

БИОХИМИЯ:

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ, ЗАДАНИЯ, СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

**Учебно-методический комплекс
для студентов факультета физической
культуры и спорта
(Издание второе исправленное и дополненное)**

УДК 577.1(075)
ББК 28.072я73
Б63

Авторы: заведующий кафедрой химии УО «ВГУ им. П.М. Машерова», доктор биологических наук, профессор **А.А. Чиркин**; доктор медицинских наук, профессор кафедры химии **Е.О. Данченко**

Рецензенты: доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией экспериментальной гепатологии Института биохимии НАН Беларуси **В.У.Буко** и доктор медицинских наук, профессор кафедры патфизиологии Витебского государственного медицинского университета, профессор **Ю.Я.Родионов**

Учебно-методический комплекс по биохимии для студентов факультета физической культуры и спорта включает программу по биохимии, рабочий план специальностям «Физическая культура. Физическая реабилитация. Эрготерапия», тематику лекций и лабораторных занятий, теоретические основы предмета, вопросы контрольной работы и экзамена. Комплекс призван оказать помощь студентам дневной и заочной форм обучения в изучении биохимии.

УДК 577.1(075)
ББК 28.072я73

© Чиркин А.А., Данченко Е.О., 2005
© УО «ВГУ им. П.М.Машерова», 2005

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие.....	4
Цель и задачи изучения биохимии	5
Программа курса «Биологическая химия»	5
Литература	17
Рабочий план	18
Тематический план лекций для дисциплины «Биохимия-1» (ДО).....	19
Лабораторные занятия для дисциплины «Биохимия-1» (ДО).....	28
Тематический план лекций для ОЗО (Биохимия-2,3,4).....	30
Лабораторные занятия для ОЗО (Биохимия-2,3,4).....	31
Контрольная работа	33
Теоретические основы курса биохимии	37
Введение.....	37
Белки	44
Ферменты	57
Пищеварение	66
Энергетический обмен	69
Общий путь катаболизма	77
Обмен углеводов	83
Обмен липидов	96
Обмен аминокислот	112
Обмен нуклеотидов	121
Гормоны	125
Витамины	155
Биохимия мышц	174
Роль биохимических исследований в спортивной медицине.....	180
Лабораторный практикум.....	186
Программные вопросы по биохимии	211
Примеры тестов и ситуационных задач	216

ПРЕДИСЛОВИЕ

Учебно-методический комплекс «Биологическая химия» предназначен для студентов факультета физической культуры и спорта УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова» по специальности 1-03 02 01 – Физическая культура со специализациями (1-01 02 01 02, 1-01 02 01 03, 1-01 02 01 07) дневной формы обучения и 1-88 01 03 – Физическая реабилитация и эрготерапия; направление специальности 1-88 01 03 02 – Эрготерапия и специальности 1-03 02 01 – Физическая культура; специализация 1-03 02 01 04 – Физическая реабилитация (отделение заочного обучения).

Рабочая программа составлена профессором А.А. Чиркиным на основе программы «Биологическая химия с основами молекулярной биологии» для специальности Н.06.01.03 «Экология» (специализация Н.06.01.01 «Общая экология», Витебск: ВГУ, 2002 (автор – проф. А.А. Чиркин) и программы «Биохимия» для педагогических институтов (сборник 19, «Биологическая химия» для специальности 2014 – «Физическое воспитание», М.: Просвещение, 1981).

Учебно-методический комплекс «Биохимия» для студентов ОЗО факультета физической культуры и спорта рассмотрен и рекомендован к утверждению на заседании кафедры химии 29 января 2003 года, протокол № 6 и 23 февраля 2005 года, протокол №7.

Программа по биологической химии составлена с ориентацией на конечный результат обучения студентов по специальности «Физическая культура» со специализациями, а также специальности «Физическая реабилитация и эрготерапия». В соответствии с этим при изучении биохимии ставится следующая цель: научить студента применять при изучении последующих дисциплин и при профессиональной деятельности реабилитолога сведения о химическом составе и молекулярных процессах живых организмов в состоянии нормы, а также в типичных ситуациях физической нагрузки и нарушений восстановительных процессов органов и тканей ряда систем организма. В соответствии с этим программа составлена таким образом, что дается переход от химической организации к функциональной биохимии, а затем к прикладным ее разделам (молекулярные основы реабилитации). Программа основана на учебно-исследовательском принципе изучения предмета.

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИЗУЧЕНИЯ БИОХИМИИ

Цель изучения дисциплины: формирование целостной системы знаний о химическом составе организма, превращениях химических веществ в тесной связи с функциями организма и его молекулярно-метаболическими механизмами реабилитационных процессов.

Задачи дисциплины:

В результате усвоения этой дисциплины обучаемый должен **знать:**

- основные пути катаболизма и анаболизма низкомолекулярных биорегуляторов и биополимеров;
- источники энергетического и пластического обеспечения метаболизма в живых системах, а также механизмов мышечного сокращения;
- химические основы нейроэндокринной регуляции и метаболической терапии витаминами и другими нутриентами;
- биохимические основы физиотерапии;
- основные биохимические понятия и термины;
- лабораторно-биохимические исследования в реабилитологии.

В результате усвоения этой дисциплины обучаемый должен **уметь:**

- использовать справочники и метаболическую карту для анализа процессов жизнедеятельности;
- выполнять биохимические анализы с использованием общедоступного лабораторного оборудования (сухая химия) и знать правила по технике безопасности и охране труда;
- использовать методы биохимического анализа и их интерпретировать при исследовании нарушений и оценки эффективности восстановления структуры и функций организма;
- обрабатывать данные биохимических экспериментов и лабораторных исследований биологического материала.

ПРОГРАММА КУРСА «БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ»

Предмет и задачи биологической химии; важнейшие этапы развития биохимии. Вклад белорусских ученых. Особенности методических подходов и уровни биохимических исследований: изучение обмена энергии, иерархической структурной организации, раздражимости и самовоспроизведения – важнейших признаков живой материи. Важнейшие разделы (статическая – биоорганическая химия, динамическая – метаболизм и функциональная биохимия) и направления (в зависимости от вида изучаемого объекта живой природы) биохимии. Питание, окружающая среда и генотип – основные факторы влияния на жизнедеятельность организмов. Спортивная медицина, реабилитология и биохимия.

1. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ

1.1. Основные химические компоненты живых организмов:

Элементарный состав клеток и тканей. Химический состав клеток и тканей: вода, минеральные вещества, белки, нуклеиновые кислоты, углеводы, липиды. Биополимеры и низкомолекулярные биорегуляторы. Общие принципы изучения химического состава клеток: выделение и очистка биомолекул, исследование их структуры, изучение функций и метаболизма биомолекул. Уровни изучения биохимических реакций.

1.2. Белки, структура и функции:

1.2.1. Белки как важнейший компонент живой ткани. Функции белков. Элементарный состав белков. Гидролиз белков. Аминокислоты – структурные мономеры белков. Строение и классификации аминокислот. Заменяемые и незаменимые аминокислоты.

1.2.2. Строение и уровни организации белков. Первичная структура белков, ее характеристика. Пептидная связь, ее свойства и методы исследования. Пептиды. Классификация, функции в организме. Нейропептиды, пептиды-токсины. Зависимость биологических свойств белков от первичной структуры. Видовая специфичность первичной структуры белков (на примере инсулина).

Конформация полипептидной цепи. Вторичная структура белков. Роль водородных связей. Спиральные, слоисто-складчатые и неупорядоченные структуры. Строение α -спирали, β -структуры, их особенности и отличия. Надвторичная структура. Третичная структура, слабые внутримолекулярные взаимодействия в полипептидной цепи; дисульфидные связи. Глобулярные и фибриллярные белки. Денатурация белков; обратимость денатурации. Четвертичная структура белков. Зависимость биологической активности белков от четвертичной структуры; кооперативные изменения конформации протомеров (на примере гемоглобина в сравнении с миоглобином).

1.2.3. Простые белки, представители, краткая характеристика. Способность к специфическим взаимодействиям – основа биологических функций всех белков. Лиганды и функции белков. Комплементарность структуры центра связывания белка структуре (поверхности) лиганда. Обратимость связывания. Самосборка надмолекулярных структур. Сложные белки. Общие представления о структуре и номенклатуре сложных белков, строение простетических групп, типы связей между апобелком и простетической группой.

1.2.4. Физико-химические свойства белков. Белки как коллоидные растворы. Молекулярная масса белков, методы определения. Турбидиметрия и нефелометрия. Вязкость белковых растворов и способность к образованию гелей. Диализ. Оптические свойства белков. Белки как амфотерные макромолекулы. Ионизация белков, электрофорез, изоэлектрическая

точка, изоэлектрическое фокусирование. Гидратация белков. Буферные свойства белков.

1.2.5. Количественное определение суммарных и индивидуальных белков. Различия белкового состава органов. Изменения белкового состава в онтогенезе.

1.3. Ферменты:

1.3.1. Понятие о ферментах (энзимах). История развития учения о ферментах. Общие представления о катализе. Основные характеристики действия катализаторов: энергетический барьер реакции, энергия активации, свободная энергия. Сходство и различия химических и биологических катализаторов. Специфичность действия ферментов, ее виды.

Номенклатура и классификация ферментов. Характеристика классов ферментов. Единицы измерения количества и активности ферментов.

1.3.2. Структурно-функциональная организация ферментов. Простые (однокомпонентные) и сложные (двухкомпонентные) белки-ферменты. Строение сложных белков-ферментов: холофермент, апофермент, кофакторы (простетические группы и коферменты). Кофакторы – ионы металлов, органические соединения витаминной и невитаминной природы. Функциональная организация ферментов. Активный центр, его строение. Аллостерический центр, его значение.

1.3.3. Механизм действия ферментов. Стадии ферментативного процесса, их характеристика. Теории «шаблона» и «индуцированного соответствия» в объяснении взаимодействия фермента с субстратом. Молекулярные механизмы стадий ферментативного катализа. Значение сближения и ориентации реагентов в действии ферментов. Значение образования переходных комплексов с более низкой энергией активации. Понятие о кислотном-основном и ковалентном катализе.

1.3.4. Кинетика ферментативного катализа, ее задачи. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата, количества фермента, pH среды, температуры. Влияние активаторов на ферментативную реакцию, их виды (катионы, анионы, ферменты ферментов, органические). Ингибиторы ферментов, их деление в зависимости от механизма действия, прочности связывания с ферментом: неспецифические, специфические; необратимые, обратимые. Механизмы конкурентного, неконкурентного и бесконкурентного ингибирования ферментов.

1.3.5. Полиферментные комплексы, значение организации ферментов в них. Множественные молекулярные формы ферментов, общие представления о них. Изоферменты, их роль. Ферменты и механизмы реабилитации.

1.4. Введение в обмен веществ. Биохимия питания. Питание, метаболизм и выделение продуктов метаболизма как этапы обмена веществ:

1.4.1. Состав пищи человека. Органические и минеральные вещества. Основные и минорные компоненты. Основные пищевые вещества: углеводы, жиры, белки. Суточная потребность. Энергетическая и биологическая

ценность пищи. Незаменимые компоненты пищи: незаменимые аминокислоты, полиненасыщенные жирные кислоты, клетчатка, витамины, минеральные вещества. Молекулярные механизмы переваривания веществ в желудочно-кишечном тракте: проферменты, механизмы активации, гомогенный (для водорастворимых субстратов) и гетерогенный (для липофильных субстратов) катализ; роль желчных кислот (эмульгирование, мицеллообразование), механизмы всасывания продуктов переваривания, кишечнo-печеночная рециркуляция веществ, биохимические механизмы пищеварения посредством кишечных гормоноподобных веществ. Микрофлора кишечника – источник витаминов.

1.4.2. Катаболизм и анаболизм как две стороны метаболизма, их стадии и взаимосвязь. Катаболические, анаболические и амфиболические пути в обмене веществ, их значение. Специфические и общие пути катаболизма. Понятие о карте метаболизма. Основные конечные продукты метаболизма. Методы изучения обмена веществ: исследования на целом организме, органах, срезах тканей, гомогенатах тканей, субклеточных фракциях. Выделение ферментов и метаболитов и определение последовательности превращения веществ. Изотопные методы.

1.5. Строение и функции клеточных мембран:

1.5.1. Структурно-биохимическая организация клетки. Функции оргanelл клетки. Модели молекулярной организации мембран: жидкостно-мозаичная и решетчато-мозаичная. Характеристика структурных компонентов биологических мембран (белков, липидов, углеводов) – их локализация, содержание, физико-химические свойства, соотношение компонентов.

1.5.2. Способы транспорта веществ через мембраны: пассивный транспорт, облегченная диффузия, активный транспорт (первичный, вторичный, симпорт, антипорт). Работа Na^+, K^+ -АТФазы, кальцийзависимая, протонная АТФазы. Везикулярный транспорт. Мембранные белки-рецепторы; трансмембранная передача сигналов в клетку. Биохимия межклеточных взаимодействий. Липосомы и протеолипосомы как способ введения веществ в клетки.

1.6. Энергетический обмен. Окислительные системы организма:

Различие организмов по используемым источникам углерода, энергии. Аэробные и анаэробные организмы. Энергетические ресурсы клеток. Фазы извлечения энергии из них.

1.6.1. Введение в энергетику биохимических реакций. Понятие о полной энергии вещества, свободной энергии, энтропии. Экзергонические и эндергонические реакции. Термодинамическая шкала химических веществ, макроэргические соединения. Сопряжение эндергонических и экзергонических реакций. АТФ как важнейший аккумулятор и источник энергии. Образование АТФ методами субстратного и окислительного фосфорилирования АДФ.

1.6.2. Биологическое окисление: путем дегидрирования субстратов, путем присоединения кислорода (монооксигеназы, диоксигеназы) и образования свободнорадикальных форм кислорода. Понятие об окислительно-восстановительных парах субстратов – доноров и акцепторов электронов. Стандартный окислительно-восстановительный потенциал (редокс-потенциал), его выражение. Значение величин редокс-потенциалов для характеристики биологического окисления.

1.6.3. Дегидрирование субстратов и окисление водорода с образованием воды как источник энергии для синтеза АТФ. Молекулярно-структурная организация митохондрии; локализация биохимических процессов, типы субстратов окисления и кислорода (матрикс) и цепи переноса электронов (внутренняя мембрана митохондрий). Термодинамические закономерности последовательности переносчиков и каскадные изменения свободной энергии при переносе электронов. Структура основных переносчиков и химизм переноса электронов.

Окислительное фосфорилирование, его количественное выражение – коэффициент Р/О. Освобождение энергии в цепи переноса электронов, локализация пунктов фосфорилирования АДФ. Сопряжение дыхания и фосфорилирования. Характеристика хемиосмотической гипотезы Митчела. Трансмембранный электрохимический потенциал как промежуточная форма запасаания энергии при окислительном фосфорилировании; механизм его образования. Строение и функции протонной АТФ-синтетазы. Дыхательный контроль. Разобщение и ингибирование окислительного фосфорилирования как важная проблема экологии и спортивной медицины. Терморегуляторная функция тканевого дыхания.

1.6.5. Микросомальное окисление. Биологическая роль монооксигеназных систем митохондрий. Роль диоксигеназной системы в обезвреживании ароматических соединений.

1.6.6. Свободнорадикальное окисление в клетках. Радикальные формы кислорода. Цепные реакции пероксидного окисления, возможность прекращения процесса путем обезвреживания радикалов. Прооксиданты и антиоксиданты. Роль радикальных форм кислорода в физиологии и патологии клетки, в окислении ненасыщенных жирных кислот в биомембранах (пероксидное окисление липидов). Обезвреживание пероксида водорода, образующегося в реакциях окисления. Ионизирующее излучение и пероксидное окисление липидов.

Нарушения энергетического обмена: гипоксические и гипозэнергетические состояния.

1.7. Общие пути катаболизма:

Катаболизм основных пищевых и депонированных веществ – углеводов, жиров, белков (аминокислот); понятие о специфических путях катаболизма (до образования пирувата из углеводов и ряда аминокислот и до образования ацетил-КоА из жирных кислот и некоторых аминокислот) и

общем пути катаболизма (окисление пирувата и ацетил-КоА). Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты: последовательность реакций, строение пируватдегидрогеназного комплекса. Цикл трикарбоновых кислот: последовательность реакций и характеристика ферментов. Связь между метаболитами общего пути катаболизма и цепями переноса электронов в митохондриях. Аллостерические механизмы регуляции. Витамины и витаминоподобные вещества, производные которых выполняют коферментную роль в общих путях катаболизма; биохимические основы повышения биологической ценности пищи путем введения сбалансированного поливитаминного комплекса.

2. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

2.1. Обмен и функции углеводов:

2.1.1. Основные углеводы пищи и организмов животных. Их содержание в тканях. Биологическая роль углеводов: углеводы с преимущественно энергетической функцией (моносахариды, гомополисахариды) и преимущественно структурной функцией (гетерополисахариды, гликолипиды, гликопротеины). Переваривание углеводов и всасывание продуктов переваривания. Глюкоза как важнейший метаболит углеводного обмена. Общая схема источников и путей расходования глюкозы в организме. Ключевая роль глюкозо-6-фосфата в метаболизме углеводов. Гликоген как резервный полисахарид животных, его свойства.

2.1.2. Синтез гликогена, химизм процесса. Характеристика гликогенсинтазы. Молекулярные механизмы ветвления цепей гликогена. Регуляция синтеза гликогена. Мобилизация гликогена: гидролитический и фосфоролитический пути. Другие ферменты распада гликогена. Характеристика фосфорилазы. Регуляция мобилизации гликогена. Взаимоотношения между ферментами синтеза и распада гликогена. Роль протеинкиназ и цАМФ в синхронизации этих процессов.

2.1.3. Катаболизм глюкозы. Анаэробный и аэробный пути распада глюкозы, их общая характеристика. Анаэробный гликолиз, гликолитическая оксидоредукция. Субстратное фосфорилирование АДФ. Энергетический баланс анаэробного гликолиза. Спиртовое брожение. Метаболизм этанола в организме, понятие об эндогенном этаноле. Пути обезвреживания этанола: алкогольдегидрогеназа, микросомальная этанолюксидирующая система и каталаза. Аэробный распад – основной путь катаболизма глюкозы у человека и других аэробных организмов до пирувата в цитозоле, с последующим окислительным декарбоксилированием пирувата и окислением ацетил-КоА в митохондриях до воды и CO_2 . Челночный механизм переноса восстановительных эквивалентов из цитозоля в митохондрии. Энергетический баланс аэробного окисления глюкозы. Аллостерические механизмы регуляции аэробного гликолиза – эффект Пастера.

2.1.4. Глюконеогенез. Обходные реакции необратимых стадий гликолиза. Регуляторные ферменты глюконеогенеза, биологическая роль процесса. Взаимосвязь гликолиза в мышечной ткани с глюконеогенезом в печени – цикл Кори (глюкозо-лактатный цикл). Органы, поставляющие глюкозу в кровь (кишечник, печень, почки) и органы, потребляющие глюкозу.

2.1.5. Пентозофосфатный путь превращения углеводов, химизм процесса; окислительные и неокислительные реакции. Функции. Роль NADPH и фосфорибизилпирофосфата. Взаимосвязь пентозофосфатного пути с гликолизом.

2.1.6. Представление о строении и функциях углеводной части гликолипидов и гликопротеинов. Нейраминаовая кислота.

2.2. Обмен и функции липидов:

2.2.1. Функции липидов в живых системах. Важнейшие липиды тканей. Резервные липиды. Структурные липиды. Церамиды. Гликолипиды, цереброзиды, ганглиозиды; биологическая роль. Ферментативный гидролиз липидов. Условия, необходимые для переваривания липидов. Желчные кислоты, строение, роль в переваривании липидов и всасывании продуктов переваривания. Панкреатическая липаза и ее активаторы. Специфичность действия панкреатической липазы. Переваривание фосфолипидов фосфолипазами A₁, A₂, C, D и эфиров холестерина холестеролэстеразой. Конечные продукты гидролиза липидов, их всасывание. Ресинтез липидов в кишечной стенке.

Экзогенный и эндогенный транспорт липидов в организме. Состав и строение транспортных липопротеиновых комплексов, место образования. Липопротеинлипаза, активаторы, функция.

Резервирование и мобилизация жиров в жировой ткани, регуляция этих процессов. Транспорт жирных кислот альбуминами плазмы крови.

2.2.2. Окисление глицерола. Активация жирных кислот, транспорт ацил-КоА в митохондрии, роль карнитина. Окисление жирных кислот, энергетика и биологическое значение процессов. Синтез высших жирных кислот на полиферментном комплексе – синтазе высших жирных кислот. Строение комплекса. Роль малонил-КоА в синтезе, его образование. Роль NADPH в синтезе жирных кислот, источники его образования. Синтез жирных кислот с длинной углеводородной цепью (>16 атомов С). Синтез ненасыщенных жирных кислот; незаменимые жирные кислоты пищи. Синтез триацилглицеролов и фосфолипидов, их общие этапы, локализация.

Роль ацетил-КоА в биосинтезе кетонных тел, холестерина и жирных кислот. Синтез холестерина; β -гидрокси- β -метилглутарил-КоА как промежуточный метаболит в синтезе кетонных тел и холестерина. ГМГ-КоА-редуктаза и скваленсинтаза регуляторные ферменты синтеза холестерина. Вещества, регулирующие биосинтез холестерина. Синтез кофермента Q.

Прямой и обратный транспорт холестерина. Белки, переносящие эфиры холестерина. Холестерол как предшественник желчных кислот, стероидных

гормонов и кальцитриола. Роль ферментов ацил-КоА-холестерол-ацилтрансферазы (АХАТ) и лецитин-холестерол-ацилтрансферазы (ЛХАТ) в обмене холестерина. Накопление холестерина в организме как одна из ведущих причин старения и смерти (атеросклероз). Снижение концентрации холестерина при неконтролируемом делении клеток и депрессивных состояниях. Радиационно-экологические дислиппротеинемии и радиационно-индуцированный атеросклероз у населения Беларуси.

2.3. Обмен аминокислот и белков:

2.3.1. Динамическое состояние белков в организме. Азотистый баланс, его состояния. Понятие о коэффициенте изнашивания белков, физиологическом минимуме. Нормы белков в питании человека. Факторы, влияющие на удовлетворение потребности в белках.

Переваривание белков. Желудочный сок, его характеристика. Роль соляной кислоты. Ферменты желудочного сока (пепсин, гастриксин, реннин). Механизм активации пепсиногена. Протеолитические ферменты панкреатического сока – трипсин, химотрипсин, карбоксипептидаза, эластаза; механизмы активации. Протеолитические ферменты кишечного сока: амино-, ди- и трипептидазы, пролиназы, пролидазы. Специфичность действия этих протеолитических ферментов. Основные транспортные системы для всасывания аминокислот. Регуляция процесса переваривания. Катаболизм белков в тканях. Катапсины. Частичный (ограниченный) протеолиз белков и образование биологически активных пептидов. Белки теплового шока. Ингибиторы протеолиза. Судьба аминокислот в печени и тканях. Перенос аминокислот через мембраны клеток. Общая схема источников и путей расходования аминокислот в тканях. Типы превращений аминокислот в клетках по α -аминогруппе, α -карбоксильной группе, радикалу.

2.3.2. Превращения аминокислот по аминокгруппе. Трансаминирование. Строение и характеристика аминотрансфераз. Коферментная функция витамина В₆. Химизм процесса. Биологическое значение реакций трансаминирования. Виды дезаминирования аминокислот. Окислительное дезаминирование. Строение и характеристика оксидаз L- и D-аминокислот, глутамат-дегидрогеназы. Химизм процесса. Прямое дезаминирование и трансдезаминирование. Восстановительное аминирование и трансреаминирование. Биологическое значение дезаминирования аминокислот.

2.3.3. Декарбоксилирование аминокислот. Характеристика декарбоксилаз. Образование биогенных аминов, их строение и биологическая роль (триптамин, серотонин, дофамин, гистамин, γ -аминомасляная кислота). Аминооксидазы: моноаминооксидазы и диаминооксидазы. Обезвреживание биогенных аминов.

2.3.4. Метилирование и трансметилирование как пути превращения аминокислот по радикалу. Источники, переносчики (тетрагидрофолиевая кислота и витамин В₁₂) и универсальный донор метильных групп (S-аденозилметионин). Метилтрансферазы. Синтез креатинина, креатинфос-

фата, адреналина, фосфатидилхолина, метилирование ксенобиотиков. Универсальная роль метильной группы в проявлении биологических свойств биомолекул (норадреналин – адреналин, эстрадиол – тестостерон, процессинг рРНК, фосфатидилэтаноламин – фосфатидилхолин).

2.3.5. Гликогенные и кетогенные аминокислоты. Биосинтез заменимых аминокислот. Обмен аминокислот между органами. Наследуемые и приобретенные патологии обмена аминокислот.

2.3.6. Аммиак как конечный продукт превращения азотсодержащих соединений у человека, источники его образования. Местное и общее обезвреживание аммиака в организме, его механизмы. Роль глутамина в обезвреживании и транспорте аммиака. Глутамин как донор азота при синтезе ряда органических соединений. Глюкозо-аланиновый цикл. Общее (конечное) обезвреживание аммиака путем синтеза мочевины и аммонийных солей, химизм процессов. Связь орнитинового цикла с циклом трикарбоновых кислот, энергетика. Происхождение атомов азота в мочеvine. Роль глутаминазы почек в синтезе аммонийных солей, ее активация протонами.

Аминокислоты как предшественники биологически важных соединений. Обмен аминокислот и механизмы реабилитации.

2.4. Обмен нуклеотидов:

Распад нуклеиновых кислот. Нуклеазы пищеварительного тракта и тканей. Распад пуриновых нуклеотидов. Мочевая кислота как конечный продукт пуринового обмена. Представление о синтезе пуриновых нуклеотидов (от рибозо-5-фосфата до 5-фосфорибозиламина). Происхождение атомов пуринового скелета. Инозиновая кислота – предшественник адениловой и гуаниловой кислот. Распад пиримидиновых нуклеотидов, конечные продукты этого процесса. Синтез пиримидиновых нуклеотидов, роль оротовой кислоты. Ключевая роль фосфорибозилпирофосфата в синтезе нуклеотидов. Аллостерические механизмы регуляции синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Врожденные и приобретенные нарушения обмена нуклеотидов.

2.5. Взаимосвязь обмена белков, углеводов, липидов:

Условность разделения метаболизма на отдельные виды обменов. Проявления взаимосвязи обменов белков, углеводов, липидов. Важнейшие связующие метаболиты, их биологическая роль. Возможность взаимного превращения глюкозы, жирных кислот и аминокислот. Уровни интеграции и регуляции обмена белков, углеводов и липидов. Биохимические критерии нарушений метаболизма. Понятие о коррекции обмена веществ метаболитами, низкомолекулярными биорегуляторами и биополимерами.

3. ПЕРЕНОС ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ И БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

3.1. Нуклеиновые кислоты, структура и функции:

3.1.1. Нуклеопротеиды, строение, функции. Характеристика гистонов и протаминов как белковой части нуклеопротеидов. Гетерогенность гистонов. Нуклеиновые кислоты. Мононуклеотиды – структурные мономеры нуклеиновых кислот. Соединение нуклеотидов в нуклеиновых кислотах. Типы нуклеиновых кислот, их локализация и содержание в клетках.

3.1.2. ДНК. Структурная организация молекулы. Первичная структура. Правила Чаргаффа. Вторичная структура, типы связей, стабилизирующих ее. Типы вторичных структур. Третичная структура (кольцо, суперспираль, сломанная спираль). Структурная организация ДНК в хромосоме: уровни компактизации (нуклеосома, соленоид, фибрилла). Физико-химические свойства ДНК: высокая степень ионизации, вязкость, оптические свойства, денатурация и ренатурация.

3.1.3. РНК, типы (иРНК, тРНК, рРНК), локализация в клетке, содержание, молекулярная масса, функции, строение. Характеристика первичной, вторичной, третичной структур. Строение рибосомы.

3.2. Синтез нуклеиновых кислот и белков (матричные синтезы).

3.2.1. Виды переноса генетической информации в клетках, роль ДНК и РНК в этих процессах: репликация, транскрипция и трансляция.

3.2.2. Активаторы и ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот и белков, их использование в реабилитологии.

4. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА

4.1. Витамины, их биохимические функции:

4.1.1. История развития учения о витаминах. Классификация и номенклатура. Отличительные особенности витаминов как незаменимых компонентов питания. Функции витаминов. Коферментная и некоферментная роль. Нарушения баланса витаминов, их причины. Источники поступления витаминов. Витамины как внутриклеточные регуляторы метаболизма.

4.1.2. Водорастворимые витамины. Аскорбиновая кислота (витамин С, антикорбунт), проявления недостаточности. Химическое строение, свойства, источники, потребность, биохимические функции. Витамин Р (рутин), проявления недостаточности, химическое строение, источники, потребность, биохимические функции. Взаимосвязь в осуществлении биохимических функций витаминов С и Р. Природные ресурсы биофлавоноидов Беларуси. Витамины группы В ($B_{1,2,3,5,6,9,12}$) и биотин, коферментные функции, роль в регуляции метаболических путей, молекулярные и внешние проявления недостаточности, источники, суточные потребности, возможность депонирования и образования микрофлорой кишечника. Полигиповитаминозы: B_2 , B_5 , B_6 – пеллагра, B_9 , B_{12} – фолатная ловушка – анемии.

4.1.3. Жирорастворимые витамины. Витамин А (антиксерофтальмический, ретинол). Ретинол, ретиналь, ретиноевая кислота, провитамины и возможность образования витамина из них. Роль β -каротина. Источники, потребность, биологическая роль (акт зрения, пролиферация клеток, синтез компонентов межклеточного вещества). Витамин D (кальциферолы, антирахитический). Проявления недостаточности и гипервитаминоза. Химическое строение, биосинтез. Кальцитриол – биологически активная форма; механизм действия и регуляция фосфатно-кальциевого обмена. Витамин Е (токоферолы, антистерильный). Проявления недостаточности; химическое строение, биологическая роль, источники, потребность. Антиоксидантные комплексы витаминов, применение при радиационных и других поражениях (А, Е, С; β -каротин, Е, С). Расходование витамина Е в процессе реализации антиоксидантного действия. Витамин К (филлохиноны, антигеморрагический). Проявления недостаточности, химическое строение, биологическая роль, источники, потребность. Витамин К-зависимая карбоксилаза и карбоксилирование остатков глутамата. Витамин К и дикумароловые антикоагулянты. Витамин F. Роль эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот. Роль γ -линоленовой кислоты в биосинтезе эйкозаноидов.

4.1.4. Витаминоподобные соединения, их роль в организме. Доноры метильных групп.

4.1.5. Антивитамины, характеристика, важнейшие представители, их строение, влияние на обмен веществ, роль межтканевых взаимодействий в молекулярных механизмах. Витамины и питание.

4.2. Гормоны. Регуляция обмена веществ:

4.2.1. Общие механизмы регуляции метаболизма: 1) изменение активности ферментов (активация, ингибирование); 2) изменение количества белков-ферментов (индукция, репрессия синтеза белков, изменение скорости катаболизма ферментов); 3) изменение свойств клеточных мембран. Гормоны и гормоноподобные вещества, их характеристика. Гормоны как дистантные регуляторы клеточного метаболизма. Трансгипофизарный и парагипофизарный пути регуляции выработки гормонов. Классификации гормонов: по эндокринным железам, по химическому строению, по особенностям транспорта в крови (гидрофильные и липофильные), по механизмам действия на клетку-мишень (непроникающие, проникающие, смешанная группа). Роль свободных форм гормонов. Типы рецепторов.

Гидрофильные гормоны, не проникающие в клетку (белковой и пептидной природы, катехоламины). Посредники в действии гормонов этой группы в клетке: циклические нуклеотиды, продукты превращения фосфатидилинозитолов, распада рецепторов, ионы кальция, тирозинкиназная активность. Роль G-белков и ГТФ в передаче гормонального сигнала. Изменение функциональной активности белков – основа действия непроникающих гормонов. Снятие гормонального сигнала (роль фосфодиэстераз и протеинфосфатаз). Циклические нуклеотиды и действие токсинов.

Механизм действия липофильных гормонов, проникающих в клетку. Локализация рецепторов. Гормонально-чувствительные отделы ДНК. Строение рецепторов стероидных и тироидных гормонов. Стероидные гормоны – регуляторы экспрессии генов.

4.2.2. Гипоталамус – место трансформации электрического сигнала ЦНС в химические биорегуляторы – рилизинг-факторы (7 либеринов и 3 статина). Тропные гормоны гипофиза и их значение в регуляции функции периферических желез: соматотропин, кортикотропин, тиротропин, гонадотропины, липотропины. Проопиокортин и образование гормонов, эндорфинов и энкефалинов. Меланотропины и их роль в организме. Нейрогормоны – окситоцин и вазопрессин, их строение и биологическое действие. Гормоны периферических эндокринных желез: йодтиронины, паратгормон, кальцитонин, адреналин, инсулин, глюкагон, глюкокортикоиды, минералокортикоиды; половые гормоны: строение, биосинтез, регуляция, недостаточность и избыток гормонов.

4.2.3. Гормоноподобные биорегуляторы. Эйкозаноиды. Пути превращения арахидоновой кислоты (циклооксигеназа, липоксигеназа): простагландины, простаглицлины, тромбоксаны, лейкотриены. Феромоны и другие дистантные регуляторы.

4.3. Регуляция обмена воды и минеральных солей:

Минеральные вещества тканей человека и животных. Вода, ее функции. Содержание в животном организме. Водные пространства организма. Возрастные, органые, половые различия в содержании воды. Регуляция электролитного состава и объема внеклеточной жидкости вазопрессином, альдостероном, атриальным натрийуретическим фактором. Роль ангиотензинов II и III. Функции неорганических ионов. Содержание минеральных веществ. Макро- и микроэлементы. Региональные патологии (кариес, эндемический зуб, недостаточность селена). Эволюционно отобранные и сохраняемые параметры водно-солевого обмена у высших организмов являются мишенью для реабилитационных воздействий.

5. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ

Молекулярные процессы базальной жизнедеятельности клеток, тканей, органов и молекулярные процессы специфических функций клеток, тканей, органов как результат дифференциальной активности хроматина. Биохимические технологии оценки базальной и специфической активности клеток (оценка фенотипа, метаболитов). Функциональная биохимия органов и тканей как методология обоснования реабилитационных мероприятий. Биохимия различных систем органов: нейро-эндокринной, движения (биохимия мышц), пищеварения, дыхания, кровообращения, выделения, размножения. Биохимия спорта.

Лабораторно-биохимическая оценка функционального состояния различных систем организма в норме и при патологии. Лабораторный контроль реабилитационных мероприятий.

6. БИОХИМИЯ МЕХАНИЗМОВ РЕАБИЛИТАЦИИ

6.1. Место биохимии в научно-практическом обосновании реабилитационных технологий.

6.2. Молекулярные механизмы гибели клеток методами апоптоза и некроза. Основные причины нарушения обмена веществ у человека: 1) физические агенты (травма, температура, давление, радиация, электричество); 2) химические агенты (токсины, ксенобиотики); 3) биологические агенты (вирусы, риккетсии, бактерии, грибы, гельминты); 4) гипоксия (нарушения газовой среды, кровообращения, транспорта кислорода, действие дыхательных ядов); 5) генетические факторы (врожденные, приобретенные); 6) иммунологические реакции (анафилаксия, аутоиммунные патологии); 7) дисбаланс питания (недостаточное, биологически неполноценное, избыточное, гиповитаминозы); 8) эндокринный дисбаланс (гипо- и гиперфункции эндокринных желез), нарушения паракринной и аутокринной регуляции. Защитные системы организма: свертывания крови, комплемент и неспецифические механизмы защиты (бактерицидные молекулы, фагоцитоз), система иммунитета, антиоксиданты, микросомальное окисление – семейство цитохромов P450, репаративный синтез ДНК, белки теплового шока и др. Развитие патологии в случае превышения мощности защитных механизмов действием неблагоприятных факторов.

6.3. Общие представления о биохимических механизмах реабилитации: 1) на уровне неспецифических общих механизмов и процессов получения энергии, питания и размножения; 2) на уровне специфических функций клеток, тканей и органов; 4) с учетом особенностей адаптационных механизмов в онтогенезе; 5) за счет модификации фенотипа (протеомика); 6) на уровне метаболических путей (через активность белков, количество белков, свойства мембран, аллостерическая и другая лигандная регуляция); 7) на уровне межклеточных и межорганных взаимодействий; 8) на уровне нейроэндокринной регуляции; 9) путем коррекции механизмов высшей нервной деятельности.

ЛИТЕРАТУРА

Основная литература

1. Альбертс Б. и др. Молекулярная биология клетки (в 3-х томах). М., 1994.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. М., 1998.
3. Биохимия: Учеб. Для ин-тов физ. культ./Под ред. В.В.Меньшикова, Н.И.Волкова. – М.: Физкультура и спорт, 1986. – 384 с.
4. Зеленин К.Н., Алексеев В.В. Химия. – СПб., ЭЛБИ-СПб, 2003.-712 с.

5. Ленинджер А. Основы биохимии (в 3-х томах). М., 1986.
6. Марри Р. и др. Биохимия человека (в 2-х томах). М., 1993.
7. Николаев А.Я. Биологическая химия. М., 1989.
8. Проскурина И.К. Биохимия. М., 2001.
9. Страйер Л. Биохимия (в 3-х томах). М., 1984.
10. Строев Е.А. Биологическая химия. М., 1986.
11. Уайт А. и др. Основы биохимии (в 3-х томах). М., 1981.
12. Филиппович Ю.Б. Основы биохимии. М., 1999.
13. Чиркин А.А. Практикум по биохимии. Учебное пособие. Мн., 2002.

Дополнительная литература

1. Лопухин Ю.М. и др. Холестериноз. М., 1983.
2. Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия. М., 2000.
3. Северин Е.С., Николаев А.Я. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. М., 2001.
4. Сейфулла Р.Д., Кукес В.Г., Фисенко В.П., Утешев Б.С. и др. Методические рекомендации по клиническим исследованиям лекарственных средств для применения в спортивной медицине. В кн.: Ведомости научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств, 2002, №2(10), с. 27-32.
5. Тепперман Дж., Тепперман Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. М., 1989.
6. Филиппович Ю.Б., Егорова Т.А., Севастьянова Г.А. Практикум по общей биохимии. М., 1982.
7. Nelson D.L., Cox M.M. Lehninger principles of biochemistry. N. Y., 2000.

РАБОЧИЙ ПЛАН

Для специальности 1-03 02 01 – Физическая культура со специализациями (1-01 02 01 02, 1-01 02 01 03, 1-01 02 01 07) дневной формы обучения (биохимия-1) и ОЗО (биохимия-2); специализации – Физическая реабилитация 1-03 02 01 04 (биохимия-3) и специальности 1-88 01 03 – Физическая реабилитация и эрготерапия, направления специальности 1-88+01 03 02 – Эрготерапия (ОЗО) (биохимия-4).

