредуктазы. Лечение пациентов с такими генетическими дефектами лекарствами, которые являются сильными окислителями (аспирин, примахин, сульфаниламиды, парацетамол), может привести к гемолизу эритроцитов. Причина этого - недостаточный потенциал глутатионовой защиты.

Гемолиз эритроцитов могут вызывать и генетические дефекты любого фермента гликолиза, так как в этом случае уменьшается образование АТФ и $\text{NADH} + \text{H}^+$. Снижение скорости синтеза АТФ приводит к падению активности транспортных АТФаз, повышению осмотического давления и осмотическому шоку. При недостатке $\text{NADH} + \text{H}^+$ снижается активность метгемоглобинредуктазы и увеличивается концентрация метгемоглобина. Молекулы метгемоглобина соединяются дисульфидными связями и агрегируют, образуя тельца Хайнца. Последние снижают пластичность эритроцитов и вызывают их разрушение при прохождении мелких капилляров.

тестовые задания и задачи

1. Выберите правильные ответы.

а) в эритроцитах глюкоза включается в следующие метаболические пути:

А. Синтез гликогена.

Б. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы.

В. Анаэробный гликолиз. Г. Аэробный гликолиз Д. Глюконеогенез.

б) напишите схемы метаболических путей, выбранных Вами, объясните их значение для метаболизма эритроцитов.

2. Выберите правильный ответ.

а) сродство гемоглобина к O_2 регулирует:

А. $\text{NADH} + \text{H}^+$. Б. $\text{NADPH} + \text{H}^+$.

В. Глутатион.

Г. 1,3-Бисфосфоглицерат. Д. 2,3-Бисфосфоглицерат.

б) это вещество присоединяется к:

А. MetHb . Б. OxiHb

В. Миоглобину. Г. ДезоксиНв. Д. КарбНв.

3. Выберите правильный ответ.

Система ферментов обезвреживания активных форм кислорода в эритроцитах включает:

А. Супероксиддисмутазу. Б. Глутатионпероксидазу.

В. Глутатионредуктазу. Г. Феррохелатазу.

Д. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу.

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. Лечение пациента, имеющего генетический дефект глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, лекарством, в состав которого входит парацетамол, вызвало гемолиз эритроцитов. Какое значение имеет реакция, которую катализирует этот фермент, для метаболизма эритроцитов? Почему произошел гемолиз эритроцитов? Для ответа на вопросы напишите схему реакций:

- а) окислительного этапа метаболического пути, в котором идет эта реакция;
- б) образования и обезвреживания активных форм кислорода в эритроцитах.

2. У больных с генетическим дефектом ключевого фермента гликолиза - пируваткиназы - наблюдается желтуха, вызванная гемолизом эритроцитов. Какое значение для эритроцитов имеет метаболический путь, в котором участвует пируваткиназа? Каким типом желтухи страдают эти пациенты? Для ответа на вопросы:

- а) напишите схему метаболического пути, в котором участвует пируваткиназа, и объясните его значение для эритроцитов;
- б) укажите причину разрушения эритроцитов;
- в) объясните, как изменится уровень прямого и непрямого билирубина в крови при гемолизе эритроцитов.

15.2. ОСНОВНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕМОСТАЗА

Прекращение кровотечения после травмы кровеносных сосудов, растворение сгустков крови - тромбов и поддержание жидкого состояния крови обеспечивает гемостаз. Этот процесс состоит из 4 этапов:

- в первые секунды после травмы происходит рефлекторное сокращение поврежденного сосуда;
- в течение 3-5 мин на участке повреждения в результате взаимодействия эндотелия с тромбоцитами образуется рыхлая тромбоцитарная пробка (белый тромб). При этом изменяются свойства этих клеток крови, и они прилипают к месту повреждения (адгезия) и друг к другу (агрегация);
- в течение 10-30 мин формируется фибриновый тромб. На этом этапе растворимый белок плазмы крови фибриноген под действием фермента тромбина превращается в нерастворимый фибрин. Фибрин вместе с эритроцитами откладывается между тромбоцитами белого тромба, и таким образом образуется красный тромб (рис. 15.3);

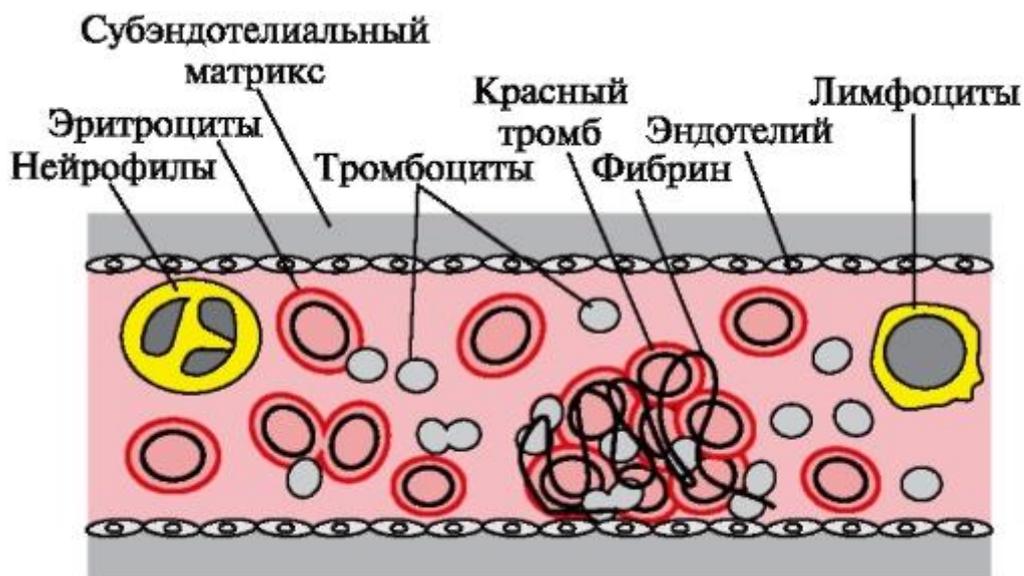


Рис. 15.3. Образование красного тромба

- на фибриновом сгустке адсорбируются ферменты, осуществляющие протеолиз фибрина. Растворение тромба - фибринолиз и заживление поврежденного сосуда могут занимать от нескольких дней до нескольких недель. Наследственные или приобретенные изменения структуры и функций компонентов гемостаза, а также нарушение его регуляции сопровождаются либо повышением кровоточивости

(гемофилия), либо внутрисосудистым свертыванием крови (тромбозы).

Тромбоцитарная пробка формируется на этапе первичного гемостаза в результате адгезии и агрегации тромбоцитов. В норме тромбоциты имеют дисковидную форму. Агрегацию и адгезию предотвращают ингибиторы активации тромбоцитов, наиболее сильные из которых оксид азота (NO) и простаглицин PGI₂. Они синтезируются в эндотелии сосудов и обладают не только сильной антиагрегационной, но и вазодилататорной активностью. Травма стенки сосуда сопровождается появлением на поверхности эндотелия и субэндотелия белков, обладающих адгезивными и прокоагулянтными свойствами. К ним относятся коллаген, фактор Виллебранда, фибронектин. Эти белки взаимодействуют с рецепторами тромбоцитов, обеспечивая прилипание этих клеток к поврежденному участку сосуда. Тромбоциты представляют собой безъядерные клетки, которые содержат гранулы разного типа. Индукторы агрегации тромбоцитов (АДФ, адреналин, тромбин, коллаген, тромбоксан А₂) взаимодействуют со специфическими рецепторами этих клеток и вызывают освобождение из гранул в цитоплазму ряд метаболитов - активаторов агрегации (АТФ, АДФ, серотонин, Ca²⁺, фибриноген, фибронектин, фактор Виллебранда). Эти вещества вызывают изменение свойств плазматической мембраны, появление псевдоподий, прилипание тромбоцитов друг к другу. Кроме того, происходят перераспределение фосфолипидов в плазматической мембране тромбоцитов и появление на ее поверхности тромбогенных отрицательно заряженных фосфолипидов, связывающих белки свертывающей системы крови. При агрегации тромбоциты секретируют в кровь адреналин, серотонин, тромбоксан А₂, которые стимулируют сужение сосудов. Однако, тромбоцитарная пробка может остановить кровотечение только в мелких капиллярах. Прекращение кровотечения из крупных сосудов обеспечивает образование фибринового тромба на этапе вторичного гемостаза. Свертывание крови - важнейшая часть гемостаза. Формированию фибринового тромба предшествует каскад протеолитических реакций, приводящий к образованию фермента тромбина, который и превращает растворимый белок плазмы крови фибриноген в нерастворимый фибрин. Все белки свертывания крови имеют тривиальные названия,

