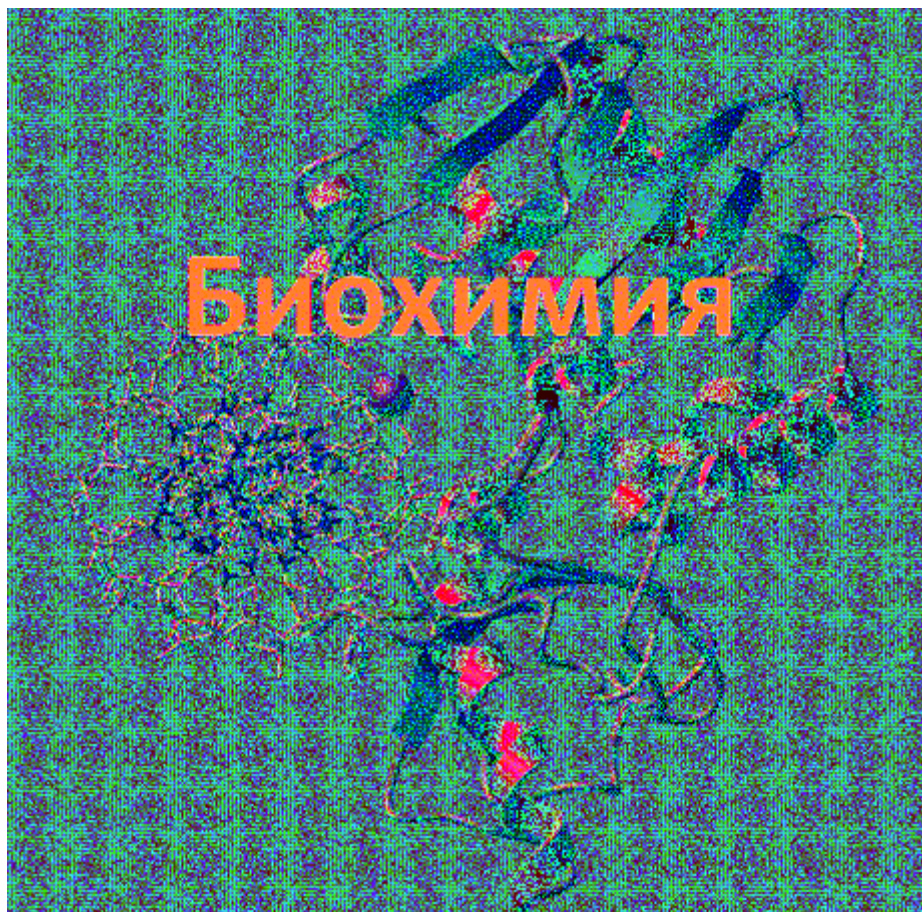


МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ – ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«УЛЬЯНОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ П.А.СТОЛЫПИНА»

Ю.Р. Гирфанова

Биохимия

Курс лекций



Димитровград -2019

УБК 577.4
ББК 28.072
Г-51

Гирфанова Ю.Р. Биохимия: Курс лекций / Ю.Р. Гирфанова - Димитровград: Технологический институт – филиал УлГАУ, 2019.- 204 с.

Рецензенты: Курьянова Надежда Хусаиновна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Технология производства, переработки и экспертизы продукции АПК» ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Биохимия: Курс лекций предназначен для подготовки бакалавров по направлению подготовки 19.03.03 Технология молока и молочных продуктов.

Конспект лекций включают в себя содержание лекционных занятий необходимого для изучения дисциплины. Темы иллюстрированы рисунками, схемами, таблицами, которые позволяют глубже понять и усвоить тему по разделам, необходимым для изучения биохимии.

Утверждено
на заседании кафедры «Технология
производства, переработки и экспертизы
продукции АПК»
Технологического института – филиала
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ,
протокол № 1 от 2 сентября 2019г.

Рекомендовано
к изданию методическим советом
Технологического института – филиала
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ
Протокол № 2 от 10 октября 2019г.

© Гирфанова Ю.Р., 2019

© Технологический институт – филиал ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ, 2019

Содержание

Введение

- 1 История развития науки и методы изучения
- 2 Аминокислоты, их строение и свойства
- 3 Строение и свойства белков. Методы их выделения и очистки
- 4 Химия нуклеиновых кислот
- 5 Ферменты
- 6 Ферментативная кинетика
- 7 Химия липидов
- 8 Химия углеводов
- 9 Витамины
- 10 Гормоны
- 11 Обмен веществ и энергии
- 12 Обмен углеводов
- 13 Синтез углеводов
- 14 Обмен липидов
- 15 Обмен белков
- 16 Обмен сложных белков: нуклеопротеидов и хромопротеидов.
- 17 Обмен сложных белков. Цикл мочевины.

Биологическая химия - это наука, изучающая химический состав органов и тканей организмов и химические процессы и превращения, лежащие в основе их жизнедеятельности.

Современная биохимия охватывает большую область человеческого знания. В связи с огромным объемом фактического материала и разнообразием теоретических знаний биохимия делится на ряд разделов, каждый из которых имеет самостоятельное значение. По подходам к изучению живой материи биохимия делится на:

1 *Статистическую*, занимающуюся исследованием химического (качественного и количественного) состава организма.

2 *Динамическую*, изучающую превращения химических соединений и взаимосвязанных с ними превращений энергии в процессе жизнедеятельности органических форм.

3 *Функциональную*, которая выясняет связи между строением химических соединений и процессами их видоизменения, с одной стороны и функцией субклеточных частиц, специализированных клеток, тканей или органов, включающих в свой состав упомянутые вещества, с другой.

В зависимости от объекта или направления исследований современная биохимия распадается на несколько самостоятельных разделов.

1 *Общая биохимия* рассматривает закономерности строения, содержания и преобразования в процессе жизнедеятельности организмов химических соединений, общих для живой материи в целом.

2 *Биоорганическая химия* выясняет физико-химические основы функционирования важнейших систем живой клетки, используя идеи, методы и приемы химии, включая структурный и стереохимический анализ, частичный и полный синтез природных соединений и их аналогов.

3 *Бионеорганическая химия* исследует структуру и функциональную активность комплексов неорганических ионов с органическими молекулами (лигандами), их участие в процессах жизнедеятельности.

4 *Биохимия животных* изучает состав животных организмов и превращения в них веществ и энергии.

5 *Биохимия растений* исследует состав растительных организмов и превращения в них веществ и энергии.

6 *Биохимия микроорганизмов* изучает те же вопросы, но применительно для микроорганизмов.

7 *Медицинская биохимия* исследует состав и превращение веществ и энергии в организме человека в норме и патологии.

8 *Техническая биохимия* выясняет состав важнейших пищевых продуктов, изучает превращения, происходящие при их производстве и хранении, а также разрабатывает способы применения биохимических процессов в промышленности.

1 История развития науки и методы изучения биохимии

1.1 Области исследований биохимии

1 *Типы органических соединений и их структура.* Фундаментальное значение имело составление перечня органических относительно простых соединений – аминокислот, сахаров и жирных кислот, затем более сложных – пигментов (придающие окраску, например, цветкам), витаминов и коферментов (небелковые компоненты ферментов), а заканчивается гигантскими молекулами белков и нуклеиновых кислот.

2 Метаболические пути. Биохимия выясняет пути биосинтеза природных соединений из более простых веществ, т.е. из компонентов пищи у животных и из диоксида углерода и минеральных веществ (в ходе фотосинтеза) у растений, расщепление природных соединений у животных, растений и микроорганизмов (в частности, у бактерий).

3 Структура и функции макромолекул. Третье направление биохимии связано с анализом связи между структурой и функцией биологических макромолекул. Так, биохимики пытаются понять, какие особенности структуры белковых катализаторов лежат в основе их специфичности, т.е. способности ускорять строго определенные реакции; как выполняют свои функции сложные полисахариды, входящие в состав клеточных стенок и мембран; каким образом сложные липиды, присутствующие в нервной ткани, участвуют в функционировании нервных клеток – нейронов.

4 Функционирование клеток – раскрытие механизмов функционирования специализированных клеток. Исследуются, например, следующие вопросы: как происходит сокращение мышечных клеток, как определенные клетки формируют костную ткань, каким образом эритроциты переносят кислород от легких к тканям и забирают из тканей углекислый газ, каков механизм синтеза пигментов в клетках растений и т.д.

5 Генетические аспекты. Исследования, начавшиеся в 1940-х годах и проводившиеся на грибах и бактериях, а затем на высших организмах, включая человека, показали, что обычно в результате мутации генов в клетках перестают протекать определенные биохимические реакции. Эти наблюдения привели к созданию концепции гена как информационной единицы, отвечающей за синтез специфического белка. Если белок является ферментом, а кодирующий его ген подвергся мутации (т.е. изменился), то клетка утрачивает способность осуществлять реакцию, которую этот фермент должен был бы катализировать.

В недрах биохимии, на стыке биологии, химии, физики, математики и кибернетики, зародилась наука об особенностях строения и свойств молекул, обеспечивающих существование биологической формы движения материи, - *молекулярная биология*.

Область исследований, лежащую в сфере и биохимии и генетики, обычно называют молекулярной биологией.

Многие биохимические исследования направлены на выяснение деталей репликации нуклеиновых кислот и механизма синтеза белков, а потому тесно связаны с генетикой. Проект «Геном человека» – грандиозный международный проект в области молекулярной биологии и генетики, в котором принимают участие коллективы ученых из многих стран. Цель проекта – построить генетические карты 23 хромосом человека с точным указанием положения всех десятков тысяч генов на этих хромосомах и в конечном итоге определить структуру хромосом, т.е. последовательность примерно 3 млрд. пар азотистых оснований, из которых состоит хромосомная ДНК. Эти исследования позволят создать доступную для всех ученых базу данных, представляющих большую ценность для изучения генетики человека, а главное – помогут биохимикам раскрыть механизмы наследственных болезней.

6 Медицинская биохимия. С каждым годом все большее число болезней удается связать с теми или иными нарушениями метаболизма. Совместные усилия биохимиков и врачей позволили раскрыть природу нарушений, лежащих в основе таких заболеваний, как сахарный диабет и серповидноклеточная анемия и др.

1.2 История развития биохимии

Можно выделить основные этапы развития биохимической науки.

1 “Протобиохимия”. Концепции процессов жизнедеятельности и их природы, развиваемые в древности, античности, в период средневековья. Концепции жизнедеятельности в Эпоху Возрождения, привлечение их для описания и объяснения химических процессов.

2 Экспериментальное изучение процессов жизнедеятельности в 17-18 вв. Первые химические теории и объяснения процессов дыхания, пищеварения, брожения.

3 “Новая химия” и изучение методами химии живых организмов и процесс жизнедеятельности. Первый кризис методологии в области взаимодействия химии и биологии.

4 Формирование биологической химии в рамках редуccionистских программ биологии второй половины 19 века.

5 Развитие классической биологической химии.

6 Прогресс биохимии и революция в биологии во второй половине 20 века – формирование физико-химической биологии. Методологические, эмпирические и теоретические основы этого процесса. Интегрирующая роль физико-химической биологии в системе биологических наук.

Изучение живой материи с химической стороны началось с того момента, когда возникла необходимость исследования составных частей живых организмов и совершающихся в них химических процессов в связи с запросами практической медицины и сельского хозяйства. Так, один из виднейших представителей ятрохимии – немецкий врач и естествоиспытатель Ф. Парацельс выдвинул прогрессивное положение о необходимости тесной связи химии с медициной, подчёркивая при этом, что задача алхимии не в изготовлении золота и серебра, а в создании того, что является силой и добродетелью медицины. Ятрохимики ввели в медицинскую практику препараты ртути, сурьмы, железа и других элементов. Позже И. Ван-Гельмонт высказал предположение о наличии в “соках” живого тела особых начал, так называемых “ферментов”, участвующих в разнообразных химических превращениях.

В 17-18 вв. Лавуазье развивал более ранние наблюдения Майова, что при дыхании, как и при горении органических веществ, поглощается кислород и выделяется углекислый газ. Одновременно им же, вместе с Лапласом, было показано, что процесс биологического окисления является и источником животной теплоты. Это открытие стимулировало в начале 19 века определение количества тепла, выделяемого при сгорании углеводов, жиров и белков.

Крупными событиями второй половины 18 века стали исследования Р.Реомюра и Л.Спалланцани по физиологии пищеварения. Эти исследователи впервые изучили действие желудочного сока животных и птиц на различные виды пищи (главным образом мясо) и положили начало изучению ферментов пищеварительных соков. Возникновение энзимологии (учение о ферментах), обычно связывают с именами К.С. Кирхгофа, а также Пейена и Персо, впервые изучивших действие на крахмал фермента амилазы *in vitro*.

Важную роль сыграли работы Пристли и, особенно, Ингенхауса, открывших явление фотосинтеза (конец 18 века).

Успехи статической биохимии с самого начала были неразрывно связаны с развитием органической химии.

Толчком к развитию химии природных соединений явились исследования шведского химика К. Шееле (1742-1786 гг.). Он выделил и описал свойства природных соединений – молочной, винной, лимонной, щавелевой, яблочной кислот, глицерина и др. Достигнутые успехи – синтез в 1828 году мочевины, уксусной кислоты (1844 г.), жиров (1850 г.), углеводов (1861 г.) – имели особенно большое значение, так как показали возможность синтеза *in vitro* ряда органических веществ, входящих в состав животных тканей или же являющихся конечными продуктами обмена. Во второй половине 18 – начале 19 века были проведены и другие важные исследования: из мочевых камней была выделена мочевая кислота, из желчи – холестерин, из меда – глюкоза и фруктоза, из листьев зеленых растений – пигмент хлорофилл, в составе мышц был открыт креатин. Было показано существование особой группы органических соединений – растительных алкалоидов, нашедших позднее применение в медицинской практике. Из желатины и бычьего мяса путем их гидролиза были получены первые аминокислоты: глицин и лейцин.

Во Франции в лаборатории К. Бернара в составе ткани печени был открыт гликоген (1857), изучены пути его образования и механизмы, регулирующие его расщепление. В Германии в лабораториях Э. Фишера, А. Косселя и других были изучены структура и свойства белков, а также продуктов их гидролиза.

В связи с описанием дрожжевых клеток (1836-1838гг.) начали активно изучать процесс брожения (Либих, Пастер и др.). Вопреки мнению Либиха, рассматривавшего процесс брожения как чисто химический, протекающий с обязательным участием кислорода, Л. Пастер установил возможность существования анаэробнозиса, то есть жизни в отсутствие воздуха, за счет энергии брожения.

Подлинный расцвет биохимии наступил в 20 веке. В самом начале его была сформулирована и экспериментально обоснована полипептидная теория строения белков (Э. Фишер 1901-1902гг.). Позднее был разработан ряд аналитических методов, позволяющих изучить аминокислотный состав белка (хроматография, рентгеноструктурный анализ, метод изотопной индикации, электронная микроскопия). Расшифровывается первичная, вторичная, третичная и четвертичная структура многих белков. Синтезируется ряд важных белковых веществ.

Блестящие работы Чаргаффа, Дж. Уотсона и Ф. Крика завершаются выяснением структуры ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоты). Устанавливается двухспиральная структура ДНК и роль ее в передаче наследственной информации. Осуществляется синтез ДНК и РНК. Решается (1962 и последующие годы) одна из центральных проблем современной биохимии – расшифровывается РНК – аминокислотный код. Вводится понятие о молекулярных болезнях, связанных с определенными дефектами в структуре ДНК хромосомного аппарата клетки.

Ранее классическими исследованиями И. П. Павлова и его школы раскрываются основные физиологические и биохимические механизмы работы пищеварительных желез. Устанавливается существование заменимых и незаменимых аминокислот, разрабатываются нормы белка в питании. Особое место заняло изучение нарушений азотистого обмена у животных и человека при белковой недостаточности. Детально исследуются продукты распада гемоглобина, расшифровываются пути образования гема.

Достигнуты успехи в расшифровке структуры липидов: фосфолипидов, цереброзидов, ганглеозидов. Создается теория β -окисления жирных кислот. Разработаны современные представления о путях окисления и синтеза жирных кислот и сложных липидов. Значительный прогресс достигнут при изучении механизма биологического окисления, тканевого дыхания.

В. А. Энгельгардом, а также Липманом было введено понятие о “богатых энергией” фосфорных соединениях, в частности АТФ, в макроэргических связях которых аккумулируется значительная часть энергии, освобождающейся при тканевом дыхании.

20 век ознаменовался расшифровкой химического строения всех известных в настоящее время витаминов. Вводятся международные единицы витаминов, устанавливаются потребности в витаминах человека и животных, создается витаминная промышленность.

Не менее значительные успехи достигнуты в области биохимии гормонов. Получены первые данные о механизме действия гормонов на обмен веществ. Расшифрован механизм регуляции функций эндокринных желез по принципу обратной связи.

Возникает новое направление в биохимии – нейробиохимия. Установлены особенности в химическом составе нервной ткани. Широко используются, особенно в сельском хозяйстве ингибиторы холинэстеразы (медиатора, действующего на нервные окончания) для борьбы с насекомыми-вредителями.

1.3 Методы изучения

Основным объектом биохимии является изучение обмена веществ и энергии. Совокупность процессов, неразрывно связанных с жизнедеятельностью, принято называть *обменом веществ*.

Обмен веществ на уровне целого организма изучают путем определения количества вещества, поступившего в организм и выделившегося из него. Обмен энергии устанавливают методом колориметрии, определяя энергетическую ценность питательных веществ и энергозатраты организма.

Обменные процессы на уровне отдельного органа изучают методом *ангистомии*, предложенного Е.С.Лондоном. При этом сосуды исследуемого органа выводят наружу и в оттекающей от него крови определяют различные вещества, введенные в кровоток, их превращения.

Метод переживающих тканей предполагает выделение их из организма и содержание их в среде, обеспечивающей нормальное функционирование и определение образующихся в ходе их жизнедеятельности продуктов обмена (метод тканевых срезов).

Методами экстрактов (вытяжки) или *гомогенатов* (измельченная кашица клеток) исследуют на уровне клеток, когда изучают превращения вводимых в среду веществ.

В развитии современной биохимии важную роль сыграла разработка ряда специальных методов исследования: изотопной индикации, дифференциального центрифугирования, спектрофотометрии и др.

Изотопный метод используется при синтезе веществ, в молекулы которых вводят атомы радиоактивного элемента, или тяжелого изотопа. Например, использование ^{15}N позволило обнаружить высокую скорость обновления белков в тканях, ^{32}P , ^{35}S – помогло изучить процессы обмена серы и фосфора.

Метод электрофореза основан на том, что в электрическом поле молекулы различных веществ, обладающих зарядом, передвигаются с разной скоростью.

Хроматографические методы (М.С.Цвет) – обеспечивает разделение и определение различных веществ. Сущность метода состоит в том, что различные вещества обладают различной способностью адсорбироваться на определенных веществах (адсорбентах) и соответственно с этим разделяться, (колончатая, газовая, тонкослойная и др.)

1.4 Значимость биохимии как науки

Сейчас уже невозможно представить ни одну науку, которая бы не обходилась без достижений биохимии. Значение биологической химии нельзя не учитывать. Она имеет как научное, так и практическое значение.

Фармацевтическая промышленность использует результаты биохимических исследований для производства различных препаратов: витаминов, ферментов, кровоостанавливающих лекарств, антибиотиков и т. д.

В сельском хозяйстве биохимию используют для борьбы с насекомыми-вредителями, для создания удобрений, для селекции сортов растений и пород животных.

В генетике только благодаря использованию биохимических процессов и реакций возможно выделение генов, расшифровка генетического кода, воздействие на патологические гены с целью борьбы с генетическими заболеваниями.

В пищевой промышленности используют достижения биохимии для производства детского питания, для обработки продуктов, подлежащих консервированию, для производства кисломолочных продуктов.

Также биохимию использует такая наука как радиология. Есть даже отдельная наука – радиационная биохимия. Она изучает изменения обмена веществ, возникающие в организме при действии на него ионизирующего излучения.

Воздействие радиации на организм может вызвать биохимические процессы. Эти процессы могут привести к развитию лучевой болезни, рака, лейкозов, врождённых пороков развития у детей, бесплодия и ряд других заболеваний.

Соответственно можно полагать, что биохимия имеет большее влияние в медицине. В современной практике врачи проводят биохимические исследования крови, мочи, желудочного сока, спинномозговой жидкости и др. Теперь можно ставить диагноз сразу же после биохимических исследований, например, по таким заболеваниям как гепатита, почечной недостаточности, анемии, мочекаменной болезни, сахарного диабета и многих других.

Приоритетной задачей биохимии и молекулярной биологии является полная расшифровка и корректировка дефектов генетического аппарата.

Еще одной из приоритетных задач является овладение механизмом регуляции считки генетической информации, закодированной в ДНК. Есть еще одна проблема, это терапия ряда вирусных заболеваний (например, лейкоза). Эта проблема будет оставаться проблемой, пока не будет полностью ясен механизм взаимодействия вирусов (таких как онкогенных) с инфицируемой клеткой. В данное время множество лабораторий по всему миру занято этой проблемой.

2 Аминокислоты, их строение и свойства

2.1 Элементарный состав белков

В настоящее время установлено, что в живой природе не существует небелковых организмов. Белки наиболее важная часть веществ, входящих в состав организма. Впервые белки были обнаружены схожие с яичным белком Н.Мульдером (1838), который назвал их протеинами (протос - первый), основываясь на представлении, что протеины – важнейшая часть живой материи, без которой невозможна жизнь. «Повсюду, где мы встречаем жизнь, мы находим, что она связана с каким либо белковым телом, и повсюду, где мы встречаем какое-либо белковое тело, не находящееся в стадии разложения мы без исключения встречаем и явления жизни» (Ф. Энгельс)

Белки – это высокомолекулярные полимерные соединения, образующие при гидролизе аминокислоты.

В организмах обнаружено свыше 60 химических элементов, которые названы биоорганическими – это **C, H, N, O, S, P, Na, K, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Mo, B, V, I, Cl**.

Макроэлементы – это вещества, концентрации которых превышают 0,001% (O, C, H, Ca, N, P, S, Mg, Na, Cl, Fe); микроэлементы, доля которых составляет 0,001-0,000001% (Mn, Zn, Cu, B, Mo, Co); а также ультра-микроэлементы, содержание которых не превышает 0,000001% (Hg, Au, U, Ra).

В состав клетки входят такие вещества как вода, (70%), углеводы (3%), аминокислоты (0,4%), нуклеотиды (0,4%), липиды (2%), белки (15%), ДНК (1%) РНК (6%), неорганические ионы (1%).

2.2 Аминокислотный состав белков

Аминокислоты (*аминокарбоновые кислоты*) — органические соединения, в молекуле которых одновременно содержатся карбоксильные и аминные группы. Аминокислоты могут рассматриваться также как производные карбоновых кислот, в которых один или несколько атомов водорода заменены на аминные группы. В процессе биосинтеза белка в полипептидную цепь включаются 20 важнейших α-аминокислот.

Таблица 1 - Важнейшие α-аминокислоты

Аминокислота	Формула	Сокр. обозначение	pKa(NH ₃ ⁺) pKa(COOH), pKa(R)	pI
1	2	3	4	5
α-аминокислоты с неполярным (гидрофобным) заместителем				
<u>Аланин</u>	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ - \text{CH}_2 - \text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	(Ala, Ала)	2,3 9,7	6,0
<u>Валин</u> (незаменимая)	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{CH}_3 \end{array}$	(Val, Вал)	2,3 9,6	6,0
<u>Лейцин</u> (незаменимая)	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{CH}_3)_2 \end{array}$	(Leu, Лей)	2,4 9,6	6,0
<u>Изолейцин</u> (незаменимая)	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_3 \end{array}$	(Ile, Иле)	2,4 9,7	6,1
<u>Пролин</u>	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}^+ - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \quad \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}_2 \\ \quad \backslash / \\ \quad \text{CH}_2 \end{array}$	(Pro, Про)	2,0 10,6	6,3
<u>Фенилаланин</u> (незаменимая)	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	(Phe, Фен)	1,8 9,1	5,5
<u>Триптофан</u> (незаменимая)	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_2 - \text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2 \end{array}$	(Trp, Три)	2,4 9,4	5,9
<u>Метионин</u> (незаменимая)	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{SCH}_3 \end{array}$	(Met, Мет)	2,3 9,2	5,8
α-аминокислоты с полярным (гидрофильным) заместителем				
<u>Глицин</u>	$\text{NH}_3^+ - \text{CH}_2 - \text{COO}^-$	(Gly, Гли)	2,3 9,6	6,0
<u>Серин</u>	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	(Ser, Сер)	2,2 9,2	5,7
<u>Треонин</u>	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{OH} \end{array}$	(Thr, Тре)	2,6 10,4	6,5
<u>Аспарагин</u>	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \quad \quad \quad \text{O} \\ \quad \quad \quad // \\ \text{CH}_2 - \text{C} \\ \quad \quad \quad \backslash \\ \quad \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	(Asn, Асн)	2,0 9,8	5,4
<u>Глутамин</u>	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \quad \quad \quad \text{O} \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{CH}_2 - \text{C} \\ \quad \quad \quad \backslash \\ \quad \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	(Gln, Глн)	2,2 9,1	5,7

2.3.1 Классификация аминокислот по R-группам

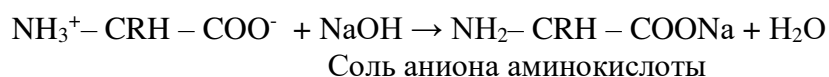
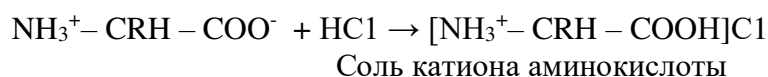
- 1 Неполярные: *аланин, валин, изолейцин, лейцин, метионин, пролин, триптофан, фенилаланин*
- 2 Полярные незаряженные: *аспарагин, глицин, глутамин, серин, тирозин, треонин, цистеин*
- 3 Заряженные отрицательно при pH=7: *аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота*
- 4 Заряженные положительно при pH=7: *аргинин, гистидин, лизин*

2.3.2 Классификация аминокислот по функциональным группам

- 1) Алифатические
 - a) Моноаминомонокарбоновые: *аланин, валин, глицин, изолейцин, лейцин*
 - b) Оксимоноаминокарбоновые: *серин, треонин*
 - c) Моноаминодикарбоновые: *аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота*, за счёт второй карбоксильной группы несут в растворе отрицательный заряд
 - d) Амиды Моноаминодикарбоновых: *аспарагин, глутамин*
 - e) Диаминомонокарбоновые: *аргинин, гистидин, лизин*, несут в растворе положительный заряд
 - f) Серосодержащие: *цистеин (цистин), метионин*
- 2) Ароматические: *фенилаланин, тирозин*
- 3) Гетероциклические: *триптофан, гистидин, пролин*

2.4 Общие химические свойства

Аминокислоты могут проявлять как кислотные свойства, обусловленные наличием в их молекулах карбоксильной группы -COOH, так и основные свойства, обусловленные аминогруппой -NH₂, т.е. они являются амфолитами.



Растворы аминокислот в воде благодаря этому обладают свойствами *буферных растворов*.

Аминокислоты, которые могут находиться в трех формах: молекула, катион и анион, - называются нейтральными. Из 20 аминокислот 13 нейтральные: ала, асп, вал, гли, глн, иле, лей, мет, про, сер, тре, три, фен. Каждая из них в водных растворах по мере увеличения значения pH может находиться в сильнокислой среде в виде аниона, при pH = 7 – молекула, в щелочной среде – аниона

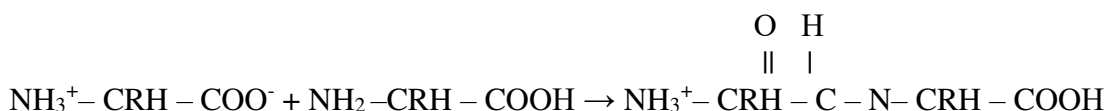
Цвиттер-ионом называют молекулу аминокислоты, в которой аминогруппа представлена в виде -NH₃⁺, а карбоксигруппа — в виде -COO⁻. Такая молекула обладает значительным дипольным моментом при нулевом суммарном заряде. Именно из таких молекул построены кристаллы большинства аминокислот. Некоторые аминокислоты имеют несколько аминогрупп и карбоксильных групп. Для этих аминокислот трудно говорить о каком-то конкретном цвиттер-ионе.

Биполярно-ионная структура молекул аминокислот проявляется и в их физических свойствах: аминокислоты – бесцветные кристаллические вещества с высокими

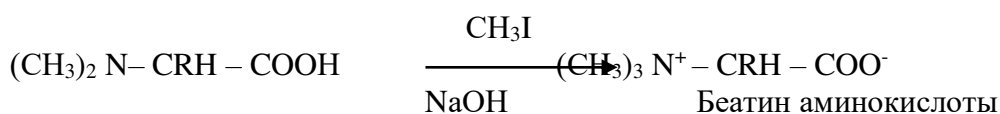
CH₂COOH
Аспарагиновая кислота

CH₂CONH₂
аспарагин

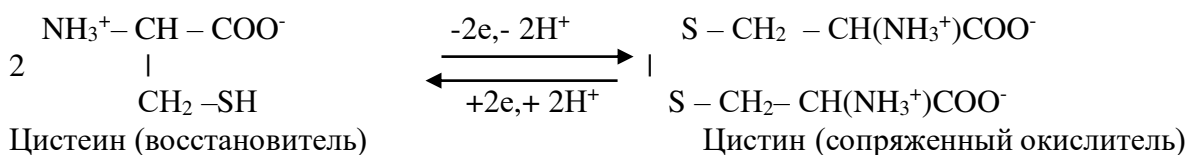
При взаимодействии двух аминокислот со свободной аминогруппой и с активированной карбоксильной группой образуются *дипептиды*:



2) Реакции алкилирования

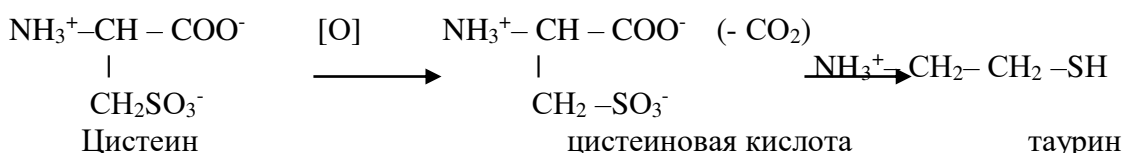


Окислительно-восстановительные свойства. Тиол-дисульфидное равновесие. Цистеин как все тиолы, выступая восстановителем, легко окисляется, образуя цистин, являющийся дисульфидом цистеина.

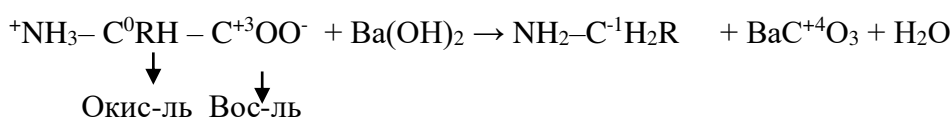


При радиационном воздействии в водных средах организма возникают сильные окислители ·OH, ·HO₂, H₂O₂, ·O₂, а также и другие токсиканты – короткоживущие сильные восстановители: гидратированный электрон, и атомарный водород. Сопряженный окислитель-восстановитель цистеин-цистин активно взаимодействует и с теми и с другими, нейтрализуя их.

При полном окислении цистеина образуется цистеиновая кислота, которая потом в результате реакции декарбоксилирования образует таурин. Таурин, взаимодействуя с холевой кислотой, образует таурохолевую кислоту, которая участвует в дальнейшем в эмульгировании жиров.

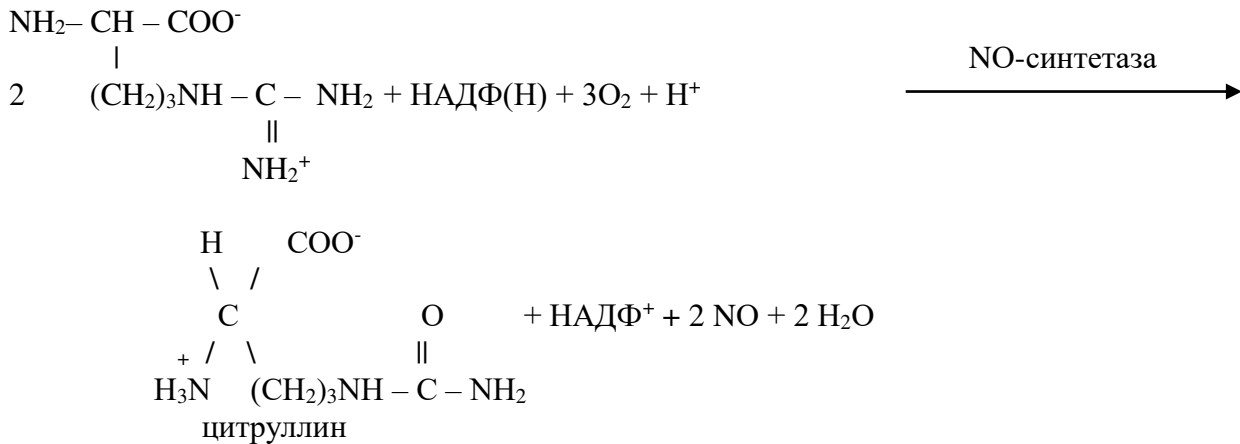


Декарбоксилирование. В лабораторных условиях протекает при участии Ba(OH)₂



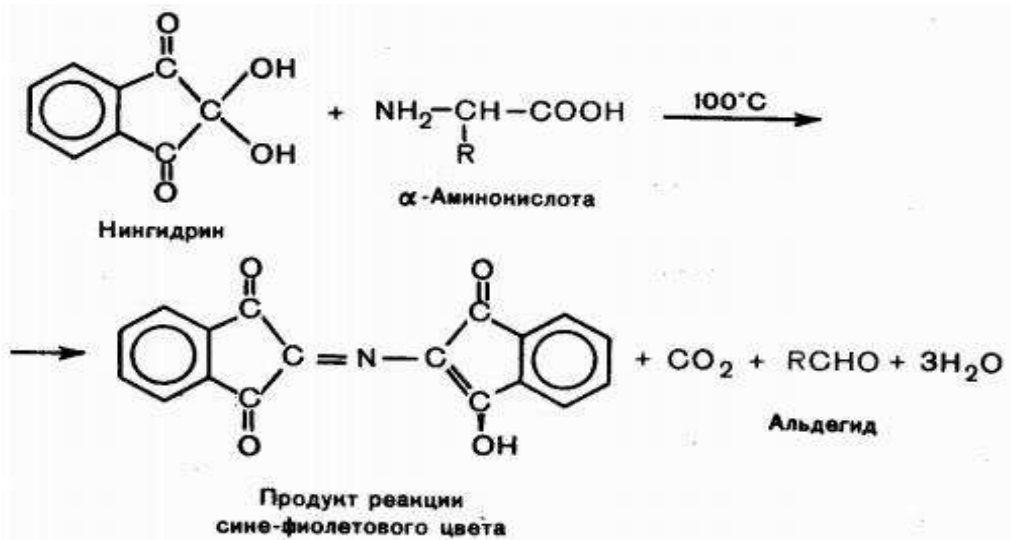
При декарбоксилировании α-аминокислот в организме синтезируются *биогенные амины*, выполняющие важные биологические функции:

б) Частичное взаимодействие аргинина молекулой кислорода, в результате которого образуется цитруллин, один из продуктов цикла мочевины.

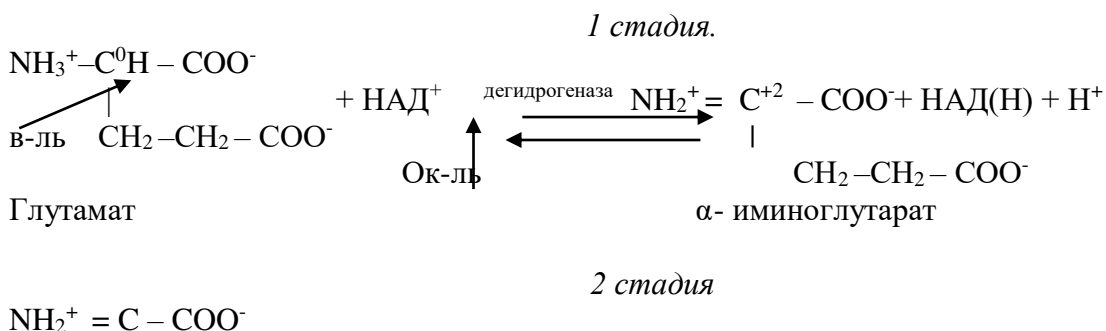


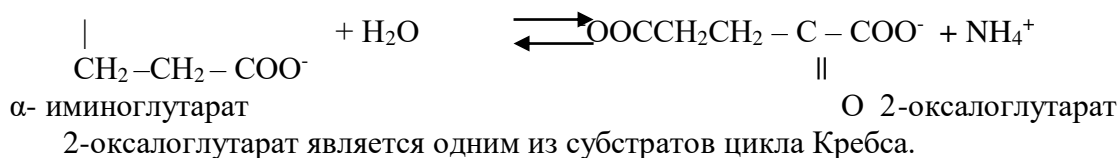
Образующийся оксид азота (II) быстро используется в иммунной системе для устранения ксенобиотиков, а также для регуляции кровяного давления за счет расслабления мышц кровеносных сосудов.

Взаимодействие с нингидрином. Общая качественная реакция α-аминокислот заключается во взаимодействии с нингидрином в водных растворах при нагревании и появлении сине-фиолетовой окраски, интенсивность которой зависит от концентрации α-аминокислот.

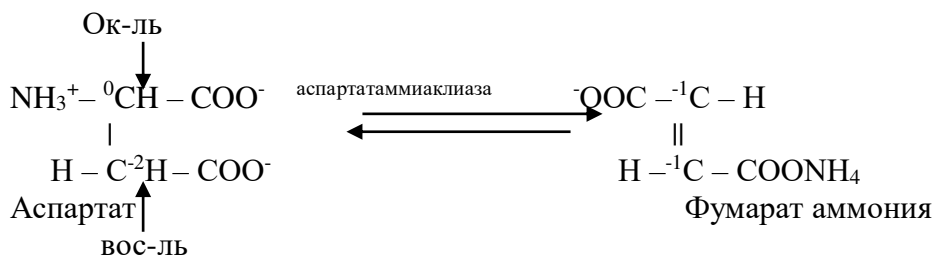


Взаимодействие с дегидрогеназой. В организме аланин, аспарагиновая и глутаминовая кислота подвергаются окислительному дезаминированию под действием соответствующих дегидрогеназ с коферментом НАД⁺ или НАДФ⁺.



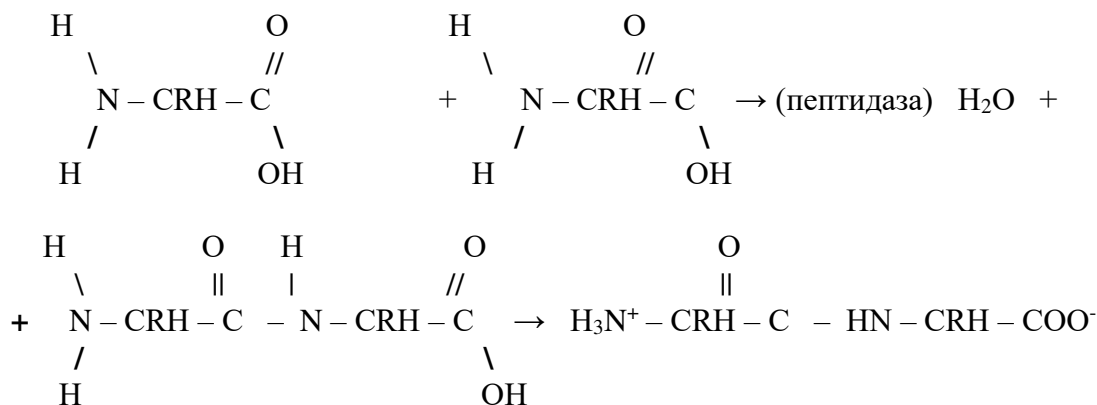


Внутримолекулярное дезаминирование.

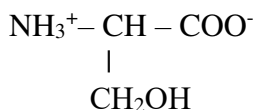


Важной особенностью аминокислот является их способность к **поликонденсации**, приводящей к образованию полиамидов, в том числе пептидов, белков и нейлона-6.

При ацилировании аминокислот со свободной аминогруппой аминокислотой с активированной карбонильной группой образуются дипептиды, а при дальнейшем взаимодействии с другими аминокислотами возникают и три- и полипептиды.



Изомерия Все входящие в состав живых организмов α -аминокислоты, кроме *глицина*, содержат ассиметричный атом углерода (*треонин* и *изолейцин* содержит два ассиметричных атома) и обладают оптической активностью. Почти все встречающиеся в природе α -аминокислоты имеют L-форму и лишь они входят в состав белка.



Оптические изомеры аминокислот претерпевают медленную самопроизвольную неферментативную рацемизацию. Например, в белке *дентине* (входит в состав зубов) L-аспартат переходит в D-форму со скоростью 0,1% в год, что может быть использовано для определения возраста биологических объектов.

3 Строение и свойства белков. Методы их выделения и очистки

3.1 Содержание белков в органах и тканях

Наиболее богаты белковыми веществами ткани и органы животных. Источником белка являются также микроорганизмы и растения. Большинство белков хорошо растворимо в воде. Некоторые органические вещества, выделенные из хряща, волос, ногтей, рогов, костной ткани нерастворимые в воде были отнесены к белкам, поскольку по своему химическому составу оказались близки к белкам мышечной ткани, сыворотки крови, яйца.

В мышцах, легких, селезенке, почках на долю белков приходится более 70–80% от сухой массы, а во всем теле человека – 45% от сухой массы (Т.3). В отличие от животных тканей в растениях содержится значительно меньше белков (Т. 4).

Таблица 3 - Содержание белков в органах и тканях человека

Органы и ткани	Содержание белков, %		Органы и ткани	Содержание белков, %	
	От сухой массы	От общего количества белка тела		От сухой массы	От общего количества белка тела
Кожа	63	11,5	Почки	72	0,5
Кости (твердые ткани)	20	18,7	Поджелудочная железа	47	0,1
Зубы (твердые ткани)	18	0,1	Печень	57	3,6
Поперечнополосатые мышцы	80	34,7	Пищеварительный тракт	63	1,8
Мозг и нервная ткань	45	2,0	Жировая ткань	14	6,4
Сердце	60	0,7	Селезенка	84	0,2
Легкие	82	3,7	Все тело	45	100

Таблица 4 - Содержание белка в органах и тканях животных и растений

Органы животных	Содержание белков, % от массы свежей ткани	Органы растений	Содержание белков, % от массы свежей ткани
Мышцы	18-23	Семена	10-13
Печень	18-19	Стебли	1,5-3,0
Селезенка	17-18	Листья	1,2-3,0
Почки	16-18	Корни	0,5-3,0
Легкие	14-15	Фрукты	0,3-1,0
Мозг	7-9		

Элементный состав белков в пересчете на сухое вещество представлен 50–54% углерода, 21–23% кислорода, 6,5–7,3% водорода, 15–17% азота и до 0,5% серы. В составе некоторых белков присутствуют в небольших количествах фосфор, железо, марганец, магний, йод и др.

Таким образом, помимо углерода, кислорода и водорода, входящих в состав почти всех органических полимерных молекул, обязательным компонентом белков является азот, в связи с чем, белки принято обозначать как азотсодержащие органические вещества. Содержание азота более или менее постоянно во всех белках (в среднем 16%), поэтому

иногда определяют количество белка в биологических объектах по содержанию белкового азота.

3.2 Биологические функции белков

Функции белков чрезвычайно многообразны. Каждый данный белок как вещество с определенным химическим строением выполняет одну узкоспециализированную функцию и лишь в нескольких отдельных случаях – несколько взаимосвязанных. Например, гормон мозгового слоя надпочечников адреналин, поступая в кровь, повышает потребление кислорода и артериальное давление, содержание сахара в крови, стимулирует обмен веществ, а также является медиатором нервной системы у холоднокровных животных.

3.2.1 Каталитическая (ферментативная) функции

Все биохимические реакции в живых организмах протекают в мягких условиях при температурах, близких к 40°C, и значениях pH близких к нейтральным. В этих условиях скорости протекания большинства реакций ничтожно малы, поэтому для их приемлемого осуществления необходимы специальные биологические катализаторы – *ферменты*. Даже такая простая реакция, как дегидратация угольной кислоты: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ катализируется ферментом *карбоангидразой*. Вообще все реакции, за исключением реакции фотолитиза воды $2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- + \text{O}_2$ в живых организмах катализируются ферментами. Как правило, ферменты – это либо белки, либо комплексы белков с каким-либо *кофактором* – ионом металла или специальной органической молекулой.

3.2.2 Транспортная функция белков

Внутри клетки должны поступать многочисленные вещества, обеспечивающие ее строительным материалом и энергией. В то же время все биологические мембраны построены по единому принципу – двойной слой липидов, в который погружены различные белки, причем гидрофильные участки макромолекул сосредоточены на поверхности мембран, а гидрофобные “хвосты” – в толще мембраны. Такая структура непроницаема для таких важных компонентов, как сахара, аминокислоты, ионы щелочных металлов. Их проникновение внутрь клетки осуществляется с помощью специальных транспортных белков, вмонтированных в мембрану клеток. Например, у бактерий имеется специальный белок, обеспечивающий перенос через наружную мембрану молочного сахара – лактозы. Лактоза по международной номенклатуре обозначается β-галактозид, поэтому транспортный белок называют *β-галактозидпермеазой*.

Важным примером транспорта веществ через биологические мембраны против градиента концентрации является натрий-калиевый насос. В ходе его работы происходит перенос трех положительных ионов Na^+ из клетки на каждые два положительных иона K^+ в клетку. Эта работа сопровождается накоплением электрической разности потенциалов на мембране клетки. При этом расщепляется АТФ, давая энергию. Молекулярная основа натрий-калиевого насоса была открыта недавно, это оказался фермент, расщепляющий АТФ, – *натрий-калийзависимая АТФ-аза*. Насос действует по принципу открывающихся и закрывающихся каналов. Связывание молекул “канального” белка с ионом натрия приводит к нарушению системы водородных связей, в результате чего меняется его конформация. Обычная α-спираль, в которой на каждый виток приходится по 3,6 аминокислотного остатка, переходит в более “рыхлую” π-спираль (4,4 аминокислотного остатка). В результате образуется внутренняя полость, достаточная для прохождения иона натрия, но слишком узкая для иона калия. После прохождения Na^+ π-спираль переходит в туго свернутую β-спираль.

У многоклеточных организмов существует система транспорта веществ от одних органов к другим, например, гемоглобин. Кроме того, в плазме крови постоянно находится транспортный белок – *сывороточный альбумин*. Этот белок обладает уникальной способностью образовывать прочные комплексы с жирными кислотами, образующимися при переваривании жиров, с некоторыми гидрофобными аминокислотами (например, с триптофаном), со стероидными гормонами, а также с лекарствами, такими, как аспирин, сульфаниламиды, некоторые пенициллины. В качестве еще одного распространенного примера белка-переносчика можно привести *трансферрин* (обеспечивает перенос ионов железа) и *цериплазмин* (переносчик ионов меди).

3.2.3 Рецепторная функция

Большое значение, в особенности для функционирования многоклеточных организмов, имеют *белки-рецепторы*, вмонтированные в плазматическую мембрану клеток и служащие для восприятия и преобразования различных сигналов, поступающих в клетку, как от окружающей среды, так и от других клеток. В качестве наиболее исследованных можно привести *рецепторы ацетилхолина*, находящиеся на мембране клеток в ряде межнейронных контактов, в том числе в коре головного мозга, и у нервно-мышечных соединений.

3.2.4 Защитная функция

Иммунная система обладает способностью отвечать на появление чужеродных частиц выработкой огромного числа лимфоцитов, способных специфически повреждать чужеродные клетки, например патогенные бактерии, раковые клетки, надмолекулярные частицы, такие как вирусы, макромолекулы, включая чужеродные белки. Одна из групп лимфоцитов – *β-лимфоциты*, вырабатывает особые белки, выделяемые в кровеносную систему, которые узнают чужеродные частицы, образуя при этом высокоспецифичный комплекс на этой стадии уничтожения. Эти белки называются *иммуноглобулины*. Чужеродные вещества, вызывающие иммунный ответ называют *антигенами*, а соответствующие к ним иммуноглобулины – *антителами*. Если в роли антигена выступает большая молекула, например, молекула белка, то антитело опознает не всю молекулу, а ее определенный участок, называемый *антигенной детерминантой*. Тот факт, что иммуноглобулины взаимодействуют со сравнительно небольшой частью полимерного антигена, позволяет вырабатывать антитела, специфично узнающие некоторые небольшие молекулы, не встречающиеся в живой природе. Классический пример – динитрофенильный остаток. При введении экспериментальным животным конъюгата динитрофенола с каким-либо белком начинается выработка антител, специфично узнающих различные производные динитрофенола. Но при введении чистого динитрофенола, иммунного ответа нет. Такие вещества, способные служить антигенными детерминантами, но сами не способные вызвать иммунный ответ, называются *гаптенами*.

Согласно современным представлениям, каждый тип иммуноглобулина вырабатывается группой β-лимфоцитов, произошедших от одного общего предшественника. Такую группу лимфоцитов называют *клоном*.

Процесс свертывания крови, защищающий организм от чрезмерной кровопотери происходит с участием белков фибриногена, тромбина и других факторов свертывания, тоже являющихся белками. Внутренние стенки пищевода, желудка выстланы защитным слоем слизистых белков – муцинов. Основу кожи, предохраняющей тело от многих внешних воздействий, составляет белок коллаген.

3.2.5 Структурная функция

Наряду с белками, выполняющими тонкие высокоспециализированные функции, существуют белки, имеющие в основном структурное значение. Они обеспечивают механическую прочность и другие механические свойства отдельных тканей живых организмов. В первую очередь это *коллаген* - основной белковый компонент внеклеточного матрикса соединительной ткани. У млекопитающих коллаген составляет до 25% общей массы белков. Коллаген синтезируется в фибробластах - основных клетках соединительной ткани. Первоначально он образуется в виде проколлагена - предшественника, который проходит в фибробластах определенную химическую обработку, состоящую в окислении остатков пролина до гидроксипролина и некоторых остатков лизина до δ -гидроксилизина. Коллаген формируется в виде трех скрученных в спираль полипептидных цепей, которые уже вне фибробластов объединяются в коллагеновые фибриллы диаметром несколько сотен нанометров, а последние - уже в видимые под микроскопом коллагеновые нити. Сухожилия, суставные сочленения, кости скелета образованы в значительной степени белками.

В эластичных тканях - коже, стенках кровеносных сосудов, легких - помимо коллагена внеклеточный матрикс содержит белок *эластин*, способный довольно в широких пределах растягиваться и возвращаться в исходное состояние.

Белки образуют основу протоплазмы любой живой клетки 20%, в комплексе с липидами они являются основным структурным материалом всех клеточных мембран, всех органелл. Печень состоит на 22% из белков, мозг - 11%, ногти, волосы, роговой слой кожи кератин, в мышцах, миозин и актин, в крови - альбумины и глобулины.

3.2.6 Двигательные белки

Мышечное сокращение является процессом, в ходе которого происходит превращение химической энергии, запасенной в виде макроэргических пирофосфатных связей в молекулах АТФ, в механическую работу. Непосредственными участниками процесса сокращения являются два белка - актин и миозин.

Миозин представляет собой белок необычного строения, состоящий из длинной нитевидной части (хвост) и двух глобулярных головок. Общая длина одной молекулы составляет порядка 1600 нм, из которых на долю головок приходится около 200 нм. Миозин обычно выделяется в виде гексамера, образованного двумя одинаковыми полипептидными цепями с молекулярной массой 200 000 каждая ("тяжелые цепи") и четырьмя "легкими цепями" с молекулярной массой около 20 000. Тяжелые цепи закручены спиралью одна вокруг другой, образуя хвост, и несут на одном конце глобулярные головки, ассоциированные с легкими цепями. На головках миозина находится два важных функциональных центра - каталитический центр, способный в определенных условиях осуществлять гидролитическое расщепление β - γ -пирофосфатной связи АТФ, и центр, обеспечивающий способность специфично связываться с другим мышечным белком - актином.

Актин является глобулярным белком с молекулярной массой 42 000. В таком виде его называют G-актином. Однако он обладает способностью полимеризоваться, образуя длинную структуру, называемую F-актином. В такой форме актин способен взаимодействовать с головкой миозина, причем важной чертой этого процесса является зависимость от присутствия АТФ. При достаточно высокой концентрации АТФ комплекс, образованный актином и миозином, разрушается. После того как под действием *миозиновой АТФазы* (фермент) произойдет гидролиз АТФ, комплекс снова восстанавливается.

3.3 Классификация белков

В настоящее время еще не разработана стройная система номенклатуры и классификации белков. Традиционная классификация белков по группам, основанная, скорее, на случайных показателях (физико-химические свойства, форма молекул, локализация и происхождение, аминокислотный состав), уже не отвечает полностью возросшему уровню знаний о их структуре и функциях. Из огромного количества природных белков структура и функции расшифрованы для относительно небольшого числа (не более нескольких сотен), и поэтому структура и функции белков пока не могут служить основой для их рациональной классификации. Пожалуй, только для одной группы белков, обладающих способностью катализировать химические реакции, т.е. ферментов, разработана стройная система номенклатуры и классификации, в основу которой положены типы катализируемых химических реакций и химическая природа реагирующих веществ. Однако полностью идентифицированные до сих пор ферменты также составляют незначительную долю белков (ферментов описано более 3000). Тем не менее, функциональный принцип, рекомендуемый некоторыми авторами, хотя и не может служить универсальной основой для классификации всех белков, представляет определенный интерес. В соответствии с функциональным принципом различают 12 главных классов белков:

- 1) каталитически активные белки (ферменты);
- 2) белки-гормоны (хотя есть и стероидные гормоны);
- 3) белки-регуляторы активности генома;
- 4) защитные белки (антитела, белки свертывающей системы крови);
- 5) токсические белки;
- 6) транспортные белки;
- 7) мембранные белки;
- 8) сократительные белки;
- 9) рецепторные белки;
- 10) белки-ингибиторы ферментов;
- 11) белки вирусной оболочки;
- 12) белки с иными функциями.

Были предприняты также попытки классифицировать белки, исходя из особенностей вторичной и третичной структуры. В соответствии с этим различают α -, β -, $\alpha\beta$ - и α/β -белки. α -Белки содержат только α -спирали (не менее 60%), β -белки – только β -структуры (не менее двух антипараллельных цепей), $\alpha\beta$ -белки – те и другие структуры в пределах одной полипептидной цепи (пример – молекулы лизоцима), а класс α/β -белков содержит множество α - и β -структур, чередующихся вдоль полипептидной цепи или домена.

Старая классификация белков с краткой характеристикой новых данных о структуре, составе и свойствах отдельных представителей.

Простые белки построены из остатков аминокислот и при гидролизе распадаются соответственно только на свободные аминокислоты.

Сложные белки – это двухкомпонентные белки, которые состоят из какого-либо простого белка и небелкового компонента, называемого простетической группой. При гидролизе сложных белков, помимо свободных аминокислот, освобождается небелковая часть или продукты ее распада.

Простые белки в свою очередь делятся на основании некоторых условно выбранных критериев на ряд подгрупп: протамины, гистоны, альбумины, глобулины, проламины, глютелины и др. Классификация сложных белков основана на химической природе входящего в их состав небелкового компонента. В соответствии с этим различают фосфопротеины (содержат фосфорную кислоту), хромопротеины (в состав их входят пигменты), нуклеопротеины (содержат нуклеиновые кислоты), гликопротеины (содержат углеводы), липопротеины (содержат липиды) и металлопротеины (содержат металлы).

3.4 Структуры белка

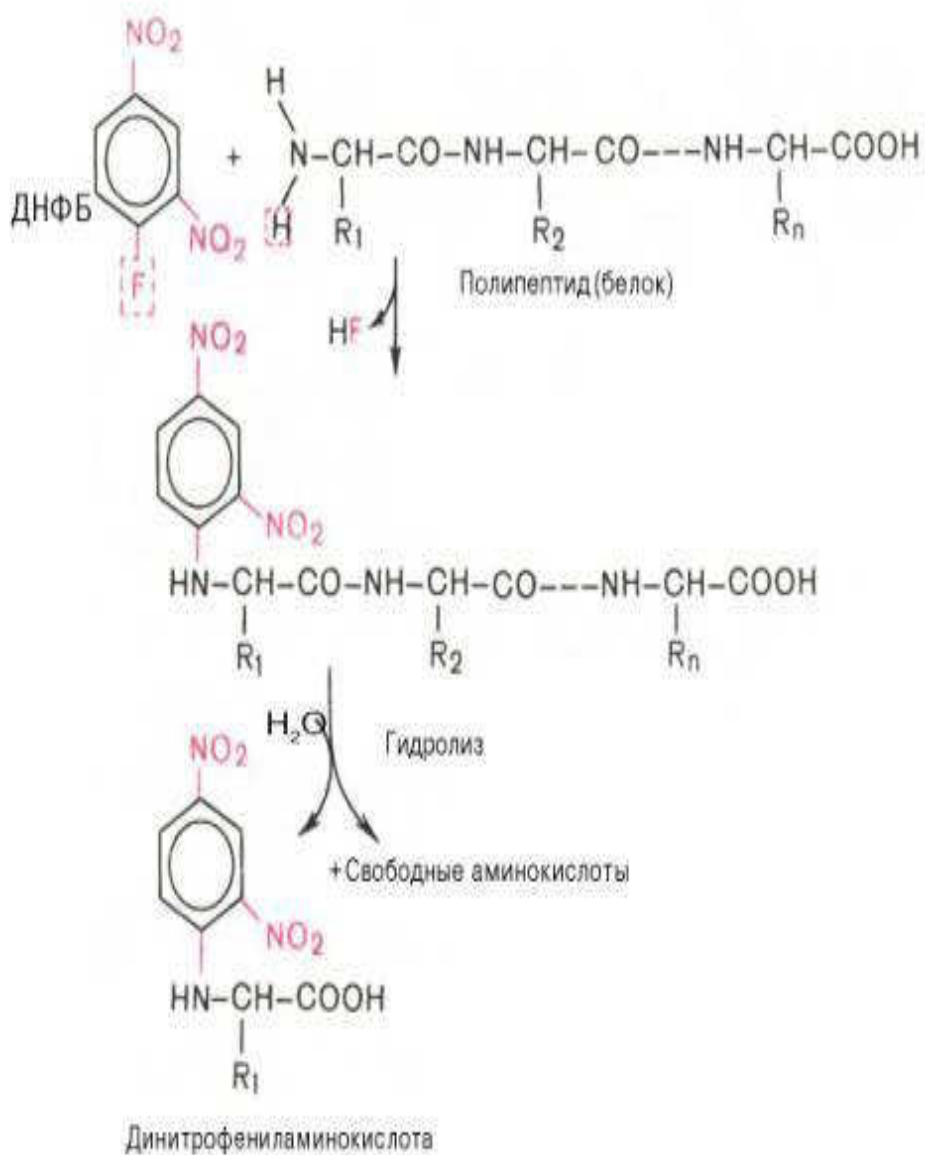
Получены доказательства предположения К. Линдерстрёма-Ланга о существовании 4 уровней структурной организации белковой молекулы: первичной, вторичной, третичной и четвертичной структуры. Техника современной белковой химии разработана настолько хорошо, что позволяет в принципе расшифровать структурную организацию любого белка.

Первичная структура белка. К настоящему времени расшифрована первичная структура десятков тысяч разных белков, что является несомненным достижением биохимии. Однако это число ничтожно мало, если учесть, что в природе около 10^{12} разнообразных белков. Под первичной структурой подразумевают порядок, последовательность расположения аминокислотных остатков в полипептидной цепи. Зная первичную структуру, местоположение каждого остатка аминокислоты, можно точно написать структурную формулу белковой молекулы, если она представлена одной полипептидной цепью.

Для определения первичной структуры полипептидной цепи в первую очередь методами гидролиза выясняют аминокислотный состав, точнее, соотношение каждой из 20 аминокислот в образце гомогенного полипептида. Затем приступают к определению химической природы концевых аминокислот полипептидной цепи, содержащей одну свободную NH_2 -группу и одну свободную COOH -группу.

Методы определения N-концевой аминокислоты. Для определения природы N-концевой аминокислоты предложен ряд методов, в частности метод Сэнджера (F. Sanger), основанный на реакции арилирования полипептида 2,4-динитрофторбензолом (ДНФБ), что приводит к образованию окрашенного в желтый цвет 2,4-динитрофенильного производного N-концевой аминокислоты. Раствор полипептида обрабатывают ДНФБ, который взаимодействует со свободной NH_2 -группой N-концевой аминокислоты пептида.

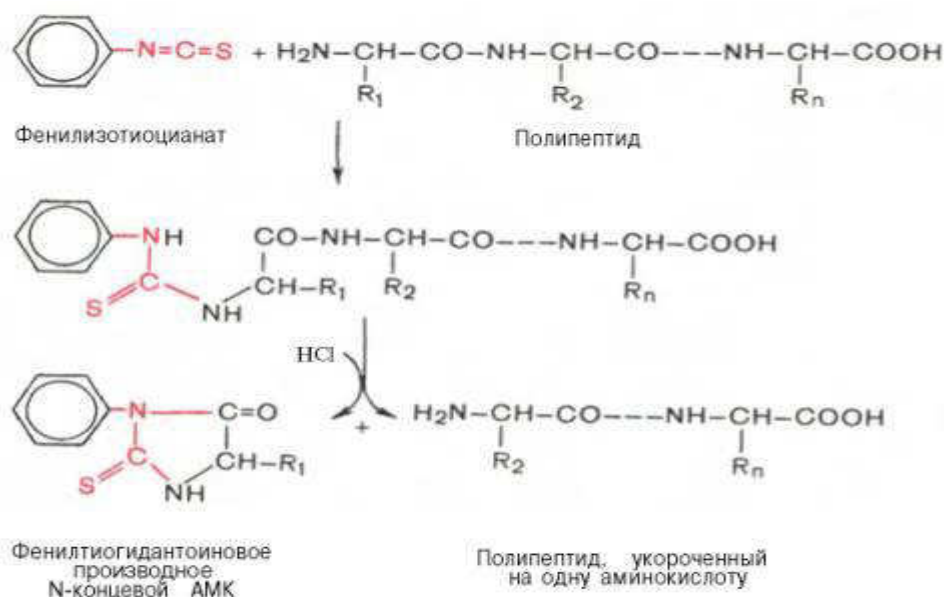
Определение N-концевой аминокислоты методом Сэнджера



После кислотного гидролиза продукта реакции – динитрофенилпептида только одна N-концевая аминокислота оказывается связанной с реактивом в виде 2,4-динитрофениламинокислоты (стабильной при гидролизе). В отличие от других образовавшихся при гидролизе полипептида свободных аминокислот она желтого цвета. Ее идентифицируют методом хроматографии.

Для определения N-концевой аминокислоты значительно более широко применяется фенилтиогидантоиновый метод Эдмана благодаря своей высокой чувствительности и возможности многократного использования в одной и той же пробе. Фенилизотиоцианат реагирует со свободной α -NH₂-группой N-концевой аминокислоты полипептида с образованием фенилтиокарбамоил-пептида.

Определение N-концевой аминокислоты методом Эдмана



Обработка продукта реакции кислотой приводит к циклизации и освобождению фенилтиогидантоина N-концевой аминокислоты, природу которого устанавливают хроматографически. Укороченный на одну аминокислоту полипептид подвергают дальнейшему анализу.

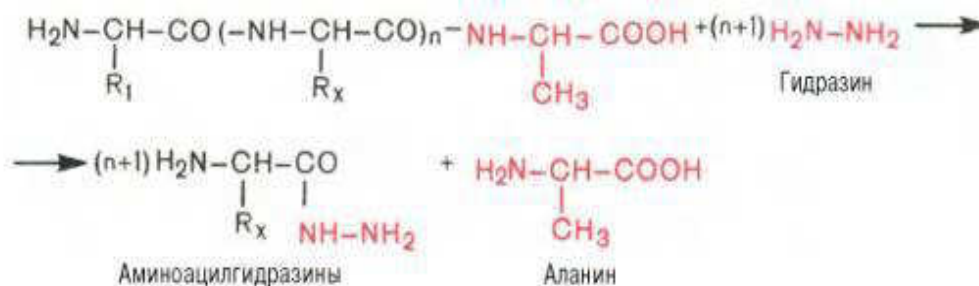
Эту процедуру ступенчатого расщепления пептида с N-конца можно повторять многократно, идентифицируя последовательно одну аминокислоту за другой. Метод Эдмана используется в качестве химической основы для определения первичной структуры белков и пептидов. Он реализован в специальном приборе – секвенаторе (от англ. sequence – последовательность), работающем в автоматическом режиме и позволяющем определить последовательность аминокислот с N-конца пептида до 50–60 аминокислотных остатков.

Для этих же целей иногда применяют ферменты экзопептидазы, в частности аланин- и лейцинаминопептидазу. Эти ферменты разрывают пептидные связи с того конца полипептида, где имеется свободная NH₂-группа, освобождая N-концевую аминокислоту.

Методы определения C-концевой аминокислоты. Для определения природы C-концевой аминокислоты часто используют ферментативные методы. Обработка полипептида карбоксипептидазой, которая разрывает пептидную связь с того конца пептида, где содержится свободная COOH-группа, приводит к освобождению C-концевой аминокислоты, природа которой может быть идентифицирована методом хроматографии.

Предложен также химический метод С. Акабори, который основан на гидразинолизе полипептида:

Определение C-концевой аминокислоты методом Акабори

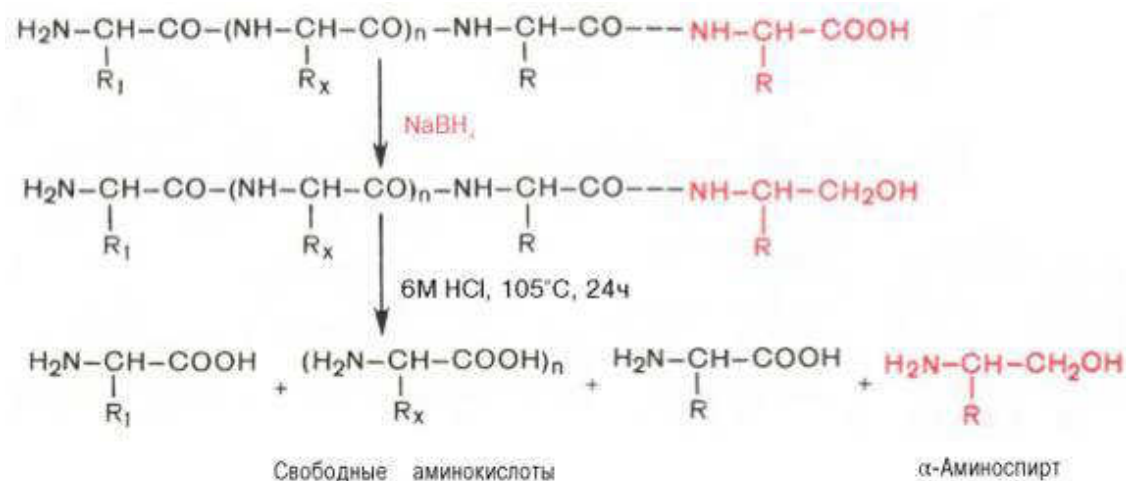


Гидразин, вызывая распад чувствительных к нему пептидных связей полипептида, реагирует со всеми аминокислотами, за исключением C-концевой аминокислоты, поскольку

ее карбоксильная группа не участвует в образовании пептидной связи. При этом образуется смесь аминокацилгидразинов и свободной С-концевой аминокислоты. Последнюю после обработки всей смеси ДНФБ отделяют и идентифицируют хроматографически, для чего образовавшиеся динитрофенилпроизводные аминокацилгидразинов предварительно экстрагируют уксусно-этиловым эфиром.

С-концевую аминокислоту идентифицируют также путем обработки полипептида восстанавливающим агентом, например боргидридом натрия. В простейшей форме эту процедуру можно представить в следующем виде:

Определение С-концевой аминокислоты боргидридом натрия



Видно, что в указанных условиях только одна, а именно С-концевая, аминокислота будет превращаться в α-аминоспирт, легко идентифицируемый методом хроматографии. Таким образом, при помощи указанных методов определяют природу N- и С-концевых аминокислот.

Следующий этап работы связан с определением чередования (последовательности) аминокислот внутри полипептидной цепи. Для этого сначала проводят избирательный, частичный (химический и ферментативный), гидролиз полипептидной цепи на короткие пептидные фрагменты, последовательность аминокислот в которых может быть точно определена описанными ранее методами.

Ферментативные методы гидролиза основаны на избирательности действия протеолитических (вызывающих распад белков) ферментов, расщепляющих пептидные связи, образованные определенными аминокислотами. В частности, пепсин ускоряет гидролиз связей, образованных остатками фенилаланина, тирозина и глутаминовой кислоты, трипсин – аргинина и лизина, химотрипсин – триптофана, тирозина и фенилаланина. В результате полипептидная цепь расщепляется на мелкие пептиды, содержащие иногда всего несколько аминокислот, которые отделяют друг от друга сочетанными электрофоретическими и хроматографическими методами, получая своеобразные пептидные карты. Далее определяют чередование аминокислот в каждом индивидуальном пептиде. Завершается работа воссозданием первичной структуры полной полипептидной цепи на основании определения последовательности аминокислот в отдельных пептидах.

Дальнейшие задачи – установление последовательности расположения аминокислот в каждом из выделенных пептидов, сопоставление полученных данных и установление первичной структуры всей молекулы.

В настоящее время выяснение первичной структуры белков является вопросом времени и технического оснащения лабораторий. Полностью выяснена первичная структура многих природных белков и прежде всего инсулина, содержащего 51 аминокислотный

остаток (Сэнджер Ф., 1954). Более крупным белком с выясненной первичной структурой оказался иммуноглобулин, в четырех полипептидных цепях которого насчитывается 1300 аминокислотных остатков. За эту работу Дж. Эдельман и Р. Портер были удостоены Нобелевской премии (1972).

Расшифрованы первичные структуры миоглобина человека (153 аминокислотных остатка), α -цепи (141) и β -цепи (146) гемоглобина человека, цитохрома С из сердечной мышцы человека (104), лизоцима молока человека (130), химоотрипсиногена быка (245) и многих других белков, в том числе ферментов и токсинов. Молекула инсулина, состоящая из двух цепей (А – 21 и В – 30 аминокислотных остатков), образуется из своего предшественника – проинсулина (84 аминокислотных остатка), представленного одной полипептидной цепью, после отщепления от него пептида, состоящего из 33 аминокислотных остатков. Между цепями А и В и внутри А-цепи инсулина образуются дисульфидные ($—S—S—$) связи. Выяснена первичная структура более 18 инсулинов, выделенных из разных источников. Близкими по первичной структуре оказались инсулины из поджелудочной железы человека, свиньи и кашалота. Единственным отличием инсулина человека является нахождение треонина в положении 30 В-цепи вместо аланина.

Вторым белком, первичная структура которого расшифрована С. Муром и У. Стейном, является рибонуклеаза из поджелудочной железы, катализирующая расщепление РНК. Фермент состоит из 124 аминокислотных остатков с N-концевым лизином и С-концевым валином, между остатками цистеина образуются дисульфидные ($—S—S—$) связи в 4 участках.

Полностью расшифрована последовательность аминокислот полипептидной цепи фермента лизоцима, имеющего важное защитное и медицинское значение, так как он вызывает лизис ряда бактерий, расщепляя основное вещество их клеточной оболочки. Лизоцим белка куриного яйца содержит 129 аминокислот с N-концевым лизином и С-концевым лейцином.

Отечественными исследователями установлена первичная структура многих белков и полипептидов, в том числе крупного белка РНК-полимеразы, фермента аспаратаминотрансферазы, состоящей из 412 аминокислотных остатков (А.Е. Браунштейн, Ю.А. Овчинников и др.), пепсиногена и пепсина (В.М. Степанов и др.), и др.

Исследования первичной структуры α - и β -цепей гемоглобина способствовали выяснению структуры необычных, так называемых аномальных, гемоглобинов, встречающихся в крови больных гемоглобинопатиями. Иногда развитие болезни, как и изменение пространственной структуры гемоглобина человека, обусловлено заменой лишь одной какой-либо аминокислоты в структуре β -цепей (реже α -цепей) гемоглобина.

Анализ данных о первичной структуре белков позволяет сделать следующие общие выводы.

1 Первичная структура белков уникальна. Каждый индивидуальный гомогенный белок характеризуется уникальной последовательностью аминокислот: частота замены аминокислот приводит не только к структурным перестройкам, но и к изменениям физико-химических свойств и биологических функций.

2 Стабильность первичной структуры обеспечивается в основном пептидными связями; возможно участие дисульфидных связей.

3 В полипептидной цепи могут быть обнаружены разнообразные комбинации аминокислот; в полипептидах относительно редки повторяющиеся последовательности.

4 В некоторых ферментах, обладающих близкими каталитическими свойствами, встречаются идентичные пептидные структуры, содержащие неизменные (инвариантные) участки и переменные последовательности аминокислот, особенно в областях их активных центров.

5 В первичной структуре полипептидной цепи детерминированы вторичная, третичная и четвертичная структуры белковой молекулы, определяющие ее общую пространственную конформацию.

Вторичная структура белка. Под вторичной структурой белка подразумевают конфигурацию полипептидной цепи, т. е. способ свертывания, скручивания (складывание, упаковка) полипептидной цепи в спиральную или какую-либо другую конформацию. Процесс этот протекает не хаотично, а в соответствии с программой, заложенной в первичной структуре. Подробно изучены две основные конфигурации полипептидных цепей, отвечающих структурным требованиям и экспериментальным данным: α -спирали и β -структуры.

Благодаря исследованиям Л. Полинга наиболее вероятным типом строения глобулярных белков принято считать α -спираль (рис. 1). Закручивание полипептидной цепи происходит по часовой стрелке (правый ход спирали), что обусловлено L-аминокислотным составом природных белков. Движущей силой в возникновении α -спиралей (так же как и β -структур) является способность аминокислот к образованию *водородных связей*. В структуре α -спиралей открыт ряд закономерностей. На каждый виток (шаг) спирали приходится 3,6 аминокислотных остатка. Шаг спирали (расстояние вдоль оси) равен 0,54 нм на виток, через 5 витков спирали (18 аминокислотных остатков) структурная конфигурация полипептидной цепи повторяется. Это означает, что период повторяемости (или идентичности) α -спиральной структуры составляет 2,7 нм.

Не все глобулярные белки спирализованы на всем протяжении полипептидной цепи. В молекуле белка α -спиральные участки чередуются с линейными. В частности, если α - и β -цепи гемоглобина спирализованы, например, на 75%, то лизоцима – на 42%, а пепсина – всего на 30%

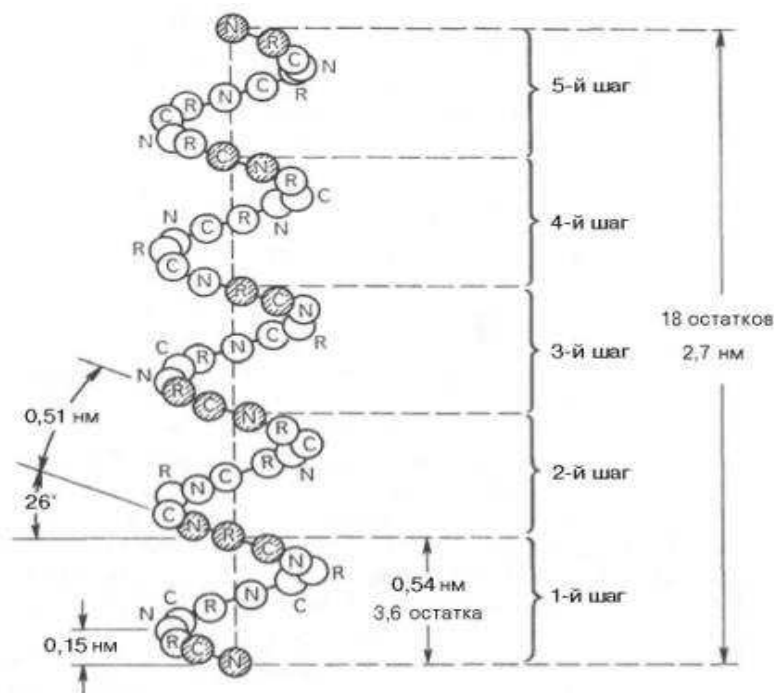


Рисунок 1 - Структура и параметры α -спирали

Таким образом, стабильность вторичной структуры обеспечивается в основном водородными связями (определенный вклад вносят и главновалентные связи – пептидные и дисульфидные).

В белковой молекуле наиболее важные водородные связи образуются между ковалентно связанным атомом водорода, несущим частичный положительный заряд, и отрицательно заряженным ковалентно связанным атомом кислорода (рис. 2). Примеры водородных связей в белковой молекуле: а) между пептидными цепями; б) между двумя гидроксильными группами; в) между ионизированной COOH -группой и OH -группой тирозина; г) между OH -группой серина и пептидной связью.

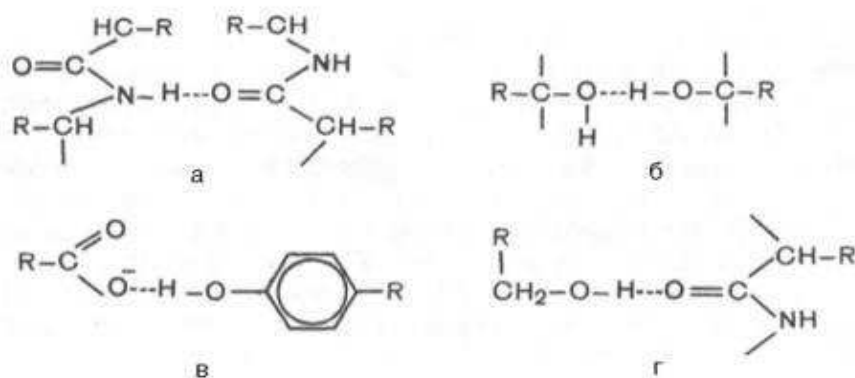


Рисунок 2 - Образование водородной связи

Другой тип конфигурации полипептидных цепей, обнаруженный в белках волос, шелка, мышц и в других фибриллярных белках, получил название β -структуры. В этом случае две или более линейные полипептидные цепи, расположенные параллельно или, чаще, антипараллельно, прочно связываются межцепочечными водородными связями между NH-и CO-группами соседних цепей, образуя структуру типа складчатого слоя (рис. 3).

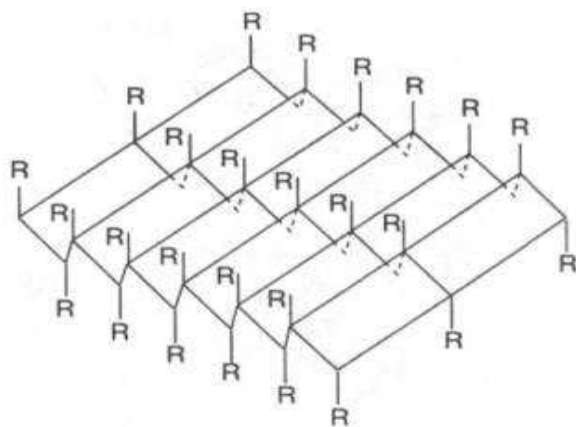


Рисунок 3 - β -Структура полипептидных цепей

В природе существуют белки, строение которых, однако, не соответствует ни β -, ни α -структуре. Типичным примером таких белков является коллаген – фибриллярный белок, составляющий основную массу соединительной ткани в организме человека и животных.