Дисциплина	Курс	Семестр	Лекции, ч	Лабораторные занятия, ч	Экзамен
Биохимия-1	1	1,2	36	32	2
Биохимия-2	1,2	1-3	12	10	3
Биохимия-3	1	2	12	8	2
Биохимия-4	1	1	14	8	1

Тематический план лекций для дисциплины «Биохимия-1» (ДО)

№	НАИМЕНОВАНИЕ ТЕМ	СОДЕРЖАНИЕ	Часы
1.	Введение в биохимию Физико-химические свойства белков	Аминокислоты. Строение и уровни организации белков. Первичная структура белков, ее характеристика. Пептидная связь, ее свойства. Понятие о пептидах. Зависимость биологических свойств белков от первичной структуры. Видовая специфичность первичной структуры белков (на примере инсулина). Химические свойства. Строение белковой молекулы. Молекулярная масса белков. Физико-химические свойства белков. Белки как коллоидные растворы. Вязкость белковых растворов и способность к образованию гелей. Диализ. Оптические свойства белков. Белки как амфотерные макромолекулы. Ионизация белков, электрофорез, изоэлектрическая точка. Гидратация белков. Понятие о буферных свойствах белков.	2
2	Структура белковой молекулы	Конформация полипептидной цепи. Вторичная структура белков. Роль водородных связей. Спиральные, слоисто-складчатые и неупорядоченные структуры. Строение α -спирали, β -структуры, их особенности и отличия. Надвторичная структура. Третичная структура, слабые внутримолекулярные взаимодействия в полипептидной цепи; дисульфидные связи. Глобулярные и фибриллярные белки. Денатурация белков; обратимость денатурации. Четвертичная структура белков. Зависимость биологической активности белков от четвертичной структуры. Специфичность белков. Способность к специфическим взаимодействиям – основа биологических функций всех белков. Лиганды и функции белков. Комплементарность структуры центра связывания белка структуре (поверхности) лиганда. Обратимость связывания. Самосборка надмолекулярных структур. Классификация белков. Количественное определение суммарных и индивидуальных белков.	2
3	Ферменты. Строение свойства, кинетика, ферментативного катализа	Понятие о ферментах (энзимах). История развития учения о ферментах. Общие представления о катализе. Основные характеристики действия катализаторов: энергетический барьер реакции, энергия активации, свободная энергия. Сходство и различие химических и биологических катализаторов. Специфичность действия ферментов, ее виды. Структурно-	2

		функциональная организация ферментов. Простые и сложные ферменты-белки. Строение сложных белков-ферментов: холофермент, апофермент, кофакторы (простетические группы и коферменты). Кофакторы – ионы металлов, органические соединения витаминной и невитаминной природы. Функциональная организация ферментов. Активный центр, его строение. Аллостерический центр, его значение. Кинетика ферментативного катализа, ее задачи. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата. Понятие о порядке реакции. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Способы графического изображения. Константы диссоциации (K_s) и Михаэлиса (K_m), их определение и значение.	
4	Ферменты: единицы активности; регуляция активности ферментов.	Номенклатура и классификация ферментов. Характеристика классов ферментов. Единицы измерения количества и активности ферментов. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата, количества фермента, pH среды, температуры. Влияние активаторов на ферментативную реакцию, их виды (катионы, анионы, ферменты ферментов, органические). Понятие об ингибиторах ферментов. Регуляция активности ферментов, ее механизмы: химическая модификация, ее виды; аллостерическая регуляция	2
5.	Введение в обмен веществ. Мембраны. Биохимия питания и пищеварения.	Катаболизм и анаболизм как две стороны метаболизма, их стадии и взаимосвязь. Катаболические, анаболические пути в обмене веществ, их значение. Специфические и общие пути катаболизма. Понятие о карте метаболизма. Основные конечные продукты метаболизма. Структурно-биохимическая организация клетки. Функции органелл клетки. Модели молекулярной организации мембран: жидкостно-мозаичная и решетчато-мозаичная. Характеристика структурных компонентов биологических мембран (белков, липидов, углеводов) – их локализация, содержание, физико-химические свойства, соотношение компонентов. Понятие о способах транспорта веществ через мембраны: пассивный транспорт, облегченная диффузия, активный транспорт. Липосомы и протеолипосомы как способ введения веществ в клетки. Состав пищи человека. Органические и минеральные вещества. Основные и минорные компоненты. Основные	2

		пищевые вещества: углеводы, жиры, белки. Суточная потребность. Энергетическая и биологическая ценность пищи. Незаменимые компоненты пищи: незаменимые аминокислоты, жирные полиненасыщенные кислоты, клетчатка, витамины, минеральные вещества. Молекулярные механизмы переваривания веществ в желудочно-кишечном тракте: про- ферменты, механизмы активации, гомогенный (для водорастворимых субстратов) и гетерогенный (для липофильных субстратов) ката- лиз. Гниение белков в толстом кишечнике, механизмы обезвреживания продуктов гние- ния. Микрофлора кишечника – источник ви- таминов.	
6.	Энергетический обмен. Цепь пере- носа протонов и электронов.	Введение в энергетику биохимических реак- ций. Понятие о полной энергии вещества, сво- бодной энергии, энтропии. Экзергонические и эндергонические реакции. Термодинамиче- ская шкала химических веществ, макроэрги- ческие соединения. Сопряжение эндергони- ческих и экзергонических реакций. АТФ как важнейший аккумулятор и источник энергии. Образование АТФ методами субстратного и окислительного фосфорилирования АДФ. Биологическое окисление: путем дегидриро- вания субстратов, путем присоединения ки- слорода (монооксигеназы, диоксигеназы) и образования свободнорадикальных форм ки- слорода. Понятие об окислительно- восстановительных парах субстратов – доно- ров и акцепторов электронов. Стандартный окислительно-восстановительный потенциал (редокс-потенциал), его выражение. Значение величин редокс-потенциалов для характери- стики биологического окисления. Дегидриро- вание субстратов и окисление водорода с об- разованием воды как источник энергии для синтеза АТФ. Митохондрии, структурная ор- ганизация; локализация, типы субстратов окисления и кислорода (матрикс) и цепи пере- носа электронов (внутренняя мембрана мито- хондрий). Термодинамические закономерно- сти последовательности переносчиков и кас- кадные изменения свободной энергии при пе- реносе электронов. Структура основных пе- реносчиков и химизм переноса электронов.	2
7.	Окислительное фосфорилирование. Окислительные	Окислительное фосфорилирование, его коли- чественное выражение – коэффициент Р/О. Освобождение энергии в цепи переноса элек-	2

	процессы, не связанные с запасанием энергии.	тронов, локализация пунктов фосфорилирования АДФ. Сопряжение дыхания и фосфорилирования. Характеристика хемиосмотической гипотезы Митчела. Трансмембранный электрохимический потенциал как промежуточная форма запасания энергии при окислительном фосфорилировании; механизм его образования. Строение и функции протонной АТФ-синтетазы. Дыхательный контроль. Терморегуляторная функция тканевого дыхания. Свободнорадикальное окисление в клетках. Ради-кальные формы кислорода. Цепные реакции перекисного окисления, возможность прекращения процесса путем обезвреживания радикалов. Проксиданты и антиоксиданты. Роль радикальных форм кислорода в физиологии и патологии клетки, в окислении ненасыщенных жирных кислот в биомембранах (перекисное окисление липидов). Обезвреживание перекиси водорода, образующейся в реакциях окисления. Ионизирующее излучение и перекисное окисление липидов. Нарушения энергетического обмена: гипоксические и гипознергетические состояния.	
8	Общий путь катаболизма как источник субстратов тканевого дыхания.	Катаболизм основных пищевых и депонированных веществ – углеводов, жиров, белков (аминокислот); понятие о специфических путях катаболизма. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты: последовательность реакций, строение пируватдегидрогеназного комплекса. Цикл трикарбоновых кислот: последовательность реакций и характеристика ферментов. Связь между метаболитами общего пути катаболизма и цепями переноса электронов в митохондриях. Аллостерические механизмы регуляции. Перечень витаминов и витаминоподобных веществ, выполняющих коферментную роль в общем пути катаболизма; биохимические основы повышения биологической ценности пищи путем введения сбалансированного поливитаминного комплекса.	2
9.	Строение и функции углеводов (самостоятельно).	Основные углеводы пищи и организмов животных. Их содержание в тканях. Биологическая роль углеводов: углеводы с преимущественно энергетической функцией (моносахариды, гомополисахариды) и преимущественно структурной функцией (гетерополисахариды, гликолипиды, гликопротеины).	2 кон- спект
10.	Обмен углеводов.	Переваривание углеводов и всасывание про-	2

	Метаболизм гликогена. Катаболизм глюкозы.	дуктов переваривания. Глюкоза как важнейший метаболит углеводного обмена. Общая схема источников и путей расходования глюкозы в организме. Ключевая роль глюкозо-6-фосфата в метаболизме углеводов. Гликоген как резервный полисахарид животных, его свойства. Катаболизм гликогена (гликогенолиз). Мобилизация гликогена: гидролитический и фосфоролитический пути. Характеристика фосфорилазы. Регуляция мобилизации гликогена. Катаболизм глюкозы. Аэробный распад – основной путь катаболизма глюкозы у человека и других аэробных организмов до пирувата в цитозоле, с последующим окислительным декарбоксилированием пирувата и окислением ацетил-КоА в митохондриях до воды и углекислоты. Анаэробный и аэробный пути распада глюкозы, их общая характеристика. Анаэробный гликолиз, гликолитическая оксидоредукция. Субстратное фосфорилирование АДФ. Энергетический баланс анаэробного гликолиза. Спиртовое брожение. Метаболизм этанола в организме, понятие об эндогенном этаноле. Пути обезвреживания этанола: алкогольдегидрогеназа, микросомальная этанолюкисляющая система и каталаза.	
11	Обмен углеводов. Пентозофосфатный путь обмена глюкозы. Биосинтез углеводов.	Понятие о пентозофосфатном пути превращения глюкозы, химизм процесса; окислительные и неокислительные реакции. Функции. Биосинтез углеводов. Глюконеогенез. Обходные реакции необратимых стадий гликолиза. Регуляторные ферменты глюконеогенеза, биологическая роль процесса. Взаимосвязь гликолиза в мышечной ткани с глюконеогенезом в печени – цикл Кори (глюкозо-лактатный цикл). Синтез гликогена, химизм процесса. Характеристика гликогенсинтазы. Регуляция синтеза гликогена. Взаимоотношения между ферментами синтеза и распада гликогена. Роль протеинкиназ и цАМФ в синхронизации этих процессов. Углеводы как краткосрочный резерв энергии организма.	2
12.	Химическое строение и биологическая роль липидов (самостоятельно).	Функции липидов в живых системах. Важнейшие липиды тканей. Резервные липиды. Структурные липиды. Переваривание липидов.	2 кон- спект
13.	Липиды. Бета-окисление жирных кислот и окисление глицерина.	Условия, необходимые для переваривания липидов. Желчные кислоты, строение, роль в переваривании липидов и всасывании продуктов переваривания. Панкреатическая липаза и	2

		ее активаторы. Специфичность действия панкреатической липазы. Переваривание фосфолипидов фосфолипазами A₁, A₂, C, D и эфиров холестерина холестеролэстеразой. Конечные продукты гидролиза липидов, их всасывание. Ресинтез липидов в кишечной стенке. Экзогенный и эндогенный транспорт липидов в организме. Состав и строение транспортных липопротеиновых комплексов, место образования. Резервирование и мобилизация жиров в жировой ткани, регуляция этих процессов. Транспорт жирных кислот альбуминами плазмы крови. Окисление глицерина. Активация жирных кислот, транспорт ацил-КоА в митохондрии, роль карнитина. Окисление жирных кислот, энергетика и биологическое значение процессов.	
14.	Обмен липидов. Синтез жирных кислот и триглицеридов. Функции холестерина.	Центральная роль ацетил-КоА в биосинтезе кетоновых тел, холестерина и жирных кислот β-гидрокси-β-метилглутарил-КоА как промежуточный метаболит в синтезе кетоновых тел и холестерина. Синтез высших жирных кислот на полиферментном комплексе – синтазе высших жирных кислот. Строение комплекса. Роль малонил-КоА в синтезе, его образование. Роль NADPH в синтезе жирных кислот, источники его образования. Синтез жирных кислот с длинной углеводородной цепью (>16 атомов C). Незаменимые жирные кислоты пищи. Прямой и обратный транспорт холестерина. Белки, переносящие эфиры холестерина. Холестерол как предшественник желчных кислот, стероидных гормонов и кальцитриола. Накопление холестерина в организме как одна из ведущих причин старения и смерти (атеросклероз). Снижение концентрации холестерина при неконтролируемом делении клеток и депрессивных состояниях.	2
15.	Обмен белков и аминокислот.	Азотистый баланс, его состояния. Понятие о коэффициенте изнашивания белков, физиологическом минимуме. Нормы белков в питании человека. Факторы, влияющие на удовлетворение потребности в белках. Переваривание белков. Желудочный сок, его характеристика. Роль соляной кислоты. Ферменты желудочного сока. Протеолитические ферменты кишечного сока. Основные транспортные системы для всасывания аминокислот. Регуляция процесса переваривания. Катаболизм белков в тканях. Белки теплового шока. Ингибиторы	2

		протеолиза. Судьба аминокислот в печени и тканях. Перенос аминокислот через мембраны клеток. Общая схема источников и путей расщепления аминокислот в тканях. Динамическое состояние белков в организме. Типы превращений аминокислот в клетках по α-аминогруппе, α-карбоксильной группе, радикалу. Превращения аминокислот по аминокгруппе. Трансаминирование: аминотрансферазы и коферментная функция витамина В₆, химизм процесса. Биологическое значение реакций трансаминирования. Виды дезаминирования аминокислот. Окислительное дезаминирование: ферменты, химизм процесса. Аммиак как конечный продукт превращения азотсодержащих соединений у млекопитающих, источники его образования. Обезвреживание аммиака в организме местное и общее, их механизмы. Роль глутамина в обезвреживании и транспорте аммиака. Связь орнитинового цикла с циклом трикарбоновых кислот, энергетика. Декарбоксилирование аминокислот. Характеристика декарбоксилаз. Образование биогенных аминов, их строение и биологическая роль (триптамин, серотонин, дофамин, гистамин, γ-аминомасляная кислота). Обезвреживание биогенных аминов.	
16.	Витамины (самостоятельно).	История развития учения о витаминах. Классификация и номенклатура. Отличительные особенности витаминов как незаменимых компонентов питания. Функции витаминов. Коферментная и некоферментная роль. Нарушения баланса витаминов, их причины. Источники поступления витаминов. Витамины как внутриклеточные регуляторы метаболизма. Жирорастворимые витамины. Витамин А (антиксерофтальмический, ретинол). Ретинол, ретиноль, ретиноевая кислота, провитамины и возможность образования витамина из них. Роль β-каротина. Источники, потребность, биологическая роль (акт зрения, пролиферация клеток, синтез компонентов межклеточного вещества). Витамин D (кальциферолы, антирахитический). Проявления недостаточности и гипервитаминоза. Химическое строение, биосинтез. Кальцитриол – биологически активная форма; механизм действия и регуляция фосфатно-кальциевого обмена. Витамин Е (токоферолы, антистерильный). Проявления недостаточности; химическое строение, био-	2 кон- спект

		логическая роль, источники, потребность. Антиоксидантные комплексы витаминов, применение при радиационных и других поражениях (А,Е,С; β-каротин,Е,С). Расходование витамина Е в процессе реализации антиоксидантного действия. Витамин К (филлохиноны, антигеморрагический). Проявления недостаточности, химическое строение, биологическая роль, источники, потребность. Витамин К-зависимая карбоксилаза и карбоксилирование остатков глутамата. Витамин F. Роль эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот. Роль γ-линоленовой кислоты в биосинтезе эйкозаноидов. Аскорбиновая кислота (витамин С, антискорбутный), проявления недостаточности. Химическое строение, свойства, источники, потребность, биохимические функции. Витамин Р (рутин), проявления недостаточности, химическое строение, источники, потребность, биохимические функции. Взаимосвязь в осуществлении биохимических функций витаминов С и Р. Витамины группы В (В_{1,2,3,5,6,9,12}) и биотин, коферментные функции, роль в регуляции метаболических путей, молекулярные и внешние проявления недостаточности, источники, суточные потребности, возможность депонирования и образования микрофлорой кишечника. Полигиповитаминозы: В₂, В₅, В₆ – пеллагра, В₉, В₁₂ – анеми.	
17.	Биосинтез ДНК и РНК. Биосинтез белка.	Нуклеиновые кислоты. Мононуклеотиды – структурные мономеры нуклеиновых кислот. Строение пуриновых и пиримидиновых оснований. Углеводные компоненты нуклеотидов. Соединение нуклеотидов в нуклеиновых кислотах. Типы нуклеиновых кислот, их локализация и содержание в клетках. ДНК. Структурная организация молекулы. Структурная организация ДНК. РНК, типы (иРНК, тРНК, рРНК), локализация в клетке, содержание, молекулярная масса, функции, строение. Характеристика первичной, вторичной, третичной структур. Строение рибосомы. Виды переноса генетической информации в клетках, роль ДНК и РНК в этих процессах. Репликация, ее механизм и биологическое значение. Биосинтез РНК (транскрипция), ее механизм и значение. Синтез белков (трансляция), необходимые компоненты процесса. Генетический код; роль информационной РНК как матрицы	2

		(инициирующие, смысловые и терминирующие кодоны). Стадии трансляции. Активация аминокислот. Стадии инициации, элонгации и терминации синтеза полипептидной цепи. Регуляция биосинтеза белков. Активаторы и ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот и белков, их использование (антибиотики), анаболические вещества.	
18.	Общие принципы регуляции обмена веществ. Гормоны.	Общие механизмы регуляции метаболизма: 1) изменение активности ферментов (активация, ингибирование); 2) изменение количества белков-ферментов (индукция, репрессия синтеза белков, изменение скорости катаболизма ферментов); 3) изменение свойств клеточных мембран. Гормоны и гормоноподобные вещества, их характеристика. Гормоны как дистантные регуляторы клеточного метаболизма. Трансгипофизарный и парагипофизарный пути регуляции выработки гормонов. Классификации гормонов: по эндокринным железам, по химическому строению по особенностям транспорта в крови (гидрофильные и липофильные), по механизмам действия на клетку-мишень (непроникающие, проникающие, смешанная группа). Типы рецепторов. Гипоталамус – место трансформации электрического сигнала ЦНС в химические биорегуляторы – релизинг-факторы (7 либеринов и 3 статина). Тропные гормоны гипофиза и их значение в регуляции функции периферических желез. Гормоны периферических эндокринных желез: йодтиронины, паратгормон, кальцитонин, адреналин, инсулин, глюкагон, глюкокортикоиды, минералокортикоиды, половые гормоны: строение, биосинтез, регуляция, недостаточность и избыток гормонов.	2
19.	Регуляция гормонами обмена жиров, углеводов и аминокислот. Гормональная регуляция процессов, связанных с ростом и морфогенезом	Инсулин, глюкагон, адреналин, глюкокортикоиды: строение, биосинтез, регуляция, транспорт, клетки-мишени, метаболизм, недостаток и избыток гормонов, роль во взаимодействии с окружающей средой. Острый и хронический стресс. Тироидные гормоны, соматотропин, половые гормоны: строение, биосинтез, регуляция, транспорт, клетки-мишени, метаболизм, недостаток и избыток гормонов. Анаболические стероиды в спорте.	2
20	Биохимия мышц.	Строение мышц. Мышечные белки: миозин, актин, тропомиозин, тропонин. Саркоплазматический ретикулум. Биохимия сокращения и расслабления. Источники энергии для мы-	2

		шечной работы, ресинтез АТФ: креатинкиназная реакция, гликолиз, ресинтез АТФ в аэробных процессах.	
21.	Биохимия физических упражнений и спорта.	Биохимическая адаптация организма к мышечной деятельности. Мобилизация энергетических ресурсов организма при мышечной деятельности. Потребление кислорода. Роль гормонов в адаптации к мышечной деятельности. Биохимические изменения в организме при утомлении и в период отдыха при восстановлении. Роль питания спортсменов в повышении работоспособности. Роль биохимических исследований в спортивной медицине.	2

ИТОГО: Лекции 36 часов, самостоятельная работа под контролем преподавателя 6 часов; всего 40 часов.

Лабораторные занятия для дисциплины «Биохимия-1» (ДО)

№	Наименование раздела, темы.	Содержание	К-во часов	Примечание
1	Введение в биохимию. Особенности работы в биохимической лаборатории. Правила техники безопасной работы. Белки. Качественные методы определения аминокислот и белков.	1. Цветные реакции на белки и аминокислоты: -биуретовая -нингидриновая -ксантопротеиновая -Миллона -Фоля	2	
2	Белки. Физико-химические свойства белков.	2. Реакции осаждения белков: - кипячением - высаливание - солями тяжелых металлов - концентрированными минеральными кислотами - органическими кислотами - органическими растворителями	2	
3	Методы количественного определения белка. (УИРС)	Количественное определение белков сыворотки крови биуретовым методом	2	
4	Ферменты. Определение специфичности ферментов. Методы качественного выявления и количественного определения активно-	2. Специфичность ферментов: - специфичность амилазы - специфичность сахара-	2	

	сти ферментов. Методы изучения кинетических свойств ферментов.	зы 3. Тирозиназа картофеля		
5	Обобщающее занятие по темам: Белки, ферменты	Решение экспериментальных задач. Чтение и комментирование аннотаций препаратов и БАДов	1	Контрольная работа 60 мин
6	Биоэнергетика. Методы определения макроэргических соединений, оценки активности ферментов энергетического обмена. Действие ксенобиотиков на тканевое дыхание.	1. Сопоставление окислительно-восстановительных потенциалов рибофлавина и индикатора метиленового синего. 2. Экспериментальное исследование модели системы цитохромов в дыхательной цепи.	2	
7	Обмен углеводов. Методы определения субстратов и ферментов углеводного обмена.	1.Определение лактата.	2	
8	Обмен и функции углеводов.	Экспресс-определение глюкозы с помощью тест-полосок.	2	
9	Обмен липидов. Методы определения метаболитов обмена липидов, транспортных форм и ферментов.	1. Омыление жиров. 2. Качественные реакции - на глицерин - на холестерол 3. Определение непереносимости жиров	2	
10	Обмен липидов. Методы определения метаболитов обмена липидов, транспортных форм и ферментов.	1.Определение кетоновых тел 2.Количественное определение холестерина в сыворотке крови «сухой химией»	2	
11	Витамины. Биохимические методы количественного и качественного определения витаминов.	Качественные реакции на витамины: 1. А- с концентрированной серной кислотой 2. В ₂ - с соляной кислотой +цинк 3. С - с метиленовым синим	2	
12	Гормоны. Биохимические методы определения нарушений гормональной регуляции обмена веществ. Суточный и другие био-	Качественные реакции на адреналин, инсулин, кортизол (гидрокортизон). Обнаружение йода в (ти-	2	

	ритмы.	реоидине)		
13	Вводно-солевой и минеральный обмен. Роль питания в поддержании здорового образа жизни.	Открытие в продуктах питания кальция, щавелевой кислоты, катионов Fe^{2+} , Fe^{3+} , йода, анализ кока-колы и соков, взаимодействие сульфата кальция с этанолом, действие антоцианов на катионы тяжелых металлов, «искусственный курильщик», изучение растворимости β -каротина.	2	
14	Биохимия мышечной ткани. Биохимический контроль за состоянием организма в период физической нагрузки и восстановления.	1. Полуколичественное определение компонентов мочи с помощью многокомпонентных тест-полосок. 2. Определение буферной емкости сыворотки крови. 3. Решение задач по биохимии спорта.	4	
15	Зачетное занятие	Оценка практических навыков. Компьютерное тестирование	2	

ИТОГО: 32 часа.

Тематический план лекций для ОЗО (Биохимия-2,3,4)

№	СОДЕРЖАНИЕ	Часы
1	Белки и ферменты. Уровни структурной организации белковой молекулы. Функции белков. Классификация белков. Физико-химические свойства белков. Белки, определяющие транспорт гемоглобина и мышечное сокращение. Количественное определение белков. Содержание белков в сыворотке крови здорового человека. Строение ферментов. Особенности биологических катализаторов. Классификация ферментов. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата, фермента, температуры, pH, присутствия активаторов и ингибиторов. Единицы активности ферментов. Индикаторные ферменты сыворотки крови.	2
2	Биоэнергетика и окислительные процессы. АТФ – универсальный источник и аккумулятор энергии. Другие макроэргические соединения. Освобождение энергии при окислении субстратов 1, 2 и 3 рода. Виды окислительных процессов. Окисление путем дегидрирования субстратов: цепи переноса электронов, окислительное фосфорилирование, дыхательный контроль, разобщение дыхания и фосфорилирования. Окисление путем присоединения кислорода (микросомальное окисление для обезвреживания ксенобиотиков). Свободнорадикальное окисление, антиоксидантные системы. Здоровье и пероксидное окисление липидов.	2
3	Обмен углеводов и липидов. Углеводы и липиды с преимущественно	2

	структурной и энергетической функциями. Источники и пути расщепления глюкозы. Анаэробный и аэробный пути превращения глюкозы, энергетика. Глюконеогенез. Синтез и распад гликогена (краткосрочный резерв энергии), регуляция. Аденилатциклазный механизм. Регуляция уровня глюкозы крови инсулином, адреналином, глюкагоном и глюкокортикоидами. Синтез и распад триацилглицеролов (долгосрочный резерв энергии), регуляция. Бета-окисление жирных кислот и окисление глицерола как процессы освобождения энергии. Синтез кетонных тел (транспортная форма энергии), холестерина и жирных кислот, регуляторные реакции. Накопление холестерина – старение и атеросклероз. Метаболическая терапия атеросклероза.	
4	Обмен аминокислот и нуклеотидов. Гликогенные и кетогенные аминокислоты. Метаболизм аминокислот: реакции по аминогруппе (трансаминирование и дезаминирование), реакции по карбоксильной группе (декарбоксилирование и образование аминокислот), реакции по радикалу (метилирование и трансметилирование). Аммиак как конечный продукт азотистого обмена. Токсичность аммиака. Обезвреживание аммиака: местное обезвреживание, общее обезвреживание (синтез аммонийных солей в почках и синтез мочевины в печени). Синтез и распад пуриновых нуклеотидов. Мочевая кислота. Подагра. Синтез и распад пиримидиновых нуклеотидов. Мышечная масса и обмен нуклеотидов.	2
5	Биохимия спорта и реабилитации. Биохимия сокращения и расслабления мышц. Биохимия физических упражнений и спорта. Биохимия утомления. Биохимия релаксационного периода после мышечной работы. Интерпретация лабораторных методов исследования при физической реабилитации.	4
6*	Физическая реабилитация. Биохимическое обоснование рационального питания, рационального режима, бальнеологических методов, физиотерапии, массажа, фармакологических методов восстановления. Роль биохимических лабораторных методов исследования в реабилитации.	2

– Биохимия-4 (Эрготерапия)

Лабораторные занятия для ОЗО (Биохимия-2,3,4)

№	Наименование раздела, темы, Элемента	Содержание	К-во часов	Примечание
1	Введение в биохимию. Особенности работы в биохимической лаборатории. Правила техники безопасной работы. Основные физико-химические методы, применяемые в биохимии.	1. Инструкции по ТБ и ОТ. 2. Международная система единиц (СИ). 3. Подготовка биологического материала к исследованию. 4. Определение буферной емкости сыворотки крови	2	
2	Белки. Качественные и количественные методы определения аминокислот и белков. Методы изучения	1. Цветные реакции на белки и аминокислоты: -биуретовая	2	

	физико-химических свойств белков.	-нингидриновая -ксантопротеиновая -Миллона -Фоля 2. Реакции осаждения белков: - кипячением - высаливание - солями тяжелых металлов - концентрированными минеральными кислотами - органическими кислотами - органическими растворителями 3. Очистка белков методом диализа 4. Количественное определение белков сыворотки крови биуретовым методом		
3	Ферменты. Определение специфичности ферментов. Методы качественного выявления и количественного определения активности ферментов.	1. Исследование активности амилазы слюны и ее свойств: - термолабильность - оптимум pH - активаторы и ингибиторы 2. Специфичность ферментов: - специфичность амилазы - специфичность сахаразы 3. Тирозиназа картофеля	2	Контрольная работа
4	Обмен углеводов. Методы определения субстратов и ферментов углеводного обмена.	1. Количественное определение глюкозы ортолуидиновым методом (УИРС). 2. Экспресс-определение глюкозы с помощью тест-полосок. 3. Определение молочной кислоты.	2	
5*	Лабораторное выявление, качественная и количественная оценка молекулярных механизмов адаптации.	1. Полуколичественное определение компонентов мочи с помощью	2	

	Зачетное тестирование.	многокомпонентных тест-полосок. 2. Количественное оп- ределение гемоглобина (УИРС)		
--	------------------------	--	--	--

* – Биохимия-3 (Физическая реабилитация)

КОНТРОЛЬНАЯ РАБОТА

1. Напишите формулы неполярных аминокислот. Назовите их.
2. Напишите формулы полярных незаряженных аминокислот. Назовите их.
3. Напишите формулы отрицательно заряженных и положительно заряженных аминокислот. Назовите их.
4. Опишите принцип определения молекулярной массы белков методом ультрацентрифугирования.
5. Опишите принцип определения молекулярной массы белков методом гель-фильтрации.
6. Объясните факторы устойчивости коллоидного раствора белка.
7. Что такое изоэлектрическая точка белка? Какой заряд будут иметь водные растворы белка с избыточным количеством свободных карбоксильных групп?
8. Какой заряд будут иметь водные растворы белка с избыточным количеством свободных аминогрупп? В какой среде будет ИЭТ такого белка?
- 9-20. Напишите тетрапептид (9. Асп-Фен-Глу-Гис. 10. Ала-Тир-Лиз-Глу. 11. Гис-Ала-Лиз-Мет. 12. Тир-Цис-Лиз-Вал. 13. Вал-Три-Гли-Арг. 14. Асп-Гис-Тир-Тре. 15. Асп-Вал-Мет-Сер. 16. Тре-Цис-Глу-Иле. 17. Лей-Лиз-Три-Асп. 18. Гис-Асп-Ала-Лиз. 19. Глу-Мет-Лей-Ала. 20. Фен-Тре-Гли-Цис). В какой области pH данный пептид будет находиться в изоэлектрическом состоянии?
21. Дайте определение первичной структуры белка. Объясните свойства пептидной связи.
22. Что понимают под вторичной структурой белка. Какие связи стабилизируют вторичную структуру?
23. Что понимают под третичной структурой белка? Какие связи принимают участие в поддержании третичной структуры?
24. Что подразумевают под четвертичной структурой белка? Приведите примеры. Дайте определение понятиям: протомер, субъединица, мультимер.
25. Что такое денатурация белка? Дайте характеристику денатурирующим агентам.
26. Опишите принцип радиоиммунного определения количества белков.
27. Классификации белков.
28. Опишите физико-химические методы определения содержания белков в сыворотке крови.

29. Опишите методы высаливания, электрофореза и ультрацентрифугирования, используемые для разделения белков.
30. Опишите хроматографический метод разделения белков на сефадексах.
31. Опишите хроматографический метод разделения белков на ионообменниках.
32. Дайте характеристику метода аффинной хроматографии.
33. Содержание белка сыворотки крови в норме; гиперпротеинемии и гипопропротеинемии.
34. Общие свойства неорганических катализаторов и ферментов.
35. Отличия неорганических катализаторов и ферментов.
36. Специфичность ферментов, виды, характеристика, примеры.
37. Классификация и номенклатура ферментов.
38. Структурная организация ферментов. Роль белковой и небелковой части сложных ферментов.
39. Функциональная организация ферментов: активный центр ферментов, строение, роль в реакциях ферментативного катализа. Аллостерический центр.
40. Стадии ферментативного катализа. Механизм действия ферментов.
41. Изоферменты.
42. Зависимость активности ферментов от температуры, pH, концентрации ферментов.
43. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата.
44. Классификация ингибиторов ферментов.
45. Конкурентные ингибиторы, механизм действия, изменение кинетики ферментативного катализа, примеры. Конкурентные ингибиторы как лекарственные препараты.
46. Неконкурентные ингибиторы, механизм действия, изменение кинетики ферментативного катализа.
47. Ингибиторы необратимого действия, механизм ингибирования ферментов.
48. Активаторы ферментов.
49. Регуляция активности ферментов.
50. Аллостерическая регуляция активности ферментов.
51. Единицы активности ферментов.
52. Резервные углеводы тканей человека, биологическая роль. Схема источников и путей расходования глюкозы в организме. Ключевая роль глюкозо-6-фосфата.
53. Переваривание углеводов, характеристика ферментов.
54. Биосинтез и мобилизация гликогена: последовательность реакций, физиологическое значение.
55. Регуляция активности фосфорилазы и синтазы гликогена.
56. Аэробный распад глюкозы: химизм, физиологическое значение.

57. Общие и специфические пути катаболизма.
58. Окислительное декарбоксилирование пирувата: строение пируватдегидрогеназного комплекса и последовательность реакций.
59. Цикл трикарбоновых кислот: последовательность реакций, характеристика ферментов, регуляция. Биологическая роль ЦТК.
60. Анаэробный распад глюкозы: химизм, физиологическое значение. Центральная окислительно-восстановительная реакция гликолиза.
61. Биосинтез глюкозы, физиологическое значение. Глюкозо-лактатный цикл (цикл Кори).
62. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы: химизм, биологическая роль.
63. Переваривание и всасывание липидов. Незаменимые жирные кислоты пищи. Роль желчных кислот.
64. Транспорт липидов. Липопротеины. Классификация и характеристика основных классов липопротеинов.
65. Гидролиз триацилглицеролов (триглицеридов). Регуляция.
66. Окисление глицерола. Энергетика процесса.
67. Бета-окисление высших жирных кислот. Роль карнитина. Энергетика процесса.
68. Биосинтез жирных кислот. Строение пальмитатсинтазного комплекса.
69. Биосинтез холестерина. Регуляция процесса.
70. Переваривание белков. Всасывание аминокислот. Динамическое состояние белков в организме. Азотистый баланс. Биологическая ценность пищевых белков в питании. Регуляция пищеварения гормоноподобными веществами.
71. Трансаминирование аминокислот: химизм, значение. Характеристика трансаминаз. Непрямое дезаминирование аминокислот.
72. Окислительное дезаминирование аминокислот: химизм, характеристика ферментов. Восстановительное аминирование α -кетоглутарата, его значение.
73. Декарбоксилирование аминокислот. Образование биогенных аминов, их роль в регуляции метаболизма и функции.
74. Источники и пути обезвреживания аммиака в организме. Местное и общее обезвреживание аммиака. Гипераммониемия. Остаточный азот.
75. Трансметилирование. Метионин и S-аденозилметионин (участие в синтезе креатина, адреналина, фосфатидилхолина, метилировании чужеродных соединений). Участие тетрагидрофолиевой кислоты в метилировании.
76. Представление о биосинтезе и распаде пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Нарушения обмена нуклеотидов (подагра).
77. Первичная и вторичная структура ДНК. Репликация.
78. Первичная и вторичная структуры РНК. Типы РНК, строение, локализация в клетке, функции. Биосинтез РНК (транскрипция).

79. Биосинтез белков. Биологический код. Основные компоненты белок-синтезирующей системы. Функционирование рибосом и последовательность реакций при синтезе полипептидной цепи.
- 80-89. Напишите формулы витаминов и укажите их роль в обмене веществ (V_1 , V_2 , V_3 , V_5 , V_6 , V_9 , C, P, A, D).
90. Напишите формулу витамина A. В каких формах витамин A участвует в процессе светоощущения?
91. Назовите предшественников и напишите формулы витаминов D_2 и D_3 . Укажите биологически активную форму витамина D, образуемую в почках.
92. Опишите механизм участия витамина A в акте светоощущения.
93. Назовите витамины, коферментные производные которых необходимы для работы пируватдегидрогеназного комплекса.
94. Источники и суточная потребность витаминов (V_1 , V_2 , V_5 , V_6 , V_{12} , C, A, D).
95. Инсулин, строение, синтез, механизм действия, ткани-мишени. Метаболические эффекты.
96. Глюкагон, строение, синтез, механизм действия, метаболические эффекты.
97. Адреналин, строение, синтез, механизм действия, метаболические эффекты.
98. Глюкокортикоиды, строение, синтез, регуляция выработки, механизм действия, ткани-мишени. Метаболические эффекты.
99. Альдостерон, строение, синтез, регуляция выработки, механизм действия, ткани-мишени. Метаболические эффекты.
100. Вазопрессин, строение, синтез, регуляция выработки, механизм действия, метаболические эффекты. Проявление недостаточности вазопрессина.
101. Кальцитонин, строение, синтез, механизм действия, метаболические эффекты.
102. Паратгормон, строение, синтез, механизм действия, метаболические эффекты.
103. Йодтиронины, строение, синтез, метаболизм, регуляция выработки, влияние на обмен веществ. Гипо- и гипертиреозы.
104. Мужские половые гормоны, строение, синтез, регуляция выработки, влияние на обмен веществ. Анаболические препараты стероидной структуры.
105. Женские половые гормоны, строение, синтез, регуляция выработки, роль в половом цикле, влияние на обмен веществ.
106. Какие вещества являются источниками энергии для мышечной ткани? Опишите энергетику мышечного сокращения.
107. Опишите белки мышечного сокращения (миозин, актин).
108. Опишите регуляторные белки мышечного сокращения. Каков механизм мышечного сокращения?
109. Чем отличается энергетическое обеспечение работающих мышц у спринтера и стайера?

110. Биохимические механизмы развития мышечного утомления и лабораторный контроль.

Примечание: в контрольную работу включается 10 вопросов из каждой десятки вопросов; номер вопроса в каждой десятке определяется последней цифрой номера зачетной книжки.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КУРСА БИОХИМИИ

Введение

Поскольку в учебном плане отсутствует блок химических дисциплин, перед изучением биохимии следует вспомнить основные химические понятия и термины.

Строение вещества.

Химия – это область естествознания, наука о веществах и их превращениях. **Вещество с физической точки зрения** – форма материи, состоящая из частиц, которые имеют массу покоя, например, атомов, молекул, ионов. **Химическое вещество** – это устойчивая совокупность частиц (атомов, ионов, молекул), обладающая определенными химическими и физическими свойствами. Число природных и синтезированных веществ составляет более 10 млн. Каждое вещество характеризуется физическими и химическими свойствами. **Физические свойства:** агрегатное состояние, температура кипения, температура плавления, плотность, растворимость, цвет, запах, вкус и пр. **Химические свойства** – способность вещества при определенных условиях или при взаимодействии с другими веществами образовывать новые вещества. Превращения одних веществ в другие вещества называются **химическими реакциями**. Мельчайшей химически неделимой частицей вещества является атом. **Атом** – электронейтральная частица, состоящая из положительно заряженного ядра и отрицательно заряженных электронов. Атомы отличаются размером, массой, которые в свою очередь зависят от заряда ядра. Поэтому главная характеристика атома – положительный заряд ядра (Z). Вид атомов с одинаковым зарядом ядра называется **химическим элементом**. Химический элемент существует в форме конкретных атомов. Например, химический элемент кислород как вид атомов с зарядом ядра $+8$ отличается от химического элемента водорода как вида атомов с зарядом ядра $+1$.

Соединяясь друг с другом, атомы одного элемента или атомы разных элементов могут образовывать молекулы и другие ассоциаты атомов. Частицы, из которых состоят вещества в твердом состоянии, могут быть неупорядочены (аморфное строение, например, стекло), либо упорядочены, в таком случае говорят о кристаллических решетках. В зависимости от частиц, находящихся в узлах кристаллических решеток, различают молекулярные, атомные, ионные кристаллические решетки (особое строение имеют металлические).

Молекула – это наименьшая частица вещества, способная существовать самостоятельно и сохраняющая его химические свойства. Качественный и количественный состав химического вещества определяет его формулу. Для веществ молекулярного состава – это **молекулярная формула**. Формула глюкозы $C_6H_{12}O_6$ показывает, сколько атомов химического элемента входит в молекулу глюкозы. Для ионного строения поваренной соли молекулярную формулу написать невозможно, так как вокруг одного иона натрия располагается шесть ионов хлора, т.е. отношение их $6:6$, или $1:1$. Для веществ немoleкулярного состава используется понятие **формульная единица** – $NaCl$, которая показывает простейшее соотношение числа атомов (или ионов).

Порядок соединения атомов друг с другом показывается с помощью структурных формул для молекулярных веществ, в которых каждая черточка обозначает общую

электронную пару, т.е. одну химическую связь (Н-О-Н – вода) и графических формул – для веществ немолекулярного состава.

Вокруг ядра в атоме движутся электроны. Так как электроны не имеют траектории, в настоящее время для описания движения электронов принят вероятностный подход. Определяется не точное положение электронов в атоме, а вероятность его нахождения в области вокруг ядра. **Область около ядерного пространства, в которой наиболее вероятно нахождение данного электрона, называется атомной или электронной орбиталью.** Орбитали описываются конкретными энергетическими характеристиками, которые называются квантовыми числами. Число «n» – главное квантовое число характеризует энергию, определяющую энергетический уровень, радиус орбитали. Число «l» – побочное квантовое – характеризует энергетический подуровень и форму электронной орбитали, число «m» – магнитное – определяет количество направлений, которые могут занять орбитали определенной формы в пространстве. Орбитали имеют определенную форму. Орбитали s-подуровня имеют сферическую форму, p-подуровня – гантелеобразную, d-подуровня – лепестковую. Электронные орбитали последнего от ядра уровня называются **валентными**, так как они участвуют в образовании химических связей. **Химическая связь** – это взаимодействие, связывающее атомы в молекулы, кристаллы и другие сложные системы. Различают три основных типа химических связей: **ковалентную, ионную и металлическую.** Связь, образованная парой электронов, называется **ковалентной.** В ее образовании могут принимать участие по одному не спаренному (одиночному электрону), такой механизм называется обменным. В другом случае она образована одной парой электронов одного атома и пустой орбиталью другого атома. Это донорно-акцепторный механизм.

Валентность (ковалентность) мера способности атомов данного элемента соединяться с атомами других элементов. Она определяется числом ковалентных связей, которыми данный атом связан с другими атомами, образованных за счет неспаренных электронов, неподеленных электронных пар и вакантных (свободных) орбиталей. Другими словами, **валентность атома – это сумма всех его орбиталей участвующих в образовании химических связей.**

При образовании химических связей, возникающих при столкновении атомов, меняется энергия электронов, что увеличивает валентные возможности атомов за счет распаривания электронов. В результате электронные орбитали принимают другую конфигурацию. Например, валентность углерода в одиночном атоме равна двум, так как имеет два не спаренных электрона. В молекуле метана CH_4 валентность углерода равна четырем, так как электрон с s-подуровня перешел на p-подуровень.