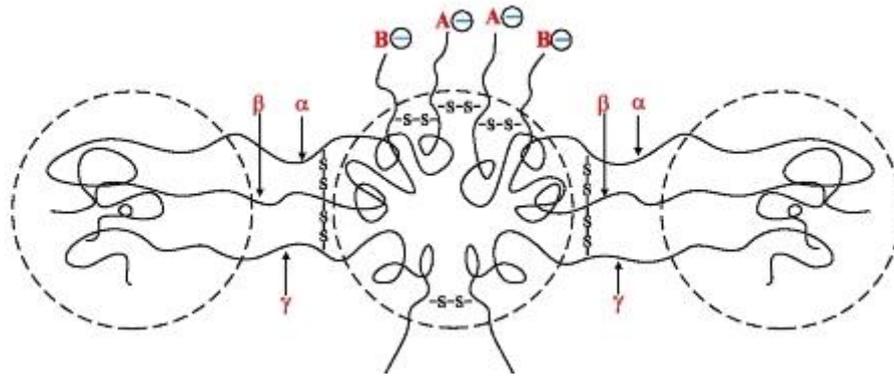


Рис. 15.4. Строение фибриногена

Фибриноген состоит из 6 полипептидных цепей 3 типов: 2α , 2β и 2γ , образующих 3 домена (обозначены штрихами). А и В - отрицательно заряженные участки цепей α и β препятствуют агрегации молекул фибриногена

но их ещё называют факторами свертывания и обозначают римскими цифрами. Они синтезируются в основном в печени и клетках крови в виде неактивных предшественников. Активные формы этих белков образуются в каскаде реакций свертывания крови, и их обозначают такими же римскими цифрами, но добавляя букву «а».

В процессе формирования фибринового тромба можно выделить четыре этапа:

Превращение фибриногена в мономер фибрина. Фибриноген (фактор I) - это гликопротеин с большой молекулярной массой. Молекула фибриногена состоит из 6 полипептидных цепей 3 типов: 2α , 2β и 2γ . Они связаны между собой дисульфидными связями и образуют 3 домена. А- и В-участки находятся на N-концах цепей α и β соответственно. Эти участки содержат много дикарбоновых аминокислот, поэтому N-концы заряжены отрицательно и молекулы фибриногена не агрегируют (рис. 15.4).

Сериновая протеаза тромбин отщепляет А- и В-фибринопептиды от фибриногена, образуя фибрин-мономер.

Образование нерастворимого геля фибрина.

В результате изменения конформации в доменах фибрина-мономера открываются комплементарные участки - центры связывания. Это приводит к образованию нековалентных связей между молекулами фибрина, полимеризации и формированию нерастворимого геля фибрина (рис. 15.5). Он непрочен, так как образован нековалентными связями.

Свертывание крови - важнейшая часть гемостаза. Формированию фибринового тромба предшествует каскад протеолитических реакций, приводящий к образованию фермента тромбина, который и превращает растворимый белок плазмы крови фибриноген в нерастворимый фибрин. Все белки свертывания крови имеют тривиальные названия,

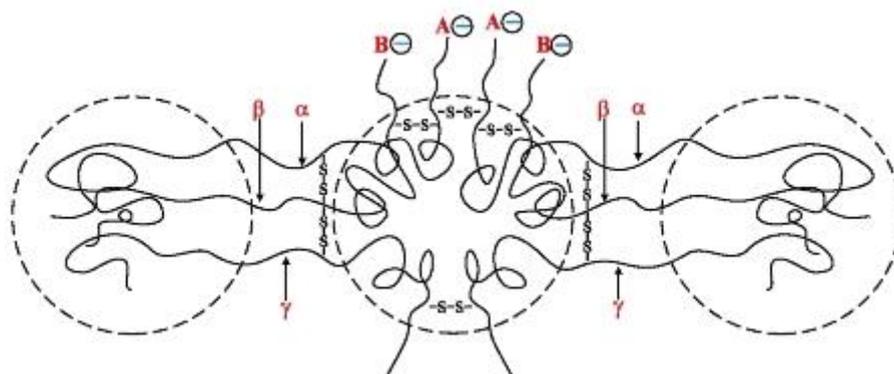


Рис. 15.4. Строение фибриногена

Фибриноген состоит из 6 полипептидных цепей 3 типов: 2A α , 2B β и 2 γ , образующих 3 домена (обозначены штрихами). А и В - отрицательно заряженные участки цепей A α и B β препятствуют агрегации молекул фибриногена

но их ещё называют факторами свертывания и обозначают римскими цифрами. Они синтезируются в основном в печени и клетках крови в виде неактивных предшественников. Активные формы этих белков образуются в каскаде реакций свертывания крови, и их обозначают такими же римскими цифрами, но добавляя букву «а».

В процессе формирования фибринового тромба можно выделить четыре этапа:

Превращение фибриногена в мономер фибрина. Фибриноген (фактор I) - это гликопротеин с большой молекулярной массой. Молекула фибриногена состоит из 6 полипептидных цепей 3 типов: 2A α , 2B β и 2 γ . Они связаны между собой дисульфидными связями и образуют 3 домена. А- и В-участки находятся на N-концах цепей A α и B β соответственно. Эти участки содержат много дикарбоновых аминокислот, поэтому N-концы заряжены отрицательно и молекулы фибриногена не агрегируют (рис. 15.4).

Сериновая протеаза тромбин отщепляет А- и В-фибринопептиды от фибриногена, образуя фибрин-мономер.

Образование нерастворимого геля фибрина.

В результате изменения конформации в доменах фибрина-мономера открываются комплементарные участки - центры связывания. Это приводит к образованию нековалентных связей между молекулами фибрина, полимеризации и формированию нерастворимого геля фибрина (рис. 15.5). Он непрочен, так как образован нековалентными связями. Стабилизация геля фибрина. Фермент трансклутамидаза (фактор XIIIa) катализирует образование амидных связей между радикалами Глн и