Методами рентгеноструктурного анализа в настоящее время доказано существование еще двух уровней структурной организации белковой молекулы, оказавшихся промежуточными между вторичной и третичной структурами. Это так называемые надвторичные структуры и структурные домены. **Домен** – это компактная глобулярная структурная единица внутри полипептидной цепи. Домены могут выполнять разные функции. Открыто много белков (например, иммуноглобулины), состоящих из разных по структуре и функциям доменов, кодируемых разными генами.

Третичная структура белка. Под третичной структурой белка подразумевают пространственную ориентацию полипептидной спирали или способ укладки полипептидной цепи в определенном объеме.

Первым белком, третичная структура которого была выяснена Дж. Кендрию на основании рентгеноструктурного анализа, оказался миоглобин кашалота. Это сравнительно небольшой белок с M 16700, содержащий 153 аминокислотных остатка, представленный одной полипептидной цепью в виде изогнутой трубки, компактно уложенной вокруг гема (небелковый компонент, содержащий железо) (рис. 4).

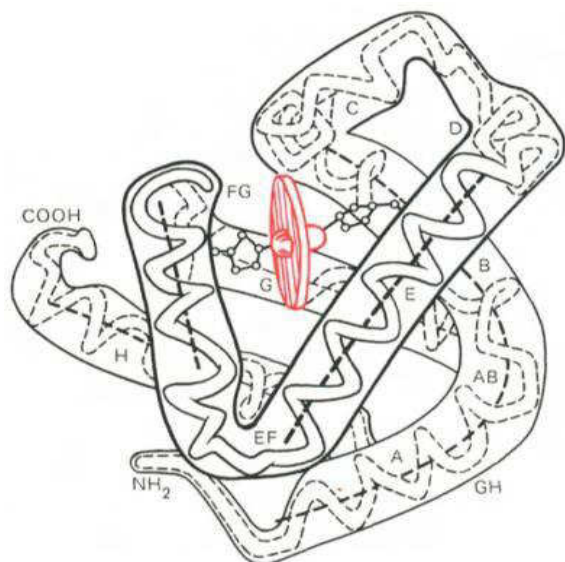


Рисунок 4 - Модель третичной структуры молекулы миоглобина. Латинскими буквами обозначены структурные домены, красным цветом - ген

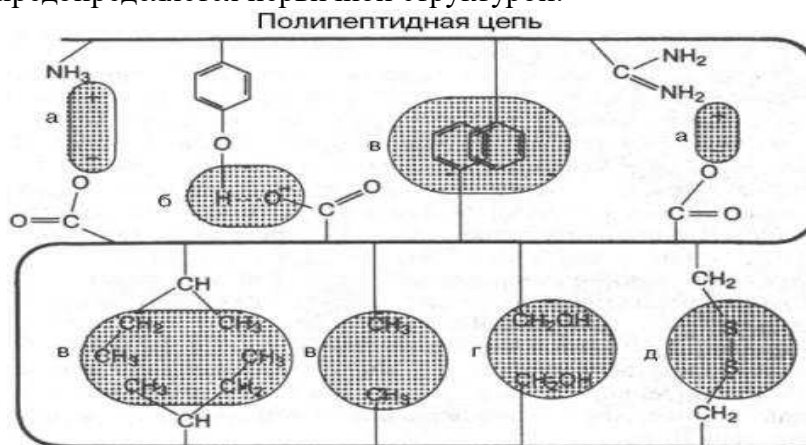
О

сновная функция миоглобина – перенос

кислорода в мышцах.

В настоящее время получены доказательства, что в стабилизации пространственной структуры белков, помимо ковалентных связей (пептидные и дисульфидные связи), основную роль играют так называемые нековалентные связи. К этим связям относятся водородные связи, электростатические взаимодействия заряженных групп, межмолекулярные ван-дер-ваальсовы силы, взаимодействия неполярных боковых радикалов аминокислот, так называемые гидрофобные взаимодействия и т.д.

Третичная структура белка после завершения его синтеза в рибосомах формируется автоматически самопроизвольно при взаимодействии радикалов аминокислот с молекулами воды, и полностью предопределяется первичной структурой.



а - электростатическое взаимодействие; б - водородная связь; в - гидрофобные взаимодействия неполярных групп; г - диполь-дипольные взаимодействия; д - дисульфидная (ковалентная) связь

Рисунок 5-Типы нековалентных связей, стабилизирующих третичную структуру белка

Четвертичная структура белка. Под четвертичной структурой подразумевают способ укладки в пространстве отдельных полипептидных цепей, обладающих одинаковой (или разной) первичной, вторичной или третичной структурой, и формирование единого в структурном и функциональном отношениях макромолекулярного образования. Многие функциональные белки состоят из нескольких полипептидных цепей, соединенных

валентными связями, а нековалентными (аналогичными тем, которые обеспечивают стабильность третичной структуры). Каждая отдельно взятая полипептидная цепь, получившая название протомера, мономера или субъединицы, чаще всего не обладает биологической активностью. Эту способность белок приобретает при определенном способе пространственного объединения входящих в его состав протомеров, т.е. возникает новое качество, не свойственное мономерному белку. Образовавшуюся молекулу принято называть олигомером (или мультимером).

Олигомерные белки чаще построены из четного числа протомеров (от 2 до 4, реже от 6 до 8) с одинаковыми или разными молекулярными массами – от нескольких тысяч до сотен тысяч. В частности, молекула гемоглобина состоит из двух одинаковых α - и двух β - полипептидных цепей, т.е. представляет собой тетрамер. Молекула гемоглобина содержит четыре полипептидные цепи, каждая из которых окружает группу гема – пигмента, придающего крови ее характерный красный цвет.

Все биологические свойства белков (каталитические, гормональные, антигенные и др.) связаны с сохранностью их третичной структуры, которую принято называть нативной конформацией. Любые воздействия (термические, физические, химические), приводящие к нарушению этой конформации молекулы (разрыв водородных и других нековалентных связей), сопровождаются частичной или полной потерей белком его биологических свойств.

Основными силами, стабилизирующими четвертичную структуру, являются нековалентные связи между протомерами, которые взаимодействуют друг с другом по типу **комплементарности** – универсальному принципу, свойственному живой природе.

Таким образом, имеются все основания для подтверждения мнения о существовании 4 уровней структурной организации белков. Поэтому выяснение структуры разнообразных белков может служить ключом к познанию природы живых систем. На этом пути научного поиска могут быть решены также многие проблемы наследственных заболеваний человека, в основе которых лежат дефекты структуры и биосинтеза белков.

Некоторые исследователи склонны рассматривать существование пятого уровня структурной организации белков. Это полифункциональные макромолекулярные комплексы, или ассоциаты из разных ферментов, получивших название метаболонов, и катализирующих весь путь превращений субстрата (синтетазы высших жирных кислот, пируватдегидрогеназный комплекс, дыхательная цепь).

3.5 Физико-химические свойства белков

Наиболее характерными физико-химическими свойствами белков являются высокая вязкость растворов, незначительная диффузия, способность к набуханию в больших пределах, оптическая активность, подвижность в электрическом поле, низкое осмотическое давление и высокое онкотическое давление, способность к поглощению ультрафиолетовых лучей.

Белки, как и аминокислоты, амфотерны благодаря наличию свободных NH_2 - и COOH - групп. Для них характерны все свойства кислот и оснований. В зависимости от реакции среды и соотношения кислых и основных аминокислот белки в растворе несут или отрицательный, или положительный заряд, перемещаясь к аноду или катоду. Это свойство используется при очистке белков методом электрофореза.

Белки обладают явно выраженными гидрофильными свойствами. Растворы белков имеют очень низкое осмотическое давление, высокую вязкость и незначительную способность к диффузии. Белки способны к набуханию в очень больших пределах. С коллоидным состоянием белков связан ряд характерных свойств, в частности явление светорассеяния, лежащее в основе количественного определения белков методом нефелометрии. Этот эффект используется, кроме того, в современных методах микроскопии биологических объектов. Молекулы белка не способны проникать через полупроницаемые

искусственные мембраны (целлофан, пергамент, коллодий), а также биомембраны растительных и животных тканей, хотя при органических поражениях, например, почек капсула почечного клубочка (Шумлянско-Боумана) становится проницаемой для альбуминов сыворотки крови и последние появляются в моче.

Молекулярная масса белков. Белки относятся к высокомолекулярным соединениям, в состав которых входят сотни и даже тысячи аминокислотных остатков, объединенных в макромолекулярную структуру. Молекулярная масса белков колеблется от 6000 (нижний предел) до 1000000 и выше в зависимости от количества отдельных полипептидных цепей в составе единой молекулярной структуры белка. Такие полипептидные цепи получили название субъединиц.

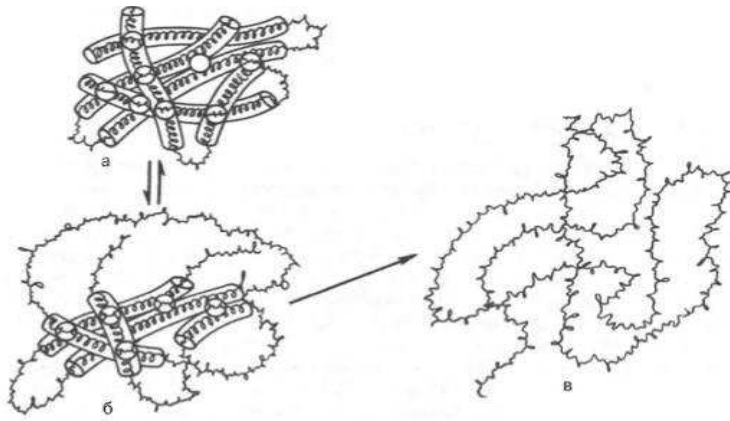
Аминокислотный состав и последовательность аминокислот выяснена для многих тысяч белков. В связи с этим стало возможным вычисление их молекулярной массы химическим путем с высокой точностью. Однако для огромного количества встречающихся в природе белков химическое строение не выяснено, поэтому основными методами определения молекулярной массы все еще остаются физико-химические методы (гравиметрические, осмометрические, вискозиметрические, электрофоретические, оптические и др.). На практике наиболее часто используются методы седиментационного анализа, где определение молекулярной массы белков проводят в ультрацентрифугах и вычисляют её по скорости седиментации молекул белка или седиментационному равновесию.

Форма белковых молекул. Данные различных видов анализа указывают на существование в природе глобулярных (шарообразных) и фибриллярных (нитевидных) белков. В настоящее время общие представления о форме белковых молекул в основном подтвердились, однако только современные методы исследования позволили установить детали пространственной конфигурации (трехмерной структуры) белковых молекул. Благодаря применению сканирующей микроскопии и рентгеноструктурного анализа удалось в деталях расшифровать не только полную пространственную структуру, форму, но и степень асимметрии белковых молекул во всех трех измерениях. Оказалось, что даже глобулярные белки крови (гемоглобин, альбумины и глобулины) являются асимметричными в указанных измерениях.

Денатурация белков. Природные белковые тела наделены определенной, строго заданной пространственной конфигурацией и обладают рядом характерных физико-химических и биологических свойств при физиологических значениях температуры и pH среды. Под влиянием различных физических и химических факторов белки подвергаются свертыванию и выпадают в осадок, теряя нативные свойства.

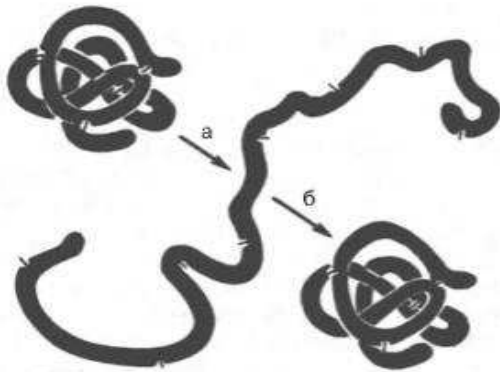
Таким образом, под денатурацией следует понимать нарушение общего плана уникальной структуры нативной молекулы белка, преимущественно ее третичной структуры, приводящее к потере характерных для нее свойств (растворимость, электрофоретическая подвижность, биологическая активность и т.д.). Большинство белков денатурирует при нагревании их растворов выше 50–60°C (рис.6).

Внешние проявления денатурации сводятся к потере растворимости, особенно в изоэлектрической точке, повышению вязкости белковых растворов, увеличению количества свободных функциональных SH-групп и изменению характера рассеивания рентгеновских лучей. Наиболее характерным признаком денатурации является резкое снижение или полная потеря белком его биологической активности (каталитической, антигенной или гормональной). При денатурации белка, разрушаются в основном нековалентные связи (в частности, гидрофобные взаимодействия и водородные связи).



а - исходное состояние; б - начинающееся обратимое нарушение молекулярной структуры; в - необратимое разворачивание полипептидной цепи.

Рисунок 6 - Денатурация белковой молекулы (схема)



а - разворачивание (мочевина + меркаптоэтанол); б - повторное свертывание

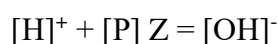
Рисунок 7- Денатурация и ренатурация рибонуклеазы (по Анфинсену)

При непродолжительном действии и быстром удалении денатурирующих агентов возможна ренатурация белка с полным восстановлением исходной трехмерной структуры и нативных свойств его молекулы (рис. 7), включая биологическую активность. Таким образом, при денатурации белковая молекула полностью теряет биологические свойства, демонстрируя тем самым тесную связь между структурой и функцией. Для практических целей иногда используют процесс денатурации в «мягких» условиях, например при получении ферментов или других биологически активных белковых препаратов в условиях низких температур в присутствии солей и при соответствующем значении рН. При лиофилизации белков (высушивание в вакууме путем возгонки влаги из замороженного состояния) для предотвращения денатурации часто пользуются химическими веществами (простые сахара, глицерин, органические анионы).

Изоэлектрическая и изоионная точки белков. В изоэлектрической точке суммарный заряд белков, обладающих амфотерными свойствами, равен нулю и белки не перемещаются в электрическом поле. Зная аминокислотный состав белка, можно приближенно определить изоэлектрическую точку (pI); pI является характерной константой белков. Изоэлектрическая точка большинства белков животных тканей лежит в пределах от 5,5 до 7,0, что свидетельствует о частичном преобладании кислых аминокислот. Однако в природе имеются белки, у которых значения изоэлектрических точек лежат в крайних значениях рН среды. В частности, величина pI пепсина (фермент желудочного сока) равна 1, а сальмина (основной белок из молока семги) – почти 12.

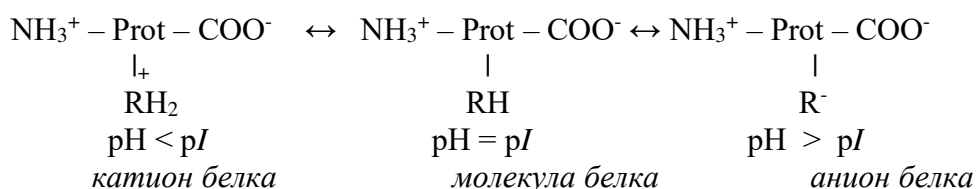
В изоэлектрической точке белки наименее устойчивы в растворе и легко выпадают в осадок. Изоэлектрическая точка белка в сильной степени зависит от присутствия в растворе ионов солей; в то же время на ее величину не влияет концентрация белка.

Раствор белка называется изоионным, если он не содержит никаких других ионов, кроме ионизированных остатков аминокислот белковой молекулы и ионов, образующихся при диссоциации воды. Для освобождения белка от посторонних ионов обычно его раствор пропускают через колонку, наполненную смесью анионо- и катионообменников. Изоионной точкой данного белка принято называть значение рН изоионного раствора этого белка:



где $[P]$ – молярная концентрация белка; Z – средний заряд молекулы. Согласно этому уравнению, изоионная точка белка зависит от его концентрации. Очевидно, поэтому белок, за исключением случая, когда pI равно 7, не может быть одновременно изоэлектрическим и изоионным.

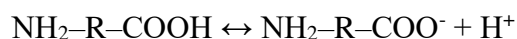
Кислотно-основные свойства. Белки, как и аминокислоты, являются полиамфолитами, проявляя кислотные свойства за счет неионизированных группы – $COOH$, аммонийных групп – NH_3^+ , тиольных групп – SH . Основные свойства белки проявляют за счет групп $-COO^-$, аминогрупп $-NH_2$ и др. В водных растворах в зависимости от рН среды белки могут находиться при $pH=pI$ белка в молекулярной, т.е. нейтральной форме, при $pH < pI$ белок проявляет катионные свойства, а при $pH > pI$ проявляется анионная форма.



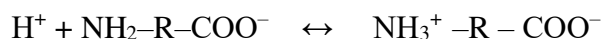
В зависимости от аминокислотного состава белки подразделяются на «нейтральные» ($pI = 5,0-7,0$), «кислотные» ($pI < 4,0$) с повышенным содержанием аспарагиновой и глутаминовой кислоты, и «основные» с повышенным содержанием аргинина, лизина или гистидина ($pI > 7,5$). На основе белков в организме действуют буферные свойства белков.

Буферные свойства белков обусловлены наличием в составляющих их аминокислотах (карбоксикислотах) аминогруппы (NH_2 -группы). Благодаря ней аминокислоты могут реагировать не только как слабые кислоты, но и как основания, то есть сами проявлять буферные свойства, присоединяя или отдавая ион водорода. Отщепляемый от карбоксильной группы протон может присоединиться к аминогруппе. В результате – молекула аминокислоты принимает дипольную форму (или форму цвиттер-иона), заряжаясь с одной стороны отрицательно, а с другой – положительно, но оставаясь в целом нейтральной. Именно в этой форме аминокислота и проявляет свои буферные свойства. При повышении концентрации протонов в среде (снижение рН) они фиксируются карбоксильной группой, а молекула оказывается положительно заряженной. Наоборот, при падении концентрации протонов третий протон с положительно заряженной стороны молекулы

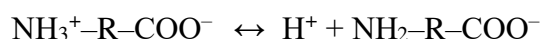
отдается, а вся молекула заряжается отрицательно. Аминокислота диссоциирует с образованием протона и диссоциированной карбоксильной группы.



Или аминогруппа принимает свободный протон и приобретает форму цвиттер-иона. В избытке протонов молекула заряжается положительно:



При дефиците протонов - молекула приобретает отрицательный заряд:



Буферные свойства белков проявляются в связывании не только протонов, но и других заряженных частиц. Основная масса поступающих в кровоток веществ (красители, жирные кислоты, липиды, водорастворимые наркотики, релаксанты) связывается с белками, проявляя конкурентные отношения. Естественно, при этом уменьшается буферная емкость белков в отношении протонов, и высокая концентрация последних затрудняет освобождение и ослабляет действие веществ, образующих положительные заряды.

Белки активно вступают в химические реакции. Это свойство связано с тем, что аминокислоты, входящие в состав белков, содержат разные функциональные группы, способные реагировать с другими веществами. Важно, что такие взаимодействия происходят и внутри белковой молекулы, в результате чего образуется пептидная, водородная, дисульфидная и другие виды связей.

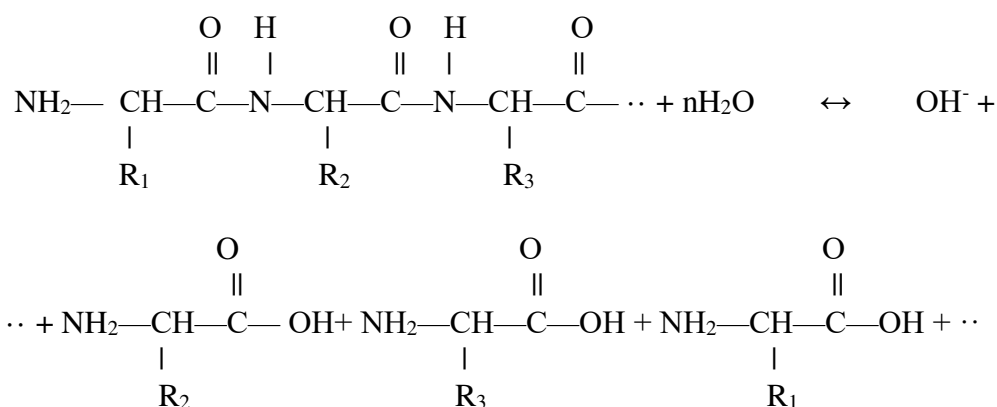
Белки обладают большим сродством к воде, то есть они гидрофильны. Это значит, что молекулы белка, как заряженные частицы, притягивают к себе диполи воды, которые располагаются вокруг белковой молекулы и образуют водную или гидратную оболочку. Эта оболочка предохраняет молекулы белка от склеивания и выпадения в осадок. Величина гидратной оболочки зависит от структуры белка. Например, альбумины более легко связываются с молекулами воды и имеют относительно большую водную оболочку, тогда как глобулины, фибриноген присоединяют воду хуже, и гидратная оболочка у них меньше. Таким образом, устойчивость водного раствора белка определяется двумя факторами: наличием заряда белковой молекулы и находящейся вокруг нее водной оболочки. При удалении этих факторов белок выпадает в осадок. Данный процесс может быть обратимым и необратимым.

Обратимое осаждение белков (высаливание) предполагает выпадение белка в осадок под действием определенных веществ, после удаления которых, он вновь возвращается в свое исходное (нативное) состояние. Для высаливания белков используют соли щелочных и щелочноземельных металлов (наиболее часто в практике используют сульфат натрия и аммония). Эти соли удаляют водную оболочку (вызывают обезвоживание) и снимают заряд. Между величиной водной оболочки белковых молекул и концентрацией солей существует прямая зависимость: чем меньше гидратная оболочка, тем меньше требуется солей. Так, глобулины, имеющие крупные и тяжелые молекулы и небольшую водную оболочку, выпадают в осадок при неполном насыщении раствора солями, а альбумины как более мелкие молекулы, окруженные большой водной оболочкой — при полном насыщении.

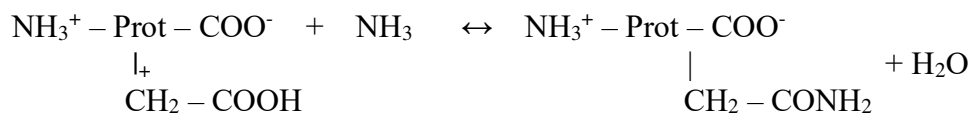
Необратимое осаждение связано с глубокими внутримолекулярными изменениями структуры белка, что приводит в потере ими нативных свойств – денатурации, которая влечет потерю растворимости, биологической активности и т.д. Необратимое осаждение можно вызвать кипячением, действием концентрированными растворами некоторых из минеральных и органических кислот, солями тяжелых металлов.

Гидролиз белка достигается при помощи кипячения белка с сильными минеральными кислотами (кислотный гидролиз) или основаниями (щелочной гидролиз). Но щелочной гидролиз редко используется из-за неустойчивости аминокислот в этих условиях. Проводят его при нагревании до 110⁰С в запаянной ампуле с 20% соляной кислотой в течение 24 ч.

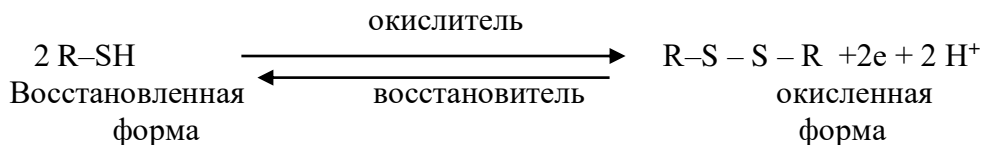
В организме он протекает при участии пептидаз в липосомах. Гидролиз может быть частичным (до пептидов) или полным (до аминокислот). В организме гидролиз белков осуществляется целым набором ферментов, каждый из которых расщепляет ту или иную связь. Карбоксипептидаза отщепляет от белка С-концевую кислоту, трипсин гидролизует связь образованную аминокислотами с неполярным (гидрофобным) заместителем, химотрипсин – связь, образованную между фенилаланином, тирозином, триптофаном с другими аминокислотами. В организме белки гидролизуются полностью.



Белки, содержащие аспарагиновую и глутаминовую кислоту, вступают в реакцию **амидирования** белков, при которой обезвреживается аммиак:

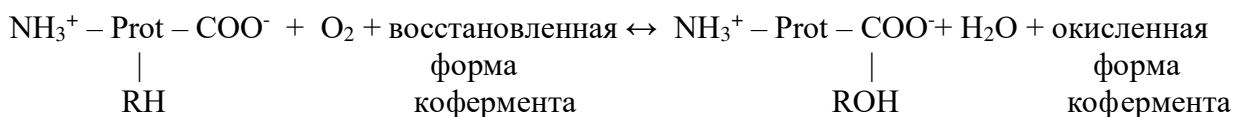


Окислительно-восстановительные свойства. Белки относительно устойчивы к мягкому окислению, за исключением содержащих аминокислоту цистеин, так как тиольная группа её легко окисляется в дисульфидную группу, причем этот процесс может носить и обратный характер:



В результате этих превращений происходит изменение конформации белка и его нативных свойств. Эти превращения лежат в основе химической завивки волос, так как цистеин и цистин входят в состав белка волос кератина. Сначала волосы обрабатывают восстановителем, чтобы разрушить связи –S – S – цистина и превратить в тиольные группы цистеина. Затем волосы укладывают в локоны и обрабатывают окислителем. При этом образуются дисульфидные связи цистина, которые помогают волосам сохранить их новую форму.

В организме белки, содержащие остатки лизина, пролина, фенилаланина и триптофана, подвергаются ферментативному гидроксигированию при участии кислорода и восстановленной формы кофермента:



Также для белков характерны и все цветные (качественные) реакции на аминокислоты.

4 Химия нуклеиновых кислот

В наше время трудно назвать область естествознания, которую не интересовала бы проблема структуры и функций нуклеиновых кислот. Несмотря на огромный прогресс, достигнутый в последние десятилетия при изучении химического состава и строения нуклеиновых кислот, много проблем предстоит еще решить для выяснения зависимости между структурой и биологической ролью нуклеиновых кислот. Нет сомнения, что именно на этом пути научного поиска исследования нуклеиновых кислот будут сделаны открытия, имеющие огромное значение для биологии, медицины и всей науки о живом. Эпохальное открытие принципа комплементарности нуклеиновых кислот позволило проникнуть в тайны не только тонкой структуры этих биополимеров, но и механизмов синтеза и воспроизведения биологических макромолекул.

Нуклеиновые кислоты выполняют ряд важных биологических функций, не свойственных другим полимерным веществам. В частности, они *обеспечивают хранение и передачу наследственной информации и принимают непосредственное участие в механизмах реализации этой информации* путем программирования синтеза всех клеточных белков. Структурные компоненты нуклеиновых кислот выполняют, кроме того, функции кофакторов (коэнзим А, уридиндифосфатглюкоза и др.), аллостерических эффекторов, входят в состав коферментов (никотинамидадениндинуклеотид (НАД), флавинадениндинуклеотид (ФАД) и др.), принимая тем самым непосредственное участие в обмене веществ, а также в аккумуляции (накоплении), переносе и трансформации энергии. Они являются предшественниками вторичных посредников – циклических мононуклеотидов (цАМФ и цГМФ), выполняющих важную функцию в передаче внутриклеточных сигналов.

4.1 Методы выделения нуклеиновых кислот

При изучении химического состава и строения нуклеиновых кислот перед исследователем всегда стоит задача выделения их из биологических объектов. Нуклеиновые кислоты являются составной частью сложных белков – нуклеопротеинов, содержащихся во всех клетках животных, бактерий, вирусов, растений. Нуклеиновые кислоты обладают сильно выраженными кислыми свойствами (обусловлены остатками ортофосфорной кислоты в их составе) и при физиологических значениях рН несут отрицательный заряд. Этим объясняется одно из важных свойств нуклеиновых кислот – способность к взаимодействию по типу ионной связи с основными белками (гистонами), ионами металлов (преимущественно с Mg^{2+}), а также с полиаминами. Поэтому для выделения нуклеиновых кислот из комплексов с белками необходимо, прежде всего, разрушить эти сильные и многочисленные электростатические связи между положительно заряженными молекулами белков и отрицательно заряженными молекулами нуклеиновых кислот. Для этого измельченный путем гомогенизации биоматериал обрабатывают крепкими солевыми растворами (10% раствор хлорида натрия) с последующим осаждением нуклеиновых кислот этанолом. В настоящее время для выделения нуклеиновых кислот в нативном состоянии пользуются более «мягким» фенольным методом, основанным на обработке нейтрального забуференного раствора нуклеопротеинов фенолом. Обычно эту процедуру проводят в

присутствии веществ, вызывающих денатурацию белкового компонента, например додецилсульфата (ДСН) или салицилата натрия, затем смесь подвергают центрифугированию. При этом денатурированный белок попадает в фенольную фазу, а нуклеиновые кислоты остаются в водной среде, из которой их осаждают на холоде добавлением 2–3 объемов этанола. Этим методом удается получить очищенные препараты нуклеиновых кислот.

В настоящее время применяют ряд усовершенствованных методов разделения нуклеиновых кислот на фракции из суммарного препарата, полученного описанным методом. Это, прежде всего, хроматография на геле фосфата кальция, ионообменная хроматография (в качестве адсорбентов используют ДЭАЭ-целлюлозу, ДЭАЭ-сефадекс и др.), ультрацентрифугирование в градиенте плотности сахарозы, хроматография по сродству на белковых носителях, фильтрация через гели агарозы и сефарозы, гель-электрофорез и др.

После получения нуклеиновых кислот в чистом виде их подвергают гидролизу для изучения химического состава. Для этих целей используют ферментативные методы (экзо- и эндонуклеазы), а также чисто химические методы гидролиза, в частности нагревание нуклеиновых кислот с хлорной кислотой.

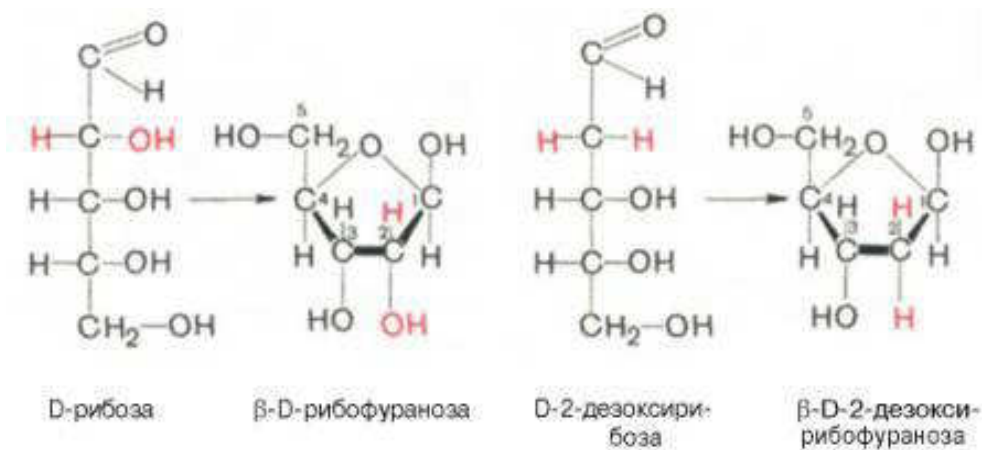
4.2 Химический состав нуклеиновых кислот

Нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) относятся к сложным высокомолекулярным соединениям, состоят из небольшого числа индивидуальных химических компонентов более простого строения. Так, при полном гидролизе нуклеиновых кислот (нагревание в присутствии хлорной кислоты) в гидролизате обнаруживают пуриновые и пиримидиновые основания, углеводы (рибоза и дезоксирибоза) и фосфорную кислоту:

ДНК	РНК
H_3PO_4	H_3PO_4
<i>Дезоксирибоза</i>	<i>Рибоза</i>
Аденин	Аденин
Гуанин	Гуанин
Цитозин	Цитозин
<i>Тимин</i>	<i>Урацил</i>

В молекуле ДНК углевод представлен дезоксирибозой, а в молекуле РНК – рибозой, отсюда их названия: дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая (РНК) кислоты. Кроме того, они содержат фосфорную кислоту, по два пуриновых и по два пиримидиновых основания; различия только в пиримидиновых основаниях: в ДНК содержится тимин, а в РНК – урацил.

Углеводы (рибоза и дезоксирибоза) в молекулах ДНК и РНК находятся в β -D-рибофуранозной форме:

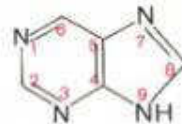


В составе некоторых фаговых ДНК обнаружена молекула глюкозы, которая соединяется гликозидной связью с 5-оксиметилцитозином.

Основу структуры пуриновых и пиримидиновых оснований составляют два ароматических гетероциклических соединения – пиримидин и пурин :



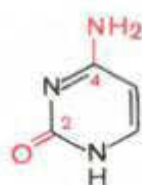
Пиримидин



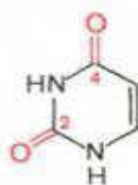
Пурин

Молекула пурина состоит из двух конденсированных колец: пиримидина и имидазола.

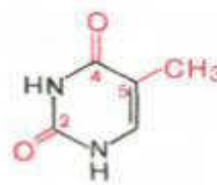
В составе нуклеиновых кислот встречаются три главных пиримидиновых основания: цитозин, урацил и тимин.



Цитозин



Урацил

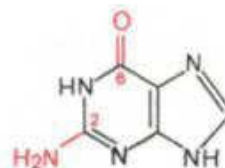


Тимин

Два пуриновых основания, постоянно встречающихся в гидролизатах нуклеиновых кислот, имеют следующее строение:

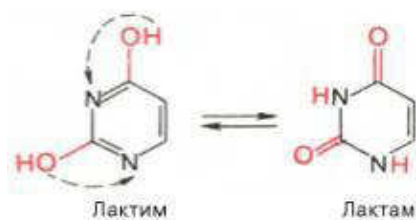


Аденин



Гуанин

Одним из важных свойств свободных азотистых оснований (содержащих оксигруппы) является возможность их существования в двух таутомерных формах, в частности лактим- и лактамной формах, в зависимости от значения pH среды: при pH 7,0 они представлены в лактамной форме, при снижении величины pH – в лактимной форме. Таутомерные превращения можно представить на примере урацила.



Оказалось, что в составе природных нуклеиновых кислот все оксипроизводные пуринов и пиримидинов находятся в лактамной форме.

О локализации и количественном содержании нуклеиновых кислот в клетках получены определенные данные. Доказано, что количественное содержание ДНК в клетках одного и того же организма отличается удивительным постоянством и исчисляется несколькими пикограммами, однако в клетках разных видов живых организмов имеются существенные количественные различия в содержании ДНК. Хорошо известно также, что ДНК преимущественно сосредоточена в ядре, а в митохондриях и хлоропластах содержится только небольшой процент клеточной ДНК. О количестве РНК нет точных данных, поскольку содержание ее в разных клетках в значительной степени определяется интенсивностью синтеза белка. На долю РНК приходится около 5–10% от общей массы клетки. Современная классификация различных типов клеточной РНК основывается на данных топографии, функции и молекулярной массы. Выделяют три главных вида РНК: матричную (информационную) – мРНК, которая составляет 2–3% от всей клеточной РНК; рибосомную – рРНК, составляющую 80–85% и транспортную – тРНК, которой около 16%. Эти 3 вида различаются нуклеотидным составом и функциями (табл.5).

Таблица 5 - Свойства РНК у Е. (по А.Ленинджеру)

Тип РНК	Скорость седиментации	Молекулярная масса	Число нуклеотидных остатков	% от общей РНК
мРНК	6-25	250000-1000 000	75-3000	2
тРНК	4	23 000-30 000	75-90	16
рРНК	5	~35 000	1~20	} 82
рРНК	16	~550 000	~1500	
рРНК	23	~1 100 000	~3100	

Матричная РНК (мРНК) синтезируется в ядре на матрице ДНК, затем поступает в рибосому, выполняя матричную функцию при синтезе белка. По предположению акад. А.С. Спирина, часто мРНК при поступлении из ядра в цитоплазму образует со специфическими РНК-связывающими белками комплексы – так называемые информсомы, способные к обратимой диссоциации. Информсомы рассматриваются как транспортная форма мРНК, способствующая образованию полирибосом в цитоплазме. Транспортные РНК (тРНК) имеют небольшую молекулярную массу и содержатся в растворимой фракции цитоплазмы, выполняя функцию переноса аминокислот к месту белкового синтеза – рибосоме. Рибосомные РНК (рРНК), как видно из данных табл. 5, имеют разную и большую молекулярную массу. Детально роль рРНК в белковом синтезе пока не выяснена.

4.3 Структура нуклеиновых кислот

Для понимания ряда особенностей структуры ДНК особое значение имели закономерности состава и количественного содержания азотистых оснований, установленные впервые Э. Чаргаффом. Оказалось, что азотистые основания ДНК обычно

варьируют у разных видов организмов, однако почти не претерпевают изменений у одного и того же вида в процессе развития или в зависимости от изменений окружающей среды либо характера питания. Показано также, что ДНК, выделенная из разных тканей одного и того же вида, имеет одинаковый состав азотистых оснований. Полученные количественные соотношения были названы правилами Чаргаффа. При анализе состава очищенной ДНК, выделенной из разных источников, были сделаны следующие выводы:

1 молярная доля пуринов равна молярной доле пиримидинов:

$$A + G = Ц + T \text{ или } \frac{A + G}{Ц + T} = 1$$

2 количество аденина и цитозина равно количеству гуанина и тимина:

$$A + Ц = G + T \text{ или } \frac{A + Ц}{G + T} = 1$$

3 количество аденина равно количеству тимина, а количество гуанина равно количеству цитозина: $A = T$ и $G = Ц$; соответственно

$$\frac{A}{T} = 1; \frac{G}{Ц} = 1$$

4 существенным для характеристики вида (таксономическое значение) оказался так называемый коэффициент специфичности, отражающий отношение

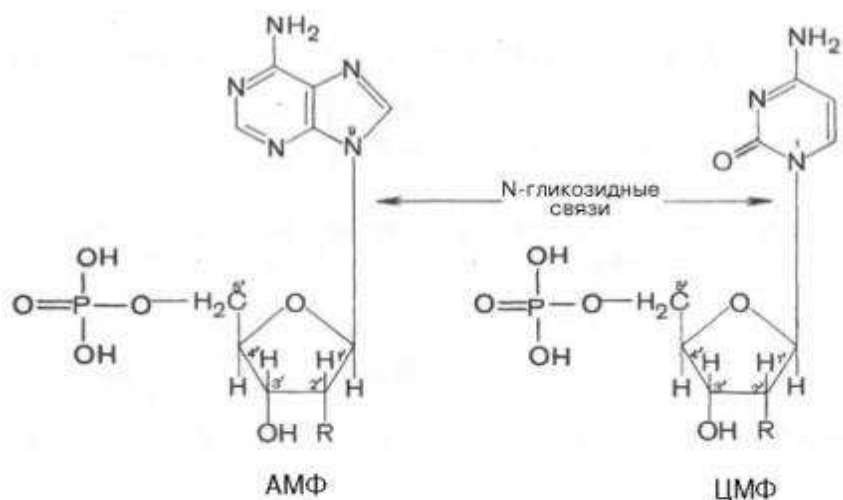
$$\frac{G + Ц}{A + T}$$

Это отношение часто выражают в молярных процентах ($G+Ц$), или процентах ГЦ-пар. Для животных и большинства растений этот коэффициент ниже 1 (от 0,54 до 0,94), у микроорганизмов он колеблется в значительных пределах (от 0,45 до 2,57).

Данные, полученные А.Н.Белозерским и его учениками, свидетельствуют о существовании в природе АТ-типа ДНК (у хордовых и беспозвоночных животных, высших растений, ряда бактерий, дрожжевидных организмов) и ГЦ-типа ДНК (у недрожжевидных грибов, актиномицетов, ряда бактерий и вирусов).

Известно, что структурными единицами нуклеиновых кислот являются мономерные молекулы – мононуклеотиды. Следовательно, нуклеиновые кислоты представляют собой полинуклеотиды. Это продукты полимеризации мононуклеотидов, число и последовательность расположения которых в цепях ДНК и РНК определяются в строгом соответствии с программой, заложенной в молекуле матрицы. Мононуклеотиды легко образуются при гидролизе ДНК и РНК в присутствии нуклеаз, состоят из трех специфических компонентов: азотистого основания, углевода и фосфорной кислоты. В этой «триаде» мононуклеотида углевод занимает среднее положение. Соединения азотистого (любого) основания и углевода (рибозы или дезоксирибозы), получившие название нуклеозидов, легко образуются из мононуклеотида при гидролитическом отщеплении фосфорной кислоты в присутствии щелочи или при участии специфических ферментов – нуклеотидаз.

Нуклеозиды содержат пуриновое или пиримидиновое основание, соединенное с углеводом N-гликозидной связью. В составе нуклеиновых кислот обнаруживаются только β-нуклеозиды. Примером могут служить два мононуклеотида: аденозин-5'-монофосфорная кислота (АМФ) и цитидин-5'-монофосфорная кислота (ЦМФ):



R у 2' углерода представлен Н- или ОН-группой в зависимости от типа нуклеиновой кислоты – ДНК или РНК. В образовании N-гликозидной связи в пуриновых нуклеотидах принимают участие N-9 пурина и С-1' пентозы, а в пиримидиновых нуклеотидах – N-1 пиримидина и С-1' пентозы. Чтобы отличить углеродные атомы рибозы или дезоксирибозы от углеродных атомов, входящих в состав пуриновых и пиримидиновых оснований, первые принято обозначать символом «штрих»: например, атомы у 3-го и 5-го углерода обозначают С-3' и С-5' или, чаще, 3' и 5'.

Следует отметить, что среди продуктов ферментативного гидролиза ДНК и РНК обнаруживаются, помимо нуклеозид-5'-монофосфатов, также нуклеозид-3'-монофосфаты.

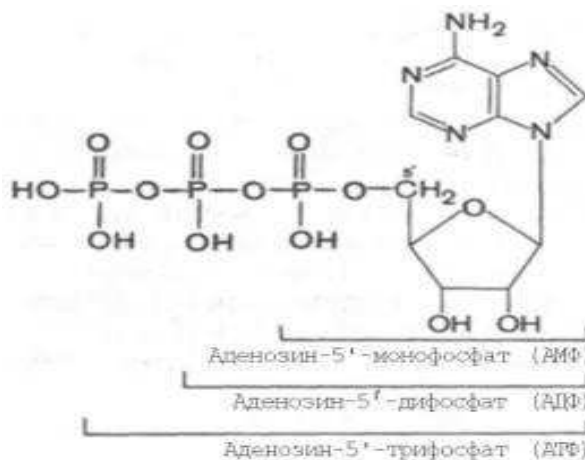
Таблица 6 - Состав нуклеозидов и мононуклеотидов (для РНК они называются рибонуклеотидами, а для ДНК – дезоксирибонуклеотидами)

Азотостые основания		Нуклеозиды (основание +углевод)	Мононуклеотиды (нуклеозиды + Н ₃ Р ₀ ₄)	Сокращенное название
Пуриновые	Аденин	Аденозин	Аденозинмонофосфат (адениловая кислота)	АМФ
	Гуанин	Гуанозин	Гуанозинмонофосфат (гуаниловая кислота)	ГМФ
Пиримидиновые	Урацил	Уридин	Уридинмонофосфат (уридиловая кислота)	УМФ
	Цитозин	Цитидин	Цитидинмонофосфат (цитидиловая кислота)	ЦМФ
	Тимин	Тимидин	Тимидинмонофосфат (тимидиловая кислота)	ТМФ

Мононуклеотиды и их производные, а также динуклеотиды присутствуют в клетках в свободном виде и играют важную роль в обмене веществ. В частности, нуклеотидную структуру имеют многие коферменты, включая коферменты оксидоредуктаз. Мононуклеотиды, присоединяя еще один остаток фосфата, образуют фосфоангидридную связь (наподобие связи, имеющейся в пирофосфате) и превращаются в нуклеозиддифосфаты (соответственно они обозначаются сокращенно АДФ, ГДФ, УДФ, ЦДФ и ТДФ). Последние, присоединяя еще один остаток фосфата, образуют нуклеозидтрифосфаты (соответственно обозначаются АТФ, ГТФ, УТФ, ЦТФ и ТТФ).

Следует особо указать, что только свободные нуклеозидтрифосфаты в клетках являются предшественниками ферментативного синтеза ДНК и РНК. Однако в клетках

имеются свободные, также природные нуклеозидтрифосфаты, не принимающие участия в синтезе белка, но выполняющие жизненно важные функции. В частности, одной из важнейших функций нуклеозидтрифосфатов и особенно АТФ является их участие в биоэнергетике всех живых организмов. Приводим схему образования молекул аденозинди- и аденозинтрифосфатов (некоторые атомы водорода, как и углерода, в пуриновом ядре и в кольце рибозы опущены):



В медицинской практике, в частности в онкологии, нашли широкое применение синтетические аналоги как азотистых оснований, так нуклеозидов и нуклеотидов. К наиболее распространенным лекарственным препаратам – аналогам пуриновых и пиримидиновых оснований (и соответствующим нуклеотидам) относятся 5-фторурацил, 6-тио- и 6-меркаптопурин, 8-азагуанин, 6-азауридин и 6-азацитидин, а также 5-йодпроизводное дезоксиуридина.

Помимо сокращенных названий и обозначений нуклеозидов и нуклеотидов, приняты буквенные обозначения нуклеозидов (и нуклеотидов): в частности, для аденозина (АМФ) это А, для гуанозина (ГМФ) – Г, для цитидина (ЦМФ) – Ц, для уридина (УМФ) – У, для тимидина (ТМФ) – Т. Пользуясь этими символами, приведенный выше дирибонуклеозидмонофосфат можно обозначить как Г–Т. Заметим, что как по структуре, так и по свойствам Г–Т и Т–Г будут сильно отличаться друг от друга (как и в случае дипептидов).

4.4 Первичная структура нуклеиновых кислот

Под первичной структурой нуклеиновых кислот понимают порядок, последовательность расположения мононуклеотидов в полинуклеотидной цепи ДНК и РНК. Такая цепь стабилизируется 3',5'-фосфодиэфирными связями. Поскольку молекулярная масса нуклеиновых кислот колеблется в широких пределах (от $2 \cdot 10^4$ до 10^{10} – 10^{11}), установить первичную структуру всех известных РНК и особенно ДНК весьма сложно. Тем не менее, во всех нуклеиновых кислотах (точнее, в одноцепочечной нуклеиновой кислоте) имеется один и тот же тип связи – 3',5'-фосфодиэфирная связь между соседними нуклеотидами. Эту общую основу структуры можно представить следующим образом:



Установлено, что в образовании межнуклеотидной связи участвуют гидроксильные группы в 3'- и 5'-положениях остатков углевода.

К настоящему времени удалось определить первичную структуру почти всех тРНК, вирусных РНК, в состав которых входят сотни и тысячи нуклеотидных остатков. Ниже приводится примерная схема последовательности нуклеотидов в молекуле РНК. Все клеточные РНК в основном состоят из одноцепочечной полинуклеотидной цепи:



Полинуклеотидная цепь молекулы РНК имеет на одном конце почти всегда свободный монофосфорный эфир, который принято обозначать как 5'-конец; на противоположном конце цепи такой фосфат отсутствует, а содержится нуклеотид со свободными 2'- и 3'-гидроксильными группами.

В выяснении первичной структуры РНК решающую роль сыграли методы ступенчатого гидролиза, осуществленного в основном экзонуклеазами и заключающегося в последовательном отщеплении по одному мононуклеотиду с одного конца молекулы нуклеиновой кислоты. Первичная нуклеотидная последовательность структуры первой РНК, имеющей 77 нуклеотидов, была расшифрована в 1965 г. Р. Холли и сотр.

Следует особо указать на две существенные особенности первичной структуры всех тРНК. Первая из них заключается в том, что 5'-концом всегда является гуаниловая (редко цитидиловая) кислота, несущая свободный остаток фосфата у С-5'. Вторая особенность – наличие на противоположном конце молекулы остатков трех мононуклеотидов с одинаковой последовательностью – ЦЦА, причем остаток адениловой кислоты содержит свободную 3'-ОН-группу.

Между этими структурами в строго определенной последовательности располагаются все остальные нуклеотидные остатки, среди которых на долю минорных нуклеотидов приходится до 10%. Полинуклеотидная цепь разных типов тРНК содержит около 75 нуклеотидов.

Матричные (информационные) РНК относятся к наиболее гетерогенному классу нуклеиновых кислот, отличающихся по массе, структуре, размерам, стабильности и функциям. Основной функцией мРНК является перенос информации от ДНК (точнее, от гена) на белоксинтезирующую систему клетки. мРНК выполняет роль матрицы и, следовательно, определяет первичную структуру синтезируемого белка. мРНК наделены рядом особенностей первичной структуры; в частности, на 5'-конце все они содержат определенную последовательность рибонуклеотидов, получившую название шапочки (кэп). Первым нуклеотидом является 7-метилгуанозинтрифосфат, который присоединяется к 5'-гидроксилу соседнего мононуклеотида, представленного 2'-О-метилпуриновым нуклеотидом. На другом 3'-конце большинства (но не всех) мРНК содержится полиадениловая последовательность (поли-А), насчитывающая от 150 до 200 нуклеотидов.

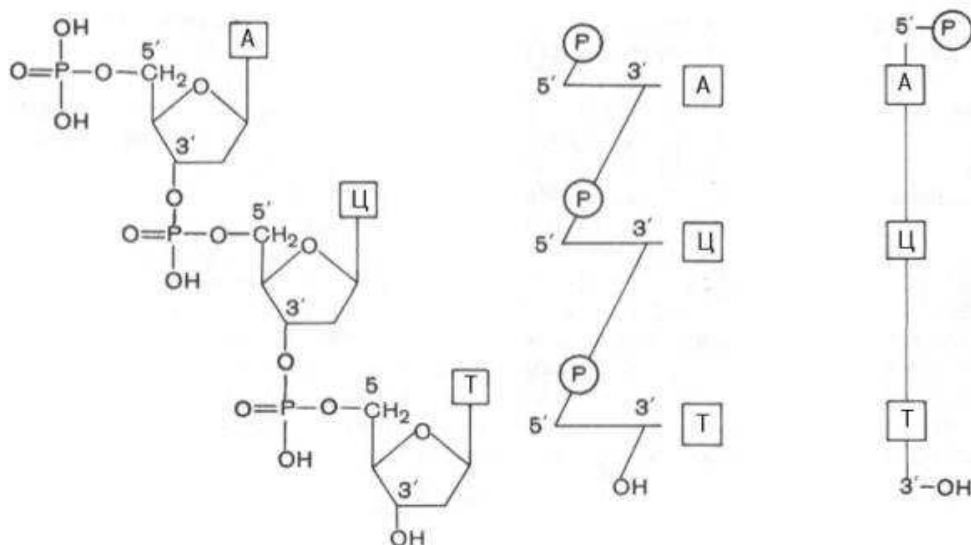
Роль «кэпирования» и «полиаденилирования» мРНК в белковом синтезе окончательно не выяснена. Предполагают, что кэп необходим для специфического узнавания в процессе трансляции, в то время как поли-А отводится роль фактора стабилизации всей молекулы мРНК.

Уже выяснены нуклеотидные последовательности дрожжевой клетки, а также первичные структуры высокомолекулярных рРНК клеток эукариот, насчитывающих около 4700 нуклеотидов.

В настоящее время проводятся исследования первичных структур различных молекул ДНК. Около 15 лет назад была полностью расшифрована нуклеотидная последовательность митохондриальной ДНК человека (16569 пар нуклеотидов). Известны полные нуклеотидные последовательности ДНК ряда вирусов и плазмид. Совсем недавно завершено определение нуклеотидных последовательностей геномов двух прокариотических организмов (*Haemophilus influenzae* и *Mycoplasma genitalum*) и появились сообщения о расшифровке генома первого эукариотического организма – дрожжей. Близки к завершению аналогичные

исследования генома нематоды *Caenorhabditis elegans*. Исследователи активно работают над полной расшифровкой генома человека.

Результаты секвенирования (определение нуклеотидной последовательности ДНК):

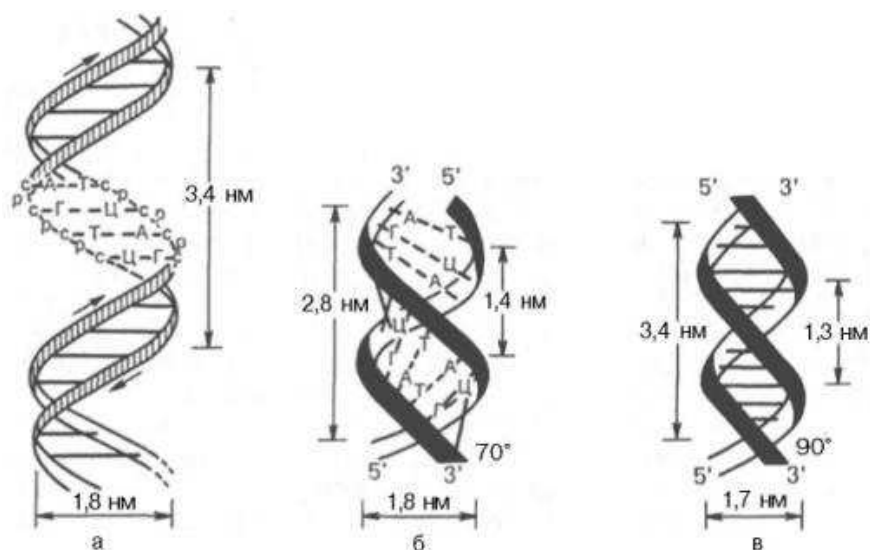


Большие надежды в определении первичной структуры ДНК исследователи возлагают на физические, химические (синтез генов), генетические и другие методы, а также на методы выделения некоторых генов (или их фрагментов) из природных источников и синтеза генов на мРНК при участии фермента обратной транскриптазы.

4.5 Вторичная структура нуклеиновых кислот

В соответствии с моделью Дж. Уотсона и Ф. Крика, предложенной в 1953г. на основании ряда аналитических данных, а также рентгеноструктурного анализа молекула ДНК состоит из двух цепей, образуя правовращающую спираль, в которую обе полинуклеотидные цепи закручены вокруг одной и той же оси. Удерживаются цепи благодаря водородным связям, образующимся между их азотистыми основаниями (рис.8а). Обе цепи полинуклеотидов в биспиральной молекуле ДНК имеют строго определенное пространственное расположение, при котором азотистые основания находятся внутри, а фосфорильные и углеводные компоненты – снаружи.

Детальный анализ всевозможных вариантов образования водородных связей между основаниями показал, что в биспиральной молекуле ДНК основания уложены парами: пурин из одной цепи и пиримидин из другой в соответствии с правилами Чаргаффа. Поскольку ориентация оснований на плоскости не является, очевидно, произвольной, и основания в полинуклеотидах представлены в лактамной форме, наиболее вероятными были признаны пары аденин–тимин и гуанин–цитозин. Этот способ спаривания получил в дальнейшем экспериментальное подтверждение. Избирательность взаимодействия пар А–Т и Г–Ц принято выражать термином «комплементарность», а соответствующие азотистые основания называют комплементарными. Стабильность А–Т оснований обеспечивается двумя водородными связями, а пар Г–Ц – тремя, что в свою очередь определяется особенностями расположения функциональных групп азотистых оснований. Длина водородных связей между основаниями составляет около 0,3 нм. Таким образом, комплементарными оказываются не только отдельные основания, но и дезоксирибонуклеотидные цепи ДНК в целом, способствующие образованию весьма компактной структуры и стабилизации всей молекулы.



а - по Уотсону и Крику : с - остаток дезоксирибозы, р - остаток фосфорной кислоты; б - А-форма ДНК; в - В-форма ДНК

Рисунок 8 а - Схематическое изображение двойной спирали ДНК

Обе цепи в молекуле ДНК имеют противоположную полярность. Это означает, что межнуклеотидная связь в одной цепи имеет направление 5'→3', а в другой – 3'→5'. Подобная направленность цепей имеет важное биологическое значение при репликации и транскрипции молекулы ДНК.

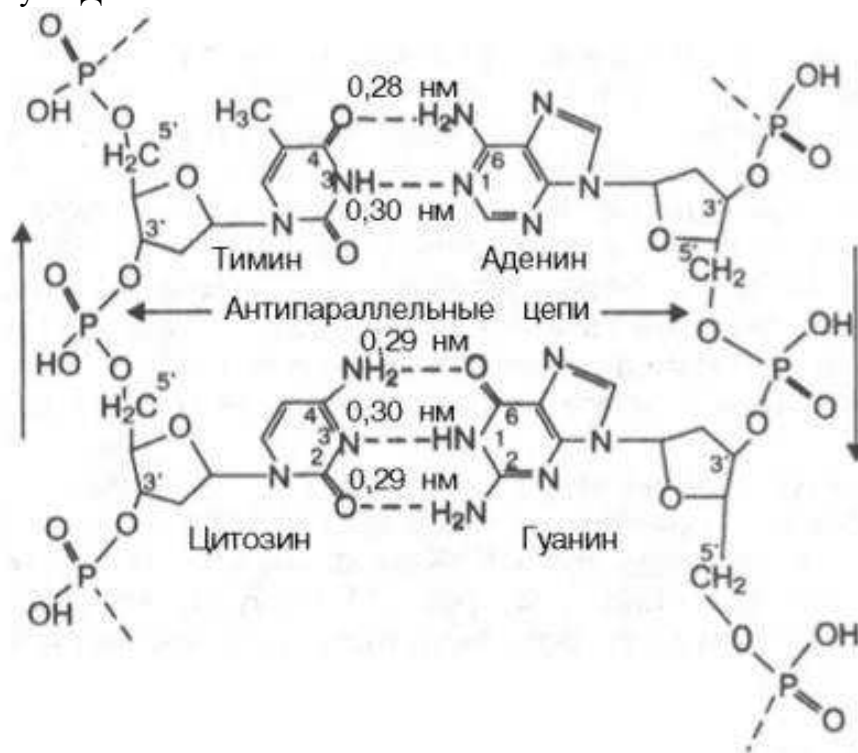


Рисунок 8 б - Конфигурация двух мононуклеотидов в молекуле ДНК

На модели ДНК (см. рис.8а) видно, что расстояние между витками (шаг спирали) равно 3,4 нм. На этом участке укладываются 10 нуклеотидных остатков, размер одного нуклеотида составляет 0,34 нм; диаметр биспиральной молекулы равен 1,8 нм.

Необходимо указать, что конфигурация двойной спирали ДНК сильно меняется в зависимости от количественного содержания воды и ионной силы окружающей среды. Методами рентгеноструктурного анализа доказано существование по крайней мере 6 форм ДНК, названных А-, В-, С-, D-, Е- и Z-формами. Конфигурация двух из них в простейшей форме представлена на рис.8 б. Если А- и В-формы представляют собой правозакрученную двойную спираль, то Z-форма (зигзагообразная) ДНК имеет левозакрученную конфигурацию, в которой фосфодиэфирный остов располагается зигзагообразно вдоль оси молекулы. Параллельно фосфодиэфирному остову в структуре А- и В-форм ДНК имеются большая и малая бороздки (желобки) – сайты, где присоединяются белки, выполняющие, очевидно, регуляторные функции при экспрессии генов. В настоящее время есть основание считать, что между А- и В-формами ДНК осуществляются взаимные переходы при изменении концентрации соли и степени гидратации. В-форма ДНК больше всего подходит к модели Уотсона и Крика. В этих переходах, которые могут быть вызваны растворителями или белками, очевидно, заключен определенный биологический смысл. Предполагают, что в А-форме ДНК выполняет роль матрицы в процессе транскрипции (синтез РНК на молекуле ДНК), а в В-форме – роль матрицы в процессе репликации (синтез ДНК на молекуле ДНК).

В структуре ДНК, как и в структуре РНК, открыты нуклеотидные последовательности, получившие название «палиндромы», или перевернутые повторы. Они встречаются как внутри одной цепи, так и в двойной спирали. Например, как слово ротатор, которое одинаково читается как справа налево, так и обратно. Подобные обратные повторы могут служить основой для образования структуры шпилек или других вариаций с измененным внутрицепочечным и межцепочечным спариванием и формированием на отдельных участках тройной спирали. Возможно, эти палиндромные структуры имеют определенный биологический смысл в регуляции экспрессии отдельных генов, выполняя роль сайтов для ДНК-связывающих белков. Предстоит, однако, приложить немало усилий для установления, как точной структуры этих вариаций, так и для определения их функциональной роли.

Менее охарактеризована вторичная структура матричных и рибосомных РНК. Относительно вторичной структуры тРНК наиболее вероятной представляется модель, предложенная Р. Холли, плоское изображение которой напоминает клеверный лист. В настоящее время, когда известна первичная структура большинства тРНК, последовательность всех или почти всех природных тРНК как будто бы укладывается в эту схему «клеверного листа». При сравнении этих структур выявляется ряд закономерностей, несомненно, имеющих определенный биологический смысл. Во всех тРНК есть участки, взаимодействующие с рибосомами, места для связывания с аминокислотами и ферментами, а также специфическая последовательность трех нуклеотидов (триплет), называемая антикодоном, которая оказывается комплементарной тринуклеотидной последовательности мРНК (кодону), кодирующей включение в белковую молекулу определенной аминокислоты.

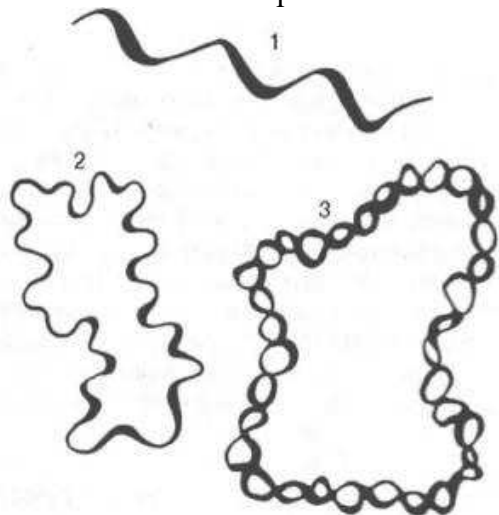
Независимо от типа РНК синтезированный в клетке продукт транскрипции всегда представлен единственной цепью, упакованной во вторичную структуру не случайно, а в соответствии с программой ДНК. Поскольку в составе РНК имеются свободные 2'-оксигруппы рибозы, не связанные со стандартным крик-уотсоновским спариванием азотистых оснований, появляются дополнительные возможности образования вторичной и третичной структур, содержащих выпуклости, шпильки, или крестообразные структуры. Особенности структуры тРНК имеют прямое отношение к процессу трансляции, поэтому более подробно они рассмотрены в разделе биосинтеза белка.

4.6 Третичная структура нуклеиновых кислот

Выделить нативную молекулу ДНК из большинства источников, в частности хромосом, чрезвычайно трудно из-за высокой чувствительности молекулы ДНК к нуклеазам тканей и гидродинамической деструкции.

Удалось выделить в интактном (неповрежденном) виде только некоторые ДНК вирусов, митохондрий и хлоропластов. Исследования этих молекул при помощи физических (в частности, кристаллографических) и физико-химических методов показали, что двойная спираль ДНК на некоторых участках может подвергаться дальнейшей спирализации с образованием суперспирали или открытой кольцевой формы. Оказалось также, что линейная ДНК может образоваться из кольцевой формы или существовать как таковая в природе. В некоторых вирусах обнаружены, кроме того, одноцепочечные ДНК линейной и кольцевой форм (рис. 9).

Образование кольцевой формы молекулы ДНК у бактерий или в митохондриях клеток животных часто вызвано ковалентным соединением их открытых концов. Известно, что суперспиральная (суперскрученная) структура обеспечивает экономную упаковку огромной молекулы ДНК в хромосоме: вместо 8 см длины, которую она могла бы иметь в вытянутой форме, в хромосоме человека молекула ДНК настолько плотно упакована, что ее длина составляет 5 нм. Обычно в ДНК встречаются положительные и отрицательные супервитки, образованные за счет скручивания по часовой (правосторонней) или против часовой стрелки двойной спирали. Образование подобных супервитков катализируется специфическими ферментами, получившими название топоизомераз. Подобные суперспирали соединяются с белками (гистонами), упакованными в бороздках, обеспечивая тем самым стабильность третичной структуры ДНК. Суперспирализация ДНК может быть нарушена разрывом в одной из цепей или в обеих цепях двойной спирали под действием ДНКазы или может быть вызвана антибиотиками и красителями.



1 - линейная одноцепочечная ДНК - бактериофаг фХ174 и другие вирусы; 2 - кольцевая одноцепочечная ДНК вирусов и митохондрий; 3 - кольцевая двойная спираль ДНК

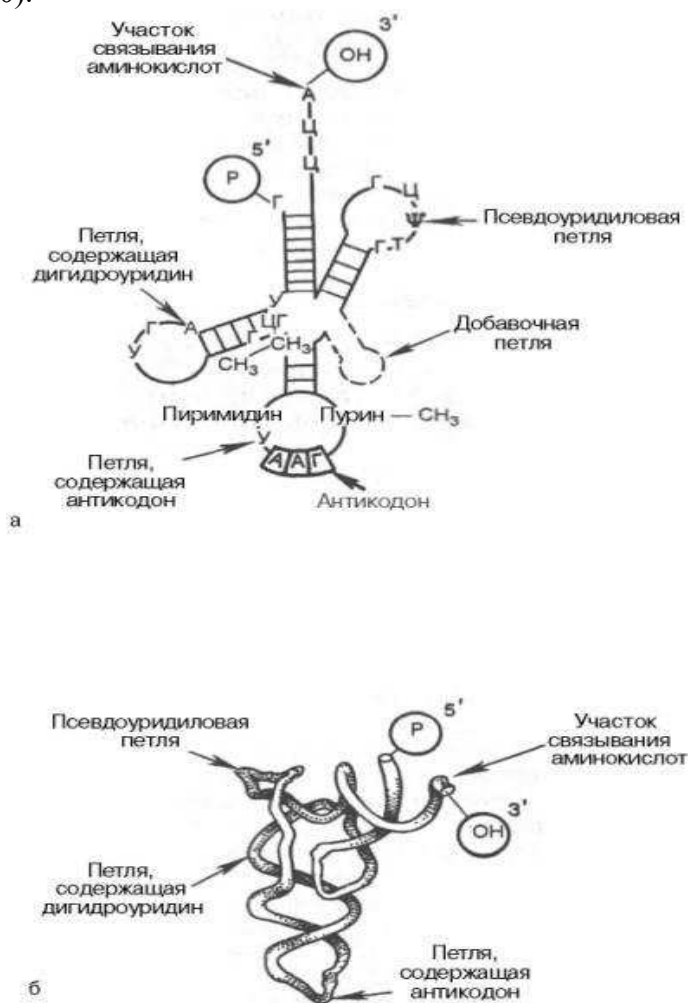
Рисунок 9 - Третичная структура ДНК (схема)

Данные о структуре тРНК свидетельствуют о том, что нативные молекулы тРНК имеют примерно одинаковую третичную структуру, которая отличается от плоской структуры «клеверного листа» большей компактностью за счет складывания различных частей молекулы. Следует указать на существование у ряда вирусов (реовирус, вирус раневых опухолей растений и др.) природных двухцепочечных РНК, обладающих

однотипной с ДНК структурой. При физиологических значениях рН среды, ионной силы и температуры создаются условия для образования в одноцепочечных матричных и рибосомных РНК множества участков с двойной спиралью («шпильки») и дальнейшего формирования комплементарных участков, определяющих в известной степени жесткость их третичной структуры (рис. 10).

4.7 Транспортные РНК

На долю тРНК приходится около 10–15% от общего количества клеточной РНК. К настоящему времени открыто более 60 различных тРНК. Для каждой аминокислоты в клетке имеется, по крайней мере, одна специфическая тРНК. (Для ряда аминокислот открыто более одной: в частности, для серина, лейцина и аргинина – 6 разных тРНК, для аланина, треонина и глицина – по 4 разных тРНК). Молекулярная масса большинства тРНК колеблется от 24000 до 29000. Они содержат от 75 до 85 нуклеотидов. Интересно, что почти все тРНК обладают не только удивительно сходными функциями, но и очень похожей трехмерной структурой (рис. 10).



а - общая структура различных тРНК; б - пространственная структура тРНК

Рисунок 10 – Структура тРНК

Общей для тРНК является нативная трехмерная структура, установленная методом рентгенокристаллографического анализа и названная первоначально конформацией клеверного листа. В молекуле тРНК открыты спирализованные участки, необычные водородные связи и гидрофобные взаимодействия во внеспирализованных участках.

Показано, что тРНК имеет псевдоуридиловую петлю, образованную из нуклеотидов, содержащих псевдоуридин, и дигидроуридиловую петлю. Обе петли участвуют в образовании угла буквы L. На 3'-ОН-конце располагается одинаковая для всех тРНК последовательность триплета ЦЦА-ОН, к которой присоединяется посредством эфирной связи специфическая аминокислота.

Роль отдельных участков тРНК недостаточно раскрыта. В частности, псевдоуридиловая петля, по-видимому, обеспечивает связывание аминоацил-тРНК с рибосомой, а дигидроуридиловая петля, вероятно всего, необходима как сайт (место) для узнавания специфическим ферментом – аминоацил-тРНК-синтетазой. Имеется, кроме того, добавочная петля, состав которой варьирует у разных типов молекул тРНК; ее назначение неизвестно. Существенным, с полностью раскрытой функцией участком является антикодонная петля, несущая триплет, названный антикодоном, и расположенная на противоположной стороне от того конца, к которому присоединяется аминокислота. Антикодонная петля состоит из 7 нуклеотидов: три занимают центральное положение и формируют собственный высокоспецифичный антикодон, соответствующему кодону мРНК, причем оба они антипараллельны в своей комплементарности.

4.8 Матричная РНК

В ряде лабораторий (в частности, в лаборатории С. Бреннера) были получены данные о возможности существования в клетках в соединении с рибосомами короткоживущей РНК, названной информационной (иРНК). Сейчас она обозначается как матричная РНК (мРНК), потому что ее роль заключается в переносе информации от ДНК в ядре (где она синтезируется под действием ДНК-зависимой РНК-полимеразы) до цитоплазмы, где она соединяется с рибосомами и служит матрицей, на которой осуществляется синтез белка. Эта блестящая гипотеза затем экспериментально была доказана в лаборатории М. Ниренберга. Опыты М. Ниренберга свидетельствуют также о том, что не рибосома и не рибосомная рРНК являются матрицей, на которой синтезируются специфические белки, а эту роль выполняют поступающие извне матричные РНК. Итак, ДНК передает информацию на РНК, которая синтезируется в ядре и затем поступает в цитоплазму; здесь РНК выполняет матричную функцию для синтеза специфической белковой молекулы. Матричная гипотеза белка, как и других полимерных молекул ДНК и РНК, в настоящее время получила подтверждение. Ее правомочность была доказана в экспериментах, которые обеспечивали точное воспроизведение первичной структуры полимерных молекул.

5 Ферменты

5.1 Характеристика ферментов, их свойств

В основе всех жизненных процессов лежат тысячи химических реакций. Они идут в организме без применения высокой температуры и давления, т.е. в мягких условиях. Вещества, которые окисляются в клетках человека и животных, сгорают быстро и эффективно, обогащая организм энергией и строительным материалом. Но те же вещества могут годами храниться как в консервированном (изолированном от воздуха) виде, так и на воздухе в присутствии кислорода. Возможность быстрого переваривания продуктов в живом организме осуществляется благодаря присутствию в клетках особых биологических катализаторов - ферментов. Термин "фермент" (fermentum по-латыни означает "бродило", "закваска") был предложен голландским ученым Ван-Гельмонтом в начале XVIII века. Так он назвал неизвестный агент, принимающий активное участие в процессе спиртового брожения.

В разных изданиях применяются два понятия: "ферменты" и "энзимы". Эти названия идентичны. Они обозначают одно и то же - биологические катализаторы. Первое слово переводится как "закваска", второе - "в дрожжах".

Экспериментальное изучение ферментативных процессов началось в XVIII столетии, когда французский естествоиспытатель Р. Реомюр поставил опыты, чтобы выяснить механизм переваривания пищи в желудке хищных птиц. Он давал хищным птицам глотать кусочки мяса, заключенные в просверленную металлическую трубочку, которая была прикреплена к тонкой цепочке. Через несколько часов трубочку вытягивали из желудка птицы, и выяснялось, что мясо частично растворилось. Поскольку оно находилось в трубочке и не могло подвергаться механическому измельчению, естественно было предположить, что на него воздействовал желудочный сок. Это предположение подтвердил итальянский естествоиспытатель Л. Спалланцани. В металлическую трубочку, которую заглатывали хищные птицы, Л. Спалланцани помещал кусочек губки. После извлечения трубки из губки выжимали желудочный сок. Затем нагревали мясо в этом соке, и оно полностью в нем "растворялось".

Значительно позже (1836г) Т. Шванн открыл в желудочном соке фермент пепсин (от греческого слова *perro* - "варю") под влиянием которого и происходит переваривания мяса в желудке. Эти работы послужили началом изучения так называемых протеолитических ферментов.

Важным событием в развитии науки о ферментах явились работы К.С. Киргоффа. В 1814 г. действительный член Петербургской Академии наук К.С. Киргофф выяснил, что проросший ячмень способен превращать полисахарид крахмал в дисахарид мальтозу, а экстракт дрожжей расщеплял свекловичный сахар на моносахариды - глюкозу и фруктозу. Это были первые исследования в ферментологии. Хотя на практике применение ферментативных процессов было известно с незапамятных времен (сбраживание винограда, сыроварение и др.)

В 1871 г. русский врач М.М. Манассеина разрушила дрожжевые клетки, растирая их речным песком. Клеточный сок, отделенный от остатков клеток, сохранял свою способность сбраживать сахар. Через четверть века немецкий ученый Э. Бухнер получил бесклеточный сок прессованием живых дрожжей под давлением до $5 \cdot 10$ Па. Этот сок, подобно живым дрожжам, сбраживал сахар с образованием спирта и оксида углерода (IV):



Работы А.Н. Лебедева по исследованию дрожжевых клеток и труды других ученых положили конец виталистическим представлениям в теории биологического катализа, а термины "фермент" и "энзим" стали применять как равнозначные.

Будучи белками, ферменты обладают всеми их свойствами. Вместе с тем биокатализаторы характеризуются рядом *специфических качеств*, тоже вытекающих из их белковой природы. Эти качества отличают ферменты от катализаторов обычного типа. Сюда относятся термолабильность ферментов, зависимость их действия от значения рН среды, специфичность и, наконец, подверженность влиянию активаторов и ингибиторов.

Термолабильность ферментов объясняется тем, что температура, с одной стороны, воздействует на белковую часть фермента, приводя при слишком высоких значениях к денатурации белка и снижению каталитической функции, а с другой стороны, оказывает влияние на скорость реакции образования фермент-субстратного комплекса и на все последующие этапы преобразования субстрата, что ведет к усилению катализа.

Зависимость каталитической активности фермента *от температуры* выражается типичной кривой. До некоторого значения температуры (в среднем до 50°C) каталитическая активность растет, причем на каждые 10°C примерно в 2 раза повышается скорость преобразования субстрата. В то же время постепенно возрастает количество инактивированного фермента за счет денатурации его белковой части. При температуре

выше 50°C денатурация ферментного белка резко усиливается и, хотя скорость реакций преобразования субстрата продолжает расти, активность фермента, выражающаяся количеством превращенного субстрата, падает.

Температура, при которой каталитическая активность фермента максимальна, называется его температурным оптимумом. Температурный оптимум для различных ферментов неодинаков. В общем для ферментов животного происхождения он лежит между 40 и 50°C, а растительного - между 50 и 60°C. Однако есть ферменты с более высоким температурным оптимумом, например, у папаина (фермент растительного происхождения, ускоряющий гидролиз белка) оптимум находится при 80°C. В то же время у каталазы (фермент, ускоряющий распад H_2O_2 до H_2O и O_2) оптимальная температура действия находится между 0 и -10°C, а при более высоких температурах происходит энергичное окисление фермента и его инактивация.

Зависимость активности фермента *от значения рН среды* была установлена свыше 50 лет назад. Для каждого фермента существует оптимальное значение рН среды, при котором он проявляет максимальную активность. Большинство ферментов имеет максимальную активность в зоне рН поблизости от нейтральной точки. В резко кислой или резко щелочной среде хорошо работают лишь некоторые ферменты.

Влияние концентрации водородных ионов на каталитическую активность ферментов состоит в воздействии ее на активный центр. При разных значениях рН в реакционной среде активный центр может быть слабее или сильнее ионизирован и т.п. Кроме того, рН среды влияет на степень ионизации субстрата, фермент-субстратного комплекса и продуктов реакции, оказывает большое влияние на состояние фермента, определяя соотношение в нем катионных и анионных центров, что сказывается на третичной структуре белковой молекулы, которая необходима для образования фермент-субстратного комплекса.

Специфичность - одно из наиболее выдающихся качеств ферментов. Это свойство их было открыто еще в прошлом столетии, когда было сделано наблюдение, что очень близкие по структуре вещества - пространственные изомеры расщепляются по эфирной связи двумя совершенно разными ферментами.

Таким образом, ферменты могут различать химические соединения, отличающиеся друг от друга очень незначительными деталями строения.

Учение о ферментах выделено в самостоятельную науку – **энзимологию**. В настоящее время учреждены научно-исследовательские институты по изучению ферментов, издаются специальные журналы, созываются национальные и международные симпозиумы и конференции, посвященные проблемам энзимологии. Наука о ферментах интенсивно развивается в тесной связи со многими науками, в частности с органической, неорганической и физической химией, физиологией, токсикологией, микробиологией, генетикой, фармакологией и др. Таким образом, эта область знаний находится на стыке химических, биологических и медицинских наук.

Энзимология в ее современном физико-химическом и молекулярном понимании решает две главные, неразрывно связанные между собой проблемы: определение структурной макромолекулярной организации ферментов и изучение природы химических взаимодействий, лежащих в основе ферментативного катализа. Накопление экспериментальных данных и развитие теоретических представлений происходят настолько быстро, что любой учебник к моменту выхода в свет уже не отражает достаточно полно современное состояние вопроса о структуре и функциях ферментов.

Важно подчеркнуть, что изучение ферментов имеет огромное значение для любой фундаментальной и прикладной области биологии, а также для многих практических отраслей химической, пищевой и фармацевтической индустрии, занятых приготовлением катализаторов, антибиотиков, витаминов и многих других биологически активных веществ, используемых в народном хозяйстве и медицине. В фармакологии действие многих лекарственных препаратов основано на определенном, хотя часто еще не выявленном, механизме взаимодействия их с ферментами. Наука о питании базируется на точных знаниях

поэтапного расщепления питательных веществ под влиянием ферментов пищеварительного аппарата, на количественный и качественный состав которых существенное влияние оказывает характер поступающих с пищей веществ. Многие проблемы наследственной патологии человека, развитие врожденных пороков обмена тесно связаны с дефектами или полным отсутствием синтеза специфических ферментов. Проблемы клеточного роста и развития, дифференцировки клеток высших организмов, физиологических функций (движение, перемещение в пространстве, транспорт веществ и ионов, процессы возбуждения и торможения и др.) определяются в большой степени работой биокатализаторов, включая их биосинтез и инактивацию.