Такое состояние, в котором каждый из валентных электронов занимает свою орбиталь, и может образовать связь с электроном атома-партнера называется **валентным состоянием элемента.**

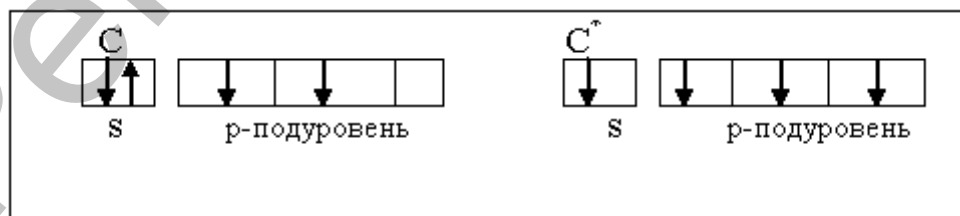


Рис.1 Основное (C) и возбужденное (C*) состояние атома углерода

Следует помнить, что переход в валентное состояние (sp^3 , sp^2 , sp) не представляет собой часть какого-либо реального процесса, а является лишь удобным приемом, объясняющим, как происходит комбинация атомов с образованием молекулы.

Валентное состояние атома углерода в метане отражает конфигурация $\dots 2s^1 2p^3$ (или подробнее $2s^1 2p_x^1 2p_y^1 2p_z^1$) (Рис.1). Электронное распределение в возбуж-

денном атоме углерода в этом случае должно представлять собой сферу, причем один из валентных электронов находится на сферической $2s$ -орбитали, а остальные три – по одному на каждой орбитали $2p_x$, $2p_y$, $2p_z$, т.е. одна связь энергетически должна отличаться от трех остальных. Однако, данные рентгено-структурного анализа показывают, что в молекуле метана все четыре связи равноценны (молекула симметрична и имеет форму тетраэдра, орбитали направлены под углом $109^\circ 28'$ друг к другу). Следовательно, на образование связей атом углерода должен представить одинаковые по энергии орбитали. Такие орбитали могут быть описаны как линейные комбинации одной s - и трех p -орбиталей и моделируются как неравномерные гантели. При этом сколько орбиталей участвует в гибридизации, столько образуется гибридных. В соответствии с этим новые орбитали называются sp^3 -гибридными орбиталями.

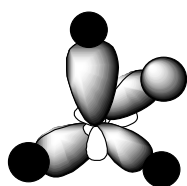


Рис. 1. Строение молекулы метана (тетраэдр из sp^3 -гибридных орбиталей)

Связи, образованные за счет перекрытия орбиталей вдоль линии соединения атомов, называются σ -связи (Рис. 2)

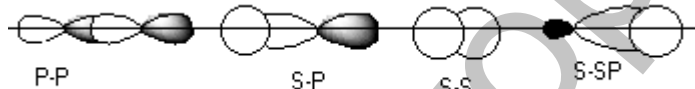


Рис. 2. Способы образования сигма-перекрытия орбиталей

Одна из основных особенностей атомов углерода, азота и кислорода состоит в том, что они чаще, чем другие элементы, образуют кратные – двойные и тройные связи. В молекуле этилена ($CH_2=CH_2$) оба углеродных атома находятся в sp^2 -гибридном состоянии, имея по три гибридных орбитали и одной «чистой» p -орбитали. Гибридные орбитали образуют три σ -связи: одну C-C и две связи C-H, которые лежат в одной плоскости под углом 120° друг к другу. Оставшиеся негибридные p -орбитали атомов углерода перпендикулярны этой плоскости и их перекрытие приводит к образованию π -связи (Рис.3)



Рис.3. Пи-перекрытие орбиталей.

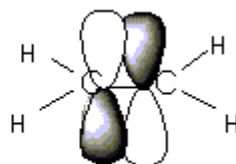


Рис.4.Строение молекулы этилена.

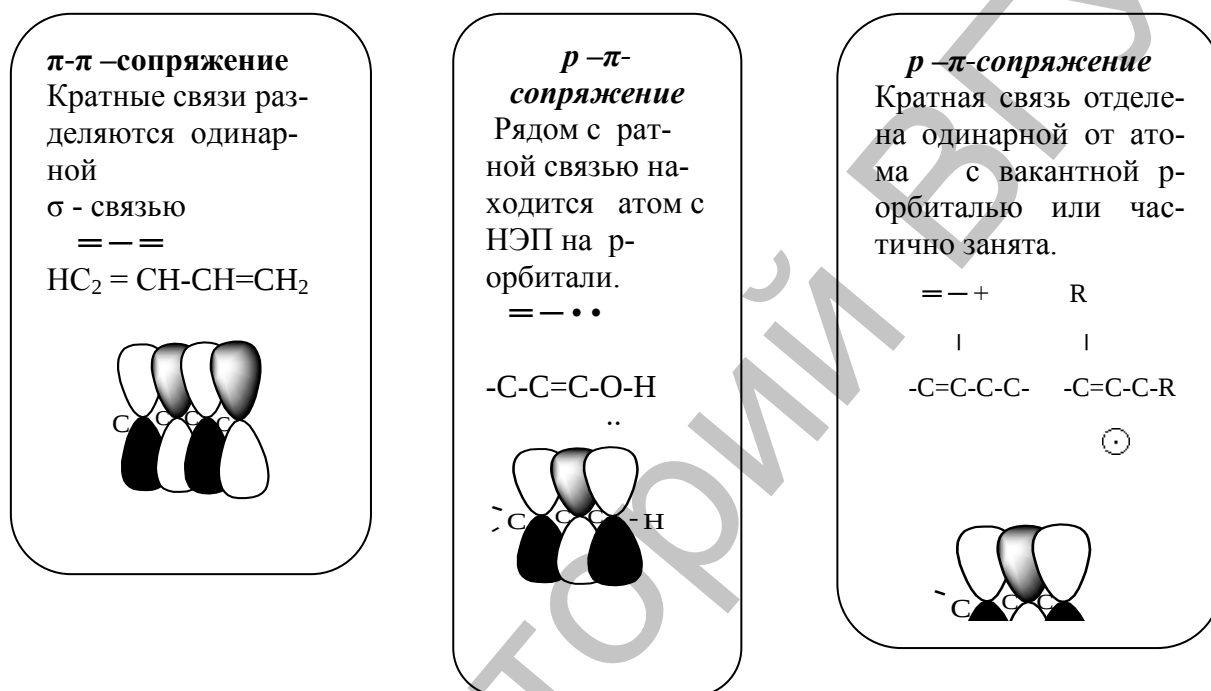
Эта связь предполагает, что максимумы перекрытия электронной плоскости не находятся на линии, соединяющей центры атомов, а расположены на одинаковых расстояниях от этой линии. Перекрытие трех p -орбиталей двух атомов углерода в молекуле ацетилена дает тройную связь: гибридные s p_x -орбитали образуют σ -связь, а p_y и p_z -орбитали – две π -связи.

Особыми свойствами обладают вещества, у которых двойные связи располагаются через одну сигма-связь, например, $CH_2=CH-CH=CH_2$. При таком расстоянии возможно перекрытие p -орбиталей двух π -связей с образованием общего π -

электронного делокализованного облака. Расстояние между всеми атомами углерода одинаковые. Такой эффект называется **сопряжением**. Бывает несколько видов сопряжения. (Схема 1).

Эффекты сопряжения: сохранение плоской структуры, более высокая устойчивость системы вследствие делокализации (увеличения энтропии), «передача» электронной плотности без изменения, например, передача энергии по сопряженной системе хлорофилла.

Виды сопряжения



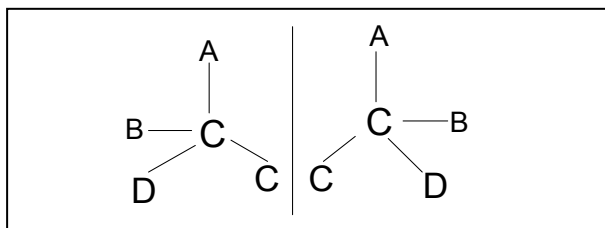
Для химической связи между разными атомами характерно смещение электронной плотности к более электроотрицательному атому. Это приводит к возникновению частичных положительных и отрицательных зарядов на атомах. Такая связь является **полярной** и характеризуется постоянным дипольным моментом. В предельном случае полярности, когда электронные облака взаимодействующих атомов разделены настолько, что можно говорить об образовании противоположно заряженных ионов, мы имеем дело с **ионной связью**. Ионы – одноатомные или многоатомные частицы, несущие электрический заряд (катионы – положительный, анионы – отрицательный). Соединения, которые образовались путем притяжения ионов, называются гетерополярными или ионными.

Металлическая связь не характерна для биомолекул.

Водород, кислород, азот, углерод, фосфор и сера (**элементы-органогены**) образуют большинство молекул живых организмов. Все они образуют **ковалентные связи** путем спаривания электронов. Чтобы приобрести устойчивую восьми электронную конфигурацию внешней электронной оболочки, водороду требуется один электрон, кислороду – два, азоту – три, углероду – четыре, фосфору – пять, сере – шесть электронов. Набора из указанных атомов достаточно для построения почти всех необходимых биоорганических молекул. Только изредка – при построении молекул с какими-нибудь уникальными свойствами – возникает необходимость в других атомах. Как известно, прочность ковалентной связи между атомами обратно пропорциональна их атомным массам. Поэтому первые из четырех указанных элементов, включая атом углерода, образуют наиболее стабильные связи в биоорганических молекулах. Способность углерода

да образовывать **углерод-углеродные** связи обеспечивает формирование каркаса большинства биоорганических молекул. Кроме того, спаренные электроны образуют вокруг каждого углерода **тетраэдрическую конфигурацию**, благодаря чему разные типы органических молекул обладают различной трехмерной структурой.

Тетраэдрическая структура атома углерода обуславливает явление **асимметрии** многих биоорганических молекул. Молекулы, в которых один из атомов углерода связан с *различными* четырьмя другими атомами или группами атомов, могут приобретать две различные пространственные конфигурации, являющиеся зеркальным отражением друг друга (хиральные молекулы).



Такие соединения называются **оптическими изомерами**. Одно из них вращает плоскость поляризации света в одном направлении, а другое – в противоположном. Атом углерода, ответственный за асимметрию, называется асимметрическим атомом. Например, число **стереоизомеров** моносахарида зависит от числа ассиметричных углеродных атомов. Альдогексозы содержат 4 таких атома и могут образовывать 2^4 стереоизомеров. Наиболее просто устроенным моносахаридом, имеющим оптически активные стереоизомеры, является глицериновый альдегид. Он существует в двух формах: D (правовращающий) и L (левовращающий). D- и L-глицериновые альдегиды можно условно считать родоначальниками двух рядов моносахаридов – **D- и L-рядов**, различающихся по пространственной конфигурации. Принадлежность к D- или L-ряду определяется положением водорода и гидроксила у наиболее удаленного от альдегидной или кетонной группы ассиметрического углеродного атома по сравнению с их положением у ассиметрического углеродного атома D- или L-глицеринового альдегида. В организме человека присутствуют **D-моносахариды** и **L-аминокислоты**.

Ковалентные связи характеризуются определенной **длиной**, т.е. расстоянием между ядрами связанных атомов, и энергией связи. **Энергия связи** – это то количество энергии, которое надо затратить, чтобы разорвать связь, т.е. раздвинуть ядра атомов на бесконечно большое расстояние. Например, для C-C связи длина составляет 0,154 нм, а энергия связи 247,0 кДж/моль, или 59 ккал/моль, для связи C-H – 0,109 нм и 364,2 кДж/моль, или 87 ккал/моль, соответственно. Ковалентные связи белков в третичной структуре обеспечивает непрочная дисульфидная связь (S-S). Менее прочная связь O-O присутствует в перексиде водорода. В биохимии используется еще одно понятие энергии, которое называется **свободной энергией**. Оно определяет соотношение внутренней энергии исходных веществ и продуктов реакции, поэтому проявляется при химическом взаимодействии. Например, весьма богатая энергией связь P-O (фосфоангидридная) служит универсальным источником энергии, обеспечивающим протекание всех метаболических процессов организма и называется **макроэргической** (обозначается значком «~» тильда). Это значит, что при гидролизе фосфоангидридной связи образуются продукты с более низкой свободной энергией.

Взаимодействие между атомами, ионами, молекулами сопровождается определенным пространственным расположением частиц относительно друг друга, которые не укладываются в рамки обычных представлений о валентности. В связи с этим введено понятие о **комплексных соединениях**, которые состоят из центрального **комплексобразователя** (в простейшем случае – металла, окруженного анионами) или нейтральными молекулами – **лигандами**, ковалентно связанными по донорно-

акцепторному механизму (комплексообразователь – акцептор, лиганд – донор). Комплексообразователь и лиганды образуют внутреннюю сферу комплексного соединения, которую при составлении координационной формулы заключают в квадратные скобки. Количество σ -связей, которые образует с лигандами комплексообразователь, называется координационным числом. Если внутренняя сфера имеет заряд, то в состав соединения входит противоположно заряженные ионы внешней сферы, связанные с комплексной частицей (внутренней сферой) ионной связью.

Энергия ион-ионных взаимодействий зависит от заряда ионов и расстояния между их центрами, т.е. увеличивается с ростом зарядов ионов и уменьшения их радиусов. Электростатические взаимодействия играют важную роль в биорегуляторах с рецепторами и субстратов с ферментами.

Ковалентные связи и ион-ионные взаимодействия обеспечивают прочность биомолекул, а подвижность и гибкость живых систем определяют **невалентные взаимодействия**. Если атом водорода связан ковалентной связью с каким-либо сильно электроотрицательным элементом (кислород, азот, хлор, сера), то он может одновременно притягиваться к другому атому, имеющему высокую электронную плотность. Энергия такого притяжения составляет 4-40 кДж/моль, т.е. на порядок меньше энергии ковалентной связи. Такое взаимодействие называют «**водородная связь**». Между молекулами, которые являются валентно насыщенными в обычном представлении, существуют силы притяжения – **силы Ван-дер-Ваальса**. Этот тип взаимодействия может возникать только в тех случаях, когда геометрия двух молекул дает возможность двум атомам, способным к такому взаимодействию, подойти друг к другу на достаточно близкое расстояние. Энергия вандерваальсовых сил изменяется обратно пропорционально шестой степени расстояния, и поэтому они действуют только на очень коротких расстояниях. **Гидрофобными взаимодействиями** называют взаимодействия между неполярными молекулами (углеводороды) и неполярными группами молекул (в аминокислотах, липидах и др.) в водных растворах. Термин гидрофобное взаимодействие был предложен для описания вандерваальсовых сил притяжения между атомами неполяризованных участков двух молекул, окруженных молекулами воды (молекулы воды не проникают в пространство между взаимодействующими гидрофобными поверхностями частиц). Этот термин практически не имеет энергетического смысла. Вещества, построенные посредством ковалентных неполярных или мало полярных связей, не растворяются в воде, иными словами, гидрофобны. Гидрофобные взаимодействия между ними способствуют их взаимной растворимости. Поскольку мало полярны по своей природе липиды (жиры), такие вещества называют **липофильными**. Напротив, взаимодействия с молекулами воды способствуют растворению в ней сильно полярных и ионных соединений. Эти вещества **гидрофильны**. **Амфипатические (амфифильные) соединения**, у которых молекулы состоят из длинного углеводородного радикала («хвоста») и ионного центра («головка»), принимают участие в построении мембран (гидрофобное взаимодействие между хвостами внутри мембраны и обращение гидрофильных «головок» к диполям воды). Особое значение для построения мембран имеют фосфолипиды.

Масса и количество вещества – разные понятия. **Масса** выражается в килограммах (граммах), а **количество вещества** – в молях. **Стехиометрия** – раздел химии, в котором рассматриваются массовые и объемные отношения между реагирующими веществами. Стехиометрические расчеты – это расчеты по химическим формулам и уравнениям, а также вывод формул веществ и уравнений реакций.

В организме человека обнаружено около 70 элементов таблицы Д.И.Менделеева. По количественному содержанию в организме химические элементы делят на 4 группы. Первая группа – **макробиогенные элементы** (главные), их содержание более 1% (кислород, углерод, азот и водород). Вторая группа – **олигобиогенные**

элементы, доля которых от 0,1 до 1% (кальций, фосфор, калий, хлор, сера, магний, железо). Третья группа – **микробиогенные элементы**, содержание которых ниже 0,01% (цинк, марганец, кобальт, медь, бром, йод, молибден и др.). Четвертая группа – **ультрамикробиогенные элементы**, концентрация их не превышает $1 \times 10^{-6} \%$ (литий, кремний, олово, кадмий, селен, титан, ванадий, хром и др.).

Органическая химия – химия соединений углерода, или точнее, это химия углеводородов (УВ) и их производных. УВ – простейшие органические вещества, молекулы которых состоят из атомов только двух элементов – углерода и водорода. Производные УВ – продукты замещения атомов водорода в молекулах УВ на другие атомы или группы атомов. Валентность углерода во всех органических соединениях равна IV. Особенностью углерода является способность его атомов образовывать связи друг с другом. Углерод-углеродные цепи могут быть прямыми, разветвленными и циклическими. Связи между атомами углерода могут быть одинарными, двойными и тройными. Свойства веществ зависят не только от качественного и количественного состава, но и от строения их молекул. Вещества, имеющие одинаковый состав, но разное строение молекул и поэтому разные свойства, называются **изомерами**. Различают изомерию углеродного скелета, положения функциональной группы, пространственную изомерию (цис-транс-изомерия и оптическая изомерия).

Разнообразные органические соединения можно рассматривать как производные УВ, полученные введением в них функциональных групп. **Функциональная группа** – это атом или группа атомов неуглеводородного характера, определяющая принадлежность соединения к определенному классу и обуславливающая важнейшие химические свойства веществ. Остаток УВ, связанный с функциональной группой, называется **углеводородным радикалом**.

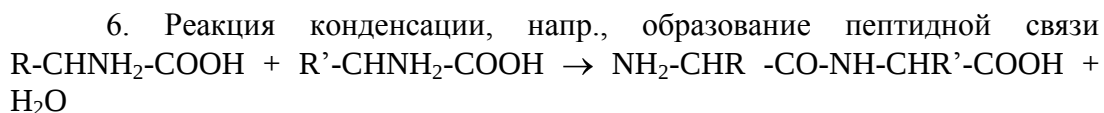
Органические соединения делятся на **алифатические** (соединения с открытой углеродной цепью, прямой или разветвленной) и **циклические**. Алифатические делятся на **предельные** (атомы углерода связаны только одинарными связями) и **непредельные** (содержат кратные углерод-углеродные связи). Циклические делятся на **карбоциклические** (содержат циклы, состоящие только из атомов углерода) и **гетероциклические** (содержат циклы, в состав которых входят не только атомы углерода (например, N, O, S)).

Ароматические УВ (арены) – это соединения, в молекулах которых содержится особая циклическая группировка из 6 атомов углерода – бензольное ядро. **Ароматичность** определяет химические свойства бензола и его гомологов. Шестиэлектронная π -система является более устойчивой, чем обычные двухэлектронные π -связи. Поэтому реакции присоединения менее характерны для ароматических УВ, чем для непредельных УВ. Наиболее характерными для аренов являются реакции замещения. Таким образом, ароматические УВ по своим химическим свойствам занимают промежуточное положение между предельными и непредельными УВ.

К **кислородсодержащим органическим соединениям** относят спирты, фенолы, альдегиды, карбоновые кислоты, сложные эфиры, жиры и углеводы. К **азотсодержащим органическим соединениям** относят амины, аминокислоты, белки, N-содержащие гетероциклы (пуриновые, пиримидиновые основания и др.), нуклеотиды, нуклеиновые кислоты.

В органической химии можно выделить 7 типов реакций.

1. Реакции замещения $R-X + Y-Z \rightarrow R-Y + XZ$
2. Реакции присоединения $R-CH=CH-R' + X-Y \rightarrow R-CHX-CHY-R'$
3. Реакции отщепления, напр., дегидрирование $CH_3-CH_2-CH_3 \rightarrow CH_3-CH=CH_2 + H_2$
4. Реакции разложения, напр., брожение $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$
5. Реакции ди-, три-, полимеризации $nCH_2=CH_2 \rightarrow (-CH_2-CH_2-)_n$



Все биоорганические вещества, функционирующие в клетке можно расположить в связи с **уровнями организации клетки**. Первый уровень занимают низкомолекулярные предшественники клеточных компонентов (углекислый газ, молекулярный кислород, азот, неорганические ионы, химические элементы). На втором уровне стоят промежуточные химические соединения (аммиак, органические кислоты и их производные, карбамоилфосфат, рибоза и др.). Из соединений первого и второго уровней в процессе жизнедеятельности клеток образуются **биологические мономеры**, которые являются строительным материалом для **биополимеров**, имеющих большую молекулярную массу и отличающихся огромным разнообразием. Промежуточное положение между биологическими мономерами и биополимерами занимают **низкомолекулярные биорегуляторы** (витамины, коферменты, биогенные амины и др.). Они не являются строительными блоками биополимеров, а по молекулярной массе ближе к мономерам. Биополимеры способны ковалентно соединяться друг с другом, образуя **сложные макромолекулы** (липопротеины, нуклеопротеины, гликопротеины, гликолипиды, протеогликаны и др.). Взаимодействием простых и сложных макромолекул создаются **надмолекулярные структуры** (полиферментные комплексы). Далее путем самосборки могут образовываться **клеточные органеллы** (митохондрии, ядра, рибосомы, лизосомы и пр.). Мембраны ограничивающие клеточные органеллы образуют различные **компарменты** клеток. Неорганизованное вещество цитоплазмы (цитозоля), органелл и мембранных структур образуют **клетку**.

На долю воды приходится 60-80% массы органов и тканей. **Вода** составляет основу жидких дисперсных систем организма: крови, лимфы, мочи, слюны, желудочного и кишечного соков, синовиальной и спинномозговой жидкостей, внутреннего содержимого клеток, межклеточной жидкости. **Дисперсными** называются системы, состоящие из мелко раздробленных частиц одного вещества (или нескольких), распределенных равномерно в массе другого вещества. Раздробленное вещество называют **дисперсной фазой**. Вещество, в котором происходит распределение частиц дисперсной фазы, называется **дисперсионной средой**. В большинстве жидких дисперсных систем организма вода является дисперсионной средой. В клеточных мембранах, состоящих в основном из белков и липидов, она может играть роль дисперсной фазы. По степени дисперсности (т.е. по размеру частиц дисперсной фазы) различают: 1) **истинные растворы** (размер частиц дисперсной фазы меньше 10^{-7} см, молекулярные растворы моносахаридов, спиртов и др. и ионные растворы кислот, оснований, солей; 2) **коллоидные растворы** (размеры частиц дисперсной фазы 10^{-7} - 10^{-5} см, лиофильные – жидкие (золи) и студнеобразные (гели) растворы белков и полисахаридов; 3) **взвеси** (размеры частиц дисперсной фазы больше 10^{-5} см, суспензии – взвесь эритроцитов в плазме крови и эмульсии – молоко, взвесь жировых капель в кишечном соке. **Диффузия** – движение частиц дисперсной фазы (растворенное вещество) и дисперсионной среды (растворитель), приводящего к самопроизвольному выравниванию их концентраций по всему объему дисперсной системы, после чего устанавливается состояние равновесия. **Скорость диффузии** прямо пропорциональна площади поперечного сечения системы, величине градиента концентрации, абсолютной температуре системы, но обратно пропорциональна величине диффундирующих частиц и вязкости растворителя. Особым видом диффузии является диффузия растворителя через **полупроницаемую мембрану**, которая непроницаема или малопроницаема для многих растворенных веществ. Растворитель движется через мембрану в двух направлениях, но скорость его движения в

сторону раствора с большей концентрацией растворенного вещества и меньшей – растворителя значительно выше, чем в обратном направлении. Такая односторонняя диффузия растворителя через полупроницаемую мембрану называется **осмос**. Сила, вызывающая осмос, получила название **осмотического давления**. Белковая составляющая осмотического давления называется **онкотическим давлением**. Отделение крупномолекулярных веществ (белков) от низкомолекулярных примесей (соли) с помощью полупроницаемых мембран называют **диализом**. Растворы, имеющие при одинаковых условиях равную концентрацию частиц растворенного вещества и, следовательно, равное осмотическое давление, относят к **изотоническим**. Растворы с разным осмотическим давлением называются **анизотоническими**. Из двух анизотонических растворов раствор с меньшим осмотическим давлением называется **гипотоническим**, с большим – **гипертоническим**.

Химическая реакция.

В реакции участвуют исходные вещества, получаются продукты реакции. Следует различать **условия реакции**, изменение температуры, давления, поверхности соприкосновения, применение катализатора и **признаки реакции**, которые регистрируются визуально, либо приборами. Современными приборами можно зарегистрировать образование химической связи. Сущность химической реакции состоит в перегруппировке атомов веществ, участников реакции. Для этого старые связи должны разорваться, энергия затрачивается, $E < 0$ (рис.6А, «к»), процесс экзотермический, и образоваться новые, процесс экзотермический $E > 0$, энергия выделяется (Рис.6 А «Д»). Результативный энергетический эффект определяется алгебраической суммой двух процессов. На диаграммах видно, что если энергия разрыва связей больше, чем энергия образования химической связи, то процесс эндотермический (Рис. 6 Б).

Учение о скорости химических реакций и факторах, влияющих на нее, называется **химической кинетикой**. **Скорость реакции** определяется как изменение концентраций реагирующих веществ, происходящее в единицу времени.

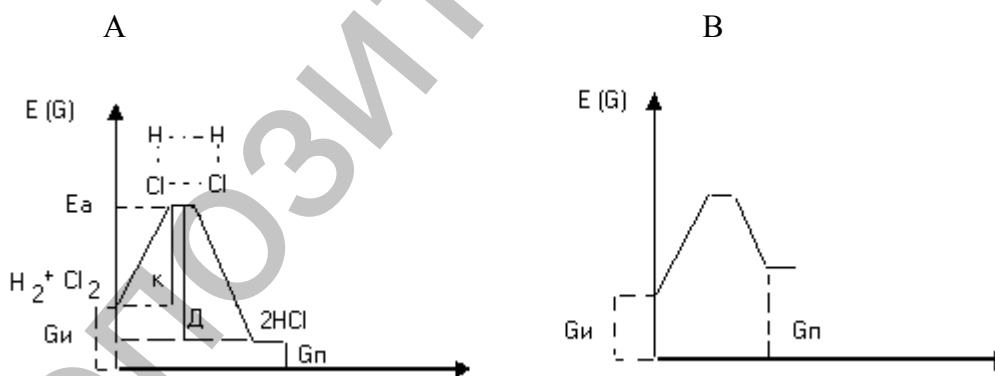


Рис.6 Энергетическая диаграмма хода экзотермической (А) и эндотермической (В) реакции

Реакция становится возможной только при столкновении молекул. Чем больше молекул в единице объема, тем чаще они сталкиваются друг с другом, тем быстрее преобразуются. Зависимость скорости реакции от концентрации реагирующих веществ получила название **закона действующих масс**, согласно которому для реакции $A+B \rightarrow C+D$ скорость может быть выражена уравнением: $v = K \times [A] \times [B]$, где v – скорость реакции, K – константа скорости, отражающая влияние химической природы вещества и условий, в которой протекает реакция, на ее скорость, $[A]$ и $[B]$ – концентрация реагентов в моль/л. В обратимых реакциях со временем устанавливается состояние динамического равновесия. Для каждой реакции состояние динамического равновесия ха-

рактируется **константой химического равновесия**. Не каждое столкновение реагирующих молекул приводит к взаимодействию. Чтобы реакция началась, молекулы должны обладать определенным запасом энергии, достаточным для преодоления **энергетического барьера**, который создается межмолекулярными силами отталкивания и внутримолекулярными силами сцепления (прочностью химических связей). Количество энергии, необходимое молю реагирующего вещества для вступления в реакцию, называется **энергией активации** (Рис.6А « E_a ») и выражается в кДж/моль. В точке энергии активации молекулы находятся в состоянии активированного комплекса, когда старые связи еще не разорвались, а новые не образовались. На Рис.6А пунктиром показаны связи активированного комплекса в состоянии «напряжения» при взаимодействии молекул водорода с хлором. Энергетический барьер снижают **катализаторы**. Этот эффект достигается, благодаря стадии образования промежуточного соединения реагентов с катализатором. При **гомогенном катализе** скорость процесса прямо пропорциональна концентрации катализатора, так как главную роль в этом процессе играет образование промежуточного соединения. В **гетерогенном катализе** большое значение имеют явления адсорбции на поверхности катализатора, в результате чего повышается концентрация реагирующих молекул; поэтому, чем больше удельная поверхность гетерогенного катализатора, тем выше скорость реакции.

Термодинамические аспекты направление реакций. Самопроизвольные реакции идут в сторону продуктов с меньшей свободной энергией и с большим уровнем «беспорядка». Свободная энергия (Энергия Гиббса - G) определяется по формуле $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, где ΔG – изменение энергии Гиббса, ΔH – теплосодержание системы, энергия, которая может быть использована на совершение работы, $T\Delta S$ – энергия, рассеивающаяся в виде тепла. Системы с меньшей свободной энергией более устойчивы на диаграмме (Рис.6Б) видно, что свободная энергия исходных веществ меньше продуктов, следовательно, исходные вещества более термодинамически стабильны. Свободная энергия важна для определения направления реакции. Если $\Delta G < 0$, реакция идет вправо в сторону продуктов, если $\Delta G > 0$, реакция идет влево, или иначе не идет. Если $\Delta G = 0$ реакция находится в равновесии.

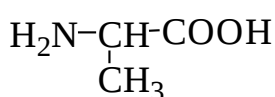
XX век – век геномики, посвященный расшифровке генома человека; XXI век – век протеомики (исследование индивидуальных особенностей белкового спектра, т.е. фенотипа). Ф.Энгельс писал: «Жизнь – это способ существования белковых тел, существенным моментом которого является постоянный обмен веществ с окружающей их внешней средой, причем с прекращением этого обмена веществ прекращается и жизнь». В обмене веществ принято выделять пластический, функциональный и энергетический обмен. Под **пластическим обменом** понимают комплекс химических реакций, приводящих к синтезу специфических для организма веществ (структурных веществ, ферментов, гормонов, различных секретов, запасных источников энергии). **Функциональный обмен** – это комплекс реакций, обеспечивающих функциональную активность клетки, ткани, органа. Функциональный обмен связан в основном с процессами преобразования энергии. **Энергетический обмен** – это комплекс химических реакций, в процессе которых за счет энергии, освобождающейся при распаде углеводов, жиров, продуктов белкового обмена, происходит новообразование (ресинтез) молекул АТФ (других макроэргических соединений), распавшихся в процессе энергетического обеспечения функциональной или пластической деятельности клеток. Обмен веществ складывается из **обмена с внешней средой**, под которым понимается поступление в организм продуктов питания, кислорода и выделение в окружающую среду конечных продуктов обмена, и **промежуточного (межуточного) обмена** – комплекса химических реакций, происходящих в организме с поступившими химическими соединениями. Ве-

щества, образующиеся в ходе промежуточного обмена, принято называть **метаболитами**.

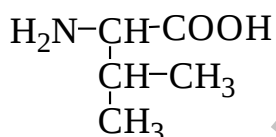
БЕЛКИ

Белки, определение: Белки являются основными биополимерами клеток, за счет которых осуществляются практически все функции. В большинстве белков имеется постоянное содержание азота, равное 16%. Поэтому количество белков иногда выражают через азот: количество белка = содержание азота $\times$ 6,25. Различные ткани отличаются по содержанию белков. В пересчете на сухую массу в селезенке 84% белков, в легких – 82%, в мышцах – 80%, а в костях – 24-28%. Термин «белок» происходит от немецкого слова «Eiweiß», что означает яичный белок или вообще белок. Другое название – протеины (происходит от греческого слова «протос» – первичный. Белки – это полимеры, построенные из аминокислот. Протеиногенные аминокислоты делят на 4 группы:

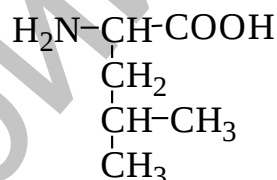
1) неполярные (гидрофобные):



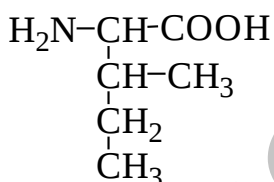
Аланин (Ала)



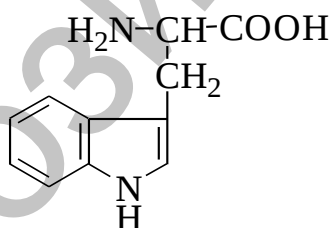
Валин (Вал)



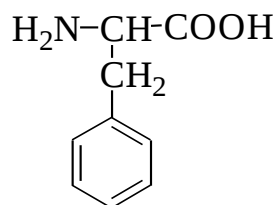
Лейцин (Лей)



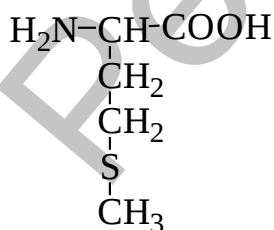
Изолейцин (Иле)



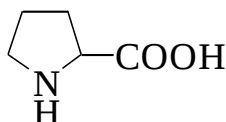
Триптофан (Три)



Фенилаланин (Фен)

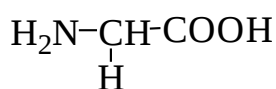


Метионин (Мет)

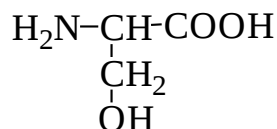


Пролин (Про)

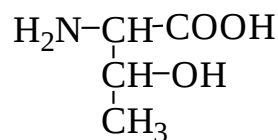
2) полярные (гидрофильные), незаряженные:



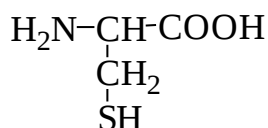
Глицин (Гли)



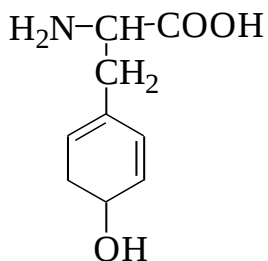
Серин (Сер)



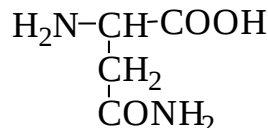
Треонин (Тре)



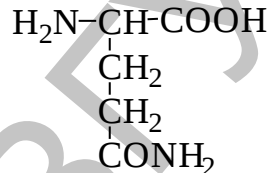
Цистеин (Цис)



Тирозин (Тир)

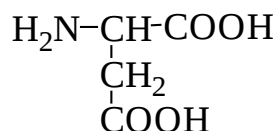


Аспарагин (Асн)

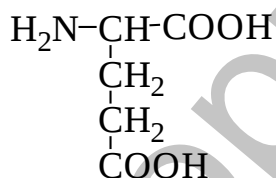


Глутамин (Глн)

3) отрицательно заряженные:

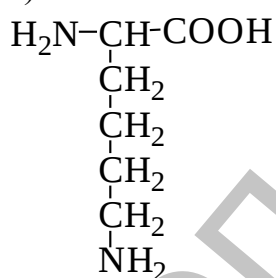


Аспарагиновая кислота (Асп)

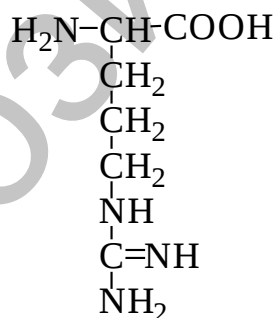


Глутаминовая кислота (Глу)

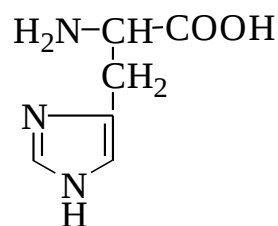
4) положительно заряженные:



Лизин (Лиз)



Аргинин (Арг)



Гистидин (Гис)

Основное химическое свойство – амфотерность; $\alpha\text{-NH}_2$ и $\alpha\text{-COOH}$ группы участвуют в образовании пептидных связей.

Связи, образованные радикалами аминокислот: 1) гидрофобные радикалы образуют гидрофобные взаимодействия; 2) гидрофильные радикалы отвечают за образование водородных связей; 3) полярные (заряженные) радикалы – за образование ионных связей; 4) сближение двух радикалов цистеина $\text{cis-SH} + \text{cis-SH}$ ведет к образованию дисульфидной связи cis-S-S-cis .

Классификация белков. Белки – высокомолекулярные полипептиды. Граница между полипептидами и белками лежит в диапазоне молекулярной массы 6000-12000 Дальтон. 1) Простые белки состоят только из аминокислот. Сложные белки содержат кроме аминокислот добавочные (простетические) группы: гемпротеины (гем), липопротеины (липиды), гликопротеины (углеводы), металлопротеины (металлы). Белковая часть таких белков – апопротеины. 2) Классификация по растворимости: альбумины растворимы в воде и солевых растворах; глобулины плохо растворимы в воде, но хорошо в солевых растворах; проламинны растворимы в 70-80% растворах этанола, но не растворимы в воде и абсолютном этаноле; гистоны (богаты аргинином) растворимы в солевых растворах; склеропротеины нерастворимы в воде и солевых растворах (богаты гли, ала, про). 3) По величине аксиального отношения (отношение длины молекулы к ширине) белки делят на глобулярные (аксиальное отношение меньше 10, чаще 3,4) – ферменты, альбумины, глобулины и фибриллярные (аксиальное отношение больше 10 (кератин, миозин, коллаген, фиброин)).

Функции белков: 1) каталитическая (ферменты); 2) сократительная (актин, миозин); 3) регуляция генов (гистоны, репрессорные белки); 4) гормональная роль (инсулин, соматотропин); 5) защитная роль (белки свертывающей системы крови, белки иммунной системы организма, ферменты обезвреживания – цитохромы P₄₅₀); 6) регуляторная роль (кальмодулин); 7) структурная роль (коллаген, эластин); 8) транспорт веществ (неспецифический транспортер – альбумины, специфические переносчики в плазме крови, гемоглобин, транспортные системы мембран); 9) пластическая роль (белки – компоненты мембран); 10) гомеостатическая роль (гемоглобиновая буферная система, онкотическое давление).

Молекулярная масса белков

1) Метод ультрацентрифугирования. В пробирке ультрацентрифуги создается центробежное ускорение, превышающее земное до 500000 раз. По мере перемещения молекул белка в центробежном поле они разделяются по молекулярной массе. При этом образуются границы белок – растворитель, скорость перемещения которых можно определить.

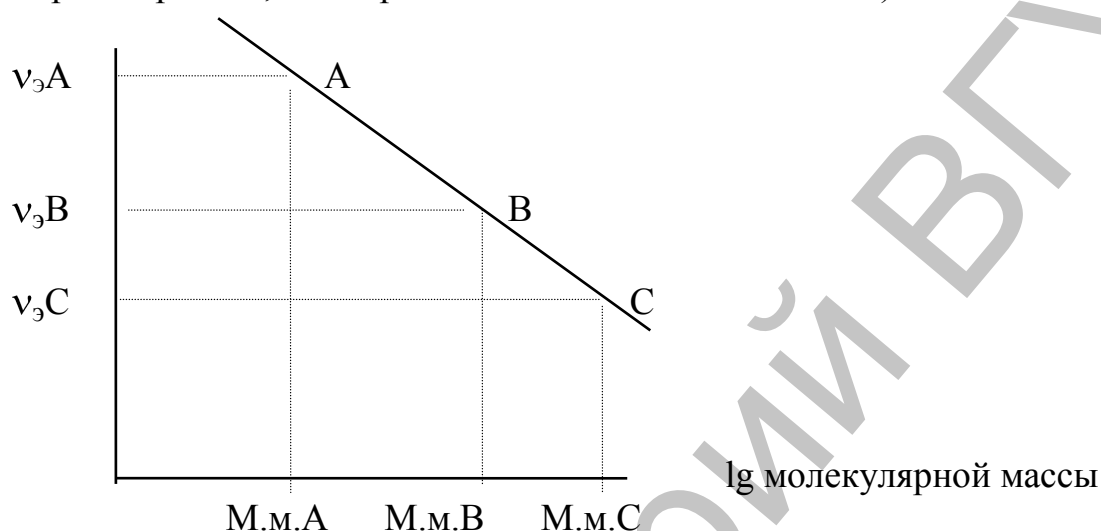
Вначале вычисляют константу седиментации белка (S), которая зависит от массы и формы белковой молекулы: где v – скорость перемещения границы белок – растворитель; ω – угловая скорость ротора (рад/с); r – расстояние от центра ротора до середины пробирки с раствором белка. S выражается в секундах; $S=1 \cdot 10^{-13}$ с принята за единицу и названа сведбергом. Константы седиментации для белков чаще в пределах 1-50 S. Величина молекулярной массы вычисляется по уравнению Сведберга: где R – газовая постоянная; T – абсолютная температура; S – константа седиментации; D – коэффициент диффузии; $\bar{v}$ – парциальный удельный

$$S = \frac{v}{\omega^2 \cdot r}$$

$$M.M. = \frac{R \cdot T \cdot S}{D (1 - \bar{v} \rho)}$$

объем молекулы белка; ρ – плотность растворителя.