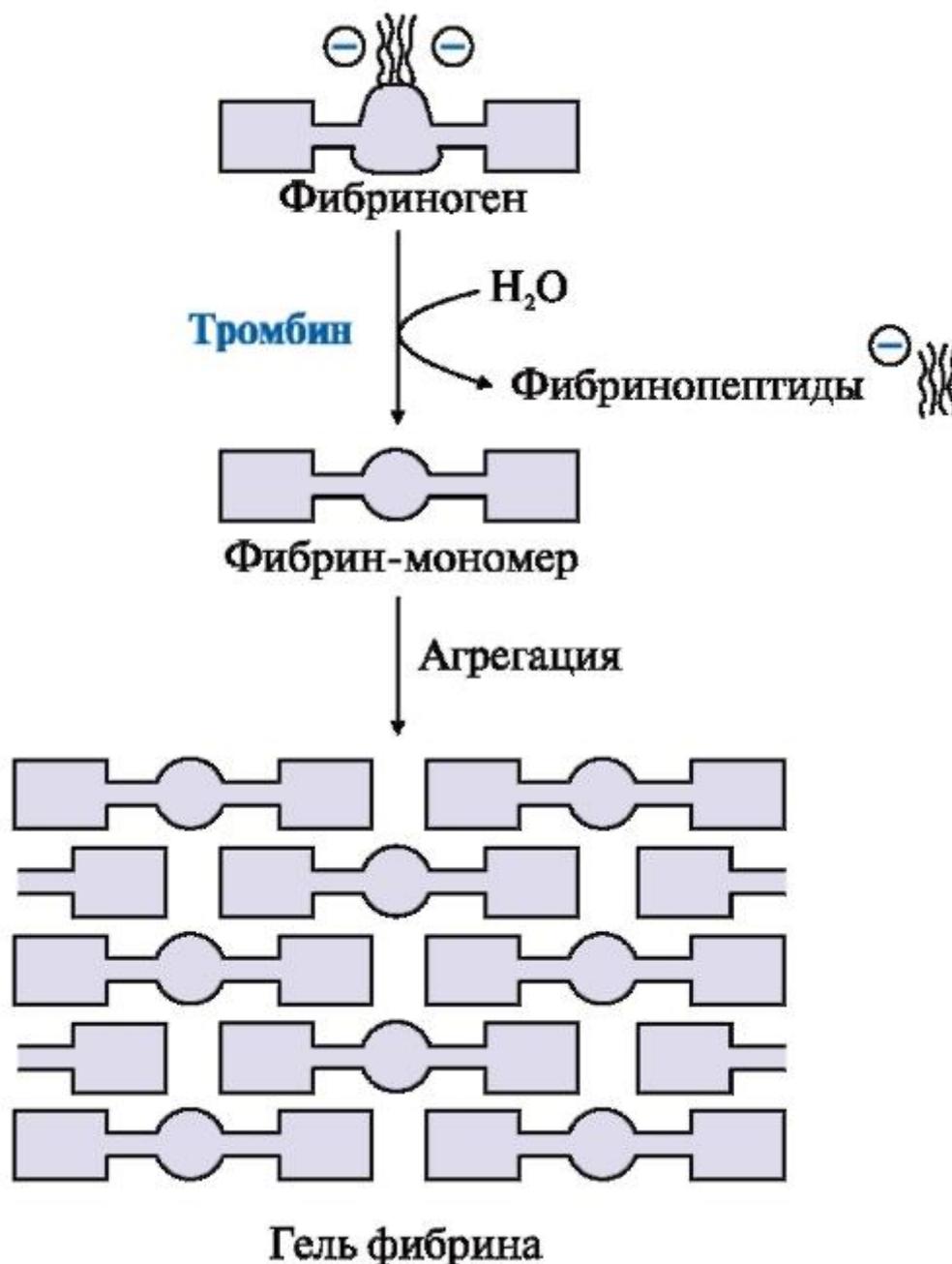


Рис. 15.5. Образование геля фибрина

Фибриноген, освобождаясь под действием тромбина от отрицательно заряженных фибринопептидов 2А и 2В, превращается в фибрин-мономер.

Взаимодействие комплементарных участков в доменах молекул фибрина-мономера приводит к образованию геля фибрина

Лиз мономеров фибрина, а также между фибрином и фибронектином (рис. 15.6). Таким образом повышается прочность геля, и он локализуется на участке повреждения сосуда.

Сжатие геля осуществляет сократительный белок тромбоцитов тромбостенин в присутствии АТФ.

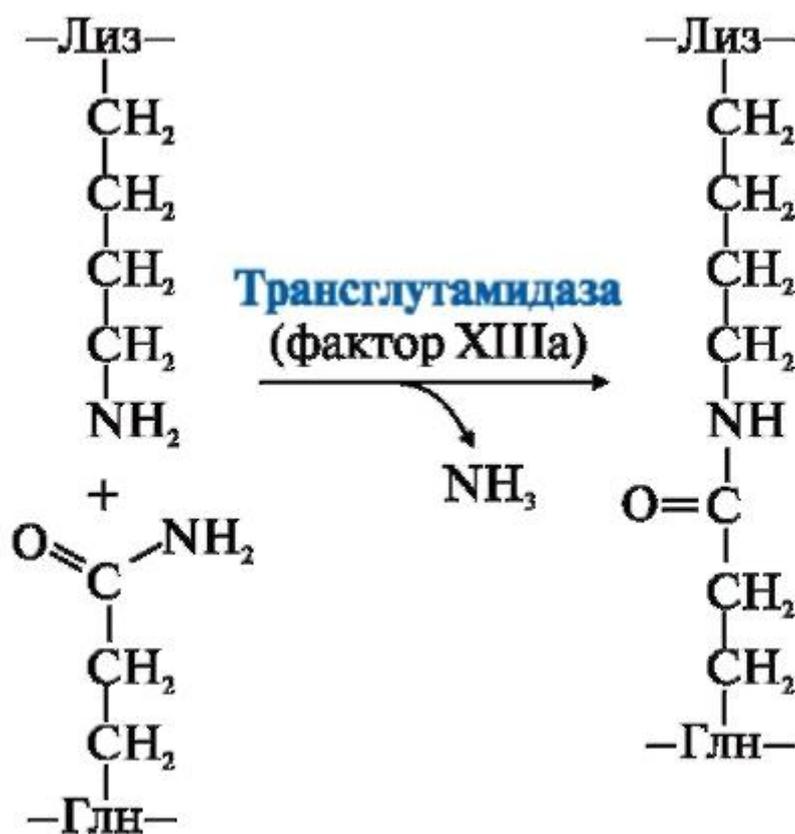


Рис. 15.6. Образование амидных связей между остатками Глн и Лиз в молекулах фибрина

Коагуляции предшествует ряд последовательных реакций активации факторов свертывания крови. Эти реакции инициируются на поврежденной или измененной тромбогенным сигналом клеточной мембране и заканчиваются образованием тромбина. Каскад реакций прокоагулянтного пути имеет ряд особенностей:

- все ферменты являются протеазами и активируются частичным протеолизом;

- все реакции локализованы на поврежденных мембранах клеток крови и эндотелия;
- максимальную активность ферменты проявляют в составе мембранных комплексов, включающих фермент, фосфолипиды клеточной мембраны, белок-активатор, Ca^{2+} ;
- большинство факторов свертывания крови активируется по механизму положительной обратной связи.

Свертывание крови может идти по внешнему или внутреннему пути.

Внешний путь свертывания крови инициируется при взаимодействии белков свертывающей системы с тканевым фактором (ТФ), который экспонируется на мембранах поврежденного эндотелия и активированных тромбоцитах, внутренний путь - при контакте белков свертывающей системы с отрицательно заряженными участками поврежденного эндотелия.

В прокоагулянтном каскаде реакций внешнего пути последовательно образуются 3 активных мембранных комплекса (рис. 15.7).

Каждый мембранный комплекс включает:

- Белок-активатор протеолитического фермента - тканевый фактор, факторы V и VIII (два последних активируются частичным протеолизом).
- Отрицательно заряженные фосфолипиды мембран эндотелия или тромбоцитов. В норме внешняя поверхность плазматических мембран клеток не заряжена, так как в наружном слое преобладают нейтральные, а во внутреннем - отрицательно заряженные фосфолипиды. При травме или поступлении тромбогенного сигнала нарушается поперечная асимметрия мембран, на поверхности появляются отрицательно заряженные фосфолипиды, экспонируется тканевый фактор и таким образом появляются тромбогенные участки.