В хлебопекарном производстве для ускорения гидролиза крахмала и улучшения качества теста используют амилазы. При приготовлении детской пищи с целью облегчения переваривания углеводов и белков исходные продукты обрабатываются амилазой и протеиназами. Специфические протеиназы используют в виноделии, в кожевенной промышленности, при производстве синтетических моющих средств. Ферменты используют как лекарственные средства: пепсин, трипсин, химотрипсин, лидаза, стрептокиназа.

5.2 Отличительные признаки ферментативного и химического катализа

В принципе клетка использует те же самые химические реакции, что и химик в своей лаборатории. Однако на условия протекания реакций в клетке накладываются жесткие ограничения. В лаборатории для ускорения процесса химик может нагреть реакционную смесь, в необходимых случаях он может проводить реакцию при повышенном давлении, а в тех случаях, когда реакция плохо протекает в водном растворе, использовать сухие неводные растворители. Все реакции в клетке протекают в водном растворе при постоянной температуре (~37°C) и постоянном давлении (~1 атм.). Именно поэтому очень часто процессы, которые в лабораторных условиях можно провести в одну стадию, в живой клетке протекают через множество стадий. Характерным примером является сжигание глюкозы — ключевой процесс получения клеткой энергии. Если химик может просто поджечь порошкообразную глюкозу, а выделяющуюся теплоту использовать для получения работы, то необходимость проведения этого процесса в водном растворе при постоянной температуре заставила клетку разбить его на множество стадий (окислительное фосфорилирование, цепь гликолиза и цикл лимонной кислоты и др.).

Являясь катализаторами – веществами, ускоряющими реакции, ферменты имеют ряд *общих свойств* с химическими, небиологическими катализаторами.

1 Ферменты не входят в состав конечных продуктов реакции и выходят из реакции в первоначальном виде. Они не расходуются в процессе катализа.

2 Ферменты не могут возбудить реакций, противоречащих законам термодинамики, они только ускоряют те реакции, которые могут протекать и без них.

3 Ферменты, как правило, не смещают положения равновесия реакции, а лишь ускоряют его достижение.

Для ферментов характерны и *специфические* свойства, отличающие их от химических катализаторов, выражающих их химическую природу.

По химическому строению молекулы все ферменты являются белками.

4 Эффективность ферментов выше, чем небиологических катализаторов. В присутствии ферментов химические реакции протекают намного быстрее, чем при небиологическом катализе. В некоторых случаях ускорение достигает 10^8 раз.

Очень наглядной мерой активности ферментов является так называемое **число оборотов**. Числом оборотов фермента называют число молекул субстрата, претерпевающих превращение в единицу времени (обычно в 1 мин) в расчете на одну молекулу фермента (или один каталитический центр). Число оборотов может различаться у разных ферментов на несколько порядков

Скорость ферментативного катализа намного выше, чем небиологического. Например, энергия активации реакции разложения перекиси водорода $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + 1/2\text{O}_2$ равна 75,3 кДж/моль, поэтому самопроизвольное разложение протекает настолько медленно, что выделяющийся кислород визуально не заметен. При добавлении неорганического катализатора - железа или платины - энергия активации снижается до 54,1 кДж/моль, реакция ускоряется в тысячи раз и становится заметной по выделению пузырьков кислорода.

Фермент каталаза, разлагающий перекись водорода, снижает энергию активации более, чем в 4 раза и ускоряет реакцию разложения в миллиард раз. Реакция протекает настолько бурно, что раствор от выделяющегося кислорода буквально вскипает.

Наконец, одна-единственная молекула фермента может катализировать при обычной температуре превращение от тысячи до миллиона молекул вещества в минуту. Эта скорость катализа недостижима для небиологических катализаторов.

5 Ферменты обладают узкой специфичностью, избирательностью действия на субстраты, т.е. на вещества, превращения, которых они катализируют. Как правило, они отличают субстрат от его структурных изомеров и даже небольшая химическая модификация природного субстрата резко снижает сродство фермента к субстрату.

3 Ферменты обладают высокой специфичностью к типу катализируемой реакции. В подавляющем большинстве случаев фермент катализирует лишь одну реакцию (реже — две).

4 Ферменты обладают высокой региоспецифичностью. В случае субстратов, имеющих несколько реакционно-способных центров, небиологические катализаторы ускоряют реакцию по всем центрам. В противоположность этому, фермент «направляет» агент лишь по одному из центров.

5 Ферменты обладают высокой стереоспецифичностью. В отличие от небиологических катализаторов, ферменты однозначно различают не только диастереомеры и диастереотопные группы внутри молекулы, но и энантиомеры и энантиотопные группы.

6 Одним из важнейших свойств ферментов является их регулируемость. Ферменты регулируемы. То есть они могут изменять свою активность под воздействием ряда факторов, изменяя количественные выходы продуктов. Этим обеспечивается скоординированность всех метаболических процессов во времени.

7 Ферментативные процессы не дают побочных реакций, для них характерен 100% выход целевого продукта.

8 Ферменты катализируют реакции в мягких условиях, то есть при обычном давлении, небольшой температуре и значениях рН, близких к нейтральным, однако весьма чувствительны к сдвигам рН среды и изменению температуры.

9 Скорость ферментативной реакции прямо пропорциональна количеству фермента, поэтому недостаток фермента в организме означает низкую скорость превращения какого-либо соединения, и наоборот, одним из путей приспособления организма является увеличение количества требуемого фермента

5.3 Пространственное строение

Причиной всех этих уникальных свойств ферментов является их пространственное строение. Все ферменты представляют собой глобулярные белки, намного превосходящие по размерам субстрат. Именно это обстоятельство, вместе с особенностями третичной структуры белков, привело к тому, что в процессе эволюции на поверхности фермента сформировался **активный центр**, комплементарный субстрату.

Под **активным центром** подразумевают уникальную комбинацию аминокислотных остатков в молекуле фермента, обеспечивающую непосредственное связывание ее с молекулой субстрата и прямое участие в акте катализа (рис. 11). Активный центр - часть молекулы фермента, где происходит связывание и превращение субстрата. У фермента, имеющих четвертичную структуру, число АЦ может быть равно числу Субъединиц.

Установлено, что у сложных ферментов в состав активного центра входят также простетические группы.

Условно активный центр можно разделить на две части — связывающий центр и каталитический центр. Связывающий центр (связывающая площадка) выполняет функцию специфического связывания субстрата и его оптимальной ориентации по отношению к катализирующим группам. Каталитический центр, непосредственно вступает в химическое взаимодействие с субстратом, и связывает центр, который обеспечивает специфическое сродство к субстрату и формирование его комплекса с ферментом. В свою очередь молекула субстрата также содержит функционально различные участки: например, субстраты эстераз или протеиназ — одну специфическую связь (или группу атомов), подвергающуюся атаке со стороны фермента, и один или несколько участков, избирательно связываемых ферментом.



Рисунок 11 - Активный центр фермента (схема) (по Малеру и Кордесу)

Предполагают, что формирование активного центра фермента начинается уже на ранних этапах синтеза белка-фермента на рибосоме, когда линейная одномерная структура пептидной цепи превращается в трехмерное тело строго определенной конфигурации. Образовавшийся белок приобретает информацию совершенно нового типа, а именно функциональную (в частности, каталитическую). Любые воздействия, приводящие к денатурации, т.е. нарушению третичной структуры, приводят к искажению или разрушению структуры активного центра и соответственно потере ферментом каталитических свойств. Если при подходящих внешних условиях удастся восстановить нативную трехмерную структуру белка-фермента (ренатурировать его), то восстанавливается и его каталитическая активность.

Помимо активного центра, в молекуле фермента может присутствовать также **аллостерический центр** (или центры) (от греч. *allos* — другой, иной и *steros* — пространственный, структурный), представляющий собой участок молекулы фермента, с которым связываются определенные, обычно низкомолекулярные, вещества (эффекторы, или модификаторы), молекулы которых отличаются по структуре от субстратов. Присоединение эффектора к аллостерическому центру изменяет третичную и часто также четвертичную структуру молекулы фермента и соответственно конфигурацию активного центра, вызывая снижение или повышение энзиматической активности. Ферменты, активность каталитического центра которых подвергается изменению под влиянием аллостерических эффекторов, связывающихся с аллостерическим центром, получили название аллостерических ферментов.

В каталитическом центре сконцентрированы каталитические группы. Если для проведения реакции достаточно кислотно-основного катализа (гидролитические реакции вроде гидролиз амидной связи в белках или межнуклеотидной фосфатной связи), то каталитический центр формируется боковыми радикалами аминокислотных остатков белка. В этом случае фермент состоит только из полинуклеотидных цепей. Однако многие

вещества, необходимые для жизнедеятельности клетки, могут быть получены только с помощью окислительно-восстановительных реакций или реакций переноса углеродсодержащих групп. Боковые радикалы аминокислотных остатков не могут катализировать такие реакции. В этом случае клетка использует составные ферменты, в которых белковая часть обеспечивает связывание субстрата, а катализ осуществляют небелковые (мономерные) соединения, называемые **коферментом** (кофактором, простетической группой). Белковая часть такого фермента называется **апоферментом**, а активный фермент (комплекс апофермента и кофермента) — **холоферментом**. В большинстве случаев кофермент связывается с апоферментом нековалентными взаимодействиями.



Рисунок 12 - Строение холофермента

5.4 Функции коферментов и простетических групп

5.4.1 Коферменты и витамины. Коферменты – это органические вещества, предшественниками которых являются витамины. Некоторые из них прочно связаны с белком (НАД, НСКoA, и др). есть ферменты, которые прочно связаны с апоферментом, т.е. представляют собой простетическую группу (гем и флавиновые коферменты). Большинство коферментов не синтезируются в организме млекопитающих. Они должны поступать в организм с пищей (как правило, растительной). Однако в организм попадают не сами коферменты, а их предшественники — **витамины**. В клетке витамины модифицируются до коферментной формы. В настоящее время известно 13 витаминов (табл. 7), которые подразделяют на два типа: **водорастворимые витамины** и **жирорастворимые витамины**.

Таблица 7 - Характеристика основных коферментов по их функциям

Коферменты	Тип реакции, в которой участвует кофермент, роль кофермента и участие активной группы в катализе	Витамин-предшественник
1	2	3
Биотин	Карбоксилирование Присоединение карбоксильной группы путем замещения атома водорода у азота активной группой кофермента. Затем карбоксильная группа переносится на субстрат	Биотин (Витамин Н)
Кофермент (коэнзим) А (НСKоА)	Реакция ацилирования. Образование высокоэнергетической тиоэфирной группы с карбоксильными группами карбоновых кислот R-CO-SKоА	Пантотеновая кислота

Никотинамидаденин динуклеотид,(НАД) никотинамидаденин динуклеотидфосфат (НАДФ) – никотинамидные коферменты	Окислительно-восстановительные реакции. При окислении субстрата к пиридиновому кольцу присоединяются 1 протон (2-й переходит в среду) и 2 электрона, при этом положительный заряд утрачивается.	Никотинамид (витамин РР)
Пиридоксальфосфат (ПФ)	Трансаминирование, декарбоксилирование аминокислот. При сближении азота аминокислоты и углерода альдегидной группы ПФ образуется альдиминная связь. Далее после внутримолекулярных перестроек образуется аминогруппа на коферменте и кетогруппа на бывшей аминокислоте.	Пиридоксин (В ₆)
Тиаминпирофосфат (ТПФ)	Декарбоксилирование α-кетокислот. Разрывается связь, следующая за кетогруппой субстратов, высвобождается СО ₂ , между кетогруппой субстрата и углеродом тиазолового кольца ТПФ образуется ковалентная связь. Это промежуточное соединение катализа.	Тиамин (В ₁)
Флавиномононуклеотид, (ФМН) флавиноадениндинуклеотид, (ФАД) - флавиновые коферменты	Окислительно-восстановительные реакции. Два атома водорода от субстрата присоединяются к атома азота N ₁ и N ₁₀	Рибофлавин (В ₂)
Тетрагидрофолат	Перенос одноуглеродных групп	Фолиевая кислота

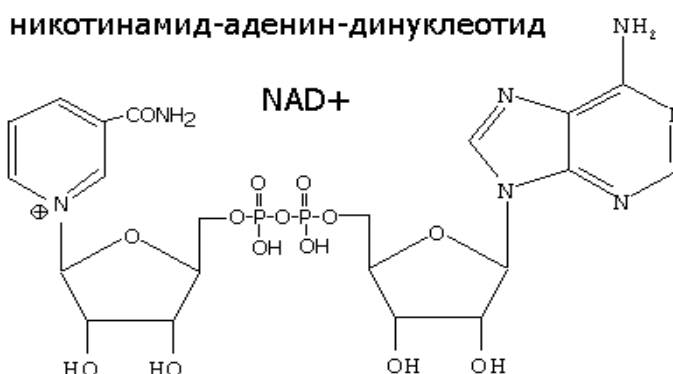
5.4.2

Никотинамидные

коферменты

НАД⁺,

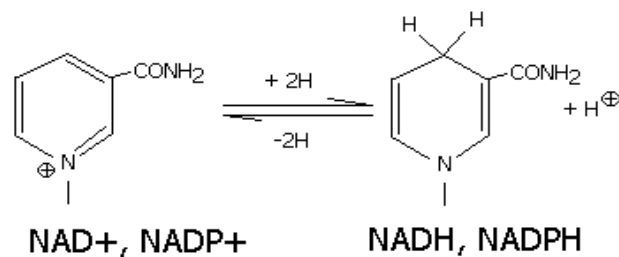
НАДФ⁺



НАД⁺, НАДФ⁺-содержащие дегидрогеназы катализируют перенос гидрид-иона (Н⁻) от субстрата к никотинамидной части кофермента:

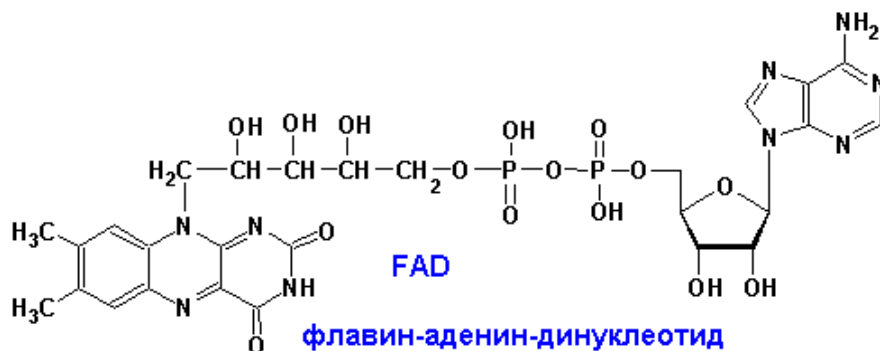
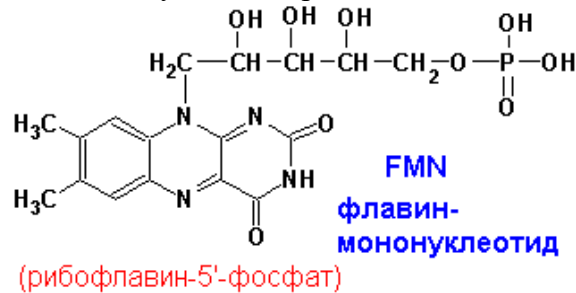


Восстановленная при этом часть кофермента отличается от окисленной только по производному никотиновой кислоты:

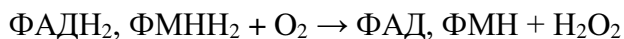


Восстановленные формы НАДН и НАДФН отсоединяются от апофермента и отделяются от дегидрогеназы. Затем они переносят гидрид ион на другую молекулу фермента (чаще всего- ФМН, ФАД-зависимого). Катализируют обратимые реакции окисления спиртов, оксикислот, аминов и др. Хорошо изучены ЛДН- лактатдегидрогеназа, МДН- малатдегидрогеназа, АДН- алкогольдегидрогеназа.

5.4.3 Флавиновые простетические группы. Окисленные формы флавиновых простетических групп выглядят следующим образом:

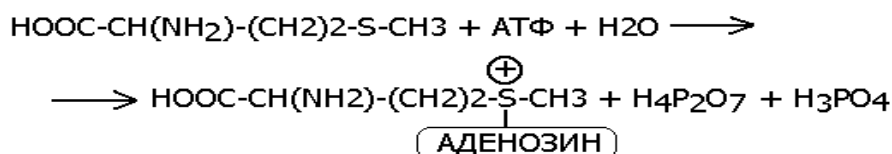


ФМН и ФАД катализируют переходы: спирты-альдегиды, амины-имины, НАДН, НАДФН-НАД⁺, НАДФ⁺. ФМН, ФАД- более сильные окислители. Сами передают гидрид ион непосредственно на кислород:

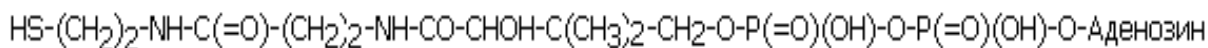


5.4.4 Нуклеозидтрифосфаты и нуклеозиддифосфат-сахара (НДФС) АТФ, УТФ, ГТФ, ЦТФ- коферменты фосфотрансфераз (перенос фосфата, пирофосфата, амф или аденозиновой части).

Перенос нуклеозида **аденозин** на метионин с молекулы АТФ выглядит следующим образом:



5.4.4 Кофермент ацетилирования (коэнзим А, или просто КоА)



Участвует в реакциях активации и переноса ацетильных и ацильных групп (присоединяется к S- в составе КоА, с образованием ацетил-коА).

5.5 Классификация и номенклатура ферментов

Всего в клетке насчитывают около 10000 ферментов, которые катализируют около 2000 реакций. Известно 1800 ферментов, из них 150 выделены в кристаллическом виде.

По классификации ферментов (КФ- русскоязычная, ЕС-англоязычная) каждый фермент (энзим) имеет свой определенный номер, состоящий из четырех групп цифр, разделенных точками. Первая цифра обозначает отнесение фермента к классу, вторая - к подклассу, третья - к подподклассу и, наконец, четвертая - номер фермента. Например, шифр алкогольдегидрогеназы АДН по классификации - ЕС 1.1.1.1, малатдегидрогеназы- ЕС 1.1.1.37. Разделение ферментов на классы строгое и не допускает произвольного изменения номеров. Так, все оксидоредуктазы относят к первому классу, трансферазы - ко второму, гидролазы- к третьему и т.д.

Таблица 8 - Классификация и номенклатера ферментов

Класс	Реакции	Основные подклассы, группы.
Оксидоредуктазы.	Окислительно-восстановительные реакции. Авосст + Вокис → Аокис + Ввосст	Дегидрогеназы, оксидазы, редуктазы, гидроксилазы: никотинамидадениндинуклеотид (НАД), тиаминпирофосфат, флавиномононуклеотид (ФМН) и флавинадениндинуклеотид (ФАД).
Трансферазы	Перенос групп А-В + С → А + В-С	Киназы (фосфатные группы), трансаминазы (аминогруппы)
Гидролазы	Гидролиз связей (эфирных, пептидных, гликозидных связей С-С, Р-Н) А-В + H ₂ O → А-Н + В-ОН	Эстеразы, фосфатазы, протеазы, липазы, нуклеазы, тиолазы
Лиазы	Разрыв связей С-С, С-О, С- N, С- S	Альдегидлиазы, (альдолазы),

	путем элиминирования молекулы с образованием двойных связей. В обратной реакции ускоряют присоединение воды, аммиака и т.д. по двойной связи $A(XH) - B \rightarrow A-X + B -H$	углерод-кислородлиазы (фумараза), дегидратазы (енолаза), декарбоксилазы
Изомеразы	Взаимопревращения изомеров $A \leftrightarrow \text{Изо} -A$	Изомеразы, мутазы.
Лигазы (синтетазы)	Соединение двух молекул, сопряженное с гидролизом АТФ $A + B + \text{АТФ} \rightarrow A - B + \text{АДФ} + \text{Ф}$	Карбоксилазы, синтетазы

Классификация ферментов: четырехчисловая система, первое число - класс (один из шести). Внутри каждого класса происходит разделение на подклассы, например, внутри первого класса различают:

ЕС 1.1 Действующие на СН-ОН группы донора

ЕС 1.2 Действующие на альдегидные или оксо- группы донора

ЕС 1.3 Действующие на СН-СН группы донора

ЕС 1.4 Действующие на СН-NH₂ группы донора

ЕС 1.5 Действующие на СН-NH группы донора

ЕС 1.6 Действующие на NADH или NADPH

Внутри каждого подкласса происходит разделение на подподклассы:

ЕС 1.1.1 Акцептор NAD или NADP

ЕС 1.1.2 Акцептор- цитохром

ЕС 1.1.3 Акцептор- кислород

ЕС 1.1.4 Акцептор- сульфид

ЕС 1.1.5 Акцептор- хинон или подобная группировка

ЕС 1.1.99 Другой акцептор

Последнее число – номер конкретного фермента:

ЕС 1.1.1.1 alcohol dehydrogenase

ЕС 1.1.1.2 alcohol dehydrogenase (NADP+)

ЕС 1.1.1.3 homoserine dehydrogenase

ЕС 1.1.1.4 (R,R)-butanediol dehydrogenase

ЕС 1.1.1.5 acetoin dehydrogenase ... и т. д.

Ферменты, кроме того, имеют названия, которые разделяются на **рабочие** и **систематические**. Рабочие названия образуются из объединения названия субстрата, типа реакции и окончания "-аза". Например: ЛАКТАТ + ДЕГИДРОГЕНИЗАЦИЯ + АЗА = ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА. Систематическое название фермента формируется следующим образом: (*название субстратов (через дробь)*), *название типа химического превращения + аза*). Та же **лактатдегидрогеназа** будет иметь систематическое название "**L-лактат:NAD⁺ оксидоредуктаза**".

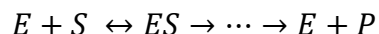
5.6 Механизм действия ферментов

Структура и функции ферментов, а также механизм их действия почти ежегодно подробно обсуждаются на многих международных симпозиумах и конгрессах. Важное место отводится рассмотрению структуры всей молекулы фермента и ее активных центров, молекулярному механизму действия различных типов ферментов, общей теории энзиматического катализа. Тем не менее, до сих пор нет полной ясности по двум

кардинальным проблемам энзимологии: чем вызваны специфичность действия и высокая каталитическая эффективность ферментов?

После установления химической природы ферментов подтвердилось представление, выдвинутое более 80 лет назад В. Анри, Л. Михаэлисом и М. Ментен, о том, что при энзиматическом катализе фермент E соединяется (в принципе обратимо) со своим субстратом S , образуя нестойкий промежуточный фермент-субстратный комплекс ES , который в конце реакции распадается с освобождением фермента и продуктов реакции P . Благодаря высокому сродству связывания и образованию ES -комплекса резко возрастает число молекул субстрата, вступающих в реакцию. Эти представления легли в основу теории «ключа-замка» Э. Фишера, которую иногда называют теорией «жесткой матрицы». Таким образом, жесткая структура активного центра оказывается комплементарной молекулярной структуре субстрата, обеспечивая тем самым высокую специфичность фермента.

Л. Михаэлис не только постулировал образование промежуточного фермент-субстратного ES -комплекса, но и рассчитал влияние концентрации субстрата на скорость реакции. В процессе реакции различают несколько стадий: присоединение молекулы субстрата к ферменту, преобразование первичного промежуточного соединения в один или несколько последовательных (переходных) комплексов и протекающее в одну или несколько стадий отделение конечных продуктов реакции от фермента. Это можно схематически проиллюстрировать следующими примерами:



На рис. 13 представлена схема образования промежуточного фермент-субстратного комплекса. Если фермент в активном центре содержит кофермент, то предполагается образование тройного комплекса (рис. 14).



Рисунок 13 - Образование нестойкого фермент-субстратного комплекса согласно теории Э. Фишера «ключ-замок»

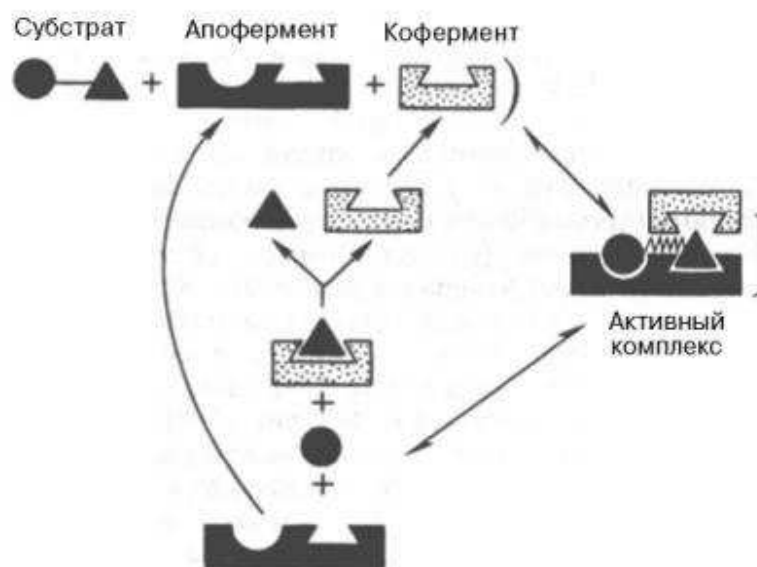
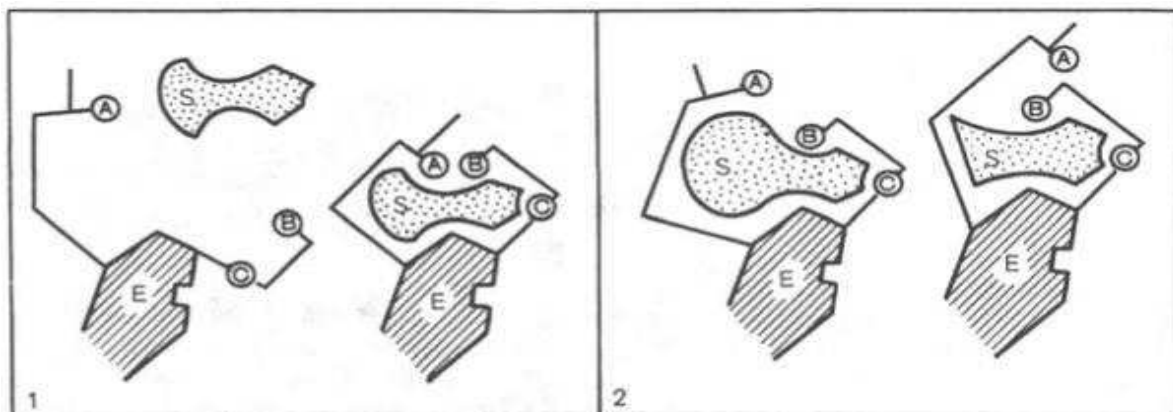


Рисунок 14 - Функция кофермента (по А. Кантарову и Б. Шепартцу)

Фермент вступает во взаимодействие с субстратом на очень короткий период, поэтому долгое время не удавалось показать образование такого комплекса. Прямые доказательства существования фермент-субстратного комплекса были получены в лабораториях Д. Кейлина и Б. Чанса. В настоящее время экспериментальные и математические методы кинетики, термодинамики и статической механики химических реакций позволяют определить для ряда ферментативных реакций кинетические и термодинамические показатели, в частности константы диссоциации промежуточных фермент-субстратных комплексов, константы скорости и равновесия их образования.

В образовании фермент-субстратных комплексов участвуют водородные связи, электростатические и гидрофобные взаимодействия, а в ряде случаев также ковалентные, координационные связи.

Для каталитической активности фермента существенное значение имеет пространственная структура, в которой жесткие участки α -спиралей чередуются с гибкими, эластичными линейными отрезками, обеспечивающими динамические изменения белковой молекулы фермента. Этим изменениям придается большое значение в некоторых теориях ферментативного катализа. Так, в противоположность модели Э. Фишера «ключ-замок» Д. Кошлендом была разработана теория «индуцированного соответствия». На рис. 15 видно, что присоединение субстрата S к ферменту E, вызывая соответствующие изменения конформации активного центра, в одних случаях приводит к образованию активного комплекса, в других – неактивного комплекса вследствие нарушения пространственного расположения функциональных групп активного центра в промежуточном комплексе.



А, В, С - функциональные группы активного центра; 1 - активный комплекс; 2 - неактивный комплекс

Рисунок 15 - Изменения структуры активного центра фермента, вызванные субстратом, согласно модели «индуцированного соответствия» Д. Кошленда.

В каталитическом процессе существенное значение имеют точное соответствие между ферментом и субстратом, а также термодинамические и каталитические преимущества подобного соответствия. Гипотеза «индуцированного соответствия» предполагает существование между ферментом и субстратом не только пространственной или геометрической комплементарности, но и электростатического соответствия, обусловленного спариванием противоположно заряженных групп субстрата и активного центра фермента. Точное соответствие обеспечивает образование эффективного комплекса между субстратом и ферментом.

Подобно другим катализаторам, ферменты, с термодинамической точки зрения, ускоряют химические реакции за счет снижения энергии активации. *Энергией активации называется энергия, необходимая для перевода всех молекул моля вещества в активированное состояние при данной температуре.* Другими словами, это энергия, необходимая для запуска химической реакции, без которой реакция не начинается, несмотря на ее термодинамическую вероятность. Фермент снижает энергию активации путем увеличения числа активированных молекул, которые становятся реакционноспособными на более низком энергетическом уровне (рис. 16).



S - исходный субстрат; P - продукт; $\Delta E_{\text{нф}}$ - энергия активации неферментативной реакции; $\Delta E_{\text{ф}}$ - энергия активации ферментативной реакции; ΔG - стандартное изменение свободной энергии

Рисунок 16 - Энергетический механизм ферментативной и неферментативной химических реакций

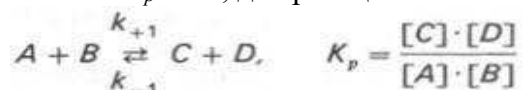
На рисунке видно, что ферментативная реакция имеет более низкую энергию активации. Следует отметить, что как катализируемая ферментом, так и не катализируемая им реакция независимо от ее пути имеет одинаковую величину стандартного изменения свободной энергии (ΔG). Действуя на скорость реакции, ферменты не изменяют равновесия между прямой и обратной реакциями, как и не влияют на величину свободной энергии реакции; они лишь ускоряют наступление равновесия химической реакции.

6 Ферментативная кинетика

6.1 Уравнения Михаэлиса-Ментен и Лайнуивера-Бэрка

Одним из характерных проявлений жизни является удивительная способность живых организмов кинетически регулировать химические реакции, подавляя стремление к достижению термодинамического равновесия. Ферментативная кинетика занимается исследованием закономерностей влияния химической природы реагирующих веществ (ферментов, субстратов) и условий их взаимодействия (концентрация, pH среды, температуры, присутствие активаторов или ингибиторов) на скорость ферментативной реакции. Главной целью изучения кинетики ферментативных реакций является получение информации, которая может способствовать выяснению молекулярного механизма действия фермента.

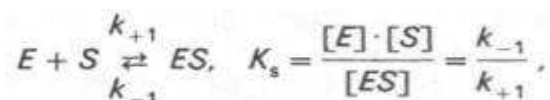
Общие принципы кинетики химических реакций применимы и к ферментативным реакциям. Известно, что любая химическая реакция характеризуется константой термодинамического равновесия. Она выражает состояние химического равновесия, достигаемого системой, и обозначается K_p . Так, для реакции:



Константа равновесия равна произведению концентраций образующихся веществ, деленному на произведение концентрации исходных веществ. Значение константы равновесия обычно находят из соотношения констант скоростей прямой (k_{+1}) и обратной (k_{-1}) реакций, т.е. $K_p = k_{+1}/k_{-1}$. В состоянии равновесия скорость прямой реакции: $v_{+1} = k_{+1}[A] \cdot [B]$ равна скорости обратной реакции: $v_{-1} = k_{-1}[C] \cdot [D]$, т.е. $v_{+1} = v_{-1}$ соответственно $k_{+1}[A] \cdot [B] = k_{-1}[C] \cdot [D]$, или

$$\frac{k_{+1}}{k_{-1}} = \frac{[C] \cdot [D]}{[A] \cdot [B]}, \quad \text{отсюда} \quad \frac{k_{+1}}{k_{-1}} = K_p.$$

Таким образом, константа равновесия равна отношению констант скоростей прямой и обратной реакций. Величину, обратную константе равновесия, принято называть субстратной константой, или, в случае ферментативной реакции, константой диссоциации фермент-субстратного комплекса, и обозначать символом K_s . Так, в реакции



т.е. K_S равна отношению произведения концентрации фермента и субстрата к концентрации фермент-субстратного комплекса или отношению констант скоростей обратной и прямой реакций. Следует отметить, что константа K_S зависит от химической природы субстрата и фермента и определяет степень их сродства. Чем ниже значение K_S , тем выше сродство фермента к субстрату.

При изучении кинетики ферментативных реакций следует учитывать одну важную особенность этих реакций (не свойственную обычным химическим реакциям), связанную с явлением насыщения фермента субстратом. При низкой концентрации субстрата зависимость скорости реакции от концентрации субстрата (рис. 17) является почти линейной и подчиняется кинетике первого порядка. Это означает, что скорость реакции $S \rightarrow P$ прямо пропорциональна концентрации субстрата S и в любой момент времени t определяется следующим кинетическим уравнением:

$$v = - \frac{d[S]}{dt} = k'[S],$$

где $[S]$ – молярная концентрация субстрата S ; $-d[S]/dt$ – скорость убыли субстрата; k' – константа скорости реакции, которая в данном случае имеет размерность, обратную единице времени (мин^{-1} или с^{-1}).

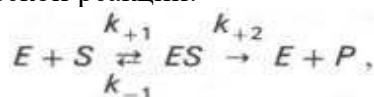


а - реакция первого порядка (при $[S] < K_m$ скорость реакции пропорциональна концентрации субстрата); б - реакция смешанного порядка; в - реакция нулевого порядка, когда $v = V_{\text{max}}$ и скорость реакции не зависит от концентрации субстрата

Рисунок 17 - Теоретический график зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата при постоянной концентрации фермента

При высокой концентрации субстрата скорость реакции максимальна, становится постоянной и не зависящей от концентрации субстрата $[S]$. В этом случае реакция подчиняется кинетике нулевого порядка $v = k''$ (при полном насыщении фермента субстратом) и целиком определяется концентрацией фермента.

Изучая явление насыщения, Л. Михаэлис и М. Ментен разработали общую теорию ферментативной кинетики. Они исходили из предположения, что ферментативный процесс протекает в виде следующей химической реакции:



т.е. фермент E вступает во взаимодействие с субстратом S с образованием промежуточного комплекса ES , который далее распадается на свободный фермент и продукт реакции P . Математическая обработка на основе закона действующих масс дала

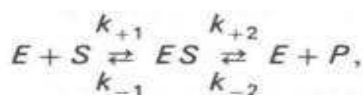
возможность вывести уравнение, названное в честь авторов уравнением Михаэлиса–Ментен, выражающее количественное соотношение между концентрацией субстрата и скоростью ферментативной реакции:

$$v = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_s + [S]},$$

где v – наблюдаемая скорость реакции при данной концентрации субстрата $[S]$; K_s – константа диссоциации фермент-субстратного комплекса, моль/л; V_{\max} – максимальная скорость реакции при полном насыщении фермента субстратом.

Из уравнения Михаэлиса–Ментен следует, что при высокой концентрации субстрата и низком значении K_s скорость реакции является максимальной, т.е. $v = V_{\max}$ (реакция нулевого порядка, см. рис. 17). При низкой концентрации субстрата, напротив, скорость реакции оказывается пропорциональной концентрации субстрата в каждый данный момент (реакция первого порядка).

Следует указать, что уравнение Михаэлиса–Ментен в его классическом виде не учитывает влияние на скорость ферментативного процесса продуктов реакции, например в реакции



и носит несколько ограниченный характер. Поэтому были предприняты попытки усовершенствовать его. Так, было предложено уравнение Бриггса-Холдейна:

$$v = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_m + [S]},$$

где K_m представляет собой константу Михаэлиса, являющуюся экспериментально определяемой величиной. Она может быть представлена следующим уравнением:

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}}, \quad \text{или} \quad K_m = \frac{k_{-1}}{k_{+1}} + \frac{k_{+2}}{k_{+1}}.$$

В числителе представлены константы скоростей распада комплекса ES в двух направлениях (в сторону исходных E и S и в сторону конечных продуктов реакции E и P). Отношение k_{-1}/k_{+1} представляет собой константу диссоциации фермент-субстратного комплекса K_s , тогда:

$$K_m = K_s + \frac{k_{+2}}{k_{+1}}.$$

Отсюда вытекает важное следствие: константа Михаэлиса всегда больше константы диссоциации фермент-субстратного комплекса K_s на величину

$$k_{+2}/k_{+1}.$$

Для определения численного значения K_m обычно находят ту концентрацию субстрата, при которой скорость ферментативной реакции v составляет половину от максимальной V_{\max} , т.е. если $v = 1/2 V_{\max}$. Подставляя значение v в уравнение Бриггса-Холдейна, получаем:

$$\frac{V_{\max}}{2} = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

разделив обе части уравнения на V_{\max} , получим

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad \text{или} \quad K_m + [S] = 2[S], \quad \text{откуда} \quad K_m = [S].$$

Таким образом, константа Михаэлиса численно равна концентрации субстрата (моль/л), при которой скорость данной ферментативной реакции составляет половину от максимальной.

Определение величины K_m имеет важное значение при выяснении механизма действия эфферторов на активность ферментов и т.д. Константу Михаэлиса можно вычислить по графику (рис.18). Отрезок на абсциссе, соответствующий скорости, равной половине максимальной, будет представлять собой K_m .

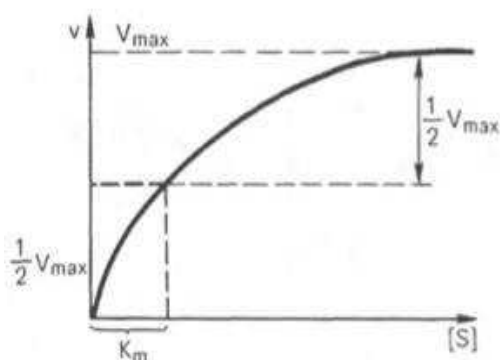


Рисунок 18 - Кривая уравнения Михаэлиса-Ментен: гиперболическая зависимость начальных скоростей катализируемой ферментом реакции от концентрации субстрата



Рисунок 19 - График Лайнуивера-Бэрка

Пользоваться графиком, построенным в прямых координатах зависимости начальной скорости реакции v_0 от начальной концентрации субстрата $[S_0]$, неудобно, поскольку максимальная скорость V_{\max} в данном случае определяется недостаточно точно.

Для более удобного графического представления экспериментальных данных Г. Лайнуивер и Д. Бэрк преобразовали уравнение Бриггса-Холдейна и после преобразования получаем уравнение:

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

которое получило название уравнения Лайнуивера–Бэрка. Если теперь в соответствии с этим уравнением построить график в координатах $1/v$ (y) от $1/[S]$ (x), то получим прямую линию (рис. 19), тангенс угла наклона которой будет равен величине K_m/V_{max} ; отрезок, отсекаемый прямой от оси ординат, представляет собой $1/V_{max}$ (обратная величина максимальной скорости). Если продолжить прямую за ось ординат, тогда на абсциссе отсекается отрезок, соответствующий обратной величине константы Михаэлиса – $1/K_m$ (см. рис. 4.14). Таким образом, величину K_m можно вычислить из данных наклона прямой и длины отрезка, отсекаемого от оси ординат, или из длины отрезка, отсекаемого от оси абсцисс в области отрицательных значений.

6.2 Факторы, определяющие активность ферментов. Зависимость скорости реакции от времени

В этом разделе кратко рассмотрены общие факторы, в частности зависимость скорости ферментативной реакции от времени, влияние концентраций субстрата и фермента на скорость реакций, катализируемых ферментами, и более подробно – вопросы об активировании и ингибировании ферментов. Ранее была отмечена существенность для активности ферментов таких факторов, как температура, pH, т.е. факторов, которые определяют в оптимальных условиях сохранность пространственной конформации молекулы фермента, когда она приобретает максимальную активность.

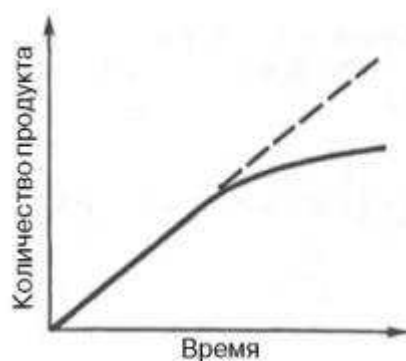


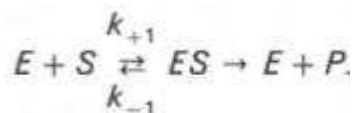
Рисунок 20 - Зависимость скорости ферментативной реакции от времени

Как известно, скорость любой химической реакции уменьшается со временем, однако кривая зависимости скорости ферментативных реакций от времени не имеет обычно той общей формы, которая характерна для гомогенных химических реакций (рис.20). Такое снижение скорости ферментативных реакций со временем может быть обусловлено тормозящим действием продуктов реакции, уменьшением степени насыщения фермента субстратом (поскольку по мере протекания реакции концентрация субстрата снижается) или частичной инактивацией фермента при заданных значениях температуры и pH среды. Следует учитывать, кроме того, влияние скорости обратной реакции, которая может оказаться существенной по мере увеличения концентрации продуктов ферментативной реакции. Учитывая эти обстоятельства, при исследовании скорости ферментативных реакций в тканях и биологических жидкостях обычно определяют начальную скорость реакции в условиях, когда скорость ферментативной реакции приближается к линейной (в том числе при достаточно высокой для насыщения фермента концентрации субстрата).

6.3 Влияние концентраций субстрата и фермента на скорость ферментативной реакции

Из приведенного ранее материала вытекает важное заключение: одним из наиболее существенных факторов, определяющих скорость ферментативной реакции, является концентрация субстрата (или субстратов) и продукта (продуктов). При постоянной концентрации фермента скорость реакции постепенно увеличивается, достигая определенного максимума (см. рис. 21, 22), когда дальнейшее увеличение количества субстрата практически не оказывает влияния на скорость ферментативной реакции. В таких случаях принято считать, что субстрат находится в избытке, а фермент полностью насыщен, т.е. все молекулы фермента связаны с субстратом. Ограничивающим скорость реакции фактором в последнем случае становится концентрация фермента.

Скорость любой ферментативной реакции непосредственно зависит от концентрации фермента. Существующая линейная зависимость между этими величинами, когда скорость реакции прямо пропорциональна количеству присутствующего фермента, справедлива только в определенных условиях, например в начальный период ферментативной реакции, так как в этот период практически не происходит обратной реакции, а концентрация продукта оказывается недостаточной для обратимости реакции. Именно в этом случае скорость реакции (точнее, начальная скорость реакции v) будет пропорциональна концентрации фермента. Как было отмечено, фермент является одной из реагирующих молекул в химической реакции и при взаимодействии с субстратом образует промежуточный фермент-субстратный комплекс, который далее подвергается распаду на продукт и свободный фермент:



Если упростить это уравнение, исключив промежуточный ES-комплекс, то в уравнениях для скоростей прямой и обратной реакций обязательным компонентом является концентрация фермента:

$$v_{+1} = k_{+1}[E] \cdot [S]; \quad v_{-1} = k_{-1}[E] \cdot [P].$$

6.4 Активирование и ингибирование ферментов

Скорость ферментативной реакции, как и активность фермента, в значительной степени определяется также присутствием в среде активаторов и ингибиторов: первые повышают скорость реакции, а вторые тормозят эту реакцию. Активирующее влияние на скорость ферментативной реакции оказывают разнообразные вещества органической и неорганической природы. Так, соляная кислота активирует действие пепсина желудочного сока; желчные кислоты повышают активность панкреатической липазы; некоторые тканевые ферменты (оксидоредуктазы, катепсины, аргиназа), растительная протеиназа и др. в значительной степени активируются соединениями, содержащими свободные SH-группы (глутатион, цистеин), а ряд ферментов – также витамином С. Особенно часто активаторами выступают ионы двухвалентных и, реже, одновалентных металлов. Получены доказательства, что около четверти всех известных ферментов для проявления полной каталитической активности нуждаются в присутствии металлов. Многие ферменты вообще не активны в отсутствие металлов. Так, при удалении цинка угольная ангидраза (карбоангидраза), катализирующая биосинтез и распад H_2CO_3 , практически теряет свою ферментативную активность; более того, цинк при этом не может быть заменен никаким

другим металлом. Известны ферменты, действие которых активируется ионами нескольких металлов; в частности, енолаза активируется Mg^{2+} , Mn^{2+} , K^+ (табл. 9).

Таблица 9 - Ферменты, активируемые металлами

Фермент	Металл	Фермент	Металл
Цитохромы	Fe	Амилаза	Ca
Каталаза	Fe	Липаза	Ca
Пероксидаза	Fe	Карбоангидраза	Zn
Триптофаноксидаза	Fe	Уриказа	Zn
Аскорбиноксидаза	Cu	Карбоксипептидаза	Zn
Тирозиназа	Cu	Пируваткарбоксилаза	Mg
Альдегидоксидаза	Mo	Фосфатаза	Mg
Холинэстераза	Mn	Аргиназа	Mn

Молекулярный механизм действия металлов в энзиматическом катализе, или роль металлов в активировании ферментами.

В ряде случаев ионы металлов (Co^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+}) выполняют функции простетических групп ферментов, или служат акцепторами и донаторами электронов. В других случаях они способствуют присоединению субстрата к активному центру и образованию фермент-субстратного комплекса. Например, ионы Mg^{2+} через отрицательно заряженную фосфатную группу обеспечивают присоединение монофосфатных эфиров органических веществ к активному центру фосфатаз, катализирующих гидролиз этих соединений. Иногда металл соединяется с субстратом, образуя истинный субстрат, на который действует фермент. В частности, ионы Mg^{2+} активируют креатинфосфокиназу благодаря образованию истинного субстрата – магниевой соли АТФ. Наконец, имеются экспериментальные доказательства прямого участия металлов (например, ионов Ca^{2+} в молекуле амилазы слюны) в формировании и стабилизации активного центра и всей трехмерной структуры молекулы фермента.

Анионы в физиологических концентрациях обычно неэффективны или оказывают небольшое активирующее влияние на ферменты. Исключение составляют пепсин, некоторые оксидоредуктазы, активируемые анионами, а также амилаза слюны, катализирующая гидролиз крахмала, активность которой повышается при действии ионов хлора, и аденилатциклаза, которая активируется анионами галогенов.

Активаторы ферментов. Ферменты-протеинкиназы имеют четвертичную структуру, состоят их 2-х субъединиц - каталитической и регуляторной. Активатор воздействует на регуляторную, а в результате обнажается каталитическая субъединица:

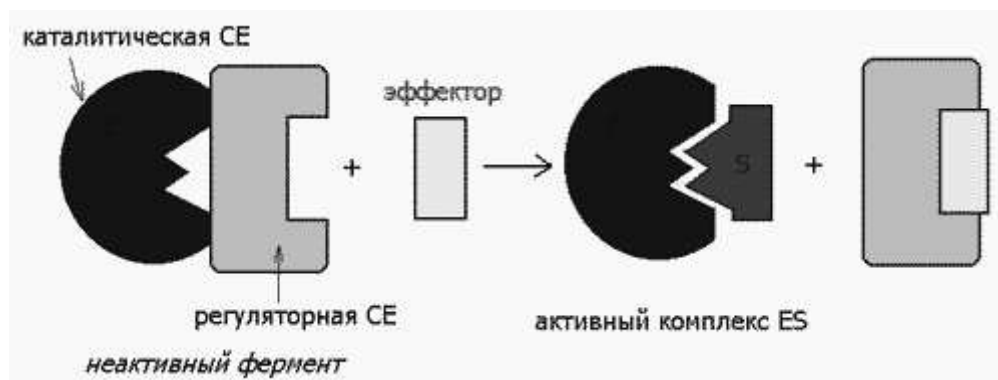


Рисунок 21 - Воздействие активатора

Кооперативный эффект. Характерен для ферментов, имеющих 2 и более субъединиц. Присоединение субстрата к одной из субъединиц облегчает последующие присоединения к оставшимся субъединицам. Типичный пример кооперативного эффекта - перенос кислорода молекулами гемоглобина.

Ингибиторы ферментов обычно принято делить на два больших класса: **обратимые и необратимые**. Это вещества, вызывающие **частичное (обратимое)** или **полное торможение** реакций, катализируемых ферментами. Недавно открыты антиферменты (антиэнзимы), представляющие собой белки (или полипептиды), действующие как ингибиторы ферментов. К подобным веществам относятся, например, ингибитор трипсина, обнаруженный в соевых бобах, и сывороточный антитрипсин. Недавно открыт в печени животных антифермент орнитиндекарбоксилазы. Антиэнзимы, вероятнее всего, образуют труднодиссоциируемые комплексы с соответствующими ферментами, выключая их из химических реакций. Иногда ингибитор является составным компонентом предшественника фермента или входит в состав сложных комплексов ферментов, например в состав протеинкиназы и протеинфосфатазы, катализирующих процессы фосфорилирования-дефосфорилирования в живых организмах.

Ферменты являются белками, поэтому любые агенты, вызывающие денатурацию белка (кислоты, щелочи, соли тяжелых металлов, нагревание), приводят к необратимой инактивации фермента. Однако подобное инактивирование относительно неспецифично, оно не связано с механизмом действия ферментов. Гораздо большую группу составляют так называемые специфические ингибиторы, которые оказывают свое действие на какой-либо один фермент или группу родственных ферментов, вызывая обратимое или необратимое ингибирование. Ингибиторы могут дать ценную информацию о химической природе активного центра фермента, а также о составе его функциональных групп и природе химических связей, обеспечивающих образование фермент-субстратного комплекса.

Действие ряда ферментов (холинэстераза, трипсин и химотрипсин) сильно тормозится некоторыми фосфорорганическими соединениями, например ДДТ, вследствие блокирования ключевой гидроксильной группы серина в активном центре.

При помощи ингибиторов, выключающих отдельные стадии многоступенчатого метаболического процесса, могут быть точно установлены не только последовательность химических реакций, но и природа участвующих в этих превращениях ферментов. Этим путем, применяя йодацетат, фториды и другие специфические ингибиторы, был расшифрован гликолитический путь окислительно-восстановительных превращений глюкозы до стадии образования молочной кислоты в мышечной ткани, насчитывающий 11 стадий с участием 11 ферментов и 10 промежуточных метаболитов.

С ингибированием ферментов связан механизм действия многих токсинов и ядов на организм. Известно, что при отравлениях солями сенильной кислоты смерть наступает вследствие полного торможения и выключения дыхательных ферментов (цитохромная система) тканей, особенно клеток мозга. Токсическое влияние на организм человека и

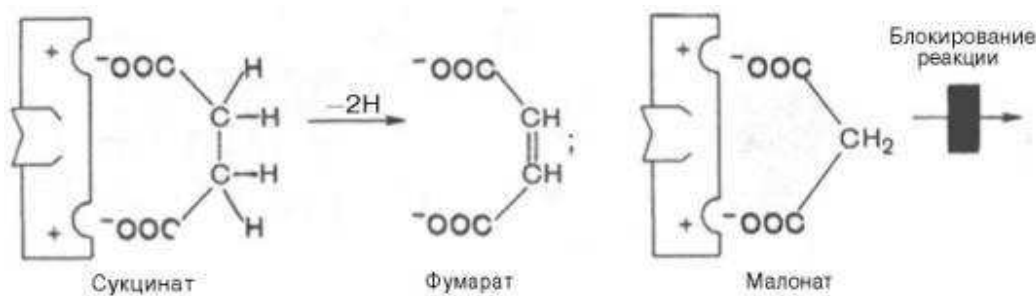
животных некоторых инсектицидов обусловлено торможением активности холинэстеразы – фермента, играющего ключевую роль в деятельности нервной системы.

Современная, так называемая рациональная, химиотерапия (направленное применение лекарственных препаратов в медицине) должна основываться на точном знании механизма действия лекарственных средств на биосинтез ферментов, на активность уже синтезированных ферментов или на регуляцию их активности в организме. Иногда для лечения некоторых болезней используют избирательно действующие ингибиторы. Так, ингибитор ряда протеиназ (трипсина, химотрипсина и калликрейна) трасилол широко применяется для лечения острого панкреатита – болезни, при которой уровень трипсина и химотрипсина в крови резко возрастает. Знание избирательного ингибиторного действия некоторых природных и синтетических соединений (так называемых антиметаболитов) на ферменты может служить методологической основой для разработки эффективных методов синтеза химиотерапевтических препаратов. Этот путь открывает широкие возможности для направленного воздействия на синтез ферментов в организме и регуляции интенсивности метаболизма при патологии.

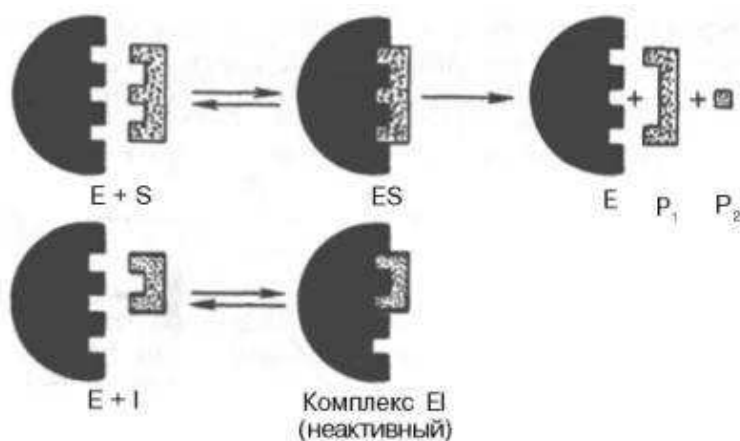
Типы ингибирования. Различают обратимое и необратимое ингибирование. Если ингибитор вызывает стойкие изменения пространственной третичной структуры молекулы фермента или модификацию функциональных групп фермента, то такой тип ингибирования называется **необратимым**.

Чаще, однако, имеет место **обратимое** ингибирование, поддающееся количественному изучению на основе уравнения Михаэлиса-Ментен. Обратимое ингибирование в свою очередь разделяют на **конкурентное и неконкурентное** в зависимости от того, удастся или не удастся преодолеть торможение ферментативной реакции путем увеличения концентрации субстрата.

Конкурентное ингибирование может быть вызвано веществами, имеющими структуру, похожую на структуру субстрата, но несколько отличающуюся от структуры истинного субстрата. Такое ингибирование основано на связывании ингибитора с субстратсвязывающим (активным) центром. Классическим примером подобного типа ингибирования является торможение сукцинатдегидрогеназы (СДГ) малоновой кислотой. Этот фермент катализирует окисление путем дегидрирования янтарной кислоты (сукцината) в фумаровую:



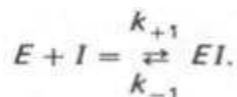
Если в среду добавить малонат (ингибитор), то в результате структурного сходства его с истинным субстратом сукцинатом (наличие двух таких же ионизированных карбоксильных групп) он будет взаимодействовать с активным центром с образованием фермент-ингибиторного комплекса, однако при этом полностью исключается перенос атома водорода от малоната. Структуры субстрата (сукцинат) и ингибитора (малонат) все же несколько различаются. Поэтому они конкурируют за связывание с активным центром, и степень торможения будет определяться соотношением концентраций малоната и сукцината, а не абсолютной концентрацией ингибитора. Таким образом, ингибитор может обратимо связываться с ферментом, образуя фермент-ингибиторный комплекс. Этот тип ингибирования иногда называют ингибированием по типу метаболического антагонизма (рис. 22).



E - фермент; S - субстрат; P₁ и P₂ - продукты реакции; I - ингибитор

Рисунок 22 - Действие конкурентного ингибитора (схема по В.Л. Кретовичу)

В общей форме реакция взаимодействия ингибитора с ферментом может быть представлена следующим уравнением:

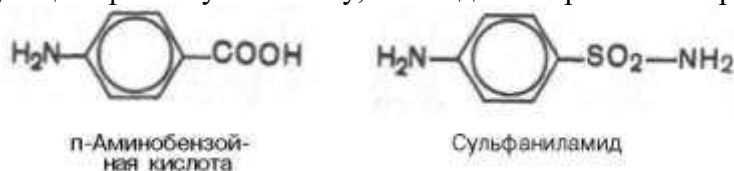


Образовавшийся комплекс, называемый фермент-ингибиторным комплексом EI, в отличие от фермент-субстратного комплекса ES не распадается с образованием продуктов реакции. Константу диссоциации комплекса EI, или ингибиторную константу K_i, можно, следуя теории Михаэлиса–Ментен, определить как отношение констант обратной и прямой реакций:

$$K_i = \frac{k_{-1}}{k_{+1}} = \frac{[E] \cdot [I]}{[EI]}$$

т.е. ингибиторная константа прямо пропорциональна произведению концентрации фермента и ингибитора и обратно пропорциональна концентрации комплекса EI.

Метод конкурентного торможения нашел широкое применение в медицинской практике. Известно, например, что для лечения некоторых инфекционных заболеваний, вызываемых бактериями, применяют сульфаниламидные препараты. Оказалось, что эти препараты имеют структурное сходство с парааминобензойной кислотой, которую бактериальная клетка использует для синтеза фолиевой кислоты, являющейся составной частью ферментов бактерий. Благодаря этому структурному сходству сульфаниламид блокирует действие фермента путем вытеснения парааминобензойной кислоты из комплекса с ферментом, синтезирующим фолиевую кислоту, что ведет к торможению роста бактерий.

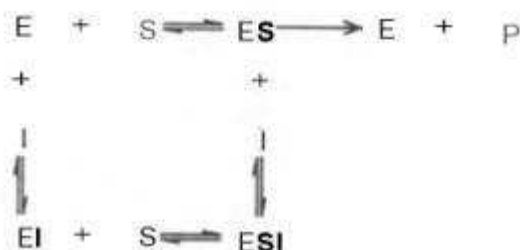


Некоторые аналоги витамина B₆ и фолиевой кислоты, в частности дезоксиридоксин, действуют как конкурентные, так называемые коферментные, ингибиторы (или авитамины), тормозящие многие интенсивно протекающие при патологии биологические процессы в организме. Применение подобных аналогов в медицинской практике (в частности, в дерматологии и онкологии) основано на

конкурентном вытеснении коферментов из субстратсвязывающих центров ключевых ферментов обмена.

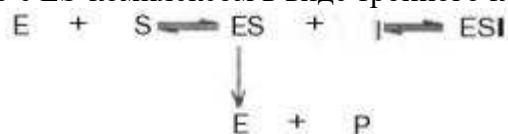
Неконкурентное ингибирование вызывается веществами, не имеющими структурного сходства с субстратами и часто связывающимися не с активным центром, а в другом месте молекулы фермента. Степень торможения во многих случаях определяется продолжительностью действия ингибитора на фермент. При данном типе ингибирования благодаря образованию стабильной ковалентной связи фермент часто подвергается полной инактивации, и тогда торможение становится необратимым. Примером необратимого ингибирования является действие йодацетата, ДФФ, а также диэтил-*n*-нитрофенилфосфата и солей синильной кислоты. Это действие заключается в связывании и выключении функциональных групп или ионов металлов и молекуле фермента.

Следует указать, что неконкурентное ингибирование также может быть обратимым и необратимым, поскольку отсутствует конкуренция между субстратом и ингибитором за активный центр. Примеры необратимого ингибирования приведены ранее. При обратимом неконкурентном ингибировании субстрат S и ингибитор I связываются с разными центрами, поэтому появляется возможность образования как комплекса EI, так и тройного комплекса EIS; последний может распадаться с освобождением продукта, но с меньшей скоростью, чем комплекс ES.



Этот тип неконкурентного ингибирования чаще всего наблюдается у ферментов, катализирующих превращения более одного субстрата, когда связывание ингибитора не блокирует связывание субстрата с активным центром. Ингибитор при этом соединяется как со свободным ферментом, так и с ES-комплексом.

Известно, кроме того, так называемое бесконкурентное ингибирование, когда ингибитор связывается с ферментом также в некаталитическом центре, однако не со свободным ферментом, а только с ES-комплексом в виде тройного комплекса.



Мультимолекулярные ферментные системы. Особую группу ферментов составляют надмолекулярные (или мульти-молекулярные) ферментные комплексы, в состав которых входят не субъединицы (в каталитическом отношении однотипные протомеры), а разные ферменты, катализирующие последовательные ступени превращения какого-либо субстрата. Отличительными особенностями подобных мультиферментных комплексов являются прочность ассоциации ферментов и определенная последовательность прохождения промежуточных стадий во времени, обусловленная порядком расположения каталитически активных (различных) белков в пространстве («путь» превращения в пространстве и времени). Типичными примерами подобных мультиферментных комплексов являются пируватдегидрогеназа и α -кетоглутаратдегидрогеназа, катализирующие соответственно окислительное декарбоксилирование пировиноградной и α -кетоглутаровой кислот в животных тканях, и синтетаза высших жирных кислот. Молекулярные массы этих комплексов в зависимости от источника их происхождения варьируют от $2,3 \cdot 10^6$ до $10 \cdot 10^6$.

Ряд таких мультиферментных комплексов, иногда называемых ферментными ансамблями, структурно связанных с какой-либо органеллой (рибосомы, митохондрии) или с биомембраной и составляет высокоорганизованные надмолекулярные системы, обеспечивающие жизненно важные функции, например, тканевое дыхание (перенос электронов от субстратов к кислороду через систему дыхательных ферментов).

6.5 Применение ферментов

Обладая высокой степенью избирательности, ферменты используются живыми организмами для осуществления с высокой скоростью огромного разнообразия химических реакций; они сохраняют свою активность не только в микропространстве клетки, но и вне организма. Ферменты нашли широкое применение в таких отраслях промышленности, как хлебопечение, пивоварение, виноделие, чайное, кожевенное и меховое производства, сыроварение, кулинария (для обработки мяса) и т.д. В последние годы ферменты стали применять в тонкой химической индустрии для осуществления таких реакций органической химии, как окисление, восстановление, дезаминирование, декарбоксилирование, дегидратация, конденсация, а также для разделения и выделения изомеров аминокислот L-ряда (при химическом синтезе образуются рацемические смеси L- и D-изомеров), которые используют в промышленности, сельском хозяйстве, медицине. Овладение тонкими механизмами действия ферментов, несомненно, предоставит неограниченные возможности получения в огромных количествах и с большой скоростью полезных веществ в лабораторных условиях почти со 100% выходом.

В настоящее время развивается новая отрасль науки – промышленная энзимология, являющаяся основой биотехнологии. Фермент, ковалентно присоединенный («пришитый») к любому органическому или неорганическому полимерному носителю (матрице), называют иммобилизованным. Техника иммобилизации ферментов допускает решение ряда ключевых вопросов энзимологии: обеспечение высокой специфичности действия ферментов и повышения их стабильности, простоту в обращении, возможность повторного использования, применение их в синтетических реакциях в потоке. Применение подобной техники в промышленности получило название инженерной энзимологии. Ряд примеров свидетельствует об огромных возможностях инженерной энзимологии в различных областях промышленности, медицины, сельского хозяйства. В частности, иммобилизованную β -галактозидазу, присоединенную к магнитному стержню-мешалке, используют для снижения содержания молочного сахара в молоке, т.е. продукта, который не расщепляется в организме больного ребенка с наследственной непереносимостью лактозы. Обработанное таким образом молоко, кроме того, хранится в замороженном состоянии значительно дольше и не подвергается загустеванию.

Разработаны проекты получения пищевых продуктов из целлюлозы, превращения ее с помощью иммобилизованных ферментов – целлюлаз – в глюкозу, которую можно превратить в пищевой продукт – крахмал. С помощью ферментной технологии в принципе можно также получить продукты питания, в частности углеводы, из жидкого горючего (нефти), расщепив его до глицеральдегида, и далее при участии ферментов синтезировать из него глюкозу и крахмал. Несомненно, имеет большое будущее моделирование при помощи инженерной энзимологии процесса фотосинтеза, т.е. природного процесса фиксации CO_2 ; помимо иммобилизации, этот жизненно важный для всего человечества процесс потребует разработки новых оригинальных подходов и применения ряда специфических иммобилизованных коферментов.

Подобные реакции нашли применение в фармацевтической промышленности, например при синтезе из гидрокортизона антиревматоидного препарата преднизолона. Кроме того, они могут служить моделью для применения с целью синтеза и получения незаменимых факторов, поскольку при помощи иммобилизованных ферментов и

коферментов можно направленно осуществлять сопряженные химические реакции (включая биосинтез незаменимых метаболитов), устраняя тем самым недостаток в веществах при наследственных пороках обмена. Таким образом, при помощи нового методологического подхода наука делает свои первые шаги в области «синтетической биохимии».

Не менее важными направлениями исследований являются иммобилизация клеток и создание методами генотехники (генного инженерного конструирования) промышленных штаммов микроорганизмов – продуцентов витаминов и незаменимых аминокислот. В качестве примера медицинского применения достижений биотехнологии можно привести иммобилизацию клеток щитовидной железы для определения тиреотропного гормона в биологических жидкостях или тканевых экстрактах. На очереди – создание биотехнологического способа получения некалорийных сладостей, т.е. пищевых заменителей сахара, которые могут создавать ощущение сладости, не будучи высококалорийными. Одно из подобных перспективных веществ – *аспартам*, который представляет собой метиловый эфир дипептида – аспартилфенилаланина. Аспартам почти в 300 раз слаще сахара, безвреден и в организме расщепляется на естественно встречающиеся свободные аминокислоты: аспарагиновую кислоту (аспартат) и фенилаланин. Аспартам, несомненно, найдет широкое применение, как в медицине, так и в пищевой промышленности (в США, например, его используют для детского питания и добавляют вместо сахара в диетическую кока-колу). Для производства аспартама методами генотехники необходимо получить не только свободную аспарагиновую кислоту и фенилаланин (предшественники), но и бактериальный фермент, катализирующий биосинтез этого дипептида.

Значение инженерной энзимологии, как и вообще биотехнологии, возрастет в будущем. По подсчетам специалистов, продукция всех биотехнологических процессов в химической, фармацевтической, пищевой промышленности, в медицине и сельском хозяйстве, полученная в течение одного года в мире, будет исчисляться десятками миллиардов долларов к 2000 г. В нашей стране уже к 2000 г. будет налажено получение методами генной инженерии L-треонина и витамина B₂. Уже к 1998 г. предполагается производство ряда ферментов, антибиотиков, α_1 -, β -, γ -интерферонов; проходят клинические испытания препараты инсулина и гормона роста.

7 Химия липидов

Липиды представляют собой обширную группу соединений, существенно различающихся по своей химической структуре и функциям. Поэтому трудно дать единое определение, которое подошло бы для всех соединений, относящихся к этому классу.

Можно сказать, что липиды представляют собой группу веществ, которые характеризуются следующими признаками: нерастворимостью в воде; растворимостью в неполярных растворителях, таких, как эфир, хлороформ или бензол; содержанием высших алкильных радикалов; распространенностью в живых организмах.

Под это определение попадает большое количество веществ, в том числе такие, которые обычно причисляют к другим классам соединений: например, жирорастворимые витамины и их производные, каротиноиды, высшие углеводороды и спирты. Включение всех этих веществ в число липидов в известной степени оправдано, потому что в живых организмах они находятся вместе с липидами и вместе с ними экстрагируются неполярными растворителями. С другой стороны, имеются представители липидов, которые довольно хорошо растворяются в воде (например, лизолецитины). Термин «липиды» является более общим, чем термин «липоиды», который объединяет группу жироподобных веществ, таких, как фосфолипиды, стерины, сфинголипиды и др.

7.1 Биологическая роль и классификация липидов

Липиды играют важнейшую роль в процессах жизнедеятельности. Будучи одним из основных компонентов биологических мембран, липиды влияют на их проницаемость, участвуют в передаче нервного импульса, создании межклеточных контактов. Жир служит в организме весьма эффективным источником энергии либо при непосредственном использовании, либо потенциально – в форме запасов жировой ткани. В натуральных пищевых жирах содержатся жирорастворимые витамины и «незаменимые» жирные кислоты. Важная функция липидов – создание термоизоляционных покровов у животных и растений, защита органов и тканей от механических воздействий

Существует несколько классификаций липидов. Наибольшее распространение получила классификация, основанная на структурных особенностях липидов. По этой классификации различают следующие основные классы липидов.

А. Простые липиды: сложные эфиры жирных кислот с различными спиртами.

1. Глицериды (ацилглицерины, или ацилглицеролы – по международной номенклатуре) представляют собой сложные эфиры трехатомного спирта глицерина и высших жирных кислот.

2. Воска: сложные эфиры высших жирных кислот и одноатомных или двухатомных спиртов.

Б. Сложные липиды: сложные эфиры жирных кислот со спиртами, дополнительно содержащие и другие группы.

1. Фосфолипиды: липиды, содержащие, помимо жирных кислот и спирта, остаток фосфорной кислоты. В их состав часто входят азотистые основания и другие компоненты:

а) глицерофосфолипиды (в роли спирта выступает глицерол);

б) сфинголипиды (в роли спирта – сфингозин).

2. Гликолипиды (гликосфинголипиды).

3. Стероиды.

4. Другие сложные липиды: сульфолипиды, аминоклипиды. К этому классу можно отнести и липопротеины.

В. Предшественники и производные липидов: жирные кислоты, глицерол, стеролы и прочие спирты (помимо глицерола и стеролов), альдегиды жирных кислот, углеводороды, жирорастворимые витамины и гормоны.

7.2 Жирные кислоты

Жирные кислоты – алифатические карбоновые кислоты – в организме могут находиться в свободном состоянии (следовые количества в клетках и тканях) либо выполнять роль строительных блоков для большинства классов липидов.

В природе обнаружено свыше 200 жирных кислот, однако, в тканях человека и животных в составе простых и сложных липидов найдено около 70 жирных кислот, причем более половины из них в следовых количествах. Практически значительное распространение имеют немногим более 20 жирных кислот. Все они содержат четное число углеродных атомов, главным образом от 12 до 24. Среди них преобладают кислоты, имеющие C_{16} и C_{18} (пальмитиновая, стеариновая, олеиновая и линолевая). Нумерацию углеродных атомов в жирно-кислотной цепи начинают с атома углерода карбоксильной группы. Примерно $\frac{3}{4}$ всех жирных кислот являются непредельными (ненасыщенными), т.е. содержат двойные связи. Ненасыщенные жирные кислоты человека и животных, участвующие в построении липидов, обычно содержат двойную связь между (9-м и 10-м атомами углеводов); дополнительные двойные связи чаще бывают на участке между 11-м атомом углерода и метильным концом цепи. Своеобразие двойных связей природных ненасыщенных жирных кислот заключается в том, что они всегда отделены двумя простыми связями, т.е. между

ними всегда имеется хотя бы одна метиленовая группа ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$). Подобные двойные связи обозначают как «изолированные».

Таблица 10 - Некоторые физиологически важные насыщенные жирные кислоты

Число атомов С	Тривиальное название	Систематическое название	Химическая формула соединения
6	Капроновая	Гексановая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{COOH}$
8	Каприловая	Октановая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_6-\text{COOH}$
10	Каприновая	Декановая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_8-\text{COOH}$
12	Лауриновая	Додекановая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{10}-\text{COOH}$
14	Миристиновая	Тетрадекановая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{12}-\text{COOH}$
16	Пальмитиновая	Гексадекановая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{COOH}$
18	Стеариновая	Октадекановая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}$
20	Арахиновая	Эйкозановая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{18}-\text{COOH}$
22	Бегеновая	Докозановая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{20}-\text{COOH}$
24	Лигноцириновая	Тетракозановая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{22}-\text{COOH}$

В растворах жирно-кислотная цепь может образовывать бесчисленное количество конформаций вплоть до клубка, в котором имеются и линейные участки различной длины в зависимости от числа двойных связей. Клубки могут слипаться между собой, образуя так называемые мицеллы. В последних отрицательно заряженные карбоксильные группы жирных кислот обращены к водной фазе, а неполярные углеводородные цепи спрятаны внутри мицеллярной структуры. Такие мицеллы имеют суммарный отрицательный заряд и в растворе остаются суспендированными благодаря взаимному отталкиванию.

Известно также, что при наличии двойной связи в жирнокислотной цепи вращение углеродных атомов относительно друг друга ограничено. Это обеспечивает существование ненасыщенных жирных кислот в виде геометрических изомеров, причем природные ненасыщенные жирные кислоты имеют *цис*-конфигурацию и крайне редко *транс*-конфигурации.

Таблица 11 - Некоторые физиологически важные ненасыщенные жирные кислоты

Число атомов С	Тривиальное название	Систематическое название	Химическая формула соединения
Моноеновые кислоты			
16	Пальмитиновая	9-гексадеценная	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-\text{COOH}$
18	Олеиновая	9-октадеценная	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
Диеновые кислоты			
18	Линолевая	9,12-октадеценная	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
Триеновые кислоты			
18	Линоленовая	9,12,15-октадекатриеновая	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
Тетраеновые кислоты			
20	Арахидоновая	5,8,11,14-эйкозатетраеновая	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-\text{COOH}$

Считают, что жирной кислоте с несколькими двойными связями *цис*-конфигурация придает углеводородной цепи изогнутый и укороченный вид. По этой причине молекулы этих кислот занимают больший объем, а при образовании кристаллов упаковываются не так плотно, как *транс*-изомеры. Вследствие этого *цис*-изомеры имеют более низкую температуру плавления (олеиновая кислота, например, при комнатной температуре находится в жидком состоянии, тогда как элаидиновая – в кристаллическом). *Цис*-конфигурация делает ненасыщенную кислоту менее стабильной и более подверженной катаболизму.

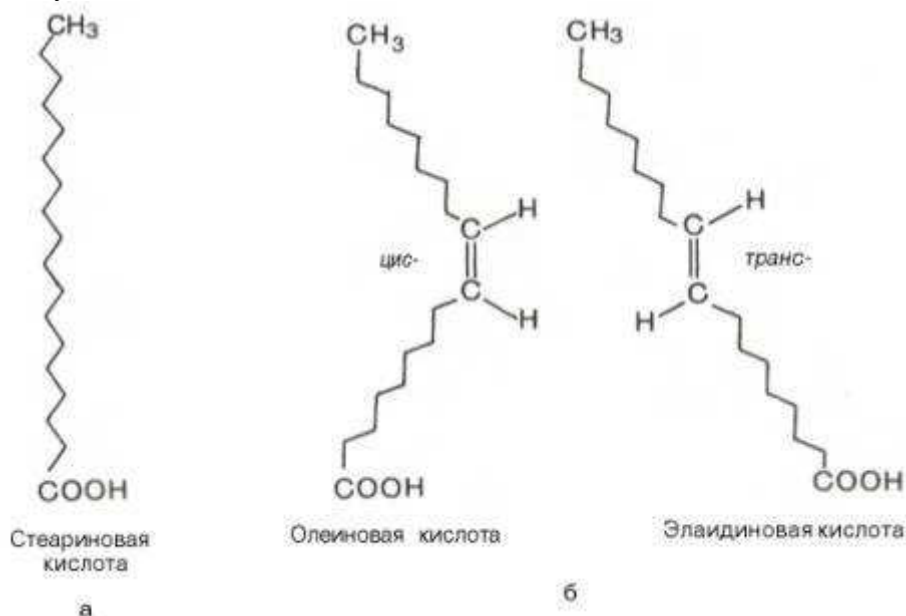
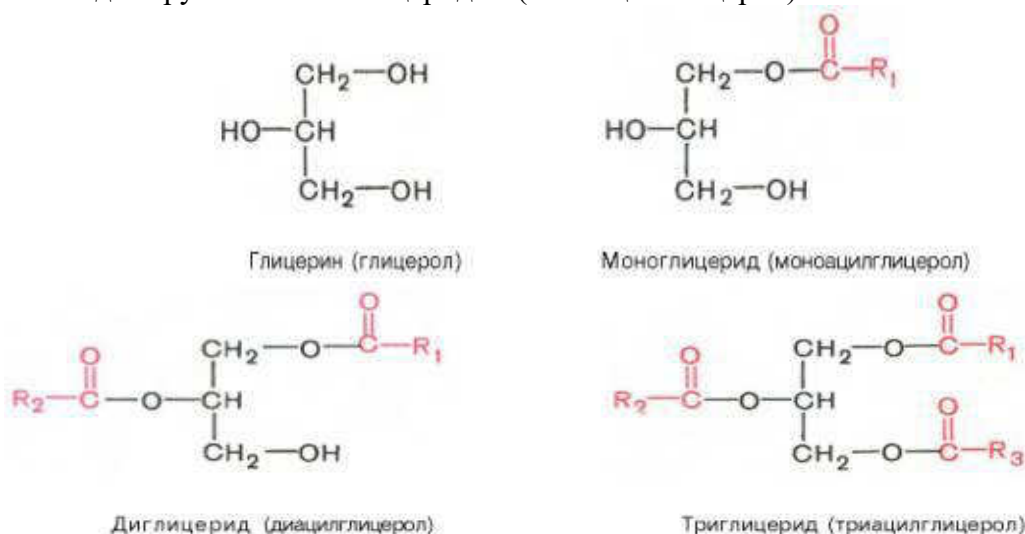


Рисунок 23 - Конфигурация 18-углеродных насыщенных (а) и мононенасыщенных (б) жирных кислот

7.3 Глицериды (ацилглицеролы)

Глицериды (ацилглицерины, или ацилглицеролы) представляют собой сложные эфиры трехатомного спирта глицерина и высших жирных кислот. Если жирными кислотами этерифицированы все три гидроксильные группы глицерина (ацильные радикалы R_1 , R_2 и R_3 могут быть одинаковы или различны), то такое соединение называют триглицеридом (триацилглицерол), если две – диглицеридом (диацилглицерол) и, наконец, если этерифицирована одна группа – моноглицеридом (моноацилглицерол):



Наиболее распространенными являются триглицериды, часто называемые нейтральными жирами или просто жирами. Нейтральные жиры находятся в организме либо в форме протоплазматического жира, являющегося структурным компонентом клеток, либо в форме запасного, резервного, жира. Роль этих двух форм жира в организме неодинакова. Протоплазматический жир имеет постоянный химический состав и содержится в тканях в определенном количестве, не изменяющемся даже при патологическом ожирении, в то время как количество резервного жира подвергается большим колебаниям.

Как отмечалось, основную массу природных нейтральных жиров составляют триглицериды. Жирные кислоты в триглицеридах могут быть насыщенными и ненасыщенными. Из жирных кислот чаще встречаются пальмитиновая, стеариновая и олеиновые кислоты. Если все три кислотных радикала принадлежат одной и той же жирной кислоте, то такие триглицериды называют простыми (например, трипальмитин, тристеарин, триолеин и т.д.), если разным жирным кислотам, то смешанными. Названия смешанных триглицеридов образуются в зависимости от входящих в их состав жирных кислот, при этом цифры 1, 2 и 3 указывают на связь остатка жирной кислоты с соответствующей спиртовой группой в молекуле глицерина (например, 1-олео-2-пальмитостеарин). Необходимо отметить, что положение крайних атомов в молекуле глицерина на первый взгляд равнозначно, тем не менее, их обозначают сверху вниз – 1 и 3. Это объясняется, прежде всего, тем, что в структуре триглицерида при пространственном ее рассмотрении крайние «глицериновые» атомы углерода становятся уже не равнозначными, если гидроксилы 1 и 3 ацилированы разными жирными кислотами.

Жирные кислоты, входящие в состав триглицеридов, практически определяют их физико-химические свойства. Так, температура плавления триглицеридов повышается с увеличением числа и длины остатков насыщенных жирных кислот. Напротив, чем выше содержание ненасыщенных жирных кислот, или кислот с короткой цепью, тем ниже точка плавления.