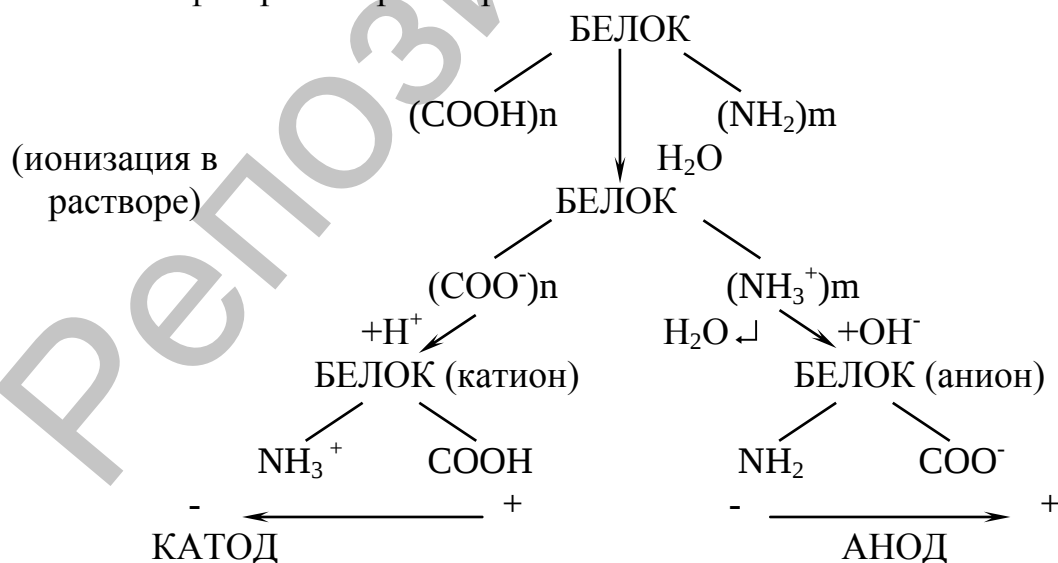
2) Гель-фильтрация. Калибруют колонку, заполненную стандартными гранулами сефадекса (учитывается расстояние между гранулами и величина пор в гранулах), белками с известной молекулярной массой. Находят зависимость между элюционным объемом (v_e) и молекулярной массой. Чем меньше молекулярная масса, тем больше элюционный объем (т.е. объем растворителя, с которым белок выходил из колонки).



Через калиброванную колонку пропускают неизвестный белок, определяют его элюционный объем и по калибровочному графику определяют молекулярную массу. В методе диск-электрофореза сравнивают не элюционные объемы, а электрофоретическую подвижность белков.

Физико-химические свойства белков

1. Амфотерность растворов белков.



Изоэлектрическая точка белков – значение pH , при котором заряд белка равен нулю (P_i). Для нейтральных белков P_i лежит в слабокислой

среде, поскольку ионизация карбоксильных групп несколько выше, чем аминных. Таких белков большинство, но есть пепсин с $P_i = 1,0$ или гистоны с $P_i = 10,0$.

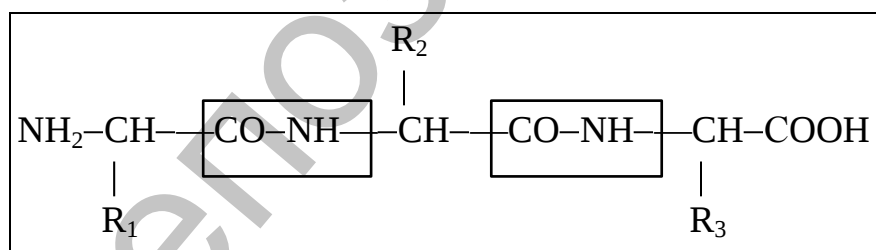
2. Белки образуют коллоидные растворы (размеры частиц 0,1-0,001 мкм), для которых важны следующие характеристики: 1) низкое осмотическое давление; 2) высокая вязкость; 3) низкая способность к диффузии. В лабораторной практике используют два свойства коллоидных растворов белков: 1) нефелометрическое определение количества белка на основе эффекта Тиндаля; 2) диализ – очистка белковых растворов от низкомолекулярных примесей с помощью полупроницаемых мембран.

Практическое значение амфотерности белков

1. В методе электрофореза белков сыворотки крови используют слабощелочные буферные растворы (т.е. $pH > P_i$), чаще $pH = 8,6$. При этом белки заряжаются отрицательно и перемещаются к аноду. Если P_i альбуминов = 4,9, а P_i γ -глобулинов = 6,6, то при $pH 8,6$ у альбуминов будет больший отрицательный заряд и они быстрее будут перемещаться к аноду. Это позволяет разделить белки сыворотки крови по заряду (электрофоретической подвижности): альбумины, α_1 -, α_2 -, β -, γ -глобулины.

2. Осаждение белков из растворов. Белковая молекула в растворе удерживается двумя факторами: 1) зарядом; 2) гидратной оболочкой. Снятие заряда осуществляется путем подведения pH к изоэлектрической точке. Снятие гидратной оболочки осуществляется водоотнимающими средствами (органические растворители, соли щелочноземельных металлов в высокой концентрации), температурой и др. Для осаждения белка необходимо устранить оба фактора устойчивости белковой молекулы.

Первичная структура белков – последовательность аминокислот в полипептидной цепи (или цепях) и положение дисульфидных связей (если они есть).



Первичная структура стабилизируется ковалентными связями: пептидной и в некоторых пепти-

дах может быть и дисульфидная. Разрушение ковалентных связей первичной структуры – **гидролиз**: 1) кислотный – в 6 N HCl и 100-110°C 24 ч; 2) ферментативный – с помощью протеолитических ферментов в желудке при $pH 1,5-5,0$, в двенадцатиперстной кишке – при $pH 8,6$.

Характеристика пептидной связи. Пептидная связь плоская (копланарная). Связь C-N напоминает двойную связь (вращение невозможно) из-за p, π - сопряжения (сопряжение свободной пары электронов атома азота с π -электронами двойной связи C=O). Пептидная связь определяет остов

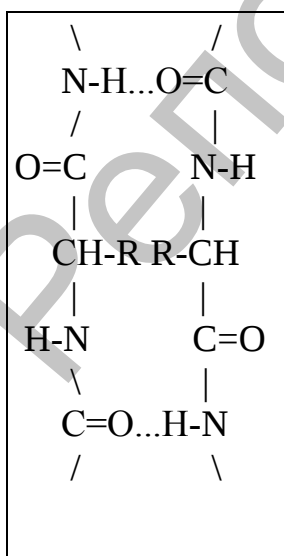
(хребет) первичной структуры белковой молекулы и придает ему жесткость.

Роль первичной структуры: 1) Последовательность аминокислот в первичной структуре белка является специфической видовой характеристикой данного белка. 2) Первичная структура белка генетически детерминирована и воспроизводится в процессах транскрипции и трансляции. 3) Первичная структура белка является основной для формирования последующих структур белка за счет взаимодействия радикалов аминокислотных остатков полипептидной цепи. 4) Замена аминокислоты L-ряда на аминокислоту D-ряда или замена даже одной L-аминокислоты на другую может привести к полному исчезновению биологической активности пептида.

Вторичная структура белка – регулярная организация полипептидной цепи, стабилизируемая водородными связями. Водородные связи образованы между NH- и CO-группами пептидных связей. Различают α -спираль, β -структуру и неупорядоченную конформацию (клубок).

1) α -спираль. Закручивание полипептидной цепи идет по часовой стрелке (правый ход спирали), что обусловлено строением L-аминокислот. На каждый виток (шаг) спирали приходится 3,6 аминокислотных остатка. Шаг спирали равен 0,54 нм, на один аминокислотный остаток приходится 0,15 нм. Угол подъема спирали составляет 26° . Через каждые 5 витков спирали (18 аминокислотных остатков) структура полипептидной цепи повторяется. Водородные связи **параллельны** оси спирали и возникают между каждым первым и каждым пятым аминокислотными остатками. Образованию α -спирали препятствуют пролин и аминокислоты с объемными и заряженными радикалами.

2) β -структура. В фибриллярных белках две или более линейные полипептидные цепи, прочно связываются водородными связями, **перпендикулярными** оси молекулы (складчатый β -слой). Если межцепочечными водородными связями соединены две полипептидные цепи, идущие в одном направлении от N- к C-концу, то это параллельная β -структура. Если N- и C-концы цепей расположены противоположно, то это антипараллельная β -структура. Если одна полипептидная цепь изгибается и идет параллельно себе, то это антипараллельная β -кросс-структура. Места изгиба цепи определяются про, гли, асн – β -изгиб.



3) Неупорядоченная конформация. Участки белковой молекулы, которые не относятся к спиральным или складчатым структурам, называются неупорядоченными. При графическом изображении

спиральные участки изображают цилиндром, а складчатые структуры – стрелкой.

Третичная структура – конформация полипептидной цепи в целом (т.е. расположение в трехмерном пространстве). Третичную структуру стабилизируют связи и взаимодействия между радикалами аминокислотных остатков полипептидной цепи: ковалентная – дисульфидная связь, а также водородная, ионная связи и гидрофобное взаимодействие. Виды третичной структуры:

1) белки, в составе которых преобладают α -спирализованные участки, имеют форму глобулы (глобулярные белки) и выполняют динамические функции.

2) Белки, в составе которых преобладают структуры складчатого β -слоя, имеют нитевидную (фибриллярные белки) форму и выполняют структурные функции.

3) Особую структуру имеет коллаген – самый распространенный белок в мире животных (до 25% от всех белков организма). Молекула коллагена (тропоколлагена) построена из трех полипептидных цепей. Каждая полипептидная цепь содержит около 1000 аминокислотных остатков (35% – глицин, 21% – пролин и оксипролин, 11% – аланин). Каждая полипептидная цепь имеет конформацию плотной спирали (3 аминокислотных остатка на виток). В молекуле тропоколлагена все три спирали перевиты друг с другом, образуя жгут. Между спиралями за счет пептидных групп образуются водородные связи. Такое строение обеспечивает прочность коллагеновых волокон.

Нативная структура белка. Многие белки в третичной структуре имеют спирализованные, складчатые и неупорядоченные сегменты. При этом в функциональном и структурном отношениях важно взаимное расположение аминокислотных радикалов. Употребляют следующие термины: 1) домены – анатомически выделяемые участки третичной структуры белка, отвечающие за выполнение определенной функции белка. 2) Гидрофобные карманы – полости в третичной структуре, выстланные радикалами гидрофобных аминокислот; служат для погружения в молекулу белка гидрофобных лигандов. 3) Гидрофобные кластеры – участки поверхности белка, где сконцентрированы радикалы гидрофобных аминокислот; служат для взаимодействия с гидрофобными кластерами других молекул. Для выполнения функции белок должен иметь определенную (и часто единственную) третичную структуру (конформацию) – нативную структуру.

Денатурация белков – это разрушение третичной и частично вторичной структур путем разрыва дисульфидных и слабых нековалентных взаимодействий (водородных, ионных, гидрофобных), сопровождаемое потерей функции белка. Иными словами, денатурация – это потеря нативной структуры. При денатурации не разрываются пептидные связи, т.е. первичная структура сохраняется. Денатурацию белков вызывают любые

агенты, действующие на нековалентные взаимодействия. При этом белок выпадает в осадок, если теряются основные факторы устойчивости – заряд и гидратная оболочка. Если после удаления денатурирующего агента восстанавливается нативная структура белковой молекулы, то это называется ренатурация (ренативация). В пищеварительном тракте денатурация пищевых белков соляной кислотой приводит к доступности пептидных связей для ферментативного гидролиза первичной структуры (пепсин в желудке; трипсин; химо tripsин, карбоксипептидазы в 12-перстной кишке; дипептидазы, трипептидазы и аминопептидазы в тонком кишечнике).

Четвертичная структура белков – способ укладки в пространстве нескольких полипептидных цепей, обладающих первичной, вторичной и третичной структурами, с формированием единого макромолекулярного образования для выполнения определенной функции. Четвертичной структурой обладают белки с молекулярной массой более 50000 Да. Для обозначения используют следующие термины: 1) протомер – отдельная полипептидная цепь в третичной структуре; 2) субъединица – протомер или объединение нескольких протомеров, способных выполнять часть функции белка; 3) олигомер (мультимер) – сочетание протомеров или субъединиц в четвертичной структуре белка, несущих полную функциональную активность белка. Протомеры связаны в мультимерном белке слабыми связями (водородные, электростатические, гидрофобные взаимодействия) и не связаны ковалентными (пептидная, дисульфидная). При разрушении слабых связей, стабилизирующих четвертичную структуру, происходит: 1) разделение субъединиц и протомеров и 2) потеря функции белка.

Если убрать денатурирующий агент, то возможно восстановление слабых связей, а, следовательно, олигомерного белка и его функций.

Какое новое свойство придает белку наличие четвертичной структуры? Рассмотрим два белка, способных связывать кислород:

1) миоглобин, который имеет третичную структуру (глобулу), способен запасать кислород (связывание O_2 по гиперболической зависимости).

2) Гемоглобин, который имеет четвертичную структуру (4 субъединицы, каждая из которых напоминает глобулу миоглобина), способен как связываться, так и транспортировать O_2 (связывание O_2 по сигмоидной или S-образной зависимости – кооперативный эффект).

Миоглобин состоит из одной полипептидной цепи (153 остатка аминокислот) с молекулярной массой 17000 Да. По рентгеноструктурному анализу молекула миоглобина является компактной сферической молекулой размером 4,5·3,5·2,5 нм. Примерно 75% остатков аминокислот образуют 8 правых α -спиралей, содержащих от 7 до 20 остатков. Начиная с N-конца, спирали обозначают номером и буквой спирали. Плоскость гема своей неполярной частью (метильные, винильные группы) погружена в гидрофобный карман молекулы миоглобина. Среди гидрофобных аминокислотных остатков по обе стороны плоскости гема находится по одной

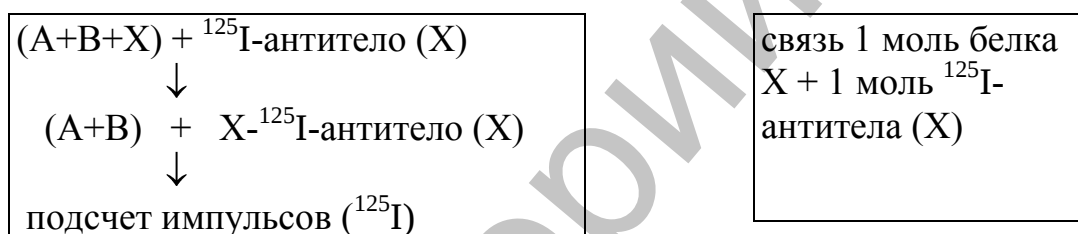
молекуле гистидина: проксимальный гис F8 и дистальный гис E7 (за счет сближения спиралей F и E в пространстве). Пятая координационная связь железа (Fe^{2+} , ферро) занята азотом проксимального гис F8. Шестая координационная связь (координационное положение) остается свободной и экранируется дистальным гис E7. В неоксигенированном миоглобине атом железа на 0,03 нм выступает из плоскости кольца в направлении гис F8. При связывании молекулы O_2 с шестой координационной связью железа (оксигенированный миоглобин) атом железа втягивается в плоскость гема и выступает из нее только на 0,01 нм. Таким образом, связывание O_2 с молекулой миоглобина ведет: 1) к перемещению атома железа и 2) перемещающийся атом железа будет изменять положение проксимального гис F8, а, следовательно, и конформацию α -спирали F и всей глобулы миоглобина. Для миоглобина (белок в третичной структуре) кривая связывания кислорода имеет форму гиперболы. Парциальное давление кислорода $p\text{O}_2$ в ткани, окружающей легочные капилляры, составляет 100 мм рт. ст. Поэтому миоглобин в легких мог бы весьма эффективно насыщаться кислородом. В венозной крови $p\text{O}_2$ равно 40 мм рт. ст., а в активно работающей мышце – около 20 мм рт. ст. Но даже при таком $p\text{O}_2$ степень насыщения миоглобина кислородом будет весьма высокой (около 80%) и поэтому миоглобин не может отдавать кислород тканям. Однако при кислородном голодании (тяжелая физическая работа) $p\text{O}_2$ уменьшается до 5 мм рт. ст. и миоглобин может отдавать связанный кислород.

Гемоглобин – олигомерный белок, который состоит из 4-х субъединиц. Например, Нв A_1 состоит из $\alpha_2\beta_2$. Субъединицы α и β в третичной структуре весьма напоминают молекулу миоглобина. Каждая субъединица гемоглобина может связать молекулу O_2 . При связывании первой молекулы O_2 происходит втягивание атома железа в плоскость гема. Это ведет к изменению положения проксимального гис F8 и конформации всей полипептидной цепи: поворот пары α/β на 15° . Такие изменения облегчают связывания второй молекулы O_2 . В итоге кривая связывания кислорода гемоглобина имеет S-образный вид. Такой тип зависимости определяется кооперативным (совместным) действием всех субъединиц в интересах всей молекулы гемоглобина. Наличие кооперативного эффекта дает гемоглобину новое свойство транспорта газов: при 100 мм рт. ст. (в легких) молекула гемоглобина полностью оксигенируется (получает 4 молекулы O_2). Ниже 80 мм рт. ст. молекула гемоглобина отдает O_2 . Например, при $p\text{O}_2=20$ мм рт. ст. гемоглобин насыщен примерно на 20% кислородом, а миоглобин на 82%. Т.е. очевидно, что оксигемоглобин будет отдавать O_2 , а миоглобин его связывать.

Количественное определение белков. Различают две группы методов: 1) определение количества белков в растворе на основе физико-химических свойств: биуретовый метод (основан на образовании окрашенного в фиолетовый цвет комплекса пептидных связей белка с ионами

двухвалентной меди в щелочной среде); рефрактометрический и нефелометрический методы; поглощение ультрафиолетового излучения (при 280 нм поглощают УФО остатки ароматических аминокислот; при 180-210 нм – пептидная связь и ряд конформационных факторов). 2) Количественное определение индивидуальных белков на основе их биологических свойств (радиоиммунный, иммуноферментные методы).

Задача: в биологической жидкости имеется смесь белков (A+B+X). Необходимо определить количество белка X. Здесь общее определение количества белка не годится. Для количественного определения индивидуального белка X в смеси белков предложен радиоиммунный метод. Рассмотрим его суть. Первый этап: приготовление реагента для определения – чистым препаратом белка X, полученным заблаговременно, иммунизируют животное. Против этого белка в организме животного образуются антитела. Их выделяют из крови и метят ^{125}I . Второй этап: анализируют смесь белков, добавляя к ним меченое антитело в избытке:



Меченное антитело связывает из-за специфического взаимодействия только белок X. Этот комплекс выделяют, подсчитывают радиоактивность и определяют количество метки. По количеству метки определяют количество антитела X, т.е. искомого белка. Метод весьма чувствителен, поскольку основан на специфичности белков, т.е. специфическом комплементарном взаимодействии индивидуальных белков.

Выделение индивидуального белка. Для выделения индивидуального белка из смеси белков с близкими физико-химическими свойствами используют: 1) различия по молекулярной массе (методы ультрацентрифугирования и гельхроматографии); 2) различия в заряде (методы электрофореза и ионообменной хроматографии); 3) способность белков к специфическим взаимодействиям (аффинная хроматография).

Разделение по молекулярной массе. 1) Ультрацентрифугирование позволяет получить в центрифужных пробирках, вращающихся со скоростью до 85000 об/мин ускорение силы тяжести 300000-500000 g, при этом белки с разной молекулярной массой будут двигаться ко дну пробирки с разной скоростью. На дно оседут самые тяжелые белки, затем средние и легкие. 2) Гель-фильтрация осуществляется с помощью молекулярных сит, например, сефадексов. Это нитевидные молекулы полисахарида декстрана, сшитые через определенные промежутки поперечными связями и свернутые в гранулы. В зависимости от размеров пор выпускают ряд марок сефадексов: G-200; G-100; G-75 и др.

Разделение по заряду. 1) Электрофорез. Белки, имеющие разное количество ионогенных радикалов в полипептидной цепи имеют в растворе разные заряды, а поэтому в электрическом поле будут двигаться с разной скоростью. Обычно используют электрофорез в полиакриламидном геле. Перспективен метод изоэлектрического фокусирования. 2) Ионообменная хроматография заключается в ионном обмене между полимером, заполнившим колонку, и заряженным белком, пропускаемым через колонку.

Разделение на основе специфического связывания. Аффинная хроматография, или хроматография по сродству. Метод основан на специфическом взаимодействии молекулы белка с определенным лигандом. Готовят матрицу, с которой сшивают соединение (лиганд), обратимо и специфично связывающийся с искомым белком. Затем через колонку пропускают смесь белков. С лигандом матрицы свяжется только искомый белок за счет специфического взаимодействия, а нейтральные белки будут удалены с растворителем. Затем не представляет труда снять этот белок. Для этого через колонку пропускают раствор с высокой концентрацией свободного лиганда. Часто используют вариант свободного лиганда, имеющего более высокое сродство к белку, чем у фиксированного на матрице лиганда. Метод используется для выделения ферментов.

ФЕРМЕНТЫ

Ферменты (энзимы) – биологические катализаторы белковой природы. Происхождение терминов: fermentatio (лат.) – брожение; enzyme (греч.) – в дрожжах. Открытие ферментов было связано с процессами, идущими с выделением газов (тесто, вино), а следовательно, это явление человек наблюдал и использовал тысячелетия.

Ферментативный катализ отличается от неорганического:

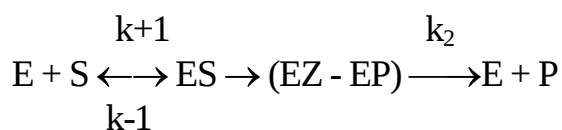
- 1) ферменты действуют в мягких условиях организма (P , t° , pH).
- 2) Белки-ферменты чувствительны к денатурирующим агентам.
- 3) Для действия ферментов характерна высокая эффективность.
- 4) Активность ферментов контролируется (генетически на уровне строения и различными биорегуляторами).
- 5) В организме, как правило, действуют полиферментные (т.е. поликаталитические) системы, в результате чего достигается многоэтапное направленное превращение вещества с допустимыми для организма уровнями перепада энергии. Например: в пробирке $H_2 + O_2 \rightarrow H_2O + \text{взрыв (гремучий газ)}$; в организме та же реакция, но за счет разбивания ее на фазы протекает без взрыва, а с запасанием энергии в виде АТФ.
- 6) Для действия ферментов характерна специфичность (четыре вида): а) абсолютная – фермент катализирует превращение строго определенного вещества (уреаза расщепляет только мочевины на CO_2 и NH_3); б) относительная – фермент катализирует превращения одного типа связей в

ряду близких по химическому строению веществ. Например, липаза катализирует разрыв сложноэфирных связей (независимо от типа радикала); в) групповая относительная (аналогичная пункту б)), но для разрыва связи важны образующие ее атомные группировки. Все протеолитические ферменты расщепляют пептидные связи, но пепсин, трипсин, химотрипсин расщепляют пептидные связи, образованные определенными аминокислотами; г) стереохимическая – фермент катализирует превращение только одного стереоизомера при наличии рацемата (L-оксидазы превращают L-аминокислоты, но не D-аминокислоты).

Строение ферментов. По строению ферменты бывают простыми и сложными белками. Для сложных белков-ферментов используют следующие обозначения: 1) апофермент – полипептидная часть молекулы фермента; 2) холофермент – прочный природный комплекс апофермента и небелковой части; 3) кофактор – небелковая часть сложного белка-фермента; 4) простетическая группа – прочно связанный с апоферментом кофактор (металлы, гем и др.); 5) кофермент – легко отделяемый кофактор от апофермента (например, диализом) (витамины, нуклеотиды и др.). Апофермент всегда синтезируется в организме, кофакторы (витамины, металлы и др.) должны поступать с пищей. Ферментативный катализ идет на поверхности фермента. Превращаемые вещества называются субстратами. Превращение субстрата происходит в области **активного центра**, который сформирован в третичной структуре большинства ферментов. У простых белков-ферментов активный центр образован сближенными в пространстве радикалами аминокислот первичной структуры. У сложных белков-ферментов здесь находятся кофакторы. В активном центре выделяют 2 части: якорная (радикалы аминокислот обеспечивают фиксацию субстрата) и каталитическая (радикалы аминокислот и (или) кофакторы обеспечивают катализ). У ряда регуляторных ферментов имеется еще один центр – **аллостерический**. Присоединение к этому центру низкомолекулярных веществ (эффлекторов) индуцирует изменение третичной структуры фермента, в том числе и в области активного центра. Это и ведет к изменению каталитической активности фермента. Белки-ферменты с четвертичной структурой могут катализировать одну и ту же реакцию, но несколько отличаться по строению (т.е. первичной структуре) субъединиц. Если это закреплено генетически, то мы говорим об **изоферментах**. Например, фермент лактатдегидрогеназа состоит из 4-х субъединиц 2-х типов Н и М, где возможны 5 вариантов, т.е. изоферментов.

Механизмы действия ферментов. 1) По Фишеру: субстрат подходит к ферменту (т.е. активному центру), как ключ к замку. 2) По Кошланду: субстрат изменяет конформацию активного центра фермента, делая ее комплементарной (индуцируемая адаптация фермента к субстрату; рука-перчатка).

1) Образование фермент-субстратного комплекса: $E + S \leftrightarrow ES$ быстрая стадия, соответствующая фиксации субстрата на якорном участке активного центра. Ферментативный катализ идет в 3 стадии:



Ускорение реакции достигается за счет сближения и правильной ориентации субстратов относительно друг друга и увеличения их эффективной концентрации (поскольку в растворе их столкновения случайны). 2) $ES \rightarrow EZ \rightarrow EP$. На стадии фермент-субстратного комплекса происходит химическая реакция через переходное состояние с образованием продукта реакции на поверхности фермента. Как правило, субстрат вступает во временные промежуточные реакции (взаимодействия) с определенными функциональными группами активного центра, в результате чего реакция требует более низкой энергии активации. 3) $EP \rightarrow E + P$. Продукт отделяется, а фермент в неизменном виде может вновь вступать в катализ.

Факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций.

1) Влияние концентрации субстрата. При увеличении концентрации субстрата и при постоянной концентрации фермента скорость реакции вначале увеличивается линейно (реакция первого порядка), затем переходит в реакцию смешенного порядка и, достигнув V_{max} , превращается в реакцию нулевого порядка.

По Михаэлису-Ментен скорость реакции описывается уравнением:

$$V = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_s + [S]} \quad \text{разделять на } [S] \quad \frac{V_{max}}{1 + \frac{K_s}{[S]}}, \text{ где } K_s = \frac{k-1}{k+1}$$

(константа диссоциации комплекса ES равна отношению констант скоростей обратной и прямой реакции).

Это уравнение описывает участок реакции первого порядка. Для описания всей кривой Бриггс и Холдейн модифицировали уравнение, где K_m – константа Михаэлиса (это такая концентрация субстрата, при которой

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

$V = 1/2 V_{max}$). Величина K_m определяется графически по

кривой зависимости V от $[S]$: по оси ординат откладывают $V_{max}/2$, опускают перпендикуляр на кривую и от точки пересечения опускают перпендикуляр на ось абсцисс. Отмеченный отрезок и есть K_m . Если K_m велика, то это означает, что потребуется много субстрата для достижения $V_{max}/2$ (сродство фермента к субстрату низкое, медленная скорость реакции).

Низкая величина K_m указывает, что для достижения половинной скорости требуется мало субстрата (высокое сродство, высокая скорость реакции).

Для точного измерения величин V_{max} и K_m используют график прямой,

построенный на основании модифицированного уравнения Михаэлиса-

Ментен (график Лайнуивера и Берка).
$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

2) Влияние концентрации фермента. При условии избытка субстрата скорость ферментативной реакции зависит от концентрации фермента. Эта зависимость подчиняется уравнению прямой: $V = k \cdot [E]$, где $[E]$ – концентрация фермента.

3) Влияние температуры. Скорость химической реакции повышается в 2-4 раза при повышении температуры на 10°C. Однако из-за белковой природы фермента повышение температуры приведет к тепловой денатурации молекул фермента. Поэтому оптимум температуры для ферментов растений при 45-50°C, а для ферментов теплокровных – ~37°C. Есть исключения: миокиназа мышц выдерживает температуру 100°C.

4) Влияние pH среды. Ферменты, подобно всем белковым молекулам, несут заряженные группы. Общий заряд белковой молекулы зависит от pH среды. Зависимость скорости ферментативной реакции от величины pH носит колоколообразный характер. Большинство ферментов проявляют максимальную активность в узком диапазоне pH – оптимум pH. Для большинства ферментов оптимум pH ~ 7,4; однако для пепсина – 1-1,5; для трипсина – 8,6.

5) Активаторы ферментов – это вещества: 1) формирующие активный центр фермента (Co^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Ca^{2+}); 2) облегчающие образование фермент-субстратного комплекса (Mg^{2+}); 3) восстанавливающие SH-группы (глутатион, цистеин, меркаптоэтанол); 4) стабилизирующие нативную структуру белка-фермента. Активируют ферментативные реакции обычно катионы (в таблице Менделеева – с 19 по 30). Анионы менее активны, хотя ионы хлора и анионы некоторых других галогенов могут активировать пепсин, амилазу, аденилатциклазу. Активаторами могут быть белки: апопротеин А-I (ЛХАТ), апопротеин С-II (ЛПЛ).

6. Ингибиторы ферментов – это соединения, которые взаимодействуя с ферментом, препятствуют образованию нормального фермент-субстратного комплекса, уменьшая тем самым скорость реакции или прекращая ее. Ингибиторы делятся на две группы: 1) **неспецифические**, вызывающие денатурацию белка-фермента (соли тяжелых металлов, кислоты, щелочи и др.). Их действие не связано с механизмами ферментативного катализа. 2) **Специфические**, действие которых связано с механизмами ферментативного катализа. По типу ингибирования различают необратимое и обратимое ингибирование. При **необратимом ингибировании** происходит непрерывная модификация молекул фермента, в результате чего фермент частично или полностью теряет свою активность. Сюда относят ингибиторы, которые прочно и необратимо связывают функциональные

группы **активного центра** или стойко изменяют валентность металла в активном центре: 1) ингибиторы металлосодержащих ферментов (HCN, KCN, CO, NaN_3) – дыхательные яды, т.к. стойко меняют валентность Fe и Cu, препятствуя переносу электронов; 2) вещества, связывающие SH-группы (монойодацетат, соединения ртути и мышьяка); 3) вещества, связывающие OH-группы серина в активном центре (фосфорорганические соединения, например, диизопропилфторфосфат).

Обратимое ингибирование поддается количественному изучению на основе кинетики Михаэлиса-Ментен. Обратимые ингибиторы делят на конкурентные и неконкурентные.

Конкурентный ингибитор – это молекула, настолько похожая по своей структуре на молекулу субстрата, что фермент не может различить их. В результате связывания конкурентного ингибитора с активным центром фермента падает концентрация истинных фермент-субстратных комплексов и скорость реакции. Ингибитор в продукт не превращается. Конкурентные ингибиторы увеличивают K_m реакции, но не влияют на $V_{\max}$. Роль ингибитора, поскольку он конкурирует с субстратом за активный центр, сводится фактически к «разбавлению» субстрата. Следовательно, для достижения скорости реакции, равной половине $V_{\max}$, требуется теперь большая концентрация субстрата. Так как путем увеличения количества субстрата можно нейтрализовать действие ингибитора, $V_{\max}$ не меняется.

Истинный субстрат	Антиметаболит
урацил	5-фторурацил
аденин	2-аминоаденин
пурин	6-меркаптопурин
ПАБК	сульфаниламид

Неконкурентный ингибитор – это молекула, связывающаяся не с активным центром фермента. Обратимые неконкурентные ингибиторы понижают $V_{\max}$, но поскольку ингибиторы этого типа не мешают связыванию субстрата с активным центром фермента, величина K_m не меняется. Механизм ингибирования состоит в снижении скорости, с которой субстрат в составе фермент-субстратного комплекса превращается в продукт. Поэтому при неконкурентном ингибировании уменьшается лишь величина $V_{\max}$.

Для реабилитационной практики важно представление об антиметаболитах, которые являются конкурентными ингибиторами природных субстратов (точнее, ферментов, превращающих эти субстраты). Сульфаниламидные препараты вытесняют парааминобензойную кислоту из фермент-субстратного комплекса, что тормозит образование фолиевой кислоты и подавляет жизнедеятельность бактерий.

Регуляция активности ферментов. Рассмотрим 5 наиболее важных путей регуляции:

1. **Активация профермента** путем отщепления части полипептидной цепи с образованием активного центра фермента. Этот путь характе-

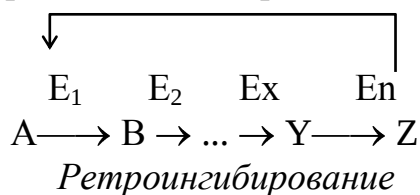
рен для агрессивных ферментов, например, протеиназ поджелудочной железы. Они вырабатываются в pancreas в виде неактивных проферментов, что исключает самопереваривание. Активация их происходит в кишечнике под действием активных протеиназ. Например, в pancreas вырабатываются химотрипсиноген (245 аминокислоты), в кишечнике под действием трипсина последовательно отщепляются 2 дипептида (сер¹⁴-арг¹⁵) и (три¹⁴⁷-асн¹⁴⁸) и образуются три полипептидные цепи, соединенные между собой пятью дисульфидными мостиками. Это меняет конформацию молекулы и формирует ее активный центр, в состав которого входит сер¹⁹⁵, гис⁵⁷ и асп¹⁰².

2. Химическая модификация – это ковалентное присоединение или отщепление от фермента небольшой химической группы, регулирующей его активность. С помощью таких модификаций обычно неактивная форма фермента становится активной, либо полностью активный фермент инактивируется. Например, гликогенсинтаза из клеток млекопитающих превращает глюкозу в гликоген. Она инактивируется после ковалентного присоединения фосфатной группы к боковой цепи одного из сериновых остатков и снова активируется при отщеплении фосфата. Так как присоединение и отщепление Рн происходит разными способами и катализируется двумя разными ферментами, то процесс обратим не в химическом, а в функциональном смысле.

3. Кооперативные эффекты характерны для **мультимерных** белков, в том числе и для ферментов. Если имеет место кооперативный эффект, то кинетические свойства фермента уже не описываются уравнением Михаэлиса-Ментен, а график – S-образная кривая, а не гипербола.

4. Аллостерическая регуляция представляет собой механизм, когда эффекторы связываются с ферментом в области аллостерического центра (сравните действие неконкурентных ингибиторов, действующих вне зоны активного центра). Подобная регуляция может быть **гомotropной**, когда молекула субстрата, взаимодействуя с ферментом, изменяет его сродство к молекулам того же субстрата; **гетеротропной**, когда сродство к субстрату изменяется при взаимодействии фермента с молекулой, не похожей на субстрат. Гомотропные и гетеротропные эффекторы могут быть активаторами и ингибиторами.

5. Регуляция по типу обратной связи. Ингибирование по типу отрицательной обратной связи характерно для ферментных систем, в которых субстрат претерпевает несколько последовательных превращений. При этом каждая реакция катализируется своим ферментом.



Ингибирование имеет место, если конечный продукт Z блокирует одну из первых реакций. Продукт должен быть похож на первый субстрат (действует как конкурентный ингибитор, растет Km), ли-

бо связываться вне зоны активного центра первого фермента (действует как неконкурентный ингибитор, падает V_{max}).

Аллостерическая активация (активация предшественником). Накопление субстрата стимулирует его распад (часто по типу положительного кооперативного эффекта на уровне первого или последнего ферментов).

Определение ферментов при реабилитации.

1. Энзимодиагностика – исследование ферментов в биологических средах организма с диагностической целью. Условно выделяют четыре группы **индикаторных** ферментов:

1. Ферменты, широко представленные в различных органах и тканях. Это ферменты основных метаболических процессов, без которых жизнь клетки невозможна (обмен белков, углеводов, липидов). При повреждении мембран клеток и гистогематических барьеров эти ферменты появляются в крови или повышается их количество. Определение повышенного количества этих ферментов в крови не позволяет локализовать патологический процесс.

2. Органоспецифические ферменты преимущественно локализованы в определенных органах. Как правило, эти ферменты катализируют реакции, обеспечивающие специфические функции органа. В клетках других органов этих ферментов нет или находят следы. Выход органоспецифических ферментов в кровь сигнализирует о поражении определенного органа.

3. Изоферменты – группа или семейство ферментов, катализирующих одну и ту же реакцию, но из-за разного субъединичного строения отличающихся по ряду физико-химических свойств. Например, лактатдегидрогеназа в сыворотке крови представлена пятью изоформами, каждая из которых состоит из 4-х субъединиц двух типов Н-тип (or heart – сердце) и М-тип (or muscle – мускулы). Возможны 5 сочетаний: НННН; НННМ; ННММ; НМММ; ММММ. Поскольку Н-протомеры несут больший отрицательный заряд в щелочной среде, чем М-протомеры, можно изоферменты разделить в электрическом поле методом электрофореза. ЛДГ₁ (НННН) характерна для сердечно-сосудистой мышцы, а ЛДГ₅ (ММММ) – для мышц скелета и печени. Отсюда следует диагностическое значение определения изоферментов.

4. Ферменты, локализованные в органеллах клеток (окислительно-восстановительные в митохондриях; кислые гидролазы в лизосомах и др.), выходя в кровь, сигнализируют о глубоком поражении клетки.

2. Наследственные энзимопатии. Ряд пороков обмена веществ является результатом наследственного дефицита определенных ферментов. В этом случае диагноз ставится, главным образом, на основе исследования показателей обмена этих ферментативных реакций (биохимический диагноз).

3. Энзимотерапия – использование ферментов и метаболитов в качестве лечебных средств: 1) заместительная терапия – желудочный сок, пепсин и др.; 2) очистка ран, воздействие на избыточно разрастающуюся соединитель-

ную ткань (гиалуронидаза, протеиназы, нуклеазы и др.); 3) использование регуляторов (активаторов и ингибиторов) ферментов, например, ингибиторов моноаминоксидазы при нервных и психических заболеваниях (трасилола, трипсина и др.); 4) иммобилизованные ферменты – это ферменты, связанные с твердым носителем или спрятанные в полимерную капсулу. При введении в кровь такие ферменты не разрушаются, а, накопившись в патологическом очаге (например, у тромба), оказывают эффект. Наиболее эффективны капсулы из липидов – липосомы. Ферменты внутри липосом транспортируются через клеточные мембраны и оказывают действие в клетке (лечебно-профилактические кремы).

Классификация ферментов. Ранее ферменты назывались по наименованию субстрата с добавлением -аза (amylon – амилаза, lipos – липаза, protein – протеиназа). Позже, ферменты, катализирующие сходные реакции, получили название по типу реакции: дегидрогеназы, оксидазы, декарбоксилазы и др. Международный Совет Биохимиков (IUB) предложил положить в основу наименования и классификации ферментов тип химической реакции и ее механизм:

1. Реакции и ферменты, их катализирующие, делятся на 6 классов, каждый из которых состоит из 4-13 подклассов: оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы, лигазы (синтетазы).

2. Наименование фермента имеет 2 части. Первая – наименование субстрата или субстратов. Вторая, оканчивающаяся на -аза, показывает тип катализируемой реакции.

3. Дополнительная информация, например, малатдегидрогеназа (декарбоксилирующая): $L\text{-малат} + \text{НАД}^+ \rightarrow \text{пируват} + \text{CO}_2 + \text{НАДН} + \text{H}^+$.

4. Каждый фермент по классификации ферментов (КФ, ЕС) обозначается четырьмя цифрами: 1-класс, 2-подкласс, 3-подподкласс, 4-номер фермента в списке. Так, КФ 2.7.1.1. означает: класс 2 – трансферазы; подкласс 7 – перенос фосфата; подподкласс 1 – алкогольная группа – акцептор фосфата. Конечное название – гексокиназа, или АТФ:D-гексоза-6-фосфотрансфераза, фермент, катализирующий перенос фосфата с АТФ на гидроксильную группу у 6 углеродного атома глюкозы.