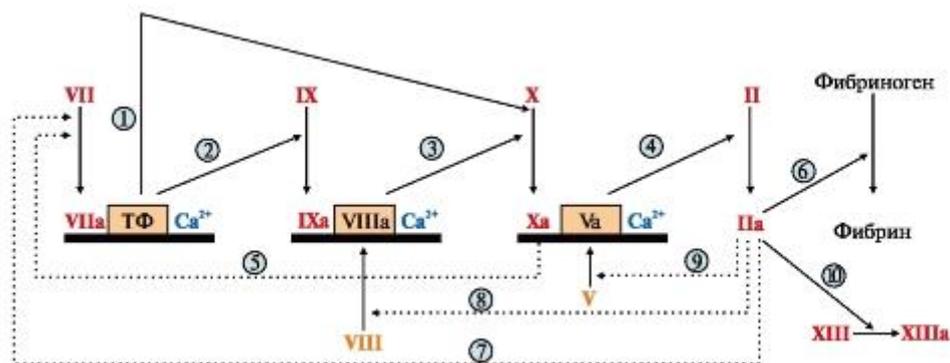


Рис. 15.7. Прокоагулянтный этап свертывания крови и превращение фибриногена в фибрин

Стрелка - активация факторов свертывания крови; стрелка с точками - активация факторов свертывания по принципу положительной обратной связи; - мембранный фосфолипидный компонент ферментных комплексов. В рамке - белки-активаторы.

1, 2 - фактор VIIa мембранного комплекса VIIa-ТФ- Ca^{2+} активирует факторы X и IX; 3 - фактор IXa мембранного комплекса IXa-VIIa- Ca^{2+} (тенназа) активирует фактор X; 4, 5 - фактор Xa мембранного комплекса Xa-Va- Ca^{2+} (протромбиназа) превращает протромбин (фактор II) в тромбин (фактор IIa) и активирует фактор VII по принципу положительной обратной связи; 6-10 - тромбин (фактор IIa) превращает фибриноген в фибрин, активирует факторы V, VII, VIII и XIII

- Ионы Ca^{2+} , участвующие в связывании ферментов прокоагулянтного пути с мембранами клеток. Без Ca^{2+} кровь не свертывается.

- Протеолитические ферменты - факторы VII, IX или X. Эти белки содержат на N-конце молекулы 10-12 остатков γ -карбоксиглутаминовой кислоты. Посттрансляционное карбоксилирование факторов VII, IX, X, а также протромбина, плазминогена и протеина C катализирует γ -глутамилкарбоксилаза. Коферментом этого фермента является восстановленная форма витамина K, которая образуется в печени под действием NADPH-зависимой витамин K редуктазы (рис. 15.8). Структурные аналоги витамина K дикумарол и варфарин являются конкурентными ингибиторами NADPH-зависимой редуктазы. Они снижают скорость восстановления витамина K и, следовательно, активность γ -глутамилкарбоксилазы. Это приводит к нарушению образования ферментных мембранных комплексов, так как затрудняется опосредованное ионами Ca^{2+} связывание ферментов с фосфолипидами мембран. Производные дикумарола и варфарина используют как непрямые антикоагулянты для предотвращения тромбозов.

Иницирующий мембранный комплекс содержит белок-активатор Тф, фермент фактор VII и ионы Ca^{2+} . Тканевой фактор - интегральный белок мембран многих клеток и, в отличие от белков-активаторов V и VIII, не требует протеолитической активации. Фактор VII обладает невысокой эндогенной активностью, но в комплексе VII-ТФ- Ca^{2+} в результате

конформационных изменений его активность возрастает, и он путем частичного протеолиза активирует фактор X.

Фактор Xa в составе мембранного комплекса Xa-Va-Ca²⁺ (протромбиназа) может превращать небольшое количество протромбина (фактор II) в тромбин (фактор IIa).

Образовавшийся тромбин по принципу положительной обратной связи активирует факторы V,

VIII, VII, которые включаются в состав мембранных комплексов.

Комплекс VIIa-ТФ-Ca²⁺ активирует фактор

IX, а VIIa-IXa-Ca²⁺ (тенназа) и VIIa-ТФ-Ca²⁺ образуют активный фактор X, который в составе протромбиназного комплекса Xa-Va-Ca²⁺ превращает протромбин в тромбин.

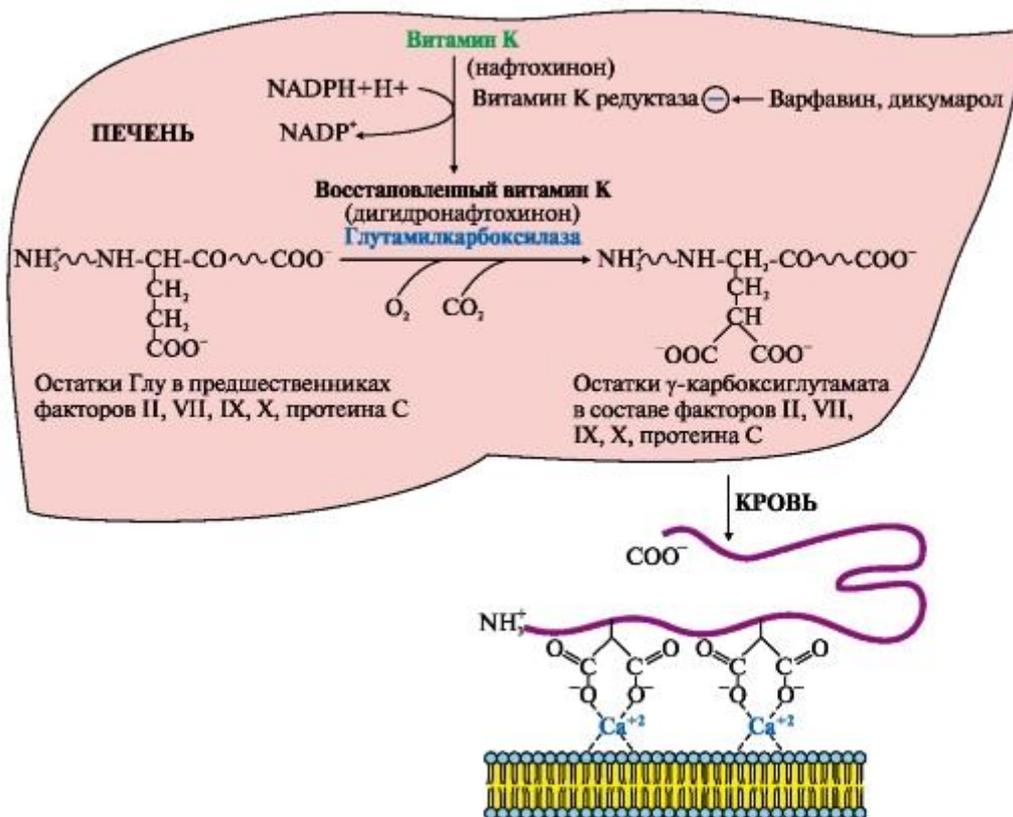


Рис. 15.8. Посттрансляционное карбоксилирование остатков глутаминовой кислоты в молекулах сериновых протеаз свертывающей системы крови и роль Ca²⁺ в связывании этих ферментов на тромбогенных участках клеточных мембран

Протромбин (фактор II) - это гликопротеин, который синтезируется в печени. Концентрация этого белка в плазме крови здорового человека составляет 0,1-

0,2 г/л. Молекула протромбина состоит из одной полипептидной цепи, содержит остатки γ -карбоксихлутамата и одну дисульфидную связь. Остатки карбоксихлутамата молекул протромбина связываются посредством ионов Ca^{2+} с поврежденной мембраной и обеспечивают доступность протромбина для протромбиназного комплекса.

Фактор Ха протромбиназного комплекса гидролизует две пептидные связи в молекуле протромбина, и он превращается в тромбин. Тромбин состоит из двух полипептидных цепей, связанных дисульфидной связью, не содержит остатков γ -карбоксихлутамата, поэтому поступает в кровоток (рис. 15.9).