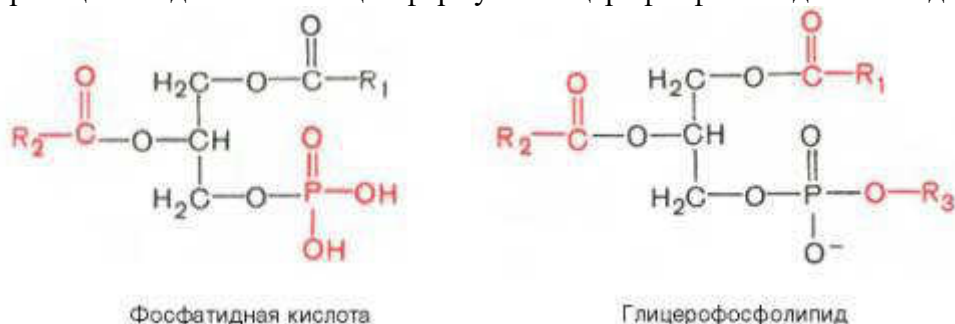
Животные жиры (сало) обычно содержат значительное количество насыщенных жирных кислот (пальмитиновой, стеариновой и др.), благодаря чему, при комнатной температуре они твердые. Жиры, в состав которых входит много ненасыщенных кислот, при обычной температуре жидкие и называются маслами. Так, в конопляном масле 95% всех жирных кислот приходится на долю олеиновой, линолевой и линоленовой кислот и только 5% – на долю стеариновой и пальмитиновой кислот. В жире человека, плавящемся при температуре 15°C (при температуре тела он жидкий), содержится 70% олеиновой кислоты.

Глицериды способны вступать во все химические реакции, свойственные сложным эфирам. Наибольшее значение имеет реакция омыления, в результате которой из триглицеридов образуются глицерол и жирные кислоты. Омыление жира может происходить как при ферментативном гидролизе, так и при действии кислот или щелочей.

7.4 Фосфолипиды

Фосфолипиды представляют собой сложные эфиры многоатомных спиртов глицерина или сфингозина с высшими жирными кислотами и фосфорной кислотой. В состав фосфолипидов входят также азотсодержащие соединения: холин, этаноламин или серин. В зависимости от того, какой многоатомный спирт участвует в образовании фосфолипида (глицерин или сфингозин), последние делят на 2 группы: глицерофосфолипиды и сфингофосфолипиды. Необходимо отметить, что в глицерофосфолипидах либо холин, либо этаноламин или серин соединены эфирной связью с остатком фосфорной кислоты; в составе сфинголипидов обнаружен только холин. Наиболее распространенными в тканях животных являются глицерофосфолипиды.

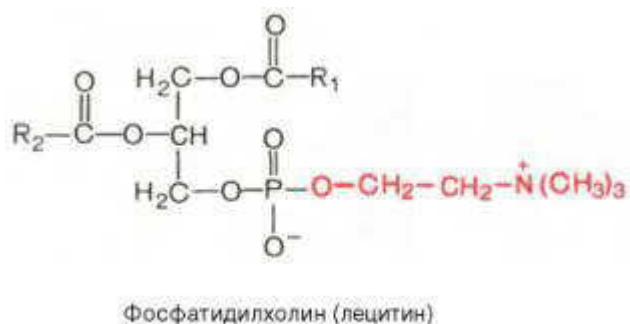
Глицерофосфолипиды. Глицерофосфолипиды являются производными фосфатидной кислоты. В их состав входят глицерин, жирные кислоты, фосфорная кислота и обычно азотсодержащие соединения. Общая формула глицерофосфолипидов выглядит так:



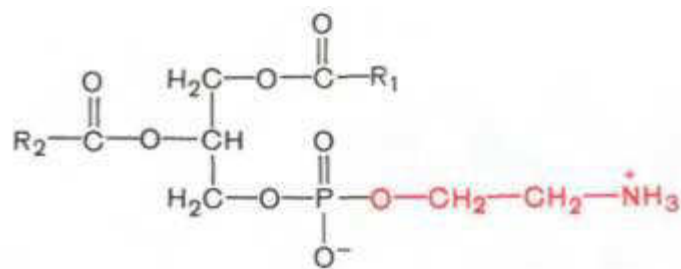
В этих формулах R_1 и R_2 – радикалы высших жирных кислот, а R_3 – чаще радикал азотистого соединения. Для всех глицерофосфолипидов характерно, что одна часть их молекул (радикалы R_1 и R_2) обнаруживает резко выраженную гидрофобность, тогда как другая часть гидрофильна благодаря отрицательному заряду фосфорной кислоты и положительному заряду радикала R_3 .

Из всех липидов глицерофосфолипиды обладают наиболее выраженными полярными свойствами. При помещении глицерофосфолипидов в воду в истинный раствор переходит лишь небольшая их часть, основная же масса липидов находится в виде мицелл. Существует несколько групп (подклассов) глицерофосфолипидов. В зависимости от характера азотистого основания, присоединенного к фосфорной кислоте, Глицерофосфо-липиды подразделяют на фосфатидилхолины (лецитины), фосфатидилэтноламины (кефалины) и фосфатидилсерины. В состав некоторых глицеро-фосфолипидов вместо азотсодержащих соединений входит не содержащий азота шестиуглеродный циклический спирт инозит, называемый также инозитолом. Эти липиды называются фосфатидилинозитолами.

Фосфатидилхолины (лецитины). В отличие от триглицеридов в молекуле фосфатидилхолина одна из трех гидроксильных групп глицерина связана не с жирной, а с фосфорной кислотой. Кроме того, фосфорная кислота в свою очередь соединена эфирной связью с азотистым основанием – холином $[HO-CH_2-CH_2-N^+(CH_3)_3]$. Таким образом, в молекуле фосфатидилхолина соединены глицерин, высшие жирные кислоты, фосфорная кислота и холин:



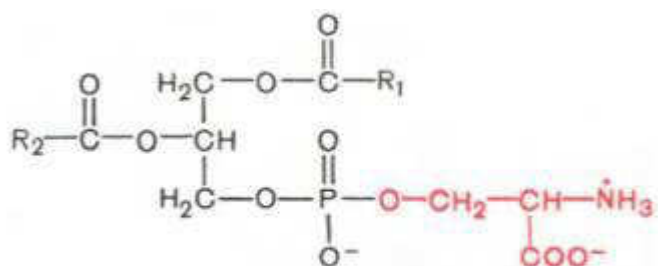
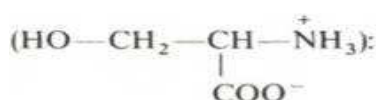
Фосфатидилэтноламины. Основное различие между фосфатидилхоли-нами и фосфатидилэтноламинами – наличие в составе последних азотистого основания этаноламина $(HO-CH_2-CH_2-N^+H_3)$:



Фосфатидилэтаноламин

Из глицерофосфолипидов в организме животных и высших растений в наибольшем количестве встречаются фосфатидилхолины и фосфатидил-этаноламины. Эти 2 группы глицерофосфолипидов метаболически связаны друг с другом и являются главными липидными компонентами мембран клеток.

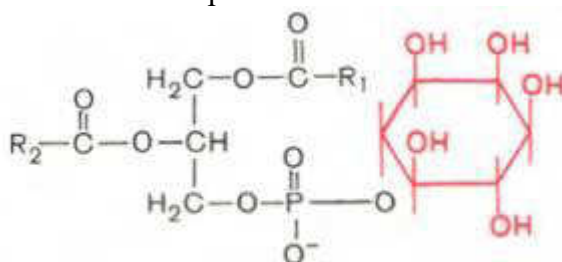
Фосфатидилсерины. В молекуле фосфатидилсерина азотистым соединением служит остаток аминокислоты серина



Фосфатидилсерин

Фосфатидилсерины распространены гораздо менее широко, чем фосфатидилхолины и фосфатидилэтаноламины, и их значение определяется в основном тем, что они участвуют в синтезе фосфатидилэтаноламинов.

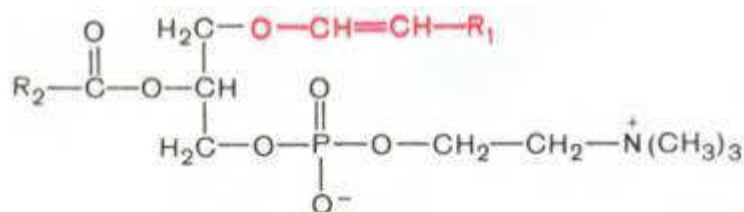
Фосфатидилинозитолы. Эти липиды относятся к группе производных фосфатидной кислоты, но не содержат азота. Радикалом (R_3) в этом подклассе глицерофосфолипидов является шестиуглеродный циклический спирт инозитол:



Фосфатидилинозитол

Фосфатидилинозитолы довольно широко распространены в природе. Они обнаружены у животных, растений и микроорганизмов. В животном организме найдены в мозге, печени и легких.

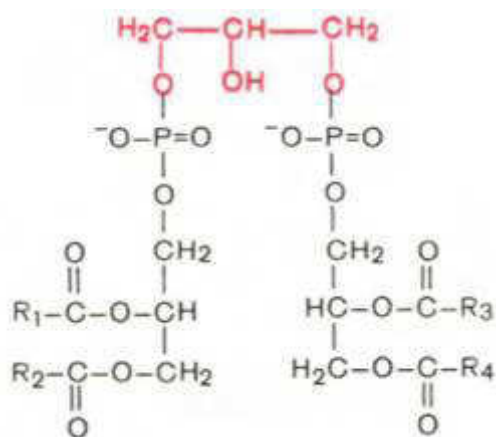
Плазмалогены. От рассмотренных глицеролипидов плазмалогены отличаются тем, что вместо одного остатка высшей жирной кислоты содержат остаток α,β -ненасыщенного спирта, который образует простую связь (в отличие от сложноэфирной связи, образуемой остатком жирной кислоты) с гидроксильной группой глицерина в положении С-1:



Фосфатидальхолин (плазмалоген)

Основными подклассами плазмалогенов являются фосфатидальхолины, фосфатидальэтанолламины и фосфатидальсерины. При кислотном гидролизе плазмалогенов образуются «жирные» альдегиды, называемые плазмалями, что и легло в основу термина «плазмалоген».

Кардиолипин. Своеобразным представителем глицерофосфолипидов является кардиолипин, впервые выделенный из сердечной мышцы. По своей химической структуре кардиолипин можно рассматривать как соединение, в котором 2 молекулы фосфатидной кислоты связаны с помощью одной молекулы глицерина. В отличие от остальных глицерофосфолипидов кардиолипин является как бы «двойным» глицерофосфолипидом. Кардиолипин локализован во внутренней мембране митохондрий. Функция его пока неясна, хотя известно, что в отличие от других фосфолипидов кардиолипин обладает иммунными свойствами.

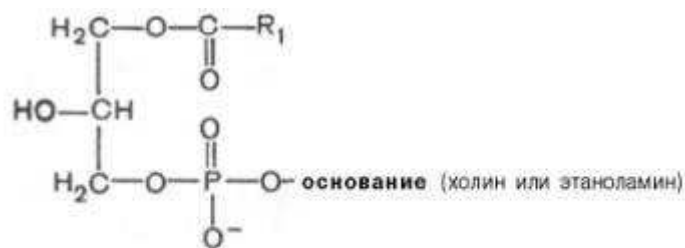


Кардиолипин

В этой формуле $\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3, \text{R}_4$ – радикалы высших жирных кислот.

Необходимо отметить, что в природе встречается свободная фосфатидная кислота, но в относительно небольших количествах по сравнению с глицерофосфолипидами. Среди жирных кислот, входящих в состав глицерофосфолипидов, обнаружены как насыщенные, так и ненасыщенные (чаще стеариновая, пальмитиновая, олеиновая и линолевая).

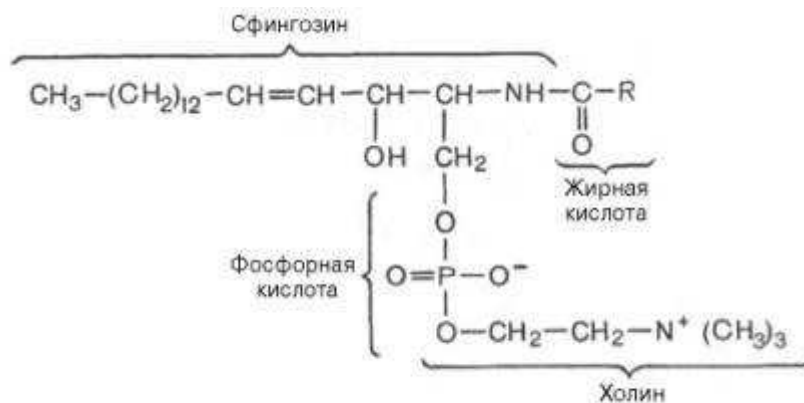
Установлено также, что большинство фосфатидилхолинов и фосфатидилэтанолламинов содержат одну насыщенную высшую жирную кислоту в положении С-1 и одну ненасыщенную высшую жирную кислоту в положении С-2. Гидролиз фосфатидилхолинов и фосфатидилэтанолламинов при участии особых ферментов (эти ферменты относятся к фосфолипазам A_2), содержащихся, например, в яде кобры, приводит к отщеплению ненасыщенной жирной кислоты и образованию лизофосфолипидов – лизофосфатидилхолинов, или лизофосфатидилэтанолламинов, оказывающих сильное гемолитическое действие:



Лизофосфатидилхолин или лизофосфатидилэтанолламин

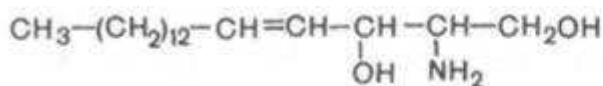
7.5 Сфинголипиды (сфингофосфолипиды)

Сфингомиелины. Это наиболее распространенные сфинголипиды. В основном они находятся в мембранах животных и растительных клеток. Особенно богата ими нервная ткань. Сфингомиелины обнаружены также в ткани почек, печени и других органов. При гидролизе сфингомиелины образуют одну молекулу жирной кислоты, одну молекулу двухатомного ненасыщенного спирта сфингозина, одну молекулу азотистого основания (чаще это холин) и одну молекулу фосфорной кислоты. Общую формулу сфингомиелинов можно представить так:

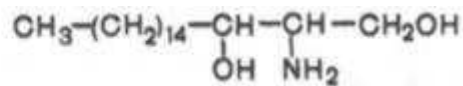


Сфингомиелин

Общий план построения молекулы сфингомиелина в определенном отношении напоминает строение глицерофосфолипидов. Молекула сфингомиелина содержит как бы полярную «головку», которая несет одновременно и положительный (остаток холина), и отрицательный (остаток фосфорной кислоты) заряды, и два неполярных «хвоста» (длинная алифатическая цепь сфингозина и ацильный радикал жирной кислоты). В некоторых сфингомиелинах, например выделенных из мозга и селезенки, вместо сфингозина найден спирт дигидросфингозин (восстановленный сфингозин):



Сфингозин



Дигидросфингозин

7.6 Стероиды

Все рассмотренные липиды принято называть омыляемыми, поскольку при их щелочном гидролизе образуются мыла. Однако имеются липиды, которые не гидролизуются с освобождением жирных кислот. К таким липидам относятся стероиды. **Стероиды** – широко распространенные в природе соединения. Они часто обнаруживаются в ассоциации с жирами. Их можно отделить от жира путем омыления (они попадают в неомыляемую фракцию). Все стероиды в своей структуре имеют ядро, образованное гидрированным фенантrenom (кольца А, В и С) и циклопентаном (кольцо D) (рис. 24):



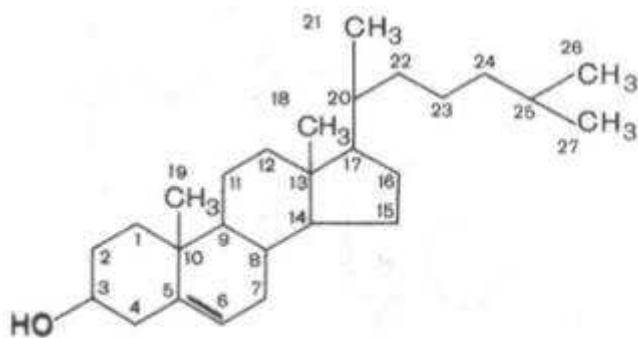
Рисунок 24 - Обобщенное стероидное ядро

К стероидам относятся, например, гормоны коркового вещества надпочечников, желчные кислоты, витамины группы D, сердечные гликозиды и другие соединения. В организме человека важное место среди стероидов занимают стерины (стеролы), т.е. стероидные спирты. Главным представителем стеринов является холестерин (холестерол).

Ввиду сложного строения и асимметрии молекулы стероиды имеют много потенциальных стереоизомеров. Каждое из шестиуглеродных колец (кольца А, В и С) стероидного ядра может принимать две различные пространственные конформации – конформацию «кресла» либо «лодки».

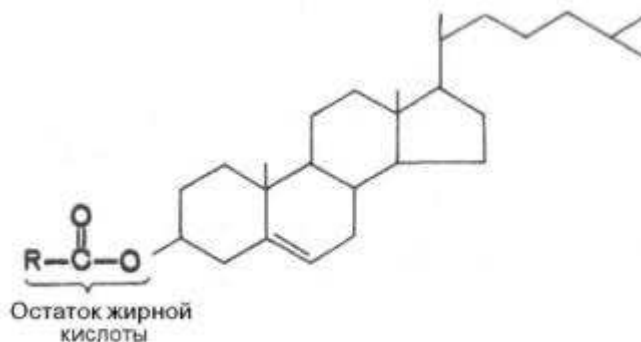
В природных стероидах, в том числе и в холестерине, все кольца в форме «кресла», что является более устойчивой конформацией.

Холестерин. Как отмечалось, среди стероидов выделяется группа соединений, получивших название стеринов (стеролов). Для стеринов характерно наличие гидроксильной группы в положении 3, а также боковой цепи в положении 17. У важнейшего представителя стеринов – холестерина – все кольца находятся в *транс*-положении; кроме того, он имеет двойную связь между 5-м и 6-м углеродными атомами. Следовательно, холестерин является ненасыщенным спиртом:



Холестерин (холестерол)

Кольцевая структура холестерина отличается значительной жесткостью, тогда как боковая цепь – относительной подвижностью. Итак, холестерин содержит спиртовую гидроксильную группу при С-3 и разветвленную алифатическую цепь из 8 атомов углерода при С-17. Химическое название холестерина 3-гидрокси-5,6-холестен. Гидроксильная группа при С-3 может быть этерифицирована высшей жирной кислотой, при этом образуются эфиры холестерина (холестериды).

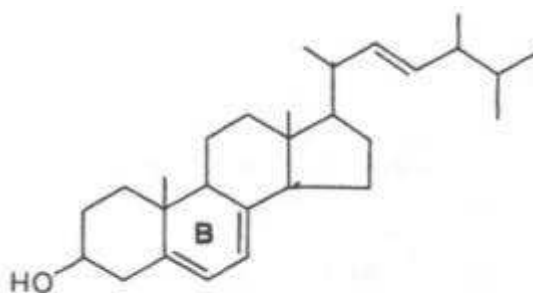


Эфир холестерина (холестерид)

Каждая клетка в организме млекопитающих содержит холестерин. Находясь в составе мембран клеток, незэтерифицированный холестерин вместе с фосфолипидами и белками обеспечивает избирательную проницаемость клеточной мембраны и оказывает регулирующее влияние на состояние мембраны и на активность связанных с ней ферментов. В цитоплазме холестерин находится преимущественно в виде эфиров с жирными кислотами, образующих мелкие капли – так называемые вакуоли. В плазме крови как незэтерифицированный, так и этерифицированный холестерин транспортируется в составе липопротеинов.

Холестерин – источник образования в организме млекопитающих желчных кислот, а также стероидных гормонов (половых и кортикоидных). Холестерин, а точнее продукт его окисления – 7-дегидрохолестерин, под действием УФ-лучей в коже превращается в витамин D₃. Таким образом, физиологическая функция холестерина многообразна.

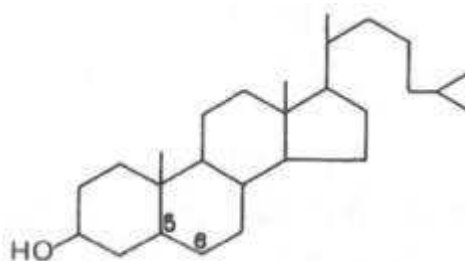
Холестерин находится в животных, но не в растительных жирах. В растениях и дрожжах содержатся близкие по структуре к холестерину соединения, в том числе эргостерин.



Эргостерин

Эргостерин – предшественник витамина D. После воздействия на эргостерин УФ-лучами он приобретает свойство оказывать противорахитное действие (при раскрытии кольца В).

Восстановление двойной связи в молекуле холестерина приводит к образованию копростерина (копростанола). Копростерин находится в составе фекалий и образуется в результате восстановления бактериями кишечной микрофлоры двойной связи в холестерине между атомами C₅ и C₆.



Копростерин (копростанол)

Указанные стеринны в отличие от холестерина очень плохо всасываются в кишечнике и потому обнаруживаются в тканях человека в следовых количествах.

8 Химия углеводов

Впервые термин «углеводы» был предложен профессором Дерптского (ныне Тартуского) университета К.Г. Шмидтом в 1844 г. В то время предполагали, что все углеводы имеют общую формулу C_m(H₂O)_n, т.е. углевод + вода. Отсюда название «углеводы». Например, глюкоза и фруктоза имеют формулу C(H₂O)₆, тростниковый сахар (сахароза) C₁₂(H₂O)₁₁, крахмал [C₆(H₂O)₅]_n и т.д. В дальнейшем оказалось, что ряд соединений, по своим свойствам относящихся к классу углеводов, содержат водород и кислород в несколько иной пропорции, чем указано в общей формуле (например, дезоксирибоза C₅H₁₀O₄). В 1927 г. Международная комиссия по реформе химической номенклатуры предложила термин «углеводы» заменить термином «глициды», однако старое название «углеводы» укоренилось и является общепризнанным.

Химия углеводов занимает одно из ведущих мест в истории развития органической химии. Тростниковый сахар можно считать первым органическим соединением, выделенным в химически чистом виде. Произведенный в 1861 г. А.М. Бутлеровым синтез (вне организма) углеводов из формальдегида явился первым синтезом представителей одного из трех основных классов веществ (белки, липиды, углеводы), входящих в состав живых организмов. Химическая структура простейших углеводов была выяснена в конце XIX в. в результате фундаментальных исследований Э. Фишера. Значительный вклад в изучение углеводов внесли отечественные ученые А.А. Колли, П.П. Шорыгин, Н.К. Кочетков и др. В 20-е годы нынешнего столетия работами английского исследователя У. Хеурса были заложены

основы структурной химии полисахаридов. Со второй половины XX в. происходит стремительное развитие химии и биохимии углеводов, обусловленное их важным биологическим значением.

8.1 Биологическая роль углеводов

Углеводы наряду с белками и липидами являются важнейшими химическими соединениями, входящими в состав живых организмов. У человека и животных углеводы выполняют важные функции: энергетическую (главный вид клеточного топлива), структурную (обязательный компонент большинства внутриклеточных структур) и защитную (участие углеводных компонентов иммуноглобулинов в поддержании иммунитета).

Углеводы (рибоза, дезоксирибоза) используются для синтеза нуклеиновых кислот, они являются составными компонентами нуклеотидных коферментов, играющих исключительно важную роль в метаболизме живых существ. В последнее время все большее внимание к себе привлекают смешанные биополимеры, содержащие углеводы: гликопептиды и гликопротеины, гликолипиды и липополисахариды, гликолипопротеины и т.д. Эти вещества выполняют в организме сложные и важные функции.

С нарушением обмена углеводов тесно связан ряд заболеваний: сахарный диабет, галактоземия, нарушение в системе депо гликогена, нетолерантность к молоку и т.д.

Следует отметить, что в организме человека и животного углеводы присутствуют в меньшем количестве (не более 2% от сухой массы тела), чем белки и липиды; в растительных организмах за счет целлюлозы на долю углеводов приходится до 80% от сухой массы, поэтому в целом в биосфере углеводов больше, чем всех других органических соединений вместе взятых.

8.2 Классификация углеводов

Углеводы можно определить как альдегидные или кетонные производные полиатомных (содержащих более одной ОН-группы) спиртов или как соединения, при гидролизе которых образуются эти производные.

Согласно принятой в настоящее время классификации, углеводы подразделяются на три основные группы: моносахариды, олигосахариды и полисахариды.

8.2.1 Моносахариды

Моносахариды можно рассматривать как производные многоатомных спиртов, содержащие карбонильную (альдегидную или кетонную) группу. Если карбонильная группа находится в конце цепи, то моносахарид представляет собой альдегид и называется альдозой; при любом другом положении этой группы моносахарид является кетоном и называется кетозой.

Простейшие представители моносахаридов – **триозы**: глицеральдегид и диоксиацетон. При окислении первичной спиртовой группы трехатомного спирта – глицерола – образуется глицеральдегид (альдоза), а окисление вторичной спиртовой группы приводит к образованию диоксиацетона (кетоза).



Стереизомерия моносахаридов. Все моносахариды содержат асимметричные атомы углерода: альдотриозы – один центр асимметрии, альдотетрозы – 2, альдопентозы – 3, альдогексозы – 4 и т.д. Кетозы содержат на один асимметричный атом меньше, чем альдозы с тем же числом углеродных атомов. Следовательно, кетотриоза диоксиацетон не содержит асимметричных атомов углерода. Все остальные моносахариды могут существовать в виде различных стереоизомеров.

Общее число стереоизомеров для любого моносахарида выражается формулой $N = 2^n$, где N – число стереоизомеров, а n – число асимметричных атомов углерода. Как отмечалось, глицеральдегид содержит только один асимметричный атом углерода и поэтому может существовать в виде двух различных стереоизомеров.

Изомер глицеральдегида, у которого при проекции модели на плоскость ОН-группа у асимметричного атома углерода расположена с правой стороны, принято считать D-глицеральдегидом, а зеркальное отражение – L-глицеральдегидом:



Альдогексозы содержат четыре асимметричных атома углерода и могут существовать в виде 16 стереоизомеров (2^4), представителем которых является, например, глюкоза. Для альдопентоз и альдотетроз число стереоизомеров равно соответственно $2^3 = 8$ и $2^2 = 4$.

Все изомеры моносахаридов подразделяются на D- и L-формы (D-и L-конфигурация) по сходству расположения групп атомов у последнего центра асимметрии с расположением групп у D- и L-глицеральдегида. Природные гексозы: глюкоза, фруктоза, манноза и галактоза – принадлежат, как правило, по стереохимической конфигурации к соединениям D-ряда.

Известно, что природные моносахариды обладают оптической активностью. Способность вращать плоскость поляризованного луча света – одна из важнейших особенностей веществ (в том числе моносахаридов), молекулы которых имеют асимметричный атом углерода или асимметричны в целом. Свойство вращать плоскость поляризованного луча вправо обозначают знаком плюс (+), а в противоположную сторону – знаком минус (–). Так, D-глицеральдегид вращает плоскость поляризованного луча вправо, т. е. D-глицеральдегид является D(+)-альдотриозой, а L-глицеральдегид – L(–)-альдотриозой. Однако направление угла вращения поляризованного луча, которое определяется асимметрией молекулы в целом, заранее непредсказуемо. Моносахариды, относящиеся по стереохимической конфигурации к D-ряду, могут быть левовращающими. Так, обычная



Проекционные формулы Хеурса не отражают подлинной конформации моносахаридов. Подобно циклогексану, пиранозное кольцо может принимать две конфигурации – форму кресла и форму лодки (конформационные формулы). Форма кресла обычно более устойчива, и, по-видимому, именно она преобладает в большей части природных сахаров (рис. 25).



а - линейная формула глюкозы (альдогексоза); б - структурная формула по Хеурсу; в - конформационная формула (форма кресла)

Рисунок 25 - α -D-глюкоза

8.2 .1.1 Основные реакции моносахаридов, продукты реакций и их свойства.

Реакции полуацетального гидроксила. Уже отмечалось, что моносахариды как в кристаллическом состоянии, так и в растворе в основном существуют в полуацетальных формах. Полуацетальный гидроксил отличается большей реакционной способностью и может замещаться другими группировками в реакциях со спиртами, карбоновыми кислотами, фенолами и т.д.

Продукт реакции называют гликозидом. Соответственно α - и β -изомерам моносахаридов существуют α - и β -гликозиды. Например, при реакции метилового спирта с глюкозой (допустим, в β -пиранозной форме) в присутствии неорганических кислот образуется продукт алкилирования метил- β -D-глюкопиранозид:



При действии на β -D-глюкопиранозу уксусной кислотой образуется продукт ацилирования ацетил- β -D-глюкопиранозид:



Ацилированию и метилированию способны подвергаться и остальные группы моносахаридов, но при намного более жестких условиях. Если в реакцию вступают спирты, фенолы или карбоновые кислоты, продукты реакции называют O-гликозидами. Следовательно, метил- β -D-глюкопиранозид и ацетил- β -D-глюкопиранозид являются O-гликозидами (связь осуществляется через кислород). Природные O-гликозиды, большинство из которых образуется в результате жизнедеятельности растений, существуют преимущественно в β -форме.

Важным классом гликозидов являются N-гликозиды, в которых глико-зидная связь осуществляется через азот, а не через кислород. N-гликозиды рассматривают как производные моносахаридов, у которых гликозидная часть молекулы связана через атом азота с радикалом органического соединения R, не являющегося углеводом. Как и O-гликозиды, N-гликозиды могут быть построены как пиранозиды или как фуранозиды и иметь α - и β -форму:

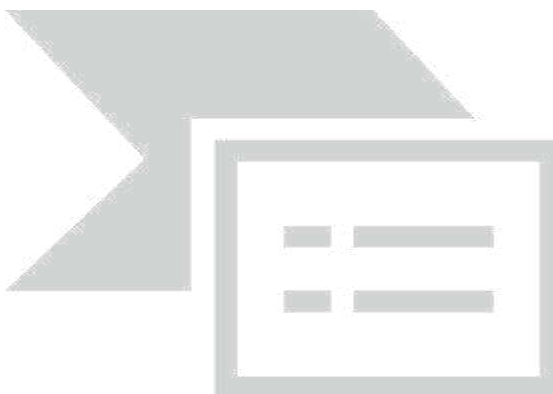


К N-гликозидам принадлежат исключительно важные в обмене веществ продукты расщепления нуклеиновых кислот и нуклеопротеидов (нуклеотиды и нуклеозиды), АТФ, НАД, НАДФ, некоторые антибиотики.

Реакции с участием карбонильной группы. Линейная форма в кристаллических препаратах моносахаридов и их растворах присутствует в незначительных количествах, но ее участие в таутомерном равновесии обеспечивает моносахаридам все свойства, присущие альдегидам (в альдозах) или кетонам (в кетозах).

Окисление моносахаридов. Обработка альдоз слабыми окислителями приводит к превращению альдегидной группы в положении атома C-1 в карбоксильную группу с образованием так называемых альдоновых кислот. Альдоновой кислотой может быть D-глюконовая кислота, которая образуется при окислении альдегидной группы D-глюкозы.

Фосфорилированная форма D-глюконовой кислоты играет важную роль в качестве промежуточного продукта углеводного обмена. Другой пример – D-галактоновая кислота – продукт окисления альдегидной группы D-галактозы.



В альдуруновых, или уроновых, кислотах окислена (с образованием карбоксильной группы) первичная спиртовая группа, а альдегидная группа остается неокисленной. Уроновая кислота, образующаяся из D-глюкозы, носит название D-глюкуроновой кислоты, а образующаяся из D-галактозы – D-галактоуроновой кислоты.

Уроновые кислоты весьма важны в биологическом отношении, многие из них являются компонентами полисахаридов.

Восстановление моносахаридов. Моносахариды легко гидрируются по связи С—О и при этом превращаются в многоатомные спирты (сахароспирты). D-глюкоза, например, образует спирт сорбит, а D-манноза – маннит. Такого рода восстановление может осуществляться и ферментативным путем.

Фосфорнокислые эфиры углеводов. Моносахариды, этерифицированные фосфорной кислотой, играют исключительно большую роль в обмене веществ. Первым обнаруженным в природе фосфорнокислым эфиром углевода был фруктозо-1,6-дифосфат, который выявили при брожении Л.А. Иванов, а также А. Гарден и В. Юнг в 1905 г. В последующие годы из природных источников выделено много новых моно- и дифосфатов моносахаридов, в частности большое количество фосфатов кетоз, например рибулозо- и ксилулозофосфаты. В настоящее время установлена важная роль во многих биохимических процессах наряду с фосфатами гексоз и пентоз также фосфатов гептоз (в первую очередь седогептулозо-7-фосфата) и фосфатов тетроз (эритрозо-4-фосфата и др.).

Большой интерес представляют пирозофосфорные эфиры моносахаридов, например 5-фосфорибозил-1-пирозофосфат (ФРПФ), который участвует в синтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.

Ниже приводятся формулы некоторых фосфатов сахаров, играющих важную роль в обмене веществ:



Дезоксисахара. У дезоксисахаров одна из гидроксильных групп, присоединенных к кольцевой структуре, замещена на атом водорода. Они образуются при гидролизе ряда соединений, играющих важную роль в биологических процессах. Примером может служить дезоксирибоза, входящая в состав нуклеиновых кислот (ДНК):



Аминосахара. Это производные моносахаридов, гидроксильная группа которых — OH замещена аминогруппой —NH₂. В зависимости от положения аминогруппы (при атомах углерода) в молекуле аminosахара различают 2-амино-, 3-амино- и 4-аминосaхара и т.д. По числу аминогрупп выделяют моноаминосaхара и диаминосaхара.

Аминосахара обладают всеми свойствами аминов, обычных моносахаров, а также специфическими свойствами, обусловленными пространственной близостью гидроксильных и аминных групп.

В организме человека и животных наиболее важными аminosахарами являются D-глюкозамин и D-галактозамин:



Аминосахара входят в состав мукополисахаридов животного, растительного и бактериального происхождения, являются углеводными компонентами различных гликопротеинов и гликолипидов.

8.2.2 Олигосахариды

Олигосахариды – углеводы, молекулы которых содержат от 2 до 10 остатков моносахаридов, соединенных гликозидными связями. В соответствии с этим различают дисахариды, трисахариды и т.д.

Дисахариды – сложные сахара, каждая молекула которых при гидролизе распадается на две молекулы моносахаридов. Дисахариды наряду с полисахаридами являются одними из основных источников углеводов в пище человека и животных. По строению дисахариды – это гликозиды, в которых 2 молекулы моносахаридов соединены гликозидной связью.

Среди дисахаридов наиболее широко известны мальтоза, лактоза и сахароза. Мальтоза, являющаяся α -глюкопиранозил-(1–4)- α -глюкопира-нозой, образуется как промежуточный продукт при действии амилаз на крахмал (или гликоген), содержит 2 остатка α -D-глюкозы.



В молекуле мальтозы у второго остатка глюкозы имеется свободный полуацетальный гидроксил. Такие дисахариды обладают восстанавливающими свойствами.

Одним из наиболее распространенных дисахаридов является сахароза – обычный пищевой сахар. Молекула сахарозы состоит из одного остатка D-глюкозы и одного остатка D-фруктозы. Следовательно, это α -глюко-пиранозил-(1–2)- β -фруктофуранозид:



В отличие от большинства дисахаридов сахароза не имеет свободного полуацетального гидроксила и не обладает восстанавливающими свойствами. Гидролиз сахарозы приводит к образованию смеси, которую называют инвертированным сахаром. В

этой смеси преобладает сильно левовращающая фруктоза, которая инвертирует (меняет на обратный) знак вращения правовращающего раствора исходной сахарозы.

Дисахарид лактоза содержится только в молоке и состоит из D-галактозы и D-глюкозы. Это – β-галактопиранозил-(1–4)-глюкопираноза:



Благодаря наличию в молекуле свободного полуацетального гидроксила (в остатке глюкозы) лактоза относится к числу редуцирующих дисахаридов.

Среди природных трисахаридов наиболее известна рафиноза, содержащая остатки фруктозы, глюкозы и галактозы. Рафиноза в больших количествах содержится в сахарной свекле и во многих других растениях. В целом олигосахариды, присутствующие в растительных тканях, разнообразнее по своему составу, чем олигосахариды животных тканей.

8.2.3 Полисахариды

Полисахариды – высокомолекулярные продукты поликонденсации моносахаридов, связанных друг с другом гликозидными связями и образующих линейные или разветвленные цепи. Наиболее часто встречающимся моносахаридным звеном полисахаридов является D-глюкоза. В качестве компонентов полисахаридов могут быть также D-манноза, D- и L-галактоза, D-ксилоза и L-арабиноза, D-глюкуроновая, D-галактоуроновая и D-маннуриновая кислоты, D-глюкозамин, D-галактозамин, сиаловые и аминуроновые кислоты.



а - неразветвленные; б – разветвленные;

Рисунок 26 - Структура двумономерных гетерополисахаридов (схема)

Каждый моносахарид, входящий в состав полимерной молекулы, может находиться в пиранозной или фуранозной форме, а также может быть присоединен к любой из свободных гидроксильных групп следующего моносахаридного остатка α - или β -гликозидной связью. Полисахариды различаются не только своим моносахаридным составом, но также молекулярной массой и структурными особенностями. Так, некоторые полисахариды – линейные полимеры, другие – сильно разветвлены. Молекулярная масса полисахаридов относительно высока и может быть измерена существующими методами лишь с известной степенью приближения. Это отличает полисахариды от олигосахаридов, степень полимеризации которых может быть полно определена классическими химическими методами.

С точки зрения общих принципов строения, полисахариды можно разделить на 2 группы: гомополисахариды, состоящие из моносахаридных единиц только одного типа, и гетерополисахариды, для которых характерно наличие двух и более типов мономерных звеньев (рис. 26).

8.3 Гетерополисахариды

Полисахариды, в структуре которых характерно наличие двух или более типов мономерных звеньев, носят название гетерополисахаридов.

Принято считать, что, поскольку гетерополисахариды чаще состоят только из двух различных мономеров, расположенных повторяющимся образом, они не являются информационными молекулами [Бохински Р., 1987].

Важнейшие представители гетерополисахаридов в органах и тканях животных и человека – гликозаминогликаны (мукополисахариды). Они состоят из цепей сложных углеводов, содержащих аminosахара и уроновые кислоты.

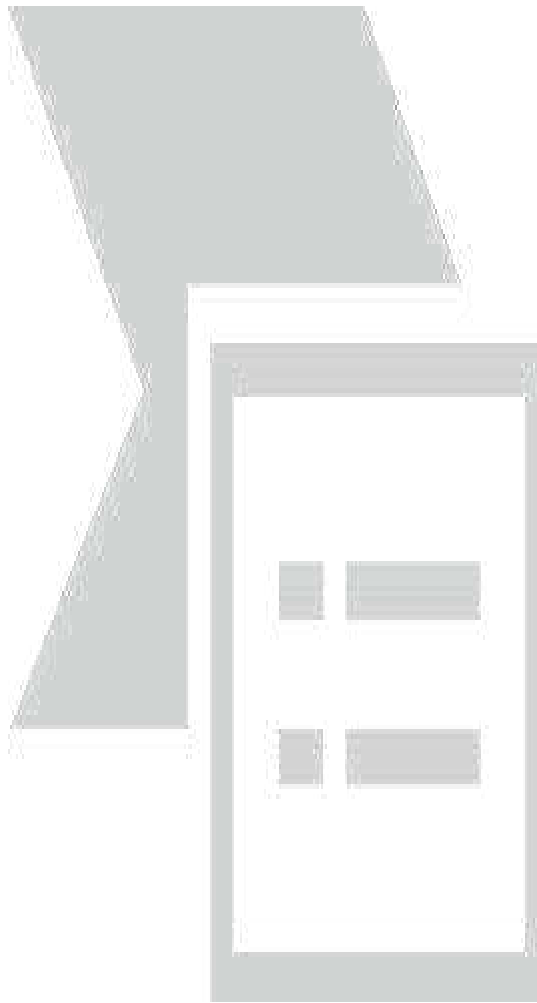


Рисунок 27 - Строение некоторых сложных полисахаридов (гликозаминогликанов)

Различают шесть основных классов гликозаминогликанов. Каждый из гликозаминогликанов содержит характерную для него повторяющуюся дисахаридную единицу; во всех случаях (кроме кератансульфатов) эта единица содержит либо глюкуроновую, либо идуоновую кислоту. Все гликозаминогликаны, за исключением гиалуроновой кислоты, содержат остатки моносахаридов с О- или N-сульфатной группой.

Выделенные индивидуальные гликозаминогликаны могут содержать смесь цепей различной длины. Гликозаминогликаны как основное скрепляющее вещество связаны со структурными компонентами костей и соединительной ткани. Их функция состоит также в удержании большой массы воды и в заполнении межклеточного пространства. Иными словами, гликозаминогликаны – основной компонент внеклеточного вещества – желатинообразного вещества, заполняющего межклеточное пространство тканей. Они также содержатся в больших количествах в синовиальной жидкости – это вязкий материал, окружающий суставы, который служит смазкой и амортизатором.

Поскольку водные растворы гликозаминогликанов гелеобразны, их называют мукополисахаридами.

Наконец, если цепи гликозаминогликана присоединены к белковой молекуле, соответствующее соединение называют протеогликаном.

Протеогликаны образуют основное вещество внеклеточного матрикса. В отличие от простых гликопротеинов, которые содержат только несколько процентов углеводов (по массе), протеогликаны могут содержать до 95% (и более) углеводов.

9 Витамины

9.1 Классификация витаминов

Современная классификация витаминов не является совершенной. Она основана на физико-химических свойствах (в частности, растворимости) или на химической природе, но до сих пор сохраняются и буквенные обозначения. В зависимости от растворимости в неполярных органических растворителях или в водной среде различают *жирорастворимые* и *водорастворимые* витамины. В приводимой классификации витаминов, помимо буквенного обозначения, в скобках указан основной биологический эффект, иногда с приставкой «анти», указывающей на способность данного витамина предотвращать или устранять развитие соответствующего заболевания; далее приводится номенклатурное химическое название каждого витамина.

Помимо этих двух главных групп витаминов, выделяют группу разнообразных химических веществ, из которых часть синтезируется в организме, но обладает витаминными свойствами. Для человека и ряда животных эти вещества принято объединять в группу витаминоподобных. К ним относят холин, липоевую кислоту, витамин В₁₅ (пангамовая кислота), оротовую кислоту, инозит, убихинон, парааминобензойную кислоту, карнитин, линолевую и линоленовую кислоты, витамин U (противоязвенный фактор) и ряд факторов роста птиц, крыс, цыплят, тканевых культур.

Таблица 12 - Природа биокаталитической функции витаминов

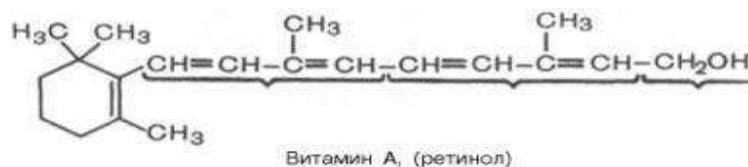
Витамин	Год открытия	Рекомен. сут. доза	Активная (коферментная форма)	Биохимическая функция (тип катализируемой реакции)
Жирорастворимые витамины				
1	2	3	4	5
А (ретинол)	1913	2,7	Ретиналь	Зрительный процесс (антиксерофтальмический)
D(кальциферол)	1922	0,01-0,025	1,25-Диоксихоле-кальциферол	Обмен кальция и фосфора (антирахитический)
Е (токоферол)	1922	5,0	-	Транспорт электронов (защита мембранных липидов), (антистерильный, витамин размножения)
К(филлихинон)	1935	1,0	-	Перенос электронов (кофактор в реакциях карбоксилирования), (антигеморрагический)
Водорастворимые витамины				
В ₁ (тиамин)	1926	1,2	Тиаминпирофосфат (ТПФ, ТДФ)	Декарбоксилирование α-кетокислот; перенос активного альдегида (транскетолаза), (антиневритный)
В ₂ (рибофлавин)	1932	1,7	Флавинадениндинуклеотид (ФАД), флавиномононуклеотид (ФМН)	Дыхание, перенос водорода (витамин роста)
РР (никотинамид, никотиновая кислота)	1937	18	НАД, НАДФ	Дыхание, перенос водорода (антипеллагрический, ниацин)
В ₆ (пиридоксин)	1934	2	Пиридоксальфосфат	Обмен аминокислот, перенос аминокрупп (антидерматитный,

				адермин)
V ₁₂ (кобаламин)	1948	0,003	Дезоксиаденозил- (или метил-) кобаламин	Кофермент ряда метаболических реакций переноса алькильных групп; метилирование гомоцистеина (антианемический)
V _c (фолиевая кислота)	1941	1-2,2	Тетрагидрофолиевая кислота	Транспорт одноуглеродных групп
V ₃ (пантотеновая кислота)	1933	3-5	Коэнзим А, (кофермент А)	Транспорт ацильных групп (антидерматитный)
Н (биотин)	1935	0,25	Биоцитин (ε-N- биотиниллизин)	Кофермент реакций карбокси- лирования (транспорт CO ₂) (антисеборейный, фактор роста бактерий, дрожжей и грибков)
С (аскорбиновая кислота)	1925	75	-	Восстанавливающий кофактор для ряда оксигеназ; гидроксилирование пролина; катаболизм тирозина, (антискорбутный)

9.2 Витамины, растворимые в жирах.

9.2.1 Витамины группы А

Витамин А (ретинол; антиксерофтальмический витамин) хорошо изучен. Известны три витамина группы А: А₁, А₂ и *цис*-форма витамина А₁, названная неовитамин А. С химической точки зрения ретинол представляет собой циклический непредельный одноатомный спирт, состоящий из шестичленного кольца (β-ионон), двух остатков изопрена и первичной спиртовой группы.



Витамин А₂ отличается от витамина А₁ наличием дополнительной двойной связи в кольце β-ионона. Все 3 формы витаминов группы А существуют в виде стереоизомеров, однако только некоторые из них обладают биологической активностью. Витамины группы А хорошо растворимы в жирах и жирорастворителях: бензоле, хлороформе, эфире, ацетоне и др. В организме они легко окисляются при участии специфических ферментов с образованием соответствующих *цис*- и *транс*-альдегидов, получивших название ретиненов (ретинали), т.е. альдегидов витамина А; могут откладываться в печени в форме более устойчивых сложных эфиров с уксусной или пальмитиновой кислотой.

Характерными симптомами недостаточности витамина А у человека и животных являются торможение роста, снижение массы тела, общее истощение организма, специфические поражения кожи, слизистых оболочек и глаз. Прежде всего, поражается эпителий кожи, что проявляется пролиферацией и патологическим ороговением его; процесс сопровождается развитием фолликулярного гиперкератоза, кожа усиленно шелушится, становится сухой. В результате начинаются вторичные гнойные и гнилостные процессы. При авитаминозе А поражается также эпителий слизистой оболочки всего пищеварительного тракта, мочеполового и дыхательного аппаратов. Характерно поражение глазного яблока –

ксерофтальмия, т.е. развитие сухости роговой оболочки глаза (от греч. *xeros* – сухой, *ophthalmos* – глаз) вследствие закупорки слезного канала, эпителий которого также подвергается ороговению. Глазное яблоко не омывается слезной жидкостью, которая, как известно, обладает бактерицидным свойством. В результате этого развиваются воспаления конъюнктивы, отек, изъязвление и размягчение роговицы. Распад и размягчение роговицы связаны с развитием гнойного процесса, поскольку гнилостные микроорганизмы при отсутствии слезной жидкости быстро развиваются на поверхности роговицы.

К наиболее ранним и специфическим симптомам авитаминоза А (гиповитаминоза А) относится куриная, или ночная, слепота (гемералопия). Она выражается в потере остроты зрения, точнее, способности различать предметы в сумерках, хотя больные днем видят нормально.

Помимо гипо- и авитаминозов, описаны случаи гипервитаминоза А при употреблении в пищу печени белого медведя, тюленя, моржа, в которой содержится много свободного витамина А. Характерны проявления гипервитаминоза А: воспаление глаз, гиперкератоз, выпадение волос, общее истощение организма. При этом, как правило, отмечаются потеря аппетита, головные боли, диспепсические явления (тошнота, рвота), бессонница. Гипервитаминоз может развиваться и у детей, в результате приема больших количеств рыбьего жира и препаратов витамина А. Описан острый гипервитаминоз у детей после приема больших доз витамина А, при этом повышается его содержание в крови.

Биологическая роль. Витамин А оказывает влияние на барьерную функцию кожи, слизистых оболочек, проницаемость клеточных мембран и биосинтез их компонентов, в частности определенных гликопротеинов. Существует предположение, что благодаря наличию двойных связей в молекуле витамин А может участвовать в окислительно-восстановительных реакциях, поскольку он способен образовывать перекиси, которые в свою очередь повышают скорость окисления других соединений.

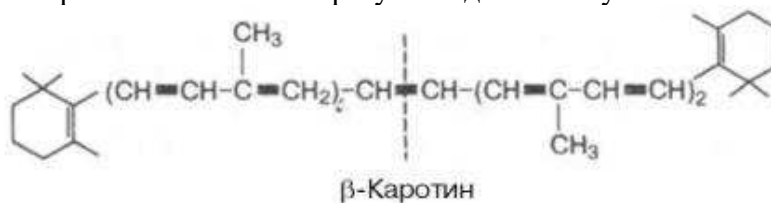
Более подробно выяснено значение витамина А в процессе светоощущения. В этом важном физиологическом процессе большую роль играет особый хромолипопротеин – сложный белок родопсин, или зрительный пурпур, являющийся основным светочувствительным пигментом сетчатки, в частности палочек, занимающих ее периферическую часть. Установлено, что родопсин состоит из липопротеина опсина и простетической группы, представленной альдегидом витамина А₁ (ретиноаль); связь между ними осуществляется через альдегидную группу витамина и свободную ε-NH₂-группу лизина молекулы белка с образованием шиффова основания. На свету родопсин расщепляется на белок опсин и ретиноаль; последний подвергается серии конформационных изменений и превращению в *транс*-форму. С этими превращениями каким-то образом связана трансформация энергии световых лучей в зрительное возбуждение – процесс, молекулярный механизм которого до сих пор остается загадкой. В темноте происходит обратный процесс – синтез родопсина, требующий наличия активной формы альдегида – 11-*цис*-ретиноля, который может синтезироваться из *цис*-ретинола, или *транс*-ретиноля, или *транс*-формы витамина А при участии двух *специфических ферментов* – *дегидрогеназы* и *изомеразы*. Более подробно цикл превращений родопсина в сетчатке глаза на свету и в темноте можно представить в виде схемы:



Рисунок 25- Цикл превращений родопсина в сетчатке глаза на свету и в темноте

Таким образом, под действием кванта света, родопсин через ряд промежуточных продуктов («оранжевый» и «желтый» белки) распадается на опсин и алло-*транс*-ретиноаль, представляющий собой неактивную форму альдегида витамина А. Имеются сведения, что алло-*транс*-ретиноаль может частично превращаться в активный 11-*цис*-ретиноаль под влиянием света (на схеме – пунктирная стрелка). Однако главным путем образования 11-*цис*-ретиноаля является ферментативное превращение *транс*-формы витамина А в *цис*-форму (под действием изомеразы) и последующее окисление ее при участии алкогольдегидрогеназы.

Распространение в природе и суточная потребность. Витамин А широко распространен. Наиболее богаты этим витамином следующие продукты животного происхождения: печень крупного рогатого скота и свиней, яичный желток, цельное молоко, масло, сметана, сливки. Особенно много свободного витамина А в жирах печени морского окуня, трески, палтуса: в частности, в жире печени морского окуня содержание витамина А доходит до 35%. Источниками витамина А для человека являются также красно-мякотные овощи (морковь, томаты, перец и др.), в которых витамин А содержится в виде *провитаминов* – *каротинов*, выделенных впервые из моркови (от лат. *carota* – морковь). Известны 3 типа каротинов: α-, β- и γ-каротины, отличающиеся друг от друга химическим строением и биологической активностью. Наибольшей биологической активностью обладает β-каротин, при распаде в организме из него образуются две молекулы витамина А.



При окислительном распаде α- и γ-каротинов образуется только по одной молекуле витамина А, поскольку эти провитамины содержат по одному β-иононовому кольцу. Расщепление каротинов на молекулы витамина А происходит преимущественно в кишечнике под действием специфического фермента β-каротиндиоксигеназы (не исключена возможность аналогичного превращения и в печени) в присутствии молекулярного кислорода. При этом образуются 2 молекулы ретиноаля, которые под действием специфической кишечной редуктазы восстанавливаются в витамин А. Степень усвоения каротинов и свободного витамина А зависит как от содержания жиров в пище, так и от наличия свободных желчных кислот, являющихся абсолютно необходимыми соединениями для процесса всасывания продуктов распада жиров.

Суточная потребность для взрослого человека составляет в среднем 2,7 мг витамина А или от 2 до 5 мг β-каротина. У человека основным органом, в котором частично

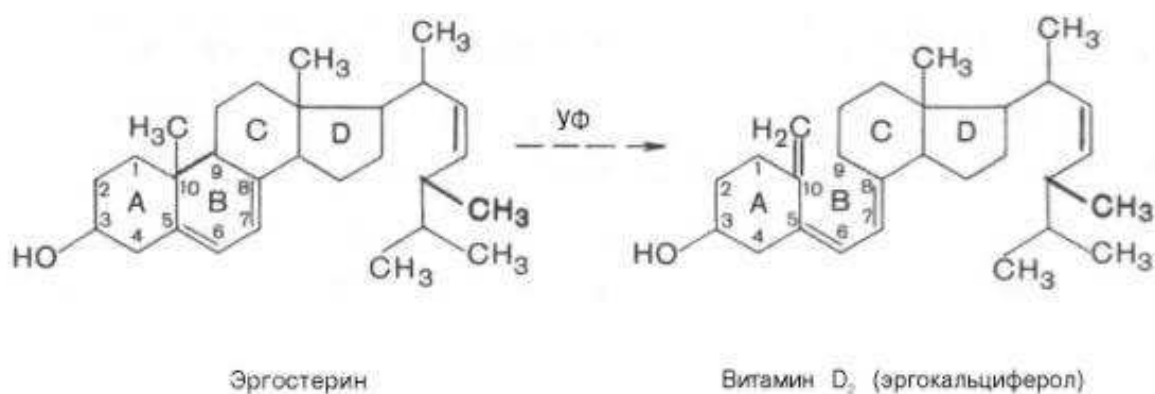
откладывается про запас витамин А, является печень. В норме в ней содержится около 20 мг этого витамина на 100 г ткани.

9.2.2 Витамины группы D

Витамин D (кальциферол; антирахитический витамин) существует в виде нескольких соединений, различающихся как по химическому строению, так и по биологической активности. Для человека и животных активными препаратами считаются витамины D₂ и D₃, хотя в литературе известен и витамин D₄ (дигидроэргокальциферол). В природных продуктах содержатся преимущественно провитамины D₂ и D₃ – соответственно эргостерин и холестерин.

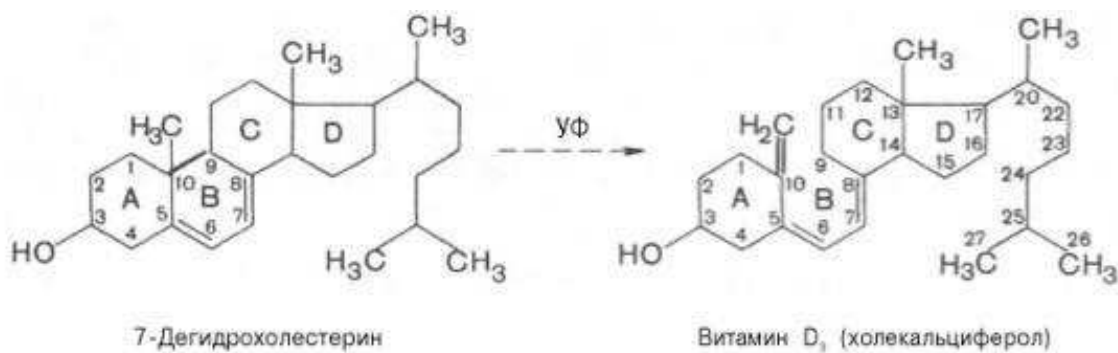
В 1924 г. А. Гесс, М. Вейншток и независимо от них Г. Стинбок из растительных масел и продуктов питания после воздействия на них УФ-лучами с длиной волны 280–310 нм получили активный препарат, предотвращающий развитие рахита у детей. Оказалось, что активное начало связано с каким-то стеринном, который был идентифицирован с эргостерином и назван витамином D₁. В 1932 г. А. Виндаус выделил эргостерол из дрожжей и показал, что истинным витамином D является не эргостерин, а продукт его превращения, образующийся при УФ-облучении, который был назван витамином D₂, или кальциферолом. В 1956 г. Международная комиссия по химической номенклатуре предложила для витамина D₂ новое название – «эргокальциферол».

С химической точки зрения эргостерин(ол) представляет собой одноатомный ненасыщенный циклический спирт, в основе структуры которого лежит конденсированная кольцевая система циклопентанпергидрофенантрена. Под действием УФ-лучей эргостерин через ряд промежуточных продуктов (люмистерин, тахистерин) превращается в витамин D₂:



Витамин D₂ образуется из эргостерина в результате разрыва связи между 9-м и 10-м углеродными атомами кольца В под действием УФ-лучей.

В 1936 г. в лаборатории А. Виндауса был выделен активный в отношении рахита препарат из рыбьего жира и назван витамином D₃. Выяснилось, что предшественником витамина D₃ является не эргостерин, а холестерин. А. Виндаус в 1937 г. выделил из поверхностных слоев кожи свиньи 7-дегидрохолестерин, который при УФ-облучении превращался в активный витамин D₃:



Следует отметить, что благодаря наличию холестерина и 7-дегидро-холестерина в составе липидов кожи человека возможен синтез витамина D₃ при солнечном облучении или облучении лампой ультрафиолетового излучения поверхности тела. Этим приемом особенно широко пользуются при лечении рахита у детей.

Витамины D₂ и D₃ представляют собой бесцветные кристаллы с температурой плавления 115–117°C, нерастворимые в воде, но хорошо растворимые в жирах, хлороформе, эфире и других жирорастворителях.

Недостаток витамина D в рационе детей приводит к возникновению широко известного заболевания – *рахита*, в основе развития которого лежат изменения фосфорно-кальциевого обмена и нарушение отложения в костной ткани фосфата кальция. Поэтому основные симптомы рахита обусловлены нарушением нормального процесса остеогенеза. Развивается *остеомалация* – размягчение костей. Кости становятся мягкими и под тяжестью тела принимают уродливые O- или X-образные формы. На костно-хрящевой границе ребер отмечаются своеобразные утолщения – так называемые рахитические четки. У детей, больных рахитом, относительно большая голова и увеличенный живот. Развитие последнего симптома обусловлено гипотонией мышц. Нарушение процесса остеогенеза при рахите сказывается также на развитии зубов; задерживаются появление первых зубов и формирование дентина. Для авитаминоза D взрослых характерной особенностью является развитие *остеопороза* вследствие вымывания уже отложившихся солей; кости становятся хрупкими, что часто приводит к переломам.

Биологическая роль. Значение витамина D начинает проясняться в последнее время. Получены доказательства, что при физиологических условиях кальциферолы функционально инертны. По данным Г. де Лука и соавт., витамин D выполняет свои биологические функции в организме в форме образующихся из него активных метаболитов, в частности 1,25-диоксихолекальциферола [сокращенно обозначается 1,25(OH)₂D₃] и 24,25-диоксихолекальциферола [24,25(OH)₂D₃]. Ферменты, катализирующие эти реакции, называются гидроксилазами, или монооксигеназами. В реакциях гидроксилирования используется молекулярный кислород. Показано, что специфическая α-гидроксилаза содержится, помимо почек, в костной ткани и плаценте. Имеются бесспорные доказательства, что именно эти активные метаболиты, выполняя скорее гормональную, чем биокаталитическую, роль, функционируют в системе гомеостатической регуляции обмена кальция и минерализации костной ткани. В частности, 1,25(OH)₂D₃ участвует в регуляции процессов всасывания Ca и P в кишечнике, резорбции костной ткани и реабсорбции Ca и P в почечных канальцах. Процессы остеогенеза и ремоделирования костной ткани, напротив, регулируются 24,25(OH)₂D₃. Методом ауторадиографии показано накопление 1,25(OH)₂D₃ в ядрах клеток органов-мишеней (почки, мозг, поджелудочная железа, гипофиз, молочная железа), где он способствует синтезу мРНК, Ca-связывающих белков и гормонов, регулирующих обмен кальция; в то же время он не обнаруживается в печени, селезенке, скелетной и сердечной мышцах. Подтвердилось предположение о существовании специфического внутриклеточного белка, являющегося рецептором кальциферолов.

Распространение в природе и суточная потребность. Наибольшее количество витамина D₃ содержится в продуктах животного происхождения: сливочном масле, желтке яиц, печени и в жирах, а также в рыбьем жире, который широко используется для профилактики и лечения рахита. Из растительных продуктов наиболее богаты витамином D₂ растительные масла (подсолнечное, оливковое и др.); много витамина D₂ в дрожжах. Для профилактики рахита в детском возрасте, помимо полноценного питания, включающего масло, молоко, жиры, мясо и другие продукты, рекомендуется УФ-облучение поверхности кожи (солнечное облучение, лампы ультрафиолетового облучения), а также продукты растительного происхождения, способствующие обогащению их витамином D. Суточная потребность в витамине D для детей колеблется от 10 до 25 мкг (500–1000 МЕ) в зависимости от возраста, физиологического состояния организма, соотношений солей фосфора и кальция в рационе и др. Для взрослого человека достаточно минимального количества витамина D.

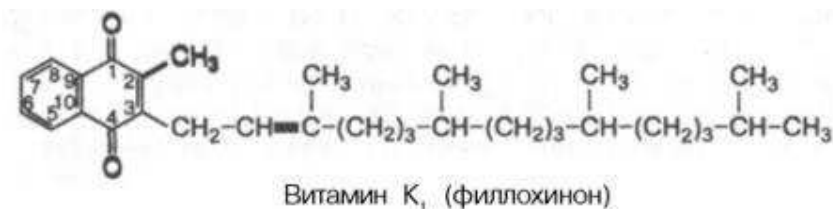
Случаи гипервитаминоза D у людей наблюдаются при «ударной» терапии рахита и некоторых дерматозов (волчанка). Гипервитаминоз был отмечен после приема более 1500000 МЕ витамина D в сутки. Прием очень больших доз витамина D может вызвать смертельный исход. У экспериментальных животных гипервитаминоз сопровождается увеличением отложения гидроксилатапата в костях и некоторых внутренних органах. У собак, например, отмечена кальцификация почек. Все эти симптомы исчезают после прекращения приема витамина.

9.2.3 Витамины группы К

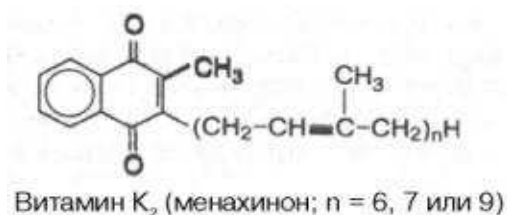
К витаминам группы К, согласно номенклатуре биологической химии, относятся 2 типа хинонов с боковыми цепями, представленными изопреноидными звеньями (цепями): витамины К₁ и К₂. В основе циклической структуры обоих витаминов лежит кольцо 1,4-нафтохинона. Заметим, что животные ткани наделены способностью синтеза боковых изопреновых цепей, но не могут синтезировать нафтохиноновый компонент. У большинства бактерий витамин К является компонентом дыхательной цепи вместо убихинона.

Для витамина К₁ сохранено название «филлохинон», а для витаминов группы К₂ введено название «менахинон» с указанием числа изопреновых звеньев. В частности, для витамина К₂ рекомендовано название «менахинон-6», где цифра 6 указывает число изопреновых звеньев в боковой цепи.

Витамин К₁ (филлохинон) впервые был изолирован из люцерны. Это производное 2-метил-1,4-нафтохинона, содержащего в 3-м положении фитильный радикал, имеющий 20 атомов углерода:



Витамин К₂ открыт в растениях и в организме животных и содержит в боковой цепи от 6 до 9 изопреновых единиц.



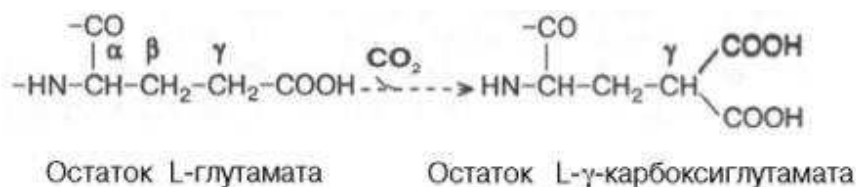
Витамин K_1 представляет собой светло-желтую жидкость, неустойчивую при нагревании в щелочной среде и при облучении, а витамин K_2 – желтые кристаллы; он также неустойчив. Оба препарата нерастворимы в воде, но хорошо растворимы в органических растворителях: бензоле, хлороформе, ацетоне, гексане и др.

Помимо витаминов K_1 и K_2 , некоторые производные нафтохинона обладают витаминными свойствами и высокой антигеморрагической активностью. Так, синтетический аналог витамина К, лишенный боковой цепи в положении 3, называют витамином K_3 (менадион, или 2-метил-1,4-нафто-хинон); фактически он является провитамином. Поскольку витамин K_3 нерастворим в воде, на его основе были синтезированы десятки растворимых в воде производных, одно из которых нашло широкое применение в медицинской практике – это синтезированная А.В. Палладиным натриевая соль бисульфитного производного витамина K_3 – викасол:



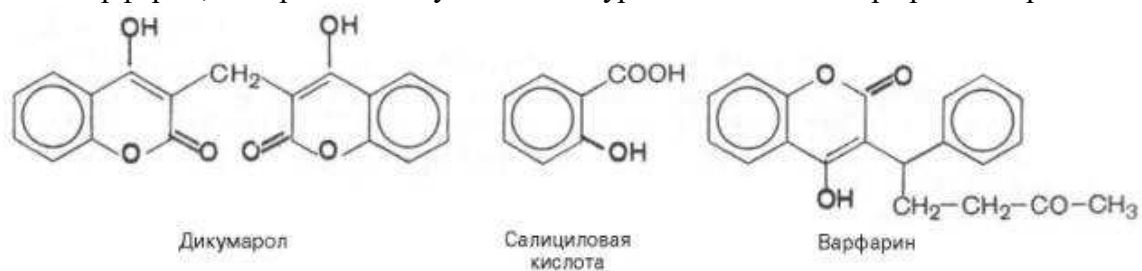
Витамин К является антигеморрагическим фактором, определенным образом связанным со свертыванием крови: он существенно удлиняет его период. Поэтому при авитаминозе К возникают самопроизвольные паренхиматозные и капиллярные кровотечения (носовые кровотечения, внутренние кровоизлияния). Кроме того, любые поражения сосудов (включая хирургические операции) при авитаминозе К могут привести к обильным кровотечениям. У человека авитаминоз К встречается реже, чем другие авитаминозы. Объясняется это двумя обстоятельствами: во-первых, смешанная пища довольно богата витамином К (витамины группы К синтезируются в зеленых растениях и некоторыми микроорганизмами); во-вторых, синтезируемого кишечной микрофлорой количества витамина К вполне достаточно для предотвращения авитаминоза. Авитаминоз обычно развивается при нарушении процесса всасывания жиров в кишечнике. У детей грудного возраста часто возникают обильные подкожные кровотечения и кровоизлияния; они наблюдаются и при так называемом геморрагическом диатезе, являющемся следствием недостаточности свертывания крови у матери.

Биологическая роль. Витамин К принимает участие в синтезе протромбина в печени, вероятнее всего, через ферментную систему. Получены доказательства, что витамин К необходим как стимулятор биосинтеза в печени минимум 4 белков-ферментов, участвующих в сложном процессе свертывания крови: факторов II, VII, IX, X. В частности, имеются данные, что в молекуле указанных факторов обязательно присутствуют остатки карбоксиглутаминовой кислоты; в молекуле активного протромбина таких остатков оказалось 10. Протромбин, являясь протеолитическим ферментом, расщепляет специфические пептидные связи растворимого белка крови фибриногена с образованием нерастворимого фибрина. Показано, что γ -карбоксилирование остатков глутаминовой кислоты в молекуле белков, в частности протромбина, протекает посттрансляционно при участии γ -глутамилкарбоксилазы, требующей наличия витамина К; источником CO_2 является HCO_3^- . В этой реакции витамин К выполняет, по-видимому, кофакторную функцию.



Реакция постсинтетического карбоксилирования γ -карбоксильной группы глутамата играет, кроме того, важную роль в связывании ионов Ca^{2+} молекулой белка, поскольку при этом образуются дополнительные отрицательно заряженные ионы карбоксильных групп. Следует указать, что биотин не участвует в этой реакции карбоксилирования.

Одним из мощных авитаминов К является природное вещество дикумарол (дикумарин). Введение его вызывает резкое снижение в крови протромбина и ряда других белковых факторов свертывания крови и соответственно вызывает кровотечения. Аналогичным свойством в качестве антикоагулянта обладает синтетический аналог витамина К варфарин, который действует как конкурентный ингибитор тромбообразования.



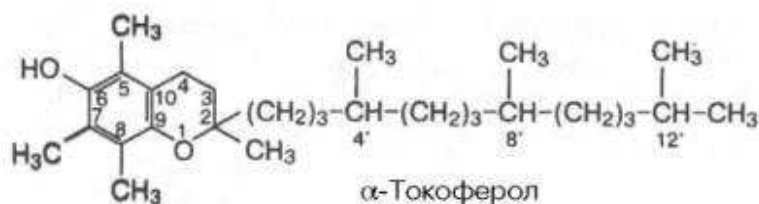
Способность дикумарола и варфарина снижать свертываемость крови в дальнейшем стали широко использовать для лечения болезней человека, характеризующихся повышенной свертываемостью крови. В частности, при коронарных тромбозах, тромбофлебитах оба эти препарата способствуют разжижению сгустка крови, оказывая эффективное лечебное действие. В случае возникновения кровотечения после введения дикумарола или варфарина больным назначают препараты витамина К.

Распространение в природе и суточная потребность. Наиболее богаты витамином К растения, в частности зеленые листья каштана, крапивы, люцерны. К растительным продуктам, богатым витамином К, относятся капуста, шпинат, тыква, зеленые томаты, арахисовое масло, ягоды рябины и т.д. В животных продуктах, кроме печени свиньи, он почти нигде не содержится. Суточная потребность в витамине К для человека точно не установлена, поскольку он синтезируется микроорганизмами кишечника; считается достаточным количество около 1 мг.

9.2.4 Витамины группы Е

В начале 20-х годов Г. Эванс показал, что в смешанной пище содержится вещество, которое абсолютно необходимо для нормального размножения животных. Так, у крыс, содержащихся на синтетической диете, включающей молоко, препараты железа и дрожжи (в качестве источника витаминов группы В), развивалось бесплодие. Добавление к такой диете листьев салата полностью излечивало животных от бесплодия. Активное вещество, предохраняющее от бесплодия, было выделено из масла пшеничных зародышей и хлопкового масла и названо витамином Е, или токоферолом (от греч. tokos – потомство, rho – несу). Вскоре был осуществлен и химический синтез. В настоящее время известно пять природных соединений, обладающих биологической активностью витамина Е. Все они выделены в чистом виде из растительных масел или получены синтетическим путем и обозначаются соответственно α -, β -, γ -, δ -токоферолы и δ -метилтокотриенол.

С химической точки зрения токоферолы представляют собой производные 2-метил-2(4', 8', 12'-триметилтридецил)-хроман-6-ола, или токола.



Различные токоферолы отличаются друг от друга числом и расположением метильных групп в бензольном кольце. Они представляют собой бесцветные маслянистые жидкости, хорошо растворимые в жирах (маслах) и жирорастворителях, весьма устойчивые к нагреванию, но быстро разрушающиеся под действием УФ-излучений.

Изменения в организме человека при авитаминозе Е изучены недостаточно, поскольку с растительными маслами человек получает достаточное количество витамина Е. Недостаточность его отмечена в некоторых тропических странах, где основным источником пищи являются углеводы, тогда как жиры употребляются в незначительных количествах. Препараты витамина Е нашли применение в медицинской практике. Они иногда предотвращают самопроизвольные (или привычные) аборты у женщин. У экспериментальных животных, в частности крыс, недостаточность витамина Е вызывает нарушение эмбриогенеза и дегенеративные изменения репродуктивных органов, что приводит к стерильности. У самок в большей степени поражается плацента, чем яичники; процесс оплодотворения яйца не нарушен, но очень скоро плод рассасывается. У самцов происходит атрофия половых желез, приводящая к полной или частичной стерильности. К специфическим проявлениям недостаточности витамина Е относятся также мышечная дистрофия, жировая инфильтрация печени, дегенерация спинного мозга. Следствием дегенеративных и дистрофических изменений мышц является резкое ограничение подвижности животных; в мышцах резко снижается количество миозина, гликогена, калия, магния, фосфора и креатина и, наоборот, повышается содержание липидов и хлорида натрия.

Биологическая роль. Существуют прямая связь между витамином Е и тканевым дыханием и обратная связь между этим витамином и степенью окисления липидов.

Известно, что токоферолы выполняют в организме две главные метаболические функции. Во-первых, они являются наиболее активными и, возможно, главными природными жирорастворимыми антиоксидантами: разрушают наиболее реактивные формы кислорода и соответственно предохраняют от окисления полиненасыщенные жирные кислоты. Во-вторых, токоферолы играют специфическую, пока еще не полностью раскрытую роль в обмене селена. Селен, как известно, является интегральной частью глутатионпероксидазы – фермента, обеспечивающего защиту мембран от разрушающего действия пероксидных радикалов. Биологическая роль витамина Е сводится, таким образом, к предотвращению аутоокисления липидов биомембран и возможному снижению потребности в глутатионпероксидазе, необходимой для разрушения образующихся в клетке перекисей. Участие токоферолов в механизме транспорта электронов и протонов, как и в регуляции процесса транскрипции генов, и их роль в метаболизме убихинонов пока недостаточны выяснены.

Распространение в природе и суточная потребность. Витамины группы Е относятся к весьма распространенным в природе соединениям. Важнейшими источниками витамина Е для человека являются растительные масла (подсолнечное, хлопковое, соевое, кукурузное и др.), а также салат, капуста и семена злаков; из продуктов животного происхождения витамин Е содержится в мясе, сливочном масле, яичном желтке и др. Витамин Е откладывается в организме во многих тканях (мышцы, поджелудочная железа, жировая ткань), поэтому развитие авитаминоза или гиповитаминоза Е почти не наблюдается,

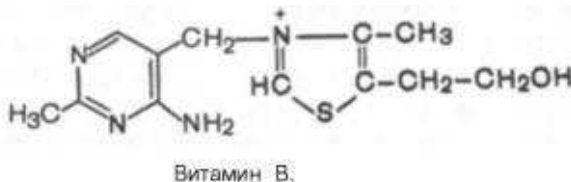
даже если этот витамин не поступает с пищей в течение нескольких месяцев. Подобным же образом можно объяснить трудности определения суточной потребности в витамине E, которая по приблизительным подсчетам составляет около 5 мг.

9.3 Витамины, растворимые в воде

Условно можно считать, что отличительной особенностью витаминов, растворимых в воде, является участие большинства из них в построении молекул коферментов (см. табл. 12), представляющих собой низкомолекулярные органические вещества небелковой природы, называемые также простетическими группами и принимающие вместе с белковым компонентом (апоферментом) непосредственное участие в каталитических реакциях. Коферментная роль с достоверностью доказана для следующих витаминов и витаминоподобных веществ: B₁, B₂, B₆, B₁₂, PP, биотина, фолиевой, парааминобензойной, пантотеновой и липоевой кислот, а также жирорастворимых коэнзима Q и пирролохинолинохинона (PQQ). Почти все они в организме человека и животных не синтезируются, поэтому недостаточное содержание или полное отсутствие этих витаминов в пище приводит к существенным нарушениям процессов обмена веществ и развитию соответствующего клинического синдрома, характерного для данного гипо- или авитаминоза.

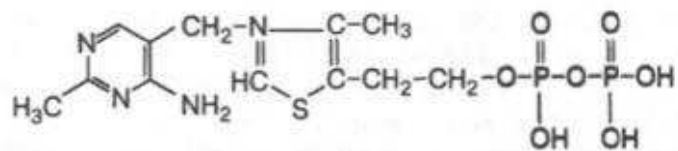
9.3.1 Витамин B₁

Витамин B₁ (тиамин; антиневритный), как отмечалось, был первым кристаллическим витамином, выделенным К. Функом в 1912 г. Позже был осуществлен его химический синтез. Наряду с аминогруппой витамин B₁ содержит атомы серы, поэтому он был назван тиамином. В химической структуре его содержатся два кольца – пиримидиновое и тиазоловое, соединенных метиленовой связью. Обе кольцевые системы синтезируются отдельно в виде фосфорилированных форм, затем объединяются через четвертичный атом азота.



Тиамин хорошо растворим в воде. Водные растворы тиамин в кислой среде выдерживают нагревание до высоких температур без снижения биологической активности. В нейтральной и особенно в щелочной среде витамин B₁, наоборот, быстро разрушается при нагревании. Этим объясняется частичное или даже полное разрушение тиамин при кулинарной обработке пищи, например выпечке теста с добавлением гидрокарбоната натрия или карбоната аммония. При окислении тиамин образуется тиохром, дающий синюю флюоресценцию при УФ-облучении. На этом свойстве тиамин основано его количественное определение.

Витамин B₁ легко всасывается в кишечнике, но не накапливается в тканях и не обладает токсическими свойствами. Избыток пищевого тиамин быстро выводится с мочой. В превращении витамин B₁ в его активную форму – тиаминпирофосфат (ТПФ), называемый также тиаминдифосфатом (ТДФ), участвует специфический АТФ-зависимый фермент тиаминпирофосфокиназа, содержащаяся главным образом в печени и ткани мозга. Опытами с меченым ³²P АТФ доказан перенос на тиамин целиком пирофосфатной группы в присутствии фермента. ТПФ имеет следующее строение:



Тиаминпирофосфат (тиаминдифосфат)

Если витамин В₁ поступает с пищей в виде ТПФ, то пирофосфатная группа отщепляется от него под действием кишечных пирофосфатаз.

При отсутствии или недостаточности тиамина развивается тяжелое заболевание – *бери-бери*, широко распространенное в ряде стран Азии и Индокитая, где основным продуктом питания является рис. Следует отметить, что недостаточность витамина В₁ встречается и в европейских странах, где она известна как *симптом Вернике*, проявляющийся в виде энцефалопатии, или *синдром Вейса* с преимущественным поражением сердечно-сосудистой системы. Специфические симптомы связаны с преимущественными нарушениями деятельности и сердечно-сосудистой, и нервной систем, а также пищеварительного тракта. В настоящее время пересматривается точка зрения, что бери-бери у человека является следствием недостаточности только витамина В₁. Более вероятно, что это заболевание представляет собой комбинированный авитаминоз или полиавитаминоз, при котором организм испытывает недостаток также в рибофлавине, пиридоксине, витаминах РР, С и др. На животных и добровольцах получен экспериментальный авитаминоз В₁. В зависимости от преобладания тех или иных симптомов различают ряд клинических типов недостаточности, в частности полиневритную (сухую) форму бери-бери, при которой на первый план выступают нарушения в периферической нервной системе. При так называемой отечной форме бери-бери преимущественно поражается сердечнососудистая система, хотя отмечаются также явления полиневрита. Наконец, выделяют остро протекающую кардиальную форму болезни, называемую пернициозной, которая приводит к летальному исходу в результате развития острой сердечной недостаточности. В связи с внедрением в медицинскую практику кристаллического препарата тиамин летальность резко сократилась, и наметились рациональные пути лечения и профилактики этого заболевания.