Единицы измерения активности и количества ферментов. Для выражения концентрации фермента рекомендуется стандартная единица (Е). 1. За единицу любого фермента принимается то количество его, которое в оптимальных условиях катализирует превращение 1 мкмоль субстрата в минуту (мкмоль/мин). Для выражения активности фермента пользуются удельной и молекулярной активностями. 2. Удельную активность фермента принято выражать числом единиц ферментативной активности на 1 мг белка. 3. Число молекул субстрата, подвергающихся превращению одной молекулой фермента в минуту, принято называть числом оборотов или молекулярной активностью. 4. Предложено новое определение международной единицы фермента – катал (кат), соответствующее количеству

фермента, способному вызывать превращение 1 моль субстрата в продукт в 1 сек. (1 моль/с). 1 Е = 16,67 нкат. Удельная активность кат/кг активного белка. Рекомендуется проведение измерений единиц фермента при 25°C, оптимуме рН и концентрации субстрата, превышающей концентрацию насыщения. В этом случае скорость соответствует нулевому порядку реакции в отношении субстрата и будет зависеть только от концентрации фермента.

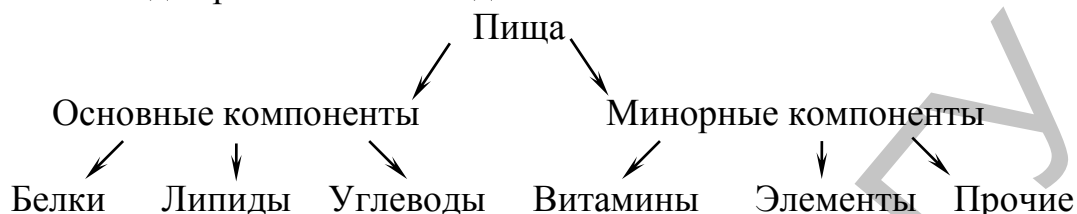
Катаболизм и анаболизм. Основные конечные продукты метаболизма. В наиболее употребительном значении термин «метаболизм» равнозначен «обмену веществ». В точном смысле «метаболизм» означает промежуточный обмен, т.е. превращение веществ внутри клеток с момента их поступления до образования конечных продуктов. Метаболизм складывается из двух фаз – катаболизма и анаболизма.

Катаболизм – это ферментативное расщепление крупных пищевых или депонированных молекул до более мелких с выделением энергии и запасанием ее в виде макроэргических соединений. Катаболизм идет в 3 стадии. Первая стадия – полимеры превращаются в мономеры (крахмал и гликоген – в глюкозу, белки – в аминокислоты, триацилглицерины – в жирные кислоты и др.). Вторая стадия (специфические пути катаболизма) – мономеры превращаются в общие продукты, чаще всего, в ацетил-КоА. Третья стадия (общий путь катаболизма) – окисление ацетил-КоА до CO_2 и H_2O в реакциях цикла трикарбоновых кислот. Окислительные реакции общего пути катаболизма (ЦТК) сопряжены с цепями переноса электронов. При этом энергия (~ 40%) запасается в макроэргических связях АТФ (НАДФН).

Анаболизм – ферментативный синтез крупных полимерных молекул из простых предшественников с затратой энергии. Идет в 3 стадии, причем третья стадия катаболизма является первой стадией анаболизма. Анаболизм и катаболизм не являются простым обращением реакций. Анаболические пути должны отличаться от путей катаболизма хотя бы одной из ферментативных реакций, чтобы регулироваться независимо. Например, специфический путь распада глюкозы до лактата (гликолиз) включает 11 реакций; синтез глюкозы из лактата включает 8 обратимых реакций распада глюкозы и 3 дополнительных реакции с новым набором ферментов. Именно на этих стадиях за счет регуляции активности ферментов регулируются суммарные скорости распада и синтеза глюкозы. Кроме того, реакции катаболизма и анаболизма часто разделены мембранами и протекают в разных отсеках (компартаментах) клеток. Например, распад жирных кислот идет в митохондриях, а их синтез в цитозоле. Конечные продукты метаболизма: H_2O , CO_2 , NH_3 .

ПИЩЕВАРЕНИЕ

Введение в биохимию пищеварения. Состав пищи человека. Человек является гетеротрофом, т.е. получает питательные вещества и энергию извне в виде органических соединений.



Незаменимые аминокислоты (лей, илей, лиз, мет, фен, три, тре, вал; для детей – арг, гис) определяют биологическую ценность белка. Полный набор аминокислот характерен для животных белков. Незаменимыми являются жирные кислоты с двумя и более ненасыщенными связями (линолевая, линоленовая, арахидоновая). Они содержатся в растительных маслах. Незаменимы витамины. Исключения: потребность в холине удовлетворяется при поступлении метионина; ниацина-(РР) - триптофана пищи; витамин D образуется в коже при действии УФЛ. Необходимо поступление ряда элементов. Так при недостатке в пище и воде I и F возникают региональные патологии.

Основные компоненты

	Белки	Жиры	Углеводы	Витамины, элементы
Энергетическая ценность	100 г 1г = 4,1 ккал (17,1 кДж)	100 г 1 г масла = 9,3 ккал (39,0 кДж)	400 г 1г = 4,1 ккал (17,1 кДж) 1 г спирта = 7,1 ккал (29,7 кДж)	
Биологическая ценность	50% животные белки, т.к. в них есть незаменимые аминокислоты	25% растительные масла, т.к. в них есть полиненасыщенные жирные кислоты	Клетчатка (30 г/сутки)	Витамины, элементы (F, I и др.)

Выделяют следующие основные принципы питания спортсменов (по В.А.Рогозкину):

- снабжение организма необходимым количеством энергии, соответствующим ее расходу в процессе выполнения физических нагрузок.
- соблюдение сбалансированности питания применительно к определенным видам спорта и интенсивности физических нагрузок.

- Выбор адекватных форм питания (продуктов, пищевых веществ и их комбинаций) в период интенсивных и длительных нагрузок, непосредственной подготовки к соревнованиям, самих соревнований и последующего восстановления.

- Использование пищевых веществ для активации и регуляции внутриклеточных метаболических процессов в различных органах и тканях.

- Создание с помощью пищевых веществ необходимого метаболического фонда для биосинтеза и реализации действия гормонов, регулирующих ключевые реакции метаболизма.

- Разнообразие пищи за счет использования широкого ассортимента продуктов и применения разных приемов их кулинарной обработки для оптимального обеспечения организма всеми необходимыми пищевыми веществами.

- Включение в рационы биологически полноценных и быстропереваривающихся продуктов и блюд, не обременяющих пищеварительный тракт.

- Использование пищевых факторов для повышения скорости наращивания мышечной массы и увеличения силы, а также для регулирования массы тела в зависимости от весовой категории спортсмена.

- Индивидуализация питания в зависимости от антропометрических, физиологических и метаболических характеристик спортсмена, состояния его пищеварительной системы, личных вкусов и привычек.

В основе построения суточного рациона питания спортсменов лежит формула сбалансированного питания (по А.А.Покровскому).

Пищевые вещества	Дневная потребность	Пищевые вещества	Дневная потребность
Вода, в том числе:	1750-2200 г	фосфолипиды	5 г
питьевая (вода, чай, кофе)	800-1000 г	Минеральные вещества:	
в супах	250-500 г	кальций	800-1000 мг
в продуктах питания	700 г	фосфор	1000-1500 мг
Белки, в том числе:	80-100 г	натрий	4000-6000 мг
животные	50 г	калий	2500-5000 мг
Незаменимые аминокислоты:		хлориды	5000-7000 мг
триптофан	1 г	магний	300-500 мг
лейцин	4-6 г	железо	15 мг
изолейцин	3-4 г	цинк	10-16 мг
валин	3-4 г	марганец	5-10 мг
треонин	2-3 г	хром	0,02-0,5 мг
лизин	3-5 г	медь	2 мг
метионин	2-4 г	кобальт	0,1-0,2 мг
фенилаланин	2-4 г	молибден	0,5 мг
Заменимые аминокислоты:		селен	0,5 мг
гистидин	1,5-2 г	фториды	0,5-1,0 мг
аргинин	5-6 г	йодиды	0,1-0,2 мг
цистеин	2-3 г	Витамины:	
тирозин	3-4 г	С	50-70 мг
аланин	3 г	В ₁	1,5-2,0 мг
серин	3 г	В ₂	2,0-2,5
глутаминовая кислота	16 г	В ₅	12-25 мг

Пищевые вещества	Дневная потребность	Пищевые вещества	Дневная потребность
аспарагиновая кислота	6 г	В ₃	5-10 мг
пролин	5 г	В ₆	2-3 мг
глицин	3 г	В ₁₂	0,002-0,005 мг
Углеводы, в том числе:	400-500 г	биотин (Н)	0,12-0,30 мг
крахмал	400-450 г	холин	500-1000 мг
сахар	50-100 г	D	0,0025-0,01 мг
Органические кислоты	2 г	A	1,5-2,5 мг
клетчатка	25-30 г	E	10-20 мг
Жиры, в том числе:	80-100 г	K	1-3 мг
растительные	20-25 г	липоевая кислота	0,5 мг
Линолевая, линоленовая жирные кислоты	2-6 г	инозит	0,5-1,0 мг
холестерин	0,3-0,6 г	Общая калорийность	3000 ккал 12540 кДж

Регуляция пищеварения. Осуществляется рефлекторно. На молекулярном уровне регуляция осуществляется гормоноподобными веществами, которые вырабатываются в одних отделах, а действуют через кровь на другие отделы. Выделение регуляторов происходит под действием пищи и определяется ее составом. При поступлении пищи в желудок выделяются гистамин и гастрин, которые обеспечивают секрецию HCl и пепсиногена. Место образования – слизистая желудка; место действия – обкладочные и главные клетки желудка (клетки-мишени). Переход желудочного содержимого в двенадцатиперстную кишку служит сигналом к выделению энтерогастролина. Место образования – слизистая двенадцатиперстной кишки; место действия – слизистая желудка. Тормозит секрецию HCl и пепсиногена в желудке. Поступление пищи в кишечник (кислый химус) способствует выделению комплекса регуляторов из слизистой кишечника: секретин действует на поджелудочную железу и стимулирует выделение жидкой части панкреатического сока, богатого бикарбонатами, H₂O, но не ферментами; стимулирует желчеобразование в печени; холецистокинин (панкреозимин) действует на поджелудочную железу и желчный пузырь. Стимулирует выделение панкреатического сока, богатого ферментами, и сокращение желчного пузыря; химодинин действует на поджелудочную железу. Стимулирует секрецию белков и особенно резко химотрипсина, но не других ферментов; энтерокринин действует на слизистую кишечника и стимулирует секрецию желез кишечника; вилликинин действует на ворсинки слизистой кишечника и стимулирует движение ворсинок кишечника (и тем самым продвижение пищи). Таким образом достигается последовательная регуляция пищеварения по отделам пищеварительного тракта.

Всасывание продуктов пищеварения. Всасывание продуктов переваривания и компонентов пищи в желудке незначительно (за исключением

этанола). Более 90% продуктов переваривания всасывается в тонком кишечнике. Большая часть воды всасывается в толстом кишечнике. Механизмы трансмембранного переноса веществ в кишечнике зависят от растворимости их и градиента концентрации. Водонерастворимые продукты переваривания жиров переносятся через клеточные мембраны эпителия кишечника в составе мицелл. Водорастворимые – с помощью специальных транспортных систем, о которых пойдет речь в специальных разделах курса. Существует два пути поступления продуктов переваривания пищи во внутреннюю среду организма: водорастворимые компоненты поступают в печеночную портальную систему и в печень; жирорастворимые вещества поступают в лимфатические сосуды и затем в кровь через грудной лимфатический проток.

Питание и работоспособность. Потребность спортсмена в энергии и пищевых веществах зависит от вида спорта и объема выполняемой работы, а также от уровня спортивного мастерства, эмоционального состояния и особенностей личности. Примерная шкала суточных энерготрат в зависимости от вида спорта: 1) малые физические нагрузки (шахматы) 2800-3200 ккал для мужчин и 2600-3000 ккал для женщин; 2) кратковременные, но интенсивные физические нагрузки (акробатика, гимнастика, фигурное катание, тяжелая атлетика и др.) для мужчин 3500-4000 ккал и для женщин 3000-4000 ккал; 3) интенсивные нагрузки средней продолжительности (бег на 400 м и 1500 м, бокс, борьба, плавание, многоборье, спортивные игры) для мужчин 4500-5500 ккал, для женщин 4000-5000 ккал; 4) длительная интенсивная нагрузка (бег на 10000 м, марафон, велогонки на шоссе, гребля, лыжные гонки, конькобежный спорт) для мужчин 5500-6500 ккал, для женщин 6000 ккал в сутки (для перевода ккал в кДж следует $\times 4,18$). Согласно формуле сбалансированного питания спортсмена соотношение белки:жиры:углеводы = 14:30:56. При калорийности рациона 4000 ккал на долю белков должно приходиться 137 г (560 ккал), на долю жиров 130 г (1200 ккал) и на долю углеводов – 546 г (2240 ккал). В зависимости от вида спорта суточная потребность составляет: для белков 1,5-2,8 г/кг массы тела, полиненасыщенных жирных кислот 1,7-2,4 г/кг, углеводах 8,3-14,3 г/кг; на каждые 1000 ккал требуется витамина С – 35 мг, В₁ и В₂ – 0,8 мг, Е – 5 мг, железа 7-8 мг (витамин С улучшает всасывание железа).

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН

Аккумуляторы энергии в организме, макроэргические соединения.

В ходе экзергонических реакций (например, окислительных) выделяется энергия. Примерно 50% ее запасается в специальных аккумуляторах. Выделяют 3 основных аккумулятора энергии:

1. Внутренняя мембрана митохондрий – это промежуточный аккумулятор энергии при получении АТФ. За счет энергии окисления веществ происходит выталкивание протонов из матрикса в межмембранное пространство митохондрий. В результате создается электрохимический потенциал. При разрядке мембраны энергия электрохимического потенциала трансформируется в энергию АТФ: $E_{\text{ОКИСЛ.}} \rightarrow E_{\text{ЭХП}} \rightarrow E_{\text{АТФ}}$. Для реализации этого механизма внутренняя мембрана митохондрий содержит ферментативную цепь переноса электронов на кислород и аденозинтрифосфатазу (протонзависимую синтазу АТФ).

2. АТФ и другие макроэргические соединения. Материальным носителем свободной энергии в органических веществах являются химические связи между атомами. Обычным энергетическим уровнем возникновения или распада химической связи является $\sim 12,5$ кДж/моль. Однако имеется ряд молекул, при гидролизе ангидридных и сложноэфирных связей которых выделяется более 21 кДж/моль энергии: центральное место в энергетическом обмене занимает цикл $\text{АТФ} \leftrightarrow \text{АДФ} + \text{P}_n$. АТФ – универсальный аккумулятор энергии. В клетках теплокровных АТФ возникает двумя путями:

1) аккумулирует энергию более энергоемких соединений, стоящих выше АТФ в термодинамической шкале без участия O_2 – **субстратное фосфорилирование**: $\text{S} \sim \text{P} + \text{АДФ} \rightarrow \text{S} + \text{АТФ}$;

2) аккумулирует энергию электрохимического потенциала при разрядке внутренней мембраны митохондрии – **окислительное фосфорилирование** ($E_{\text{ОКИСЛ.}} \rightarrow E_{\text{ЭХП}} \rightarrow E_{\text{АТФ}}$). В клетке АТФ выполняет свою биологическую роль в виде комплекса с ионами Mg^{2+} или Mn^{2+} . Это повышает энергию гидролиза макроэргической связи АТФ до 52,5 кДж/моль. АТФ – универсальный источник энергии для совершения основных видов работы клетки. Высвобождение энергии идет двумя путями: 1) $\text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{АДФ} + \text{P}_n + \text{H}^+$ ($-\Delta G = -30,2$ кДж/моль); 2) $\text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{АМФ} + \text{PP}_n + \text{H}^+$ ($-\Delta G = -30,2$ кДж/моль). Во время интенсивных упражнений скорость использования АТФ может достигать 0,5 кг/мин. Если ферментативная реакция термодинамически невыгодна, то она может осуществиться при сопряжении с реакцией гидролиза АТФ. Гидролиз молекулы АТФ изменяет равновесное отношение субстратов и продуктов в сопряженной реакции в 10^8 раз. К макроэргическим соединениям относят также нуклеозидтрифосфаты, которые обеспечивают энергией ряд биосинтезов: УТФ – углеводов; ЦТФ – липидов; ГТФ – белков. В биоэнергетике мышц важное место занимает креатинфосфат.

3. $\text{НАДФН} + \text{H}^+$ (НАДФН_2) – никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный. Это специальный аккумулятор с высокой энергией, который используется в клетке (цитозоль) для биосинтезов. $\text{R-CH}_3 + \text{НАДФН}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{R-CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} + \text{НАДФ}^+$ (здесь показано введение ОН-группы в молекулу).

Строение митохондрий.

1. Внешняя мембрана МХ отграничивает внутреннее пространство; проницаема для O_2 и ряда низкомолекулярных веществ. Содержит ферменты метаболизма липидов и моноаминов.

2. Межмембранное пространство содержит аденилаткиназу ($АТФ + АМФ \leftrightarrow 2 АДФ$) и ферменты фосфорилирования АДФ, не связанные с дыхательными цепями.

3. Внутренняя мембрана: 20-25% от всех белков составляют ферменты цепей переноса протонов и электронов и окислительного фосфорилирования. Проницаема лишь для малых молекул (O_2 , мочевины) и содержит специфические трансмембранные переносчики.

4. Матрикс содержит ферменты цикла трикарбоновых кислот, β -окисления жирных кислот (основные поставщики субстратов окисления). Здесь находят ферменты автономного митохондриального синтеза ДНК, РНК, белков и др.

Пути потребления кислорода (биологическое окисление). Вещество окисляется, если теряет электроны или одновременно электроны и протоны (водородные атомы, дегидрирование) или присоединяет кислород. Противоположные превращения – восстановление. Способность молекул отдавать электроны другой молекуле определяется окислительно-восстановительным потенциалом (редокс-потенциалом). Редокс-потенциал определяют путем измерения электродвижущей силы в вольтах. В качестве стандарта принят редокс-потенциал реакции: $H_2 \leftrightarrow 2H^+ + 2e^-$, ОВП = - 0,42В. Чем меньше потенциал окислительно-восстановительной системы, тем легче она отдает электроны и в большей степени является восстановителем. Чем выше потенциал системы, тем сильнее выражены ее окислительные свойства, т.е. способность принимать электроны присуща только молекулам с более высоким редокс-потенциалом. Это правило лежит в основе последовательности расположения промежуточных переносчиков электронов от водородов субстратов до кислорода.

Типы окисляемых субстратов. Субстраты окисления – это молекулы, которые при окислении дегидрируются (теряют 2 H). Различают 3 вида субстратов:

1. Субстраты I рода (углеводородные) – сукцинат, ацил-КоА. Средняя энергия отщепления пары e^- около 150 кДж/моль. Это меньше, чем энергия e^- в НАДН, поэтому НАДН не может участвовать в дегидрировании этих субстратов.

2. Субстраты II рода (спиртовые). При их дегидрировании возникают кетоны. Средняя энергия отщепления пары e^- около 200 кДж/моль, поэтому НАД может участвовать в дегидрировании субстратов II рода.

3. Субстраты III рода (альдегидные). Энергия отщепления пары e^- около 250 кДж/моль. Дегидрогеназы субстратов III рода часто содержат

несколько коферментов. При этом часть энергии запасается до цепи переноса электронов.

В зависимости от типа субстрата окисления (т.е. от энергии отщепления пары e^-) выделяют полную и укороченную дыхательные цепи (цепи переноса электронов, ЦПЭ). ЦПЭ – это универсальный конвейер по переносу протонов и электронов от субстратов окисления к кислороду. В полную ЦПЭ вступают субстраты II и III рода; в укороченную – I рода. ЦПЭ встроены во внутреннюю мембрану митохондрий.

Полная дыхательная цепь (ЦПЭ).

1) Субстраты II и III родов передают протоны и электроны (т.е. дегидрируются) на кофермент НАД пиридинзависимых дегидрогеназ. Эти ферменты локализованы в матриксе митохондрий. Их специфичность определяет апофермент. Кофермент НАД не связан прочно с дегидрогеназой и после реакции дегидрирования субстрата свободно диффундирует к внутренней мембране митохондрий. 2) НАДН-дегидрогеназа локализована во внутренней мембране митохондрий (пересекает ее поперек). Имеет две простетические группы – ФМН и FeS-белки. В переносе двух атомов водорода участвует 6,7-диметилизоаллоксазин (1 и 10 атомы N) ФМН. Далее FeS-белки забирают $2e^-$, а оставшиеся $2H^+$ выталкиваются в межмембранное пространство и «ждут» момента, когда $2e^-$ зарядят атом кислорода отрицательно, иными словами, на стадии НАДН-дегидрогеназы разделяются потоки протонов и электронов. 3) Два e^- передаются убихинону (КоQ). В тканях человека присутствует КоQ₁₀, т.к. имеет боковую цепь из 10 изопреновых единиц. КоQ может передвигаться в липидной фазе мембраны и передавать $1e^-$ или $2e^-$ на цепи цитохромов. До КоQ был двухэлектронный перенос; после КоQ – одноэлектронный. 4) Каждая молекула восстановленного КоQ передает электрон на цепь цитохромов. (Следовательно, далее должны участвовать по 2 цепи цитохромов). Цитохромы располагаются в соответствии с их редокс-потенциалом.

Цитохромы – это гемсодержащие ферменты. В качестве простетической группы содержат гем и гемоподобные структуры. Гем – производные протопорфирина IX. Гем гемоглобина и гем цитохрома *b* совпадают по строению. При переносе электрона валентность атома железа меняется: $Fe^{3+} \leftrightarrow Fe^{2+}$. К 6-й координационной связи железа цитохрома *a* может присоединиться HCN, H₂S, CO. При этом валентность железа (Fe^{3+}) становится постоянной и поток электронов прекращается. Это механизм действия дыхательных ядов. Комплекс цитохромов *a*+*a*₃ называют цитохромоксидазой (6 субъединиц, из них 2 – цит. *a* и 4 – цит. *a*₃). В цитохроме *a*₃ имеются атомы Cu. Электроны принимаются субъединицами цитохрома *a*, и передаются цитохрому *a*₃, который передает их на кислород. Этот перенос сопровождается сменой валентности меди $Cu^{2+} \leftrightarrow Cu^{1+}$. Атом кислорода заряжается отрицательно и приобретает способность взаимодействовать с протонами и образовывать H₂O.

Неполная (укороченная) дыхательная цепь (ЦПЭ):

Начинается от субстратов I рода и их дегидрирование происходит с помощью связанного с внутренней мембраной митохондрий ФАД-содержащего фермента. Простетические группы ФАД и FeS. ФАД присоединяет два атома H от субстрата. Затем FeS-белки забирают $2e^-$, а 2 протона выталкиваются в матрикс, далее электроны передаются на кислород, как и в полной ЦПЭ.

Итак, отличие полной ЦПЭ от укороченной ЦПЭ: 1) субстраты полной ЦПЭ – II и III рода, укороченной – I рода; 2) в укороченной ЦПЭ нет пиридинзависимых дегидрогеназ.

Определение окислительного фосфорилирования. Синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата, сопряженный с переносом протонов и электронов по дыхательной цепи от субстратов к кислороду, называется окислительным фосфорилированием. Для количественного выражения окислительного фосфорилирования введен коэффициент окислительного фосфорилирования. Он представляет собой отношение числа молекул неорганического фосфата, перешедших в состав АТФ в процессе дыхания, на каждый поглощенный атом кислорода. Отношение P/O для полной дыхательной цепи равно 3, для укороченной – 2. Энергия окисления, достаточная для образования молекулы АТФ выделяется в ЦПЭ в следующих стадиях: 1) НАД - ФМН (НАДН-дегидрогеназа); 2) цит *b* - цит *c* (QH_2 - цитохром *c* редуктаза); 3) цит *a* - $1/2 O_2$ (цитохром *c*-оксидаза). На этих стадиях изменения ОВП превышают 0,22 В, что достаточно для образования макроэргической связи АТФ (>30,2 кДж/моль). Уменьшение свободной энергии, сопровождающее перенос протонов и электронов на кислород в результате одного дегидрирования, составляет примерно 220 кДж/моль. При этом на синтез АТФ в полной дыхательной цепи может быть израсходовано $30,2 \cdot 3 = 90,6$ кДж/моль. Отсюда КПД ЦПЭ около 40%. Остальная энергия рассеивается в виде тепла.

Механизм окислительного фосфорилирования. Хемииосмотическая гипотеза Митчела (1961). По этой гипотезе дыхание и фосфорилирование связаны между собой электрохимическим потенциалом (ЭХП) на внутренней мембране митохондрий. Для понимания этой гипотезы необходимы следующие понятия: а) внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для H^+ и OH^- ; б) во внутреннюю мембрану митохондрий вмонтирована аденозинтрифосфатаза, катализирующая обратимую реакцию: $АТФ + H_2O \leftrightarrow АДФ + H_3PO_4$. АТФаза состоит из следующих субъединиц: F_0 – гидрофобный сегмент из 4-х полипептидных цепей, связанный с внутренней мембраной митохондрий; F_0 – это протонный канал, по которому в норме только могут перемещаться протоны через мембрану; F_1 – сопрягающий фактор, катализирующий синтез АТФ при перемещении протонов ($1 АТФ$ на $2H^+$). В укороченной цепи переноса электронов отсутствует только первый этап, остальной перенос электронов такой же, как и в полной цепи; в) синтез АТФ осуществляется при перемещении протонов че-

рез АТФ-азу в направлении от ММП (межмембранное пространство) к матриксу.

Суть гипотезы: за счет энергии переноса электронов в ЦПЭ ($E_{\text{ОКИСЛЕНИЯ}}$) происходит движение протонов через мембрану в ММП и создается электрохимический потенциал ($E_{\text{ЭХП}}$). При возвращении протонов назад через АТФазу энергия ЭХП трансформируется в энергию АТФ – $E_{\text{АТФ}}$. Итак: $E_{\text{ОКИСЛ.}} \rightarrow E_{\text{ЭХП}} \rightarrow E_{\text{АТФ}}$. В полной ЦПЭ на стадии НАДН-дегидрогеназы 2H^+ от ФМНН₂ переносятся в ММП. На этапах $b \rightarrow c_1$ и $a \rightarrow a_3$ (цитохромоксидаза) в ММП из матрикса переносятся еще две пары протонов. Протоны берутся из H_2O матрикса или за счет конформационных изменений в ферментах. Со стороны матрикса будет преобладать отрицательный заряд (избыток OH^-), а со стороны ММП положительный (за счет H^+). Возникает ЭХП, который состоит из двух компонентов: осмотического (разности концентраций ионов H^+) и электрического (разности электрических потенциалов): $\mu\text{H}^+ = \Delta\phi + \Delta p\text{H}$. Эта величина измерена, она равна $\sim 0,25$ В. При обратном токе 6-ти протонов через канал АТФ-азы возникает 3 молекулы АТФ. В укороченной ЦПЭ: в ММП выталкивается 4 протона, что при возврате через канал АТФ-азы даст 2 молекулы АТФ.

Дыхательный контроль. Дыхательный контроль – это регуляция скорости переноса электронов по дыхательной цепи отношением АТФ/АДФ. Чем меньше это отношение (преобладает АДФ), тем интенсивнее идет дыхание (это обеспечивает реакцию $\text{АДФ} + \text{P}_\text{н} \rightarrow \text{АТФ}$).

Разобщение дыхания и окислительного фосфорилирования возникает при повышении проницаемости мембраны митохондрий для протонов в любом месте, а не только в канале АТФ-азы. При этом не создается электрохимический потенциал и энергия окисления рассеивается в виде тепла. Так действуют ионофоры (2,4-динитрофенол, валиномицин и др.). Они переносят обратно протоны через мембрану, выравнивая градиенты рН и мембранного потенциала. Лекарственные препараты (аминобарбитал), продукты жизнедеятельности микроорганизмов, избыток тиреоидных гормонов (вызывают накопление ненасыщенных жирных кислот, являющихся ионофорами) и др. приводят к разобщению дыхания и фосфорилирования, обеспечивая гипертермию. На разобщении дыхания и фосфорилирования базируется терморегуляторная функция тканевого дыхания. Тканевое дыхание, протекающее в митохондриях и не сопровождающееся образованием макроэргов, называют свободным или нефосфорилирующим окислением. Образованная в результате окислительного фосфорилирования в митохондриях АТФ обменивается на немитохондриальную АДФ с помощью специальных белков транслоказ (транслоказы составляют до 6% от всех белков внутренней мембраны митохондрий).

Гипоэнергетические состояния возникают: 1) при нарушении поступления субстратов для дегидрирования (на всех этапах от пищи до матрикса митохондрий); 2) при нарушении поступления O_2 в митохондрии (на

всех этапах от дыхания, связь с Hb, транспорт и пр.); 3) при нарушении мембран митохондрий, композиции липидного бислоя и ферментативных ансамблей внутренней мембраны митохондрий.

Окислительные системы, не связанные с запасанием энергии.

Пероксидазный путь. Другой тип дегидрирования субстратов, заключающийся в переносе двух атомов водорода на молекулу кислорода, называется пероксидазным: $RH_2 + O_2 \rightarrow R + H_2O_2$. Энергия окисления выделяется в виде тепла.

Это простые окислительные системы, представленные ФМН- и ФАД-содержащими ферментами, а также металлопротеинами. Они более широко распространены в растительных клетках, чем в клетках животных и человека. В клетке около 80% этих ферментов сосредоточено в пероксисомах, кроме того они встречаются в мембранах, граничащих с цитозолем. Так происходит окисление альдегидов, аминов, L- и D-аминокислот, пуринов и др. Некоторые из названных веществ являются токсическими. В лейкоцитах, гистиоцитах и других клетках, способных к фагоцитозу, пероксидазный путь окисления субстратов очень активен. Образующаяся H_2O_2 используется для обезвреживания болезнетворных бактерий и распада инфекционного материала, поглощенного клетками. Однако избыточное накопление перекиси водорода токсично, особенно для нефагоцитирующих клеток. Накопление пероксидов и генерация свободных радикалов может приводить к повреждению мембран (рак, атеросклероз). Для предотвращения повреждающего действия пероксидов служат две ферментативные системы. Первая – фермент **пероксидаза**, простетической группой которой является протогем. Ферменты этого типа широко представлены у растений, а также встречаются в молоке, лейкоцитах, тромбоцитах и тканях, продуцирующих эйкозаноиды: $H_2O_2 + RH_2 \rightarrow 2H_2O + R$, где RH_2 – аскорбиновая кислота, хиноны, цитохром C, глутатион. В эритроцитах и некоторых других тканях присутствует глутатионпероксидаза, содержащая Se в качестве простетической группы. Этот фермент защищает мембраны и гемоглобин от окисления пероксидами.

Второй фермент – **каталаза**, являющийся гемопотеином (4 гема): $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$. Эта реакция напоминает пероксидазную, только вместо RH_2 используется H_2O_2 . Каталазу находят в крови, костном мозге, слизистых оболочках, печени, почках, т.е. в клетках, где происходит интенсивное окисление с образованием H_2O_2 .

Оксигеназный путь. Оксигеназы – это ферменты, катализирующие включение атома или молекулы кислорода в субстрат окисления. Служат для синтеза и деградации различных метаболитов. Оксигеназы представлены двумя типами ферментов.

1) **Моноксигеназы** (оксигеназы со смешанной функцией, гидроксилазы, микросомальное окисление) катализируют присоединение одного атома кислорода к молекуле субстрата: $R-CH_3 + O_2 \rightarrow R-CH_2OH + O$. При этом повышается растворимость вещества и проявляются новые фармако-

логические свойства. Для работы монооксигеназной системы необходимы следующие основные компоненты: неполярный субстрат $R-CH_3$; кислород $O=O$; дополнительный субстрат НАДФН + H^+ – донор атомов водорода; цитохром P_{450} . Восстановленный СО-цитохром P_{450} имеет максимум поглощения при 450 нм (отсюда название – цит P_{450}). Выполняет две функции: 1) связывание субстрата гидроксילирования; 2) на цит P_{450} происходит активация молекулярного кислорода. Монооксигеназный путь окисления локализован в мембранах эндоплазматического ретикулума (после разрушения клеток эти мембраны замыкаются в микросферы – микросомы). Микросомальное окисление представляет короткую цепь, включающую НАДФ, ФАД, FeS - белки (адренодоксин), цитохромы P_{450} , b5. В общем виде микросомальное окисление неполярных ксенобиотиков (лекарств) осуществляется с помощью гидроксилазного цикла. Первый (основной) субстрат окисления RCH_3 в мембране связывается с цитохромом P_{450} . Второй (вспомогательный) субстрат НАДН + H^+ передает протоны и электроны на ФАД и затем с помощью Fe_2S_2 -белков происходит разделение потоков протонов и электронов. Один e^- восстанавливает Fe^{3+} в Fe^{2+} в комплексе цит P_{450} - $R-CH_3$. Этот комплекс приобретает способность связывать молекулу O_2 . Второй e^- активирует молекулу O_2 в комплексе так, что представляется возможность введения одного атома кислорода в субстрат с образованием гидроксильной группы, а второго атома кислорода в молекулу H_2O (соединение с двумя протонами). В результате повышается растворимость субстрата, т.е. возможность его выведения из организма. Так окисляются многие ксенобиотики, лекарственные вещества. К сожалению, есть исключения. Так, монооксигеназная цепь, окисляя малотоксичный бензпирен (табачный дым, копчености), приводит к образованию токсичного оксипирена, являющегося сильным канцерогеном.

Свободно-радикальное окисление. Под свободными радикалами понимают молекулу или ее часть, имеющую неспаренный электрон на молекулярной или на внешней атомной орбите. Появление неспаренного электрона – появление у молекулы свободной валентности. Свободные радикалы реакционноактивны и вступают в химические реакции для приобретения недостающего электрона.

Полное восстановление O_2 до H_2O требует присоединения 4 электронов: $O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2H_2O$. При неполном восстановлении (т.е. присоединении 1, 2 или $3e^-$) образуются свободно-радикальные формы кислорода: O_2^- – супероксидный радикал; $O\cdot H$ – гидроксидный радикал; $O\cdot H_2$ – пероксидный радикал.

$O\cdot H + O_2^- \rightarrow {}^1O_2 + OH^-$, здесь 1O_2 – синглетный кислород (оба e^- на внешней орбитали имеют разнонаправленные спины). Супероксидный радикал может возникать в процессе биохимических реакций (окисление с помощью флавопротеинов, в цепях монооксигеназных реакций и др.).

Свободные радикалы инициируют цепные реакции. Если в реакцию вступают ненасыщенные жирные кислоты, то говорят о перекисном окислении липидов (этот процесс важен для патологии).

1) Инициация при действии $R^\cdot$, металлов, излучений: $X^\cdot + RH \rightarrow R^\cdot + XH$.

2) Удлинение, разветвление: $R^\cdot + O_2 \rightarrow ROO^\cdot$ (пероксидный радикал).
 $ROO^\cdot + RH \rightarrow R^\cdot + ROOH$ (гидроперекись) и т.д.

3) Терминация (обрыв цепи): $ROO^\cdot + R_1^\cdot \rightarrow ROOR_1$; $R^\cdot + R_1^\cdot \rightarrow RR_1$.

Применительно к фрагменту ненасыщенной жирной кислоты можно показать ранние, средние и поздние продукты перекисного окисления. Во всех полиненасыщенных жирных кислотах присутствует дивинилметановая структура, которая легко вступает в реакцию отрыва протона, сопровождающуюся образованием свободного радикала. Ранние продукты ПОЛ – диеновые конъюгаты; средние продукты ПОЛ – гидроперекиси; конечные продукты ПОЛ – малоновый диальдегид. Эти процессы лежат в основе повреждения мембран клеток. Перспективно определение в выдыхаемом воздухе этана, который выделяется при окислении ω_3 -жирных кислот, например, α -линоленовой 18:3, $\Delta^{9,12,15}$, а также пентана – при окислении ω_6 -жирных кислот, например, линолевой 18:2, $\Delta^{9,12}$ или арахидоновой 20:4, $\Delta^{5,8,11,14}$.

Антиоксидантная защита. Сдерживание процессов свободно-радикального окисления осуществляется с помощью неферментативных и ферментативных механизмов. 1) Неферментативная защита включает: комплексоны, связывающие металлы (этилендиаминотетрауксусная кислота); в водной фазе – витамин С, ураты, ароматические амины, SH-соединения; в липидной фазе – жирорастворимые витамины А (β -каротин), Е, гормоны стероидной природы, тироксин. 2) Ферментативная защита включает: супероксиддисмутаза (в цитозоле простетическая группа – Cu^{2+} , Zn^{2+} , в митохондриях и у бактерий – Mn^{2+}) $O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$. Перекись водорода обезвреживается в каталазной или пероксидазной (чаще глутатионпероксидазной) реакциях. Активатор реакции – Se. В продукты питания добавляют антиоксидантные добавки: β -каротин, α -токоферол, ВНА – бутиловый гидроксианизол, ВНТ – бутиловый гидрокситолуен. Для профилактики радиационных поражений используют комплексы витаминов А, Е, С и β -каротин, Е, С.

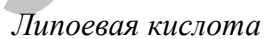
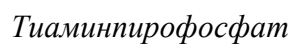
ОБЩИЙ ПУТЬ КАТАБОЛИЗМА

Общие пути катаболизма включают: 1) окисление пирувата в ацетил-КоА; 2) окисление ацетил-КоА в цикле трикарбоновых кислот; 3) выделение и аккумуляирование энергии при дегидрировании метаболитов общего пути катаболизма в митохондриальных цепях переноса электронов. Пируват образуется из углеводов (глюкоза), глицерина, гликогенных аминокислот и лактата. Ацетил-КоА занимает центральное место в общем пу-

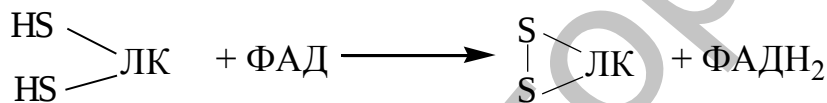
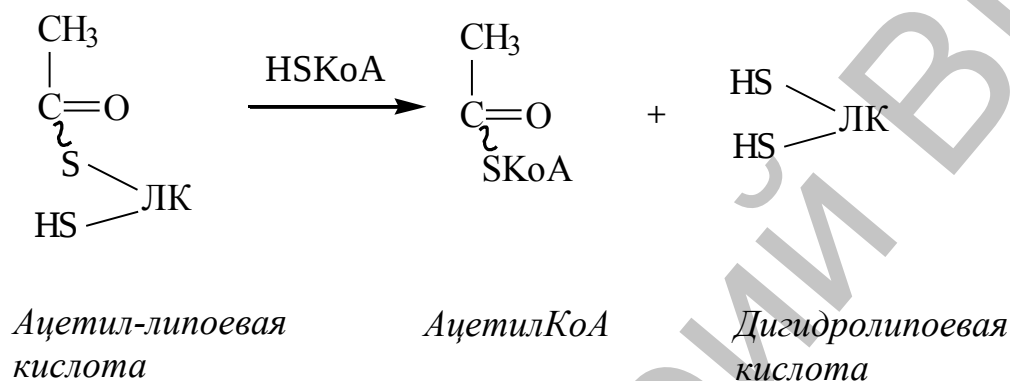
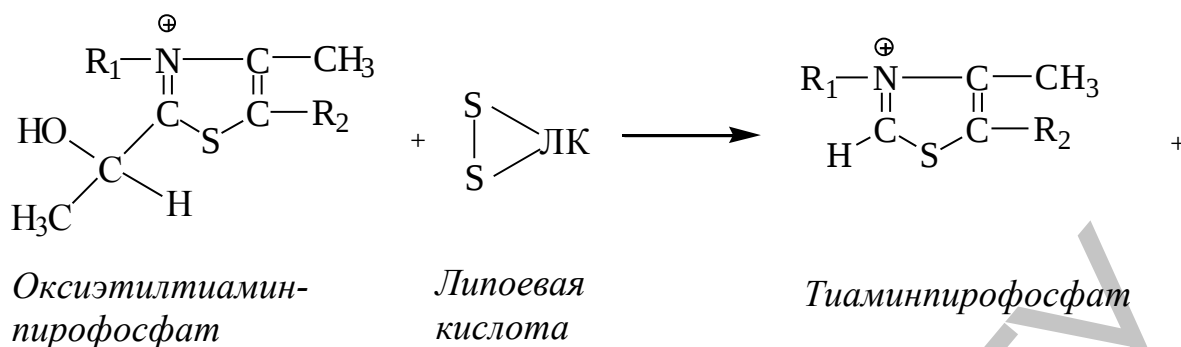
ти катаболизма и образуется в митохондриях: 1) при окислительном декарбоксилировании пирувата; 2) при β -окислении жирных кислот; 3) из кетогенных аминокислот.