Первый этап внутреннего пути свертывания крови называют контактной фазой. Он начинается с аутокаталитической активации фактора XII, вызванной контактом этого профермента с участком поврежденного эндотелия сосудистой стенки. На отрицательно заряженном участке формируются 3 ферментных комплекса, каждый из которых содержит один из протеолитических ферментов - фактор XIIa, калликреин или фактор XIIi и белок-активатор высокомолекулярный кининоген (ВМК). Калликреин - сериновая протеаза, субстратами которой являются фактор XII и некоторые белки плазмы крови,

например плазминоген. ВМК - белок-активатор ферментных комплексов внутреннего пути свертывания крови. Комплекс фактор XIIa- ВМК превращает прекалликреин в фермент калликреин. Комплекс калликреин-ВМК по принципу положительной обратной связи образует фактор XIIa, который в комплексе с ВМК активирует фактор IX. Последний включается в состав мембранного комплекса IXa-VIIIa- Ca^{2+} , активирующего фактор X протромбиназы (рис. 15.10).

Следовательно, каскад реакций внешнего и внутреннего путей свертывания крови приводит к образованию протромбиназы. Этапы одинаковые для обоих путей, называют общим путем свертывания крови. Контактная фаза, очевидно, не является абсолютно необходимой для инициации свертывания крови, а участвует в процессах воспаления и служит для сопряжения свертывания крови с некоторыми регуляторными системами, например, калликреин-кининовой и системой ферментов фибринолиза.

Каждое ферментативное звено реакций свертывания крови обеспечивает усиление сигнала, а положительные обратные связи обуславливают лавинообразное ускорение всего процесса и прекращение кровотока.

Кровь здорового человека *in vitro* свертывается за 5-10 мин. При этом образование протромбиназного комплекса занимает 5-8 мин, активация протромбина - 2-3 с, превращение фибриногена в фибрин - 2-5 с.

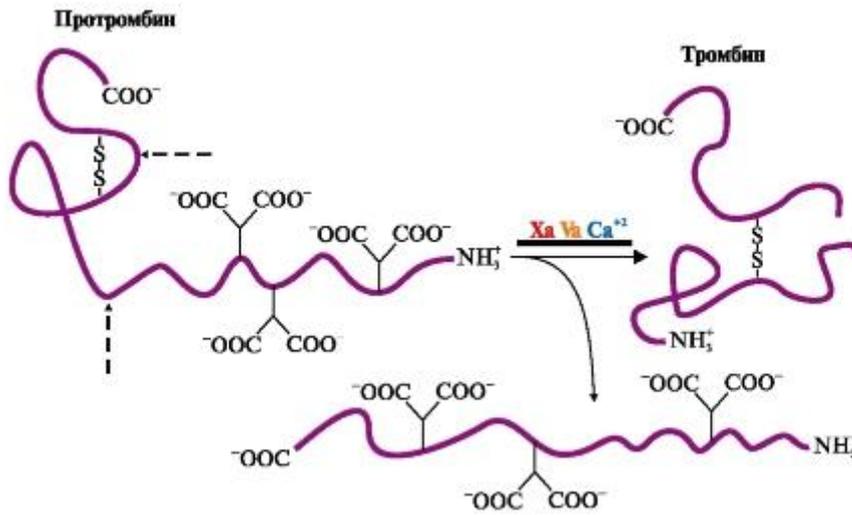


Рис. 15.9. Протеолитическая активация протромбина фактором Xa протромбиназного комплекса



- остатки карбоксиглутамата; стрелки со штрихом указывают положение гидролизуемых в молекуле протромбина пептидных связей

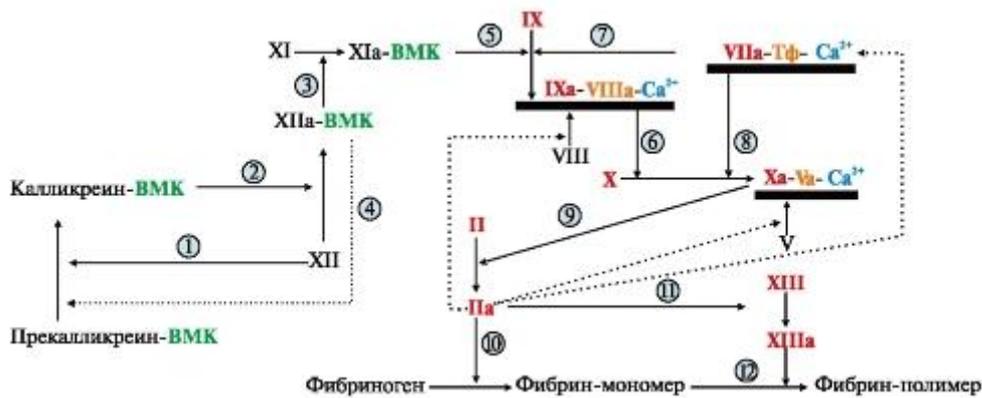


Рис. 15.10. Схема внешнего и внутреннего путей свертывания крови
 ВМК - высокомолекулярный кининоген; Тф - тканевой фактор.
 Обозначения см. на рис. 15.7.

Все ферменты свертывающей системы крови являются протеазами и активируются частичным протеолизом.

1 - активированный контактом с субэндотелием фактор XII превращает прекалликреин в калликреин;

2 - калликреин комплекса калликреин-ВМК частичным протеолизом активирует фактор XII; 3 - фактор XIIa активирует фактор XI; 4 - активированный частичным протеолизом фактор XIIa комплекса XIIa-ВМК превращает прекалликреин в калликреин по принципу положительной обратной связи; 5 - фактор XII комплекса XII-ВМК активирует фактор IX; 6 - фактор Ка мембранного комплекса IXa-VIIa-Ca²⁺ активирует фактор X; 7, 8 - фактор VIIa мембранного комплекса VIIa-ТФ-Ca²⁺ активирует факторы IX и X; 9 - фактор XI протромбиназного комплекса активирует фактор II (протромбин); 10, 11 - фактор Па (тромбин) превращает фибриноген в фибрин и активирует фактор XIII (фермент трансглутамидазу); 12 - фактор XIIIa катализирует образование амидных связей в геле фибрина

Гемофилия

Снижение свертываемости крови приводит к заболеванию, сопровождающемуся повторяющимися кровотечениями, - гемофилии. Причина кровотечений при гемофилии - наследственная недостаточность белков свертывающей системы крови. Гемофилия А обусловлена мутацией гена фактора VIII, локализованного в X-хромосоме. Дефект гена фактора VIII проявляется как рецессивный признак, поэтому этой формой болезни страдают только мужчины. Гемофилия А сопровождается подкожными, внутримышечными и внутрисуставными кровоизлияниями, опасными для жизни. Больных лечат препаратами, содержащими фактор VIII, который получают методами генной инженерии. Гемофилия В связана с генетическим дефектом фактора IX, который встречается гораздо реже.

Противосвертывающая система крови

В крови и сосудистом русле в норме имеются клетки с тромбогенной поверхностью, однако кровь в норме остается жидкой. Важную роль в регуляции гемостаза играют ингибиторы свертывания крови и антикоагулянтная система

(система протеина С). Они сохраняют кровь в жидком состоянии и предотвращают рост тромба за пределы поврежденного участка сосуда. Тромбин, поступающий в ток крови из тромба, может инактивироваться ингибиторами ферментов свертывания крови или активировать

антикоагулянтную систему, тормозящую каскад реакций прокоагулянтного этапа внешнего пути.

Ингибиторы ферментов свертывания крови ограничивают образование тромба местом повреждения сосуда.

Антитромбин III - белок плазмы крови, который инактивирует ряд сериновых протеаз: тромбин, факторы IXa, Xa, XIIa, плазмин, калликреин. Этот ингибитор образует комплекс с ферментами, в составе которого они теряют свою активность. Антитромбин III обеспечивает 80-90% антикоагулянтной активности крови, ингибируя ферменты, циркулирующие в крови, и предотвращая тромбообразование в кровотоке. Активатором антитромбина III является гетерополисахарид гепарин. Гепарин поступает в кровь из тучных клеток соединительной ткани, взаимодействует с ингибитором, изменяет его конформацию и повышает сродство антитромбина к сериновым протеазам.