К наиболее ранним симптомам авитаминоза В₁ относятся нарушения моторной и секреторной функций пищеварительного тракта: потеря аппетита, замедление перистальтики (атония) кишечника, а также изменения психики, заключающиеся в потере памяти на недавние события, склонности к галлюцинациям; отмечаются изменения деятельности сердечно-сосудистой системы: одышка, сердцебиение, боли в области сердца. При дальнейшем развитии авитаминоза выявляются симптомы поражения периферической нервной системы (дегенеративные изменения нервных окончаний и проводящих пучков), выражающиеся в расстройстве чувствительности, ощущении покалывания, онемения и болей по ходу нервов. Эти поражения завершаются контрактурами, атрофией и параличами нижних, а затем и верхних конечностей. В этот же период развиваются явления сердечной недостаточности (учащение ритма, сверлящие боли в области сердца). Биохимические нарушения при авитаминозе В₁ проявляются развитием отрицательного азотистого баланса, выделением в повышенных количествах с мочой аминокислот и креатина, накоплением в крови и тканях α-кетокислот, а также пентозосахаров. Содержание тиамин и ТПФ в сердечной мышце и печени у больных бери-бери в 5-6 раз ниже нормы.

Биологическая роль. Экспериментально доказано, что витамин В₁ в форме ТПФ является составной частью минимум 5 ферментов, участвующих в промежуточном обмене веществ. ТПФ входит в состав двух сложных ферментных систем – *пируват* - и *α-кетоглутарат дегидрогеназных комплексов*, катализирующих окислительное декарбоксилирование пирувиноградной и α-кетоглутаровой кислот. В составе транскетолазы ТПФ участвует в переносе гликоальдегидного радикала от кетосахаров на альдосахара. ТПФ

является коферментом пируватдекарбоксилазы клеток дрожжей (при алкогольной ферментации) и дегидрогеназы γ -оксикетоглутаровой кислоты.

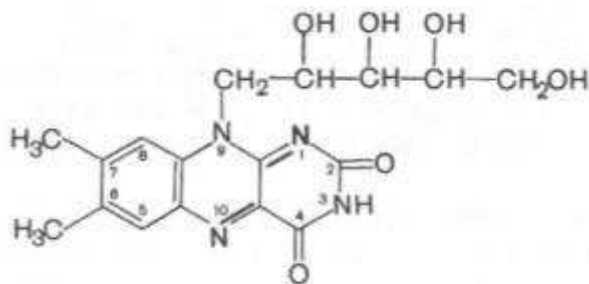
Приведенными примерами, вероятнее всего, не ограничиваются биологические функции тиамин. В частности, ТПФ участвует в окислительном декарбоксилировании глиоксиловой кислоты и α -кетокислот, образующихся при распаде аминокислот с разветвленной боковой цепью; в растениях ТПФ является эссенциальным кофактором при синтезе валина и лейцина в составе фермента ацетолактатсинтетазы.

Распространение в природе и суточная потребность. Витамин В₁ широко распространен в природе. Основное количество его человек получает с растительной пищей. Много витамина В₁ содержится в дрожжах, пшеничном хлебе из муки грубого помола, оболочке и зародышах семян хлебных злаков, сое, фасоли, горохе, меньше – в картофеле, моркови, капусте. Из продуктов животного происхождения наиболее богаты витамином В₁ печень, почки, мозг. Некоторые бактерии, населяющие кишечник животных, способны синтезировать достаточное количество тиамин: например, количества витамина В₁, синтезированного микрофлорой кишечника коров, оказывается вполне достаточно для покрытия потребностей организма. Рекомендуемые Институтом питания РАМН нормы суточного потребления тиамин для отдельных групп населения составляют от 1,2 до 2,2 мг.

9.3.2 Витамин В₂

Витамин В₂ (рибофлавин) впервые был выделен из молока и ряда других пищевых продуктов. В зависимости от источника получения витамин В₂ называли по-разному, хотя по существу это было одно и то же соединение: лактофлавин (из молока), гепатофлавин (из печени), овофлавин (из белка яиц), вердофлавин (из растений). Химический синтез витамина В₂ был осуществлен в 1935 г. Р. Куном. Растворы витамина В₂ имеют оранжево-желтую окраску и характеризуются желто-зеленой флюоресценцией.

В основе молекулы рибофлавина лежит гетероциклическое соединение изоаллоксазин (сочетание бензольного, пиразинового и пиримидинового колец), к которому в положении 9 присоединен пятиатомный спирт риби-тол. Химическое название «рибофлавин» отражает наличие рибитола и желтой окраски препарата, рациональное название его 6,7-диметил-9-D-рибитилизоаллоксазин.



Рибофлавин

Рибофлавин хорошо растворим в воде, устойчив в кислых растворах, но легко разрушается в нейтральных и щелочных растворах. Он весьма чувствителен к видимому и УФ-излучению и сравнительно легко подвергается обратимому восстановлению, присоединяя водород по месту двойных связей и превращаясь в бесцветную лейкоформу. Это свойство рибофлавина легко окисляться и восстанавливаться лежит в основе его биологического действия в клеточном метаболизме.

Клинические проявления недостаточности рибофлавина лучше всего изучены на экспериментальных животных. Помимо остановки роста, выпадения волос (алопеция), характерных для большинства авитаминозов, специфичными для авитаминоза В₂ являются воспалительные процессы слизистой оболочки языка (глоссит), губ, особенно у углов рта, эпителия кожи и др. Наиболее характерны кератиты, воспалительные процессы и усиленная

васкуляризация роговой оболочки, катаракта (помутнение хрусталика). При авитаминозе В₂ у людей развиваются общая мышечная слабость и слабость сердечной мышцы.

Согласно данным К. Яги, существует прямая связь между степенью недостаточности рибофлавина у животных и накоплением в крови продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), развитием атеросклероза и катаракты. Эти нарушения, по мнению автора, указывают на важную роль флавопротеинов в молекулярных механизмах синтеза и распада продуктов ПОЛ.

Биологическая роль. Рибофлавин входит в состав флавиновых коферментов, в частности ФМН и ФАД, являющихся в свою очередь простетическими группами ферментов ряда других сложных белков – флавопротеинов. Некоторые флавопротеины в дополнение к ФМН или ФАД содержат еще прочно связанные неорганические ионы, в частности железо или молибден, наделенные способностью катализировать транспорт электронов. Различают 2 типа химических реакций, катализируемых этими ферментами. К первому относятся реакции, в которых фермент осуществляет прямое окисление с участием кислорода, т.е. дегидрирование (отщепление электронов и протонов) исходного субстрата или промежуточного метаболита. К ферментам этой группы относятся оксидазы L- и D-аминокислот, глициноксидаза, альдегидоксидаза, ксантиноксидаза и др. Вторая группа реакций, катализируемых флавопротеинами, характеризуется переносом электронов и протонов не от исходного субстрата, а от восстановленных пиридиновых коферментов. Ферменты этой группы играют главную роль в биологическом окислении. В каталитическом цикле изоаллоксазиновый остаток ФАД или ФМН подвергается обратимому восстановлению с присоединением электронов и атомов водорода к N¹ и N¹⁰. ФМН и ФАД прочно связываются с белковым компонентом, иногда даже ковалентно, как, например, в молекуле сукцинатдегидрогеназы.

ФМН синтезируется в организме животных из свободного рибофлавина и АТФ при участии специфического фермента рибофлавинкиназы:



Образование ФАД в тканях также протекает при участии специфического АТФ-зависимого фермента ФМН-аденилилтрансферазы. Исходным веществом для синтеза является ФМН:



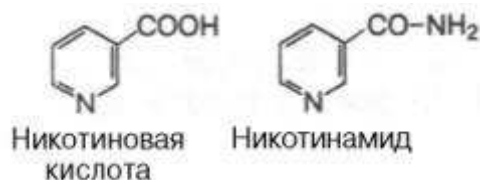
Распространение в природе и суточная потребность. Рибофлавин достаточно широко распространен в природе. Он содержится почти во всех животных тканях и растениях; сравнительно высокие концентрации его обнаружены в дрожжах. Из пищевых продуктов рибофлавином богаты хлеб (из муки грубого помола), семена злаков, яйца, молоко, мясо, свежие овощи и др.; в молоке он содержится в свободном состоянии, а в печени и почках животных прочно связан с белками в составе ФАД и ФМН. Из организма человека и животных рибофлавин выделяется с мочой в свободном виде. Суточная потребность взрослого человека в рибофлавине составляет 1,7 мг, в пожилом возрасте и при тяжелой физической работе эта потребность возрастает.

9.3.3 Витамин РР

Витамин РР (никотиновая кислота, никотинамид, ниацин) получил также название антипеллагрического витамина (от итал. preventive pellagra – предотвращающий пеллагру), поскольку его отсутствие является причиной заболевания, называемого *пеллагрой*.

Никотиновая кислота известна давно, однако только в 1937 г. она была выделена К. Эльвегеймом из экстракта печени и было показано, что введение никотиновой кислоты (или ее амида – никотинамида) либо препаратов печени предохраняет от развития или излечивает от пеллагры. В 1904 г. А. Гарден и У. Юнг установили, что для превращения глюкозы в этанол в бесклеточном экстракте дрожжей необходимо присутствие легкодиализируемого кофактора, названного козимазой. Химический состав аналогичного кофактора из эритроцитов млекопитающих был расшифрован в 1934 г. О. Варбугом и У. Кристианом; он оказался производным амида никотиновой кислоты.

Никотиновая кислота представляет собой соединение пиридинового ряда, содержащее карбоксильную группу (никотинамид отличается наличием амидной группы).



Витамин РР малорастворим в воде (примерно 1%), но хорошо растворим в водных растворах щелочей. Никотиновая кислота кристаллизуется в виде белых игл.

Наиболее характерными признаками авитаминоза РР, т.е. пеллагры (от итал. pelle agra – шершавая кожа), являются поражения кожи (дерматиты), пищеварительного тракта (диарея) и нарушения нервной деятельности (деменция).

Дерматиты чаще всего симметричны и поражают те участки кожи, которые подвержены влиянию прямых солнечных лучей: тыльную поверхность кистей рук, шею, лицо; кожа становится красной, затем коричневой и шершавой. Поражения кишечника выражаются в развитии анорексии, тошнотой, болями в области живота, поносами. Диарея приводит к обезвоживанию организма. Слизистая оболочка толстой кишки сначала воспаляется, затем изъязвляется. Специфичными для пеллагры являются стоматиты, гингивиты, поражения языка со вздутием и трещинами. Поражения мозга проявляются головными болями, головокружением, повышенной раздражимостью, депрессией и другими симптомами, включая психозы, психоневрозы, галлюцинации и др. Симптомы пеллагры особенно резко выражены у больных с недостаточным белковым питанием. Установлено, что это объясняется недостатком триптофана, который является предшественником никотинамида, частично синтезируемого в тканях человека и животных, а также недостатком ряда других витаминов (пиридоксина).

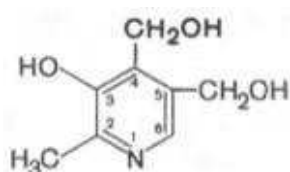
Биологическая роль. Витамин РР входит в состав НАД или НАДФ, являющихся коферментами большого числа обратимо действующих в окислительно-восстановительных реакциях дегидрогеназ.

Показано, что ряд дегидрогеназ использует только НАД и НАДФ (соответственно малатдегидрогеназа и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа), другие могут катализировать окислительно-восстановительные реакции в присутствии любого из них (например, глутаматдегидрогеназа). В процессе биологического окисления НАД и НАДФ выполняют роль промежуточных переносчиков электронов и протонов между окисляемым субстратом и флавиновыми ферментами (молекулярные механизмы участия пиридиновых нуклеотидов в этом процессе подробно рассматривались ранее).

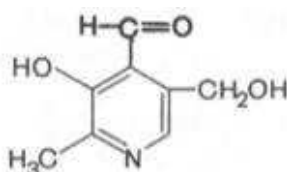
Распространение в природе и суточная потребность. Никотиновая кислота также относится к витаминам, широко распространенным в растительных и животных организмах. Для человека основными источниками никотиновой кислоты и ее амида являются рис, хлеб, картофель, мясо, печень, почки, морковь и другие продукты. Суточная потребность для взрослого человека составляет 18 мг.

9.3.4 Витамин В₆

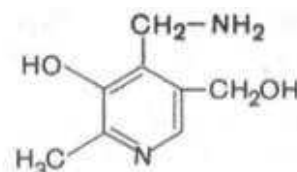
Витамин В₆ (пиридоксин, антидерматитный) как самостоятельный независимый пищевой фактор был открыт П. Дьерди в 1934 г. в результате того, что в отличие от известных к тому времени водорастворимых витаминов В₁, В₂ и РР он устранял особую форму дерматита конечностей у крыс, названного акродинией. Впервые витамин В₆ был выделен в 1938 г. из дрожжей и печени, а вскоре был синтезирован химически. Он оказался производным 3-оксипиридина, в частности 2-метил-3-окси-4,5-диоксиме-тилпиридином. Термином «витамин В₆», по рекомендациям Международной комиссии по номенклатуре биологической химии, обозначают все три производных 3-оксипиридина, обладающих одинаковой витаминной активностью: пиридоксин (пиридоксол), пиридоксаль и пиридоксамин:



Пиридоксин
(пиридоксол)



Пиридоксаль



Пиридоксамин

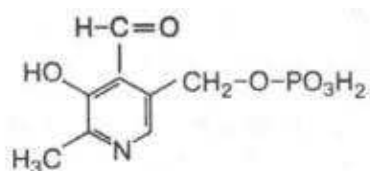
Как видно, производные 3-оксипиридина отличаются друг от друга природой замещающей группы в положении 4 пиридинового ядра. Витамин В₆ хорошо растворим в воде и этаноле. Водные растворы весьма устойчивы по отношению к кислотам и щелочам, однако они чувствительны к влиянию света в нейтральной зоне рН среды.

Недостаточность витамина В₆ наиболее подробно изучена на крысах, у которых самым характерным признаком является акродиния, или специфический дерматит с преимущественным поражением кожи лапок, хвоста, носа и ушей. Отмечаются повышенное шелушение кожи, выпадение шерсти, изъязвление кожи конечностей, заканчивающееся гангреной пальцев. Эти явления не поддаются лечению витамином РР, но быстро проходят при введении пиридоксина. При более глубоком авитаминозе В₆ у собак, свиней, крыс и кур отмечаются эпилептиформные припадки с дегенеративными изменениями в ЦНС.

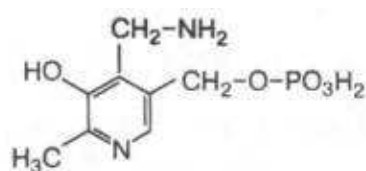
У человека недостаточность витамина В₆ встречается реже, хотя некоторые пеллагроподобные дерматиты, не поддающиеся лечению никотиновой кислотой, легко проходят при введении пиридоксина. У детей грудного возраста описаны дерматиты, поражения нервной системы (включая эпилептиформные припадки), обусловленные недостаточным содержанием пиридоксина в искусственной пище. Недостаточность пиридоксина часто наблюдается у больных туберкулезом, которым с лечебной целью вводят изоникотинилгидразид (изониазид), оказавшийся, как и дезоксипиридоксин, антагонистом витамина В₆.

Из биохимических нарушений при недостаточности витамина В₆ следует отметить *гомоцистинурию* и *цистатионурию*, а также нарушения обмена триптофана, выражающиеся в повышении экскреции с мочой ксантуреновой кислоты и снижении количества экскретируемой кинуреновой кислоты.

Биологическая роль. Оказалось, что, хотя все три производных 3-окси-пиридина наделены витаминными свойствами, коферментные функции выполняют только фосфорилированные производные пиридоксала и пиридоксамина.



Пиридоксальфосфат



Пиридоксаминфосфат

Фосфорилирование пиридоксала и пиридоксамина является ферментативной реакцией, протекающей при участии специфических киназ. Синтез пиридоксальфосфата, например, катализирует пиридоксалькиназа, которая наиболее активна в ткани мозга. Эту реакцию можно представить следующим уравнением:



Доказано, что в животных тканях происходят взаимопревращения пиридоксальфосфата и пиридоксаминфосфата, в частности в реакциях трансминирования и декарбоксилирования аминокислот.

Следует отметить, что в выяснение биологической роли витамина В₆ и пиридоксальфосфата в азотистом обмене существенный вклад внесли А.Е. Браунштейн, С.Р. Мардашев, Э. Снелл, Д. Мецлер, А. Майстер и др. Известно более 20 пиридоксальных ферментов, катализирующих ключевые реакции азотистого метаболизма во всех живых организмах. Так доказано, что пиридоксальфосфат является простетической группой аминотрансфераз, катализирующих обратимый перенос аминогруппы (NH₂-группы) от аминокислот на α-кетокислоту, и декарбоксилаз аминокислот, осуществляющих необратимое отщепление СО₂ от карбоксильной группы аминокислот с образованием биогенных аминов. Установлена коферментная роль пиридоксальфосфата в ферментативных реакциях неокислительного дезаминирования серина и треонина, окисления триптофана, кинуренина, превращения серосодержащих аминокислот, взаимопревращения серина и глицина, а также в синтезе δ-аминолевулиновой кислоты, являющейся предшественником молекулы гема гемоглобина, и др.

Пиридоксин относится к витаминам, коферментная роль которых изучена наиболее подробно. В последние годы число вновь открытых пиридоксальных ферментов быстро увеличивалось. Так, для действия гликогенфосфорилазы существенной оказалась фосфорильная, а не альдегидная группа пиридоксальфосфата. Вследствие широкого участия пиридоксальфосфата в процессах обмена при недостаточности витамина В₆ отмечаются разнообразные нарушения метаболизма аминокислот.

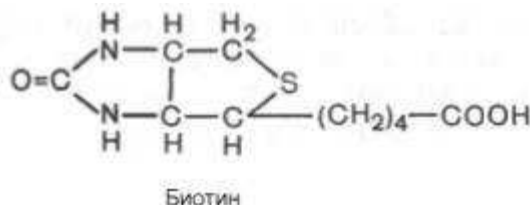
Распространение в природе и суточная потребность. Витамин В₆ широко распространен в продуктах растительного и животного происхождения. Основными источниками витамина В₆ для человека служат хлеб, горох, фасоль, картофель, мясо, почки, печень и др. Во многих продуктах животного происхождения пиридоксин химически связан с белком, но в пищеварительном тракте под действием ферментов он легко освобождается. Суточная потребность в пиридоксине для человека точно не установлена, поскольку он синтезируется микрофлорой кишечника в количествах, частично покрывающих потребности в нем организма. Косвенные расчеты показывают, что взрослый человек должен получать в сутки около 2 мг витамина В₆.

9.3.5 Биотин (витамин Н)

В 1916 г. в опытах на животных было показано токсичное действие сырого яичного белка; употребление печени или дрожжей снимало этот эффект. Фактор, предотвращающий развитие токсикоза, был назван *витамином Н*. Позже было установлено, что в дрожжевом экстракте печени и желтке куриного яйца содержится пищевой фактор, отличный от всех

других известных к этому времени витаминов. Этот фактор стимулирует рост дрожжей и азотфиксирующих бактерий *Rhizobium*, в связи с чем, он и получил название «биотин» (от греч. bios – жизнь), или *коэнзим R*. В 1940 г. было установлено, что все три названия (биотин, витамин Н и коэнзим R) относятся к одному и тому же химически индивидуальному соединению. Выделенное из сырого яичного белка вещество оказалось гликопротеином – белком основного характера, названным *авидином*; этот белок обладает высоким сродством связывания с биотином с образованием нерастворимого в воде комплекса. Комплекс не подвергается расщеплению в пищеварительном тракте, поэтому биотин не всасывается, хотя и содержится в пищевых продуктах.

Биотин был впервые выделен в 1935 г. из яичного желтка. Молекула биотина является циклическим производным мочевины, а боковая цепь представлена валериановой кислотой.

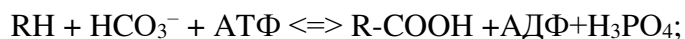


Карбонильная группа биотина связывается амидной связью с ε-амино-группой лизина, образуя ε-N-биотиниллизин (биоцитин), обладающий биологической активностью. Природные сложные белки, содержащие биотин, при попадании в организм подвергаются протеолизу с освобождением свободного биоцитина; последний подвергается гидролизу под действием биоцитиназы печени и сыворотки крови с образованием биотина и лизина.

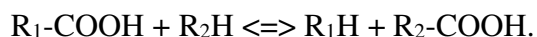
Клинические проявления недостаточности биотина у человека изучены недостаточно. Это объясняется тем, что бактерии кишечника обладают способностью синтезировать биотин в необходимых количествах. Недостаточность его проявляется в случае употребления большого количества сырого яичного белка или приема сульфаниламидных препаратов и антибиотиков, подавляющих рост бактерий в кишечнике. У человека при недостаточности биотина отмечаются воспалительные процессы кожи (дерматиты), сопровождающиеся усиленной деятельностью сальных желез, выпадением волос, поражением ногтей, часто отмечаются боли в мышцах, усталость, сонливость, депрессия, а также анорексия и анемия. Все эти явления обычно проходят через несколько дней после ежедневного введения биотина. У крыс недостаточность биотина, вызванная введением с пищей сырого яичного белка, вызывает явления острого дерматита, облысение и параличи.

Биологическая роль. Биотин подробно изучен благодаря работам Ф. Линена. Известные к настоящему времени биотиновые ферменты (т.е. ферменты, содержащие в качестве кофермента биотин) катализируют два типа реакций:

1) реакции карбоксилирования (с участием CO_2 или HCO_3^-), сопряженные с распадом АТФ

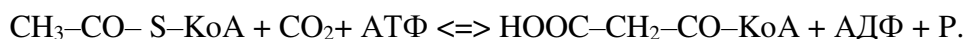


2) реакции транскарбоксилирования (протекающие без участия АТФ), при которых субстраты обмениваются карбоксильной группой

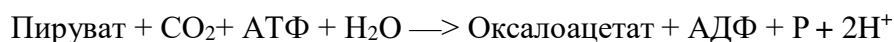


Получены доказательства двустадийного механизма этих реакций с образованием промежуточного комплекса (карбоксибиотинилфермент).

К реакциям первого типа относятся, например, ацетил-КоА и пируват-карбоксилазные реакции:



Пируваткарбоксилаза является высокоспецифичным ферментом, катализирующим уникальную реакцию усвоения CO_2 в организме животных. Сущность реакции сводится к пополнению запасов оксалоацетата (щавелевоуксусная кислота) в лимоннокислом цикле (так называемые «анаплеро-тические», «пополняющие» реакции), т.е. его синтезу из CO_2 и пирувата:



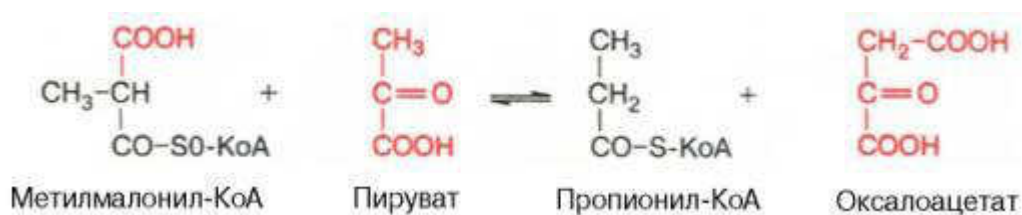
Реакция протекает в две стадии: на первой стадии, связанной с затратой энергии, CO_2 подвергается активированию, т.е. ковалентному связыванию с биотином в активном центре фермента (Е-биотин):



На второй стадии CO_2 из комплекса переносится на пируват с образованием оксалоацетата и освобождением фермента:



Примером второго типа реакций является метилмалонил-оксалоацетат-транскарбоксилазная реакция, катализирующая обратимое превращение пирувиноградной и щавелевоуксусной кислот:



Реакции карбоксилирования и транскарбоксилирования имеют большое значение в организме при синтезе высших жирных кислот, белков, пуриновых нуклеотидов (соответственно нуклеиновых кислот) и др.

Распространение в природе и суточная потребность. Биотин содержится почти во всех продуктах животного и растительного происхождения, главным образом в связанной форме. Богаты этим витамином печень, почки, молоко, желток яйца. В растительных продуктах (картофель, лук, томат, шпинат) биотин находится как в свободном, так и в связанном состоянии. Для человека и животных важным источником является биотин, синтезируемый микрофлорой кишечника. Суточная потребность взрослого человека в биотине приблизительно 0,25 мг.

9.3.6 Фолиевая кислота

Фолиевая (птероилглутаминовая) кислота (фолацин) в зависимости от вида животных или штамма бактерий, нуждающихся для нормального роста в присутствии этого пищевого фактора, называлась по-разному: фактор роста *L. casei*; витамин M, необходимый для нормального кроветворения у обезьян; витамин B₉, фактор роста цыплят (индекс «с» от англ. chicken – цыпленок). В 1941 г. фолиевая кислота была выделена из зеленых листьев растений, в связи с чем и получила свое окончательное название (от лат. folium – лист). Еще до установления химического строения фолиевой кислоты было показано, что для роста некоторых бактерий необходимо присутствие в питательной среде парааминобензойной

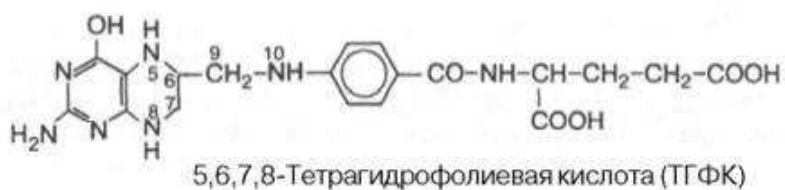
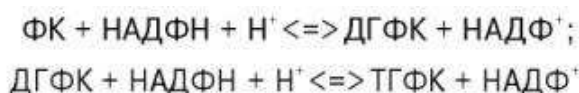
кислоты. Добавление структурных аналогов ее, в частности сульфаниламидных препаратов, наоборот, оказывало тормозящее действие на рост бактерий. В настоящее время установлено, что это ростстимулирующее действие парааминобензойной кислоты обусловлено включением ее в состав более сложно построенной молекулы фолиевой кислоты.

Фолиевая кислота состоит из трех структурных единиц: остатка 2-амино-4-окси-6-метилптеридина (I), парааминобензойной (II) и L-глутаминовой (III) кислот и имеет следующую структуру:

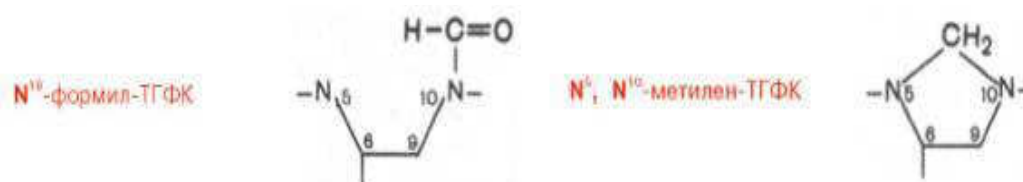


Фолиевая кислота ограниченно растворима в воде, но хорошо растворима в разбавленных растворах спирта. Недостаточность фолиевой кислоты трудно вызвать даже у животных без предварительного подавления в кишечнике роста микроорганизмов, которые синтезируют ее в необходимых количествах; авитаминоз обычно вызывают введением антибиотиков и скармливанием животным пищи, лишенной фолиевой кислоты. У обзьян фолиевая недостаточность сопровождается развитием специфической анемии; у крыс сначала развивается лейкопения, а затем анемия. У человека наблюдается клиническая картина макроцитарной анемии, очень похожая на проявления пернициозной анемии – следствия недостаточности витамина В₁₂, хотя нарушения нервной системы отсутствуют. Иногда отмечается диарея. Имеются доказательства, что при недостаточности фолиевой кислоты нарушается процесс биосинтеза ДНК в клетках костного мозга, в которых в норме осуществляется эритропоэз. Как следствие этого в периферической крови появляются молодые клетки – мегалобласты – с относительно меньшим содержанием ДНК.

Биологическая роль. Коферментные функции фолиевой кислоты связаны не со свободной формой витамина, а с восстановленным его птеридиновым производным. Восстановление сводится к разрыву двух двойных связей и присоединению четырех водородных атомов в положениях 5, 6, 7 и 8 с образованием тетрагидрофолиевой кислоты (ТГФК). Оно протекает в 2 стадии в животных тканях при участии специфических ферментов, содержащих восстановленный НАДФ. Сначала при действии фолатредуктазы образуется дигидрофолиевая кислота (ДГФК), которая при участии второго фермента – дигидрофолатредуктазы – восстанавливается в ТГФК:



Доказано, что коферментные функции ТГФК непосредственно связаны с переносом одноуглеродных групп, первичными источниками которых в организме являются β -углеродный атом серина, α -углеродный атом глицина, углерод металльных групп метионина, холина, 2-й углеродный атом индольного кольца триптофана, 2-й углеродный атом имидазольного кольца гистидина, а также формальдегид, муравьиная кислота и метанол. К настоящему времени открыто шесть одноуглеродных групп, включающихся в разнообразные биохимические превращения в составе ТГФК: *формильная* ($-\text{CHO}$), *метильная* ($-\text{CH}_3$), *метиленовая* ($-\text{CH}_2-$), *метенильная* ($-\text{CH}=\text{}$), *оксиметильная* ($-\text{CH}_2\text{OH}$) и *формиминная* ($-\text{CH}=\text{NH}$). Выяснено, что присоединение этих фрагментов к ТГФК является ферментативной реакцией ковалентного связывания их с 5-м или 10-м атомом азота (или с обоими атомами вместе). В качестве примера приводим отдельные функциональные группы в активных участках ТГФК:



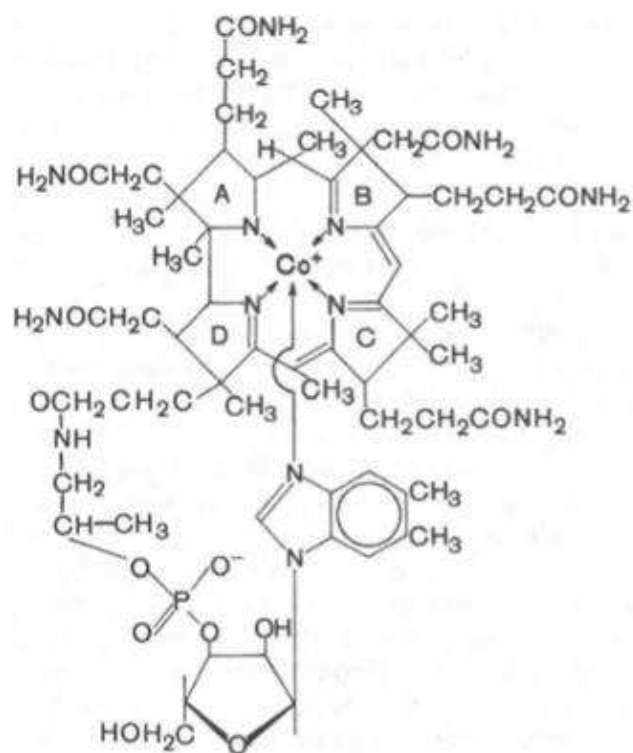
Имеются данные, что производные ТГФК участвуют в переносе одно-углеродных фрагментов при биосинтезе метионина и тимина (перенос метильной группы), серина (перенос оксиметильной группы), образовании пуриновых нуклеотидов (перенос формильной группы) и т.д. Перечисленные вещества играют исключительно важную, ключевую, роль в биосинтезе белков и нуклеиновых кислот, поэтому становятся понятными те глубокие нарушения обмена, которые наблюдаются при недостаточности фолиевой кислоты.

В медицинской практике (в частности, в онкологии) нашли применение некоторые синтетические аналоги (антагонисты) фолиевой кислоты. Так, 4-аминоптерин используется в качестве препарата, тормозящего синтез нуклеиновых кислот, и рекомендуется в качестве лечебного препарата при опухолевых поражениях, в частности при острых и хронических формах лейкозов у детей и взрослых.

Распространение в природе и суточная потребность. Вещества, обладающие активностью фолиевой кислоты, широко распространены в природе. Богатыми источниками их являются зеленые листья растений и дрожжи. Эти вещества содержатся также в печени, почках, мясе и других продуктах. Многие микроорганизмы кишечника животных и человека синтезируют фолиевую кислоту в количествах, достаточных для удовлетворения потребностей организма в этом витамине. Суточная потребность в свободной фолиевой кислоте для взрослого человека составляет 1-2 мг.

9.3.7 Витамин В₁₂

Витамин В₁₂ (кобаламин; антианемический витамин) выделен из печени в кристаллическом виде в 1948 г. Задолго до этого было известно, что в печени животных содержится особое вещество, регулирующее процесс кроветворения и оказывающее лечебный эффект при пернициозной (злокачественной) анемии у людей. Однако только в 1955 г. Д. Ходжкин расшифровала его структуру, включая трехмерную пространственную конфигурацию, главным образом при помощи физических методов исследования (рентгенографическая кристаллография). На основании этих данных, а также результатов изучения химического состава для витамина В₁₂ было предложено следующее строение:



Витамин В₁₂ (кобаламин)

В молекуле витамина В₁₂ центральный атом кобальта соединен с атомами азота четырех восстановленных пиррольных колец, образующих порфириноподобное корриновое ядро, и с атомом азота 5,6-диметил-бензимидазола. Кобальтсодержащая часть молекулы витамина представляет собой планарную (плоскостную) фигуру; по отношению к ней перпендикулярно расположен нуклеотидный лиганд, который, помимо 5,6-диметилбензимидазола, содержит рибозу и остаток фосфата у 3-го атома углерода. Вся структура получила название «кобаламин». Были получены производные витамина В₁₂, содержащие ОН-группу (оксикобаламин), хлор (хлоркобаламин), Н₂О (аквакобаламин) и азотистую кислоту (нитриткобаламин). Из природных источников были выделены, кроме того, аналоги В₁₂, которые вместо 5,6-диметилбензимидазола содержали 5-оксибензимидазол, или аденин, 2-метиладенин, гипоксантин и метилгипоксантин. Все они обладали меньшей биологической активностью, чем кобаламин. Обычно витамин В₁₂ выделяют из микробной массы или животных тканей, используя растворы, содержащие ионы цианида. Однако цианокобаламин метаболически неактивен. В состав В₁₂-коферментов вместо CN входит остаток 5-дезоксаденозина или метильная группа.

У человека и животных недостаток витамина В₁₂ приводит к развитию злокачественной макроцитарной, мегалобластической *анемии*. Помимо изменений кроветворной функции, для авитаминоза В₁₂ специфичны также нарушения деятельности нервной системы и резкое снижение кислотности желудочного сока. Оказалось, что для активного процесса всасывания витамина В₁₂ в тонкой кишке обязательным условием является наличие в желудочном соке особого белка – гастромукопротеина, получившего название внутреннего фактора Касла, который специфически связывает витамин В₁₂ в особый сложный комплекс. Точная роль этого фактора во всасывании В₁₂ не выяснена. Предполагают, что в связанном с этим фактором комплексе витамин В₁₂ поступает в клетки слизистой оболочки подвздошной кишки, затем медленно переходит в кровь портальной системы, а внутренний фактор подвергается гидролизу (распаду). Следует указать, что В₁₂ поступает в кровь портальной системы не в свободном состоянии, а в комплексе с двумя белками, получившими название транскобаламинов I и II, один из которых выполняет

функцию депо В₁₂ (I), поскольку он более прочно связывается с витамином В₁₂. Поэтому нарушение синтеза внутреннего фактора в слизистой оболочке желудка приводит к развитию авитаминоза В₁₂ даже при наличии в пище достаточного количества кобаламина. В подобных случаях витамин с лечебной целью обычно вводят парентерально или с пищей, но в сочетании с нейтрализованным желудочным соком, в котором содержится внутренний фактор.

Витамин В₁₂ используется в клинике для лечения различных форм анемий с неврологическими нарушениями, которые обычно не поддаются лечению другими витаминами, в частности фолиевой кислотой.

Биологическая роль. Выявлены ферментные системы, в составе которых в качестве простетической группы участвуют не свободный витамин В₁₂, а так называемые В₁₂-коферменты, или кобамидные коферменты. Последние отличаются тем, что содержат 2 типа лигандов: метильную группу и 5'-дезоксаденозин. Соответственно различают метилкобаламин СН₃-В₁₂ и *дезоксаденозилкобаламин*. Превращение свободного витамина В₁₂ в В₁₂-коферменты, протекающее в несколько этапов, осуществляется в организме при участии специфических ферментов в присутствии в качестве кофакторов ФАД, восстановленного НАД, АТФ и глутатиона. В частности, при образовании 5-дезоксикобаламинового кофермента АТФ подвергается необычному распаду с отщеплением трифосфатного остатка по аналогии еще с одной единственной реакцией синтеза 5-аденозилметионина из метионина и АТФ (см. главу 12). Впервые В₁₂-коферменты были выделены Г. Баркером и сотр. в 1958 г. из микроорганизмов, позже было доказано их существование в тканях животных.

Химические реакции, в которых витамин В₁₂ принимает участие как кофермент, условно делят на 2 группы в соответствии с его химической природой. К первой группе относятся реакции трансметилирования, в которых метилкобаламин выполняет роль промежуточного переносчика метильной группы (реакции синтеза метионина и ацетата).

Вторая группа реакций при участии В₁₂-коферментов заключается во внутримолекулярном переносе водорода в реакциях изомеризации.

В настоящее время высказывается предположение о более широком участии В₁₂-коферментов в ферментативных реакциях трансметилирования, дезаминирования (например, этаноламиддезаминазная реакция) и др. Предстоит, однако, приложить немало усилий, чтобы выяснить молекулярные механизмы действия витамина В₁₂ на процесс кроветворения. Положительный эффект при лечении пернициозной анемии полусырой печенью обусловлен, как стало известно, наличием витамина В₁₂, хотя следует указать, что большего лечебного эффекта можно добиться при одновременном введении внутреннего фактора слизистой оболочки желудка.

Распространение в природе и суточная потребность. Витамин В₁₂ является единственным витамином, синтез которого осуществляется исключительно микроорганизмами; ни растения, ни ткани животных этой способностью не наделены. Основные источники витамина В₁₂ для человека – мясо, говяжья печень, почки, рыба, молоко, яйца. Главным местом накопления витамина В₁₂ в организме человека является печень, в которой содержится до нескольких миллиграммов витамина. В печень он поступает с животной пищей, в частности с мясом, или синтезируется микрофлорой кишечника при условии доставки с пищей кобальта. Суточная потребность в витамине В₁₂ для взрослого человека составляет около 3 мкг (0,003 мг).

9.3.8 Пантотеновая кислота (витамин В₃)

Пантотеновая кислота в качестве витамина была открыта в 1933 г. Р. Уильямсом и соавт. в составе «биоса» – группы веществ природного происхождения, стимулирующих рост дрожжей. Он оказался чрезвычайно широко распространенным во всех живых объектах

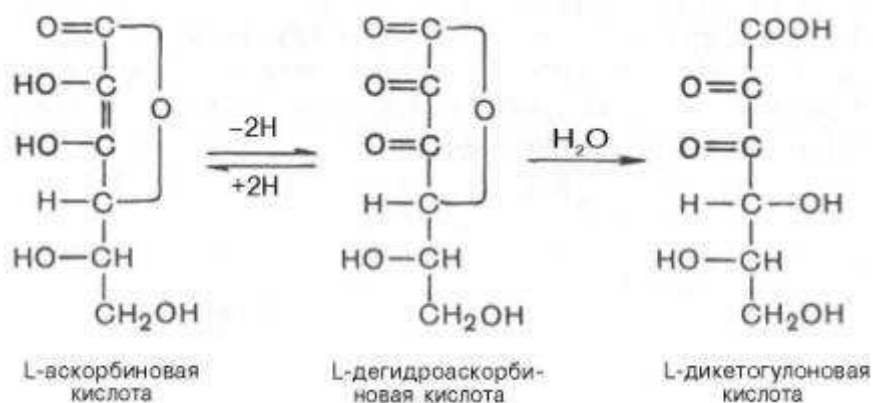
его в основных биохимических процессах, окисление и биосинтез высших жирных кислот, окислительное декарбоксилирование α -кетокислот (пируват, α -кетоглутарат), биосинтез нейтральных жиров, фосфолипидов, стероидных гормонов, гема гемоглобина, ацетилхолина, гишпуровой кислоты и др.

Распространение в природе и суточная потребность. Уже отмечалось широкое, повсеместное распространение пантотеновой кислоты в природе. Основными пищевыми источниками ее для человека являются печень, яичный желток, дрожжи и зеленые части растений. Пантотеновая кислота синтезируется, кроме того, микрофлорой кишечника. Суточная потребность в пантотеновой кислоте для взрослого человека составляет 3–5 мг.

9.3.8 Витамин С

Витамин С (аскорбиновая кислота; антискорбутный витамин) получил название антискорбутного, антицинготного фактора, предохраняющего от развития цинги – болезни, принимавшей в средние века характер эпидемии. Причину болезни долго не могли распознать, и только в 1907–1912 гг. были получены неоспоримые экспериментальные доказательства (на морских свинках, также подверженных, подобно людям, заболеванию цингой) прямой зависимости между развитием цинги и недостаточностью или отсутствием в пище витамина С.

По химической структуре аскорбиновая кислота представляет собой лактон кислоты со структурой, близкой структуре L-глюкозы; окончательно строение витамина С было установлено после синтеза его из L-ксилозы. Аскорбиновая кислота относится к сильным кислотам; кислый характер ее обусловлен наличием двух обратимо диссоциирующих енольных гидроксильных групп у 2-го и 3-го углеродных атомов.



Аскорбиновая кислота содержит два асимметричных атома углерода в 4-м и 5-м положениях, что позволяет образовать четыре оптических изомера. Природные изомеры, обладающие витаминной активностью, относятся к L-ряду. Аскорбиновая кислота хорошо растворима в воде, хуже – в этаноле и почти нерастворима в других органических растворителях. Из представленных структурных формул видно, что наиболее важным химическим свойством аскорбиновой кислоты является ее способность обратимо окисляться в дегидроаскорбиновую кислоту, образуя окислительно-восстановительную систему, связанную с отщеплением и присоединением электронов и протонов. Окисление может быть вызвано различными факторами, в частности кислородом воздуха, метиленовым синим, перекисью водорода и др. Этот процесс, как правило, не сопровождается снижением витаминной активности. Дегидроаскорбиновая кислота легко восстанавливается цистеином, глутатионом, сероводородом. В слабощелочной (и даже в нейтральной) среде происходит гидролиз лактонового кольца, и эта кислота превращается в дикетогулоновую кислоту, лишенную биологической активности. Поэтому при кулинарной обработке пищи в

присутствии окислителей часть витамина С разрушается. Аскорбиновая кислота оказалась необходимым пищевым фактором для человека, обезьян, морских свинок и некоторых птиц и рыб. Все другие животные не нуждаются в пищевом витамине С, поскольку он легко синтезируется в печени из глюкозы. Как оказалось, ткани витамин-С-чувствительных животных и человека лишены одного-единственного фермента, катализирующего последнюю (6-ю) стадию образования аскорбиновой кислоты из глюкозы, а именно гулонолактонооксидазы, превращающего L-гулонолактон в L-аскорбиновую кислоту.

Наиболее характерным признаком недостаточности витамина С является потеря организмом способности депонировать межклеточные «цементирующие» вещества, что вызывает поражение сосудистых стенок и опорных тканей. У морских свинок, например, некоторые специализированные, высокодифференцированные клетки (фибробласты, остеобласты, одонтобласты) теряют способность синтезировать коллаген в кости и дентине зуба. Нарушено, кроме того, образование гликопротеингликанов, отмечены геморрагические явления и специфические изменения костной и хрящевой тканей.

У человека при недостаточности витамина С также отмечают снижение массы тела, общая слабость, одышка, боли в сердце, сердцебиение. При цинге в первую очередь поражается кровеносная система: сосуды становятся хрупкими и проницаемыми, что служит причиной мелких точечных кровоизлияний под кожу – так называемых петехий; часто отмечаются кровоизлияния и кровотечения во внутренних органах и слизистых оболочках. Для цинги характерна также кровоточивость десен; дегенеративные изменения со стороны одонтобластов и остеобластов приводят к развитию кариеса, расшатыванию, разламыванию, а затем и выпадению зубов. У больных цингой наблюдаются, кроме того, отек нижних конечностей и боли при ходьбе.

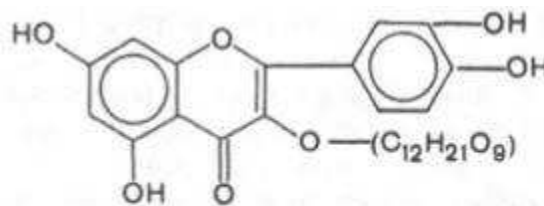
Биологическая роль. Витамин С, вероятнее всего, участвует в окислительно-восстановительных процессах, хотя до сих пор не выделены ферментные системы, в состав протетических групп которых он входит. Предполагают, что витамин С участвует в реакциях гидроксирования пролина и лизина при синтезе коллагена, синтезе гормонов коры надпочечников (кортикостероидов), аминокислоты триптофана и, возможно, в других реакциях гидроксирования. Имеются доказательства необходимости участия витамина С в окислительном распаде тирозина и гемоглобина в тканях.

Распространение в природе и суточная потребность. Витамин С относится к широко распространенным в природе витаминам. Наиболее важными источниками его для человека служат продукты растительного происхождения (овощи и фрукты). Много витамина С в перце, салате, капусте, хрене, укропе, ягодах рябины, черной смородины и особенно в citrusовых (лимон). Картофель также относится к основным повседневным источникам витамина С, хотя содержит его значительно меньше. Из непищевых источников богаты витамином С шиповник, хвоя, листья черной смородины, экстракты из которых могут полностью удовлетворить потребности организма. Суточная потребность в витамине С для человека составляет 75 мг. Рекомендованные рядом ученых (в том числе Л. Полингом) более высокие суточные дозы аскорбиновой кислоты (1 г) для человека, вероятнее всего, недостаточно обоснованы.

9.3.9 Витамин Р

Витамин Р (рутин, цитрин; витамин проницаемости) выделен в 1936 г. А. Сент-Дьердьи из кожуры лимона. Под термином «витамин Р», повышающим резистентность капилляров (от лат. permeability – проницаемость), объединяется группа веществ со сходной биологической активностью: катехины, халконы, дигидрохалконы, флавины, флавононы, изофлавоны, флавонолы и др. Все они обладают Р-витаминной активностью, и в основе их структуры лежит дифенилпропановый углеродный «скелет» хромона или флавона. Этим

объясняется их общее название «биофлавоноиды». Приводим структуру рутина, выделенного из листьев гречихи:



Рутин

При недостаточности биофлавоноидов или отсутствии их в пище у людей и морских свинок повышается проницаемость кровеносных сосудов, сопровождающаяся кровоизлияниями и кровотечениями; у людей отмечается, кроме того, общая слабость, быстрая утомляемость и боли в конечностях.

Биологическая роль. Биофлавоноиды стабилизируют основное вещество соединительной ткани путем ингибирования гиалуронидазы, что подтверждается данными о положительном влиянии Р-витаминных препаратов, как и аскорбиновой кислоты, в профилактике и лечении цинги, ревматизма, ожогов и др. Эти данные указывают на тесную функциональную связь витаминов С и Р в окислительно-восстановительных процессах организма, образующих единую систему. Об этом косвенно свидетельствует лечебный эффект, оказываемый комплексом витамина С и биофлавоноидов, названный аскорутином.

Основными источниками витамина Р для взрослого человека являются те же растительные продукты питания (в частности, овощи и фрукты), в которых содержится много витамина С. Витаминная промышленность выпускает ряд препаратов с Р-витаминной активностью: чайные катехины, рутин, кверцетин, гесперидин, нарингил и др. Суточная потребность в витамине Р не установлена.

10 Гормоны

10.1 Общее понятие о гормонах

Учение о гормонах выделено в самостоятельную науку – **эндокринологию**. Современная эндокринология изучает химическую структуру гормонов, образующихся в железах внутренней секреции, зависимость между структурой и функцией гормонов, молекулярные механизмы действия, а также физиологию и патологию эндокринной системы. Учреждены специализированные научно-исследовательские институты, лаборатории, издаются научные журналы; созываются международные конференции, симпозиумы и конгрессы, посвященные проблемам эндокринологии. В наши дни эндокринология превратилась в одну из самых бурно развивающихся разделов биологической науки. Она имеет свои цели и задачи, специфические методологические подходы и методы исследования. В нашей стране головным научным учреждением, объединяющим исследования по этим проблемам, является Эндокринологический научный центр РАМН.

Гормоны относятся к биологически активным веществам, определяющим в известной степени состояние физиологических функций целостного организма, макро- и микроструктуру органов и тканей и скорость протекания биохимических процессов. Таким образом, **гормоны** – вещества органической природы, вырабатываемые в специализированных клетках желез внутренней секреции, поступающие в кровь и оказывающие регулирующее влияние на обмен веществ и физиологические функции. В это определение необходимо внести соответствующие коррективы в связи с обнаружением типичных гормонов млекопитающих у одноклеточных (например, инсулин у

микроорганизмов) или возможностью синтеза гормонов соматическими клетками в культуре ткани (например, лимфоцитами под действием факторов роста).

Одной из удивительных особенностей живых организмов является их способность сохранять постоянство внутренней среды – **гомеостаз** – при помощи механизмов саморегуляции, в которых одно из главных мест принадлежит гормонам. У высших животных координированное протекание всех биологических процессов не только в целостном организме, но и в микропространстве отдельной клетки и даже в отдельном субклеточном образовании (митохондрии, микросомы) определяется нейрогуморальными механизмами, сложившимися в процессе эволюции. При помощи этих механизмов организм воспринимает разнообразные сигналы об изменениях в окружающей и внутренней средах и тонко регулирует интенсивность процессов обмена. В регуляции этих процессов, в осуществлении последовательности протекания множества реакций гормоны занимают промежуточное звено между нервной системой и действием ферментов, которые непосредственно регулируют скорость обмена веществ. В настоящее время получены доказательства, что гормоны вызывают либо быструю (срочную) ответную реакцию, повышая активность имеющихся в тканях ферментов (это свойственно гормонам пептидной и белковой природы), либо, что более характерно, например, для стероидных гормонов, медленную реакцию, связанную с синтезом ферментов *de novo*. Как будет показано далее, стероидные гормоны оказывают влияние на генетический аппарат клетки, вызывая синтез соответствующей мРНК, которая, поступив в рибосому, служит матрицей для синтеза молекулы белка – фермента. Предполагают, что и другие гормоны (имеющие белковую природу) опосредованно через фосфорилирование негистоновых белков могут оказывать влияние на гены, контролируя тем самым скорость синтеза соответствующих ферментов. Таким образом, любые нарушения синтеза или распада гормонов, вызванные разнообразными причинными факторами, включая заболевания эндокринных желез (состояние гипо- или гиперфункции) или изменения структуры и функций рецепторов и внутриклеточных посредников, приводят к изменению нормального синтеза ферментов и соответственно к нарушению метаболизма.

Зарождение науки об эндокринных железах и гормонах относится к 1855 г., когда Т. Аддисон впервые описал бронзовую болезнь, связанную с поражением надпочечников и сопровождающуюся специфической пигментацией кожных покровов. Клод Бернар ввел понятие о железах внутренней секреции, т.е. органах, выделяющих секрет непосредственно в кровь. Позже Ш. Броун-Секар показал, что недостаточность функции желез внутренней секреции вызывает развитие болезней, а экстракты, полученные из этих желез, оказывают хороший лечебный эффект. В настоящее время имеются бесспорные доказательства, что почти все болезни желез внутренней секреции (тиреотоксикоз, сахарный диабет и др.) развиваются в результате нарушения молекулярных механизмов регуляции процессов обмена, вызванных недостаточным или, наоборот, избыточным синтезом соответствующих гормонов в организме человека.

Термин «гормон» (от греч. *hormao* – побуждаю) был введен в 1905 г. У. Бейлиссом и Э. Старлингом при изучении открытого ими в 1902 г. гормона секретина, вырабатывающегося в двенадцатиперстной кишке и стимулирующего выработку сока поджелудочной железы и отделение желчи. К настоящему времени открыто более сотни различных веществ, наделенных гормональной активностью, синтезирующихся в железах внутренней секреции и регулирующих процессы обмена веществ. Установлены специфические особенности биологического действия гормонов:

а) гормоны проявляют свое биологическое действие в ничтожно малых концентрациях (от 10^{-6} до 10^{-12} М);

б) гормональный эффект реализуется через белковые рецепторы и внутриклеточные вторичные посредники (мессенджеры);

в) не являясь ни ферментами, ни коферментами, гормоны в то же время осуществляют свое действие путем увеличения скорости синтеза ферментов *de novo* или изменения скорости ферментативного катализа;

г) действие гормонов в целостном организме определяется в известной степени контролирующим влиянием ЦНС;

д) железы внутренней секреции и продуцируемые ими гормоны составляют единую систему, тесно связанную при помощи механизмов прямой и обратной связей.

Под влиянием разнообразных внешних и внутренних раздражителей возникают импульсы в специализированных, весьма чувствительных рецепторах. Импульсы затем поступают в ЦНС, отсюда в гипоталамус, где синтезируются первые биологически активные гормональные вещества, оказывающие «дистантное» действие, – так называемые рилизинг-факторы. Особенностью рилизинг-факторов является то, что они не поступают в общий ток крови, а через порталную систему сосудов достигают специфических клеток гипофиза, при этом стимулируют (или тормозят) биосинтез и выделение тропных гормонов гипофиза, которые с током крови достигают соответствующей эндокринной железы и способствуют выработке необходимого гормона. Этот гормон затем оказывает действие на специализированные органы и ткани (органы-мишени), вызывая соответствующие химические и физиологические ответные реакции целостного организма.

Наименее изученным до недавнего времени оставался последний этап этой своеобразной дуги – действие гормонов на внутриклеточный обмен. В настоящее время получены доказательства, что это действие осуществляется через так называемые гормональные рецепторы, под которыми понимают химические структуры соответствующих тканей-мишеней, содержащие высокоспецифические участки (углеводные фрагменты гликопротеинов и ганглиозидов) для связывания гормонов. Результатом подобного связывания является инициация рецепторами специфических биохимических реакций, обеспечивающих реализацию конечного эффекта соответствующего гормона. Рецепторы гормонов белковой и пептидной природы расположены на наружной поверхности клетки (на плазматической мембране), а рецепторы гормонов стероидной природы – в ядре. Общим признаком всех рецепторов независимо от локализации является наличие строго пространственного и структурного соответствия между рецептором и соответствующим гормоном.

10.2 Номенклатура и классификация гормонов

Химическая природа почти всех известных гормонов выяснена в деталях (включая первичную структуру белковых и пептидных гормонов), однако до настоящего времени не разработаны общие принципы их номенклатуры. Химические наименования многих гормонов точно отражают их химическую структуру и очень громоздки. Поэтому чаще применяются тривиальные названия гормонов. Принятая номенклатура указывает на источник гормона (например, инсулин – от лат. *insula* – островок) или отражает его функцию (например, пролактин, вазопрессин). Для некоторых гормонов гипофиза (например, лютеинизирующего и фолликуло-стимулирующего), а также для всех гипоталамических гормонов разработаны новые рабочие названия.

Аналогичное положение существует и в отношении классификации гормонов. Гормоны классифицируют в зависимости от места их природного синтеза, в соответствии с которым различают гормоны гипоталамуса, гипофиза, щитовидной железы, надпочечников, поджелудочной железы, половых желез, зубной железы и др. Однако подобная анатомическая классификация недостаточно совершенна, поскольку некоторые гормоны или синтезируются не в тех железах внутренней секреции, из которых они секретируются в кровь (например, гормоны задней доли гипофиза, вазопрессин и окситоцин синтезируются в гипоталамусе, откуда переносятся в заднюю долю гипофиза), или синтезируются и в других железах (например, частичный синтез половых гормонов осуществляется в коре

надпочечников, синтез простагландинов происходит не только в предстательной железе, но и в других органах) и т.д. С учетом этих обстоятельств были предприняты попытки создания современной классификации гормонов, основанной на их химической природе. В соответствии с этой классификацией различают три группы истинных гормонов:

- 1) пептидные и белковые гормоны,
- 2) гормоны – производные аминокислот и
- 3) гормоны стероидной природы.

Четвертую группу составляют эйкозаноиды – гормоноподобные вещества, оказывающие местное действие.

Пептидные и белковые гормоны включают от 3 до 250 и более аминокислотных остатков. Это гормоны гипоталамуса и гипофиза (тироли-берин, соматолиберин, соматостатин, гормон роста, кортикотропин, тире-отропин и др. – см. далее), а также гормоны поджелудочной железы (инсулин, глюкагон). Гормоны – производные аминокислот в основном представлены производными аминокислоты тирозина. Это низкомолекулярные соединения адреналин и норадреналин, синтезирующиеся в мозговом веществе надпочечников, и гормоны щитовидной железы (тироксин и его производные). Гормоны 1-й и 2-й групп хорошо растворимы в воде.

Гормоны стероидной природы представлены жирорастворимыми гормонами коркового слоя надпочечников (кортикостероиды), половыми гормонами (эстрогены и андрогены), а также гормональной формой витамина D.

Эйкозаноиды, являющиеся производными полиненасыщенной жирной кислоты (арахидоновой), представлены тремя подклассами соединений: простагландины, тромбоксаны и лейкотриены. Эти нерастворимые в воде и нестабильные соединения оказывают свое действие на клетки, находящиеся вблизи их места синтеза.

Далее будут рассмотрены химическое строение, функции и пути биосинтеза и распада основных классов гормонов, подразделяющихся на отдельные группы в соответствии с классификацией, в основе которой лежит химическая природа гормонов.

10.3 Гормоны гипоталамуса

Гипоталамус служит местом непосредственного взаимодействия высших отделов ЦНС и эндокринной системы. Природа связей, существующих между ЦНС и эндокринной системой, стала проясняться в последние десятилетия, когда из гипоталамуса были выделены первые гуморальные факторы, оказавшиеся гормональными веществами с чрезвычайно высокой биологической активностью. Потребовалось немало труда и экспериментального мастерства, чтобы доказать, что эти вещества образуются в нервных клетках гипоталамуса, откуда по системе портальных капилляров достигают гипофиза и регулируют секрецию гипофизарных гормонов, точнее их освобождение (возможно, и биосинтез). Эти вещества получили сначала наименование нейрогормонов, а затем рилизинг-факторов (от англ. release – освобождать), или либеринов. Вещества с противоположным действием, т.е. угнетающие освобождение (и, возможно, биосинтез) гипофизарных гормонов, стали называть ингибирующими факторами, или статинами. Таким образом, гормонам гипоталамуса принадлежит ключевая роль в физиологической системе гормональной регуляции многосторонних биологических функций отдельных органов, тканей и целостного организма.

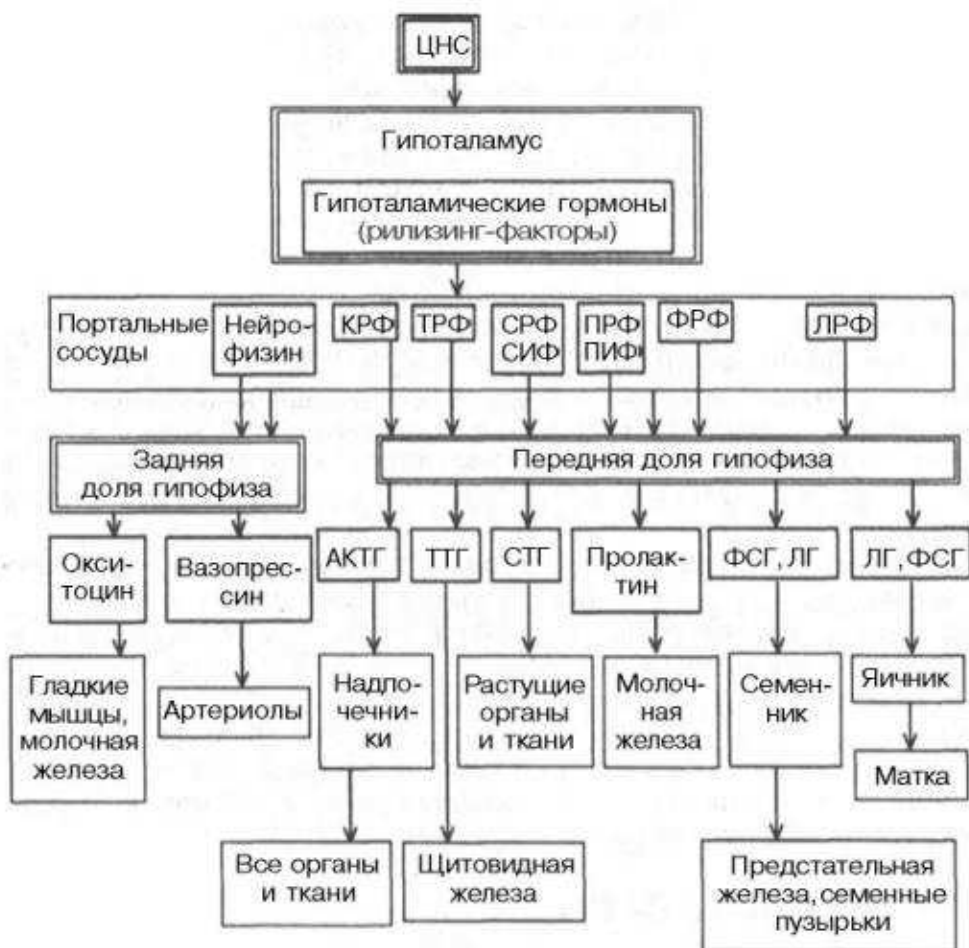


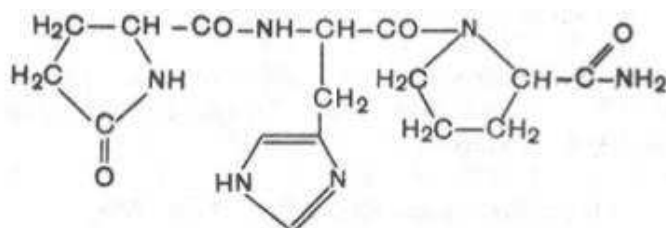
Рисунок 26 – Гормоны гипоталамуса

К настоящему времени в гипоталамусе открыто 7 стимуляторов (либерины) и 3 ингибитора (статины) секреции гормонов гипофиза, а именно: кортиколиберин, тиролиберин, люлиберин, фоллилиберин, соматолиберин, пролактолиберин, меланолиберин, соматостатин, пролактостатин и меланостатин. В чистом виде выделено 5 гормонов, для которых установлена первичная структура, подтвержденная химическим синтезом.

Большие трудности при получении гормонов гипоталамуса в чистом виде объясняются чрезвычайно низким содержанием их в исходной ткани. Так, для выделения всего 1 мг тиролиберина потребовалось переработать 7 т гипоталамусов, полученных от 5 млн. овец.

Установлено, что по химическому строению все гормоны гипоталамуса являются низкомолекулярными пептидами, так называемыми олигопептидами необычного строения, хотя точный аминокислотный состав и первичная структура выяснены не для всех. Приводим полученные к настоящему времени данные о химической природе шести из известных 10 гормонов гипоталамуса.

1. *Тиролиберин* (Пиро-Глу-Гис-Про-NH₂):



10.3 Гормоны гипофиза

В гипофизе синтезируется ряд биологически активных гормонов белковой и пептидной природы, оказывающих стимулирующий эффект на различные физиологические и биохимические процессы в тканях-мишенях (табл. 13). В зависимости от места синтеза различают гормоны передней, задней и промежуточной долей гипофиза. В передней доле вырабатываются в основном белковые и полипептидные гормоны, называемые тропными гормонами, или тропинами, вследствие их стимулирующего действия на ряд других эндокринных желез. В частности, гормон, стимулирующий секрецию гормонов щитовидной железы, получил название «тиротропин».

Таблица 13 - Гормоны гипофиза

Гормон	Мол. масса	Основные клинические синдромы	
		при избытке гормона	при недостатке гормона
Гормоны передней доли гипофиза			
1	2	3	4
Гормон роста	21 500	Акромегалия (чрезмерный рост)	Карликовость (низкорослость)
Кортикотропин (АКТГ)	4 500	Синдром Иценко-Кушинга	Вторичная гипофункция коры надпочечников
Тиротропин	28 000	Гипертиреоз	Вторичный гипотиреоз
Пролактин	23 500	Аменорея, бесплодие, галакторея	Отсутствие лактации
Фолликулостимулирующий гормон (фоллитропин)	34 000	Преждевременное половое созревание	Вторичная гипофункция половых желез; бесплодие
Лютеинизирующий (лютропин)	28 500	То же	То же
1	2	3	4
Липотропин	11 800	Истощение	Ожирение
Гормоны задней доли гипофиза			
Вазопрессин	1070	-	Несахарный диабет
Окситоцин	1070	-	-

В последние годы из ткани мозга животных было выделено более 50 пептидов, получивших название нейропептидов и определяющих поведенческие реакции. Показано, что эти вещества влияют на некоторые формы поведения, процессы обучения и запоминания, регулируют сон и снимают, подобно морфину, боль. Так, выделенный β -эндорфин (31 аминокислотный остаток с выясненной последовательностью) оказался почти в 30 раз активнее морфина в качестве обезболивающего средства. Ряд других пептидов оказывает снотворное действие, а 16-членный пептид, вызывающий у крыс страх темноты, был назван скотофобином. Выделен полипептид амелетин, который, наоборот, отучает крыс бояться резкого звука электрического звонка. Работы в этом направлении интенсивно ведутся во многих лабораториях. Вполне возможно, что скоро будут выделены и соответственно синтезированы искусственно для каждой формы поведения соответствующие нейропептиды, включая пептиды памяти.

10.3.1 Вазопрессин и окситоцин

Гормоны вазопрессин и окситоцин синтезируются рибосомальным путем. Химическое строение обоих гормонов было расшифровано классическими работами В. дю

Виньо и сотр., впервые выделивших эти гормоны из задней доли гипофиза и осуществивших их химический синтез. Оба гормона представляют собой нонапептиды следующего строения:



Вазопрессин отличается от окситоцина двумя аминокислотами: он содержит в положении 3 от N-конца фенилаланин вместо изолейцина и в положении 8 – аргинин вместо лейцина. Указанная последовательность 9 аминокислот характерна для вазопрессина человека, обезьяны, лошади, крупного рогатого скота, овцы и собаки. В молекуле вазопрессина из гипофиза свиньи вместо аргинина в положении 8 содержится лизин, отсюда название «лизин-вазопрессин».

Основной биологический эффект окситоцина у млекопитающих связан со стимуляцией сокращения гладких мышц матки при родах и мышечных волокон вокруг альвеол молочных желез, что вызывает секрецию молока. Вазопрессин стимулирует сокращение гладких мышечных волокон сосудов, оказывая сильное вазопрессорное действие, однако основная роль его в организме сводится к регуляции водного обмена, откуда его второе название антидиуретического гормона. В небольших концентрациях (0,2 нг на 1 кг массы тела) вазопрессин оказывает мощное антидиуретическое действие – стимулирует обратный ток воды через мембраны почечных канальцев. В норме он контролирует осмотическое давление плазмы крови и водный баланс организма человека. При патологии, в частности атрофии задней доли гипофиза, развивается **несахарный диабет** – заболевание, характеризующееся выделением чрезвычайно больших количеств жидкости с мочой. При этом нарушен обратный процесс всасывания воды в канальцах почек.

Относительно механизма действия нейрогипофизарных гормонов известно, что гормональные эффекты, в частности вазопрессина, реализуются через аденилатциклазную систему. Однако конкретный механизм действия вазопрессина на транспорт воды в почках пока остается неясным.

10.3.2 Меланоцитстимулирующие гормоны (МСГ, меланотропины)

Меланотропины синтезируются и секретируются в кровь промежуточной долей гипофиза. Выделены и расшифрованы первичные структуры двух типов гормонов – α- и β-меланоцитстимулирующие гормоны (α-МСГ и β-МСГ). Оказалось, что у всех обследованных животных α-МСГ состоит из 13 остатков аминокислот, расположенных в одинаковой последовательности: $\text{CH}_3\text{-CO-NH-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-Guc-Фен-Арг-Trp-Гли-Лиз-Про-Вал-CO-NH}_2$

В α-МСГ N-концевой серин ацетилирован, а C-концевая аминокислота представлена валинамидом.

Состав и структура β-МСГ оказались более сложными 22-членным пептидом, удлинённым на 4 аминокислотных остатка с N-конца: $\text{H-Ала-Глу-Лиз-Лиз-Асп-Глу-Гли-Про-Тир-Арг-Мет-Глу-Гис-Фен-Арг-Trp-Гли-Ser-Про-Про-Лиз-Асп-OH}$

Физиологическая роль меланотропинов заключается в стимулировании меланиногенеза у млекопитающих и увеличении количества пигментных клеток

(меланоцитов) в кожных покровах земноводных. Возможно также влияние МСГ на окраску меха и секреторную функцию сальных желез у животных.

10.3.3 Адренокортикотропный гормон (АКТГ, кортикотропин)

Еще в 1926 г. было установлено, что гипофиз оказывает стимулирующее влияние на надпочечники, повышая секрецию гормонов коркового вещества. АКТГ, помимо основного действия – стимуляции синтеза и секреции гормонов коры надпочечников, обладает жиромобилизующей и меланоцитстимулирующей активностью.

Молекула АКТГ у всех видов животных содержит 39 аминокислотных остатков. Первичная структура АКТГ свиньи и овцы была расшифрована еще в 1954–1955 гг. Приводим уточненное строение АКТГ человека:

Н-Сер-Тир-Сер-Мет-Глу-Гис-Фен-Арг-Три-Гли-Лиз-Про-Вал-Гли- —Лиз-Лиз-Арг-Арг-Про-Вал-Лиз-Вал-Тир-Про-Асп-Ала-Гли-Глу-Асп-- Гли-Сер-Ала-Глу-Ала-Фен-Про-Лей-Глу-Фен-ОН

Различия в структуре АКТГ овцы, свиньи и быка касаются только природы 31-го и 33-го остатков аминокислот, однако все они наделены почти одинаковой биологической активностью, как и АКТГ гипофиза человека. В молекуле АКТГ, как и других белковых гормонов, хотя и не открыты активные центры наподобие активных центров ферментов, однако предполагается наличие двух активных участков пептидной цепи, один из которых ответствен за связывание с соответствующим рецептором, другой – за гормональный эффект.

Данные о механизме действия АКТГ на синтез стероидных гормонов свидетельствуют о существенной роли аденилатциклазной системы. Предполагают, что АКТГ вступает во взаимодействие со специфическими рецепторами на внешней поверхности клеточной мембраны (рецепторы представлены белками в комплексе с другими молекулами, в частности с сиаловой кислотой). Сигнал затем передается на фермент аденилатциклазу, расположенную на внутренней поверхности клеточной мембраны, которая катализирует распад АТФ и образование цАМФ. Последний активирует протеинкиназу, которая в свою очередь с участием АТФ осуществляет фосфорилирование холинэстеразы, превращающей эфиры холестерина в свободный холестерин, который поступает в митохондрии надпочечников, где содержатся все ферменты, катализирующие превращение холестерина в кортикостероиды.

10.3.4 Соматотропный гормон (СТГ, гормон роста, соматотропин)

Гормон роста был открыт в экстрактах передней доли гипофиза еще в 1921 г., однако в химически чистом виде получен только в 1956–1957 гг. СТГ синтезируется в ацидофильных клетках передней доли гипофиза; концентрация его в гипофизе составляет 5–15 мг на 1 г ткани, что в 1000 раз превышает концентрацию других гормонов гипофиза. К настоящему времени полностью выяснена первичная структура белковой молекулы СТГ человека, быка и овцы. СТГ человека состоит из 191 аминокислоты и содержит две дисульфидные связи; N- и C-концевые аминокислоты представлены фенилаланином.

СТГ обладает широким спектром биологического действия. Он влияет на все клетки организма, определяя интенсивность обмена углеводов, белков, липидов и минеральных веществ. Он усиливает биосинтез белка, ДНК, РНК и гликогена и в то же время способствует мобилизации жиров из депо и распаду высших жирных кислот и глюкозы в тканях. СТГ координирует и регулирует скорость протекания обменных процессов.

СТГ регулирует процессы роста и развития всего организма, что подтверждается клиническими наблюдениями. Так, при гипофизарной карликовости (патология, известная в литературе как пангипопитуитаризм; связана с врожденным недоразвитием гипофиза)

отмечается пропорциональное недоразвитие всего тела, в том числе скелета, хотя существенных отклонений в развитии психической деятельности не наблюдается. У взрослого человека также развивается ряд нарушений, связанных с гипо- или гиперфункцией гипофиза. Известно заболевание *акромегалия* (от греч. akros – конечность, megas – большой), характеризующееся непропорционально интенсивным ростом отдельных частей тела, например рук, ног, подбородка, надбровных дуг, носа, языка, и разрастанием внутренних органов. Болезнь вызвана, по-видимому, опухолевым поражением передней доли гипофиза.

10.3.5 Лактотропный гормон (пролактин, лютеотропный гормон)

Пролактин считается одним из наиболее «древних» гормонов гипофиза, поскольку его удается обнаружить в гипофизе низших наземных животных, у которых отсутствуют молочные железы, а также получить лактогенный эффект у млекопитающих. Помимо основного действия (стимуляция развития молочных желез и лактации), пролактин имеет важное биологическое значение – стимулирует рост внутренних органов, секрецию желтого тела (отсюда его второе название «лютеотропный гормон»), оказывает гипергликемическое действие и др. Избыток пролактина, образующийся обычно при наличии опухолей из секретирующих пролактин клеток, приводит к прекращению менструаций (аменорея) и увеличению молочных желез у женщин и к импотенции – у мужчин.

Расшифрована структура пролактина из гипофиза овцы, быка и человека. Это крупный белок, представленный одной полипептидной цепью с тремя дисульфидными связями, состоящий из 199 аминокислотных остатков. Видовые отличия в последовательности аминокислот касаются по существу 2–3 аминокислотных остатков.

10.3.6 Тиреотропный гормон (ТТГ, тиротропин)

В отличие от рассмотренных пептидных гормонов гипофиза, представленных в основном одной полипептидной цепью, тиротропин является сложным гликопротеином и содержит, кроме того, по две α - и β -субъединицы, которые в отдельности биологической активностью не обладают: мол. масса его около 30000.

Тиротропин контролирует развитие и функцию щитовидной железы и регулирует биосинтез и секрецию в кровь тиреоидных гормонов. Полностью расшифрована первичная структура α - и β -субъединиц тиротропина быка, овцы и человека: α -субъединица, содержащая 96 аминокислотных остатков, имеет одинаковую аминокислотную последовательность во всех изученных ТТГ и во всех лютеинизирующих гормонах гипофиза; β -субъединица тиротропина человека, содержащая 112 аминокислотных остатков, отличается от аналогичного полипептида в ТТГ крупного рогатого скота аминокислотными остатками и отсутствием С-концевого метионина. Поэтому многие авторы специфические биологические и иммунологические свойства гормона объясняют наличием β -субъединицы ТТГ в комплексе с α -субъединицей. Предполагают, что действие тиротропина осуществляется, подобно действию других гормонов белковой природы, посредством связывания со специфическими рецепторами плазматических мембран и активирования аденилатциклазной системы.

10.3.7 Гонадотропные гормоны (гонадотропины)

К гонадотропинам относятся фолликулостимулирующий гормон (ФСГ, фоллитропин) и лютеинизирующий гормон (ЛГ, лютропин), или гормон, стимулирующий интерстициальные клетки. Оба гормона синтезируются в передней доле гипофиза и являются, как и тиротропин, сложными белками – гликопротеинами с мол. массой 25000. Они регулируют стероидо- и гаметогенез в половых железах. Фоллитропин вызывает

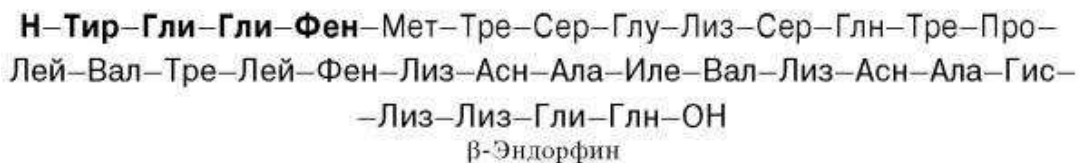
созревание фолликулов в яичниках у самок и сперматогенез – у самцов. Лютропин у самок стимулирует секрецию эстрогенов и прогестерона, как и разрыв фолликулов с образованием желтого тела, а у самцов – секрецию тестостерона и развитие интерстициальной ткани. Биосинтез гонадотропинов, как было отмечено, регулируется гипоталамическим гормоном гонадолиберином.

Химическая структура молекулы лютропина расшифрована полностью. Лютропин состоит из двух α - и β -субъединиц. Структура α -субъединиц гормона у большинства животных совпадает. Так, у овцы она содержит 96 аминокислотных остатков и 2 углеводных радикала. У человека α -субъединица гормона укорочена на 7 аминокислотных остатков с N-конца и отличается природой 22 аминокислот. Расшифрована также последовательность аминокислот в β -субъединицах лютропина свиньи и человека. α - и β -Субъ-единицы в отдельности лишены биологической активности (по аналогии с большинством субъединиц ферментов). Только их комплекс, образование которого, вероятнее всего, предопределено первичной структурой их, приводит к формированию биологически активной макромолекулярной структуры за счет гидрофобных взаимодействий.

10.3.8 Липотропные гормоны (ЛТГ, липотропины)

Среди гормонов передней доли гипофиза, структура и функция которых выяснены в последнее десятилетие, следует отметить липотропины, в частности β - и γ -ЛТГ. Наиболее подробно изучена первичная структура β -липотропина овцы и свиньи, молекулы которого состоят из 91 аминокислотного остатка и имеют существенные видовые различия в последовательности аминокислот. К биологическим свойствам β -липотропина относятся жиромобилизирующее действие, кортикотропная, меланоцитстимулирующая и гипокальциемическая активность и, кроме того, инсулиноподобный эффект, выражающийся в повышении скорости утилизации глюкозы в тканях.

Перечисленные биологические свойства обусловлены не β -липотропином, оказавшимся лишенным гормональной активности, а продуктами его распада, образующимися при ограниченном протеолизе. Оказалось, что в ткани мозга и в промежуточной доле гипофиза синтезируются биологически активные пептиды, наделенные опиатоподобным действием:



Повышенный интерес к указанным пептидам, в частности энкефалинам и эндорфинам, диктуется их необычайной способностью, подобно морфину, снимать болевые ощущения. Эта область исследования – поиск новых природных пептидных гормонов и (или) их направленный биосинтез – является интересной и многообещающей для развития физиологии, нейробиологии, неврологии и клиники.