Окислительное декарбоксилирование пирувата. Из цитозоля пируват транспортируется в митохондрии с помощью специального переносчика. Переносчик обеспечивает транспорт молекул пирувата через внутреннюю мембрану митохондрий по механизму симпорта с протоном. Превращение пирувата в ацетил-КоА катализирует мультиферментный пируватдегидрогеназный комплекс. Перемещение индивидуальных ферментов в комплексе ограничено. Промежуточные продукты превращений пирувата не отделяются от мультиферментного комплекса. **Пируватдегидрогеназный комплекс** состоит из трех ферментов и пяти кофакторов. 1) Пируватдегидрогеназа (пируватдекарбоксилаза), кофактором является фосфорилированный витамин B_1 – тиаминпирофосфат. 2) Дигидролипоилтрансацилаза, кофактором которой является липоевая кислота и $HS-CoA$. 3) Дигидролипоилдегидрогеназа, в качестве кофермента содержит ФАД и использует NAD^+ . Ферментативное декарбоксилирование пирувата ведет к образованию ацетил-КоА.

Регуляция пируватдегидрогеназного комплекса. Пируватдегидрогеназный комплекс регулируется 3-мя путями: 1) ингибируется продуктами реакции, т.е. ацетил-КоА и НАДН, активируется $HS-CoA$ и NAD^+ . 2) ПДГ-комплекс ингибируется ГТФ и активируется АМФ, т.е. активность комплекса снижается, когда клетка богата легкодоступной энергией. 3) Фосфорилированием – дефосфорилированием (т.е. ковалентной модификацией).



Chemical reaction scheme showing the conversion of pyruvate (Пируват) to oxaloacetyl-CoA (Карбоксиэтилтиаминпирофосфат) via the C4 cycle. The reaction involves the decarboxylation of pyruvate, releasing CO₂, and the formation of a C₄ intermediate. The diagram shows the chemical structures of the reactants and the product, with arrows indicating the reaction pathway and the release of CO₂.



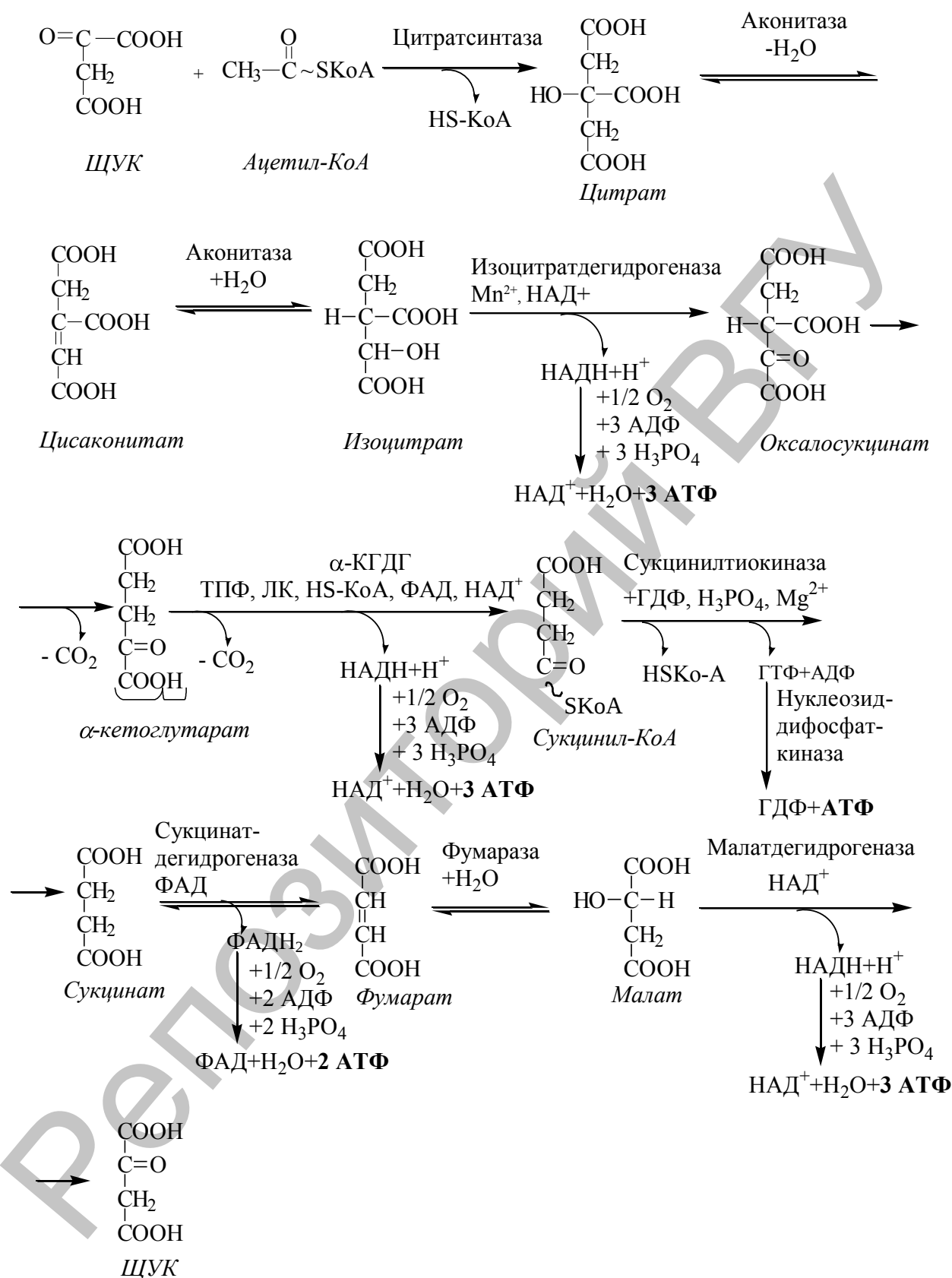
Цикл трикарбоновых кислот. Вторым компонентом общего пути катаболизма является цикл трикарбоновых кислот. Последовательность реакций: 1) ацетил-КоА конденсируется с ЩУК в реакции, катализируемой цитратсинтазой. Этот фермент регуляторный: ингибируется АТФ (конечный продукт, в форме АТФ запасается энергия окисления) и НАДН (конечный продукт реакций дегидрирования ЦТК). 2) Аконитаза (аконитагидратаза) катализирует превращение цитрата в изоцитрат через стадию цисаконитовой кислоты. Аконитаза по механизму действия одновременно гидратаза и изомераза. 3) Изоцитратдегидрогеназа катализирует дегидрирование изолимонной кислоты в щавелевоянтарную кислоту. Коферментами могут быть НАД⁺ и НАДФ⁺. В ЦТК участвует изоцитратдегидрогеназа

с коферментом НАД⁺. Фермент активируется АДФ (аллостерический активатор) и ингибируется при накоплении выше определенного уровня АТФ и НАДН. (В митохондриях и цитоплазме встречаются изоцитратдегидрогеназа с коферментом НАДФ⁺, которая участвует в биосинтетических процессах).

4) α -кетоглутаратдегидрогеназа катализирует окислительное декарбоксилирование α -кетоглутарата в янтарную кислоту (сукцинат). Мультиферментный комплекс α -кетоглутаратдегидрогеназы похож на пируватдегидрогеназный комплекс. Окислительное декарбоксилирование α -кетоглутарата протекает аналогично окислительному декарбоксилированию пирувата. 5) Сукцинилтиокиназа катализирует расщепление сукцинил-КоА на янтарную кислоту и кофермент А. Энергия расщепления сукцинил-КоА накапливается в виде гуанозинтрифосфата (ГТФ). В сопряженной реакции перефосфорилирования АДФ фосфорилируется в АТФ, а освобождающиеся молекулы ГДФ могут вновь фосфорилироваться. Это субстратное фосфорилирование. 6) Сукцинатдегидрогеназа катализирует превращение сукцината в фумаровую кислоту. Фермент вмонтирован во внутреннюю мембрану митохондрий и в качестве простетической группы содержит ФАД. Сукцинатдегидрогеназа – регуляторный фермент: активируется фосфатом, сукцинатом и конкурентно ингибируется ЩУК, последней дикарбоновой кислотой ЦТК. 7) Фумаратгидратаза (фумараза) катализирует превращение фумаровой кислоты в яблочную (малат). Фермент стереоспецифичен, образует лишь L-малат. 8) Малатдегидрогеназа катализирует окисление яблочной кислоты в ЩУК. Эта реакция практически идет в одном направлении, поэтому ее продукты – ЩУК и НАДН – быстро удаляются.

Регуляция цикла трикарбоновых кислот. 1) На стадии цитратсинтазы: АТФ аллостерический ингибитор (повышает K_m по ацетил-КоА). 2) На стадии изоцитратдегидрогеназы: АДФ аллостерический активатор, НАДН и АТФ ингибиторы. 3) α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс: ингибируют сукцинил-КоА и НАДН (т.е. продукты реакции) и высокий энергетический заряд клетки (много АТФ).

Биологическая роль общего пути катаболизма. В общем пути катаболизма 2 группы реакций: 1) окислительное декарбоксилирование пирувата, сопровождаемое образованием НАДН+Н⁺. 2) Окисление ацетил-КоА в цикле Кребса. После дегидрирования метаболитов цикла трикарбоновых кислот образуется 3НАДН + Н⁺ и ФАДН₂, которые передают свои протоны и электроны на дыхательные цепи, где в сопряженных реакциях окислительного фосфорилирования и образуются молекулы АТФ.



Общий итог: 1) окислительное декарбоксилирование пирувата – 3 АТФ. 2) В ЦТК и сопряженных дыхательных цепях – 11 АТФ. 3) В реакции субстратного фосфорилирования ЦТК – 1 АТФ. Итого: 15 АТФ.

В общем пути катаболизма образуется 3 молекулы CO_2 (1 на стадии декарбоксилирования пирувата и 2 в ЦТК). И атом кислорода, и атом углерода в углекислоте происходят от субстратов окисления.

Процесс дегидрирования субстратов окисления, сопряженный с реакциями декарбоксилирования и переносом протонов и электронов на кислород с образованием воды, выделением и аккумулятированием энергии, называется тканевым дыханием. Тканевое дыхание является частью биологического окисления. На тканевое дыхание расходуется более 90% вдыхаемого кислорода. Итак, общий путь катаболизма обеспечивает: 1) продукцию энергии в дыхательных цепях, поставляя в нее протоны и электроны; 2) ряд биосинтетических процессов, начинающихся от ацетил-КоА и метаболитов ЦТК.

Роль витаминов в регуляции общего пути катаболизма. Семь витаминов выполняют функции кофакторов ферментов общего пути катаболизма:

- пируват- и α -кетоглутарат-дегидрогеназные комплексы: B_1 необходим для синтеза ТПФ; липоевая кислота (витаминоподобное вещество); B_3 необходим для синтеза HS-КоА; B_2 необходим для синтеза ФАД; B_5 (РР) необходим для синтеза НАД;
- биотин катализирует реакцию карбоксилирования пирувата с образованием ЩУК (щавелево-уксусной кислоты);
- B_6 необходим для синтеза пиридоксальфосфата, являющегося кофактором аспартат- и аланинаминотрансфераз, катализирующих превращение аспартата в ЩУК и аланина в пируват. Перечисленные выше витамины должны составлять основу сбалансированных поливитаминных препаратов.

ОБМЕН УГЛЕВОДОВ

Основные углеводы животных, их содержание в тканях, биологическая роль. Все углеводы условно делятся на две группы:

1. Углеводы с преимущественно энергетической функцией. 1) Глюкоза при полном окислении одной молекулы дает 38 молекул АТФ. Из глюкозы образуются все другие углеводы организма, кроме аскорбиновой кислоты. 2) Гомополисахариды (крахмал в растениях; гликоген в животных клетках) состоят из остатков α -D-глюкозы, соединенных $\alpha(1\rightarrow4)$ и в местах ветвления $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидными связями. Откладываются в цитозоле в виде гранул и несут резервную функцию.

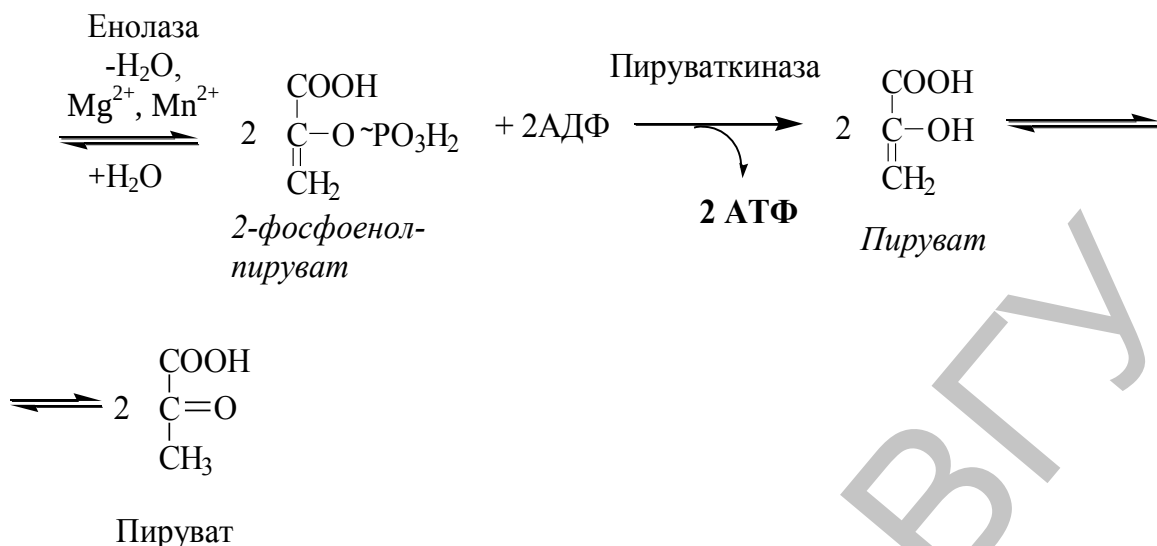
2. Углеводы с преимущественно структурной функцией. 1) Гликопротеины и гликолипиды входят в состав мембран клеток и участвуют в специфических взаимодействиях (например, рецепторы). 2) Гликозамингликаны входят в состав соединительной ткани. Некоторые из них (гепарин) выполняют регуляторную функцию.

Глюкоза как важнейший метаболит углеводного обмена. Общая схема источников и путей расходования глюкозы в организме. Глюкоза является основным метаболитом углеводного обмена. Основные источники глюкозы: 1) пища; 2) распад резервного полисахарида гликогена; 3) синтез глюкозы из неуглеводных предшественников (главным образом, из гликогенных аминокислот) – глюконеогенез. Основные пути расходования глюкозы: 1) образование энергии при аэробном и анаэробном окислении глюкозы; 2) превращение в другие моносахариды; 3) превращение в гликоген и гетерополисахариды; 4) превращение в жир, некоторые аминокислоты и другие соединения. В кровь поставляют глюкозу: кишечник (пища), печень и почки (есть фермент глюкозо-6-фосфатаза). Остальные ткани потребляют глюкозу.

Аэробный распад – основной путь катаболизма глюкозы у человека. Включает 10 реакций специфического пути превращения глюкозы до пирувата; перенос пирувата в митохондрии, его окислительное декарбоксилирование в ацетил-КоА, окисление ацетил-КоА в ЦТК и сопряженных ЦПЭ до CO_2 и H_2O .

Последовательность реакций до образования пирувата как специфический для глюкозы путь катаболизма. Специфический путь катаболизма глюкозы до пирувата включает 10 реакций и протекает в цитозоле одинаково в аэробных и анаэробных условиях:

1) фосфорилирование глюкозы осуществляется ферментами: неспецифической гексокиназой с низкой константой Михаэлиса (10^{-5} М) и присутствующей преимущественно в печени специфической глюкокиназой ($K_m = 10^{-3}$ М). Активность глюкокиназы индуцируется глюкозой пищи. Оптимальная концентрация глюкозы крови для глюкокиназы 5 ммоль/л. Реакция фосфорилирования глюкозы необратима. Оба фермента фосфорилируют глюкозу с помощью Mg-АТФ комплекса. Гексокиназа аллостерически ингибируется глюкозо-6-фосфатом: $\text{Глюкоза} + \text{АТФ} \rightarrow \text{Г-6-Ф}$. 2) Изомеризация Г-6-Ф во фруктозо-6-фосфат катализируется фосфогексоизомеразой. Реакция обратима. Изомеризуется только α -аномер Г-6-Ф: $\text{Г-6-Ф} \leftrightarrow \text{Ф-6-Ф}$. 3) Фосфорилирование Ф-6-Ф во Ф-1,6-БФ, фермент фосфофруктокиназа (ФФК-I). Реакция требует АТФ и Mg^{2+} . Это самая медленная реакция специфического пути катаболизма глюкозы и поэтому лимитирует скорость всего процесса: $\text{Ф-6-Ф} + \text{АТФ} \rightarrow \text{Ф-1,6-БФ}$. Реакция необратима. ФФК – аллостерический регуляторный фермент, который ингибируется АТФ и высокими концентрациями цитрата и активируется АДФ и АМФ. 4) Расщепление Ф-1,6-БФ на две фосфотриозы катализируется ферментом альдолаза: $\text{Ф-1,6-БФ} \rightarrow \text{3-ФГА} + \text{ДАФ}$ (3-ФГА – 3-фосфоглицериновый альдегид; ДАФ – диоксиацетонфосфат). 5) Изомеризация триозофосфатизомеразой. Равновесие сдвинуто в сторону ДАФ (95%) и 5% 3-ФГА. Однако в последующие реакции вступает только 3-ФГА. Итак, 1 молекула гексозы распалась на 2 молекулы фосфотриоз, которые далее превращаются одинаково.



6) Окисление 3-ФГА. Обе молекулы 3-ФГА дегидрируются с одновременным присоединением неорганического фосфата с помощью фермента дегидрогеназы 3-фосфоглицеринового альдегида (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа) в 1,3-бисфосфоглицериновую кислоту. Фермент состоит из 4-х субъединиц. В активном центре фермента находится SH-группа (цис-149) и связанный кофермент НАД⁺. Вначале 3-ФГА присоединяется к ферменту по SH-группе с образованием тиополуацетала. При его окислении (дегидрировании) образуется богатый энергией тиоэфир. Затем протоны и электроны переносятся со связанного с ферментом НАД на цитоплазматический, а присоединяющийся Рн ведет к образованию 1,3-бисфосфоглицериновой кислоты. Таким образом альдегид окисляется в кислоту, а энергия окисления аккумулируется в виде ~Р. Существует обязательный порядок связывания с ферментом субстратов и отделения от него продуктов реакции: $2 \text{ 3-ФГА} + 2 \text{ H}_3\text{PO}_4 + 2 \text{ НАД}^+ \rightarrow 2 \text{ 1,3-БФГК} + 2 \text{ НАДН} + \text{H}^+$.

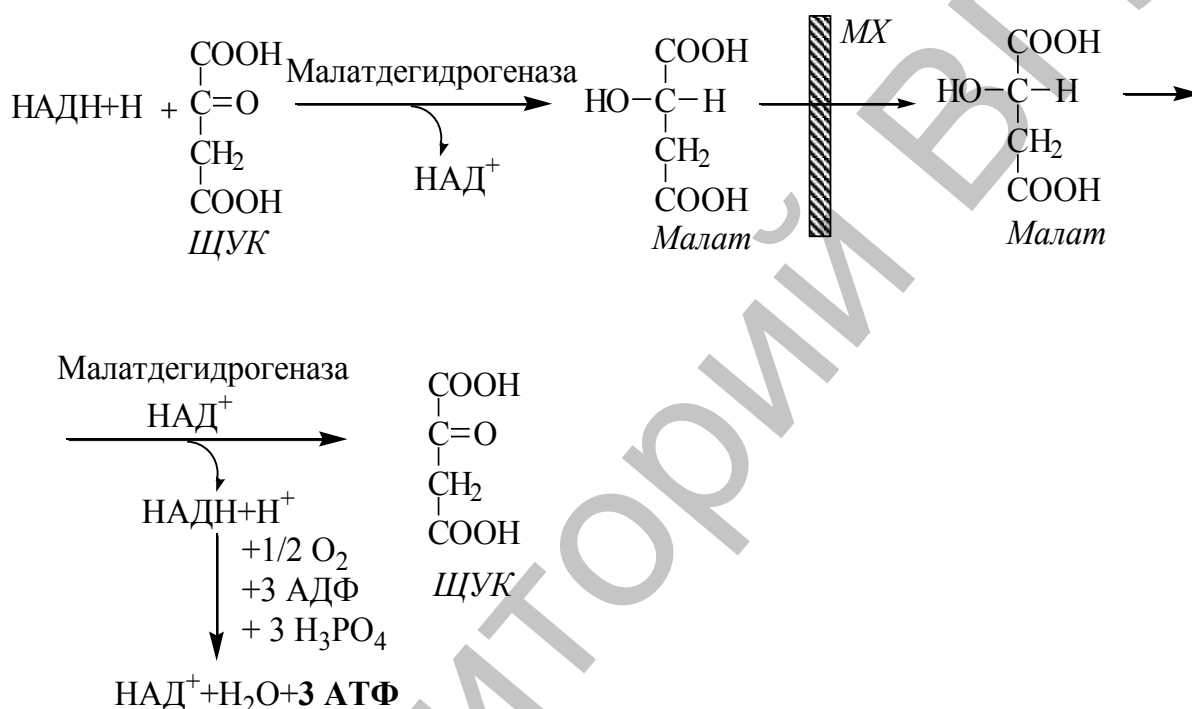
7) Фермент фосфоглицераткиназа обеспечивает субстратное фосфорилирование АДФ: $2 \text{ 1,3-БФГК} + 2 \text{ АДФ} \rightarrow 2 \text{ 3-ФГК} + 2 \text{ АТФ}$. 8) Перенос фосфата в положение С₂ катализируется фосфоглицератмутазой. В качестве «косубстрата» участвует 2,3-бисфосфоглицерат и необходимы ионы Mg²⁺: $2 \text{ 3-ФГК} \rightarrow 2 \text{ 2-ФГК}$. 9) Енолизация. Фермент енолаза. Требуется обязательного присутствия ионов Mg²⁺, Mn²⁺. Блокируется флюоридом. Это используется для сохранения глюкозы в консервированной крови. $2 \text{ 2-ФГК} \rightarrow 2 \text{ ФЕП} + 2 \text{ H}_2\text{O}$. При енолизации происходит образование макроэргической связи (61,9 кДж/моль) в составе ФЕП (фосфо-енолпируват). 10) Фермент пируваткиназа обеспечивает субстратное фосфорилирование АДФ: $2 \text{ ФЕП} + 2 \text{ АДФ} \rightarrow 2 \text{ пируват} + 2 \text{ АТФ}$.

Итак, итогом 10 реакций специфического пути катаболизма глюкозы в цитозоле клеток является: 2 молекулы пирувата; 2 молекулы НАДН+Н⁺; 4 молекулы АТФ образовалось, но израсходовано 2 молекулы АТФ (итого 2 молекулы АТФ).

Окислительное превращение глюкозы. Процесс включает два типа реакций:

1) перенос пирувата в митохондрии и превращение его в общем пути катаболизма (окислительное декарбоксилирование пирувата до ацетил-КоА и окисление ацетил-КоА до CO_2 и H_2O в цикле трикарбоновых кислот и сопряженных ЦПЭ).

2) Перенос восстановленных эквивалентов от цитоплазматического $\text{НАДН} + \text{H}^+$ в митохондрии с помощью малатного челночного механизма.



Энергетика окисления 1 молекулы глюкозы.

Глюкоза $\rightarrow$ 2 пируват.

Образуется 4 АТФ (ФГК, ПК), тратится 2 АТФ (ГК, ФФК). Итого: 2 АТФ.

2 $\text{НАДН}_2 \rightarrow$ перенос в митохондрии $\rightarrow$ 6 АТФ.

2 Пируват $\rightarrow$ 2 ацетил-КоА + 2 $\text{НАДН}_2 \rightarrow$ 6 АТФ.

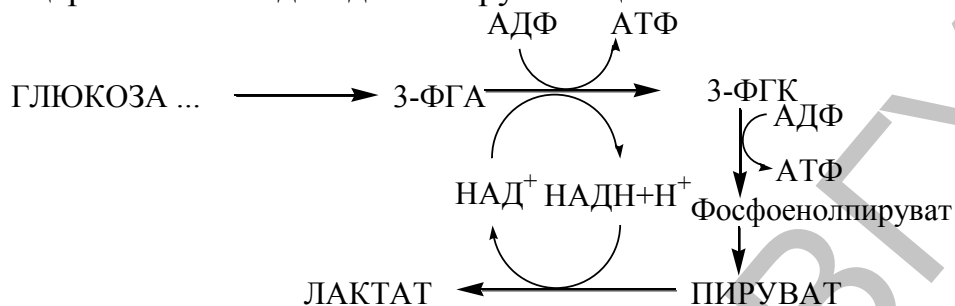
2 ацетил-КоА $\rightarrow$ ЦТК + ЦПЭ $\rightarrow 2 \cdot 12 = 24$ АТФ.

Итого: $2 + 6 + 6 + 24 = 38$ АТФ.

Анаэробный распад глюкозы (гликолиз) функционирует в тканях, где в клетках нет митохондрий (зрелые эритроциты человека) и в анаэробных условиях. Конкретные реакции от глюкозы до пирувата совпадают с аэробным распадом глюкозы. Следовательно, в анаэробных условиях образуется: 2 молекулы пирувата, 2 молекулы восстановленного $\text{НАД} + \text{H}^+$ и 4 молекулы АТФ. Но в анаэробных условиях нет акцептора электронов в митохондриях, т.е. O_2 . Поэтому пируват и НАДН не переносятся в митохондрии. В цитозоле сам пируват принимает водород от восстановленного $\text{НАДН} + \text{H}^+$ и восстанавливается в молочную кислоту. Реакция обратима и катализируется лактатдегидрогеназой: пируват + $\text{НАДН} + \text{H}^+ \leftrightarrow$ лактат. По-

этому в гликолизе выделяют центральную реакцию – гликолитическую оксидоредукцию.

В центральной окислительно-восстановительной реакции гликолиза НАД выполняет роль промежуточного переносчика водорода от 3-фосфоглицеринового альдегида на пируват в цитозоле.



Энергетическая ценность: $4-2=2$ АТФ (в 19 раз меньше, чем при аэробном распаде). **Гликогенолиз** – анаэробный распад гликогена. Его энергетическая ценность: $4-1=3$ АТФ. Хотя энергии образуется меньше, чем в аэробных условиях, это – единственный процесс поставки энергии в анаэробных условиях.

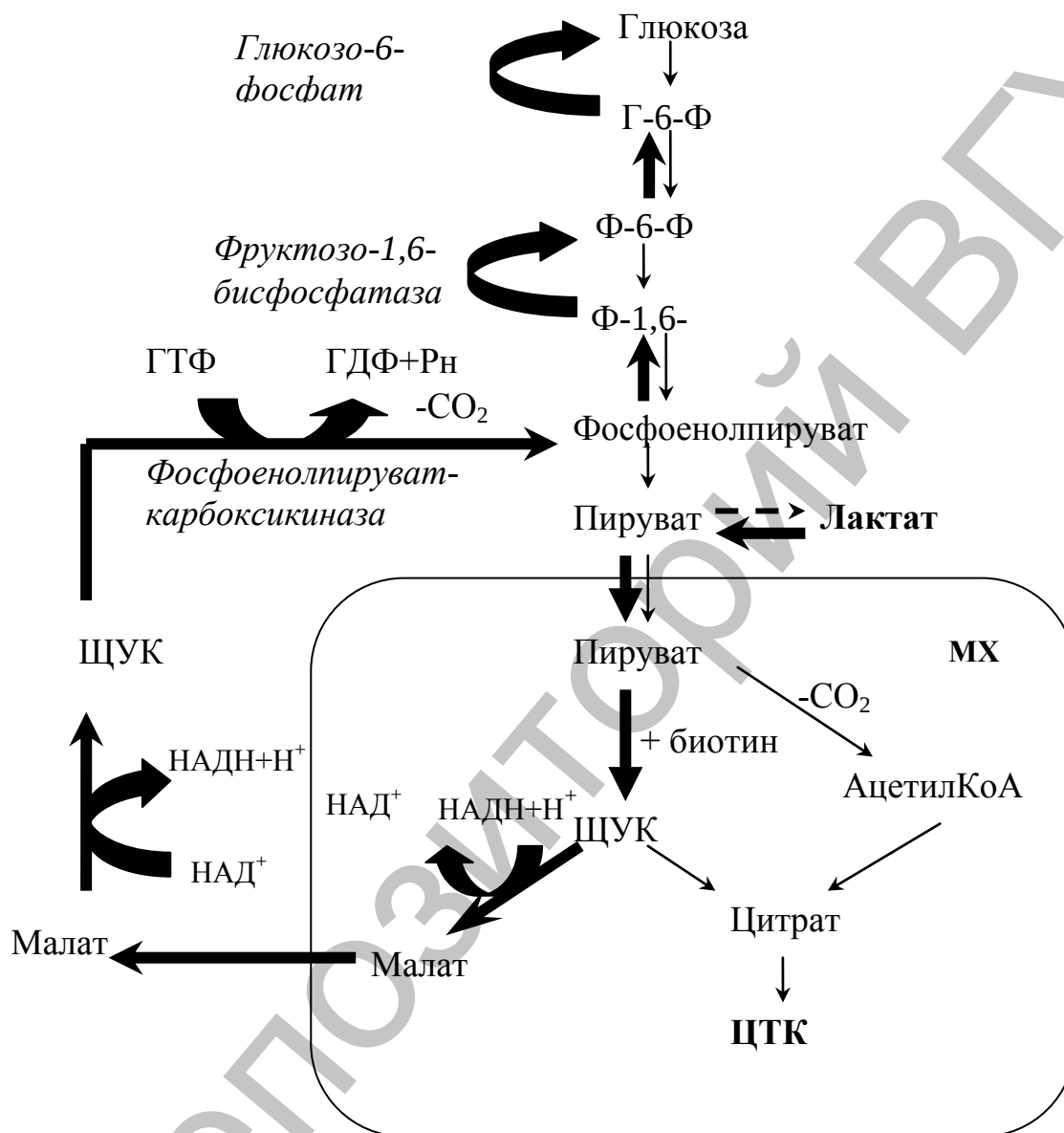
Физиологическое значение окисления глюкозы. Окисление глюкозы используется: 1) для получения энергии; 2) для синтеза жирных кислот, глицерина, аминокислот.

По роли распада глюкозы все ткани можно условно разделить на 3 группы:

1) эритроциты (лишены митохондрий), «белые мышечные волокна», служащие для интенсивной, но кратковременной работы. Эти клетки плохо приспособлены для использования кислорода, поэтому в них происходит анаэробный распад глюкозы (гликолиз) для получения энергии. Образованный лактат выходит в кровь. 2) Нейроны, требующие большого количества энергии, «красные мышечные волокна», служащие для длительной работы. Эти клетки (ткани) имеют хорошее кровоснабжение, в их митохондриях высока активность ферментов дыхательных цепей, поэтому в них происходит аэробный распад глюкозы через пируват до CO_2 и H_2O , что дает 38 молекул АТФ на 1 моль глюкозы. 3) Гепатоциты, адипоциты (липоциты), клетки нейроглии. Эти клетки при необходимости синтезируют липиды. Поэтому в них продукты распада глюкозы обычно идут на синтез жирных кислот и глицерина. Подчеркнем, что превращение глюкозы в пируват может происходить во всех клетках. Все ферменты этого пути находятся в цитозоле.

Биосинтез глюкозы – глюконеогенез. В широком смысле под глюконеогенезом понимают синтез глюкозы из всех метаболитов – источников глюкозы. В узком смысле – только из аминокислот. Синтез глюкозы происходит, главным образом, в печени и корковом слое почек. Синтез глюкозы в печени происходит после истощения запасов печеночного гликогена для поддержания в крови уровня глюкозы. Такая ситуация складывается при длительной физической работе и при длительном голодании. Источ-

ники синтеза глюкозы: 1) при длительной физической работе – из лактата, поступающего из мышц, и из глицерина, поступающего из жировой ткани. 2) При длительном голодании – из глицерина, поступающего из жировой ткани, и из аминокислот, поступающих из тканей (мышц) вследствие разрушения белков.



Рассмотрим биосинтез глюкозы из молочной кислоты. При этом используются реакции обращения гликолиза, за исключением трех необратимых реакций: гексокиназной, фосфофруктокиназной и пируваткиназной. Для их обращения служат специальные ферменты. Весь процесс, за исключением первого этапа, идет в цитозоле. Для обращения пируваткиназной реакции требуются ферменты митохондрий. Лактат превращается в пируват в обратимой реакции, катализируемой лактатдегидрогеназой. Пируват не может сразу превратиться в фосфоенолпируват. Поэтому существует обходной путь: пируват проникает в митохондрии. Фосфоенолпируват легко превра-

щается в фруктозо-1,6-бисфосфат в обратимых реакциях гликолиза. Необратимая фосфофруктокиназная реакция обращается с помощью специального фермента фосфатазы Ф-1,6-бисфосфата. Аналогично необратимая гексокиназная реакция обращается с помощью другого специального фермента – фосфатазы глюкозо-6-фосфата. Этот фермент характерен для эндоплазматической сети клеток печени и почек, его нет в мышцах и мозге. Глицерин включается в глюконеогенез на стадии дегидрогеназы фосфоглицеринового альдегида. Гликогенные аминокислоты (гли, ала, сер, цис, асп и др.) включаются в глюконеогенез через ЩУК.

Взаимосвязь гликолиза и глюконеогенеза (цикл Кори). Для координирования деятельности органов в интересах целостного организма важна координация процессов распада (гликолиз) и синтеза (глюконеогенез) углеводов. В работающих мышцах идет гликолиз – анаэробный распад глюкозы до молочной кислоты. Мышцы получают глюкозу из крови. Ткань мышцы не отдает глюкозу в кровь, поскольку нет фермента глюкозо-6-фосфатаза. Лактат из мышцы выходит в кровь и поступает в печень. В гепатоцитах идет глюконеогенез из лактата. Глюкоза поставляется в кровь, т.к. в печени имеется фермент глюкозо-6-фосфатаза. Этот кругооборот и является циклом Кори. Для многих других органов (мозг, почки, селезенка и др.) потребность в энергии сравнительно постоянна, и скорость распада глюкозы меняется мало.

Регуляция при физической работе:

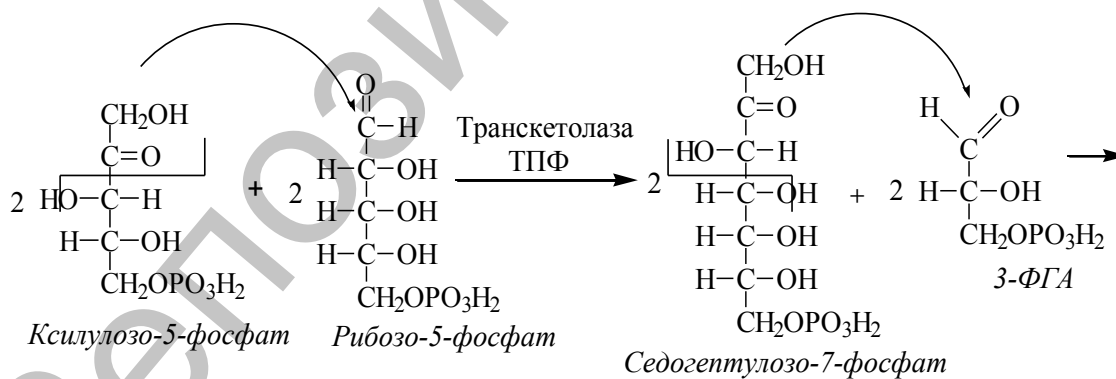
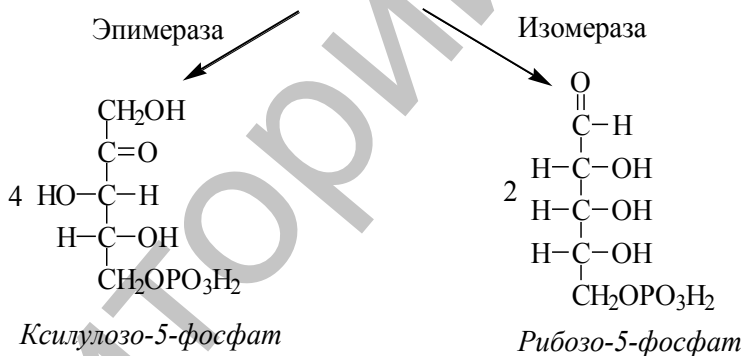
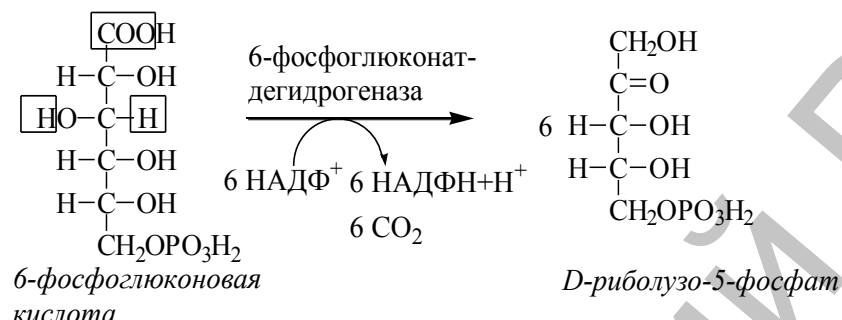
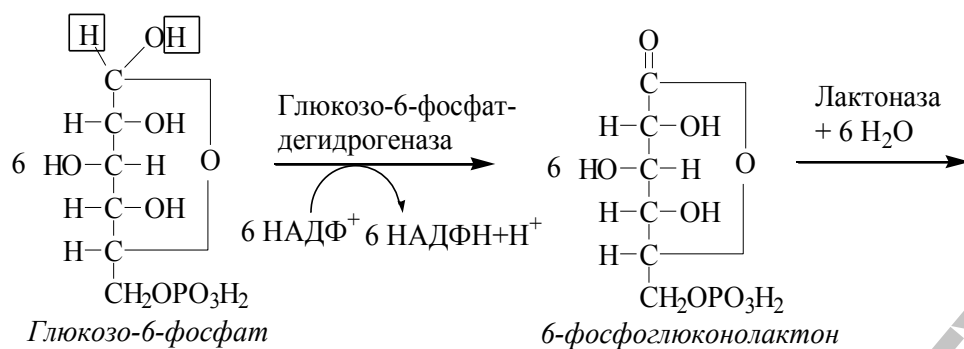
1) АДФ и сами гексозы, которые накапливаются в мышцах вначале работы, аллостерически активируют ферменты распада глюкозы.

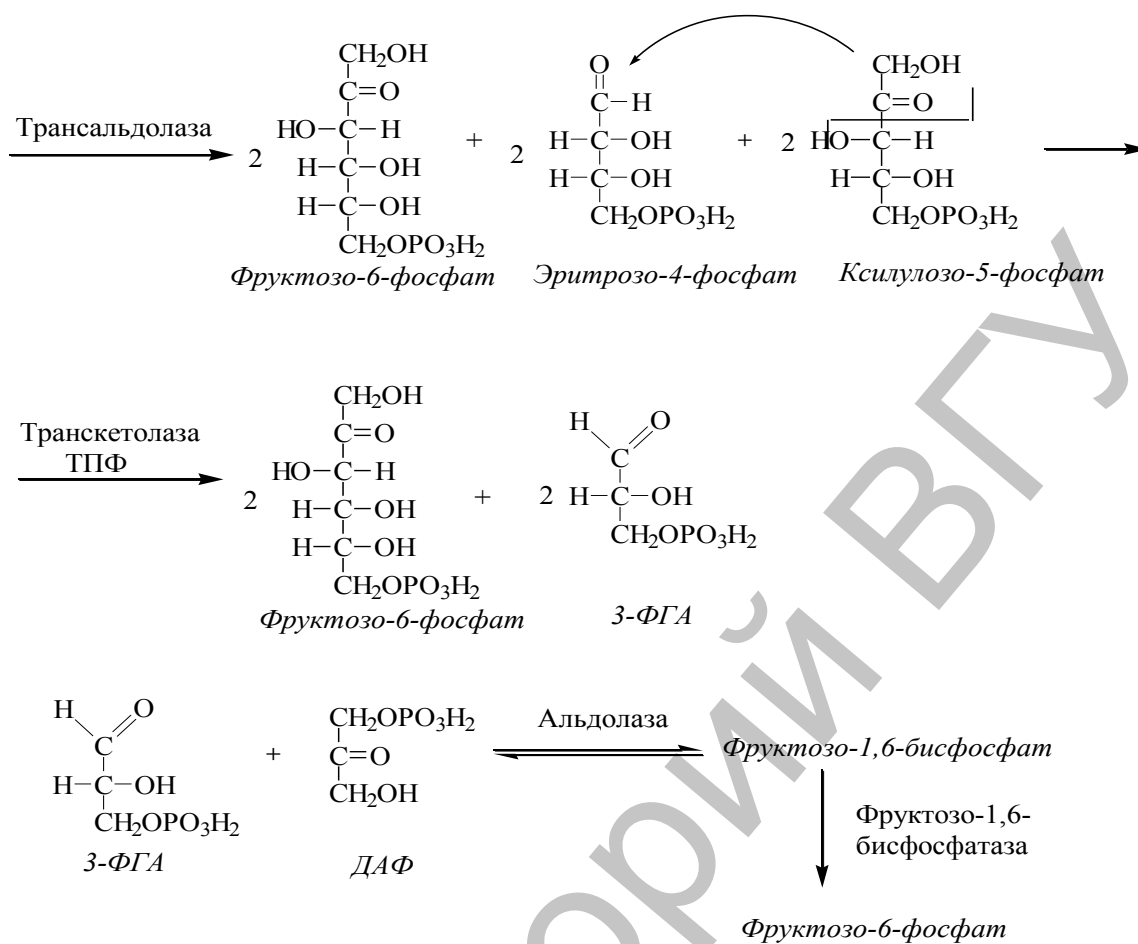
2) Глюкокортикоиды и глюкагон, выделяющиеся при длительной работе и голодании, стимулируют в печени синтез ферментов глюконеогенеза.