Активность антитромбина в присутствии гепарина увеличивается в 1000 раз. После связывания протеазы гепарин высвобождается из комплекса и может активировать другие молекулы антитромбина.

При наследственном дефиците антитромбина III у детей наблюдаются множественные тромбозы и эмболии сосудов, опасные для жизни.

Ингибитор тканевого фактора (антиконвертин) синтезируется клетками эндотелия и локализуется на поверхности их плазматической мембраны. Он образует с фактором Xa комплекс, который связывается с фосфолипидами мембран и тканевым фактором. В результате этого комплекс VIIa-Тф- Ca^{2+} теряет способность активировать факторы X и IX.

Противосвертывающая система крови

В крови и сосудистом русле в норме имеются клетки с тромбогенной поверхностью, однако кровь в норме остается жидкой. Важную роль в регуляции гемостаза играют ингибиторы свертывания крови и антикоагулянтная система

(система протеина С). Они сохраняют кровь в жидком состоянии и предотвращают рост тромба за пределы поврежденного участка сосуда. Тромбин, поступающий в ток крови из тромба, может инактивироваться ингибиторами ферментов свертывания крови или активировать антикоагулянтную систему, тормозящую каскад реакций прокоагулянтного этапа внешнего пути.

Ингибиторы ферментов свертывания крови ограничивают образование тромба местом повреждения сосуда.

Антитромбин III - белок плазмы крови, который инактивирует ряд сериновых протеаз: тромбин, факторы IXa, Xa, XIIa, плазмин, калликреин. Этот ингибитор образует комплекс с ферментами, в составе которого они теряют свою активность. Антитромбин III обеспечивает 80-90% антикоагулянтной активности крови, ингибируя ферменты, циркулирующие в крови, и предотвращая тромбообразование в кровотоке. Активатором антитромбина III является гетерополисахарид гепарин. Гепарин поступает в кровь из тучных клеток соединительной ткани, взаимодействует с ингибитором, изменяет его конформацию и повышает сродство антитромбина к сериновым протеазам.

Активность антитромбина в присутствии гепарина увеличивается в 1000 раз. После связывания протеазы гепарин высвобождается из комплекса и может активировать другие молекулы антитромбина.

При наследственном дефиците антитромбина III у детей наблюдаются множественные тромбозы и эмболии сосудов, опасные для жизни.

Ингибитор тканевого фактора (антиконвертин) синтезируется клетками эндотелия и локализуется на поверхности их плазматической мембраны. Он образует с фактором Xa комплекс, который связывается с фосфолипидами мембран и тканевым фактором. В результате этого комплекс VIIa-Тф- Ca^{2+} теряет способность активировать факторы X и IX.

Противосвертывающая система крови

В крови и сосудистом русле в норме имеются клетки с тромбогенной поверхностью, однако кровь в норме остается жидкой. Важную роль в регуляции гемостаза играют ингибиторы свертывания крови и антикоагулянтная система

(система протеина C). Они сохраняют кровь в жидком состоянии и предотвращают рост тромба за пределы поврежденного участка сосуда. Тромбин, поступающий в ток крови из тромба, может инактивироваться ингибиторами ферментов свертывания крови или активировать антикоагулянтную систему, тормозящую каскад реакций прокоагулянтного этапа внешнего пути.

Ингибиторы ферментов свертывания крови ограничивают образование тромба местом повреждения сосуда.

Антитромбин III - белок плазмы крови, который инактивирует ряд сериновых протеаз: тромбин, факторы IXa, Xa, XIIa, плазмин, калликреин. Этот ингибитор образует комплекс с ферментами, в составе которого они теряют свою активность. Антитромбин III обеспечивает 80-90% антикоагулянтной активности крови, ингибируя ферменты, циркулирующие в крови, и предотвращая тромбообразование в кровотоке. Активатором антитромбина III является гетерополисахарид гепарин. Гепарин поступает в кровь из тучных клеток соединительной ткани, взаимодействует с ингибитором, изменяет его конформацию и повышает сродство антитромбина к сериновым протеазам.

Активность антитромбина в присутствии гепарина увеличивается в 1000 раз. После связывания протеазы гепарин высвобождается из комплекса и может активировать другие молекулы антитромбина.

При наследственном дефиците антитромбина III у детей наблюдаются множественные тромбозы и эмболии сосудов, опасные для жизни.

Ингибитор тканевого фактора (антиконвертин) синтезируется клетками эндотелия и локализуется на поверхности их плазматической мембраны. Он образует с фактором Xa комплекс, который связывается с фосфолипидами мембран и тканевым фактором. В результате этого комплекс VIIa-Тф- Ca^{2+} теряет способность активировать факторы X и IX.

Наследственный дефицит протеина C и фактора S сопровождается снижением скорости инактивации белков-активаторов Va и VIIIa и приводит к тромбозам. Мутация гена фактора V, при которой протеин C теряет способность гидролизовать этот фактор, также вызывает тромбофилии.

Фибринолиз

Фибринолиз - это гидролиз фибрина тромба ферментом плазмином с образованием растворимых пептидов, которые удаляются из кровотока. Плазмин образуется в крови из неактивного профермента плазминогена. Он синтезируется в печени и в крови активируется частичным протеолизом под действием тканевого активатора плазминогена (ТАП), урокиназы, фактора XIIa и калликреина (рис. 15.12). Эти активаторы и плазмин относятся к сериновым протеазам. ТАП синтезируется в эндотелии сосудов всех тканей, за исключением печени.

Формирование фибринового тромба сопровождается осаждением на нем плазминогена и его активаторов. Образующийся плазмин разрушает

фибриновые волокна, а освобождающийся из тромба плазмин и его активаторы поступают в кровоток. В крови плазмин инактивируется неспецифическими ингибиторами сериновых протеаз, а активаторы плазминогена - ингибиторами активаторов плазминогена первого и второго типа. Наследственная или приобретенная недостаточность белков фибринолитической системы сопровождается тромбозами. Урокиназа и ТАП, получаемые методами генной инженерии, применяются в клинике при тромболитической терапии инфаркта, тромбозах вен нижних конечностей и гемодиализе. В этих же целях используют стрептокиназу, которая является пептидом,



Рис. 15.12. Фибринолитическая система крови

1 - плазминоген под действием активаторов (ТАП, калликреина, фактора XIIIa) частичным протеолизом превращается в плазмин; 2 - плазмин гидролизует фибрин с образованием растворимых пептидов; 3 - ТАП поступает в кровоток и ингибируется специфическими ингибиторами первого (и-ТАП-1) и второго (и-ТАП-2) типа; 4 - плазмин ингибируют неспецифические ингибиторы сериновых протеаз выделенным из β -гемолитического стрептококка. Стрептокиназа образует комплекс с плазминогеном, в котором происходит его аутокаталитическая активация.

15.3. БЕЛКИ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Плазма крови содержит 7% белков всего организма, причем концентрация альбумина составляет 40-50 г/л, глобулинов - 20-30 г/л, общий белок плазмы крови - 60-80 г/л. Белки плазмы крови с помощью электрофореза можно разделить на фракции. В зависимости от условий электрофореза количество фракций - составляет от 5 до 17. При электрофорезе на бумаге белки делятся на 5 фракций: альбумин, α_1 -, α_2 -, β - и γ -глобулины. Большинство белков крови синтезируется в печени, однако некоторые из них образуются и в других тканях. Например, γ -глобулины синтезируются В-лимфоцитами, большинство пептидных гормонов секретируют в кровь эндокринные железы, а регуляторный пептид эритропоэтин - почки.