10.4 Гормоны паращитовидных желез (паратгормоны)

К гормонам белковой природы относится также паратиреоидный гормон (паратгормон), точнее, группа паратгормонов, различающихся последовательностью аминокислот. Они синтезируются паращитовидными железами. Еще в 1909 г. было показано,

что удаление паращитовидных желез вызывает у животных тетанические судороги на фоне резкого падения концентрации кальция в плазме крови; введение солей кальция предотвращало гибель животных. Однако только в 1925 г. из паращитовидных желез был выделен активный экстракт, вызывающий гормональный эффект – повышение содержания кальция в крови. Чистый гормон был получен в 1970 г. из паращитовидных желез крупного рогатого скота; тогда же была определена его первичная структура. Выяснено, что паратгормон синтезируется в виде предшественника (115 аминокислотных остатков) пропаратгормона, однако первичным продуктом гена оказался препропаратгормон, содержащий дополнительно сигнальную последовательность из 25 аминокислотных остатков. Молекула паратгормона быка содержит 84 аминокислотных остатка и состоит из одной полипептидной цепи.

Выяснено, что паратгормон участвует в регуляции концентрации катионов кальция и связанных с ними анионов фосфорной кислоты в крови. Как известно, концентрация кальция в сыворотке крови относится к химическим константам, суточные колебания ее не превышают 3–5% (в норме 2,2–2,6 ммоль/л). Биологически активной формой считается ионизированный кальций, концентрация его колеблется в пределах 1,1–1,3 ммоль/л. Ионы кальция оказались эссенциальными факторами, не заменимыми другими катионами для ряда жизненно важных физиологических процессов: мышечное сокращение, нервно-мышечное возбуждение, свертывание крови, проницаемость клеточных мембран, активность ряда ферментов и т.д. Поэтому любые изменения этих процессов, обусловленные длительным недостатком кальция в пище или нарушением его всасывания в кишечнике, приводят к усилению синтеза паратгормона, который способствует вымыванию солей кальция (в виде цитратов и фосфатов) из костной ткани и соответственно к деструкции минеральных и органических компонентов костей.

Другой орган-мишень паратгормона – это почка. Паратгормон уменьшает реабсорбцию фосфата в дистальных канальцах почки и повышает канальцевую реабсорбцию кальция.

Следует указать, что в регуляции концентрации Ca^{2+} во внеклеточной жидкости основную роль играют три гормона: паратгормон, кальцитонин, синтезируемый в щитовидной железе, и кальцитриол $[1,25(OH)_2-D_3]$ – производное D_3 . Все три гормона регулируют уровень Ca^{2+} , но механизмы их действия различны. Так, главная роль кальцитриола заключается в стимулировании всасывания Ca^{2+} и фосфата в кишечнике, причем против концентрационного градиента, в то время как паратгормон способствует выходу их из костной ткани в кровь, всасыванию кальция в почках и выделению фосфатов с мочой.

10.5 Гормоны щитовидной железы

Щитовидная железа играет исключительно важную роль в обмене веществ. Об этом свидетельствуют резкое изменение основного обмена, наблюдаемое при нарушениях деятельности щитовидной железы, а также ряд косвенных данных, в частности обильное ее кровоснабжение, несмотря на небольшую массу (20–30 г). Щитовидная железа состоит из множества особых полостей – фолликулов, заполненных вязким секретом – коллоидом. В состав коллоида входит особый йодсодержащий гликопротеин с высокой мол. массой – порядка 650000 (5000 аминокислотных остатков). Этот гликопротеин получил название йодтиреоглобулина. Он представляет собой запасную форму тироксина и трийодтиронина – основных гормонов фолликулярной части щитовидной железы.

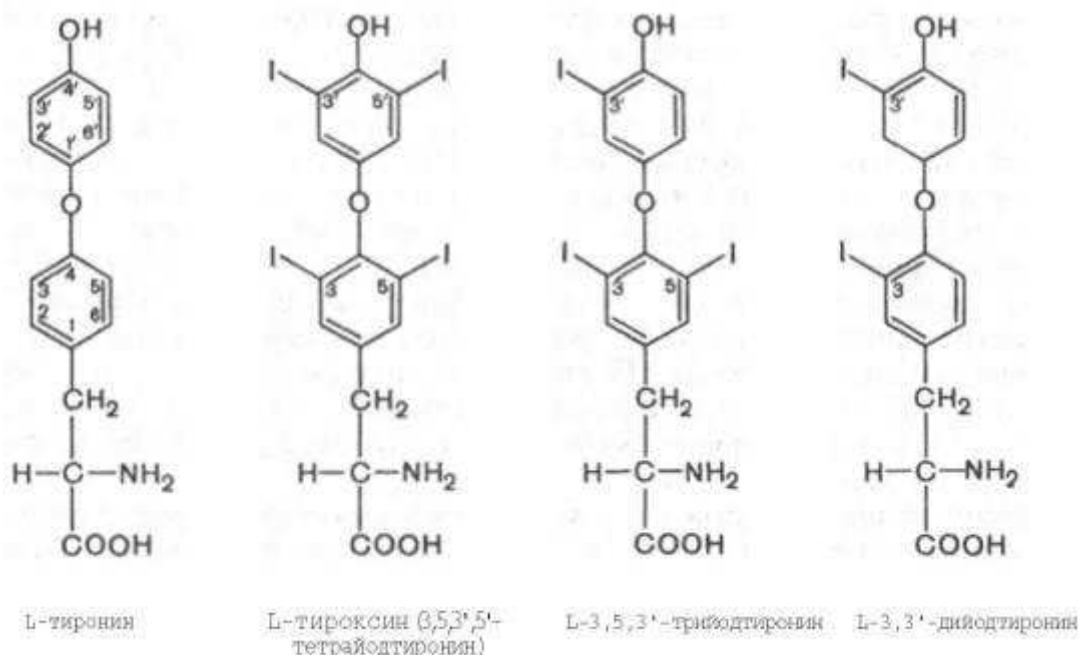
Помимо этих гормонов, в особых клетках – так называемых парафолликулярных клетках, или С-клетках щитовидной железы, синтезируется гормон пептидной природы, обеспечивающий постоянную концентрацию кальция в крови. Он получил название «кальцитонин». Впервые на существование кальцитонина, обладающего способностью

поддерживать постоянный уровень кальция в крови, указал в 1962 г. Д. Копп, который ошибочно считал, что этот гормон синтезируется паращитовидными железами. В настоящее время кальцитонин не только выделен в чистом виде из ткани щитовидной железы животных и человека, но и полностью раскрыта 32-членная аминокислотная последовательность, подтвержденная химическим синтезом. Ниже приведена первичная структура кальцитонина, полученного из щитовидной железы человека:



Биологическое действие кальцитонина прямо противоположно эффекту паратгормона: он вызывает подавление в костной ткани резорбтивных процессов и соответственно гипокальциемию и гипофосфатемию. Таким образом, постоянство уровня кальция в крови человека и животных обеспечивается главным образом паратгормоном, кальцитриолом и кальцитонином, т.е. гормонами как щитовидной и паращитовидных желез, так и гормоном – производным витамина D₃.

Химическая природа гормонов фолликулярной части щитовидной железы выяснена в деталях сравнительно давно. Считается установленным, что все йодсодержащие гормоны, отличающиеся друг от друга содержанием йода, являются производными L-тиронина, который синтезируется в организме из аминокислоты L-тирозина.



Из L-тиронина легко синтезируется гормон щитовидной железы тироксин, содержащий в 4 положениях кольцевой структуры йод. Следует отметить, что гормональной активностью наделены 3,5,3'-трийодтиронин и 3,3'-дийодтиронин, также открытые в щитовидной железе.

В настоящее время еще полностью не изучены ферментные системы, катализирующие промежуточные стадии синтеза этих гормонов, и природа фермента, участвующего в превращении йодидов в свободный йод (2I⁻), необходимый для йодирования 115 остатков тирозина в молекуле тиреоглобулина. Последовательность реакций, связанных с синтезом гормонов щитовидной железы, была расшифрована при помощи радиоактивного йода [¹³¹I]. Было показано, что введенный меченый йод прежде всего обнаруживается в молекуле монойодтирозина, затем - дийодтирозина и только потом – тироксина. Эти данные позволяли

предположить, что монойод- и дийодтирозины являются предшественниками тироксина. Однако известно также, что включение йода осуществляется не на уровне свободного тироксина, а на уровне полипептидной цепи тиреоглобулина в процессе его постсинтетической модификации в фолликулярных клетках. Дальнейший гидролиз тиреоглобулина под действием протеиназ и пептидаз приводит к образованию, как свободных аминокислот, так и к освобождению йодтиронинов, в частности тироксина, последующее депонирование которого способствует образованию трийодтиронина. Эта точка зрения кажется более правдоподобной с учетом универсальности постсинтетической химической модификации при биосинтезе биологически активных веществ в организме.

Катаболизм гормонов щитовидной железы протекает по двум направлениям: распад гормонов с освобождением йода (в виде йодидов) и дезаминирование (отщепление аминогруппы) боковой цепи гормонов. Продукты обмена или неизменные гормоны экскретируются почками или кишечником. Возможно, что некоторая часть неизменного тироксина, поступая через печень и желчь в кишечник, вновь всасывается, пополняя резервы гормонов в организме.

Биологическое действие гормонов щитовидной железы распространяется на множество физиологических функций организма. В частности, гормоны регулируют скорость основного обмена, рост и дифференцировку тканей, обмен белков, углеводов и липидов, водно-электролитный обмен, деятельность ЦНС, пищеварительного тракта, функцию сердечнососудистой системы, потребность в витаминах, сопротивляемость организма инфекциям и др. Точкой приложения действия тиреоидных гормонов, как и всех стероидов, считается генетический аппарат. Специфические рецепторы – белки – обеспечивают транспорт тиреоидных гормонов в ядро и взаимодействие со структурными генами, в результате чего увеличивается синтез ферментов, регулирующих скорость окислительно-восстановительных процессов. Естественно поэтому, что недостаточная функция щитовидной железы (гипофункция) или, наоборот, повышенная секреция гормонов (гиперфункция) вызывает глубокие расстройства физиологического статуса организма.

Гипофункция щитовидной железы в раннем детском возрасте приводит к развитию болезни, известной в литературе как *кретинизм*. Помимо остановки роста, специфических изменений кожи, волос, мышц, резкого снижения скорости процессов обмена, при кретинизме отмечаются глубокие нарушения психики; специфическое гормональное лечение в этом случае не дает положительных результатов.

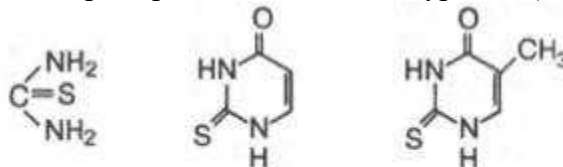
Недостаточная функция щитовидной железы в зрелом возрасте сопровождается развитием *гипотиреоидного отека*, или *микседемы* (от греч. туха – слизь, oedema – отек). Это заболевание чаще встречается у женщин и характеризуется нарушением водно-солевого, основного и жирового обмена. У больных отмечаются слизистый отек, патологическое ожирение, резкое снижение основного обмена, выпадение волос и зубов, общие мозговые нарушения и психические расстройства. Кожа становится сухой, температура тела снижается; в крови повышено содержание глюкозы. Гипотиреозидизм сравнительно легко поддается лечению препаратами щитовидной железы.

Следует отметить еще одно поражение щитовидной железы – *эндемический зоб*. Болезнь обычно развивается у лиц, проживающих в горных местностях, где содержание йода в воде и растениях недостаточно. Недостаток йода приводит к компенсаторному увеличению массы ткани щитовидной железы за счет преимущественного разрастания соединительной ткани, однако этот процесс не сопровождается увеличением секреции тиреоидных гормонов. Болезнь не приводит к серьезным нарушениям функций организма, хотя увеличенная в размерах щитовидная железа создает определенные неудобства. Лечение сводится к обогащению продуктов питания, в частности поваренной соли, неорганическим йодом.

Повышенная функция щитовидной железы (гиперфункция) вызывает развитие *гипертиреоза*, известного в литературе под названием «зоб диффузный токсический» (болезнь Грейвса, или базедова болезнь). Резкое повышение обмена веществ сопровождается усиленным распадом тканевых белков, что приводит к развитию отрицательного азотистого

баланса. Наиболее характерным проявлением болезни считается триада симптомов: резкое увеличение числа сердечных сокращений (тахикардия), пучеглазие (экзофтальм) и зоб, т.е. увеличенная в размерах щитовидная железа; у больных отмечаются общее истощение организма, а также психические расстройства.

При гиперфункции щитовидной железы и, в частности, токсическом зобе показано оперативное удаление всей железы или введение ^{131}I (β - и γ -излучение частично разрушает ткань железы) и антагонистов тироксина, тормозящих синтез тиреоидных гормонов. К подобным веществам относятся, например, тиомочевина, тиоурацил (или метилтиоурацил).



Тиомочевина Тиоурацил Метилтиоурацил

Снижают функцию щитовидной железы тиоцианат и вещества, содержащие аминобензольную группу, а также микродозы йода. Механизм действия антитиреоидных веществ окончательно не выяснен. Возможно, они оказывают ингибирующее действие на ферментные системы, участвующие в биосинтезе тиреоидных гормонов.

10.6 Гормоны поджелудочной железы

Поджелудочная железа относится к железам со смешанной секрецией. Внешнесекреторная функция ее заключается в синтезе ряда ключевых ферментов пищеварения, в частности амилазы, липазы, трипсина, химо-трипсина, карбоксипептидазы и др., поступающих в кишечник с соком поджелудочной железы. Внутрисекреторную функцию выполняют, как было установлено в 1902 г. Л.В. Соболевым, панкреатические островки (островки Лангерганса), состоящие из клеток разного типа и вырабатывающие гормоны, как правило, противоположного действия. Так, α - (или А-) клетки продуцируют глюкагон, β - (или В-) клетки синтезируют инсулин, δ - (или D-) клетки вырабатывают соматостатин и F-клетки – малоизученный панкреатический полипептид. Далее будут рассмотрены инсулин и глюкагон как гормоны, имеющие исключительно важное значение для жизнедеятельности организма.

Инсулин. Инсулин, получивший свое название от наименования панкреатических островков (лат. *insula* – островок), был первым белком, первичная структура которого была раскрыта в 1954 г. Ф. Сэнджером. В чистом виде инсулин был получен в 1922 г. после его обнаружения в экстрактах панкреатических островков Ф. Бантингом и Ч. Бестом. Молекула инсулина, содержащая 51 аминокислотный остаток, состоит из двух полипептидных цепей, соединенных между собой в двух точках дисульфидными мостиками. В настоящее время принято обозначать цепью А инсулина 21-членный пептид и цепью В – пептид, содержащий 30 остатков аминокислот. Во многих лабораториях осуществлен, кроме того, химический синтез инсулина. Наиболее близким по своей структуре к инсулину человека является инсулин свиньи, у которого в цепи В вместо треонина в положении 30 содержится аланин.

Существенных различий в аминокислотной последовательности в инсулине от разных животных нет. Инсулины различаются аминокислотным составом цепи А в положениях 8–10.

Согласно современным представлениям, биосинтез инсулина осуществляется в β -клетках панкреатических островков из своего предшественника проинсулина, впервые выделенного Д. Стайнером в 1966 г. В настоящее время не только выяснена первичная структура проинсулина, но и осуществлен его химический синтез. Проинсулин представлен одной полипептидной цепью, содержащей 84 аминокислотных остатка; он лишен биологической, т.е. гормональной, активности.

Синтезированный из проинсулина инсулин может существовать в нескольких формах, различающихся по биологическим, иммунологическим и физико-химическим свойствам. Различают две формы инсулина: 1) свободную, вступающую во взаимодействие с антителами, полученными к кристаллическому инсулину, и стимулирующую усвоение глюкозы мышечной и жировой тканями; 2) связанную, не реагирующую с антителами и активную только в отношении жировой ткани.

В физиологической регуляции синтеза инсулина доминирующую роль играет концентрация глюкозы в крови. Так, повышение содержания глюкозы в крови вызывает увеличение секреции инсулина в панкреатических островках, а снижение ее содержания, наоборот, – замедление секреции инсулина. Этот феномен контроля по типу обратной связи рассматривается как один из важнейших механизмов регуляции содержания глюкозы в крови. На секрецию инсулина оказывают влияние, кроме того, электролиты (особенно ионы кальция), аминокислоты, глюкагон и секретин. Приводятся доказательства роли циклазной системы в секреции инсулина. Предполагают, что глюкоза действует в качестве сигнала для активирования аденилат-циклазы, а образовавшийся в этой системе цАМФ – в качестве сигнала для секреции инсулина.

При недостаточной секреции (точнее, недостаточном синтезе) инсулина развивается специфическое заболевание – *сахарный диабет*. Помимо клинически выявляемых симптомов (полиурия, полидипсия и полифагия), сахарный диабет характеризуется рядом специфических нарушений процессов обмена. Так, у больных развиваются гипергликемия (увеличение уровня глюкозы в крови) и гликозурия (выделение глюкозы с мочой, в которой в норме она отсутствует). К расстройствам обмена относят также усиленный распад гликогена в печени и мышцах, замедление биосинтеза белков и жиров, снижение скорости окисления глюкозы в тканях, развитие отрицательного азотистого баланса, увеличение содержания холестерина и других липидов в крови. При диабете усиливаются мобилизация жиров из депо, синтез углеводов из аминокислот (глюконеогенез) и избыточный синтез кетонных тел (кетонурия). После введения больным инсулина все перечисленные нарушения, как правило, исчезают, однако действие гормона ограничено во времени, поэтому необходимо вводить его постоянно. Клинические симптомы и метаболические нарушения при сахарном диабете могут быть объяснены не только отсутствием синтеза инсулина. Получены доказательства, что при второй форме сахарного диабета, так называемой инсулинрезистентной, имеют место и молекулярные дефекты: в частности, нарушение структуры инсулина или нарушение ферментативного превращения проинсулина в инсулин. В основе развития этой формы диабета часто лежит потеря рецепторами клетками-мишеней способности соединяться с молекулой инсулина, синтез которого нарушен, или синтез мутантного рецептора.

У экспериментальных животных введение инсулина вызывает гипогликемию (снижение уровня глюкозы в крови), увеличение запасов гликогена в мышцах, усиление анаболических процессов, повышение скорости утилизации глюкозы в тканях. Кроме того, инсулин оказывает опосредованное влияние на водный и минеральный обмен.

Механизм действия инсулина окончательно не расшифрован, несмотря на огромное количество фактических данных, свидетельствующих о существовании тесной и прямой зависимости между инсулином и процессами обмена веществ в организме. В соответствии с «унитарной» теорией все эффекты инсулина вызваны его влиянием на обмен глюкозы через фермент гексокиназу. Новые экспериментальные данные свидетельствуют, что усиление и стимуляция инсулином таких процессов, как транспорт ионов и аминокислот, трансляция и синтез белка, экспрессия генов и др., являются независимыми. Это послужило основанием для предположения о множественных механизмах действия инсулина.

Глюкагон. Глюкагон впервые был обнаружен в коммерческих препаратах инсулина еще в 1923 г., однако только в 1953 г. венгерский биохимик Ф. Штрауб получил этот гормон в гомогенном состоянии. Глюкагон синтезируется в основном в α -клетках панкреатических островков поджелудочной железы, а также в ряде клеток кишечника. Он представлен одной

линейно расположенной полипептидной цепью, в состав которой входит 29 аминокислотных остатков в следующей последовательности:

Н-Гис-Сер-Гли-Гли-Тре-Фен-Тре-Сер-Асп-Тир-Сер-Лиз-Тир-Лей- Асп-Сер-Арг-Арг-Ала-Гли-Асп-Фен-Вал-Гли-Три-Лей-Мет-Асп-Тре-ОН

Первичная структура глюкагонов человека и животных оказалась идентичной; исключение составляет только глюкагон индюка, у которого вместо аспарагина в положении 28 содержится серин. Особенностью структуры глюкагона является отсутствие дисульфидных связей и цистеина. Глюкагон образуется из своего предшественника проглюкагона, содержащего на С-конце полипептида дополнительный октапептид (8 остатков). Имеются данные, что у проглюкагона, так же как и у проинсулина, существует предшественник – препроглюкагон (мол. масса 9000), структура которого пока не расшифрована.

По биологическому действию глюкагон, как и адреналин, относятся к гипергликемическим факторам, вызывает увеличение концентрации глюкозы в крови главным образом за счет распада гликогена в печени. Органами-мишенями для глюкагона являются печень, миокард, жировая ткань, но не скелетные мышцы. Биосинтез и секреция глюкагона контролируются главным образом концентрацией глюкозы по принципу обратной связи. Таким же свойством обладают аминокислоты и свободные жирные кислоты. На секрецию глюкагона оказывают влияние также инсулин и инсулиноподобные факторы роста.

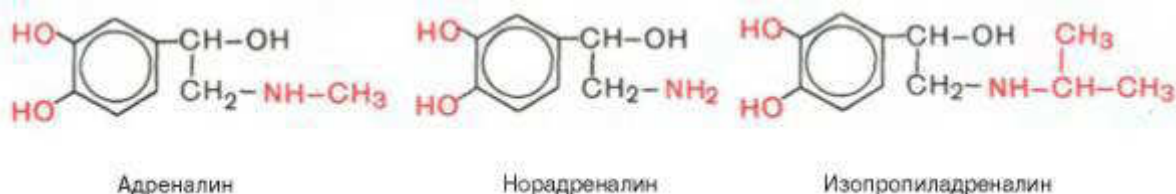
Общим итогом действия глюкагона являются ускорение распада гликогена и торможение его синтеза в печени, что приводит к увеличению концентрации глюкозы в крови.

Гипергликемический эффект глюкагона обусловлен, однако, не только распадом гликогена. Имеются бесспорные доказательства существования глюконеогенетического механизма гипергликемии, вызванной глюкагоном. Установлено, что глюкагон способствует образованию глюкозы из промежуточных продуктов обмена белков и жиров. Глюкагон стимулирует образование глюкозы из аминокислот путем индукции синтеза ферментов глюконеогенеза при участии цАМФ, в частности фосфоенолпируваткарбок-сикалазы – ключевого фермента этого процесса. Глюкагон в отличие от адреналина тормозит гликолитический распад глюкозы до молочной кислоты, способствуя тем самым гипергликемии. Существуют и различия в физиологическом действии: в отличие от адреналина глюкагон не повышает кровяного давления и не увеличивает частоту сердечных сокращений. Следует отметить, что, помимо панкреатического глюкагона, в последнее время доказано существование кишечного глюкагона, синтезирующегося по всему пищеварительному тракту и поступающего в кровь. Первичная структура кишечного глюкагона пока точно не расшифрована. Таким образом, панкреатические островки, синтезирующие два противоположного действия гормона – инсулин и глюкагон, выполняют ключевую роль в регуляции обмена веществ на молекулярном уровне.

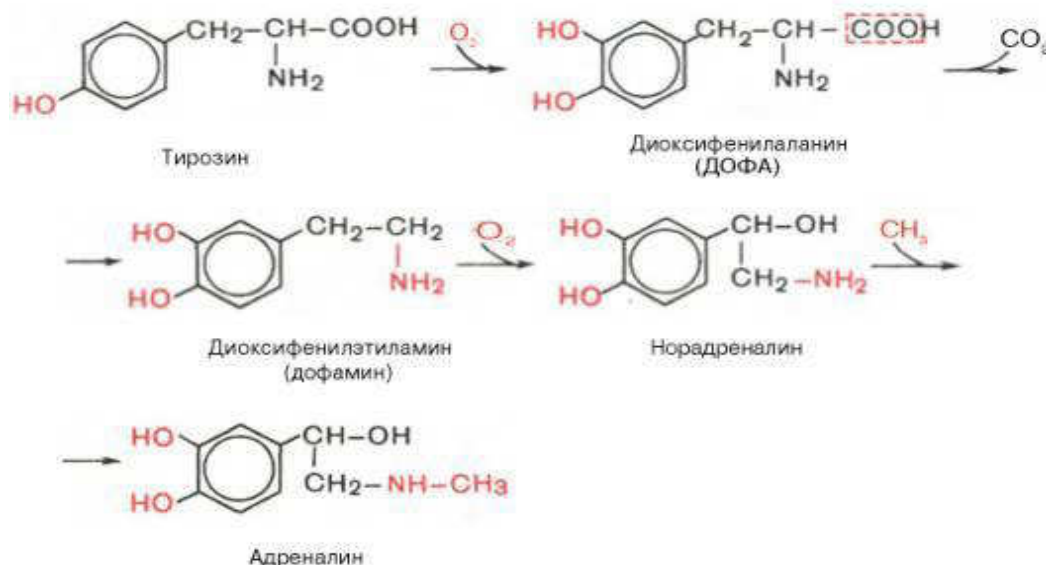
10.7 Гормоны надпочечников

Надпочечники состоят из двух индивидуальных в морфологическом и функциональном отношении частей – мозгового и коркового вещества. Мозговое вещество относится к хромаффинной, или адреналовой, системе и вырабатывает гормоны, которые считаются производными аминокислот. Корковое вещество состоит из эпителиальной ткани и секретирует гормоны стероидной природы.

Гормоны мозгового вещества надпочечников. О способности экстрактов из надпочечников повышать кровяное давление было известно еще в XIX в., однако только в 1901 г. Дж. Такаmine и сотр. выделили из мозгового слоя надпочечников активное начало, идентифицированное с адреналином. Это был первый гормон, полученный в чистом кристаллическом виде. Спустя более 40 лет, в 1946 г., из мозгового вещества был выделен еще один гормон – норадреналин, который до этого был синтезирован химическим путем. Помимо этих двух главных гормонов, в надпочечниках в следовых количествах синтезируется еще один гормон – изопрониладреналин. Все указанные гормоны имеют сходное строение.



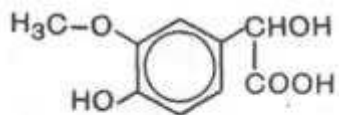
Эти гормоны по строению напоминают аминокислоту тирозин, от которого они отличаются наличием дополнительных ОН-групп в кольце и у β-углеродного атома боковой цепи и отсутствием карбоксильной группы. Действительно, получены экспериментальные доказательства, что предшественником гормонов мозгового вещества надпочечников является тирозин, подвергающийся в процессе обмена реакциям гидроксирования, декарбоксилирования и метилирования с участием соответствующих ферментов.



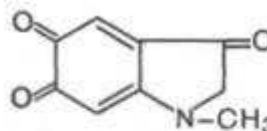
В мозговом веществе надпочечников человека массой 10 г содержится около 5 мг адреналина и 0,5 мг норадреналина. Содержание их в крови составляет соответственно 1,9 и 5,2 ммоль/л. В плазме крови оба гормона присутствуют как в свободном, так и в связанном, в частности, с альбуминами состоянии. Небольшие количества обоих гормонов откладываются в виде соли с АТФ в нервных окончаниях, освобождаясь в ответ на их раздражение. Адреналин и норадреналин, относятся к классу органических веществ, оказывающих сильное биологическое действие. Кроме того, все они оказывают мощное сосудосуживающее действие, вызывая повышение артериального давления, и в этом отношении действие их сходно с действием симпатической нервной системы. Известно мощное регулирующее влияние этих гормонов на обмен углеводов в организме. Так, в частности, адреналин вызывает резкое повышение уровня глюкозы в крови, что обусловлено ускорением распада гликогена в печени под действием фермента фосфорилазы. Гипергликемический эффект норадреналина значительно ниже – примерно 5% от действия адреналина. Параллельно отмечаются накопление гексозофосфатов в тканях, в частности в мышцах, уменьшение концентрации неорганического фосфата и повышение уровня

ненасыщенных жирных кислот в плазме крови. Имеются данные о торможении окисления глюкозы в тканях под влиянием адреналина. Это действие некоторые авторы связывают с уменьшением скорости проникновения (транспорта) глюкозы внутрь клетки.

Известно, что и адреналин, и норадреналин быстро разрушаются в организме; с мочой выделяются неактивные продукты их обмена, главным образом в виде 3-метокси-4-оксиминдальной кислоты, оксоадренохром, метоксинорадреналина и метоксиадреналина. Эти метаболиты содержатся в моче преимущественно в связанной с глюкуроновой кислотой форме.



3-Метокси-4-оксиминдальная кислота



Оксоадренохром

Гормоны коркового вещества надпочечников. Со второй половины XIX в. известно заболевание, названное бронзовой болезнью, или болезнью Аддисона, по имени автора, впервые описавшего его. Заболевание характеризуется усиленной пигментацией кожи, мышечной слабостью, расстройством функции пищеварительного тракта, резким нарушением водно-солевого обмена и обмена белков и углеводов. Как установлено, в основе заболевания лежит туберкулезное поражение надпочечников, которое приводит к недостаточности или отсутствию синтеза гормонов в корковом веществе.

При болезни Аддисона расстройства обмена выражаются резким снижением концентрации ионов натрия и хлора и повышением уровня ионов калия в крови и мышцах, потерей воды организмом и снижением уровня глюкозы в крови. Нарушения белкового обмена проявляются снижением синтеза белков из аминокислот и увеличением уровня остаточного азота в крови.

Раньше заболевание считалось неизлечимым и больные, как правило, умирали. После установления этиологии болезни и внедрения в медицинскую практику антибиотиков и специфических средств терапии туберкулеза болезнь поддается лечению.

Химическое строение, биосинтез и биологическое действие кортикостероидов. К настоящему времени из коркового вещества надпочечников человека, свиньи и быка выделено около 50 различных соединений, которым дано общее название «кортикоиды», или «кортикостероиды». Общее число всех стероидов, которые синтезируются в надпочечниках многих животных, приближается к 100, однако биологической активностью наделены не все кортикостероиды.

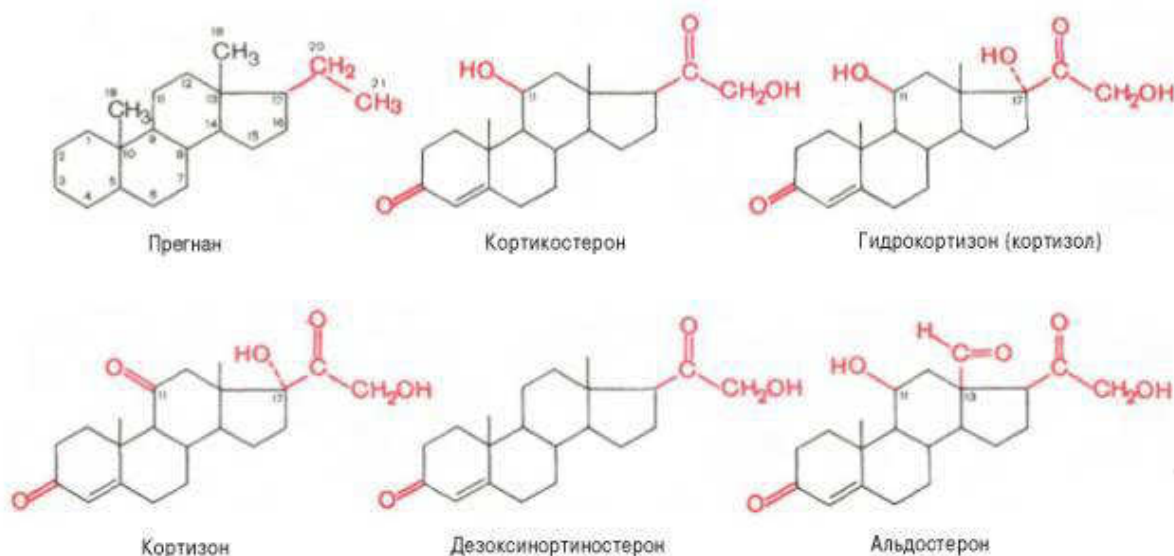
В зависимости от характера биологического эффекта гормоны коркового вещества надпочечников условно делят на глюкокортикоиды (кортикостероиды, оказывающие влияние на обмен углеводов, белков, жиров и нуклеиновых кислот) и минералокортикоиды (кортикостероиды, оказывающие преимущественное влияние на обмен солей и воды). К первым относятся кортикостерон, кортизон, гидрокортизон (кортизол), 11-дезоксикортизол и 11-дегидрокортикостерон, ко вторым – дезоксикортикостерон и альдостерон.

В основе их структуры, так же как и в основе строения холестерина, эргостерина, желчных кислот, витаминов группы D, половых гормонов и ряда других веществ, лежит конденсированная кольцевая система цикло-пентанпергидрофенантрена.

Для гормонов коркового вещества надпочечников, наделенных биологической активностью, общим в строении оказалось наличие 21 углеродного атома. Кроме того, для всех биоактивных гормонов коркового вещества надпочечников характерны следующие структурные признаки: наличие двойной связи между 4-м и 5-м углеродными атомами,

кетонной группы (C=O) у 3-го углеродного атома, боковая цепь (—CO—CH₂—OH) у 17-го углеродного атома.

У человека и большинства животных наиболее распространены 5 гормонов коркового вещества надпочечников.



Установлено, что предшественником кортикостероидов является холестерин(ол) и процесс стероидогенеза, как и нормальное гистологическое строение и масса надпочечников, регулируется АКТГ гипофиза. В свою очередь синтез АКТГ в гипофизе, а значит, и кортикостероидов в корковом веществе надпочечников регулируется гипоталамусом, который в ответ на стрессовые ситуации секретирует кортиколиберин. Имеются неоспоримые доказательства быстрого (кратковременного) и медленного (хронического) действия АКТГ на надпочечники, причем в остром случае ткань железы отвечает кратковременным увеличением синтеза кортикостероидов, в то время как при хроническом воздействии АКТГ отмечается его трофический эффект, который сводится к продолжительному увеличению секреции стероидных гормонов.

Получены экспериментальные доказательства индуцирующего действия кортикостероидов на синтез специфических мРНК и соответственно синтез белка.

Предполагают, что механизмы такого действия стероидов включают проникновение гормона вследствие легкой растворимости в жирах через липидный бислой клеточной мембраны, образование стероидрецепторного комплекса в цитоплазме клетки, последующее преобразование этого комплекса в цитоплазме, быстрый транспорт в ядро и связывание его с хроматином.

Основной путь биосинтеза кортикостероидов включает последовательное ферментативное превращение холестерина(ола) в прегненолон, который является предшественником всех стероидных гормонов (рис.28).



Рисунок 28 - Биосинтез прегненолона – предшественника стероидных гормонов. R обозначает кольцевые структуры (А, В, С) холестерина

Ферменты катализируют минимум две последовательные реакции гидроксилирования и реакцию отщепления боковой цепи холестерина (в виде альдегида изокапроновой кислоты). В качестве переносчика электронов участвует цитохром Р-450 в сложной оксигеназной системе, в которой принимают участие также электронтранспортирующие белки, в частности аденодоксин и аденодоксинредуктаза.

Глюкокортикоиды оказывают разностороннее влияние на обмен веществ в разных тканях. В мышечной, лимфатической, соединительной и жировой тканях глюкокортикоиды, проявляя катаболическое действие, вызывают снижение проницаемости клеточных мембран и соответственно торможение поглощения глюкозы и аминокислот; в то же время в печени они оказывают противоположное действие. Конечным итогом воздействия глюкокортикоидов является развитие гипергликемии, обусловленной главным образом глюконеогенезом.

Механизм развития гипергликемии после введения глюкокортикоидов включает, кроме того, снижение синтеза гликогена в мышцах, торможение окисления глюкозы в тканях и усиление распада жиров (соответственно сохранение запасов глюкозы, так как в качестве источника энергии используются свободные жирные кислоты).

Доказано индуцирующее действие кортизона и гидрокортизона на синтез в ткани печени некоторых белков-ферментов, свидетельствующее, что гормоны действуют на первую стадию передачи генетической информации – стадию транскрипции, способствуя синтезу мРНК.

Минералокортикоиды (дезоксикортикостерон и альдостерон) регулируют главным образом обмен натрия, калия, хлора и воды; они способствуют удержанию ионов натрия и хлора в организме и выведению с мочой ионов калия. По-видимому, происходит обратное всасывание ионов натрия и хлора в канальцах почек в обмен на выведение других продуктов обмена, в частности мочевины. Альдостерон получил свое название на основании наличия в его молекуле альдегидной группы у 13-го углеродного атома вместо метильной группы, как у всех остальных кортикостероидов. Альдостерон – наиболее активный минералокортикоид среди других кортикостероидов; в частности, он в 50–100 раз активнее дезоксикортикостерона по влиянию на минеральный обмен.

Известно, что период полураспада кортикостероидов составляет всего 70–90 мин. Кортикостероиды подвергаются или восстановлению за счет разрыва двойных связей (и присоединения атомов водорода), или окислению, которое сопровождается отщеплением боковой цепи у 17-го углеродного атома, причем в обоих случаях снижается биологическая активность гормонов. Образовавшиеся продукты окисления гормонов коркового вещества надпочечников называют 17-кетостероидами; они выводятся с мочой в качестве конечных продуктов обмена, а у мужчин являются также конечными продуктами обмена мужских половых гормонов. Определение уровня 17-кетостероидов в моче имеет большое клиническое значение. В норме в суточной моче содержится от 10 до 25 мг 17-кетостероидов у мужчин и от 5 до 15 мг – у женщин. При опухолях коркового вещества надпочечников резко увеличивается экскреция 17-кетостероидов с мочой – до 600 мг в сутки. Пониженное выделение 17-кетостероидов с мочой отмечается при евнухоидизме, гипофункции передней доли гипофиза. При аддисоновой болезни у мужчин экскреция 17-кетостероидов резко снижена (от 1 до 4 мг/сут), а у женщин при этом заболевании она практически не наблюдается. При микседеме (гипофункция щитовидной железы) суточное количество экскретируемых 17-кетостероидов близко к минимальному уровню (2–4 мг). Следует указать, однако, что применение гормонов щитовидной железы, хотя и эффективно при лечении основного заболевания, оказывает незначительное влияние на количество экскретируемых с мочой 17-кетостероидов.

Гормоны коркового вещества надпочечников в настоящее время широко используются в клинической практике в качестве лекарственных препаратов. Применение кортизона с лечебной целью явилось следствием случайного наблюдения. Было замечено, что при беременности тяжесть симптомов ревматоидного артрита резко снижается, однако

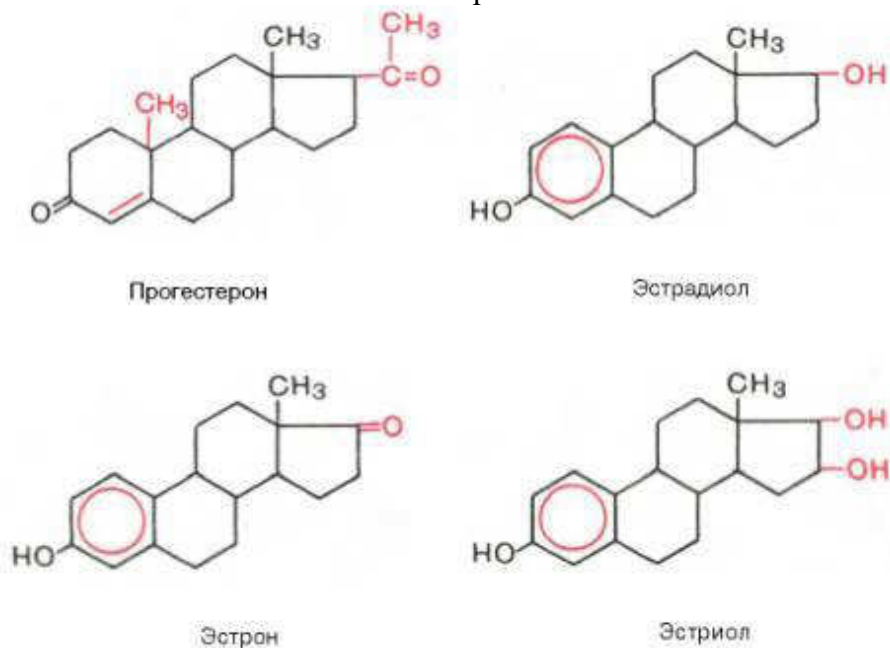
все эти симптомы вновь появляются после родов. Оказалось, что во время беременности происходят ускорение секреции гормонов коркового вещества надпочечников и поступление их в кровь. Параллельное гистологическое исследование надпочечников доказало резкое усиление роста и пролиферации клеток коркового вещества. Эти наблюдения навели на мысль об использовании гормонов коркового вещества надпочечников, в частности кортизона, при лечении ревматоидных артритов. Результаты лечения оказались настолько эффективными, что в первые годы применения кортизона некоторые авторы наблюдали почти 100% излечение артритов ревматического происхождения. Обладая противовоспалительной, антиаллергической и антииммунной активностью, глюкокортикоиды нашли широкое применение при лечении таких заболеваний, как бронхиальная астма, ревматоидный артрит, красная волчанка, пузырчатка, сенная лихорадка, различные аутоиммунные болезни, дерматозы и др. Однако длительное применение кортикостероидных препаратов может привести к серьезным нарушениям обменных процессов в организме.

10.8 Половые гормоны

Половые гормоны синтезируются в основном в половых железах женщин (яичники) и мужчин (семенники); некоторое количество половых гормонов образуется, кроме того, в плаценте и корковом веществе надпочечников. Следует отметить, что в мужских половых железах образуется небольшое количество женских гормонов и, наоборот, в яичниках синтезируется незначительное количество мужских половых гормонов. Это положение подтверждается исследованиями химической природы гормонов при некоторых патологических состояниях, когда отмечаются резкие сдвиги в соотношении синтеза мужских и женских половых гормонов.

Женские половые гормоны. Основным местом синтеза женских половых гормонов – эстрогенов (от греч. *oistros* – страстное влечение) – являются яичники и желтое тело; доказано также образование этих гормонов в надпочечниках, семенниках и плаценте. Впервые эстрогены обнаружены в 1927 г. в моче беременных, а в 1929 г. А. Бутенандт и одновременно Э. Дойзи выделили из мочи эстрон, который оказался первым стероидным гормоном, полученным в кристаллическом виде.

В настоящее время открыты 2 группы женских половых гормонов, различающихся своей химической структурой и биологической функцией: эстрогены (главный представитель – эстрадиол) и прогестины (главный представитель – прогестерон). Приводим химическое строение основных женских половых гормонов:



Наиболее активный эстроген – эстрадиол, синтезируется преимущественно в фолликулах; два остальных эстрогена являются производными эстрадиола и синтезируются также в надпочечниках и плаценте. Все эстрогены состоят из 18 атомов углерода. Секреция эстрогенов и прогестерона яичником носит циклический характер, зависящий от фазы полового цикла: в первой фазе цикла синтезируются в основном эстрогены, а во второй – преимущественно прогестерон.

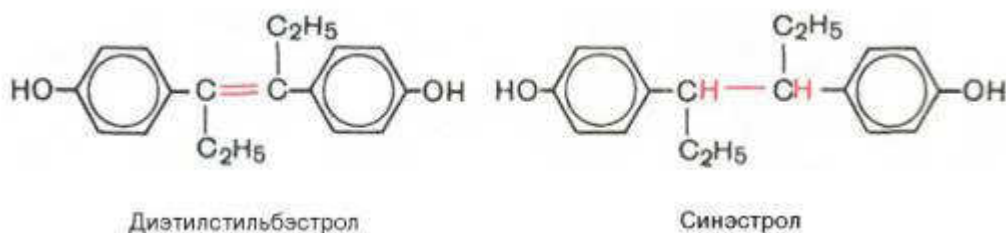
Предшественником этих гормонов, как и кортикостероидов, в организме является холестерин, который подвергается последовательным реакциям гидроксирования, окисления и отщепления боковой цепи с образованием прегненолона. Завершается синтез эстрогенов уникальной реакцией ароматизации первого кольца, катализируемой ферментным комплексом микросом ароматазой.

Следует указать, что во время беременности в женском организме функционирует еще один эндокринный орган, продуцирующий эстрогены и прогестерон, – плацента. Установлено, что одна плацента не может синтезировать стероидные гормоны и функционально полноценным эндокринным органом, скорее всего, является комплекс плаценты и плода – фетоплацентарный комплекс (от лат. foetus – плод). Особенность синтеза эстрогенов заключается также в том, что исходный материал – холестерин – поставляется организмом матери; в плаценте осуществляются последовательные превращения холестерина в прегненолон и прогестерон. Дальнейший синтез осуществляется только в тканях плода.

Ведущую роль в регуляции синтеза эстрогенов и прогестерона играют гонадотропные гормоны гипофиза (фоллитропин и лютропин), которые опосредованно, через рецепторы клеток яичника и систему аденилатцик-лаза–цАМФ и, вероятнее всего, путем синтеза специфического белка, контролируют синтез гормонов. Основная биологическая роль эстрогенов и прогестерона, синтез которых начинается после наступления половой зрелости, заключается в обеспечении репродуктивной функции организма женщины. В этот период они вызывают развитие вторичных половых признаков и создают оптимальные условия, обеспечивающие возможность оплодотворения яйцеклетки после овуляции. Прогестерон выполняет в организме ряд специфических функций: подготавливает слизистую оболочку матки к успешной имплантации яйцеклетки в случае ее оплодотворения, а при наступлении беременности основная роль – сохранение беременности; оказывает тормозящее влияние на овуляцию и стимулирует развитие ткани молочной железы. Эстрогены оказывают анаболическое действие на организм, стимулируя синтез белка.

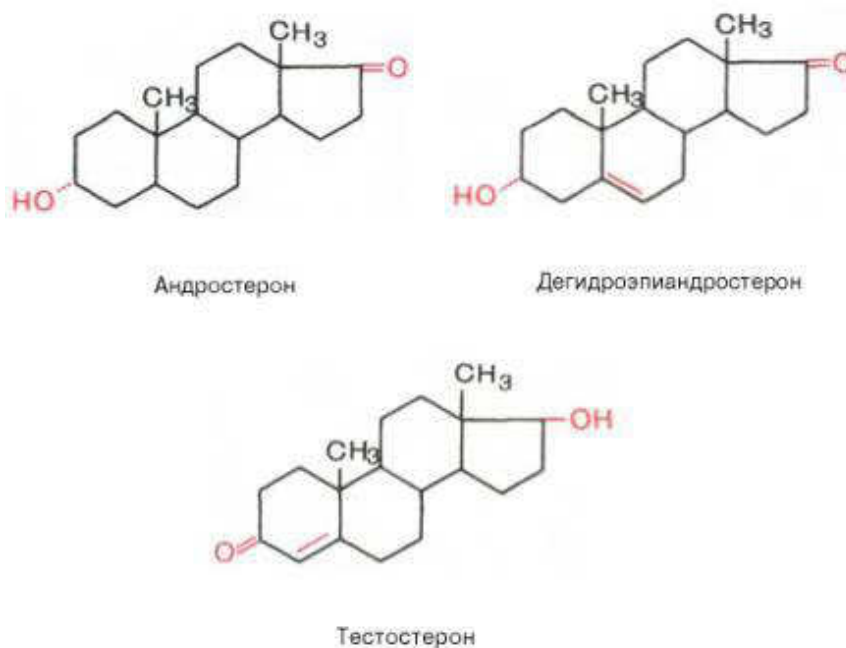
Распад эстрогенов, по-видимому, происходит в печени, хотя природа основной массы продуктов их обмена, выделяющихся с мочой, пока не выяснена. Они экскретируются с мочой в виде эфиров с серной или глюкуроновой кислотой, причем эстриол выделяется преимущественно в виде глюкуронида, а эстрон – эфира с серной кислотой. Прогестерон сначала превращается в печени в неактивный прегнандиол, который экскретируется с мочой в виде эфира с глюкуроновой кислотой.

В медицинской практике широкое применение получили природные гормоны и синтетические препараты, обладающие эстрогенной активностью, которые в отличие от первых не разрушаются в пищеварительном тракте. К синтетическим эстрогенам относятся диэтилстильбэстрол и синэстрол, являющиеся производными углеводорода стильбена.



Оба этих препарата и ряд других производных стильбена нашли также применение в онкологической практике: они тормозят рост опухоли предстательной железы.

Мужские половые гормоны. Внутрисекреторная функция мужских половых желез была установлена в 1849 г., однако только в 1931 г. А. Бутенандтом из мочи мужчин был выделен гормон в кристаллическом виде, который оказывал стимулирующее действие на рост петушиного гребня каплунов. Этот гормон был назван андростероном (от греч. andros – мужчина), а предложенная его химическая структура подтверждена химическим синтезом, осуществленным в 1934 г. одновременно А. Бутенандтом и Л. Ружичкой. В дальнейшем группа C₁₉-стероидов (состоят из 19 атомов углерода), обладающих способностью ускорять рост петушиного гребня, была названа андрогенами. В то же время гормон, выделенный из ткани семенников, оказался активнее андростерона почти в 10 раз и был идентифицирован в виде тестостерона (от лат. testis – семенник). Строение всех трех андрогенов может быть представлено в следующем виде:



Андрогены в отличие от эстрогенов имеют две метильные группы (у C₁₀- и C₁₃-атомов); в противоположность ароматическому характеру кольца А эстрогенов; тестостерон, кроме того, содержит кетонную группу (как и кортикостероиды).

Биосинтез андрогенов осуществляется главным образом в семенниках и частично в яичниках и надпочечниках. Основными источниками и предшественниками андрогенов, в частности тестостерона, являются уксусная кислота и холестерин. Существуют экспериментальные доказательства, что путь биосинтеза тестостерона от стадии холестерина включает несколько последовательных ферментативных реакций через прегненолон и 17- α -окси-прегненолон.

Биологическая роль андрогенов в мужском организме в основном связана с дифференцировкой и функционированием репродуктивной системы, причем в отличие от эстрогенов андрогенные гормоны уже в эмбриональном периоде оказывают существенное влияние на дифференцировку мужских половых желез. Во взрослом организме андрогены регулируют развитие мужских вторичных половых признаков, сперматогенез в семенниках и т.д. Следует отметить, что андрогены оказывают значительное анаболическое действие, выражающееся в стимуляции синтеза белка во всех тканях, но в большей степени в мышцах. Имеются данные, свидетельствующие об участии андрогенов в регуляции биосинтеза макромолекул в женских репродуктивных органах, в частности синтеза мРНК в матке.

Распад мужских половых гормонов в организме осуществляется в основном в печени по пути образования 17-кетостероидов. Период полураспада тестостерона не превышает

нескольких десятков минут. У взрослых мужчин с мочой экскретируется не более 1% неизмененного тестостерона, что свидетельствует о его расщеплении преимущественно в печени до конечных продуктов обмена. При некоторых заболеваниях увеличивается экскреция с мочой гидроксированных форм андрогенов. Следует указать также на возможность образования 17-кетостероидов из тестостерона у женщин. Отмечен высокий уровень частоты рака молочных желез у женщин с пониженной экскрецией 17-кетостероидов. Тестостерон и его синтетические аналоги (тестостерон-пропионат) нашли применение в медицинской практике в качестве лекарственных препаратов при лечении раковой опухоли молочной железы.

Простагландины. Термин «простагландины» был введен У. Эйлером, впервые показавшим, что в сперме человека и экстрактах из семенных пузырьков барана содержатся вещества, оказывающие выраженное вазопрессорное действие и вызывающие сокращение гладкой мускулатуры матки. Предположение У. Эйлера, что эти вещества являются специфическим секретом предстательной железы (prostate), не подтвердилось, поскольку, как теперь установлено, они содержатся во всех органах и тканях. Тем не менее, этот термин в литературе сохранился (синонимы: простатогландины, простагландины).

В последнее десятилетие простагландины и родственные им биологически активные соединения (лейкотриены, простаглицлины, тромбоксаны) были предметом пристального внимания исследователей. Объясняется это тем, что, помимо широкого распространения в тканях, они оказывают сильное фармакологическое действие на множество физиологических функций организма, регулируя гемодинамику почек, сократительную функцию гладкой мускулатуры, секреторную функцию желудка, жировой, водно-солевой обмен и др. Имеются данные о том, что простагландины, вероятно, не являются «истинными» гормонами, хотя некоторые авторы считают их «локальными, местными гормонами», однако было показано, что они модулируют действие гормонов.

В последнее время были подтверждены представления С. Бергстрёма и сотр., что предшественником всех простагландинов являются полиненасыщенные жирные кислоты, в частности арахидоновая кислота (и ряд ее производных, дигомо- γ -линоленовая и пентановая кислоты, в свою очередь образующиеся в организме из линолевой и линоленовой кислот. Арахидоновая кислота после освобождения из фосфоглицеринов (фосфолипидов) биомембран под действием специфических фосфолипаз А₂ (или С) в зависимости от ферментативного пути превращения дает начало простагландинам и лейкотриенам по схеме:



Рисунок 27 – Превращения фосфолипидов

Различают 2 класса первичных простагландинов: растворимые в эфире простагландины PGE и растворимые в фосфатном буфере простагландины PGF. Каждый из классов делится на подклассы: PGE₁, PGE₂, PGF₁, PGF₂и т.д. Простаглицлины и тромбосаны синтезируются из указанных промежуточных продуктов при участии отличных от изомераз ферментов. Детали механизма биосинтеза простаглицлинов пока до конца не выяснены, как и пути их окисления до конечных продуктов обмена.

Первичные простагландины синтезируются во всех клетках (за исключением эритроцитов), действуют на гладкие мышцы пищеварительного тракта, репродуктивные и респираторные ткани, на тонус сосудов, модулируют активность других гормонов, автономно регулируют нервное возбуждение, процессы воспаления (медиаторы), скорость почечного кровотока; биологическое действие их опосредовано путем регуляции синтеза цАМФ (см. далее).

Тромбосан А, в частности тромбосан А₂ (ТхА₂), синтезируется преимущественно в ткани мозга, селезенки, легких, почек, а также в тромбоцитах и воспалительной грануле из РGH₂ под действием тромбосансинтазы; из ТхА₂ образуются остальные тромбосаны. Они вызывают агрегацию тромбоцитов, способствуя тем самым тромбообразованию, и, кроме того, оказывают самое мощное сосудосуживающее действие из всех простаглицлинов.

Простаглицлин (PGI₂) синтезируется преимущественно в эндотелии сосудов, сердечной мышце, ткани матки и слизистой оболочке желудка. Он расслабляет в противоположность тромбосану гладкие мышечные волокна сосудов и вызывает дезагрегацию тромбоцитов, способствуя фибринолизу.

Следует указать также на особое значение соотношения в крови тромбосаны/простаглицлины, в частности ТхА₂/PGI₂ для физиологического статуса организма. Оказалось, что у больных, предрасположенных к тромбозам, имеется тенденция к смещению баланса в сторону агрегации; у больных, страдающих уреимией, напротив, наблюдается дезагрегация тромбоцитов.

Таким образом, благодаря своему широкому распространению в тканях и высокой и разносторонней биологической активности простаглицлины (и вообще простаглицлины) и лейкотриены находят все более широкое применение в медицинской практике в качестве лекарственных препаратов.

10.9 Гормоны вилочковой железы (тимуса)

Роль тимуса как эндокринной железы известна давно. Известно также, что тимус вскоре после рождения ребенка поставляет лимфоидные клетки в лимфатические узлы и селезенку и осуществляет образование и секрецию специфических гормонов, оказывающих влияние на развитие и созревание определенных клеток лимфоидной ткани. К настоящему времени из экстрактов вилочковой железы выделено и охарактеризовано несколько гормонов, в основном представленных низкомолекулярными полипептидами. Они оказывают влияние на различные типы лимфоидных клеток, выполняющих специфические функции. Приводим первичную структуру тимопоэтина II, выделенного из тимуса теленка, который является, по-видимому, основным гормоном, стимулирующим образование Т-лимфоцитов.

Н-Сер-Глн-Фен-Лей-Глу-Асп-Про-Сер-Вал-Лей-Тре-Лиз-Гли-Лиз-Лей-Лиз-Сер-Глу-Лей-Вал-Ала-Асп-Асп-Вал-Тре-Лей-Про-Ала-Гли-Глу-Глн-Арг-Лиз-Асп-Вал-Тир-Вал-Глн-Лей-Тир-Лей-Глу-Тре-Лей-Тре-Ала-Вал-Лиз-Арг-ОН

Тимопоэтин II состоит из 49 аминокислотных остатков. Предполагают, что активным центром гормона является пентапептид (он выделен и занимает 32–36-е положение с N-конца). Недавно этот короткий пятичленный пептид синтезирован химически и получил

название «тимопентин-5»; при введении в организм он усиливает неспецифические факторы защиты.

Еще одним гормоном, выделенным А. Гольдштейном с сотр. из вилочковой железы теленка, является тимозин α_1 (28 аминокислотных остатков). Предполагают, что тимозин α_1 в организме выполняет регуляторную функцию на поздних стадиях дифференцировки Т-клеток. Показано также, что он оказывает выраженное фармакологическое действие при лечении лейкозов и иммунной недостаточности.

Недавно получен новый гормон тимуса (нонапептид), индуцирующий дифференцировку Т-клеток. Для проявления его биологической активности требуется наличие двухвалентных ионов цинка. Цинксодержащий гормон имеет своеобразную конфигурацию.

В шишковидной железе (эпифизе) из аминокислоты триптофана синтезируется интересный, но мало изученный гормон мелатонин. Более 20 биологически активных гормонов выделены из пищеварительного тракта. Наиболее изученными из них являются гастрин I и гастрин II (17 и 14 аминокислотных остатков соответственно), регулирующие секрецию желудочного сока; прогастрин (34 АМК), считающийся циркулирующей в крови формой прогормона и превращающийся в активный гастрин I в клетках органа-мишени, а также глюкагон и секретин (27 АМК). В слизистой оболочке кишечника синтезируется, кроме того, соматостатин.

10.10 Молекулярные механизмы передачи гормонального сигнала

Несмотря на огромное разнообразие гормонов и гормоноподобных веществ, в основе биологического действия большинства гормонов лежат удивительно сходные, почти одинаковые фундаментальные механизмы, передающие информацию от одних клеток к другим. В современных представлениях о тонких молекулярных механизмах биологического действия большинства гормонов огромную роль сыграли исследования Э. Сазерленда и открытие циклического аденозинмонофосфата.

Известно, что направленность и тонкая регуляция процесса передачи информации обеспечиваются, прежде всего, наличием на поверхности клеток рецепторных молекул (чаще всего белков), узнающих гормональный сигнал. Этот сигнал рецепторы трансформируют в изменение концентраций внутриклеточных посредников, получивших название вторичных мессенджеров, уровень которых определяется активностью ферментов, катализирующих их биосинтез и распад.

По своей химической природе рецепторы почти всех биологически активных веществ оказались гликопротеинами, причем «узнающий» домен (участок) рецептора направлен в сторону межклеточного пространства, в то время как участок, ответственный за сопряжение рецептора с эффекторной системой (с ферментом, в частности), находится внутри (в толще) плазматической мембраны. Общим свойством всех рецепторов является их высокая специфичность по отношению к одному определенному гормону. Известно также, что сопряжение рецептора с эффекторными системами осуществляется через так называемый G-белок, функция которого заключается в обеспечении многократного проведения гормонального сигнала на уровне плазматической мембраны. G-белок в активированной форме стимулирует через аденилатциклазу синтез цАМФ, который запускает каскадный механизм активирования внутриклеточных белков.

Общим фундаментальным механизмом, посредством которого реализуются биологические эффекты «вторичных» мессенджеров внутри клетки, является процесс *фосфорилирования – дефосфорилирования* белков при участии широкого разнообразия протеинкиназ, катализирующих транспорт концевой группы от АТФ на ОН-группы серина и треонина.

Аденилатциклазная мессенджерная система. Наиболее изученным является аденилатциклазный путь передачи гормонального сигнала. В нем задействовано минимум пять хорошо изученных белков:

- 1) рецептор гормона;
- 2) фермент аденилатциклаза, выполняющая функцию синтеза цАМФ;
- 3) G-белок, осуществляющий связь между аденилатциклазой и рецептором;
- 4) цАМФ-зависимая протеинкиназа, катализирующая фосфорилирование внутриклеточных ферментов или белков-мишеней, соответственно изменяя их активность;
- 5) фосфодиэстераза, которая вызывает распад цАМФ и тем самым прекращает (обрывает) действие сигнала.

Аденилатциклаза представляет собой интегральный белок плазматических мембран, его активный центр ориентирован в сторону цитоплазмы и катализирует реакцию синтеза цАМФ из АТФ.

Протеинкиназа – это внутриклеточный фермент, через который цАМФ реализует свой эффект.

Следует отметить, что в клетках открыт большой класс цАМФ-зависимых протеинкиназ, названных протеинкиназами А; они катализируют перенос фосфатной группы на ОН-группы серина и треонина (так называемые серин-треонинкиназы). Другой класс протеинкиназ действует только на ОН-группу тирозина. Однако во всех случаях добавление фосфатной группы вызывает изменение активности белков или кинетические свойства.

Гормон соматостатин, соединяясь со своим специфическим рецептором – *ингибиторным* G-белком, ингибирует аденилатциклазу и синтез цАМФ, т.е. вызывает эффект, прямо противоположный вызываемому адреналином и глюкагоном.

Существуют и другие системы регуляции гормональных сигналов, например, гуанилатциклазная мессенджерная система, Ca^{2+} -мессенджерная система и др.

11 Обмен веществ и энергии

11.1 Понятие метаболизма.

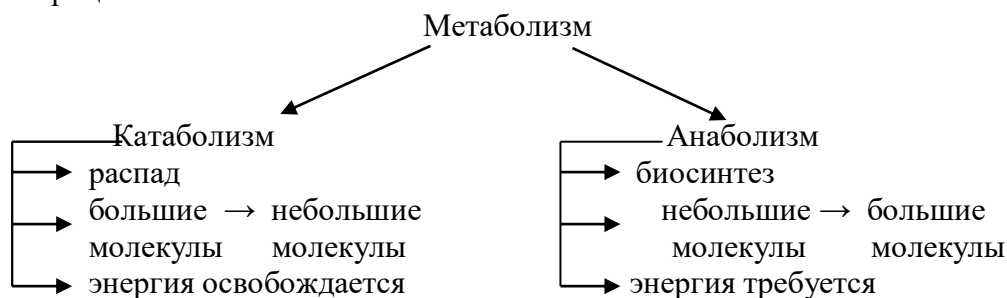
Жизнедеятельность организма обеспечивается тесной связью с внешней средой, которая поставляет кислород и питательные вещества и постоянным превращением этих веществ в клетках организма. Продукты распада используются для построения специфических для каждого органа и разнообразных по своим функциям клеток и тканей. Конечные продукты распада выделяются в окружающую среду и используются в дальнейшем в круговороте веществ. Питательные вещества, поступающие с пищей, являются, с одной стороны, источником энергии, необходимой для осуществления всех процессов, а с другой стороны, пластическим материалом, из которого строится тело организма.

Поступление питательных веществ и кислорода, превращение их в организме и выделение конечных продуктов в окружающую среду определяется как **обмен веществ** или **метаболизм**, который состоит из двух процессов: катаболизма (диссимиляции) и анаболизма (ассимиляции).

Процесс распада сложных веществ на более простые называется **катаболизмом**. Так, поступающие с пищей белки, жиры, углеводы под действием ферментов пищеварительного тракта распадаются на более простые составные части (аминокислоты, жирные кислоты и моносахариды). При этом высвобождается энергия. Обратный процесс, т. е. синтез сложных соединений из более простых называется **анаболизмом**. Он идет с затратой энергии. Из образовавшихся в результате пищеварения аминокислот, жирных кислот и моносахаридов в клетках синтезируются новые клеточные белки, фосфолипиды мембран и полисахариды.

Существует понятие **амфиболизм**, когда одно соединение разрушается, но при этом синтезируется другое.

Эти два процесса взаимосвязаны.



Метаболический путь - это характер и последовательность химических превращений конкретного вещества в организме. Промежуточные продукты, образовавшиеся в процессе метаболизма, называются метаболитами, а последнее соединение метаболического пути - конечный продукт.

Метаболический цикл - это метаболический путь, один из конечных продуктов которого идентичен одному из соединений, вовлеченных в этот процесс.

Частный путь метаболизма - совокупность превращений одного определенного соединения (углеводы или белки). Общий путь метаболизма - когда вовлекаются два и более вида соединений (углеводы, липиды и частично белки вовлечены в энергетический метаболизм).

Субстраты метаболизма - соединения, поступающие с пищей. Среди них выделяют основные пищевые вещества (белки, углеводы, липиды) и минорные, которые поступают в малых количествах (витамины, минеральные вещества).

Интенсивность метаболизма определяется потребностью клетки в тех или иных веществах или энергии, регуляция осуществляется четырьмя путями:

1) Суммарная скорость реакций определенного метаболического пути определяется концентрацией каждого из ферментов этого пути, значением pH среды, внутриклеточной концентрацией каждого из промежуточных продуктов, концентрацией кофакторов и коферментов.

2) Активностью регуляторных (аллостерических) ферментов, которые обычно катализируют начальные этапы метаболических путей. Большинство из них ингибируется конечным продуктом данного пути, и этот вид ингибирования называется "по принципу обратной связи".

3) Генетический контроль, определяющий скорость синтеза того или иного фермента.

4) Гормональная регуляция. Ряд гормонов способны активировать или ингибировать многие ферменты метаболических путей.

11.2 Биологическое окисление

При биологическом окислении от органической молекулы под действием соответствующего фермента отщепляются два атома водорода. В ряде случаев при этом между ферментами и окисленной молекулой образуется неустойчивая, богатая энергией (макроэнергетическая) связь. Она используется для образования АТФ — "конечной цели" большинства процессов биологического окисления. А два отнятых атома водорода оказываются в результате реакции связанными с коферментом НАД (никотинамидадениндинуклеотидом) или с НАДФ (никотинамидадениндинуклеотидфосфатом).

Дальнейшая судьба водорода может быть различной. При анаэробном окислении он переносится на некоторые органические молекулы. При аэробном окислении водород передаётся на кислород с образованием воды. Основная часть цепи переноса водорода

расположена в мембранах митохондрий. При этом из АДФ и неорганического фосфата образуется АТФ.

Надо отметить, что аэробное окисление намного эффективнее анаэробного. В первом случае из 1 молекулы глюкозы образуется 2 молекулы АТФ, а во втором — 36, где глюкоза "сжигается" до CO_2 и воды. Это и объясняет широкое распространение и бурную эволюцию аэробных организмов.

Основной источник энергии в клетке - окисление субстратов кислородом воздуха. Этот процесс осуществляется тремя путями: присоединением кислорода к атому углерода, отщеплением водорода или потерей электрона. В клетках окисление протекает в форме последовательного переноса водорода и электронов от субстрата к кислороду. Кислород играет в этом случае роль восстанавливающегося соединения (окислителя). Окислительные реакции протекают с высвобождением энергии. Для биологических реакций характерны сравнительно небольшие изменения энергии. Это достигается за счет дробления процесса окисления на ряд промежуточных стадий, что позволяет запасать ее небольшими порциями в виде макроэргических соединений (АТФ). Восстановление атома кислорода при взаимодействии с парой протонов и электронов приводит к образованию молекулы воды.

Тканевое дыхание. Это процесс потребления клетками тканей организма кислорода, который участвует в биологическом окислении. Такой вид окисления называют *аэробным окислением*. Если конечным акцептором в цепи переноса водорода выступает не кислород, а другие вещества (например пировиноградная кислота), то такой тип окисления называют *анаэробным*.

Т.о. биологическое окисление - это дегидрирование субстрата с помощью промежуточных переносчиков водорода и его конечного акцептора.

Дыхательная цепь (ферменты тканевого дыхания) - это переносчики протонов и электронов от окисляемого субстрата на кислород. Окислитель - это соединение, способное принимать электроны. Такая способность количественно характеризуется *окислительно-восстановительным потенциалом* по отношению к стандартному водородному электроду, рН которого равен 7,0. Чем меньше потенциал соединения, тем сильнее его восстанавливающие свойства и наоборот.

Т. о. любое соединение может отдавать электроны только соединению с более высоким окислительно-восстановительным потенциалом. В дыхательной цепи каждое последующее звено имеет более высокий потенциал, чем предыдущее.

Дыхательная цепь состоит из:

- 1 НАД - зависимой дегидрогеназы;
- 2 ФАД- зависимой дегидрогеназы;
- 3 Убихинона (КоQ);
- 4 Цитохромов b, c, a+a₃.

НАД-зависимые дегидрогеназы. В качестве кофермента содержат НАД и НАДФ. Пиридиновое кольцо никотинамида способно присоединять электроны и протоны водорода.

ФАД и ФМН-зависимые дегидрогеназы содержат в качестве кофермента фосфорный эфир витамина B₂ (ФАД).

Убихинон (КоQ) отнимает водород у флавопротеидов и превращается при этом в *гидрохинон*.

Цитохромы - белки хромопротеиды, способные присоединять электроны, благодаря наличию в своем составе в качестве простетических групп железопорфиринов. Они принимают электрон от вещества, являющегося немного более сильным восстановителем, и передают его более сильному окислителю. Атом железа связан с атомом азота имидазольного кольца аминокислоты гистидина с одной стороны от плоскости порфиринового цикла, а с другой стороны с атомом серы метионина. Поэтому потенциальная способность атома железа в цитохромах к связыванию кислорода подавлена.

В *цитохроме c* порфириновая плоскость ковалентно связана с белком через два остатка цистеина, а в *цитохромах b* и *a*, она ковалентно не связано с белком.

В цитохроме $a+a_3$ (цитохромоксидазе) вместо протопорфирина содержатся порфирин А, который отличается рядом структурных особенностей. Пятое координационное положение железа занято аминогруппой, принадлежащей остатку аминокислоты, входящего в состав самого белка.

В отличие от гема гемоглобина атом железа в цитохромах может обратимо переходить из двух в трехвалентное состояние, это обеспечивает транспорт электронов.

Механизм работы электронтранспортной цепи. Наружная мембрана митохондрий проницаема для большинства мелких молекул и ионов, внутренняя почти для всех ионов (кроме протонов H^+) и для большинства незаряженных молекул.

Процессы окисления и образования АТФ из АДФ и фосфорной кислоты, т.е. фосфорилирования протекают в митохондриях на внутренней мембране - кристах. Такая молекула содержит в себе три макроэргических связи. **Макроэргической** или богатой энергией называют химическую связь, при разрыве которой высвобождается более 4 ккал/моль. При гидролитическом расщеплении АТФ до АДФ и фосфорной кислоты высвобождается 7,3 ккал/моль. Ровно столько же тратится для образования АТФ из АДФ и остатка фосфорной кислоты и это один из основных путей запасаания энергии в организме.

В процессе транспорта электронов по дыхательной цепи высвобождается энергия, которая тратится на присоединение остатка фосфорной кислоты к АДФ с образованием одной молекулы АТФ и одной молекулы воды. В процессе переноса одной пары электронов по дыхательной цепи высвобождается и запасается в виде трех молекул АТФ 21,3 ккал/моль. Это составляет около 40 % высвободившейся при электронном транспорте энергии.

Такой способ запасаания энергии в клетке называется **окислительным фосфорилированием** или сопряженным фосфорилированием.

Скорость окислительного фосфорилирования зависит в первую очередь от содержания АТФ, чем быстрее она расходуется, тем больше накапливается АДФ, тем больше потребность в энергии и следовательно активнее идет процесс окислительного фосфорилирования. Регуляцию скорости окислительного фосфорилирования концентрацией в клетке АДФ называют дыхательным контролем.

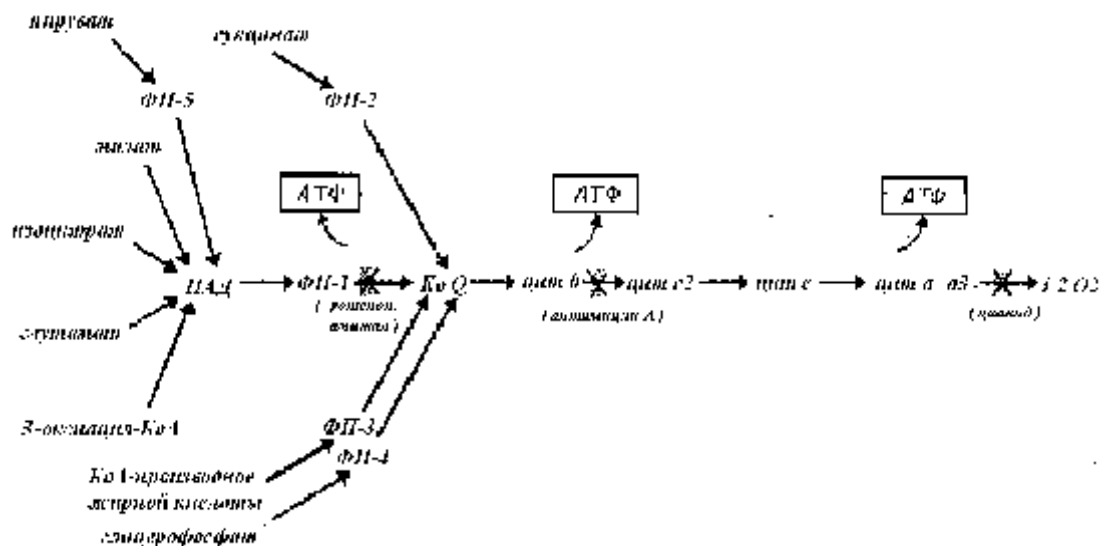


Рисунок 48.3. Схема электронтранспортной цепи. Показаны места поступления электронов от различных субстратов углеводного и липидного обмена. Обозначены участки образования АТФ, а также последствия разобщителя окислительного фосфорилирования. Сокращения: ФП - флавопротеин (ФАД-зависимая дегидрогеназа (по Лемпелеру А.)

Рисунок 27-Дыхательный контроль

11.3 АТФ (аденозинтрифосфорная кислота)

Живые организмы представляют собой термодинамически неустойчивые системы. Для их формирования и функционирования необходимо непрерывное поступление энергии в форме, пригодной для многопланового использования. Для получения энергии практически все живые существа на планете приспособились подвергать гидролизу одну из пиррофосфатных связей АТФ. В связи с этим одна из главных задач биоэнергетики живых организмов это восполнение использованных АТФ из АДФ и АМФ.

АТФ — нуклеозидтрифосфат, состоит из гетероциклического основания — аденина, углеводного компонента — рибозы и трех остатков фосфорной кислоты, соединенных последовательно друг с другом. В молекуле АТФ имеются три макроэнергетические связи.

АТФ содержится в каждой клетке животных и растений — в растворимой фракции цитоплазмы клетки — митохондриях, и ядрах. Она служит главным переносчиком химической энергии в клетки и играет важную роль в ее энергетике.

АТФ образуется из АДФ (аденозиндифосфорной) кислоты и неорганического фосфата (Фн) за счет энергии окисления в специфических реакциях фосфорилирования, происходящих в процессах гликолиза, внутримышечного дыхания и фотосинтеза. Эти реакции протекают в мембранах фторопластов и митохондрий, а также в мембранах фотосинтезирующих бактерий.



При химических реакциях в клетке потенциальная химическая энергия, запасенная в макроэнергетических связях АТФ, может переходить во вновь образующиеся фосфорилированные соединения: $\text{АТФ} + \text{D-глюкоза} = \text{АДФ} + \text{D-глюкозо-6-фосфат}$.

Она преобразуется в энергию тепловую, лучистую, электрическую, механическую и т.п., то есть служит в организме для теплообразования, свечения, накопления электричества, выполнения механической работы, биосинтеза белков, нуклеиновых кислот, сложных углеводов, липидов.

В организме АТФ синтезируется путём фосфорилирования АДФ:



Фосфорилирование АДФ возможно двумя способами: субстратное фосфорилирование и окислительное фосфорилирование (используя энергию окисляющихся веществ). Основная масса АТФ образуется на мембранах митохондрий в ходе окислительного фосфорилирования Н-зависимой АТФ-синтазой. Субстратное фосфорилирование АТФ не требует участия мембранных ферментов, оно происходит в процессе гликолиза или путём переноса фосфатной группы с других макроэргических соединений.

Реакции фосфорилирования АДФ и последующего использования АТФ в качестве источника энергии образуют циклический процесс, составляющий суть энергетического обмена.

В организме АТФ является одним из самых часто обновляемых веществ, так у человека продолжительность жизни одной молекулы АТФ менее 1 мин. В течение суток одна молекула АТФ проходит в среднем 2000—3000 циклов ресинтеза (человеческий

организм синтезирует около 40 кг АТФ в день), то есть запаса АТФ в организме практически не создаётся, и для нормальной жизнедеятельности необходимо постоянно синтезировать новые молекулы АТФ.

АТФ — единый универсальный источник энергии для функциональной деятельности клетки.

12 Обмен углеводов

12.1 Переваривание и всасывание

Переваривание углеводов начинается уже в ротовой полости под воздействием слюны, содержащей ферменты амилазу и мальтазу, которые обеспечивают распад углеводов до глюкозы.

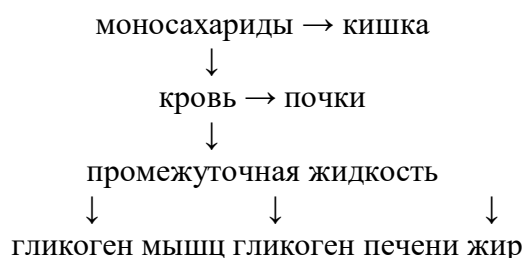
В полости желудка не происходит переваривания углеводов, т.к. нет ферментов, катализирующих этот процесс, а амилаза слюны, попавшая в желудок, быстро инактивируется в сильноокислой среде желудка (рН 1,5-2,0, оптимум для амилазы 6,8-7,2)

Основное переваривание происходит в тонкой кишке, где имеются все условия: сок поджелудочной железы и кишечный сок, в котором содержатся ферменты, гидролизующие углеводы, слабощелочная среда.

Амилаза поджелудочной железы гидролизует крахмал вначале до декстринов, они распадаются до мальтозы (этот фермент расщепляет 1-4 связи, есть ферменты, расщепляющие 1-6 связи). Мальтоза, в конечном счете, расщепляется до 2 молекул глюкозы, лактоза – до молекулы глюкозы и галактозы, сахароза – до молекул глюкозы и фруктозы. Таким образом, в кишечнике углеводы распадаются до моносахаридов, которые всасываются в кровь.

Клетчатка не расщепляется в тонком кишечнике, поэтому в неизменном виде поступает в толстый кишечник, где гидролизуются ферментами микроорганизмов (целлюлазой), которые разрушают клеточные оболочки. Но, в основном, целлюлоза не переваривается и выделяется наружу.

Дальнейшая судьба моносахаридов следующая:



12.2 Промежуточный обмен

12.2.1 Общая характеристика

Превращение углеводов в клетках идет двумя путями: аэробным – при доступе кислорода и анаэробным при недостатке кислорода. Аэробное превращение протекает двумя путями – прямым и непрямым.