3) Жирные кислоты, которые мобилизуются из жировой ткани при длительной работе и голодании, и продукты их обмена (АТФ, ацетил-КоА, цитрат) аллостерически ингибируют в мышцах и печени ферменты синтеза глюкозы.

Регуляция после еды: инсулин, который выделяется после еды, повышает проницаемость клеток для глюкозы и активирует гексокиназу. Этим стимулируются все превращения глюкозы (в том числе и синтез из нее жирных кислот в печени и жировой ткани).

Представление о пентозофосфатном пути превращения глюкозы. Часть глюкозы (в печени – до 33%, в жировой ткани – до 20%, в эритроцитах – до 10% и в мышцах – менее 1%) вступает не в гликолиз, а в пентозофосфатный путь (ПФП). ПФП называют апотомическим путем (от слова «арех» – верхушка) в отличие от дихотомического пути (пополам, т.е. распад в анаэробных условиях до триоз).





Первая реакция ПФП представляет собой дегидрирование (окисление) Г-6-Ф, катализируемое глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой. Кофермент – НАДФ⁺. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа осуществляет дегидрирование 1-го углеродного атома с образованием соответствующего 6-фосфоглюконолактона. Хотя это соединение нестабильно, есть все же фермент – лактоназа, катализирующая гидролиз лактона до свободной кислоты. На следующей стадии 6-фосфоглюконат подвергается окислительному декарбоксилированию при участии 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (кофермент НАДФ⁺), в результате чего образуется кетопентоза – D-рибулозо-5-фосфат. Образованный рибулозо-5-фосфат превращается в двух реакциях, катализируемых эпимеразой (образуется 3-эпимер – ксилулозо-5-фосфат) и изомеразой (образуется альдоизомер – рибозо-5-фосфат). Описанные реакции называются окислительными реакциями ПФП. Часто пентозофосфатный путь на этом завершается. В неокислительных реакциях ПФП происходят взаимопревращения кетоз и альдоз. Итог: 12 НАДФН+Н⁺ и 5 молекул Ф-6-Ф из 6 молекул Г-6-Ф.

Функции: 1) синтез НАДФН для биосинтезов и первой стадии обезвреживания ксенобиотиков; 2) синтез пентозофосфатов для нуклеотидов; 3) образование моносахаридов от 3 до 7 углеводных атомов (триозы, тетрозы, пентозы, гексозы, гептозы); 4) в растениях участие в темновой фазе фотосинтеза.

Катаболизм углеводов в тканях. Распад гликогена в клетках осуществляется 2 путями:

1) амилалитическое расщепление менее значимо, и заключается в гидролитическом отщеплении концевых остатков глюкозы от цепей гликогена с помощью фермента $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидазы (γ -амилазы). При этом в цитозоле появляются молекулы свободной глюкозы.

2) Фосфоролитическое расщепление гликогена более значимо. Фермент фосфорилаза в присутствии неорганического фосфата катализирует расщепление α -1,4-гликозидных связей гликогена с образованием глюкозо-1-фосфата. Остатки глюкозы отщепляются от дальних концов молекул гликогена до тех пор, пока на ветвях, идущих от точки ветвления ($1\rightarrow6$ связи), не останется примерно по 4 остатка глюкозы. Затем фермент $\alpha(1\rightarrow4)$ - $\alpha(1\rightarrow4)$ -глюкантрансфераза переносит трисахаридный фрагмент с одной цепи на другую. Оставшийся остаток глюкозы, связанный $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидной связью, отщепляется гидролитически с помощью деветвящего (дебраншинг) фермента – амило(1 $\rightarrow$ 6)-гликозидаза. Считают, что это второй вид активности глюкантрансферазы. При этом высвобождается свободная глюкоза. (Это наблюдается при болезни Гирке – гликогеноз типа I – после введения глюкагона или адреналина: повышение глюкозы при отсутствии глюкозо-6-фосфатазы). Итак, из кишечника после еды, а также из печени и почек (амилолитический и фосфоролитический гликогенолиз) выделяется свободная глюкоза. При избытке она идет на синтез гликогена (гликогенонеогенез) – третья фаза анаболизма углеводов.

Биосинтез гликогена. Синтез гликогена (печень, мышцы) идет в 3 этапа:

1) активация C_1 -атома глюкозы: $\text{глюкоза} + \text{АТФ} \rightarrow \text{Г-6-Ф} \rightarrow \text{Г-1-Ф} + \text{УТФ} \rightarrow \text{УДФ-глюкоза}$. В состав гликогена глюкоза включается из специальной активной формы – УДФ-глюкозы.

2) Образование $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидных связей (удлинение цепей гликогена). При присоединении очередного остатка глюкозы из УДФ-глюкозы ее C_1 -атом связывается через кислород с C_4 -атомом остатка глюкозы, последнего в цепи гликогена (необходима гликоген-затравка, включающая более 4 остатков глюкозы). Фермент – гликогенсинтаза.

3) Образование $\alpha(1\rightarrow6)$ гликозидных связей (точки ветвления, образование новых цепей). Ветвление образуется путем переноса олигосахарида (6-7 остатков) с конца цепи гликогена на C_6 -атом одного из промежуточных остатков глюкозы. Фермент – амило(1,4 $\rightarrow$ 1,6)-трансгликозидаза (браншинг-фермент). Новые цепи далее удлиняются (α -1,4).

Ферменты распада гликогена (фосфорилаза) и его синтеза (гликогенсинтаза) являются регуляторными. Регуляция осуществляется методом химической модификации: фосфорилированием - дефосфорилированием. Обычно регуляции оба фермента подвергаются синхронно.

Регуляция обмена гликогена. Процесс носит каскадный характер и включает ряд ферментов.

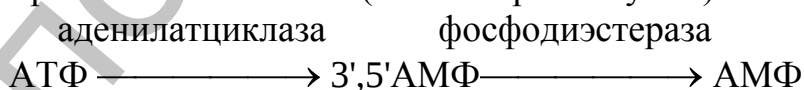
1) Фосфорилаза и гликогенсинтаза имеют субъединичное строение. Неактивная (малоактивная) фосфорилаза «b» состоит из нефосфорилированных димеров и под действием фермента киназа фосфорилазы с участием АТФ переходит в активную форму «a», которая представлена фосфорилированными тетрамерами. Дефосфорилирование фермента, т.е. переход формы «a» → «b» осуществляется с помощью фермента протеинфосфатаза. Гликогенсинтаза, наоборот, в неактивном состоянии (D-форма) является фосфорилированным тетрамером. Переход в активную форму «I» – дефосфорилированный тетрамер – осуществляется под действием протеинфосфатазы. Фосфорилирование фермента («I» → «D») происходит под действием протеинкиназы + АТФ. Протеинкиназы – это группа ферментов, фосфорилирующих белки-ферменты за счет АТФ.

2) Протеинкиназа – сложный регуляторный фермент. Состоит из двух субъединиц: рецепторной (R) и каталитической (C). Рецепторная часть является ингибитором фермента. Комплекс CR не активен. Активатором является цАМФ (3',5'-АМФ), который соединяется с рецепторной субъединицей, и неактивный комплекс фермента диссоциирует. Это приводит к освобождению каталитических субъединиц, образующих активный фермент. (В мышцах фермент может активироваться ионами кальция. При этом ионы кальция связываются с кальмодулинподобной субъединицей протеинкиназы).

3) Протеинфосфатазы – это группа ферментов, обеспечивающих гидролитическим путем дефосфорилирование фосфорилированных форм ферментов (активаторы: гидрокортизон, инсулин, глюкоза).

4) Аденилатциклаза связана с рецепторами плазматической мембраны и катализирует превращение АТФ в 3',5'-АМФ, обеспечивая повышение концентрации 3',5'-АМФ в цитозоле (активаторы: адреналин, глюкоза).

5) Фосфодиэстераза катализирует разрыв фосфодиэфирной связи 3',5'-АМФ с образованием 5'-АМФ (активатор – инсулин):

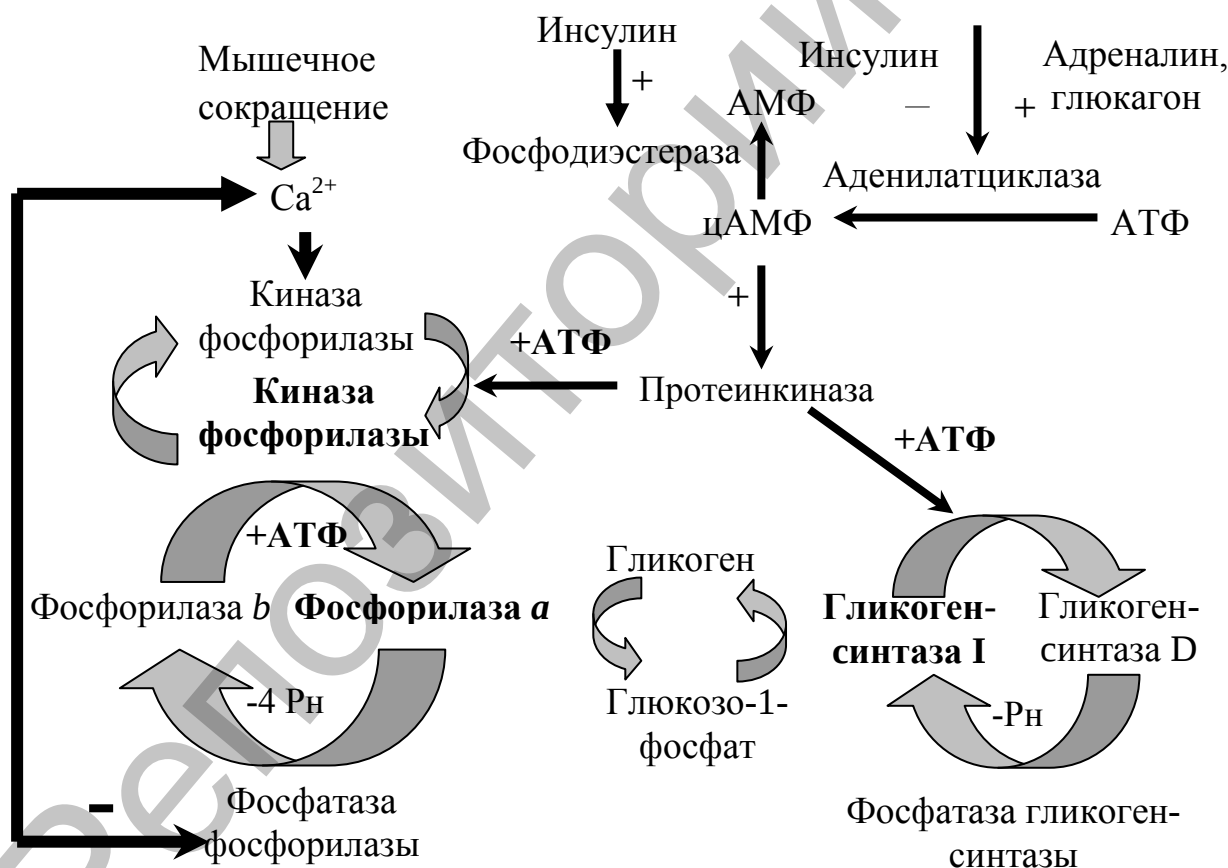


Рассмотрим схему **мобилизации гликогена**. Гормоны глюкагон (в печени) и адреналин стимулируют аденилатциклазу, в результате в цитозоле увеличивается концентрация цАМФ; цАМФ активирует протеинкиназу. Протеинкиназа фосфорилирует за счет АТФ белки-ферменты, в частности, фосфорилирует второй фермент из класса протеинкиназ – киназу фосфорилазы. Киназа фосфорилазы из неактивной дефосфорилированной формы переходит в активную фосфорилированную форму. Активная киназа фосфорилазы за счет АТФ переводит фосфорилазу «b» (неактивная) в фосфорилазу «a», которая катализирует фосфоролитическое расщепление гликогена. Параллельно протеинкиназа фосфорилирует гликогенсинтазу «I», переводя ее в неактивную гликогенсинтазу «D», т.е. тормозится синтез гликогена. Механизм каскадный и

позволяет 1 молекуле гормона привести к образованию 10^7 - 10^8 молекул глюкозы.

В мышцах есть дополнительные механизмы распада гликогена. При возбуждении мышц (нервный импульс) происходит освобождение ионов кальция, которые способны активировать протеинкиназу и, в частности, киназу фосфорилазы (связывание с кальмодулин-подобной субъединицей). Одновременно ингибируя фосфатазу фосфорилазы, ионы кальция приведут к преобладанию активной формы фосфорилазы «а», а, следовательно, к расщеплению гликогена. В некоторых случаях неинтенсивной работы фосфорилаза «b» может активироваться АМФ и H_3PO_4 без перехода в фосфорилазу «а». Однако при любом усилении деятельности мышц происходит фосфорилирование и переход формы «b» в форму фосфорилазы «а» (фосфорилаза «а» не чувствительна к АМФ).

РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА И РАСПАДА ГЛИКОГЕНА



Индукция синтеза гликогена. Инсулин, инактивируя аденилатциклазу и (или) активируя фосфодиэстеразу, снижает концентрацию цАМФ. Активность протеинкиназ будет падать и начнет преобладать активность протеинфосфатаз. В результате дефосфорилирования будет инактивироваться фосфорилаза «а» (перейдет в форму «b») и активироваться гликогенсинтаза (гликогенсинтаза «D»→«I»). В итоге будет сдвиг в сторону синтеза гликогена.

ОБМЕН ЛИПИДОВ

Функции липидов: 1) пластическая – липиды входят в состав мембран и определяют их свойства (проницаемость, жидкость, передача нервного импульса и др); 2) энергетическая – липиды служат энергетическим материалом для организма. При окислении 1 г жира выделяется 39 кДж/моль энергии, что в 2 раза больше, чем при окислении 1 г белков или углеводов. Липиды – долгосрочный резерв энергии; 3) защитная – липиды предохраняют тело и органы от механического повреждения и сохраняют тепло (подкожный жир, жировая капсула почек, сальник в брюшной полости); 4) регуляторная функция (эйкозаноиды, стероидные гормоны); 5) эмульгирование жиров (пищеварение), стабилизация липидсодержащих жидкостей (желчь) и транспорт гидрофобных молекул (мицеллы, липопротеины). С нарушениями обмена липидов связаны такие заболевания, как атеросклероз, ожирение, желчно-каменная болезнь и др.

Классификация липидов. Липиды – это группа соединений, не растворимых в воде, но растворимых в органических растворителях.

Липиды делятся на 2 группы: неомыляемые (не содержат жирных кислот) и омыляемые. К неомыляемым липидам относятся стероиды, каротиноиды и терпеноиды (построены из изопреновых остатков). Омыляемые липиды делятся на простые и сложные. К простым липидам относятся жиры – триацилглицерины (резерв энергии) и воски – эфиры одноатомного спирта с жирной кислотой (кожное сало). Сложные липиды делятся на фосфолипиды и гликолипиды. В зависимости от спирта фосфолипиды подразделяются на глицерофосфолипиды – фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол, плазмалогены (вместо одного остатка жирной кислоты включен ее альдегид) и сфингофосфолипиды (входят в состав мембран и липопротеинов). Гликолипиды делятся на ганглиозиды – аминокислотный спирт сфингозин, жирная кислота, гексозы, N-ацетилнейраминная кислота (плазматические мембраны нервных и глиальных клеток, серое вещество); цереброзиды – аминокислотный спирт сфингозин, жирная кислота, галактоза; сульфатиды – цереброзидсульфаты (миелиновые оболочки, белое вещество).

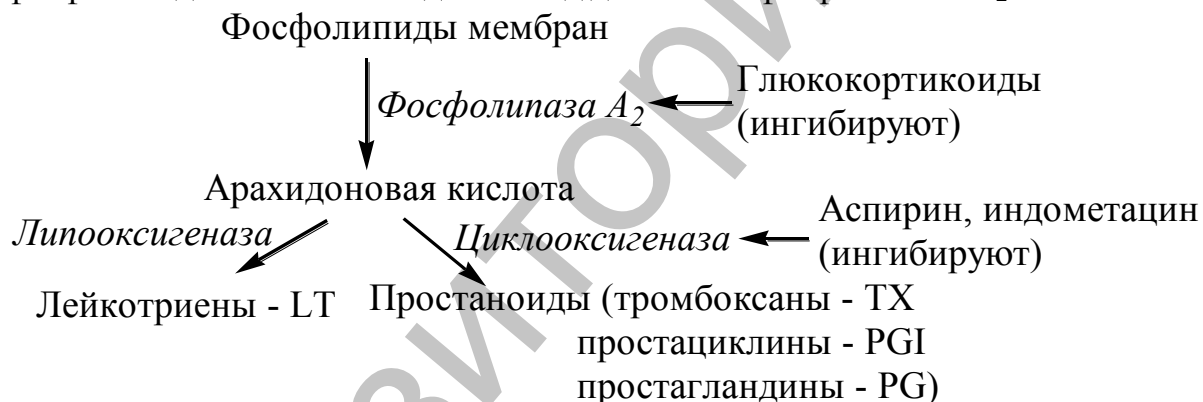
Характеристика жирных кислот. Жирные кислоты, входящие в состав омыляемых липидов, могут быть насыщенными и ненасыщенными, как правило, содержат четное число углеродных атомов (12-22) и являются неразветвленными. Незаменимыми (эссенциальными) являются линолевая, линоленовая и арахидоновая кислоты. При достаточном поступлении с пищей линолевой кислоты имеется адекватный синтез арахидоновой кислоты. Незаменимые жирные кислоты выполняют три важные функции: 1) из них образуются биорегуляторы – эйкозаноиды; 2) они обеспечивают текучесть мембраны; 3) предотвращают отложение холестерина и других липидов в стенках кровеносных сосудов.

Эйкозаноиды – это производные эйкозаполиеновых жирных кислот, т.е. C_{20} -жирных кислот. Их делят на простаноиды и лейкотриены. Термин *простагландины* часто используют для обозначения всех простаноидов.



Простагландины были вначале открыты в семенной жидкости. Сейчас известно, что они содержатся практически во всех тканях и их называют «местные гормоны». Они синтезируются из арахидоновой кислоты. Простагландины делятся на группы А, В, Е, D, F в зависимости от строения пятичленного кольца и характера заместителя. В зависимости от числа двойных связей все простагландины делятся на группы: 1, 2, 3. Группа указывается цифрой справа внизу от названия, например: PGE_1 , $PGF_{2\alpha}$.

Источником арахидоновой кислоты являются фосфолипиды мембран. Из фосфолипидов она освобождается под действием фосфолипазы A_2 .



В активации фосфолипазы принимает участие Ca^{2+} , тромбин, ангиотензин II, брадикинин, липопероксиды, адреналин.

Глюкокортикоиды тормозят активность фосфолипазы A_2 , тем самым ингибируют синтез всех эйкозаноидов. Арахидоновая кислота может вступать в циклооксигеназный и липоксигеназный пути превращения. Инактивация простагландинов происходит при участии фермента 15-гидрокси-простагландин-дегидрогеназы, который встречается во всех тканях, но больше всего в легких. Время жизни простагландинов короткое – один оборот крови. В мембранах клеток различных тканей есть рецепторы для простагландинов. После связывания PGE с рецепторами в клетках увеличивается содержание цАМФ, а в случае PGF – цГМФ. Поэтому часто эффекты разных простагландинов могут быть противоположными. Например, PGE вызывает расслабление, а PGF – сокращение гладких мышц матки (т.е. PGE способствует оплодотворению, а PGF – вызывает аборт). PGE индуцируют аллергические реакции, а PGF – их подавляют. PGE_1 является

мощным пирогеном. Терапевтический эффект аспирина связан с подавлением синтеза простагландинов, т.к. аспирин ингибирует циклооксигеназу.

Простаглицлины образуются в эндотелиальных клетках эндокарда и сосудов. Они препятствуют агрегации тромбоцитов; расширяют коронарные сосуды и снижают давление крови, действуя на гладкие мышцы сосудов.

Тромбоксаны образуются в тромбоцитах и обладают противоположным действием. Лейкотриены образуются в лейкоцитах, мастоцитах, тромбоцитах и макрофагах. Липоксигеназа вводит кислород в 5, 12 и 15 положения арахидоновой кислоты, образуя гидропероксиды. Только 5-липоксигеназа образует LT ($\text{LTA}_4 \rightarrow \text{LTB}_4 (\text{C}_4) \rightarrow \text{LTD}_4, \text{LTE}_4$). Лейкотриены участвуют в воспалительных реакциях, в реакциях гиперсенситилизации, суживают мускулатуру бронхов.

Переваривание липидов. В ротовой полости и желудке нет ферментов и условий для переваривания липидов. 12-перстная кишка: 1) эмульгирование пищи с помощью желчных кислот и перистальтики. 2) Из *pancreas* выделяется липаза, которая в 12-перстной кишке активируется колипазой. Комплекс адсорбируется на поверхности капелек жира и гидролизует сложнэфирные связи триацилглицеринов. 3) Фосфолипиды гидролизуются панкреатическими фосфолипазами A_1 , A_2 , C, Д. 4) Эфиры холестерина гидролизуются панкреатической холестеролэстеразой на холестерин и жирную кислоту. Гидрофобные продукты переваривания всасываются в составе мицелл, состоящих из желчных кислот, фосфолипидов и холестерина в соотношении 12,5:2,5:1. Жиры гидрофобны, поэтому существуют специальные механизмы их транспорта в крови.

Транспорт жиров. Свободные (неэстерифицированные) жирные кислоты – НЭЖК – переносятся кровью в виде комплексов с альбуминами. Холестерин, его эфиры, триацилглицерины, фосфолипиды транспортируются в составе липопротеинов. Существует несколько классов липопротеинов (ЛП), но всех их объединяют следующие особенности: 1) поверхностный слой липопротеинов состоит из фосфолипидов, свободного холестерина и белков; 2) каждый липопротеин содержит особый набор поверхностных белков – аполипиды (апо); 3) сердцевина (ядро) липопротеина состоит из гидрофобных триацилглицеринов, эфиров холестерина.

Липопротеины подразделяются на 4 основные класса в зависимости от плотности (определяемой с помощью ультрацентрифугирования) и электрофоретической подвижности. Признается следующая номенклатура (исходя из метода разделения ЛП):

Класс	Ультрацентрифугирование	Электрофорез
Хиломикроны	Хиломикроны	Хиломикроны
Липопротеины очень низкой плотности	ЛПОНП (VLDL)	пре- β -ЛП

Лipoppoтeины низкой плотности	ЛПНП (LDL)	β-ЛП
Лipoppoтeины высокой плотности	ЛПВП (HDL)	α-ЛП

Самые крупные частицы – хиломикроны и ЛПОНП – содержат много триацилглицеринов (до 80%) и мало белков (2-10%). При электрофорезе ХМ остаются на старте. ЛПНП содержат много холестерина (основной транспортер холестерина). ЛПВП содержат много фосфолипидов и белков; у этих ЛП компоненты оболочки преобладают над сердцевиной.

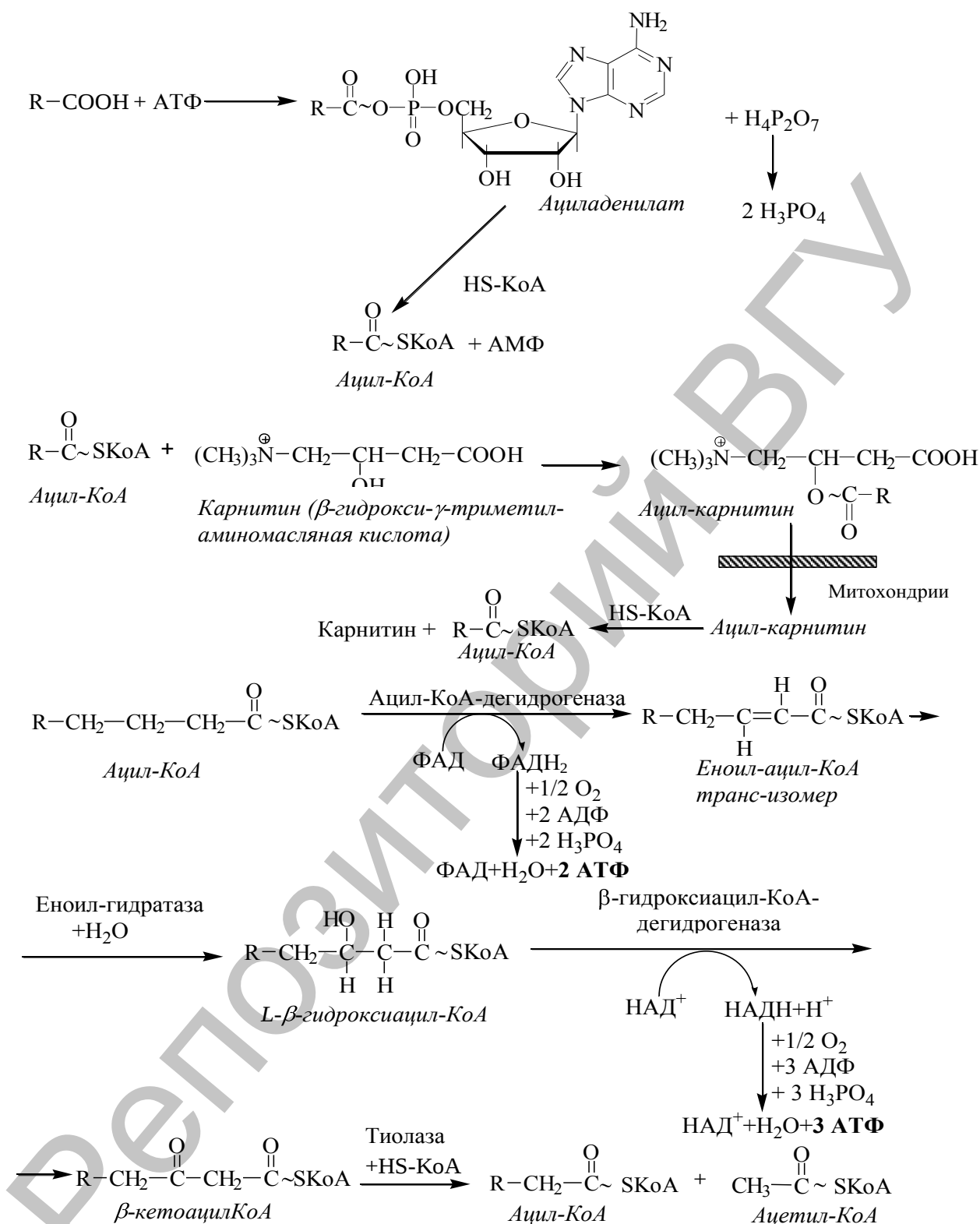
Различают экзогенный (транспорт пищевых липидов) и эндогенный (транспорт липидов, синтезированных в организме) транспорт.

β-окисление жирных кислот. Окисление жирных кислот с энергетической целью происходит в печени, почках, скелетной и сердечной мышцах. Окисление жирных кислот происходит в митохондриях. Этот процесс условно делят на 3 этапа: 1) активация жирных кислот в цитозоле и их транспорт в митохондрии; 2) сам процесс; 3) окисление образующегося ацетил-КоА в ЦТК.

Первый этап: активация жирной кислоты происходит в цитозоле под действием ферментов ацил-КоА синтетаз (тиокиназ). Образованный ацил-КоА переносится через мембрану митохондрий с помощью карнитина (β-гидрокси-γ-триметиламиномасляная кислота) и ферментов, локализованных в цитозоле и митохондриях, – карнитинацил-трансфераз.

В цитозоле образуется ацил-карнитин, который способен транспортироваться через мембрану митохондрий. В митохондриях происходит обратный процесс под действием митохондриальной карнитинацилтрансферазы и ацил-КоА освобождается. На протяжении **второго** этапа происходит дегидрирование – гидратация – дегидрирование, ведущее к укорочению жирной кислоты на два углеродных атома в виде ацетил-КоА. **Третий этап:** ацетил-КоА + ЩУК → ЦТК (12 АТФ). Укороченный ацил-КоА вновь вступает в следующий цикл β-окисления.

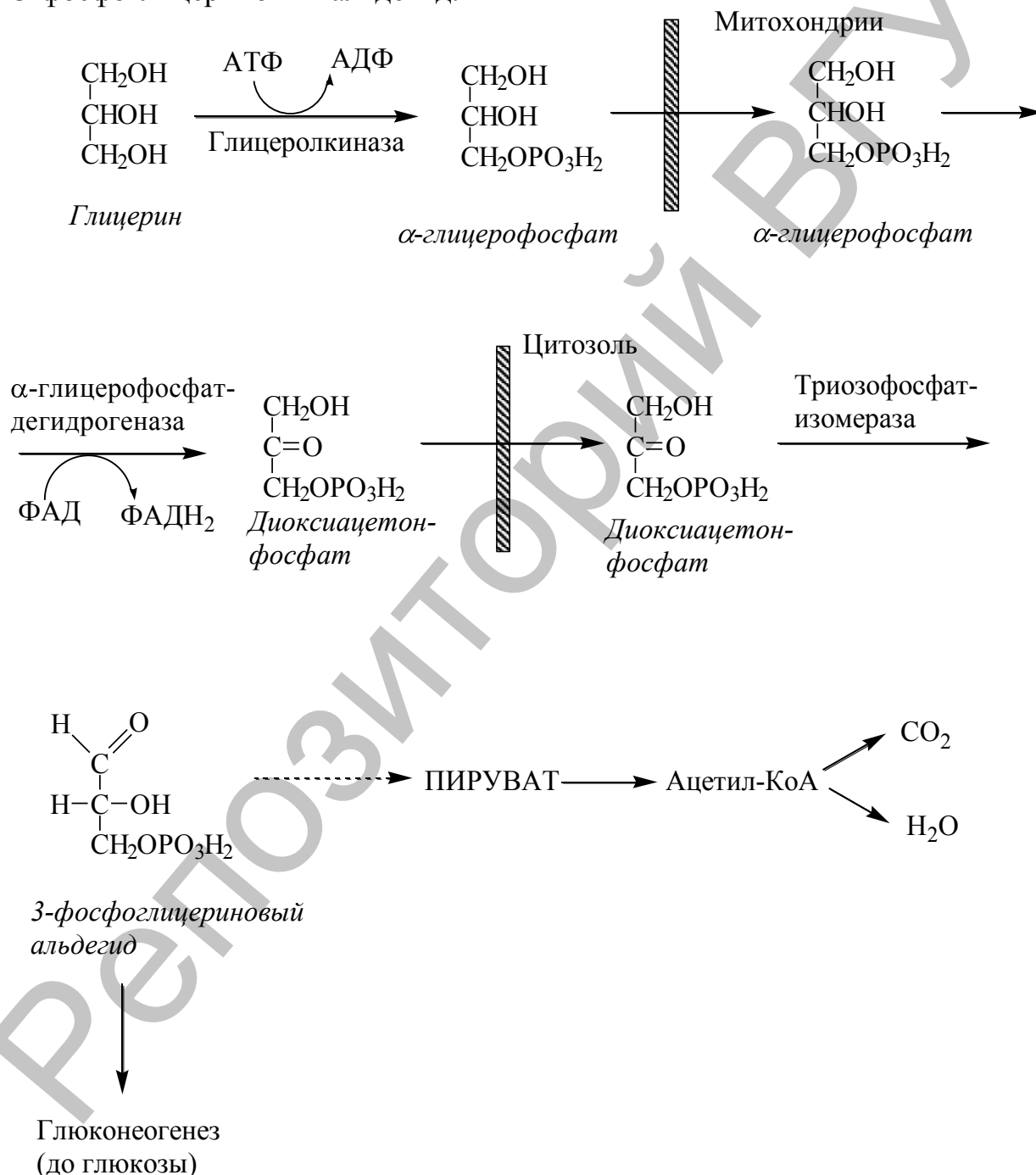
Катаболизм жирных кислот обеспечивает продукцию энергии. Расчет выделяемой энергии ведут по формуле: $[5(n/2 - 1) + n/2 \cdot 12] - 1$, где: 5 – число молекул АТФ, образуемое при одном акте β-окисления; n – число атомов углерода в жирной кислоте; n/2-1 – число актов β-окисления; n/2 – число молекул ацетил-КоА; 12 – число молекул АТФ при полном окислении одной молекулы ацетил-КоА; 1 – молекула АТФ, которая затрачена на активацию жирной кислоты. Следует учитывать, что β-окисление – источник эндогенной H₂O (верблюды). Скорость окисления ненасыщенных жирных кислот выше, чем насыщенных.



Регуляция окисления жирных кислот. При регуляции окисления первостепенное значение имеет доступность жирных кислот. Поступление жирных кислот определяется содержанием жиров в пище и скоростью липолиза эндогенных липидов. Вторым контролирующим фактором является уровень запаса энергии в клетке: β -окисление жирных кислот активируется

АДФ и ингибируется АТФ. При липолизе триацилглицеринов жировых клеток (или ХМ и ЛПОНП) кроме жирных кислот образуется глицерин.

Окисление глицерина. Глицерин свободно транспортируется кровью. В почках, печени, лактирующих молочных железах имеется фермент глицеролкиназа, который в цитозоле катализирует фосфорилирование глицерина в α -глицерофосфат, который превращался в 3-фосфоглицериновый альдегид.



Дальнейшие превращения 3-фосфоглицеринового альдегида могут быть двоякими:

1) по реакциям глюконеогенеза:

$\text{ДАФ} + 3\text{-ФГА} \rightarrow \text{Ф-1,6-БФ} \rightarrow \text{Ф-6-Ф} \rightarrow \text{Г-6-Ф} \rightarrow \text{глюкоза}.$

2) По реакциям гликолиза:

$3\text{-ФГА} \rightarrow 1,3\text{-БФГК} \rightarrow 3\text{-ФГК} \rightarrow 2\text{-ФГК} \rightarrow \text{ФЭП} \rightarrow \text{пируват} \rightarrow \text{ацетил-КоА} \rightarrow \text{ЦТК}.$

Энергетический баланс окисления глицерина до CO_2 и H_2O :

- на стадии глицеролкиназы - 1 АТФ;
- на стадии α -глицерофосфатдегидрогеназы + 2 АТФ;
- на стадии дегидрогеназы $3\text{-ФГА} \rightarrow \text{НАДН} + \text{H}^+ \rightarrow + 3 \text{ АТФ};$
- на стадии глицераткиназы + 1 АТФ;
- на стадии пируваткиназы + 1 АТФ;
- при окислительном декарбоксилировании пирувата в ацетил-КоА $\rightarrow \text{НАДН} + \text{H}^+ \rightarrow + 3 \text{ АТФ};$
- окисление ацетил-КоА в ЦТК и сопряженных цепях переноса электронов $\rightarrow + 12 \text{ АТФ}.$ Итого: $22 - 1 = 21 \text{ АТФ}.$

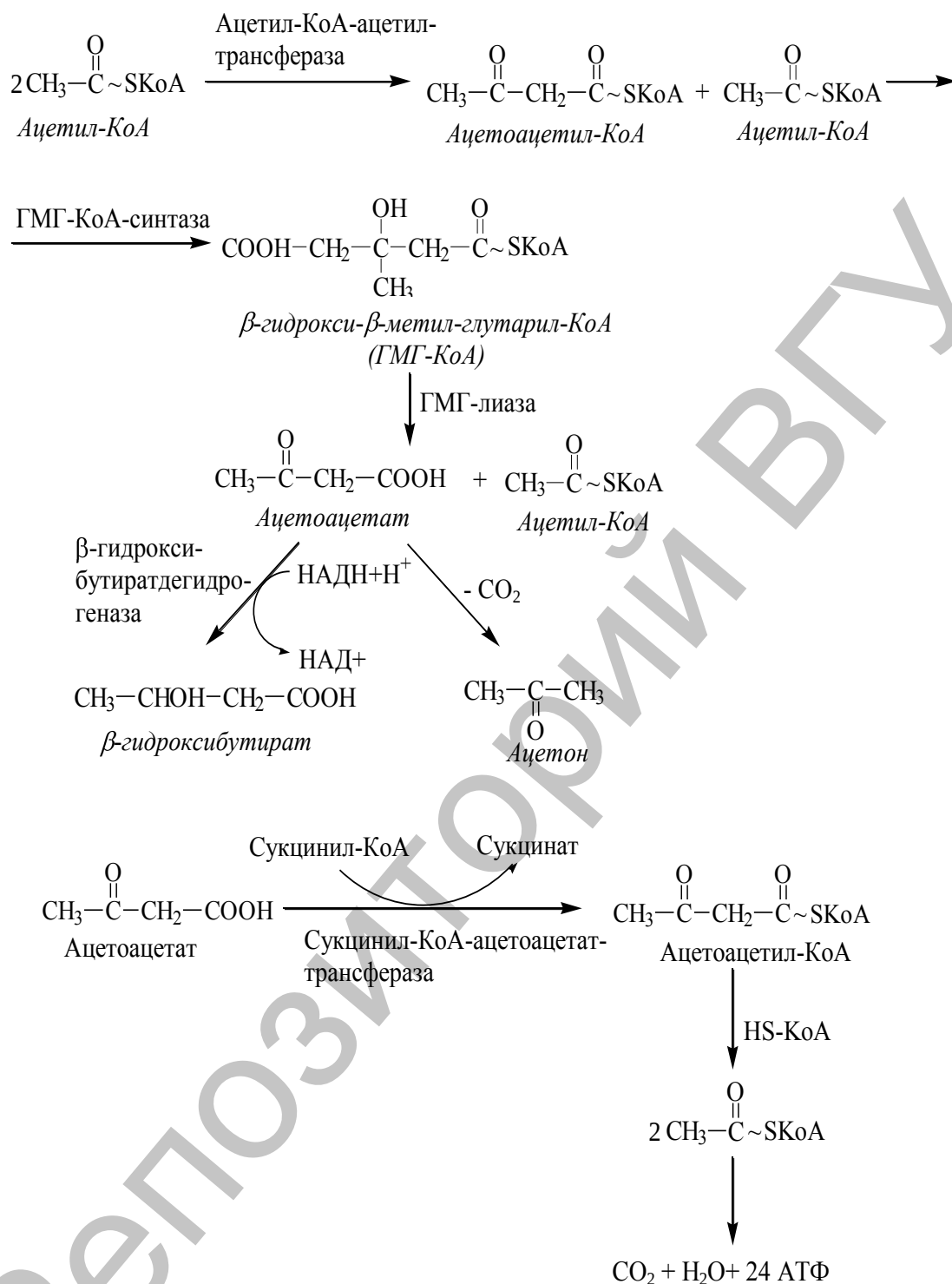
Ацетил-КоА, образующийся при β -окислении, служит субстратом для трех важнейших метаболических путей: 1) окисление в ЦТК; 2) биосинтез жирных кислот; 3) образование мевалоновой кислоты и кетоновых тел.

Синтез кетоновых тел. Ацетил-КоА включается в ЦТК при условии, когда расщепление жиров и углеводов сбалансировано. Ускоренный катаболизм жирных кислот или сниженный уровень использования углеводов (как по отдельности, так и в сочетании) могут приводить к накоплению ацетил-КоА и синтезу из него кетоновых тел: ацетоацетата, β -гидроксибутирата и ацетона.