Белок альбумин синтезируется печени и имеет небольшую молекулярную массу. Молекула альбумина содержит много дикарбоновых аминокислот, поэтому удерживает катионы Na^+ , Ca^{2+} , Zn^{2+} . Небольшая молекулярная масса и высокая

концентрация альбумина в крови обеспечивают до 80% осмотического давления плазмы. Альбумин является важнейшим транспортным белком. Он транспортирует свободные жирные кислоты, неконъюгированный билирубин, триптофан, тироксин, трийодтиронин, а также многие лекарства.

Глобулины делятся на 4 фракции: α_1 , α_2 , β и γ . Эти фракции составляют белки, которые выполняют специфические и защитные функции. К фракции глобулинов относятся тироксин- и кортизолсвязывающие белки, трансферрин, гаптоглобин, церулоплазмин, С-реактивный белок (появляется в крови при некоторых воспалительных заболеваниях), интерферон, иммуноглобулины. Содержание белков в плазме крови может изменяться при патологических состояниях

Гиперпротеинемия - это повышение концентрации белков в крови.

Гиперпротеинемия может быть первичной и вторичной. Первичная обусловлена повышением содержания γ -глобулинов (антител) и некоторых белков при острых воспалительных процессах, травмах. Их называют белками острой фазы и к ним относятся С-реактивный белок, α_1 -антитрипсин, гаптоглобин, фибриноген. Они синтезируются в печени, индуктором синтеза является белок мононуклеарных лейкоцитов интерлейкин-1. Вторичная гиперпротеинемия обусловлена потерей воды организмом при полиурии, диарее, рвоте.

Гипопротеинемия - это в основном следствие потери организмом альбумина, т.е. является гипоальбуминемией. Она наблюдается при нефрите, гепатите, циррозе печени, ожогах. Уменьшение содержания альбумина в крови приводит к снижению осмотического давления, а также нарушению распределения жидкости между сосудистым руслом и межклеточным пространством, что проявляется отеками.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ЗАДАЧИ

1. Установите порядок событий.

Образование фибринового тромба включает:

- А. Отщепление фибринопептидов А и В.
- Б. Образование нековалентных связей между молекулами фибрина.
- В. Активацию протромбина.
- Г. Стабилизацию геля фибрина. Д. Ретракцию фибринового сгустка.

2. Выполните «цепное» задание.

а) в результате механического или химического повреждения клеток эндотелия на их поверхности экспонируются:

- А. Тромбомодулин. Б. Фактор V.
- В. Трансглутамидаза. Г. Тканевой фактор. Д. Протеин С.

б) этот белок активирует сериновую протеазу иницирующего мембранного комплекса:

- А. Тканевый фактор. Б. Тромбомодулин.
- В. Протеин S. Г. Фактор VII. Д. Фактор II.

в) выбранный фермент активируется и превращает профермент протромбиназного комплекса в активный фермент:

- А. Фактор XIIIa. Б. Фибрин.
- В. Плазмин. Г. Фактор Va. Д. Фактор Xa.

г) этот фермент в составе мембранного комплекса действует на субстрат:

- А. Фибриноген. Б. Протеин С.
- В. Гепарин.

Г. Протромбин. Д. Фактор VIII.

д) протеолитическая активация этого субстрата приводит к образованию:

А. Фибрина.

Б. Активированного протеина С.

В. Фактора XIIIa. Г. Тромбина.

Д. Фактора VIIIa.

е) этот белок:

А. Включается в ферментный мембранный комплекс.

Б. Превращает пламиноген в плазмин.

В. Образует комплекс с гепарином. Г. Активирует тканевый фактор.

Д. Отщепляет фибринопептиды А и В.

ж) в результате этого превращения образуется:

А. Плазмин.

Б. Активная трансклутамидаза.

В. Фибрин-мономер.

Г. ТАП

Д. Тромбин.

з) этот белок вступает в реакцию:

А. Частичного протеолиза. Б. Фосфорилирования.

В. Карбоксилирования. Г. Полимеризации.

Д. Конъюгации.

и) в результате этой реакции происходит:

А. Образование белого тромба. Б. Агрегация тромбоцитов.

В. Ретракция геля фибрина.

Г. Образование красного тромба. Д. Образование геля фибрина.

3. Выполните «цепное» задание:

а) один из этапов посттрансляционной модификации ферментов свертывающей системы крови включает реакцию модификации остатков аминокислот:

А. Фосфорилирования тирозина. Б. Окисления лизина.

В. Карбоксилирования глутамата. Г. Гликозилирования серина.

Д. Гидроксилирования пролина.

б) в этой реакции участвует кофермент :

А. NAD⁺. Б. Биотин.

В. Витамин С.

Г. Восстановленная форма витамина К. Д. Пиридоксальфосфат.

в) структурным аналогом этого кофермента является лекарственный препарат:

А. Аспирин. Б. Дикумарол.

В. Фенобарбитал. Г. Прозерин.

Д. Трасилол.

г) при лечении этим лекарством (выберите правильные ответы):

А. Снижается свертываемость крови.

Б. Нарушается образование мембранных ферментных комплексов.

В. Повышается свертываемость крови.

Г. В гепатоцитах снижается скорость трансляции протеолитических ферментов внешнего пути свертывания крови.

Д. Снижается риск образования тромбов.

4. Установите соответствие.

А. Расщепляет тромбин.

Б. Активируется гепарином.

В. Инактивирует факторы Ха и VIIa.

Г. Взаимодействует с тканевым фактором.

Д. Образует комплекс с сериновыми протеазами, в котором они теряют активность.

1. Антитромбин III.

2. α_2 -Макроглобулин.

3. Ингибитор тканевого фактора.

5. Выполните цепное задание.

а) белок-активатор мембранного комплекса антикоагулянтной фазы тромбомодулин взаимодействует с:

А. Протеином С. Б. Протеином S.

В. Тромбином.

Г. Тканевым фактором. Д. Фактором V.

б) этот белок изменяет свою конформацию и приобретает способность активировать:

А. Фактор VIII. Б. Протеин S.

В. Протеин С. Г. Фактор V.

Д. Антитромбин III.

в) активация выбранного Вами белка стимулирует образование следующего мембранного комплекса, в котором белком-активатором является:

А. Протеин S. Б. Протеин С.

В. Плазмин.

Г. Тканевый фактор.

Д. ТАП.

г) этот активатор повышает сродство сериновой протеазы к субстратам (выберите правильные ответы).

А. Фактору Vi.

Б. Фактору VIIIa.

В. Фактор VII. Г. Тромбину.

Д. Плазминогену.

6. Установите соответствие.

А. Активируется урокиназой, стрептокиназой, калликреином.

Б. Гидролизует фибрин.

В. Входит в состав мембранного комплекса. Г. Синтезируется в эндотелии сосудов.

Д. Активируется Ca^{2+} .

1. Плазминоген.

2. Плазмин.

3. ТАП.

7. Выберите правильные ответы. Белки плазмы крови:

А. Поддерживают осмотическое давление крови.

Б. Транспортируют O_2 и CO_2 .

В. Определяют вязкость крови.

Г. Выполняют защитную функцию. Д. Синтезируются только в печени.

8. Выберите правильные ответы. Альбумин:

А. Синтезируется в печени.

Б. Транспортирует холестерол.

В. Соединяется с билирубином.

Г. Содержится в межклеточной жидкости. Д. В крови заряжен отрицательно

РЕШИТЕ ЗАДАЧИ

1. В слюнных железах медицинской пиявки содержится ингибитор тромбина - пептид гирудин. В крови человека гирудин образует комплекс с тромбином, в котором этот фермент теряет способность превращать фибриноген в фибрин. Почему гирудотерапию (лечение пиявками) используют для профилактики тромбозов при сердечно-сосудистых заболеваниях? Для ответа на вопрос:

а) перечислите этапы образования фибринового тромба;

б) опишите особенности строения протромбина и механизм его превращения в тромбин.