Анаэробный распад



Аэробный распад



непрямой



прямой

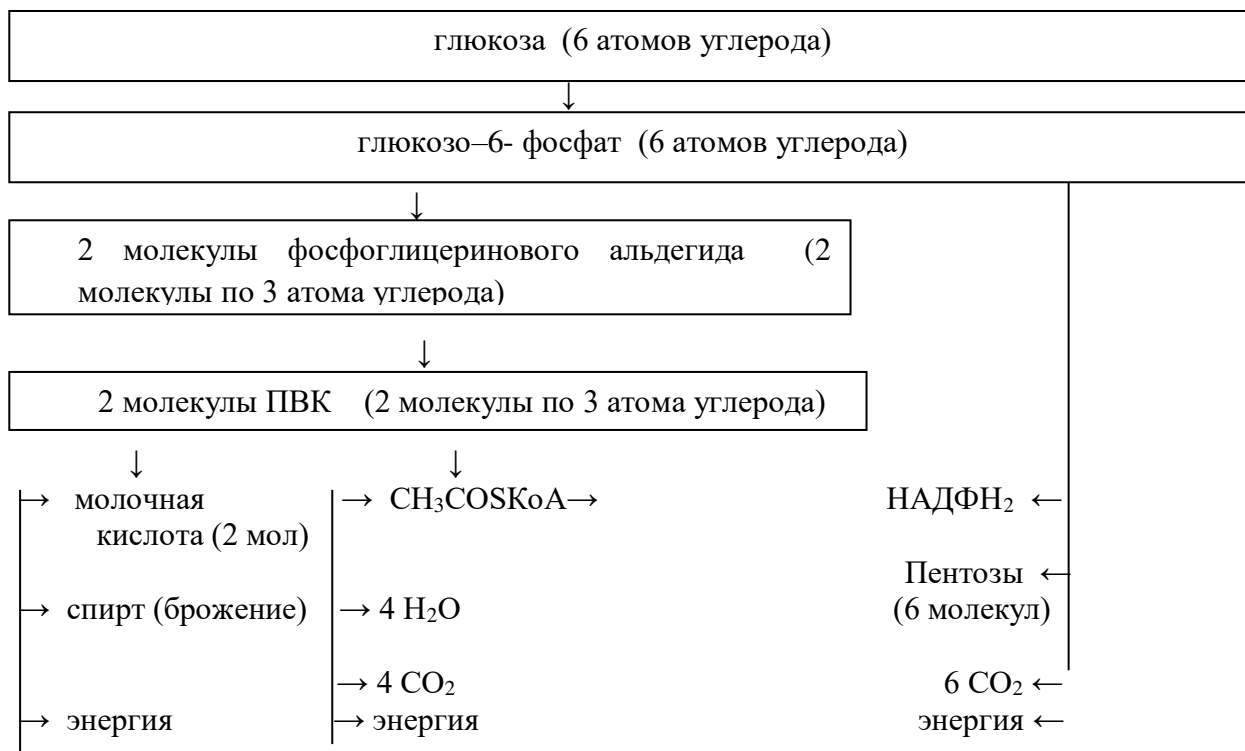


Рисунок 28 - Гликолиз

На схеме видно, что превращение углеводов до стадии образования глюкозо-6-фосфат идет одинаково по любому пути. Далее при непрямом аэробном распаде образуется 2 молекулы фосфоглицеринового альдегида, содержащие по 3 атома углерода – это дихотомический путь.

Прямой путь – апотомический (пентозный цикл) – прямое окисление глюкозы-6-фосфат до рибулозы-5фосфат, без деления пополам.

При расщеплении углеводов выделяется энергия.

12.2.2 Анаэробный распад

Анаэробный распад начинается с распада глюкозы – *гликолиз* или с распада гликогена – *гликогенолиз*. Этот путь распада происходит в основном в мышцах. Сущность этого процесса заключается в расщеплении глюкозы на 2 молекулы молочной кислоты и в освобождении энергии, которая частично расходуется в виде тепла, частично накапливается в виде АТФ. При этом гликолиз дает две, а гликогенолиз – три молекулы АТФ.

Основные этапы гликолиза:

I этап – превращение гексоз

II этап – превращение триоз

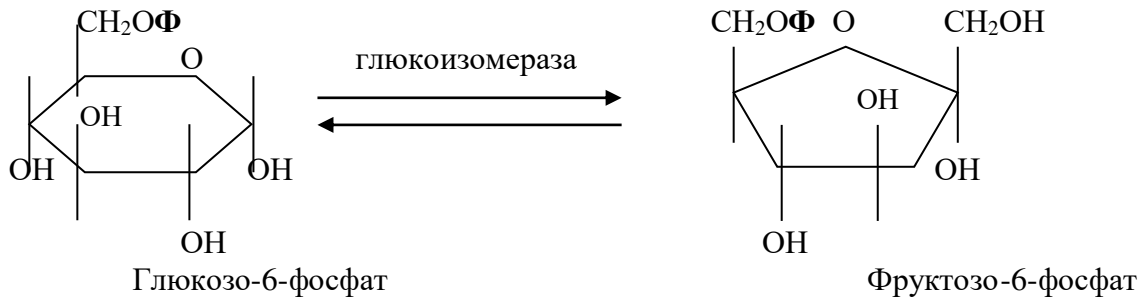
III этап – превращение оксокарбоновых кислот.

I этап 1. Фосфорилирование (активация) глюкозы:

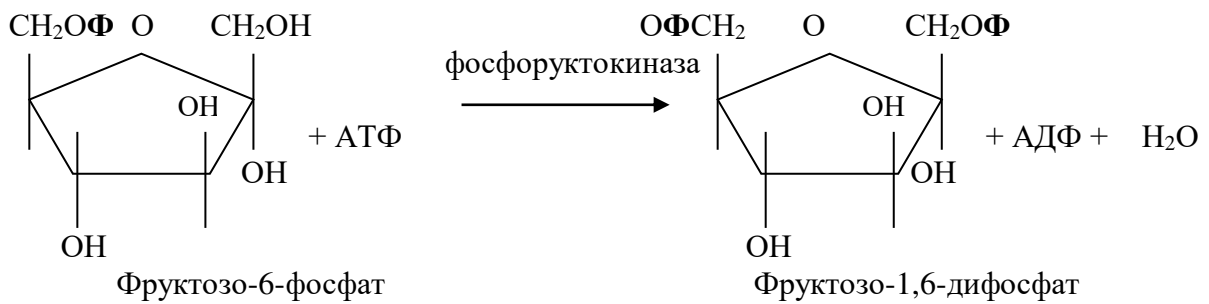


Глюкозо-6-фосфат

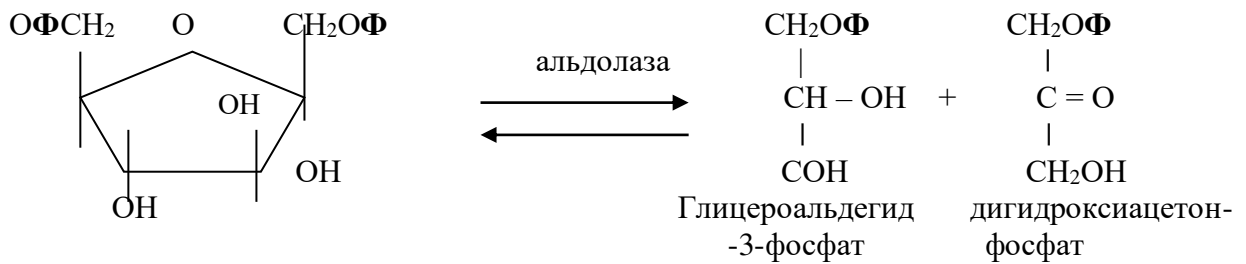
2. Изомеризация глюкозо-6-фосфат (реакция внутримолекулярной дисмутации):



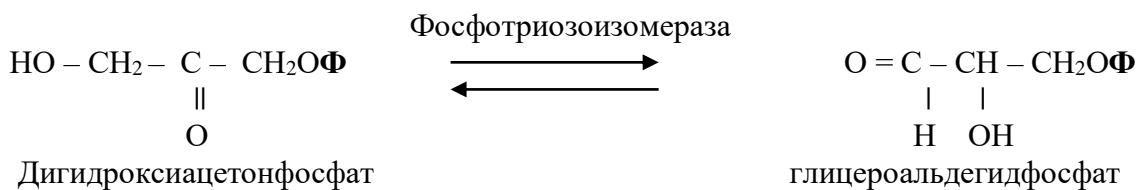
3. Фосфорилирование фруктозо-6-фосфат (реакция необратимая и самая медленная):



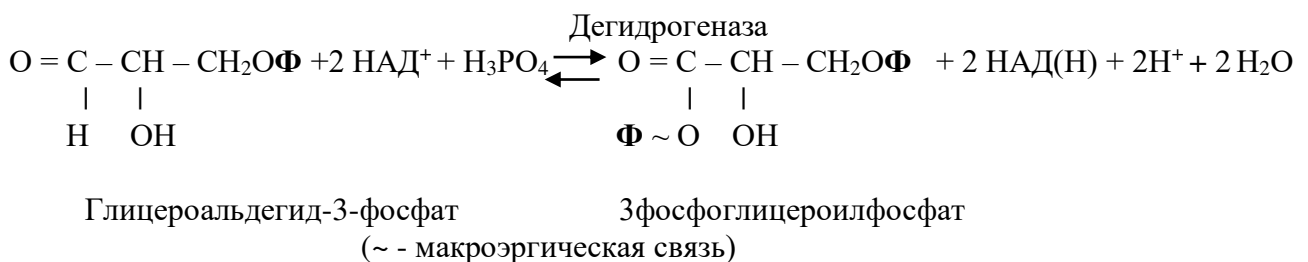
4. Альдольное расщепление фруктозо-1,6-дифосфат



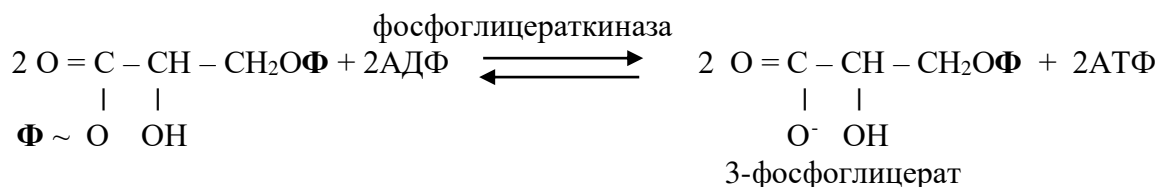
II этап 5. Изомеризация дигидроксиацетонфосфата



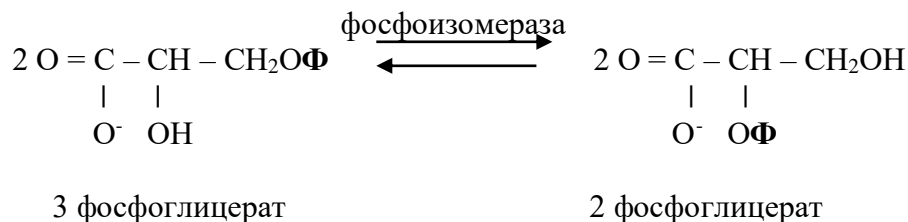
6. Окисление, сопряженное с фосфорилированием.



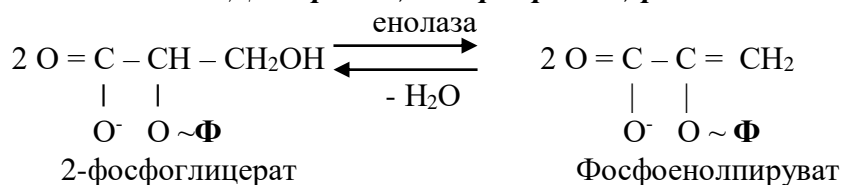
7. Гидролиз 3 фосфоглицероилфосфата



8. Изомеризация 3-фосфоглицерата



III этап 9. Дегидратация 2-фосфоглицерата



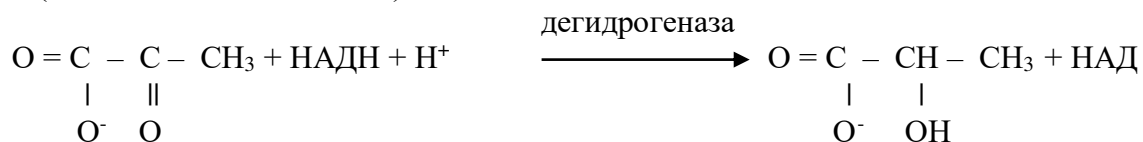
Реакция внутримолекулярной дисмутации с образованием макроэргической связи

10. Кислотный гидролиз фосфоенолпирувата в пируват

Реакция необратимая.



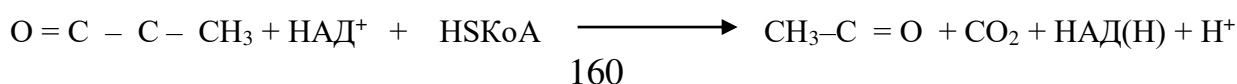
Рассмотренные реакции протекают в аэробных условиях. Дальнейшее превращение пирувата зависит от условий. В анаэробных условиях пируват под действием лактатдегидрогеназы и НАД(Н), образующегося в результате гликолиза, восстанавливается в лактат (анион молочной кислоты).

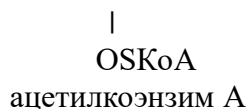


Молочная кислота выводится из организма в кровь, оттуда поступает в печень, где превращается в пируват.

12.2.3 Аэробный распад

Пируват, образующийся при анаэробном пути распада углеводов, под действием пируватдегидрогеназы (НАД⁺ и кофермент HSKoA) декарбокксилируется с образованием ацетил коэнзима А.





Образующийся ацетилкоэнзим А вступает в реакцию цикла Кребса, где остаток ацильной кислоты окисляется до углекислого газа и воды.

Цикл трикарбоновых кислот впервые был открыт английским биохимиком Г. Кребсом. Он первым постулировал значение данного цикла для полного сгорания пирувата, главным источником которого является гликолитическое превращение углеводов. В дальнейшем было показано, что цикл трикарбоновых кислот является тем центром, в котором сходятся практически все метаболические пути. Таким образом, *цикл Кребса* – общий конечный путь окисления ацетильных групп (в виде ацетил-КоА), в которые превращается в процессе *катаболизма* большая часть органических молекул, играющих роль «клеточного топлива»: углеводов, жирных кислот и аминокислот.

Образовавшийся в результате окислительного декарбоксилирования пирувата в митохондриях ацетил-КоА вступает в цикл Кребса. Данный цикл происходит в матриксе митохондрий и состоит из восьми последовательных реакций (рис.29).

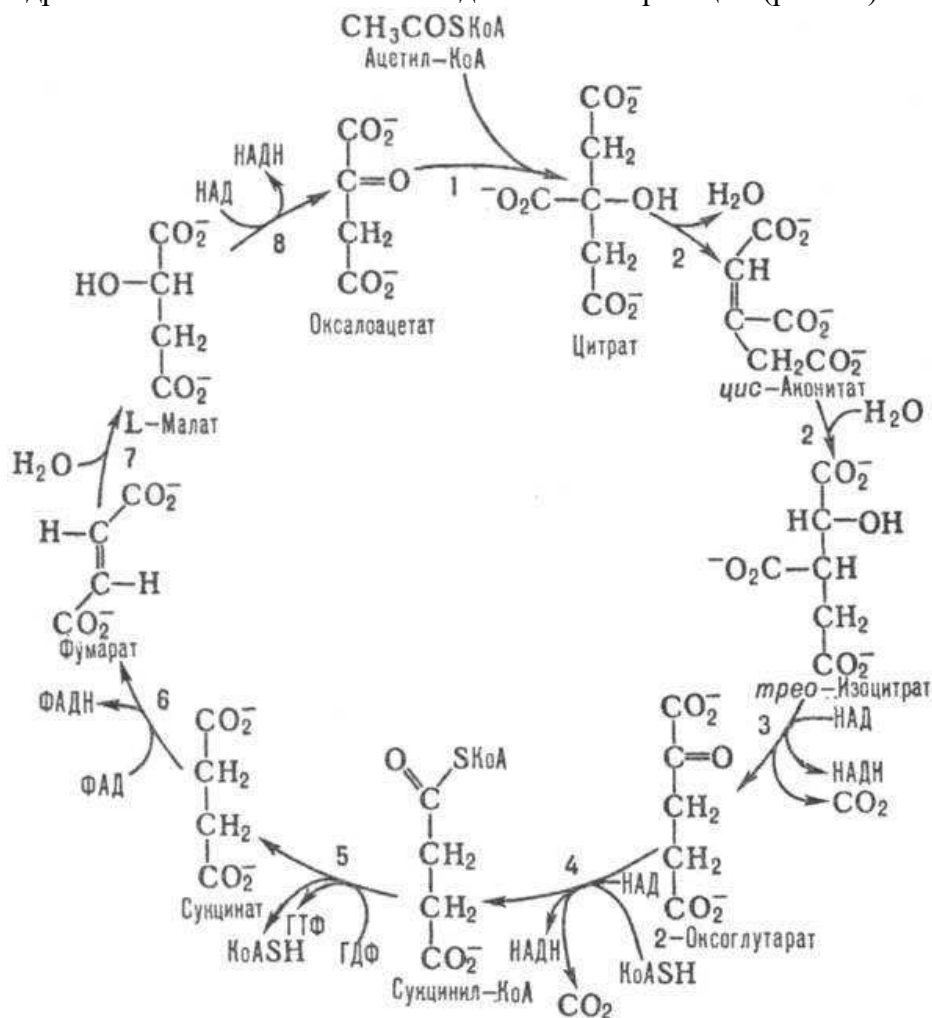
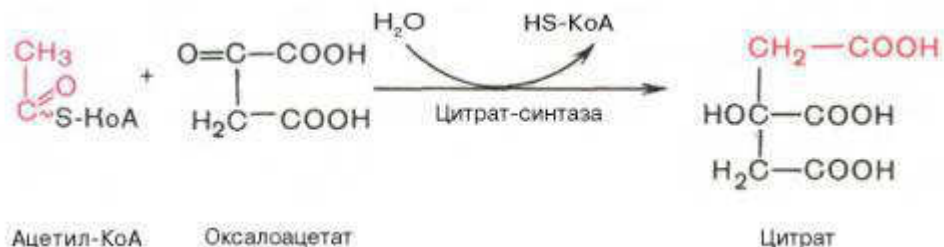


Рисунок 29 - Цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса)

Начинается цикл с присоединения ацетил-КоА к оксалоацетату и образования лимонной кислоты (цитрата). Затем лимонная кислота (шестиуглеродное соединение) путем ряда дегидрирований (отнятие водорода) и двух декарбоксилирований (отщепление CO_2) теряет два углеродных атома и снова в цикле Кребса превращается в оксалоацетат

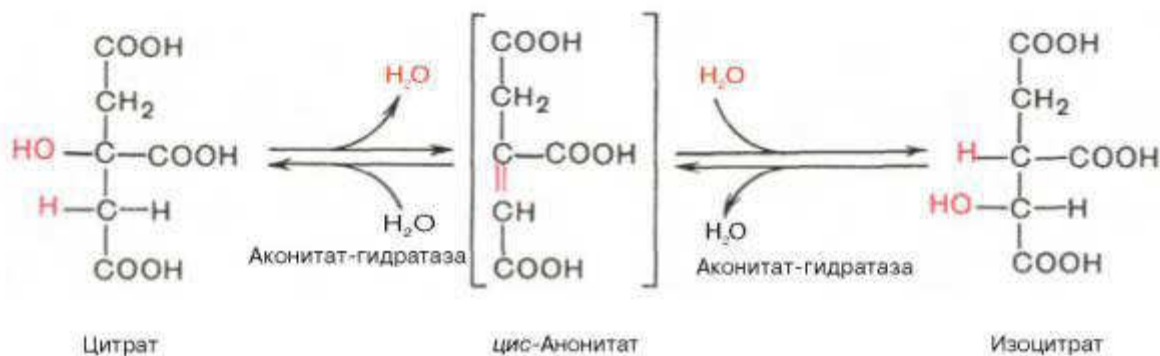
(четырёхуглеродное соединение), т.е. в результате полного оборота цикла одна молекула ацетил-КоА сгорает до CO_2 и H_2O , а молекула оксалоацетата регенерируется. Рассмотрим все восемь последовательных реакций (этапов) цикла Кребса.

Первая реакция катализируется ферментом цитратсинтазой, при этом ацетильная группа ацетил-КоА конденсируется с оксалоацетатом, в результате чего образуется лимонная кислота:



По-видимому, в данной реакции в качестве промежуточного продукта образуется связанный с ферментом цитрил-КоА. Затем последний самопроизвольно и необратимо гидролизуется с образованием цитрата и HS-КоА.

В результате *второй* реакции образовавшаяся лимонная кислота подвергается дегидратированию с образованием цис-аконитовой кислоты, которая, присоединяя молекулу воды, переходит в изолимонную кислоту (изоцитрат). Катализируют эти обратимые реакции гидратации–дегидратации фермент аконитатгидратаза (аконитаза). В результате происходит взаимоперемещение H и OH в молекуле цитрата:



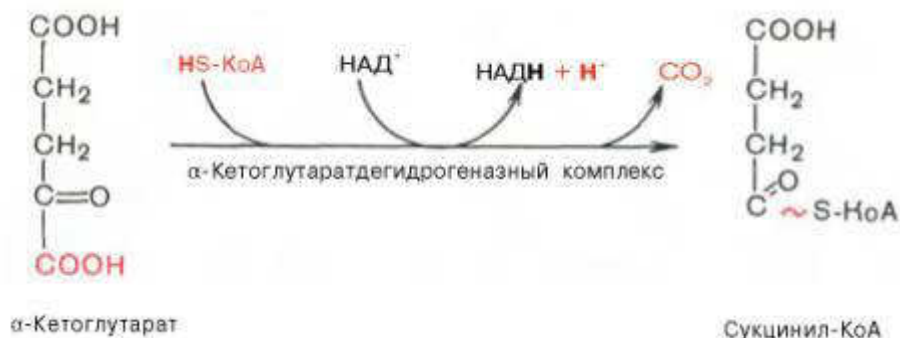
Третья реакция, по-видимому, лимитирует скорость цикла Кребса. Изолимонная кислота дегидрируется в присутствии НАД-зависимой изо-цитратдегидрогеназы.



В ходе изоцитратдегидрогеназной реакции изолимонная кислота одновременно декарбоксилируется. НАД-зависимая изоцитратдегидрогеназа является аллостерическим ферментом, которому в качестве специфического активатора необходим АДФ. Кроме того, фермент для проявления своей активности нуждается в ионах Mg^{2+} или Mn^{2+} .

Во время *четвертой* реакции происходит окислительное декарбоксилирование α-кетоглутаровой кислоты с образованием высокоэнергетического соединения сукцинил-КоА. Механизм этой реакции сходен с таковым реакции окислительного декарбоксилирования пирувата до ацетил-КоА, α-кетоглутаратдегидрогеназный комплекс напоминает по своей

структуре пируватдегидрогеназный комплекс. Как в одном, так и в другом случае в реакции принимают участие 5 коферментов: ТПФ, амид липоевой кислоты, HS-CoA, ФАД и НАД⁺.



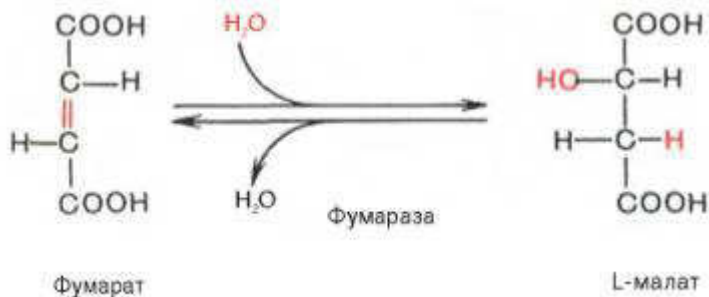
Пятая реакция катализируется ферментом сукцинил-КоА-синтетазой. В ходе этой реакции сукцинил-КоА при участии ГДФ и неорганического фосфата превращается в янтарную кислоту (сукцинат). Одновременно происходит образование высокоэнергетической фосфатной связи ГТФ за счет высокоэнергетической тиоэфирной связи сукцинил-КоА:



В результате шестой реакции сукцинат дегидрируется в фумаровую кислоту. Окисление сукцината катализируется сукцинатдегидрогеназой, в молекуле которой с белком прочно (ковалентно) связан кофермент ФАД. В свою очередь сукцинатдегидрогеназа прочно связана с внутренней митохондриальной мембраной:



Седьмая реакция осуществляется под влиянием фермента фумаратгидратазы (фумаразы). Образовавшаяся при этом фумаровая кислота гидратируется, продуктом реакции является яблочная кислота (малат). Следует отметить, что фумаратгидратаза обладает стереоспецифичностью – в ходе реакции образуется L-яблочная кислота:



Наконец, в ходе *восьмой* реакции цикла трикарбоновых кислот под влиянием митохондриальной НАД-зависимой малатдегидрогеназы происходит окисление L-малата в оксалоацетат:



Как видно, за один оборот цикла, состоящего из восьми ферментативных реакций, происходит полное окисление («сгорание») одной молекулы ацетил-КоА. Освобождающаяся в результате окисления ацетил-КоА энергия в значительной мере сосредоточивается в макроэргических фосфатных связях АТФ. При окислении одной молекулы ацетил-КоА в цикле Кребса и системе окислительного фосфорилирования может образоваться 12 молекул АТФ.

Если подсчитать полный энергетический эффект гликолитического расщепления глюкозы и последующего окисления двух образовавшихся молекул пирувата до CO_2 и H_2O , то он окажется значительно большим.

Как отмечалось, одна молекула НАДН (3 молекулы АТФ) образуется при окислительном декарбоксилировании пирувата в ацетил-КоА. При расщеплении одной молекулы глюкозы образуется 2 молекулы пирувата, а при окислении их до 2 молекул ацетил-КоА и последующих 2 оборотов цикла трикарбоновых кислот синтезируется 30 молекул АТФ (следовательно, окисление молекулы пирувата до CO_2 и H_2O дает 15 молекул АТФ). К этому количеству надо добавить 2 молекулы АТФ, образующиеся при аэробном гликолизе, и 6 молекул АТФ, синтезирующихся за счет окисления 2 молекул внемитохондриального НАДН, которые образуются при окислении 2 молекул глицеральдегид-3-фосфата в дегидрогеназной реакции гликолиза. Следовательно, при расщеплении в тканях одной молекулы глюкозы по уравнению $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 \rightarrow 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$ синтезируется 38 молекул АТФ. Несомненно, что в энергетическом отношении полное расщепление глюкозы является более эффективным процессом, чем анаэробный гликолиз.

Таблица 14 - Образование макроэргических связей в ходе катаболизма глюкозы.

Метаболический путь	Фермент	Местообразование АТФ	Число АТФ (на 1 моль глюкозы)
Гликолиз	Глицероальдегид-3-фосфатдегидрогеназа	Окисление 2 НАДН в дыхательной цепи	6
	Фосфоглицераткиназа	Фосфорилирование на уровне субстрата	2
	Пируваткиназа	То же	2
Итого			10
С учетом расходования АТФ в реакциях			-2
Итого			8
Окислительное декарбоксилирование	Пируватдегидрогеназа	Окисление 2 НАДН в дыхательной цепи	6

пировиноградной кислоты			
Итого			6
Цикл лимонной кислоты (цикл Кребса)	Изоцитратдегидрогеназа	Окисление 2 НАДН в дыхательной цепи	6
	α -Кетоглутаратдегидрогеназа	То же	6
	Сукцинил-КоА-синтетаза	Фосфорилирование на уровне субстрата	2
	Сукцинатдегидрогеназа	Окисление 2 ФАДН ₂ в дыхательной цепи	4
	Малатдегидрогеназа	Окисление 2 НАДН в дыхательной цепи	6
Итого			24
Всего на 1 моль глюкозы			38 АТФ

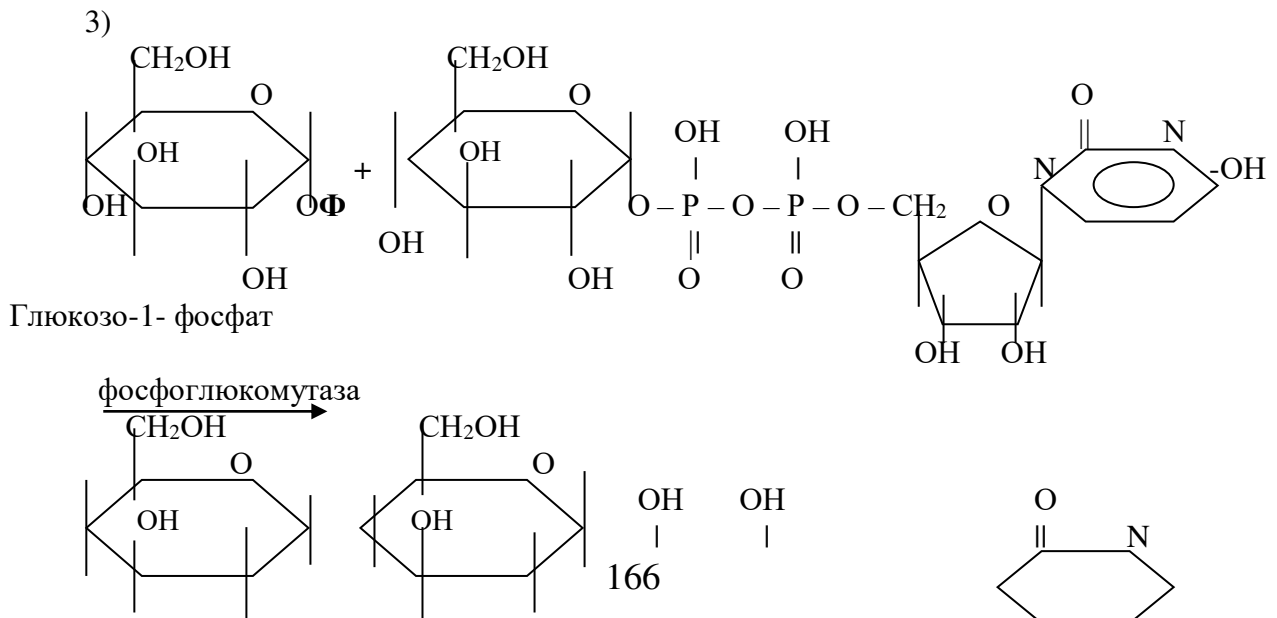
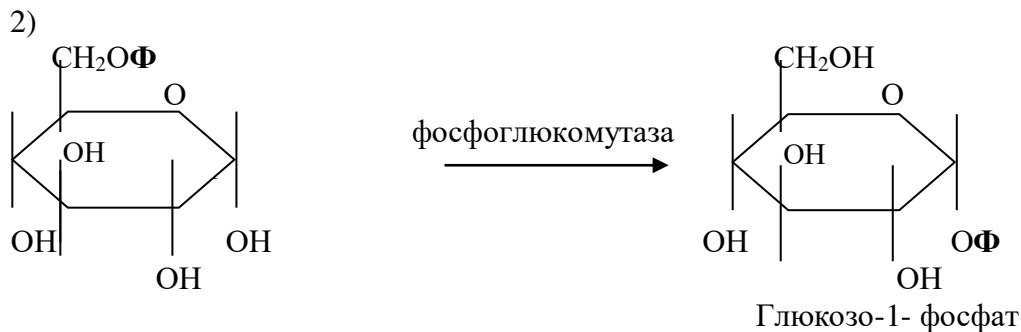
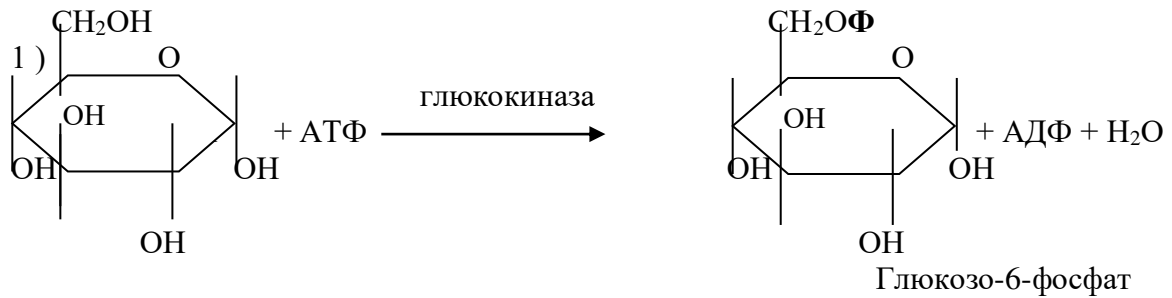
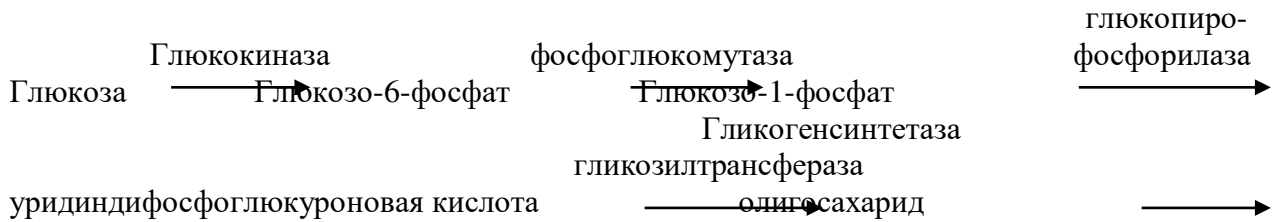
При таком окончании гликолиза на каждую вступившую молекулу глюкозы образуется 38 молекул АТФ, почему углеводы и рассматриваются как один из основных источников энергии в клетке.

13 Синтез углеводов

13.1 Структура и синтез гликогена

Гликоген представляет собой разветвленный полисахарид, мономером которого является глюкоза. Остатки глюкозы соединены в линейных участках 1-4 гликозидными связями, а в местах разветвления 1-6 связями. Гликоген является основным резервным углеводом в клетках животных. Он плохо растворим в воде, и не влияет на осмотическое давление в клетках. Депонируется в основном в печени, синтезируется в период пищеварения (1-2 часа после приема пищи). Синтез гликогена требует энергии.

1) Схема синтеза гликогена



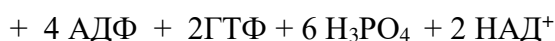
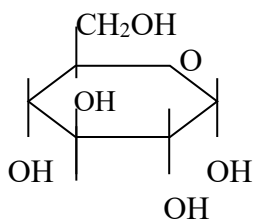
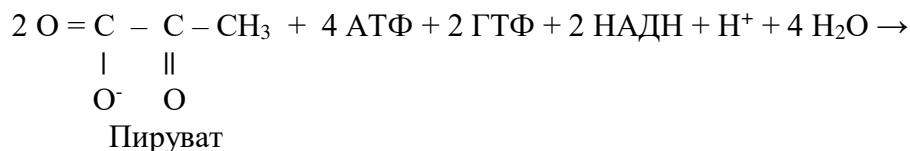
структуру. Результатом нарушения распада гликогена являются гипогликемия и её последствия.

13.3 Глюконеогенез

Глюконеогенез – это процесс синтеза глюкозы из веществ неуглеводной природы. Главными субстратами глюконеогенеза являются пируват, лактат, глицерин, аминокислоты. Важнейшей функцией глюконеогенеза является поддержание уровня глюкозы в крови в период длительного голодания и интенсивных физических нагрузок. Постоянное поступление глюкозы в качестве источника энергии особенно важно для нервной ткани и эритроцитов.

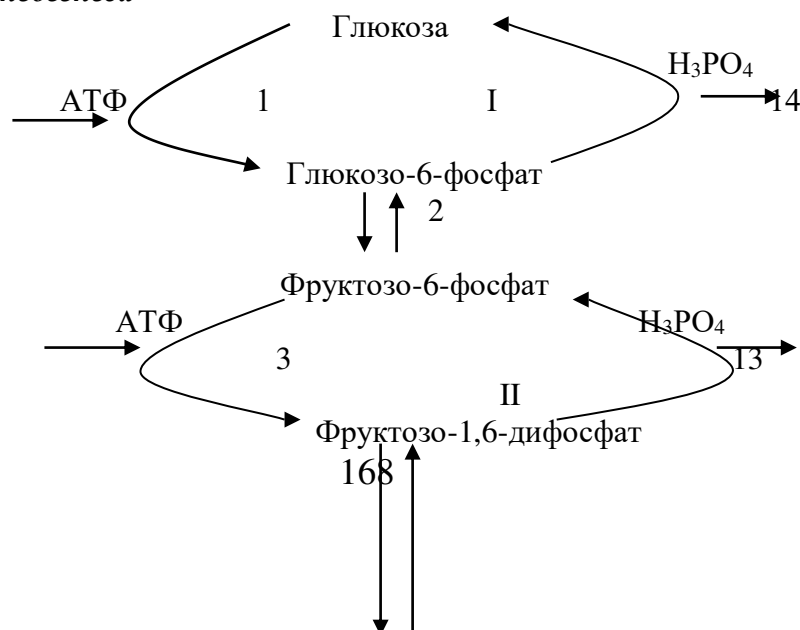
Процесс в основном протекает в печени и менее интенсивно – в корковом веществе почек, а также в слизистой оболочке кишечника. В глюконеогенез включаются различные субстраты – лактат, образующийся при анаэробном гликолизе в мышцах; глицерин, высвобождающийся при гидролизе жиров; аминокислоты, образующиеся в результате распада мышечных белков. Большинство реакций глюконеогенеза являются противоположными гликолизу, т.е. являются обратимыми и катализируются теми же ферментами, что и соответствующие реакции гликолиза.

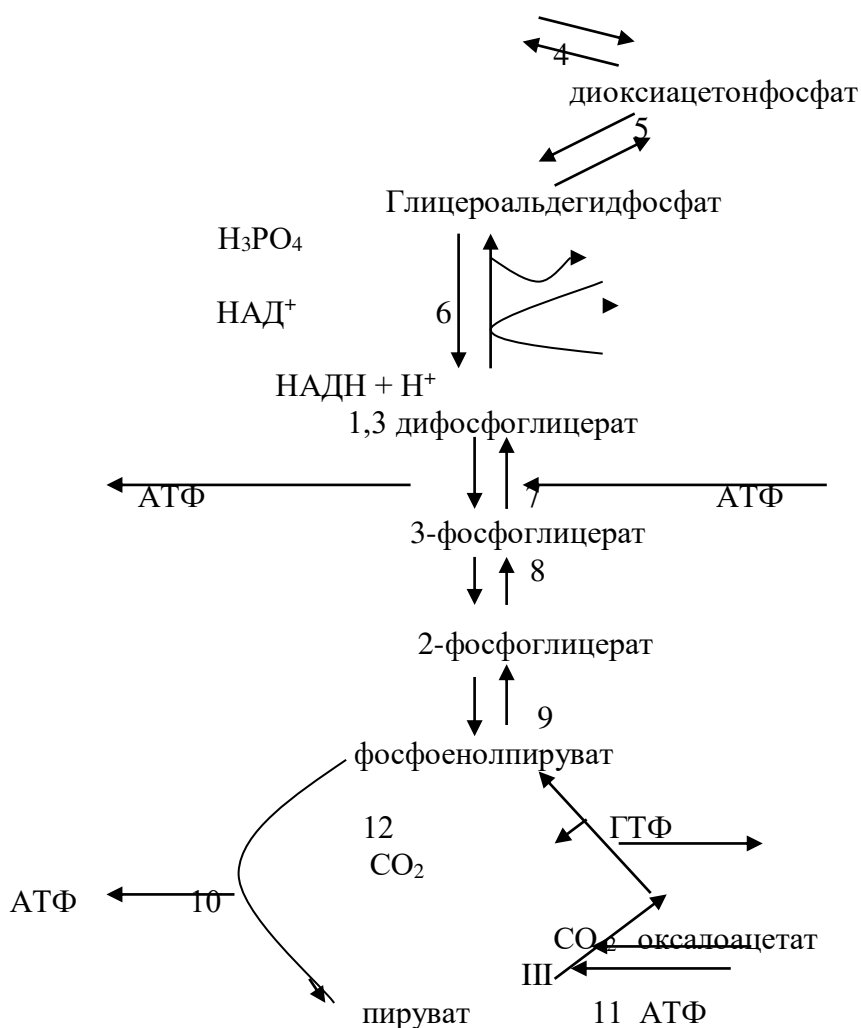
Суммарное уравнение реакции:



Пируват превращается в оксалоацетат, который, в свою очередь, превращается в фосфоенолпируват. Дальнейший путь синтеза углеводов представляет собой обращение дихотомического пути распада углеводов: фосфоглицериновый альдегид переходит в диоксиацетонфосфат; при действии альдолазы из фосфотриоз (фосфоглицериновый альдегид и диоксиацетонфосфат) синтезируется фруктозо-1,6-дифосфат, переходящий далее в глюкозо-6-фосфат (фермент фруктозо-1,6-дифосфатаза).

Схема глюконеогенеза





14 Обмен липидов

Липиды – это разнообразная по строению группа органических веществ, у которых общее свойство – гидрофобность. Жиры – триглицериды – являются самой компактной и энергоёмкой формой хранения энергии.

Глицерофосфатиды имеют гидрофобную часть, образованную чаще всего радикалами жирных кислот, и гидрофильную часть – остаток фосфорной кислоты, аминокспиртов, аминокислот.

Основные факторы переваривания липидов и жиров:

1 Липазы – ферменты, расщепляющие жиры и условия для проявления их оптимальной активности.

2 Эмульгаторы (детергенты) – вещества, понижающие поверхностное натяжение и предупреждающие склеивание частиц жира. Липазы могут гидролизовать только эмульгированные жиры.

В ротовой полости таких факторов нет, поэтому переваривания жиров не происходит. В желудке есть липаза, но очень мало (т.к. среда кислая, а оптимум для липазы – щелочная среда), нет эмульгатора. Поэтому в желудке расщепляются только эмульгированные жиры (молоко, яичный желток).

Основное место переваривания жиров – кишечник, где имеются все необходимые для этого процесса условия: ферменты, образующиеся в поджелудочной железе и стенками кишечника, pH среды – слабощелочная. Мелкие капли жира углекислым газом и перистальтикой раздробляются на еще более мелкие, а затем эмульгируются при участии желчных кислот и моноацилглицеридов. В этих условиях триглицериды гидролизуются

липазой на 90-97%, при этом 40% расщепляются полностью, а 50-75% расщепляются до моноацилглицеридов (эфир глицерина с одной жирной кислотой), оставшийся не переваренный жир выводится наружу.

Глицерофосфатиды гидролизуются фосфолипазами на глицерин, жирные кислоты, азотистое основание и фосфорную кислоту.

Таким образом, в результате переваривания образуются: глицерин, моноглицерины, фосфорная кислота и азотистые основания, которые всасываются в стенку кишечника как водорастворимые вещества.

Жирные кислоты, холестерин, и другие жирорастворимые вещества всасываются при участии парных желчных кислот, которые переводят жирорастворимые вещества в водорастворимые. Большая часть желчных кислот конъюгирована с глицином или таурином. По химической природе желчные кислоты являются производными холановой кислоты:



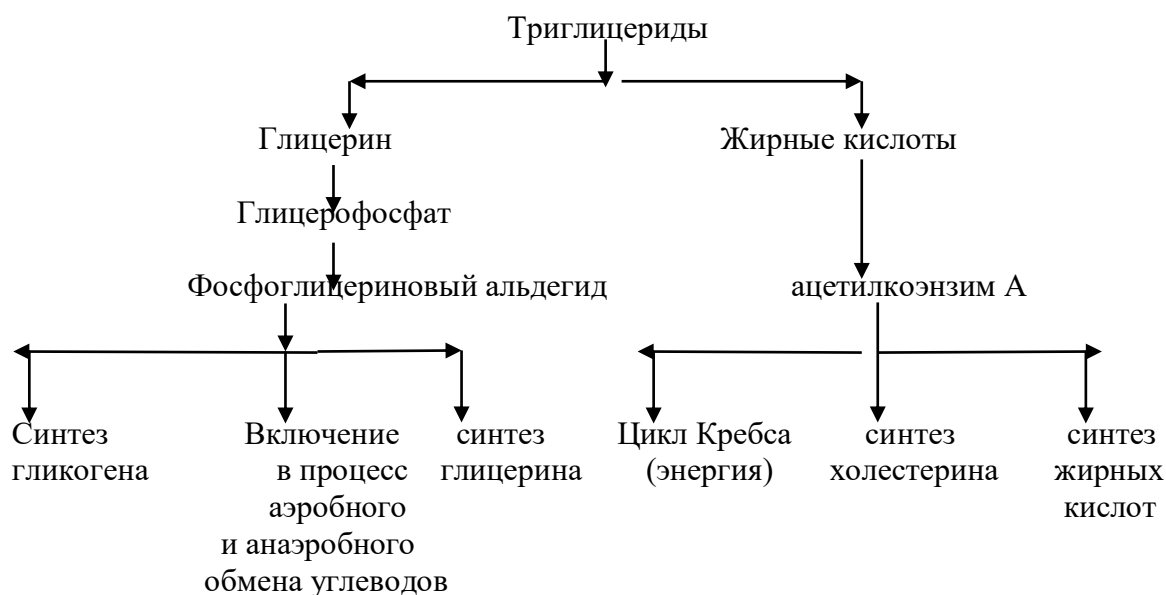
Желчные кислоты представляют собой основной конечный продукт метаболизма холестерина.

В желчи человека в основном содержатся холевая (3,7,12-триоксихолановая), дезоксихолева (3,12-диоксихолановая) и хенодезоксихолева (3,7-диоксихолановая) кислоты (все гидроксильные группы имеют α -конфигурацию и поэтому обозначены пунктирной линией):



При взаимодействии её с глицерином или таурином образуются парные желчные кислоты

14.1 Метаболизм триглицеридов

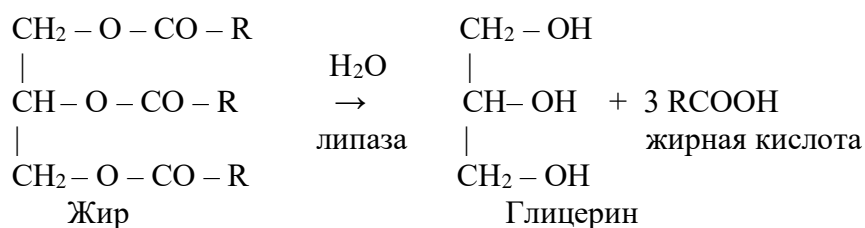


14.2 Промежуточный обмен

14.2.1 Превращение триглицеридов и окисление глицерина.

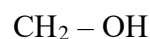
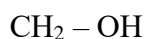
Переваривание жиров – это гидролиз жиров под действием фермента панкреатической липазы.

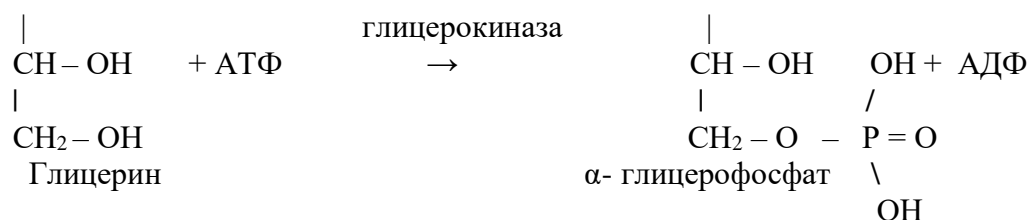
Поступивший в клетки нейтральный жир под действием тканевых липаз гидролизуется на глицерин и жирные кислоты.



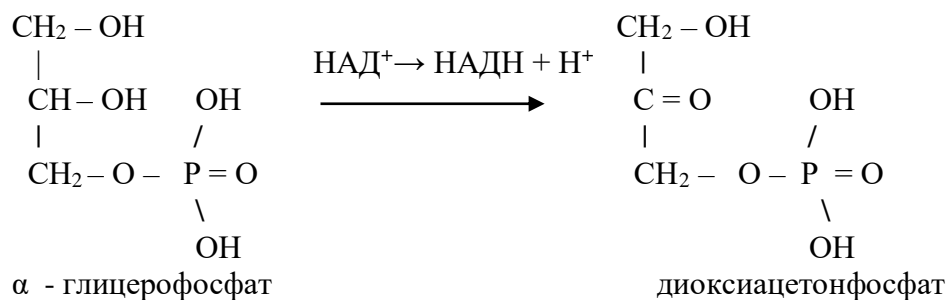
Глицерин активируется при участии глицерокиназы и АТФ в глицерофосфат, а затем глицероальдегидфосфат (см уравнение в теме «Обмен углеводов»).

Глицерин при дальнейшем окислении сначала фосфорилируется. Донором остатка фосфорной кислоты служит АТФ. Процесс ускоряется фосфотрансферазой.





Глицерофосфат в основном идет на синтез новых молекул триглицеридов, но часть его окисляется с образованием диоксиацетонфосфата:



Диоксиацетонфосфат изомеризуется в 3-фосфоглицериновый альдегид, который затем вступает в обменные реакции.

14.2.2 Окисление жирных кислот

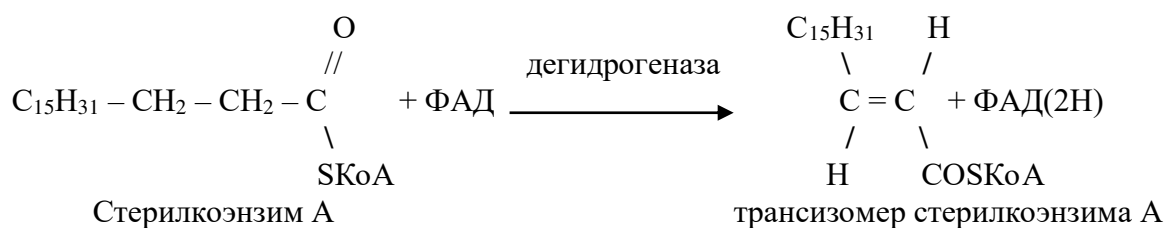
Жирными кислотами называют как предельные, так и непредельные высшие карбоновые кислоты, углеводородная цепь которых содержит более 12 углеродных атомов. В организме окисление жирных кислот – чрезвычайно важный процесс, и оно может быть направлено на α , β и ω -углеродные атомы молекул карбоновых кислот. Среди этих процессов наиболее часто происходит β -окисление. Установлено, что окисление жирных кислот протекает в печени, почках, скелетных и сердечной мышцах, в жировой ткани. В мозговой ткани скорость окисления жирных кислот весьма незначительна; основным источником энергии в мозговой ткани служит глюкоза.

В 1904 г. Ф. Кнооп (F. Кноор) выдвинул гипотезу β -окисления жирных кислот на основании опытов по скармливанию собакам различных жирных кислот, в которых один атом водорода в концевой метильной группе (ω -углеродного атома) был замещен радикалом (C_6H_5-).

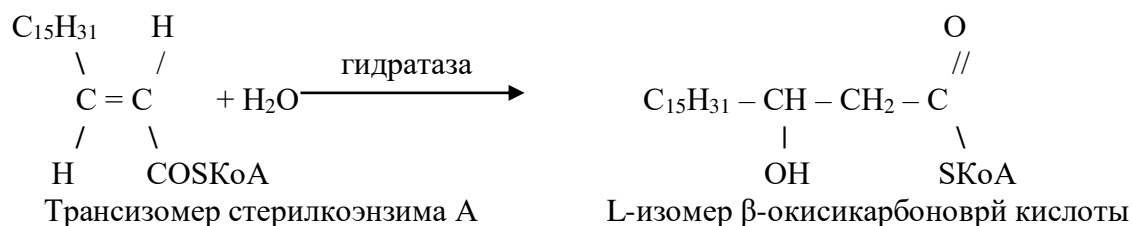
Жирные кислоты, входящие в состав естественных жиров животных и растений, имеют четное число углеродных атомов. Любая такая кислота, от которой отщепляется по паре углеродных атомов, в конце концов проходит через стадию масляной кислоты. После очередного β -окисления масляная кислота становится ацетоуксусной. Последняя затем гидролизуется до двух молекул уксусной кислоты. Теория β -окисления жирных кислот, предложенная Ф. Кноопом, в значительной мере послужила основой современных представлений о механизме окисления жирных кислот.

β -Окисление жирных кислот. Образующийся при гидролизе жиров карбоновые кислоты подвергаются β -окислению в митохондриях, куда они поступают в виде соответствующих ацилкоферментов А. β -Окисление – это 4 последовательных ОВР.

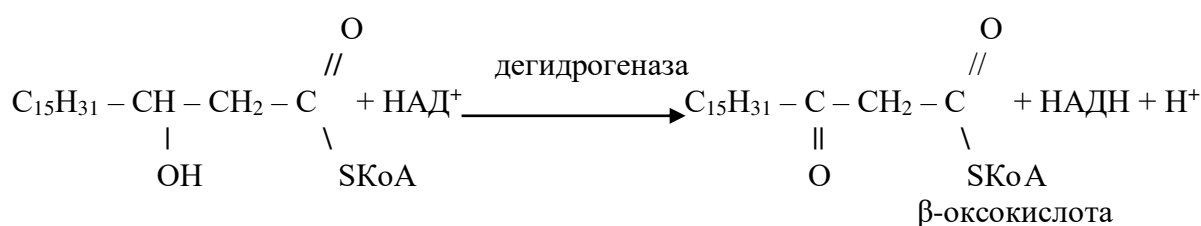
I реакция. Дегидрирование



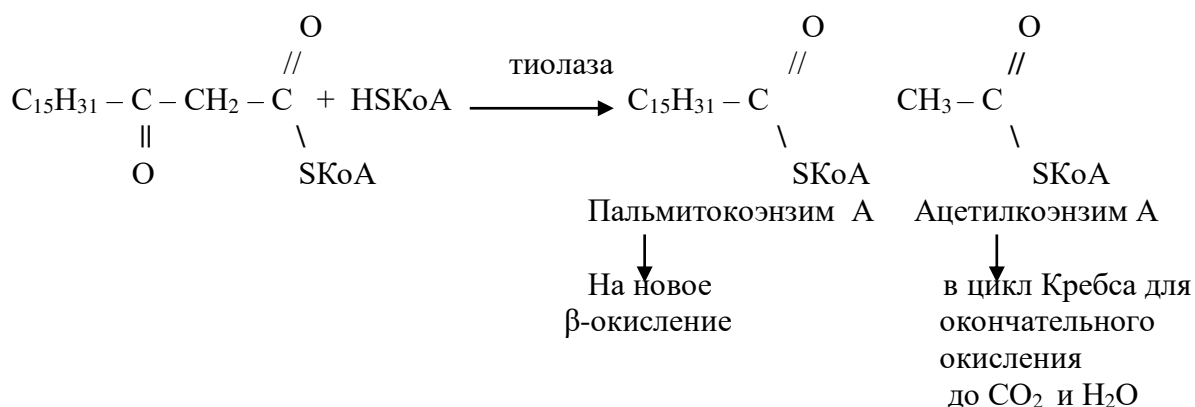
II реакция Гидратация



III реакция Дегидрирование



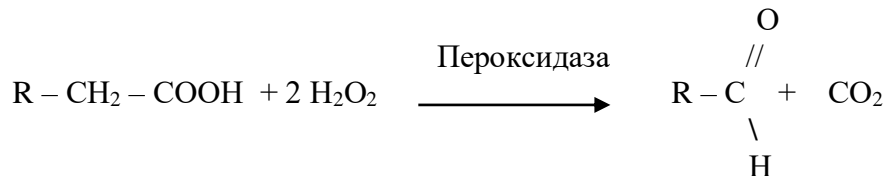
IV реакция. Расщепление



Четыре рассмотренные реакции процесса β -окисления представляют собой цикл, в ходе которого происходит укорочение углеродной цепи на два углеродных атома. Пальмитокоэнзим А вновь подвергается β -окислению, повторяя данный цикл. При β -окислении одной молекулы стеариновой кислоты образуется 40 молекул АТФ, а включая и цикл Кребса, котором окисляется образующийся ацетилкоэнзим А – 146 молекул АТФ. Это говорит о важности процессов окисления жирных кислот с точки зрения энергетики организма.

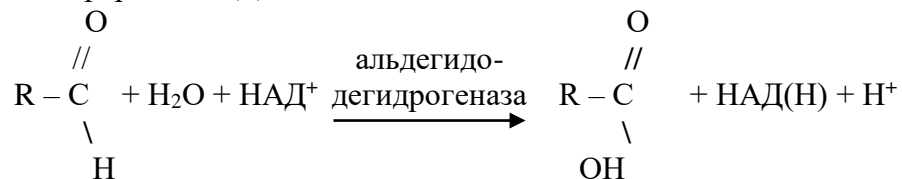
α -Окисление жирных кислот. В растениях под действием ферментов происходит окисление жирных кислот по α -углеродному атому – α -окисление. Это цикл, состоящий из двух реакций.

I реакция заключается в окислении жирной кислоты пероксидом водорода с участием соответствующей пероксидазы в соответствующий альдегид и CO₂.



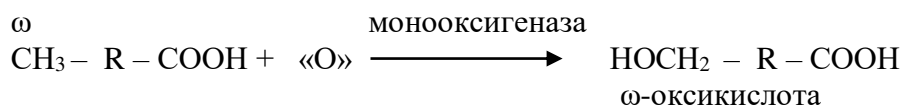
В результате этой реакции углеродная цепь укорачивается на один углеродный атом.

II реакция состоит в гидратации и окислении образующегося альдегида в соответствующую карбоновую кислоту под действием альдегидодегидрогеназы с окисленной формой НАД⁺:

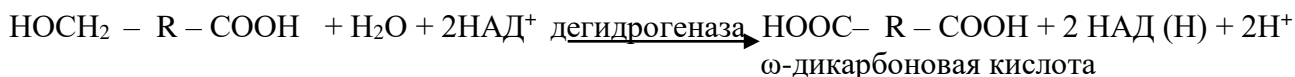


Цикл α-окисления характерен только для растений.

ω-Окисление жирных кислот. В печени животных и у некоторых микроорганизмов существует ферментная система, обеспечивающая ω-окисление, т.е. окисление по концевой СН₃-группе. Сначала под действием монооксигеназы происходит гидроксилирование с образованием ω-оксикислоты:



Далее ω-оксикислота окисляется в ω-дикарбоновую кислоту:



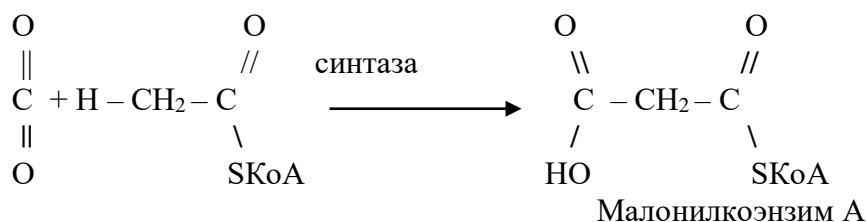
Полученная ω-дикарбоновая кислота укорачивается с любого конца посредством реакции β-окисления.

Если карбоновая кислота имеет разветвления, то её биологическое окисление прекращается, дойдя до места разветвления цепи.

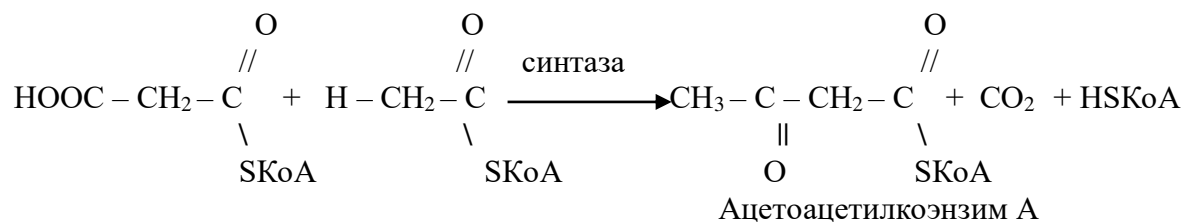
14.2.3 Биосинтез жирных кислот

Наряду с распадом жирных кислот в организме идет и их образование. Биосинтез жирных кислот – процесс многостадийный, циклический.

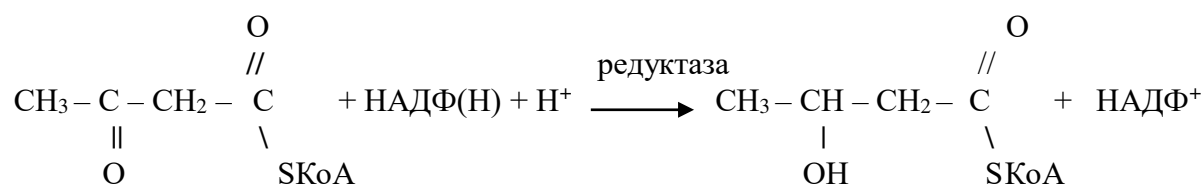
I стадия. 1) Конденсация CO₂ с ацетилкоэнзимом А:



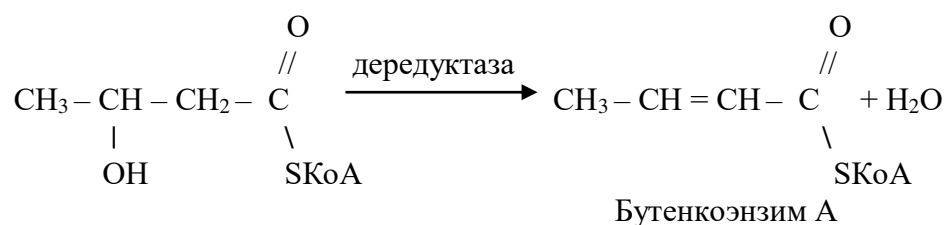
2) Конденсация малонилкоэнзима А с новой молекулой ацетилкоэнзима А :



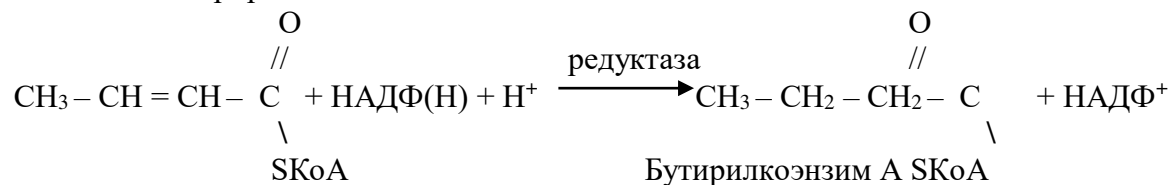
II стадия. 1) Гидрирование



III стадия. Дегидратация



IV стадия. Гидрирование



Таким образом, в результате биосинтеза жирных кислот происходит удлинение углеродной цепи на два углеродных атома. Затем происходит конденсация бутирилкоэнзима А с оксидом углерода и повторение реакций цикла. Суммарно:

15 Обмен белков

15.1 Значение белков в организме

Белки – это ферменты, гормоны и др. синтез которых из неорганических веществ возможен лишь в организме растений. В животных организмах белок синтезируется из аминокислот, часть которых образуется в самом организме (заменимые аминокислоты Ала, Асп, Глу, Глн, Про, Гли, Сер, Асн). Другие, незаменимые, (Вал, Лей, Иле, Мет, Фен, Три, Лиз, Тре) должны поступать с пищей. Частично заменимые (Гис, Арг) синтезируются в организме очень медленно, в количествах, не покрывающих потребностей организма, особенно в детском возрасте. Условно заменимые аминокислоты (Цис, Тир,) синтезируются из незаменимых аминокислот (Мет и Фен).

Полноценные белки – это такие, которые содержат весь набор незаменимых аминокислот, в необходимых количествах. Так как белки – это азотсодержащие вещества, то один из методов, характеризующий состояние белкового обмена в организме и биологическую ценность продуктов питания является определение баланса азота.

Азотистый баланс – это разница между количеством азота, поступившим с пищей, и количеством азота, выделяемого почками в виде мочевины и азотистых солей.

Азотистый баланс может быть:

- положительным – у детей, у выздоравливающих больных после тяжелой болезни, при обильном белковом питании.
- отрицательным – при тяжелых заболеваниях, при голодании, при старении.
- равным нулю (азотистое равновесие) – у здоровых взрослых людей при нормальном питании.

В организме существуют белковые резервы, которые используются при белковом голодании. При недостаточном поступлении белков расходуются белки мышц и печени. При полноценном питании происходит восстановление белка до нормы.

15.2 Переваривание и всасывание белка

В полости рта белки не расщепляются, так как отсутствуют протеолитические ферменты. В желудке белки расщепляются под действием желудочного сока, которого в сутки выделяется 2,5 л. В его составе соляная кислота, которая способствует набуханию белков (денатурация), облегчая расщепление белков ферментами.

Основным протеолитическим ферментом желудочного сока является пепсин. Он образуется из профермента – пепсиногена и активируется при участии соляной кислоты. За сутки выделяется около 2 г пепсина. Его каталитическая активность проявляется при $pH = 1,0-1,5$ (реакция желудочного сока). Пепсин расщепляет пептидные связи, приводит к распаду белка на аминокислоты и полипептиды различной величины. Пепсин гидролизует пептидные связи, образованные ароматическими и дикарбоновыми кислотами.

В желудочном соке присутствует и протеолитический фермент – гастриксин, оптимум которого лежит в пределах $pH = 3,4-4,5$. Свободная соляная кислота выполняет следующие функции:

- оказывает бактерицидные действия;
- денатурирует белки пищи;
- создает оптимум pH для пепсина;
- активирует пепсиноген.

В желудке хорошо перевариваются альбумины и глобулины животного и растительного происхождения и плохо – белки соединительной ткани (коллаген, эластин) и совершенно не гидролизуются кератин и протамин.

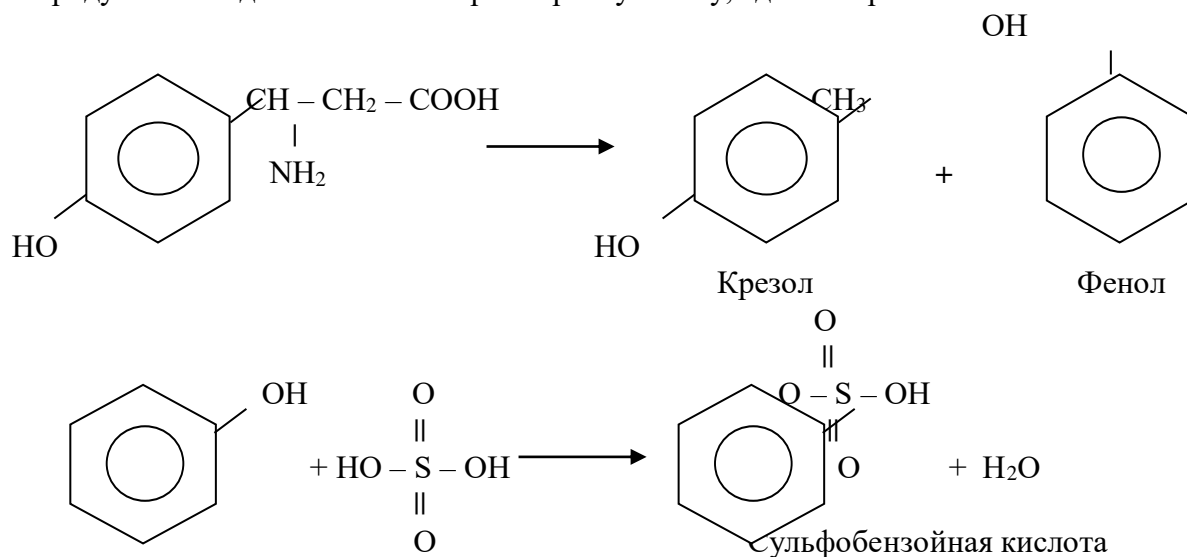
Образовавшиеся в желудке полипептиды и нерасщепленные белки поступают в тонкий кишечник, где подвергаются действию главных протеолитических ферментов:

трипсин, химотрипсин, карбоксипептидаза, аминопептидаза и ди- и трипептидазы. Оптимум действия при pH = 7,8-8,1 (среда слабощелочная).

Трипсин гидролизует пептидные связи, образованные аргинином и лизином; химотрипсин гидролизует белки, образованные ароматическими аминокислотами. Карбоксипептидазы гидролизуют концевые аминокислоты со свободной карбонильной группой –COOH, аминопептидазы – со свободной аминогруппой NH₂. Оставшиеся пептозы (3-4 углеродных остатка) гидролизуются ди- и трипептидазами.

Таким образом, в результате переваривания образуются аминокислоты, которые поступают в лимфу, печень, кровь.

Некоторое количество невсосавшихся в тонком кишечнике белков и аминокислот поступают в толстый кишечник, где подвергаются действию микроорганизмов, способствующих гниению белков, при котором образуются различные ядовитые вещества. Эти продукты попадают в печень через воротную вену, где обезвреживаются.



Продукты распада выделяются с мочой.

Конечным результатом переваривания белков является образование свободных аминокислот, поступающих в клетки слизистой оболочки кишечника путем активного транспорта за счет градиента концентрации натрия.

15.3 Промежуточный обмен

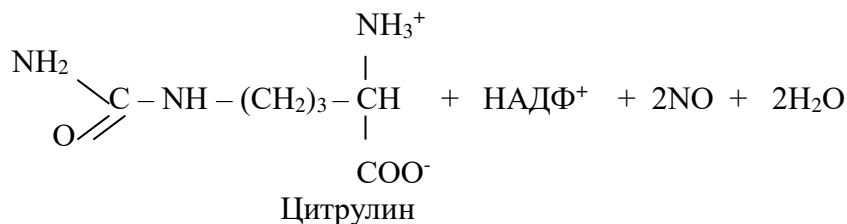
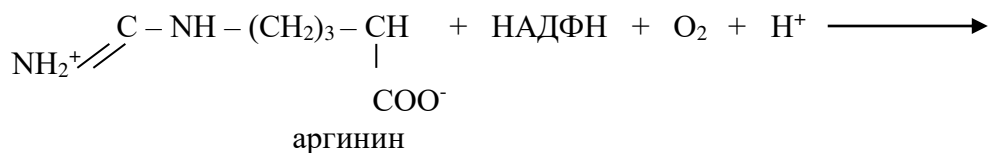
15.3.1 Биосинтез белка

Биосинтез белка имеет важнейшее научное и клиническое значение. Отличие одного индивидуального белка от другого определяется природой и последовательностью чередования аминокислот, входящих в его состав.

Носителем наследственной информации являются молекулы ДНК (гены), в которых закодированы генетические особенности организма, в том числе состав и структура синтезируемых белков. Первичная структура ДНК представляет собой последовательность мононуклеотидов, каждые три из которых носят название триплет и кодируют определенную аминокислоту. Таким образом, последовательность аминокислот любого синтезируемого белка контролируется последовательностью триплетов ДНК. Этот процесс составляет сущность биосинтеза белка.

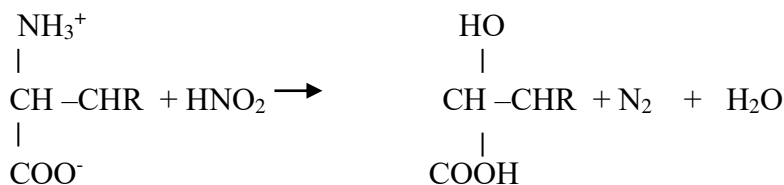
Процесс биосинтеза белка состоит из трех этапов.

1 этап – синтез информационной РНК (и-РНК) – транскрипция и перенос её к месту синтеза белка – к рибосомам.



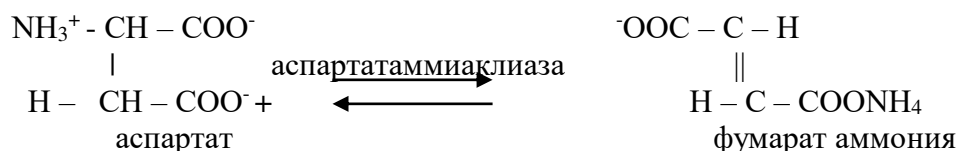
Полученный оксид азота быстро используется в иммунной системе для устранения ксенобиотиков, а также для регулирования кровяного давления за счет расслабления мышц кровеносных сосудов

Образующиеся аминокислоты взаимодействуют с азотистой кислотой.



Эта реакция используется для количественного определения аминных групп в аминокислотах, а также в белках и продуктах их распада

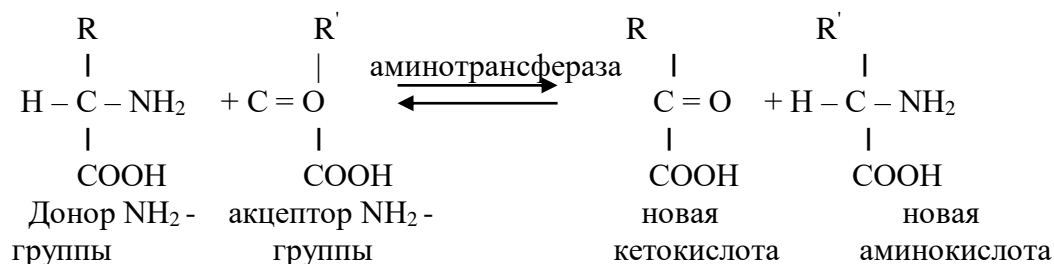
3. Внутримолекулярное дезаминирование



В микробиологической промышленности из фумарата аммония с помощью клеток кишечной палочки, содержащей аспартатаммиакиазу, синтезируют аспарагиновую кислоту

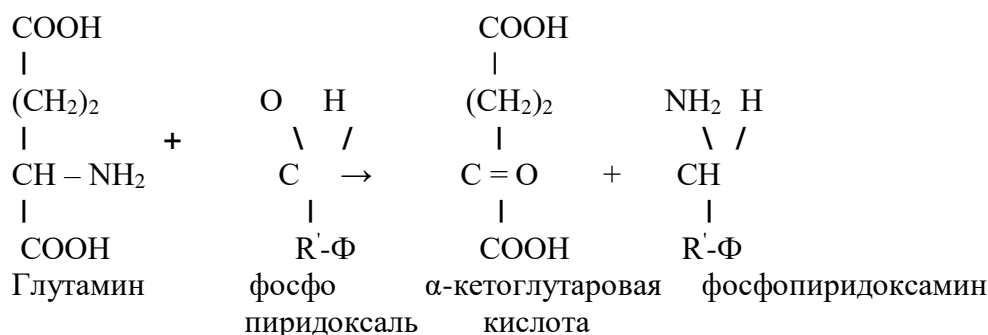
15.3.3 Переаминирование (трансаминирование) аминокислот

Трансаминирование – реакция переноса аминогруппы с аминокислоты на α-кетокислоту. Не подвергаются прераминированию только Лиз иТре.

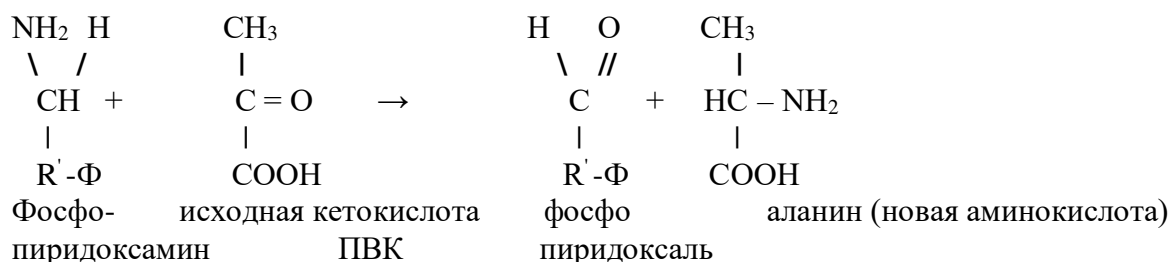


Кофермент пиридоксальфосфат выполняет функцию переносчика аминогруппы. Реакция протекает в две стадии:

2) перенос NH_2^- - группы на кофермент:



2) переход NH_2 с кофермента на исходную кетокислоту

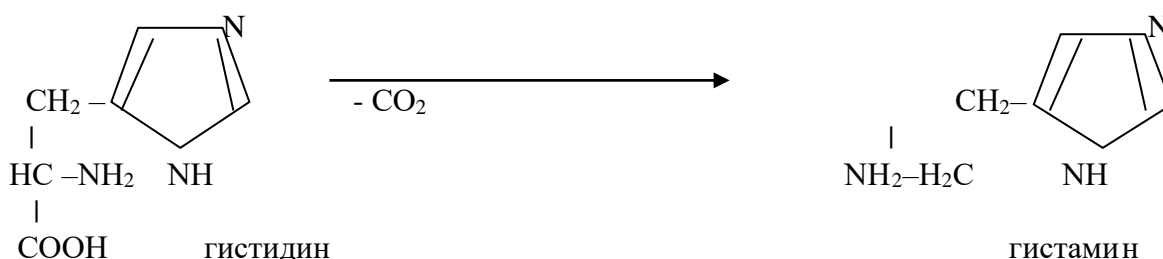


В реакции переаминирования обязательно участвует одна из двух дикарбоновых кислот (легко обратимая реакция).

Реакция переаминирования (трансаминирования) является реакцией окислительно-восстановительной, в которой участвуют не только атомы углерода взаимодействующих кислот, но и пиридоксальфосфата. С помощью этих реакций устраняется избыток одних аминокислот и регулируется их содержание в клетках, а также обеспечивается биосинтез заменимых аминокислот из кетокислот. В этих реакциях мы видим взаимосвязь между обменом углеводов (ПВК) и обменом белка, так как образующиеся α -кетокислоты могут затем окисляться в цикле трикарбоновых кислот.

15.3.4 Декарбоксилирование аминокислот

Декарбоксилирование протекает под действием декарбоксилаз с отщеплением от аминокислоты углекислого газа и образованием аминов.



При декарбоксилировании α -аминокислот в организме синтезируются биогенные амины, выполняющие важные биологические функции - нейромедиаторов (серотонин), гормонов (адреналин, норадреналин), регуляторных факторов местного действия (гистамин).

Гистамин стимулирует секрецию желудочного сока, слюны; вызывает расширение сосудов, покраснение кожи, отечность ткани; участвует в развитии аллергической реакции;

снижает кровяное давление, но повышает внутричерепное давление, вызывая головную боль; сокращает гладкую мускулатуру легких, вызывая удушье.

Разрушаются в печени.

Декарбоксилирование аминокислот происходит сравнительно легко в тканях животных и растений, но особенно оно характерно для микроорганизмов.

16 Обмен сложных белков

16.1 Обмен нуклеопротеидов

Нуклеопротеиды и их производные выполняют в организме многообразные функции, участвуя:

- в синтезе нуклеиновых кислот и нуклеотидных коферментов;
- в реакциях запасаения и использования энергии;
- в образовании активных форм сахаров, азотистых оснований, сульфатов и метионина;
- в трансдукции сигналов в клетку, являясь вестником действия на клетку гормонов, факторов роста, нейромедиаторов и других регуляторных молекул.

В пищеварительном тракте под действием соляной кислоты, пепсина, трипсина от нуклеопротеидов отщепляется белковая часть, которая гидролизуется до аминокислот. Простетическая группа – нуклеиновые кислоты – при участии нуклеаз (ДНКазы, РНКазы) распадается на мономеры – мононуклеотиды. Они частично всасываются, а остальные под действием фосфатаз и нуклеозидаз, расщепляются на составные части – азотистые основания, пентозы и фосфорную кислоту, которые всасываются более активно. Так же происходит распад и нуклеопротеидов тканей организма. Фосфорная кислота пополняет запасы организма, пентозы в основном принимают участие в синтезе новых нуклеиновых кислот и коферментов.

Одновременно в клетках происходит постоянный синтез специфических нуклеиновых кислот. Это сложный процесс, исходными веществами для которого являются пентозофосфаты (рибозо- и дезоксирибозо-5-фосфат), образующиеся в основном при апотомическом пути окисления углеводов. Кроме того, участвуют соединения – глицин, глутамин, аммиак, углекислый газ, муравьиная и аспарагиновая кислоты, АТФ и соответствующие ферменты.

Пути возникновения пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов различны, но есть некоторые черты сходства:

- 1) широкое использование гли, асн и глн в качестве источников азота и гетероциклических колец.
- 2) Включение в состав пуриновых и пиримидиновых циклов атомов углерода из CO_2 и формиата
- 3) Построение пуринового основания и завершение синтеза пиримидинового основания на рибозо-5-фосфате, в результате чего образуются нуклеотид-5-фосфаты
- 4) Ферментативный характер всех реакций, осуществляющихся в процессе новообразования нуклеотидов
- 5) Возникновение на определенном этапе биосинтеза предшественников, из которых потом формируются уже индивидуальные нуклеотид-5-фосфаты.