2. У здоровых людей кровотечение при удалении зуба или операции в ротовой полости прекращается через несколько минут, а у больных гемофилией может продолжаться долго и быть опасным для жизни. Для

предупреждения кровотечения таким больным перед экстракцией зуба назначают заместительную терапию фактором VIII, полученным методом генной инженерии. Объясните обоснованность такой рекомендации. Для этого:

а) напишите схему прокоагулянтного этапа внешнего пути свертывания крови и отметьте факторы - протеолитические ферменты и белки-активаторы;

б) укажите роль фактора VIIIa и механизм его активации.

3. Структурный аналог витамина К варфарин используют как непрямой антикоагулянт для профилактики тромбозов. Одним из осложнений длительного лечения этим препаратом может быть снижение минерализации костной ткани. Объясните механизм действия варфарина и причины нарушения ремоделирования костей при длительном лечении этим препаратом. Для этого:

а) опишите роль витамина К в посттрансляционной модификации белков - факторов свертывания крови и специфических белков костной ткани;

б) перечислите факторы свертывания крови, которые подвергаются такой модификации, и укажите роль каждого фактора в прокоагулянтном пути свертывания крови и образовании тромба.

4. У онкологических больных при разрушении опухолевых клеток увеличивается поступление гепарина в циркулирующую кровь. Какие осложнения может вызвать увеличение содержания гепарина в крови? Для ответа на вопрос:

а) укажите место синтеза гепарина;

б) опишите роль гепарина как непрямого антикоагулянта.

5. Существует мутация гена фактора V, при которой синтезируется фактор V, резистентный к протеину С. Какими нарушениями свертывания крови страдают больные с такой мутацией? Для ответа на вопрос :

а) опишите роль фактора V и протеина С в антикоагулянтной системе;

б) объясните физиологическое значение системы протеина С.

6. Пациентке, страдающей тромбозом, для профилактики тромбоза назначили лечение тканевым активатором плазмина (ТАП). Объясните механизм действия рекомендованного врачом препарата. Для этого

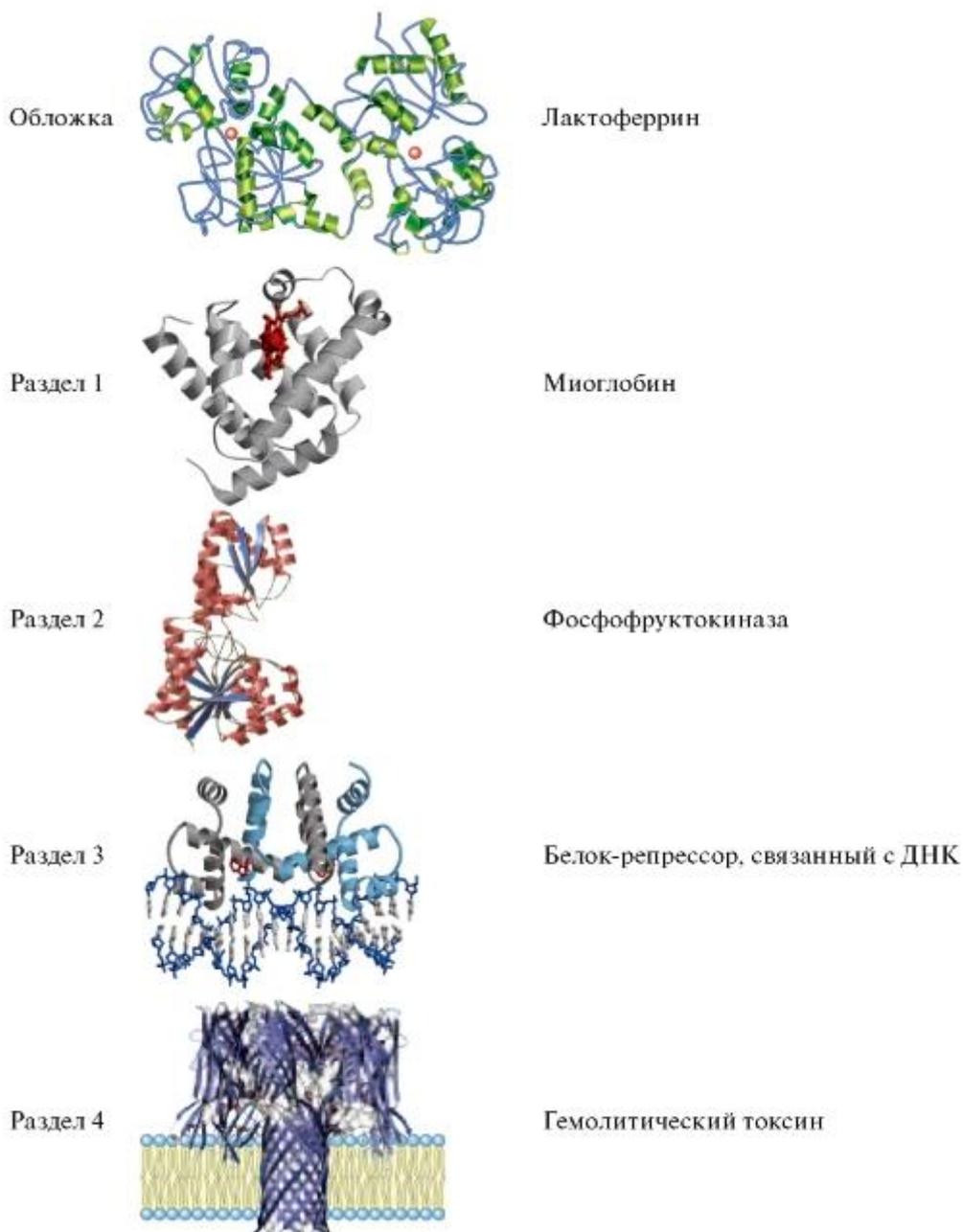
представьте схему фибринолитической системы крови и укажите роль ТАП, ингибиторов активаторов пламиногена и ингибиторов пламина в фибринолизе.

7. Редкое наследственное аутосомно-рецессивное заболевание анальбуминемия сопровождается отсутствием альбумина в крови. Почему у пациентов с такой патологией наблюдается отеки? Для ответа на вопрос укажите:

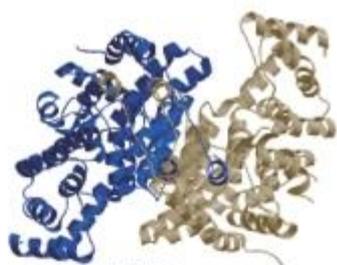
а) особенности аминокислотного состава альбумина;

б) функции этого белка плазмы крови и орган, в котором он синтезируется.

НАЗВАНИЯ РИСУНКОВ

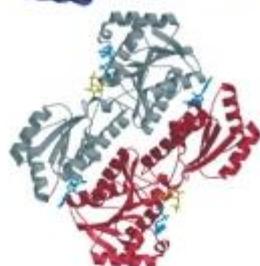


Раздел 5



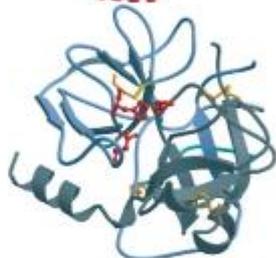
Цитратсинтаза

Раздел 6



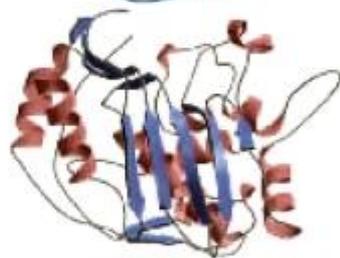
Фосфофруктокиназа

Раздел 7



Химотрипсин

Раздел 8



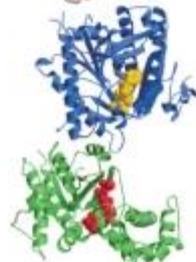
Тимидилатсинтаза

Раздел 9



Еноил-КоА гидратаза

Раздел 10



Комплекс ГТФ- α_5 -Аденилатциклаза