Последовательность реакций, приводящих к образованию пуриновых нуклеотидов:

1. Образование 5-фосфорибозил-1-дифосфата (ФРДФ): рибозо-5-фосфат \rightarrow ФДРФ (общий предшественник фосфорибозы в синтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов).
2. Перенос аминогруппы Глн на ФРДФ с образованием 5-фосфорибозил-1-амин (фермент - амидотрансфераза).
3. При участии глицина, амидного азота Глн, α - NH_2 -группы Асп, CO_2 , и одноуглеродистых производных образуется пуриновое кольцо на остатке рибозо-5-фосфат.

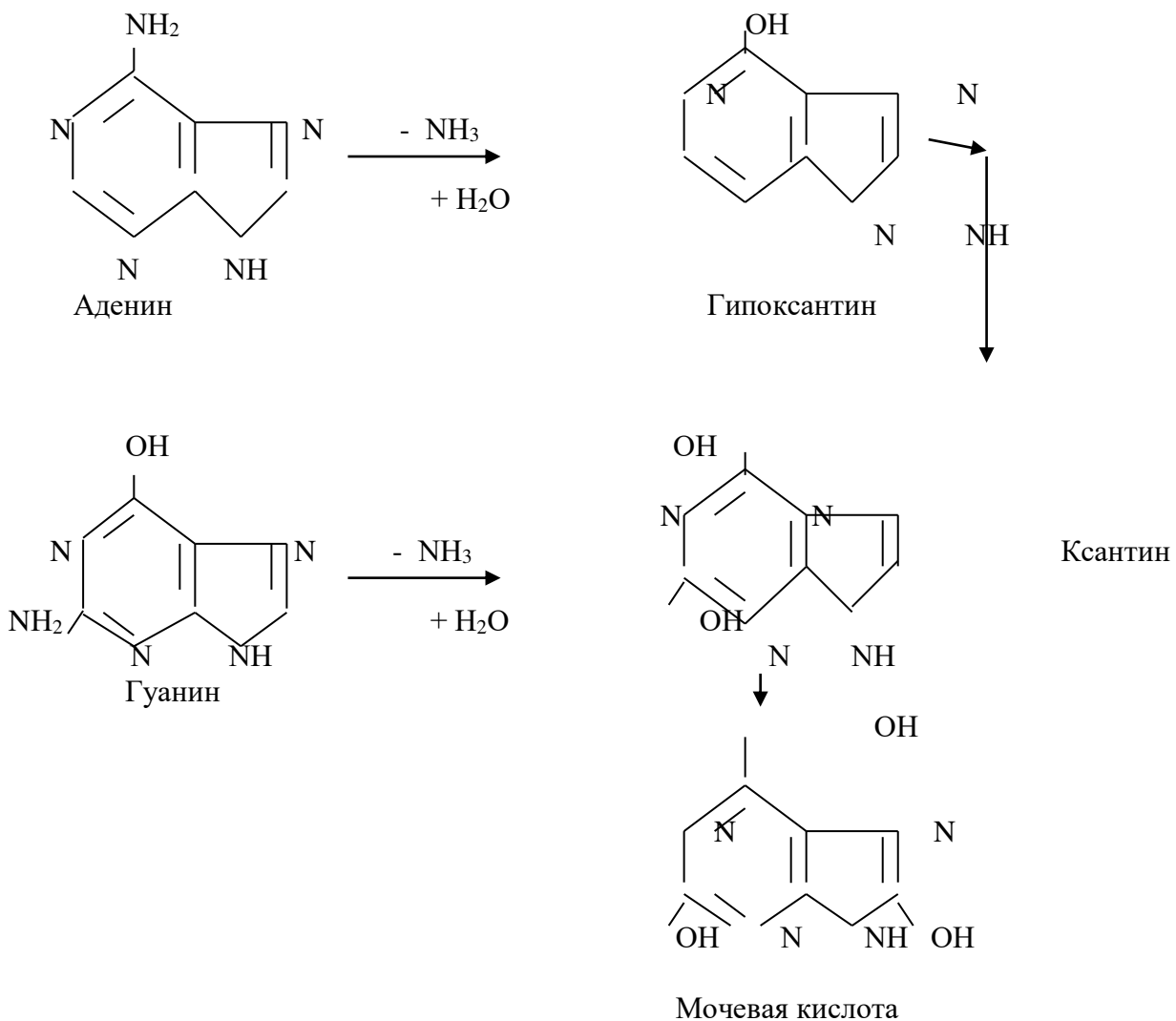
4. Синтез первого пуринового нуклеотида – инозиновой кислоты (ИМФ), которая может превращаться в АМФ или ГМФ.

5. Место образования пуриновых оснований является печень. Она снабжает пуринами ткани, не способные к их образованию – эритроциты, лейкоциты и частично мозг.

6. Синтез нуклеотиддифосфатов и нуклеотидтрифосфатов происходит при участии АТФ и ферментов – нуклеотидмонофосфатаз и нуклеотиддифосфокиназ.

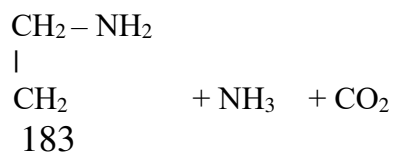
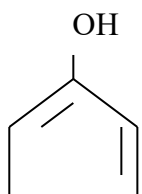
7. Пуриновые нуклеотиды синтезируются «запасным путем» из азотистых оснований и нуклеозидов. Этот путь имеет вспомогательное значение, давая от 10 до 20% общего количества нуклеотидов. Катализируют эти процессы два фермента – аденинфосфорибозилтрансфераза, отвечающий за образование АМФ из ФРДФ и гипоксантингуанинфосфорибозилтрансфераза, который катализирует образование инозиновой кислоты.

Катаболизм пуриновых нуклеотидов приводит к образованию мочевой кислоты. Азотистые пуриновые основания подвергаются превращениям:



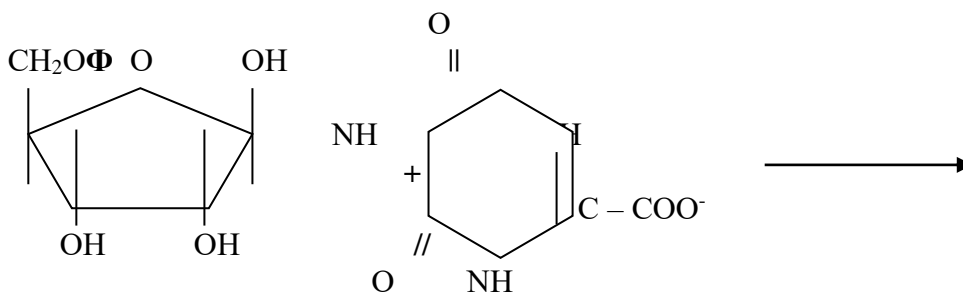
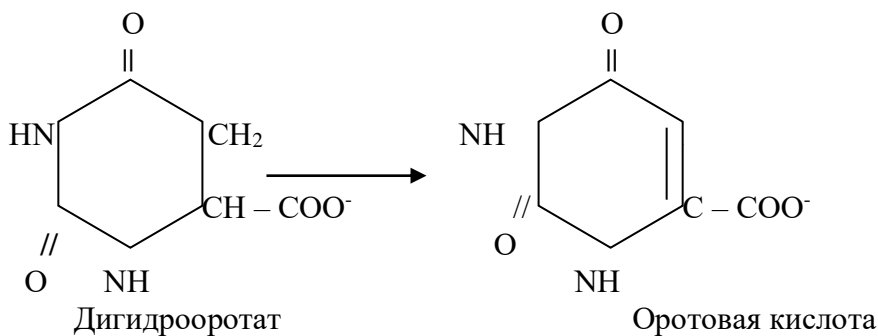
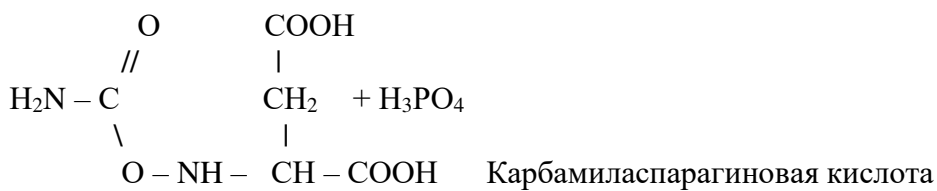
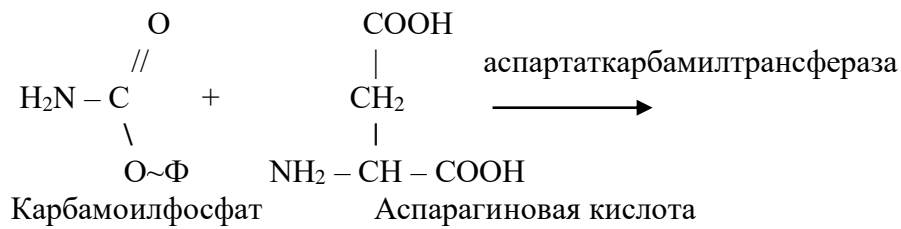
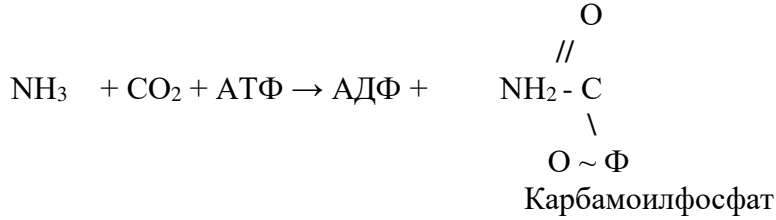
Мочевая кислота выводится из организма.

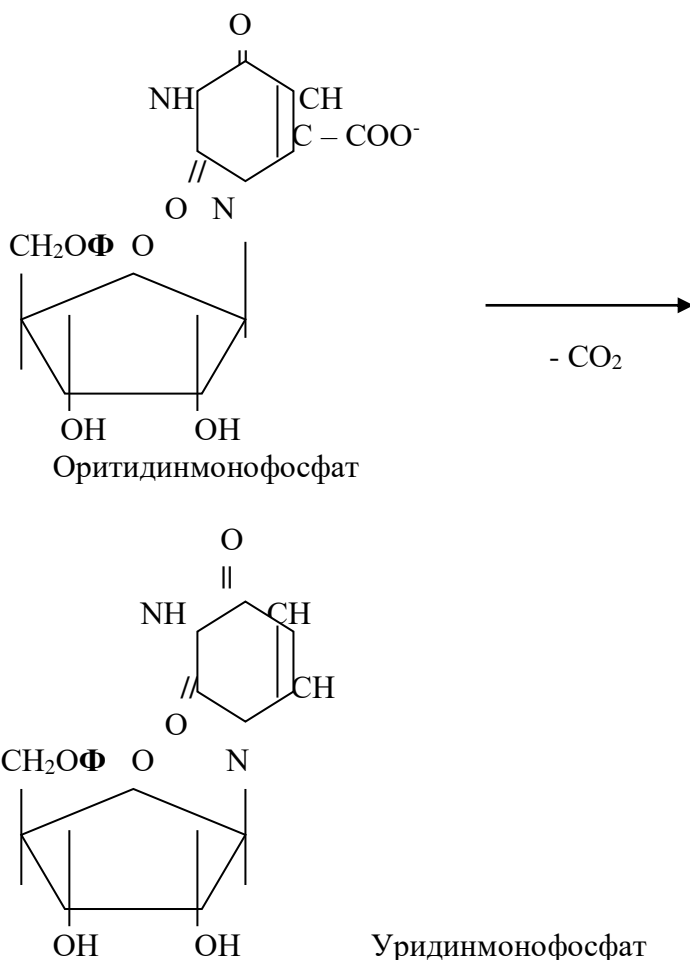
Пиримидиновые основания распадаются так:





Синтез пиридиновых нуклеотидов протекает в цитозоле клеток при участии ферментов – полифункционалов:





Глн (при участии CO_2 , АТФ и ФРДФ) \rightarrow Карбамоилфосфат (+ аспарагиновая кислота)
 \rightarrow Карбамоиласпартат \rightarrow Дигидрооротат (НАД^+) \rightarrow Оротат \rightarrow Оротатмонофосфат (ФРДФ)
 \rightarrow УМФ \rightarrow УДФ \rightarrow УТФ

17.2 Обмен гемоглобина

Из различных хромопротеинов наибольшее значение имеет гемоглобин. Поступающий с пищей гемоглобин в желудочно-кишечном тракте распадается на составные части – глобин и гем. Глобин как белок, гидролизуется на аминокислоты. Гем окисляется в гематин и выводится с калом. Таким образом, гемоглобин пищи не участвует в интенсивном метаболизме эндогенного гемоглобина. Уровень метаболизма эндогенного гемоглобина определяется тем, что период жизни эритроцита равен 126 дней, т.е. ежечасно обновляется примерно $6 \cdot 10^9$ эритроцитов, а, следовательно, и гемоглобина.

Строение гемоглобина. Гемоглобин в качестве белкового компонента содержит глобин, а небелкового – гем. Видовые различия гемоглобина обусловлены глобином, в то время как гем одинаков у всех видов гемоглобина.

Основу структуры простетической группы большинства гемосодержащих белков составляет порфириновое кольцо, являющееся в свою очередь производным тетрапиррольного соединения – порфирина. Последний состоит из четырех замещенных пирролов, соединенных между собой метиновыми мостиками ($-\text{CH}=\text{}$).



Незамещенный порфирин называется порфином. В молекуле гема порфин представлен в виде протопорфирина IX, содержащего четыре метильные группы ($-\text{CH}_3$), две винильные группы ($-\text{CH}=\text{CH}_2$) и два остатка пропионовой кислоты. Протопорфирин, присоединяя железо, превращается в гем.

Из формулы видно, что железо связано с двумя атомами азота молекулы протопорфирина ковалентно и с двумя другими – координационными связями, обозначенными пунктирными линиями.

Гем в виде гемпорфирина является простетической группой не только гемоглобина и его производных, но и миоглобина, каталазы, пероксидазы и цитохромов *b*, *c* и *c*₁.

Структурная организация гемоглобина (и миоглобина) была расшифрована Дж. Кендрию и М. Перутц (Нобелевская премия 1962 г.). Дыхательная функция гемоглобина крови подробно рассматривается в курсе физиологии. Здесь следует указать на уникальную роль гемоглобина в транспорте кислорода от легких к тканям и диоксида углерода от тканей к легким. Это элементарное проявление жизни – дыхание, хотя и выглядит простым, основано на взаимодействии многих типов атомов в гигантской молекуле гемоглобина. Подсчитано, что в одном эритроците содержится около 340000000 молекул гемоглобина, каждая из которых состоит примерно из 10^3 атомов С, Н, О, N, S и 4 атомов железа.

Атом железа расположен в центре гема-пигмента, придающего крови характерный красный цвет. Каждая из 4 молекул гема «обернута» одной полипептидной цепью. В молекуле гемоглобина взрослого человека HbA (от англ. adult – взрослый) содержатся четыре полипептидные цепи, которые вместе составляют белковую часть молекулы – глобин. Две из них, называемые α -цепями, имеют одинаковую первичную структуру и по 141 аминокислотному остатку. Две другие, обозначаемые β -цепями, также идентично построены и содержат по 146 аминокислотных остатков. Таким образом, вся молекула белковой части гемоглобина состоит из 574 аминокислот. Во многих положениях α - и β -цепи содержат разные аминокислотные последовательности, хотя и имеют почти одинаковые пространственные структуры. Получены доказательства, что в структуре гемоглобинов более 20 видов животных 9 аминокислот в последовательности оказались одинаковыми, консервативными (инвариантными), определяющими функции гемоглобинов; некоторые из них находятся вблизи гема, в составе участка связывания с кислородом, другие – в составе неполярной внутренней структуры глобулы.



Рисунок 31 Координационные связи атома железа в молекуле гема. Все 4 связи с атомами азота пиррольных колец расположены в одной плоскости, 5-я и 6-я координационные связи (с атомом азота имидазольного кольца гистидина и с кислородом соответственно) – по разные стороны перпендикулярно к этой плоскости

В дополнение к основному гемоглобину HbA_{1в} в крови взрослого человека доказано существование мигрирующего с меньшей скоростью при электрофорезе гемоглобина HbA₂, также состоящего из 4 субъединиц: двух α-цепей и двух δ-цепей. На долю HbA₂ приходится около 2,5% от всего гемоглобина. Известен, кроме того, фетальный гемоглобин (гемоглобин новорожденных), обозначаемый HbF и состоящий из двух α-цепей и двух γ-цепей. Фетальный гемоглобин отличается от HbA_{1в} не только составом аминокислот, но и физико-химическими свойствами: спектральным показателем, электрофоретической подвижностью, устойчивостью к щелочной денатурации и др. Кровь новорожденного содержит до 80% HbF, но к концу 1-го года жизни он почти целиком заменяется на HbA (все же в крови взрослого человека открывается до 1,5% HbF от общего количества гемоглобина). Последовательность аминокислот в γ- и δ-цепях гемоглобинов окончательно не расшифрована.

Обмен гемоглобина. Как синтез, так и распад гемоглобина происходит в селезенке, печени, костном мозге.

Распад гемоглобина начинается с окисления гема, когда железо Fe²⁺ превращается в Fe³⁺. Образующееся соединение называется вердоглобином (вещество зеленого цвета), который спонтанно распадается на составные части – глобин, железо и оставшаяся часть гема – биливердин (пигмент зеленого цвета). Биливердин восстанавливается в желто-красный билирубин, который поступает в печень. Для организма билирубин является токсичным и водонерастворимым. Поэтому в местах его образования происходит его обезвреживание и превращение в водорастворимую форму. Этот процесс происходит двумя путями:

1 С помощью глюкуроновой кислоты с которой билирубин образует моно- или диглюкурониды, комплекс билирубина с одной или двумя молекулами глюкуроновой кислоты. Такой билирубин является связанным (в лабораторной практике – прямой билирубин).

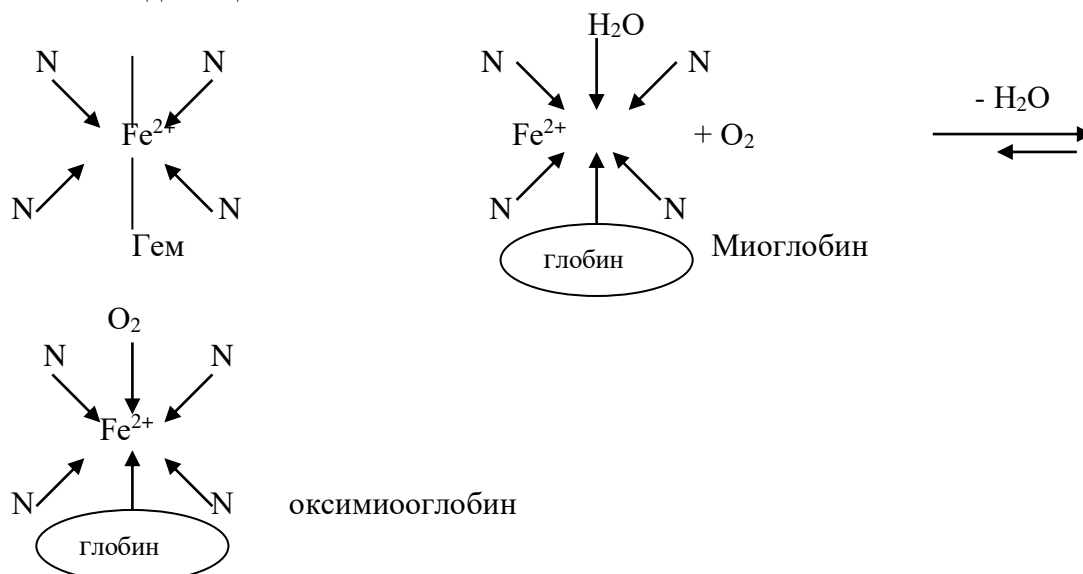
2 Образование комплекса с альбумином. В этом случае билирубин называют свободным (непрямым).

В крови содержится около 75% свободного билирубина и 25% связанного.

В печени комплекс билирубина с белками распадается, и освободившийся билирубин превращается в глюкуронид. В печени весь билирубин присутствует в форме связанной с глюкуроновой кислотой, т.е. в нетоксичной и водорастворимой форме. Из печени билирубин поступает в желчный пузырь, откуда под влиянием желчного пигмента поступает в кишечник. Там билирубин освобождается от глюкуроновой кислоты и подвергается различным превращениям с образованием в конце уробилиногена и стеркобилиногена. Первый всасывается в кровь, затем в печень, откуда поступает в мочу. На воздухе уробилиноген окисляется в уробилин. Второй выводится с калом (специфическая окраска) и кислородом окисляется до стрекобилина.

Синтез гемоглобина состоит из двух процессов:

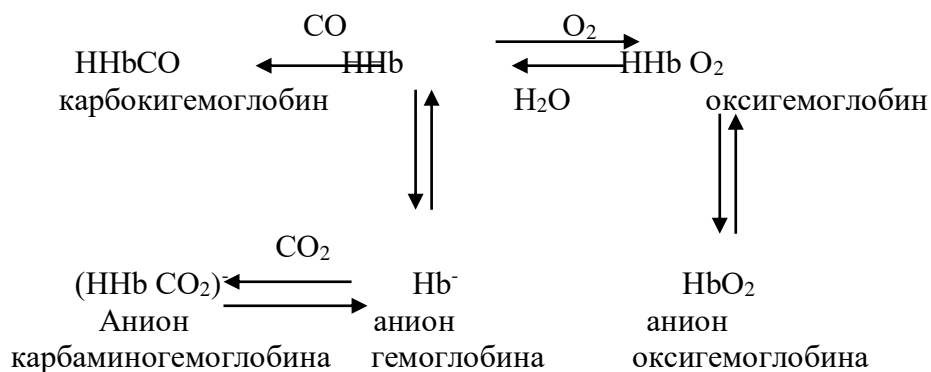
- 1 синтез гема из глицина, янтарной кислоты и железа.
- 2 конденсация с глобином



Гемоглобин состоит из четырех полипептидных цепей, аналогичных по строению миоглобину.



Оксигемоглобин выполняет функцию транспорта кислорода. Благодаря ему, литр крови переносит 250 мл кислорода в различные органы. Здесь оксигемоглобин отдает кислород, который диффундирует через плазму и стенки капилляров в ткани.



Из многообразия производных гемоглобина, следует, прежде всего, указать на оксигемоглобин HbO_2 – соединение молекулярного кислорода с гемоглобином. Кислород присоединяется к каждому гему молекулы гемоглобина при помощи координационных связей железа, причем присоединение одной молекулы кислорода к тетрамеру облегчает присоединение второй молекулы, затем третьей и т.д. Помимо кислорода, гемоглобин легко соединяется с другими газами, в частности с CO , NO и др. Так, при отравлении оксидом углерода гемоглобин прочно связывается с ним с образованием карбоксигемоглобина (HbCO). При этом вследствие высокого сродства к CO гемоглобин теряет способность связывать кислород и наступает смерть от удушья, недостаточного снабжения тканей кислородом. При этом содержание его в крови в 210 раз больше, чем оксигемоглобина, поэтому наступает отравление угарным газом. Однако при быстром повышении парциального давления кислорода во вдыхаемом воздухе можно добиться частичного

вытеснения СО из связи с гемоглобином и предотвратить летальный исход. Норма содержания карбоксигемоглобина – 0,3 – 05%, у курильщиков – 4,7%. При легкой тяжести отравления – 10-15% - головная боль, слабость, тошнота. При средней – 25-30% - нарушение координации, синюшность лица и помутнение сознания. При тяжелых – 60% и более – потеря сознания и смерть.

При отравлении оксидами азота, парами нитробензола и другими соединениями часть гемоглобина окисляется в метгемоглобин (HbOH), содержащий трехвалентное железо. Метгемоглобин также теряет способность к переносу кислорода от легких к тканям, поэтому при метгемоглобинемии (вследствие отравления окислителями) в зависимости от степени отравления может наступить смерть от недостатка кислорода. Если вовремя оказать помощь, т.е. повысить парциальное давление кислорода (вдыхание чистого кислорода), то и в этом случае можно вывести больного из опасного состояния.

Установление первичной структуры субъединиц молекулы гемоглобина стимулировало исследования по расшифровке структуры так называемых аномальных гемоглобинов. В крови человека в общей сложности открыто около 150 различных типов мутантных гемоглобинов. Появляются мутантные формы гемоглобинов в крови вследствие мутации генов. Обычно мутации делят на 3 класса в соответствии с топографией измененного участка молекулы. Если замена аминокислоты происходит на поверхности молекулы гемоглобина, то это мутация первого класса; подобные мутации обычно не сопровождаются развитием тяжелой патологии, и болезнь протекает бессимптомно; исключение составляет серповидно-клеточная анемия. При замене аминокислоты вблизи гема нарушается связывание кислорода – это мутация второго класса, сопровождающаяся развитием болезни. И наконец, если замена происходит во внутреннем участке молекулы гемоглобина, говорят о третьем классе мутации; подобные мутации приводят к нарушению пространственной структуры и соответственно функции гемоглобина.

Аномальные гемоглобины, различающиеся по форме, химическому составу и величине заряда, были выделены при помощи электрофореза и хроматографии. Передающиеся по наследству изменения чаще всего являются результатом мутации единственного триплета, приводящей к замене одной какой-либо аминокислоты в полипептидных цепях молекулы гемоглобина на другую. В большинстве случаев происходит замена кислой аминокислоты на основную или нейтральную. Поскольку это замещение осуществляется в обеих полипептидных цепях одной из пар (α или β), образовавшийся аномальный гемоглобин будет отличаться от нормального величиной заряда и соответственно электрофоретической подвижностью.

Следует указать, что некоторые мутации, вызывающие существенное изменение структуры и соответственно функции гемоглобина, оказываются летальными, и индивидуумы с подобным гемоглобином умирают в раннем возрасте. Однако при ряде мутаций замена аминокислот не вызывает заметного изменения функции гемоглобина, в этих случаях болезнь протекает бессимптомно.

Болезни гемоглобинов (их насчитывают более 200) называют **гемоглобинозами**. Принято делить их на гемоглобинопатии, в основе развития которых, лежит наследственное изменение структуры какой-либо цепи нормального гемоглобина (часто их относят также к «молекулярным болезням»), и талассемии, обусловленные наследственным нарушением синтеза какой-либо нормальной цепи гемоглобина. Различают также железodefицитные анемии.



Рисунок 32 - Нормальные и серповидные эритроциты

Классическим примером наследственной гемоглобинопатии является серповидно-клеточная анемия, широко распространенная в странах Южной Америки, Африки и Юго-Восточной Азии. При этой патологии эритроциты в условиях низкого парциального давления кислорода принимают форму серпа (рис. 32). Гемоглобин S, как показали Л. Полинг и др., отличается рядом свойств от нормального гемоглобина: в частности, после отдачи кислорода в тканях он превращается в плохо растворимую дезоксиформу и начинает выпадать в осадок в виде веретенообразных кристаллоидов, названных тактоидами. Болезнь протекает остро, и дети, гомозиготные по мутантному гену, часто умирают в раннем возрасте.

Химический дефект при серповидно-клеточной анемии был раскрыт В. Ингремом и сводится к замене единственной аминокислоты, а именно глутаминовой, в 6-м положении с N-конца на валин в β -цепях молекулы гемоглобина HbS. Это результат мутации в молекуле ДНК, кодирующей синтез β -цепи гемоглобина. Все остальные аминокислоты располагаются в той же последовательности и в таком же количестве, как и в нормальном гемоглобине НbА:



Одной этой замены оказалось достаточно не только для нарушения формы эритроцита, но и для развития тяжелой наследственной болезни – серповидно-клеточной анемии.

У беспозвоночных роль переносчика кислорода часто выполняют пигменты негеминовой природы – гемэритрин и гемоцианин. Они не относятся к гемсодержащим хромопротеинам, хотя в их названиях содержится корень «гем». Эти белки, как и гемоглобин, несмотря на то, что выполняют одну и ту же функцию, сильно различаются между собой по молекулярной массе и четвертичной структуре, химической природе активного центра, характеру связывания железа (гемэритрин) и меди (гемоцианин) с кислородом и др.

17 Обмен белков. Цикл мочевины

17.1 Конечные продукты распада аминокислот

В организме человека подвергается распаду около 70 г аминокислот в сутки, при этом в результате реакций дезаминирования и окисления биогенных аминов освобождается большое количество аммиака, являющегося высокотоксичным соединением. Поэтому концентрация аммиака в организме должна сохраняться на низком уровне. Действительно, уровень аммиака в крови в норме не превышает 60 мкмоль/л (это почти в 100 раз меньше концентрации глюкозы в крови). В опытах на кроликах показано, что концентрация аммиака 3 ммоль/л является летальной. Таким образом, аммиак должен подвергаться связыванию в тканях с образованием нетоксичных соединений, легко выделяющихся с мочой.

Один из путей связывания и обезвреживания аммиака в организме, в частности в мозге, сетчатке, почках, печени и мышцах, — это биосинтез глутамина (и, возможно, аспарагина). Глутамин и аспарагин выделяются с мочой в небольшом количестве. Было высказано предположение, что они выполняют скорее транспортную функцию переноса аммиака в нетоксичной форме. Ниже приводится химическая реакция синтеза глутамина, катализируемого глутаминсинтетазой.



Биосинтез аспарагина протекает несколько иначе и зависит от природы ферментов и донора аммиака.

Часть аммиака легко связывается с α -кетоглутаровой кислотой благодаря обратимости глутаматдегидрогеназной реакции. Если учесть связывание одной молекулы аммиака при синтезе глутамина, то нетрудно видеть, что в организме имеется хорошо функционирующая система, связывающая две молекулы аммиака:



Глутамин, кроме того, используется почками в качестве резервного источника аммиака (образуется из глутамина под действием глутаминазы), необходимого для нейтрализации кислых продуктов обмена при ацидозе и защищающего тем самым организм от потери с мочой используемых для этих целей ионов Na^+ .

Основным источником аммиака является катаболизм аминокислот, однако аммиак может образовываться при распаде других азотсодержащих соединений (биогенных аминов, нуклеотидов) в тканях. Часть аммиака образуется в кишечнике в результате деятельности микрофлоры кишечника (гниение белков).

Существует несколько способов обезвреживания аммиака в разных тканях

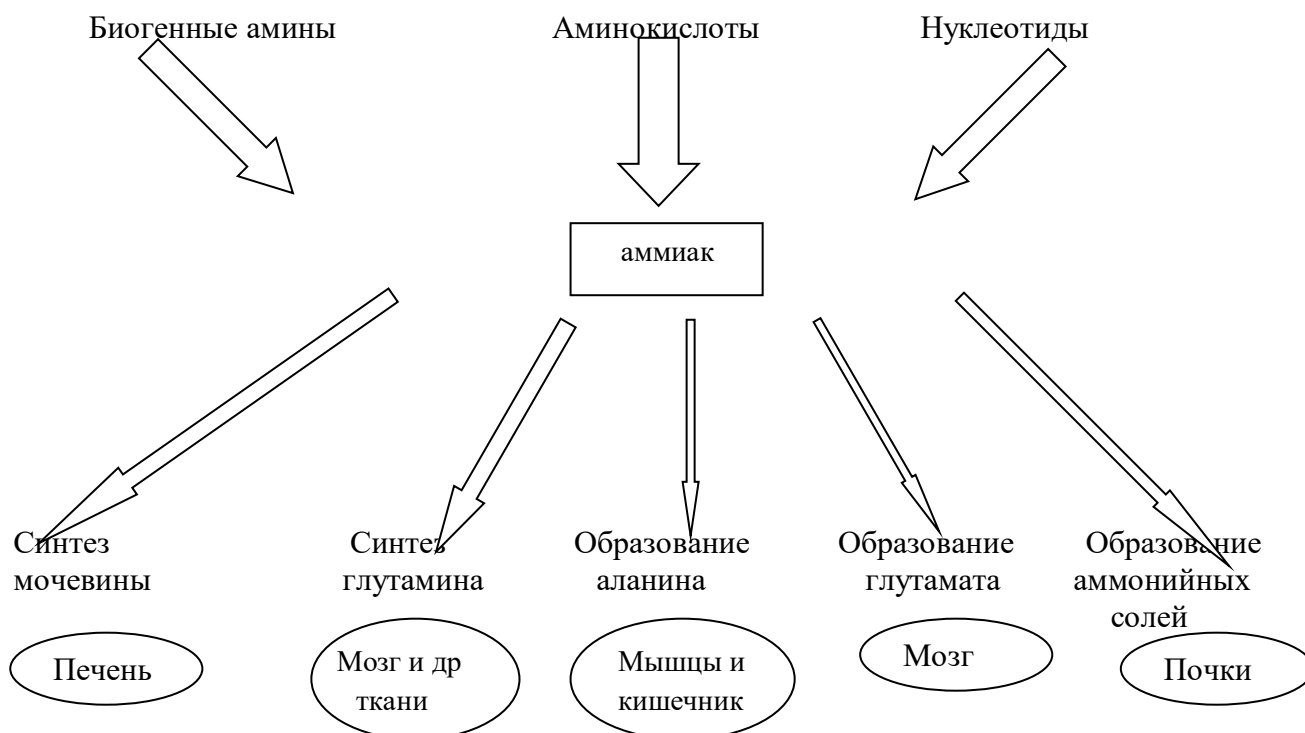
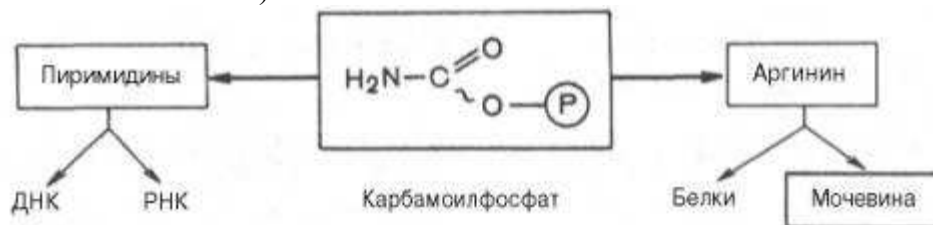


Рисунок 33 – Обезвреживание аммиака

17. 2 Синтез мочевины, орнитинный цикл

Основным механизмом обезвреживания аммиака в организме является биосинтез мочевины. Последняя выводится с мочой в качестве главного конечного продукта белкового, соответственно аминокислотного, обмена. На долю мочевины приходится до 80–85% от всего азота мочи. Основным и, возможно, единственным местом синтеза мочевины является печень. Впервые Г. Кребс и К. Гензеляйт в 1932 г. вывели уравнения реакций синтеза мочевины, которые представлены в виде цикла, получившего в литературе название **орнитинового цикла мочевинообразования Кребса**. Следует указать, что в биохимии это была первая циклическая система метаболизма, описание которой почти на 5 лет опередило открытие Г. Кребсом другого метаболического процесса – цикла трикарбоновых кислот. Дальнейшие исследования в основном подтвердили циклический характер биосинтеза мочевины в печени. Благодаря исследованиям Г. Коена, С. Ратнер и сотр. были уточнены промежуточные этапы и ферментные системы, катализирующие образование мочевины.

Таким образом, весь цикл мочевинообразования может быть представлен следующим образом. На первом этапе синтезируется макроэргическое соединение карбамоилфосфат – метаболически активная форма аммиака, используемая в качестве исходного продукта для синтеза пиримидиновых нуклеотидов (соответственно ДНК и РНК) и аргинина (соответственно белка и мочевины):



Мочевина – основной конечный продукт азотистого обмена, в составе которого из организма выводится избыток азота. Орнитинный цикл в печени выполняет две функции:

- превращение аминокислот в мочевину, которая экскретируется и предотвращает накопление токсичных продуктов, главным образом аммиака;
- синтез аргинина и пополнение его фонда в организме.

Рассмотрим цикл мочевины:

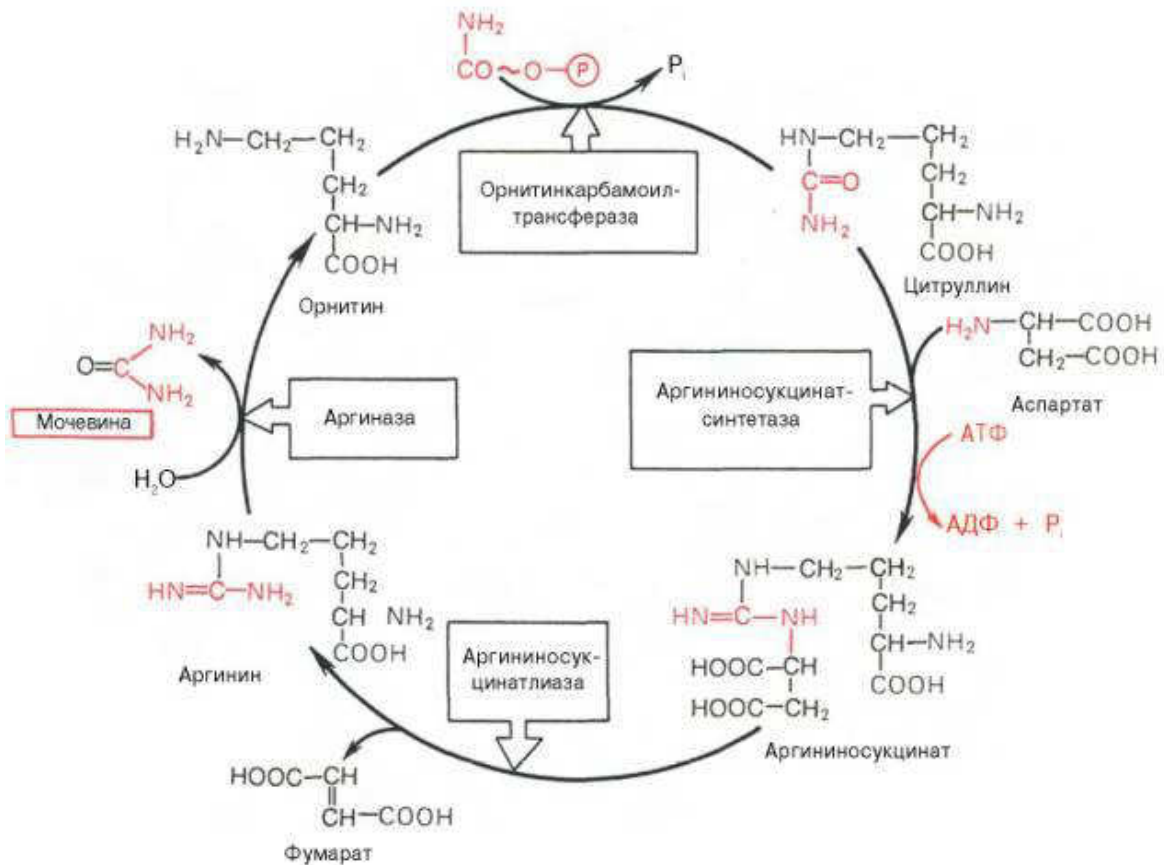
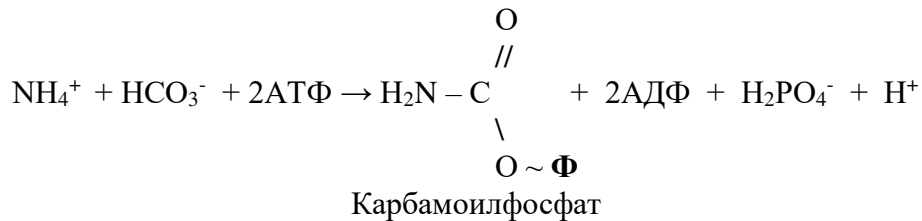


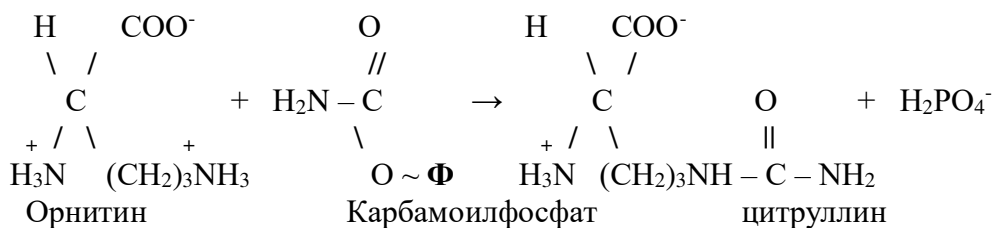
Рисунок 34 - Орнитиновый цикл синтеза мочевины в печени

Начинается он с образования карбамоилфосфата в митохондриях, где много АТФ.

1 Образование карбамоилфосфата. Ионы аммония, возникшие в результате окислительного дезаминирования глутаминовой кислоты, взаимодействуют с гидрокарбонат-анионом и АТФ при участии карбамоилфосфатсинтетазы, образуя карбамоилфосфат, содержащий макроэргическую связь:

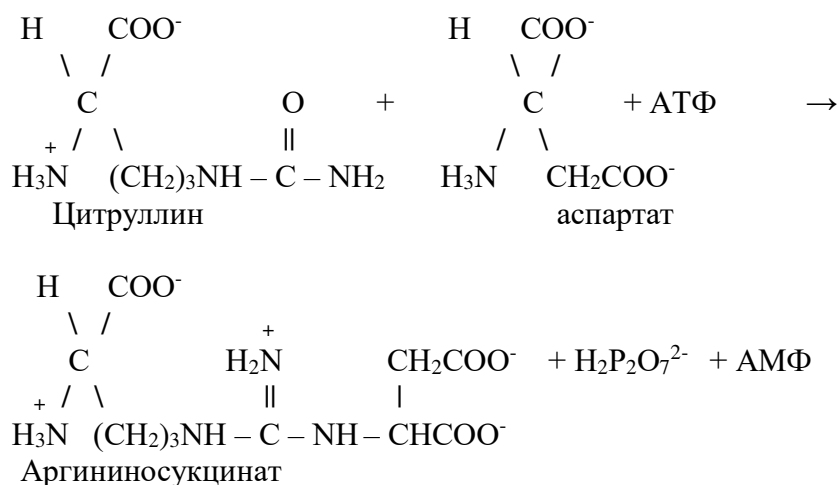


2 Получение цитруллина. В матриксе митохондрий карбамоилфосфат конденсируется с аминокислотой орнитином, которая, являясь гомологом лизина, не входит в состав белков. Реакция катализируется орнитинкарбамоилтрансферазой:



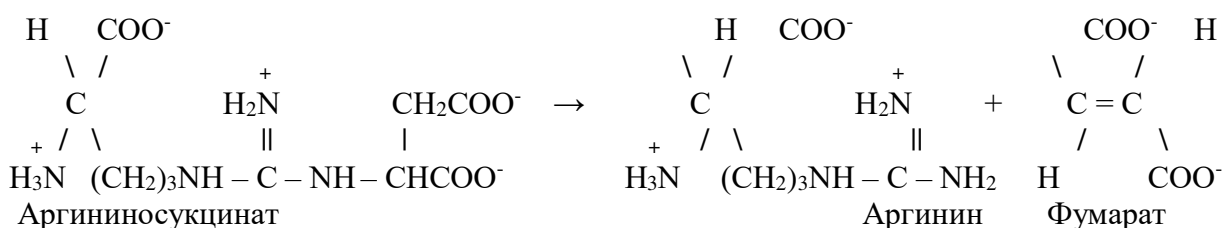
Образующийся цитруллин переходит в цитозоль клеток печени, где и происходят остальные реакции цикла мочевины.

3 Получение аргининосукцината. Замещение карбонильной группы цитруллина на аминогруппу аспартата с образованием гуанидиновой группировки аргининосукцината происходит при участии АТФ и катализируется аргининосукцинатсинтетазой:

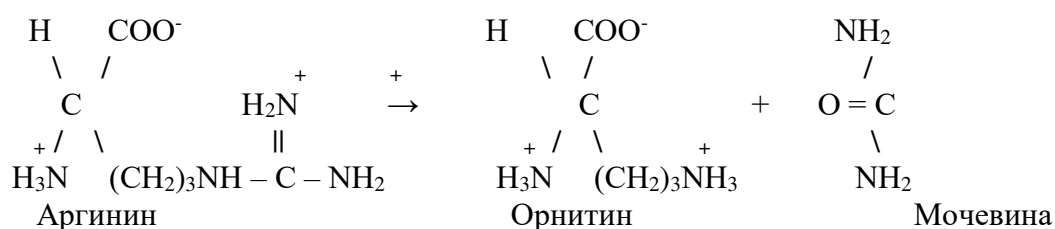


Реакция эндэргоническая, на протекание первой и третьей реакций цикла расходуется 4 молекулы АТФ.

4 Распад аргининосукцината. Под действием аргининосукцинатлиазы аргининосукцинат экзэргонически расщепляется с образованием аргинина и фумарата:



5 Образование мочевины и регенерация орнитина. Гидролиз аргинина, катализируемый аргиназой, приводит к образованию мочевины и регенерации орнитина. Реакция экзэргонична.



Регенерированный орнитин может снова поступать в митохондрии и участвовать в новом обороте цикла мочевины. Образующуюся мочевину кровь переносит из печени в почки, где извлекается из крови и удаляется из организма с мочой.

В орнитиновом цикле расходуется 4 макроэргические связи трех молекул АТФ на каждый оборот цикла. Однако процесс образования мочевины обеспечивает сам себя энергией:

- при регенерации аспартата из фумарата на стадии дегидрирования малата образуется НАДН, который может обеспечить синтез 3 макроэргических связей.

- при окислительном дезаминировании глутамата в разных органах тоже образуется НАДН, который может обеспечить синтез 3 макроэргических связей.

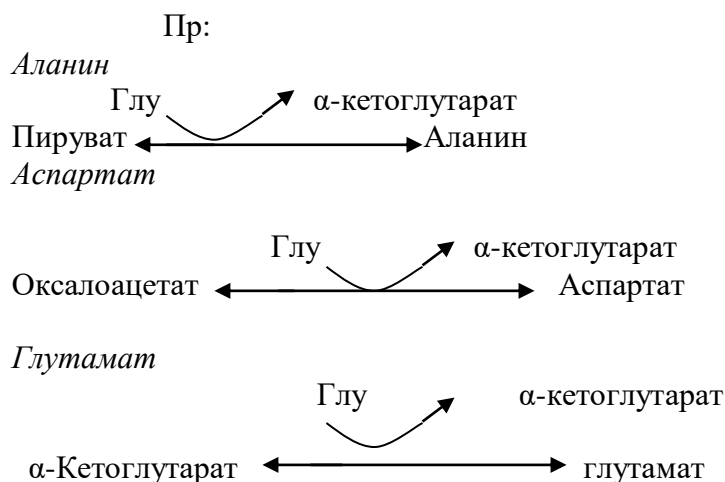
Из приведенных реакций видно, что токсичный аммиак превращается в безвредную мочевины. При этом один из атомов азота мочевины образуется из аммиака, другой – из аспартата.

17.3 Обмен отдельных аминокислот

Главная часть аминокислот идет на синтез белка, остальная часть подвергается превращениям и принимает участие в образовании многих веществ, имеющих большое значение для организма.

Углеродный скелет восьми заменимых аминокислот (Ала, Асп, Асн, Сер, Гли, Про, Глу, Глн) и цистеина может синтезироваться из глюкозы.

α -Аминогруппа вводится в соответствующие α -кетокислоты с помощью реакции трансаминирования. Универсальным донором α -группы является глутамат.



Глутамин синтезируется из глутамата под действием глутаминсинтетазы:

$\text{Глутамат} + \text{NH}_3 + \text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Глутамин} + \text{АДФ} + \text{H}_3\text{PO}_4$, в результате чего обезвреживается аммиак.

Аспарагин синтезируется из аспартата и глутамина под действием аспарагинсинтетазы:

$\text{Аспартат} + \text{Глн} + \text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Аспарагин} + \text{Глу} + \text{АМФ} + \text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$

Серин образуется из 3-фосфоглицерата – промежуточного продукта гликолиза с участием реакций дегидрирования, трансаминирования, и гидролиза под действием фосфатазы. Основной путь катаболизма серина – его дезаминирование с образованием пирувата. Серин принимает участие в синтезе фосфолипидов (фосфотидилсеринов, сфингомиелинов); аминокислот (глицина, цистеина).

Глицин синтезируется в результате действия сериноксиметил-трансферазы:

$\text{Серин} + \text{H}_4\text{-фолат} \rightarrow \text{Глицин} + 5,10\text{-метилен-H}_4\text{-фолат} + \text{H}_2\text{O}$

Глицин идет на синтез креатина (играет важную роль в мышечных сокращениях), является предшественником порфиринов (гема), пуриновых оснований, парных желчных кислот; принимает участие в обезвреживании бензойной, фенилуксусной кислоты и др. глицин

Частично заменимые аминокислоты *Арг* и *Гис* синтезируются в небольшом количестве, которые не отвечают потребностям организма. Синтез аргинина происходит в реакциях орнитинового цикла. Гистидин синтезируется из АТФ и рибозы.

Условно заменимые аминокислоты *Тир* и *Цис* образуются с использованием незаменимых аминокислот:

Фенилаланин \rightarrow Тирозин (под действием фенилаланингидроксилазы)

Для образования цистеина необходима сера, донором которой является метионин.

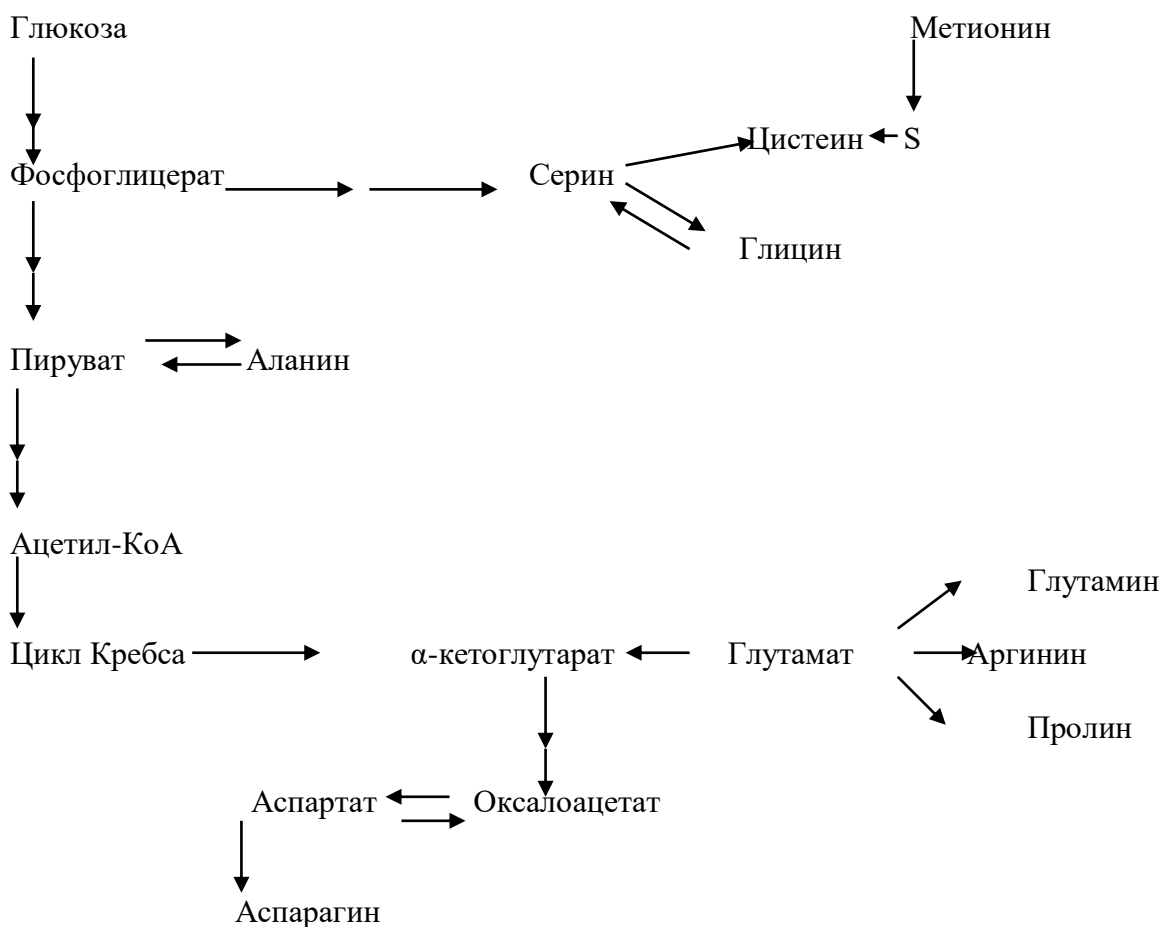
В результате катаболизма всех аминокислот образуется 6 веществ, вступающих в общий путь катаболизма: пируват, ацетилкоэнзим А, α-кетоглутарат, сукцинилКоА, фумарат, оксалоацетат.

Аминокислоты, которые превращаются в пируват и промежуточные продукты (α-кетоглутарат, сукцинил КоА, фумарат, оксалоацетат), могут превращаться в итоге в оксалоацетат и использоваться в процессе гликогенеза. Это так называемые гликогенные аминокислоты.

Кетогенные аминокислоты – Лиз, Лей, Иле, Три, Фен, Тир – в процессе катаболизма превращаются в ацетоацетат или ацетил-КоА и могут быть источником кетоновых тел.

Ряд аминокислот используется и для синтеза глюкозы, и для синтеза кетоновых тел, так как превращается сразу в два продукта, – какой либо метаболит общего пути катаболизма и ацетил-КоА или ацетоацетат (Три, Фен, Тир). Такие аминокислоты называют смешанными или гликокетогенными.

Пути биосинтеза заменимых аминокислот:



18 Взаимосвязь обмена белков, жиров и углеводов. Обмен воды и минеральных солей

Живой организм и его функционирование находятся в постоянной зависимости от окружающей среды. Интенсивность обмена с внешней средой и скорость внутриклеточных процессов обмена веществ поддерживают постоянство внутренней среды и целостность организма.

Как было указано, обмен веществ в организме человека протекает не хаотично; он интегрирован и тонко настроен. Все превращения органических веществ, процессы

анаболизма и катаболизма тесно связаны друг с другом. В частности, процессы синтеза и распада взаимосвязаны, координированы и регулируются нейрогормональными механизмами, придающими химическим процессам нужное направление. В организме человека, как и в живой природе вообще, не существует самостоятельного обмена белков, жиров, углеводов и нуклеиновых кислот. Все превращения объединены в целостный процесс метаболизма, подчиняющийся диалектическим закономерностям взаимозависимости и взаимообусловленности, допускающий также взаимопревращения между отдельными классами органических веществ. Подобные взаимопревращения диктуются физиологическими потребностями организма, а также целесообразностью замены одних классов органических веществ другими в условиях блокирования какого-либо процесса при патологии.

В настоящее время экспериментально обосновано существование четырех главных этапов распада молекул углеводов, белков и жиров, которые интегрируют образование энергии из основных пищевых источников. На I этапе полисахариды расщепляются до моносахаридов (обычно гексоз); жиры распадаются на глицерин и высшие жирные кислоты, а белки – на составляющие их свободные аминокислоты. Следует подчеркнуть, что указанные процессы в основном являются гидролитическими, поэтому освобождающаяся в небольшом количестве энергия почти целиком используется организмами в качестве тепла.

На II этапе мономерные молекулы (гексозы, глицерин, жирные кислоты и аминокислоты) подвергаются дальнейшему распаду, в процессе которого образуются богатые энергией фосфатные соединения и ацетил-КоА. В частности, при гликолизе гексозы расщепляются до пировиноградной кислоты и далее до ацетил-КоА. Этот процесс сопровождается образованием ограниченного числа богатых энергией фосфатных связей путем субстратного фосфорилирования. На этом этапе высшие жирные кислоты аналогично распадаются до ацетил-КоА, в то время как глицерин окисляется по гликолитическому пути до пировиноградной кислоты и далее до ацетил-КоА. Для аминокислот ситуация на II этапе несколько отлична. При преимущественном использовании аминокислот в качестве источника энергии (при дефиците углеводов или при сахарном диабете) некоторые из них непосредственно превращаются в метаболиты лимоннокислого цикла (глутамат, аспартат), другие – опосредованно через *глутамат* (пролин, гистидин, аргинин), третьи – в пируват и далее в ацетил-КоА (аланин, серин, глицин, цистеин). Наконец, ряд аминокислот, в частности лейцин, изолейцин, расщепляется до ацетил-КоА, а из фенилаланина и тирозина, помимо ацетил-КоА, образуется оксалоацетат через фумаровую кислоту. Как видно, II этап можно назвать этапом образования ацетил-КоА, являющегося по существу единым (общим) промежуточным продуктом катаболизма основных пищевых веществ в клетках.

На III этапе ацетил-КоА (и некоторые другие метаболиты, например α -кетоглутарат, оксалоацетат) подвергаются окислению («сгоранию») в цикле ди- и трикарбоновых кислот Кребса. Окисление сопровождается образованием восстановленных форм НАДН + H^+ и ФАДН₂.

На IV этапе осуществляется перенос электронов от восстановленных нуклеотидов на кислород (через дыхательную цепь). Он сопровождается образованием конечного продукта – молекулы воды. Этот транспорт электронов сопряжен с синтезом АТФ в процессе окислительного фосфорилирования.

Помимо прямых переходов метаболитов этих классов веществ друг в друга, существует тесная энергетическая связь, когда энергетические потребности могут обеспечиваться окислением какого-либо одного класса органических веществ при недостаточном поступлении с пищей других. Важность белков (в частности, ферментов, гормонов и др.) в обмене всех типов химических соединений слишком очевидна и не требует доказательств. Кетогенные аминокислоты, образующие в процессе обмена ацетоуксусную кислоту (ацетоацетил-КоА), могут непосредственно участвовать в синтезе жирных кислот и стероидов.

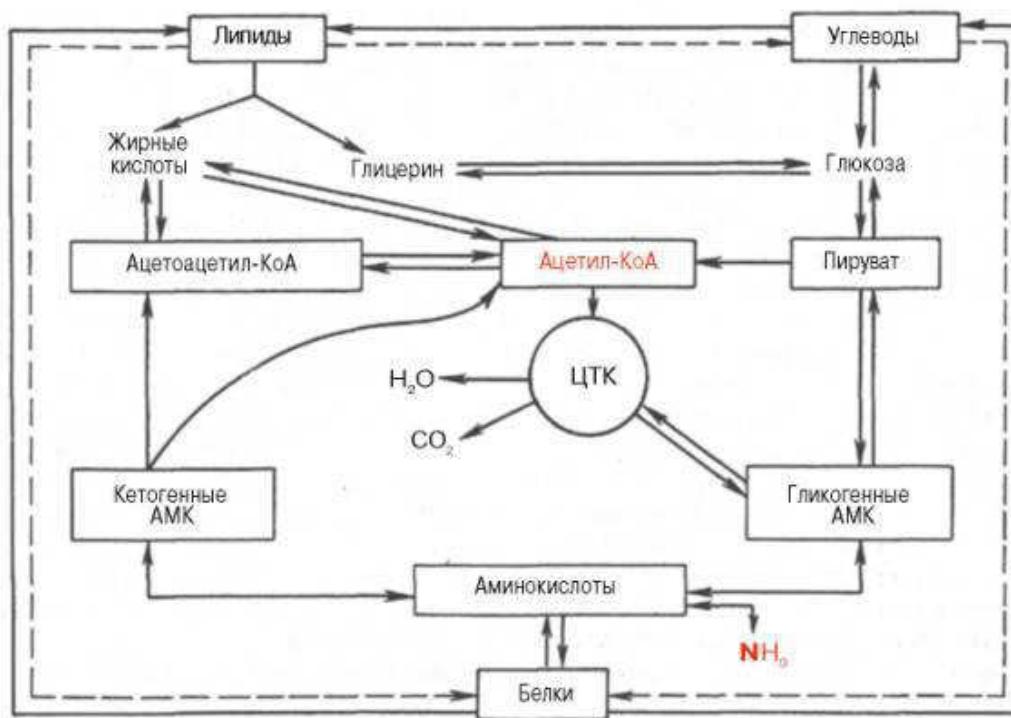


Рисунок 34 - Взаимосвязь белков, жиров и углеводов

Получены доказательства синтеза глюкозы из большинства аминокислот. Для некоторых аминокислот (аланин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты) связь с глюконеогенезом является непосредственной, для других она осуществляется через побочные метаболические пути. Три α -кетокислоты (пируват, оксалоацетат и кетоглутарат), образующиеся соответственно из аланина, аспартата и глутамата, не только служат исходным материалом для синтеза глюкозы, но являются своеобразными кофакторами при распаде ацетильных остатков всех классов пищевых веществ в цикле Кребса для получения энергии.

Синтез незаменимых аминокислот из продуктов обмена углеводов и жиров в организме животных отсутствует. Клетки животных не содержат ферментных систем, катализирующих синтез углеродных скелетов этих аминокислот. В то же время организм может нормально развиваться исключительно при белковом питании, что также свидетельствует о возможности синтеза углеводов из белков. Процесс синтеза углеводов из аминокислот получил название глюконеогенеза. Он доказан прямым путем в опытах на животных с экспериментальным диабетом: более 50% введенного белка превращается в глюкозу. Как известно, при диабете организм теряет способность утилизировать глюкозу, и энергетические потребности покрываются за счет окисления аминокислот и жирных кислот. Доказано также, что исходными субстратами для глюконеогенеза являются те аминокислоты, распад которых сопровождается образованием прямо или опосредованно пировиноградной кислоты (например, аланин, серин, треонин и цистеин). Более того, имеются доказательства существования в организме своеобразного циклического процесса – глюкозоаланинового цикла, участвующего в тонкой регуляции концентрации глюкозы в крови в тех условиях, когда в период между приемами пищи организм испытывает дефицит глюкозы. Источниками пирувата при этом являются указанные аминокислоты, образующиеся в мышцах при распаде белков и поступающие в печень, в которой они подвергаются деаминации. Образовавшийся аммиак в печени обезвреживается, участвуя в синтезе мочевины, которая выделяется из организма. Дефицит мышечных белков затем восполняется за счет поступления аминокислот пищи.

Энергетическая ценность пищи оказывает определенное влияние на белковый обмен, контролируемый азотистым балансом. Так, если потребляемая энергия пищи ниже минимального уровня, то наблюдается увеличение экскреции азота, и, наоборот, при увеличении энергетической ценности пищи экскреция азота с мочой снижается.

Между циклом лимонной кислоты и орнитинным циклом мочевино-образования имеются сложные связи, определяющие в известной степени скорость реакций, зависимость от энергетических потребностей клетки и концентраций конечных продуктов метаболизма. Как было показано, фумаровая кислота образуется в процессе распада аргинино-янтарной кислоты, синтез которой в свою очередь требует наличия аминокислоты аспартата. Образовавшаяся фумаровая кислота (из предшественника аминокислоты аспартата) далее вступает в цикл лимонной кислоты и под действием двух ферментов этого цикла: фумаратгидратазы и малатдегидрогеназы – превращается в оксалоацетат, который при участии специфической трансаминазы вновь превращается в аспартат, т.е. получается своеобразный аспартат-аргининоянтарный шунт цикла лимонной кислоты, соединенного с циклом мочевинообразования. Таким образом, при помощи этого необычного сцепленного механизма происходит переплетение реакций обоих циклов (мочевинообразования и ди- и трикарбоновых кислот).

Таким образом, скорость распада одних питательных веществ и биосинтеза других, прежде всего, определяется физиологическим состоянием и потребностями организма в энергии и метаболитах.

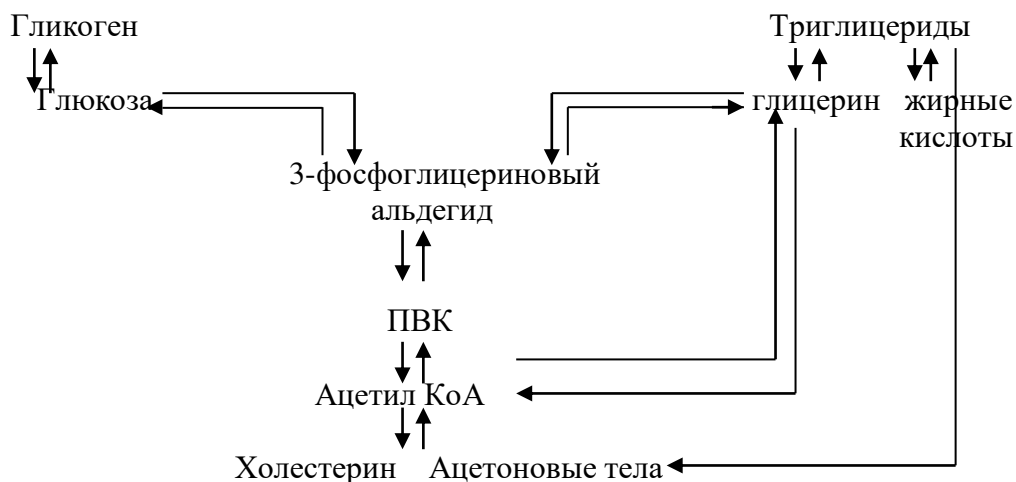
18.1 Взаимосвязь обмена углеводов и жиров

Конечными продуктами обмена веществ являются CO_2 , H_2O и мочевина. Углекислый газ, образующийся при декарбоксилировании углеводов, жиров, белков, нуклеиновых кислот поступает в общий фонд его в организме и затем используется для синтеза жирных кислот, пуриновых оснований, некоторых аминокислот.

Большое значение имеют промежуточные продукты различных веществ, например, ацетил КоА. Он образуется в ходе окисления глюкозы, жирных кислот, некоторых аминокислот. Он необходим для данного организма жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов желчных кислот и служит основным источником энергии. Поэтому при недостатке в пище жиров дефицит ацетила КоА будет покрываться за счет повышенного распада углеводов и белков и наоборот.

Наряду с этими связями существуют и более специфические механизмы взаимодействий.

Изучение общих путей метаболизма углеводов и жиров четко показывает их связь, когда промежуточные продукты распада углеводов могут стать исходными веществами для синтеза жиров и наоборот.



Так, трифосфоглицериновый альдегид и ацетил КоА, образующийся при распаде углеводов, может стать источником синтеза глицерина и жирных кислот, которые в свою очередь образуют жиры (ожирение при избытке углеводов, откармливание с\х животных избытком углеводов). Ацетил КоА участвует также в цикле Кребса, в образовании холестерина, ацетоновых тел.

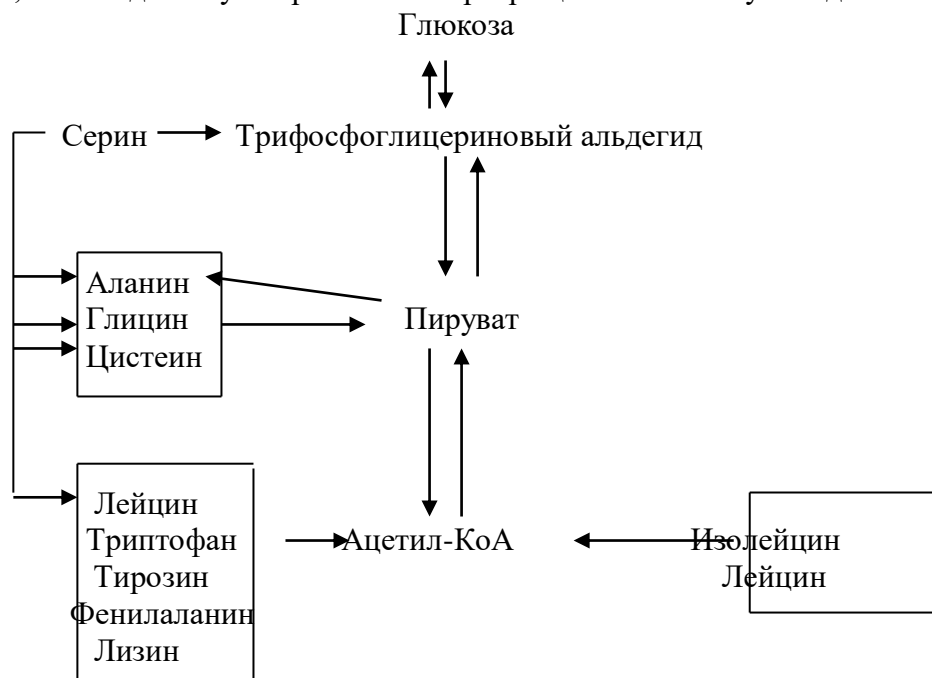
Эта схема иллюстрирует и обратную возможность превращения жиров в углеводы.

Глицерин через трифосфоглицериновый альдегид может включиться в синтез гликогена, а ацетил КоА, как продукт β -окисления жирных кислот, через ряд превращений приводит к образованию ПВК.

18.2 Взаимосвязь обмена углеводов и белков

При распаде белков образуются аминокислоты, большая часть которых называется гликогенными и служит источником веществ, необходимых для синтеза углеводов.

Вначале аминокислоты подвергаются дезаминированию с образованием безазотистых соединений, а последние путем различных превращений используются для синтеза глюкозы.



Процесс образования из белков (аминокислот) углеводов называется глюконеогенез.

Образование аминокислот из продуктов обмена углеводов ограничено, так как в организме могут синтезироваться только заменимые аминокислоты. В настоящее время доказано, что из промежуточных продуктов распада углеводов в этом процессе наиболее активно участвует ПВК, α -кетоглутаровая кислота и щавелевоуксусная кислота, которые при переаминировании или восстановительного аминирования дают начало аланину, аспарагиновой кислоте и глутаминовой кислоте.

18.3 Взаимосвязь обмена белков и жиров

О взаимосвязи этого вида обмена веществ известно мало. Возможно, что превращения аминокислот в жирные кислоты происходит через образование вначале углеводов, хотя некоторые аминокислоты называемые кетогенными (лейцин, фенилаланин, тирозин) дают в качестве промежуточных продуктов ацетоуксусную кислоту и могут превращаться в жирные

кислоты. Процесс синтеза аминокислот из жиров протекает ограниченно и относится к некоторым заменимым аминокислотам.

Одним из основных продуктов распада липидов, в частности ВЖК, возникающих при гидролизе триглицеридов, фосфатидов или стероидов, является ацетил КоА, который вступая в цикл Кребса, дает начало α -кетоглутаровой кислоте, щавелевоуксусной кислоте, а из неё ПВК. Из ПВК могут образоваться некоторые аминокислоты. И наоборот, при распаде аминокислот образуется ПВК, которая может превратиться в фосфоглицерин, и ацетил КоА, дающий начало некоторым заменимым аминокислотам.

Все превращения протекают в различных органах и тканях, но особое место в сложных взаимопревращениях обмена веществ занимает печень – главная «биохимическая» лаборатория организма, которая распространяет свое влияние на весь организм.

В печени происходит образование различных белков – альбуминов и глобулинов плазмы, сывороточных липопротеидов (транспортных форм жирорастворимых веществ), факторов свертывания крови и т.п.

Деятельность мозга, активная мышечная работа обеспечивается за счет глюкозы, которая образуется при метаболизме гликогена и в процессе глюконеогенеза, одним из путей, которых является синтез глюкозы, из молочной кислоты, образуемой в мышцах и поступающей в печень.

При снижении в организме запасов энергии усиливаются процессы транспорта из жировых депо триглицеридов в печень, где они, окисляясь, покрывают недостаток энергии. При избыточном поступлении жира с пищей происходит его распад в печени с образованием кетонных тел, которые поступают в почки, мышцы и другие ткани, где служат субстратами окисления. В печени происходит обезвреживание различных токсических продуктов (билирубин, аммиак, индолы, фенолы).

18.4 Понятие о гомеостазе

Организм – термодинамическая открытая система, поэтому это позволяет ему сохранять устойчивость, уровень работоспособности, а также относительное постоянство внутренней среды, которое называется гомеостазом.

Гомеостаз – относительное динамическое постоянство состава и свойств внутренней среды организма, обуславливающее устойчивость его физиологических функций.

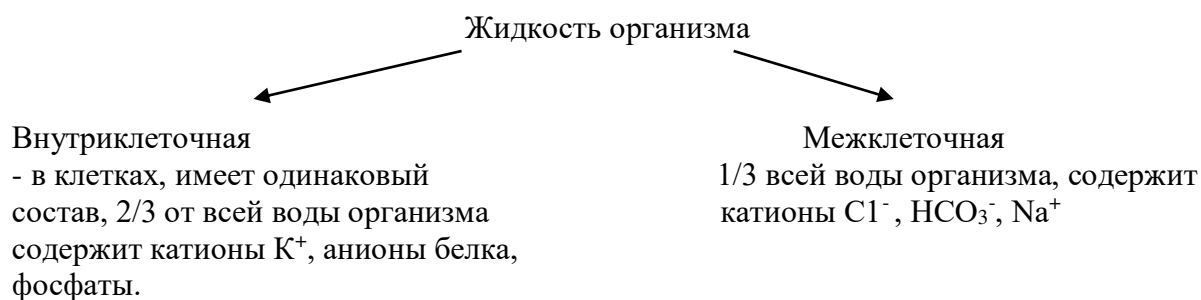
В формировании и поддержании состояния гомеостаза большую роль играет обратимость большинства биохимических процессов, которые всегда протекают самопроизвольно в направлении достижения равновесия, но, как правило, в организме они его не достигают. Это происходит или за счет использования продуктов реакции, протекающей самопроизвольно, в других процессах, или за счет изменения условий в данной системе. Например, в легких, где концентрация кислорода большая, гемоглобин крови соединяется с кислородом, но, не достигнув равновесия в насыщении кислородом, кровь переносится из легких к тканям, и там гемоглобин отдает кислород, поскольку при переходе от легких к тканям в крови изменяются условия для процесса взаимодействия гемоглобина с кислородом.

Таким образом, организм использует в своей жизнедеятельности обратимые биохимические процессы и их стремление к состоянию химического равновесия, так как это состояние приведет к гибели организма.

18.5 Водный обмен и его регуляция

Вода – составная часть организма. Все реакции обмена веществ протекают в водной среде, в которой существуют клетки, и связь между ними поддерживаются через жидкость. Основная часть биологической жидкости – крови, лимфы, спинномозговой жидкости, мочи, соков пищеварительного тракта, межклеточной жидкости – вода. 2/3 организма – это вода.

4-х месячный эмбрион состоит на 94% из воды, новорожденный - на 77%, взрослый человек – на 50-60%.



Потребности в воде меняются с возрастом. Взрослый человек потребляет 15 мл на 1 кг массы, грудной ребенок 35 мл.

В водном обмене принимают участие почки, легкие, кожа, желудочно-кишечный тракт, эндокринные железы.

Почки – главный регулятор водного обмена. Легкие выделяют воду в виде пара. Количество воды, выделяемое через легкие зависит от частоты дыхания и температуры тела. При повышенной температуре и при учащенном дыхании количество воды увеличивается.

Через кожу – потеря воды происходит через выделение пота и испарения. Испарение воды зависит от разницы температуры тела и температуры окружающей среды. (при высокой температуре ОС – повышенное выделение пота).

В основе регуляции водного обмена лежит поддержание постоянства осмотического давления. Важная роль принадлежит обменным взаимоотношениям между внеклеточной и внутриклеточной жидкостью. При поступлении в организм электролитов, которые распределяются в основном по внеклеточной жидкости, происходит перемещение воды из клеток в межтканевые пространства, кровь, лимфу. При избытке электролитов внутри клеток вода перемещается в обратном направлении.

Основная регуляторная система водного обмена – это система – гормоны-почки. Из гормонов наиболее важны – альдостерон и вазопрессин.

Вазопрессин обладает антидиуретическими свойствами. Секреция вазопрессина регулируется величиной осмотического давления плазмы крови. Механизм: при повышении осмотического давления плазмы начинается повышенная выработка вазопрессина, который понижает выведение воды из организма за счет увеличения концентрации мочи. В результате в организме вода задерживается, понижается осмотическое давление и снижается выработка вазопрессина. Адреналин и боль повышает выработку вазопрессина, и снижают диурез, небольшая доза алкоголя снижают его образование и повышают мочеотделение.

Альдостерон – наиболее активный минералокортикостероид, синтезируется в коре надпочечников. Выработка альдостерона связана с уровнем ионов натрия в крови. Понижение его концентрации приводит к понижению осмотического давления и увеличению выделения воды. При повышенной концентрации ионов натрия в плазме снижается выработка гормона.

18.6 Минеральный обмен

Минеральные вещества – это незаменимые вещества для организма, хотя и не обладают питательной ценностью и не являются источником энергии. Их значение определяется тем, что они входят в состав всех клеток органов и тканей, вместе с водой участвуют в поддержании осмотического давления и обеспечивают постоянство pH внутриклеточной и внеклеточной жидкости, являются структурными компонентами ферментов и витаминов, участвуют в обмене веществ. Например. В формировании активной формы гормона инсулина выдающаяся роль принадлежит Zn^{2+} .

Многие катионы металлов (Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} и др) участвуют в ферментативном катализе, связывая на короткое время непрочно связями либо субстрат и фермент, либо (при возникновении фермент-субстратного комплекса), либо кофермент с апоферментом (в двухкомпонентных ферментах)

Распад и синтез белков в значительной степени зависят от ряда минеральных элементов. Ионы Mn , Zn , Fe , Co и Ni повышают активность пептидогидролаз и аргиназы, т.е. участвуют в деструкции белка. Биосинтез белка идет при непосредственном участии ионов K , Mg и Mn . Первый и второй необходимы для поддержания рибосом в функционально-активном состоянии. Третий обеспечивает осуществление пептидилтрансферазной реакции при сборке полипептидной цепи.

Различные катионы принимают активное участие в распаде и синтезе углеводов и липидов и продуктов их деструкции, претерпевающих окончательное разрушение в цикле Кребса. Центральным элементом в гликолитическом процессе является Mg : он активирует большинство ферментов гликолиза. Новообразование углеводов в процессе фотосинтеза невозможно без участия магния (составная часть хлорофилла), марганца (участвует в фотосинтетическом фосфорилировании) и железа (необходимо для синтеза хлорофилла)

Распад липидов, как простых так и сложных, активируется Ca^{2+} , так как этот катион положительно влияет на деятельность липазы, фосфолипаз. В-окисление ацил-КоА идет более энергично в присутствии ионов Cu и Fe . При синтезе ацетил КоА, фосфохолина необходим Mg . Цикл Кребса осуществляется при активном участии ионов Mn^{2+} .

Минеральные вещества, поступающие в растительный и животный организм, задерживаются в организме, образуя в подавляющем большинстве случаев специфические соединения. Концентрирование элементов в живой природе видоспецифично и наследственно (150 видов пасленовых лютиковых и др накапливают литий, плауны – алюминий, морские водоросли – йод, мухомор - селен).

Из макроэлементов Ca и P у высших животных образуют фосфорно-кислый кальций – основу костной ткани. Сера в значительной мере вступает в состав органических соединений. Для Mg , K и Na характерна ионная форма существования, уравновешенная в основном анионами хлора, фосфата и карбоната.

Микроэлементы в большинстве своем вступают во взаимодействие с белками и нуклеиновыми кислотами либо непосредственно, либо предварительно включаясь в состав простетических групп органической природы.

Обмен минеральных элементов протекает энергично. Это особенно ярко выявляется в тех случаях, когда элемент экскретируется из организма в составе какого-либо нормального продукта жизнедеятельности. Так, у млекопитающих большие количества Ca и P выводятся из организма в период лактации.

Характерной особенностью обмена минеральных элементов является, с одной стороны, взаимозаменяемость ряда из них и, с другой антагонизм действия. Так, в ферментативных процессах, там где K^+ , NH_4^+ или Rb^+ выступают как активаторы (например, при действии альдегиддегидрогеназы из дрожжей), Na^+ , Li^+ или Cs^+ являются ингибиторами. В таких же отношениях находятся Mg^{2+} и Ca^{2+} , Mn^{2+} и Zn^{2+} .