Синтез кетоновых тел протекает в печени, в митохондриях. Ацетоацетат образуется из ацетил-КоА в 3 стадии. Вначале 2 молекулы ацетил-КоА конденсируются с образованием ацетоацетил-КоА:

$2 \text{ ацетил-КоА} \rightarrow \text{ацетоацетил-КоА} + \text{ацетил-КоА} \rightarrow \beta\text{-гидрокси-}\beta\text{-метил-глутарил-КоА (ГМГ-КоА)} \rightarrow \text{ацетоацетат} + \text{ацетил-КоА}.$

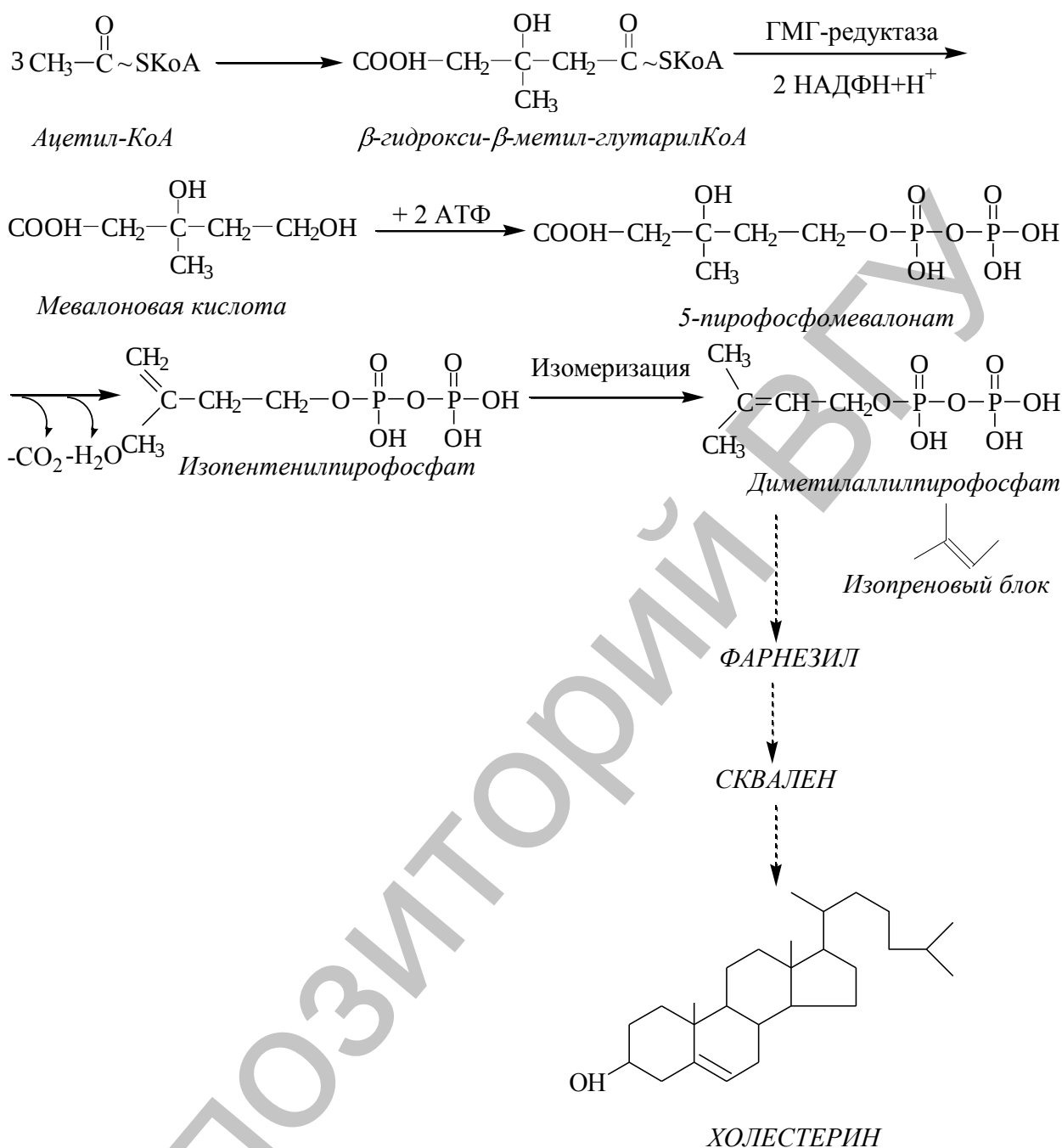
Ацетоацетат спонтанно декарбоксилируется с образованием ацетона или гидрируется с помощью β -гидроксибутират-дегидрогеназы в β -гидроксибутират. **Ацетоацетат, ацетон и β -гидроксибутират – кетоновые тела.** В норме образуется небольшое количество кетоновых тел. В печени ацетоацетат не может окисляться, поэтому с током крови ацетоацетат попадает в скелетные и сердечную мышцы, мозг, которые способны превращать ацетоацетат вновь в ацетил-КоА: $\text{ацетоацетат} + \text{сукцинил-КоА} \rightarrow \text{ацетоацетил-КоА} + \text{HS-КоА} \rightarrow 2 \text{ ацетил-КоА} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + 24 \text{ АТФ}.$



Следовательно, в норме ацетоацетат выполняет роль источника энергии для скелетной, сердечной мышц, мозга. Кетогенез регулируется на 3-х этапах: 1) на этапе освобождения жирных кислот в жировой ткани; 2) активностью карнитин-пальмитоилтрансферазы-I печени; 3) условиями использования ацетил-КоА в ЦТК или в синтезе ГМГ-КоА. При голодании и диабете образуется избыток кетоновых тел. Это приводит к их накоплению в крови → метаболический ацидоз. При большом избытке кетоновых тел они выводятся почками, т. е. возникает кетонурия. В тяжелых случаях аце-

тон выводится через легкие и может быть обнаружен в выдыхаемом воздухе.

Синтез холестерина (холестерола). Холестерин может поступать с пищей или синтезироваться *de novo*. Синтез холестерина осуществляется в клетках почти всех органов и тканей, однако в значительных количествах: в печени – 80%, в пищеварительном тракте – 10% и коже – 5%. За сутки в организме взрослого синтезируется около 500 мг холестерина. Синтез происходит из ацетил-КоА с затратой АТФ в эндоплазматическом ретикулуме, необходимы Mg, НАДФН₂. В синтезе выделяют 3 этапа: 1 этап. Образование 5-углеродного фрагмента – изопрена. Начало синтеза совпадает с синтезом кетонных тел: 3 ацетил-КоА → ГМГ-КоА + 2 НАДФН + Н⁺ → мевалонат + 2 АТФ мевалонатпирофосфат → изопентенилпирофосфат + CO₂ + H₂O → диметилаллилпирофосфат (5 С-изопреновый блок). ГМГ-КоА редуктаза – реакция образования мевалоната – необратимая реакция, которая определяет скорость синтеза холестерина. Активность ГМГ-редуктазы и скорость синтеза холестерина ускоряются при снижении содержания холестерина в печени, пище, при действии радиации, введении тиреоидных гормонов, инсулина. Угнетение активности ГМГ-редуктазы отмечается при голодании, тироектомии, введении холестерина, глюкагона, глюкокортикоидов. Предполагают, что ГМГ-редуктаза активна в дефосфорилированном состоянии (эффект инсулина) и неактивна в фосфорилированном состоянии (повышение уровня цАМФ за счет действия глюкагона). 2 этап: конденсация изопреновых блоков в сквален – 30 С. 3 этап: модификация и образование холестерина – 27 С.



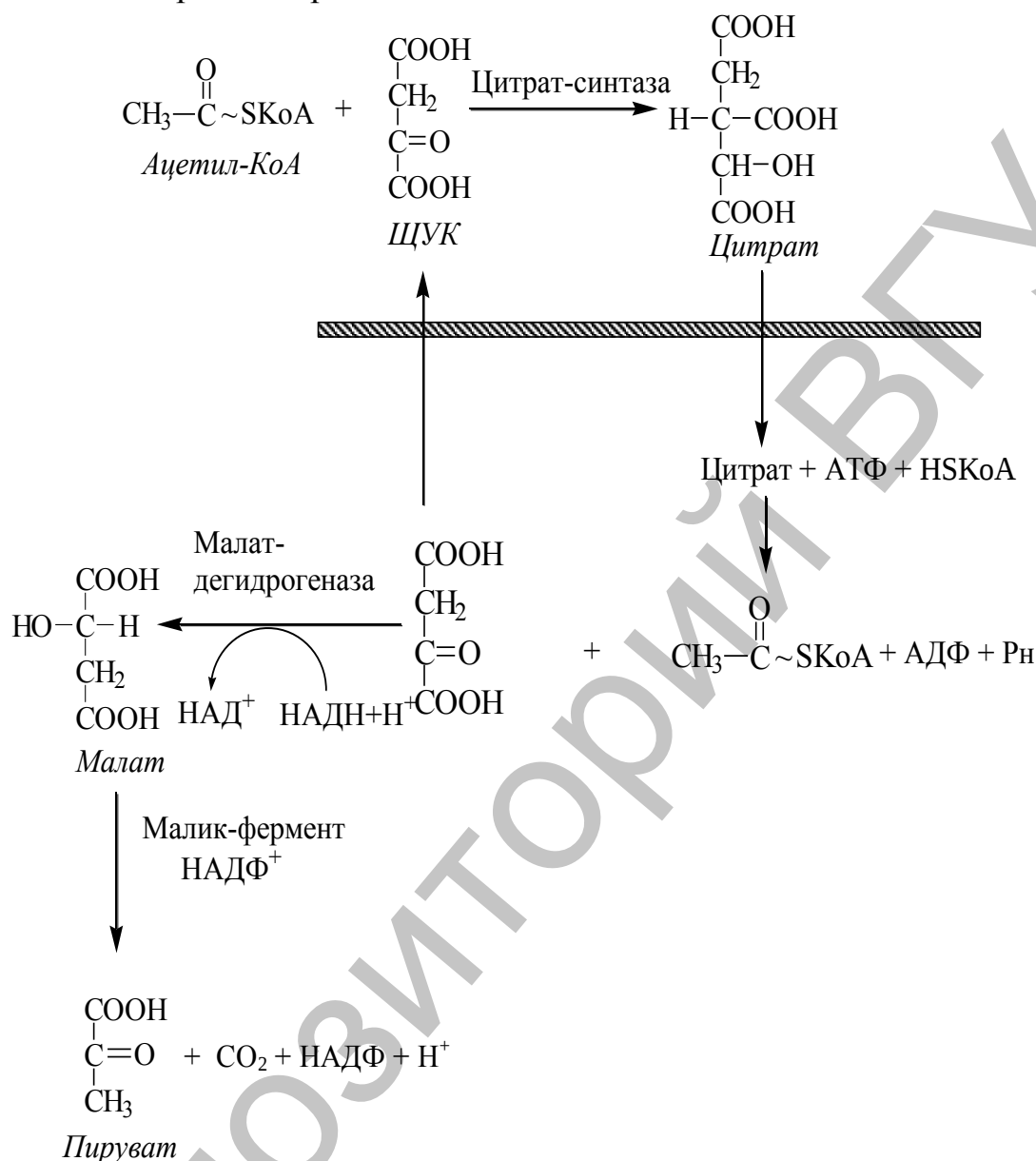
Биосинтез жирных кислот. В цитозоле ацетил-КоА превращается в жирные кислоты в 3 этапа: 1) транспорт ацетил-КоА из митохондрий в цитозоль; 2) образование малонил-КоА; 3) удлинение жирной кислоты на 2 атома углерода за счет малонил-КоА до образования пальмитиновой кислоты.

1 этап: перенос ацетил-КоА из митохондрий в цитозоль с помощью цитратного челночного механизма.

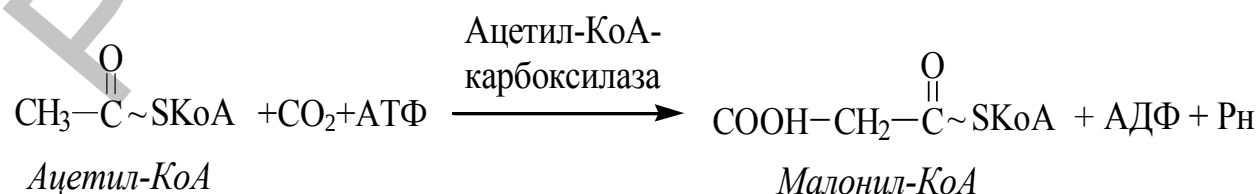
Образующаяся ЩУК может вернуться в митохондрии с помощью транслоказы, но чаще восстанавливается до малата.

Далее малат декарбоксилируется НАДФ-зависимой малатдегидрогеназой (маликфермент).

Кроме этого, генераторами НАДФН+Н⁺ являются пентозофосфатный путь и изоцитратдегидрогеназа.

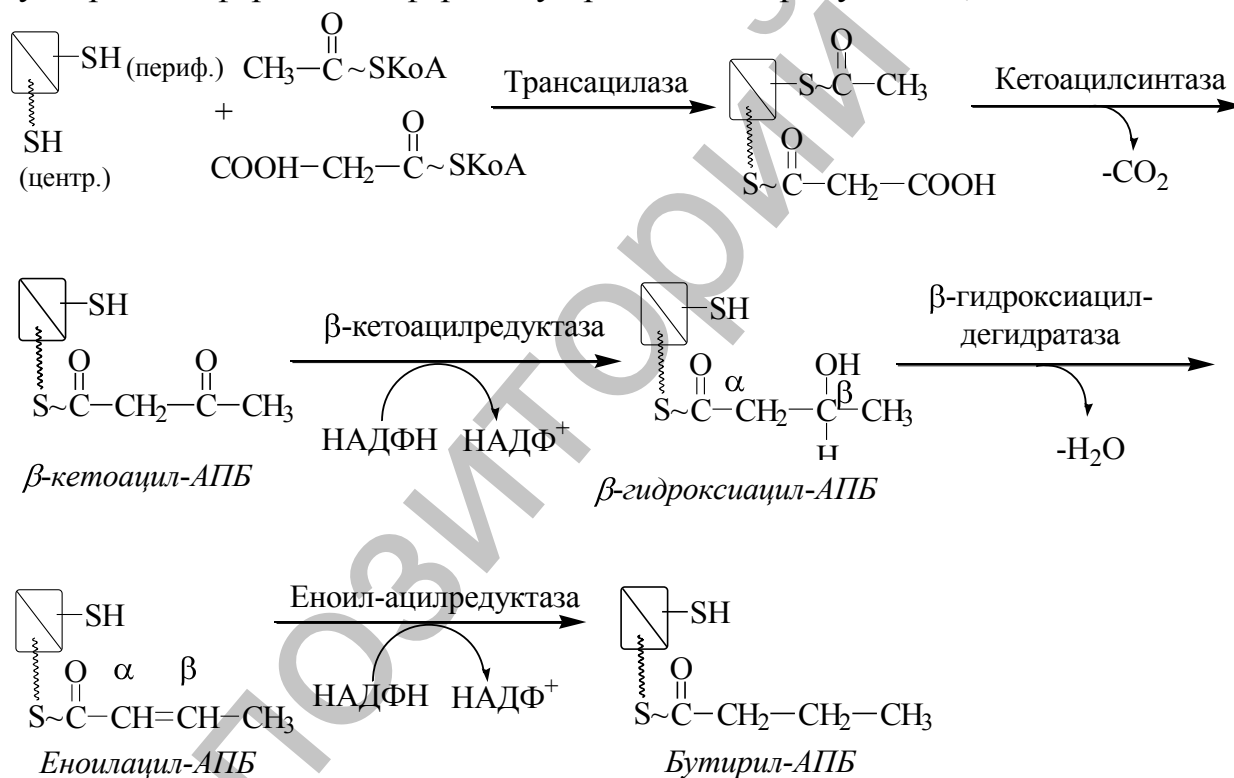


2 этап: ацетил-КоА карбоксилируется под действием ацетил-КоА-карбоксилазы, сложного фермента, коферментом которого является витамин Н-биотин. Эта реакция лимитирует скорость всего процесса синтеза жирных кислот: активатор – цитрат, ингибитор – синтезированная жирная кислота.



3 этап: протекает при участии мультиферментного синтазного комплекса. Он состоит из двух полипептидных цепей. Каждая полипептидная

цепь содержит по 6 ферментов синтеза жирных кислот (трансацилаза, кетоацил-синтаза, кетоацил-редуктаза, гидратаза, еноил-редуктаза, тиюэстераза). Ферменты связаны между собой ковалентными связями. Ацилпереносящий белок является также частью полипептидной цепи, но это не фермент. Его функция связана только с переносом ацильных радикалов. В процессе синтеза важную роль играют SH-группы. Одна из них принадлежит 4-фосфопантетеину, входящему в состав АПБ (ацилпереносящий белок) и вторая – цистеину кетоацил-синтазы. Первую называют центральной, а вторую – периферической SH-группой. Функциональная единица синтеза жирных кислот состоит из половины одного мономера, взаимодействующей с комплементарной половиной второго мономера. Следовательно, на синтазном комплексе одновременно синтезируются 2 жирные кислоты. Активной является только димерная форма комплекса. Перенос субстрата от фермента к ферменту происходит при участии АПБ.



При участии трансацилазы остатки малонила переносятся на центральную SH-группу, а ацетила – на периферическую. Кетоацил-синтаза переносит ацетильный остаток с периферической SH-группы на остаток малонила. Это реакция конденсации. Энергия для нее освобождается при одновременном декарбоксилировании. Для удаления O_2 далее проходят 3 последовательные реакции: восстановление – дегидратация – восстановление. Первая реакция восстановления происходит при участии кетоацилредуктазы с коферментом НАДФН, при этом кетогруппа восстанавливается в спиртовую. Удаление H_2O происходит при участии гидроксиацилгидратазы. Далее следует восстановление двойной связи еноилредуктазой

(кофермент НАДФН). В итоге произошло удлинение на 2 углеродных атома. Если нужна масляная кислота (бутират), то тиоэстераза (деацилаза) отщепляет масляную кислоту с центральной SH-группы на цитоплазматический КоА. Если необходима жирная кислота с более длинной цепью, трансацилаза переносит остаток масляной кислоты на периферическую SH-группу, а к центральной SH-группе вновь переносится малонил-КоА и процесс присоединения 2-х углеродных атомов повторяется. Этот процесс продолжается до образования пальмитиновой кислоты (часто весь комплекс называют пальмитат-синтазным комплексом). Она отщепляется тиоэстеразой и соединяется с цитоплазматическим КоА. Полученный пальмитоил-КоА может ингибировать пальмитатсинтазу, вызывая диссоциацию на две полипептидных цепи. Итоговое уравнение синтеза пальмитиновой кислоты: $\text{CH}_3\text{-CO-SKoA} + 7 \text{HOOC-CH}_2\text{CO-SKoA} + 14 \text{НАДФН} + 14\text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH} + 7 \text{CO}_2 + 6 \text{H}_2\text{O} + 8 \text{SH-KoA} + 14 \text{НАДФ}^+$.

Дальнейшая судьба пальмитоил-КоА двоякая: 1) участие в процессах эстерификации с образованием ацилглицеринов и эфиров холестерина; 2) дальнейшее удлинение цепи (элонгация и десатурация).

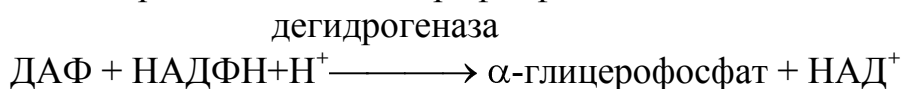
Полиеновые жирные кислоты – **линолевая и линоленовая – не синтезируются**, а поступают с пищей (незаменимые). Остальные полиненасыщенные синтезируются из них. Особенно важен синтез арахидоновой кислоты, являющейся предшественником эйкозаноидов.

Скорость синтеза жирных кислот регулируется кратковременными и долгосрочными механизмами контроля. Кратковременная регуляция аллостерически на уровне ацетил-КоА-карбоксилазы (цитрат – активатор, пальмитат и др. жирные кислоты – ингибитор). Долговременная регуляция осуществляется через синтез ферментов и их деградацию при участии гормонов. Инсулин активирует ацетил-КоА-карбоксилазу путем дефосфорилирования фермента (кратковременно) и способен вызывать долгосрочную индукцию синтеза фермента. Глюкагон и адреналин оказывают противоположное действие.

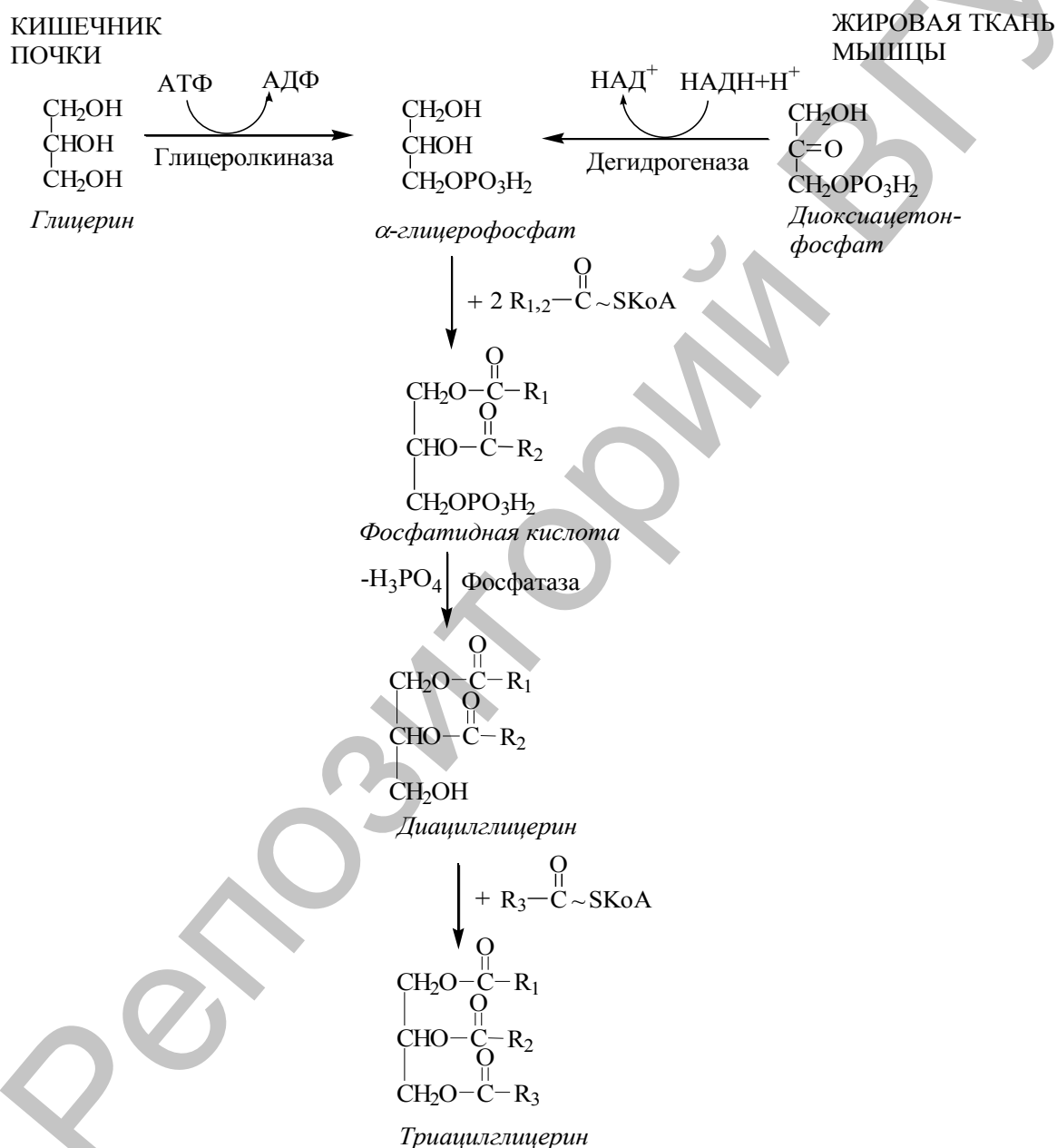
Триацилглицеролы (триглицериды) синтезируются во многих органах и тканях, но наиболее важную роль в их синтезе играют печень, стенка кишечника, лактирующая молочная железа и жировая ткань. Для синтеза необходимы активная форма глицерина – α -глицерофосфат и активные формы жирных кислот – ацил-КоА. Активная форма глицерина может происходить двумя способами:

1) в стенке кишечника и почках есть активная глицеролкиназа: глицерин + АТФ $\rightarrow$ α -глицерофосфат + АДФ;

2) в жировой ткани и мышцах активность этого фермента очень низкая и образование α -глицерофосфата связано с гликолизом:



В печени имеют место оба пути образования α -глицерофосфата. α -Глицерофосфат, образованный любым из этих путей, взаимодействует с двумя молекулами активированных жирных кислот с образованием фосфатидной кислоты: $\alpha\text{-ГФ} + 2 \text{ ацил-КоА} \rightarrow \text{фосфатидная кислота}$. Далее фосфатидная кислота дефосфорилируется с образованием диацилглицерина. К диацилглицерину присоединяется третья молекула ацил-КоА и образуется триацилглицерин.



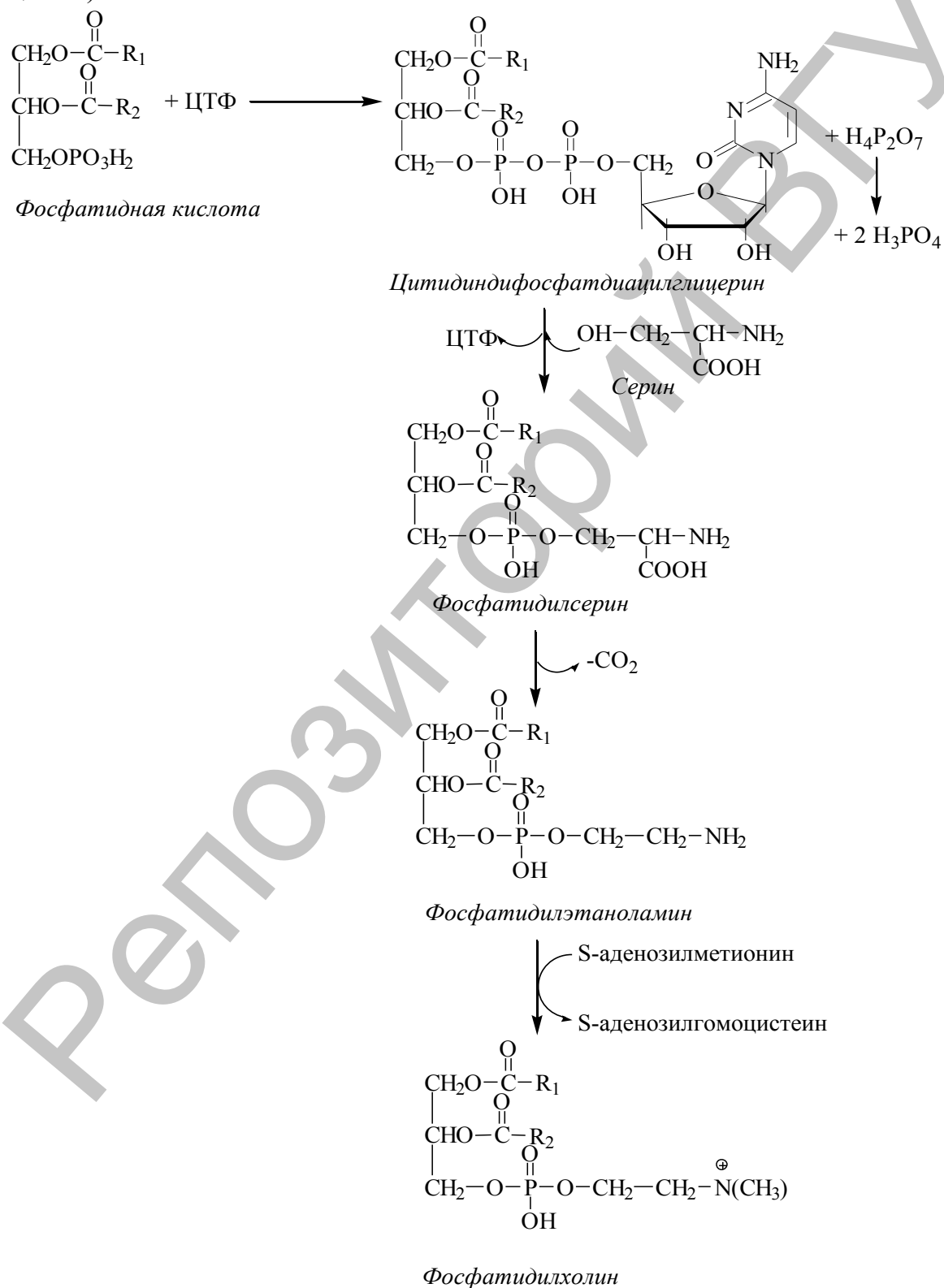
Биосинтез глицерофосфолипидов. Наиболее интенсивно происходит в печени, стенке кишечника, семенниках, молочной железе. Реакции синтеза локализованы в эндоплазматической сети. Синтез идет от фосфатидной кислоты.

Фосфатидная кислота + ЦТФ $\rightarrow$ цитидиндифосфатдиацилглицерин (ЦДФ-ДАГ) + РР_Н.

ЦДФ-ДАГ + серин $\rightarrow$ фосфатидилсерин + ЦМФ.

Фосфатидилсерин $\rightarrow$ фосфатидилэтаноламин + CO₂.

Фосфатидилэтаноламин + 3 S-аденозилметионин $\rightarrow$ фосфатидилхолин (лецитин).



ЦДФ-ДАГ + инозитол $\rightarrow$ фосфатидилинозитол + ЦМФ.

Фосфатидилинозитол + АТФ $\rightarrow$ фосфатидилинозитол-4-фосфат + АДФ.

Фосфатидилинозитол-4-фосфат + АТФ $\rightarrow$ фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат + АДФ.

Фосфатидилхолин является основной молекулой, образующей бислой мембран, внешний слой липопroteинов. Инозитол-4,5-бисфосфат мембран является субстратом для фосфолипазы С, что ведет к образованию вторичных внутриклеточных посредников, регулирующих фосфорилирование-дефосфорилирование белков (ферментов).

Жировая ткань. Жировая ткань – депо жира. Липоциты метаболически активны. Они обладают способностью синтезировать жирные кислоты при поступлении пищи и освобождать их между приемами пищи.

Для синтеза жиров в жировой ткани важное значение имеет гликолиз. В жировых клетках нет глицеролкиназы, поэтому они должны получать α -глицерофосфат, необходимый для синтеза фосфатидной кислоты, путем восстановления образующегося при гликолизе диоксиацетонфосфата. Помимо синтеза жиров из глюкозы крови, жировая ткань может использовать жирные кислоты, освобождающиеся из липопroteинов крови после действия липопroteинлипазы:

1) действие гормонально чувствительной триацилглицероллипазы, которая стимулируется цАМФ;

2) действие ферментов, которые полностью гидролизуют диацилглицеролы и моноацилглицеролы. Триацилглицероллипаза активируется по аденилатциклазному механизму адреналином и глюкагоном.

Жировая клетка не способна к образованию липопroteинов и, следовательно, не может экспортировать свои жиры в кровоток. Все образуемые в жировой ткани триацилглицеролы резервируются в виде жировой капли. Жировая ткань, помимо внеклеточной липопroteинлипазы, содержит внутриклеточную липазную систему, действующую на депонирование триацилглицеролов.

Обмен холестерина (холестерола). Холестерин образуется из основного метаболита общего пути катаболизма – ацетил-КоА. Поэтому его концентрация теоретически может отражать состояние метаболизма. Холестерин входит в состав мембран и служит для синтеза гормонов продления рода (половые стероиды) и приспособления организма (глюкокортикоиды).

Все реакции превращения холестерина бывают двух типов: 1) реакции эстерификации; 2) реакции окисления. Реакции эстерификации повышают гидрофобность молекулы и приводят к накоплению холестерина. В реакциях окисления (образование желчных кислот, стероидных гормонов) полярность молекул увеличивается и холестерин удаляется из организма.

ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ

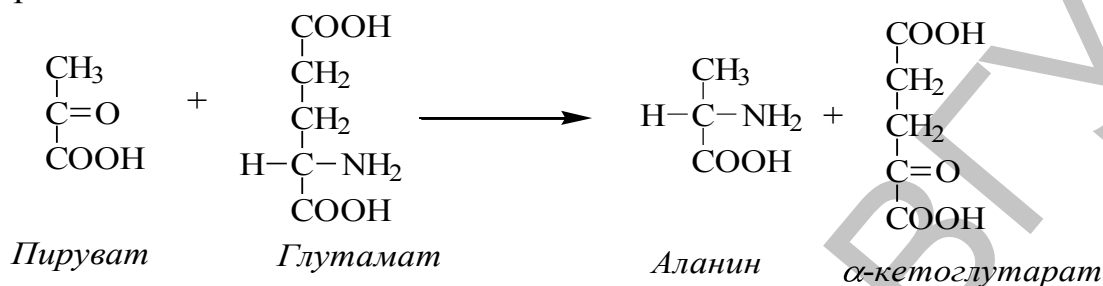
Источники и пути расходования аминокислот. Основные источники аминокислот: 1) переваривание белков и всасывание аминокислот; 2) внутриклеточный протеолиз белков (катепсины); 3) образование заменимых аминокислот. Основные пути расходования аминокислот: 1) синтез пептидов и белков (основной путь); 2) синтез небелковых азотсодержащих соединений (пуринов, пиримидинов, НАД, фолиевой кислоты, КоА и др.), тканевых биорегуляторов (гистамин, серотонин), медиаторов (норадреналин, ацетилхолин); 3) синтез углеводов (глюконеогенез) с использованием углеродных скелетов аминокислот; 4) синтез липидов с использованием ацетильных остатков углеродных скелетов аминокислот; 5) окисление до конечных продуктов с выделением энергии.

Динамическое состояние белков в организме, азотистый баланс. Белки находятся в динамическом состоянии, т.е. обмениваются. В организме человека ежедневно обменивается примерно 400 г белков. Около 25% этого количества, т.е. 100 г аминокислот подвергается распаду, и эти потери восполняются пищей. Период полураспада белков различен – от минут до многих суток (чаще 5-15 суток). Поскольку аминокислоты являются главным источником азота для азотсодержащих соединений, они определяют состояние азотистого баланса организма. Азотистый баланс – это разность между N вводимым с пищей и N теряемым с выделениями. Возможны три варианта: 1) азотистое равновесие $N_{\text{ввод}} = N_{\text{теряемый}}$ (зрелый возраст); 2) положительный азотистый баланс $N_{\text{ввод}} > N_{\text{теряемый}}$ (рост, введение анаболических препаратов, развитие плода); 3) отрицательный азотистый баланс $N_{\text{ввод}} < N_{\text{теряемый}}$ (старение, белковое голодание, гипокинезия, хронические заболевания, ожоги). Коэффициент изнашивания Рубнера – при 8-10-дневном белковом голодании в тканях расщепляется примерно постоянное количество белков – 23,2 г, или 53 мг азота в сутки на 1 кг массы тела ($0,053 \cdot 6,25 \cdot 70 = 23,2$, где 6,25 – коэффициент, показывающий, что в белках содержится около 16% азота; 70 кг – масса тела человека). Если в пище будет содержаться 23,2 г белков в сутки, то разовьется отрицательный азотистый баланс. Физиологический минимум белков (около 30-45 г) в сутки ведет к азотистому равновесию (но на короткое время). При средней физической нагрузке человеку требуется в сутки 100-120 г белка.

Резервные белки – это не депо, а легко мобилизуемые при необходимости белки плазмы крови, мышц, соединительной ткани.

Типичные реакции обмена аминокислот. α -аминокислоты являются бифункциональными соединениями, содержащими аминную и карбоксильную группы. Реакции по этим группам являются общими для различных аминокислот: 1) по аминной группе – реакции трансаминирования и дезаминирования; 2) по карбоксильной группе – реакции декарбоксилирования образования аминокислот; 3) реакции по радикалу являются специфичными для каждой аминокислоты.

Трансаминирование. Под трансаминированием (переаминированием) подразумевают реакции межмолекулярного переноса аминогруппы от аминокислоты на α -кетокислоту без промежуточного образования аммиака. Этот процесс открыт в 1937 году Е.А. Браунштейном и М.Г.Крицман. По меньшей мере 11 аминокислот способны вступать в реакции трансаминирования.



Основными кетокислотами, принимающими участие в трансаминировании, являются пируват, ЩУК и α -кетоглутарат. Трансаминирование катализируют ферменты аминотрансферазы (трансаминазы). Они содержатся в цитозоле и митохондриях клеток. Реакции трансаминирования обратимы. Коферментом трансаминаз является пиридоксальфосфат – производное витамина В₆ (пиридоксол, пиридоксин). В процессе катализа пиридоксальфосфат обратимо связывает аминогруппу, превращаясь в пиридоксаминфосфат. Схема реакции трансаминирования между глутаминовой кислотой и пируватом (фермент – глутамат-пируват-аминотрансфераза, или аланин-аминотрансфераза, АлАТ): глутамат + пируват $\leftrightarrow$ α -кетоглутарат + аланин.

В настоящее время известно около 50 аминотрансфераз. Их специфичность определяется белковой частью фермента. Аминотрансферазам присуща абсолютная специфичность по отношению к стереоизомерам аминокислот.

Биологическое значение реакций трансаминирования. Диагностическое значение определения активности аминотрансфераз заключается в следующем: если допустить, что в реакциях трансаминирования могут участвовать три α -кетокислоты (пируват, щавелево-уксусная и α -кетоглутаровая), то можно написать совокупность возможных реакций трансаминирования в клетке:

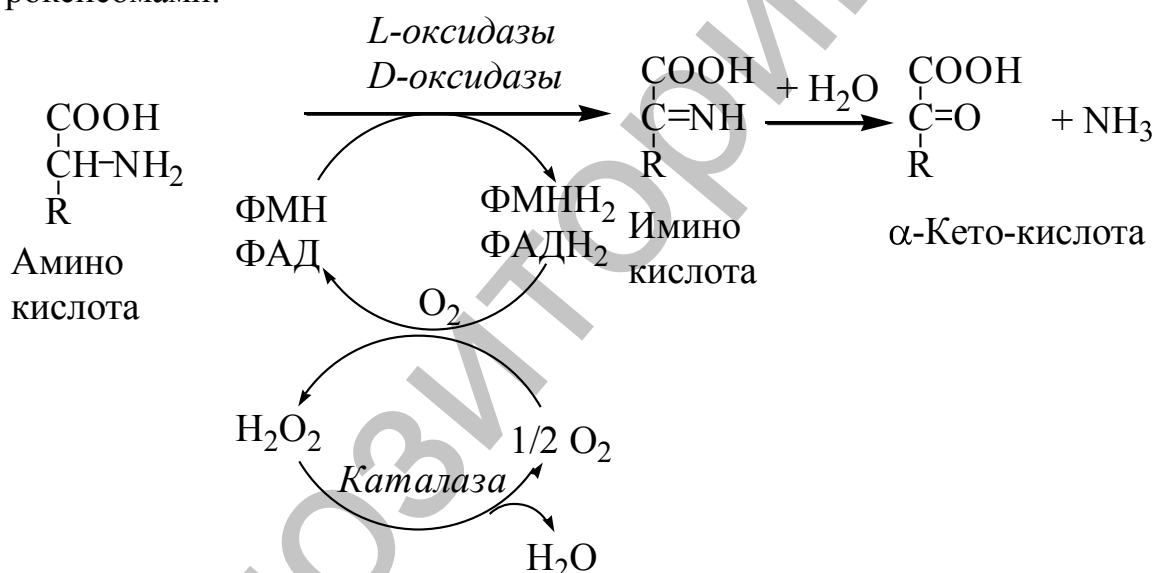
- 1) α -АК + α -кетоглутарат $\leftrightarrow$ α -кетокислота + ГЛУТАМАТ
 α -АК + ЩУК $\leftrightarrow$ α -кетокислота + аспартат
 α -АК + пируват $\leftrightarrow$ α -кетокислота + аланин
- 2) аспартат + α -кетоглутарат $\leftrightarrow$ ЩУК + ГЛУТАМАТ (АсАТ)
 аланин + α -кетоглутарат $\leftrightarrow$ пируват + ГЛУТАМАТ (АлАТ)

Из этих уравнений следует роль трансаминирования: 1) образование заменимых аминокислот (7 аминокислот); 2) накопление α -аминогрупп в форме одной аминокислоты – глутаминовой кислоты; 3) реакции, катализируемые аминотрансферазами, как правило, являются пунктами «переключения» мета-

болических превращений. Для лабораторной практики особое значение имеют две аминотрансферазы – АлАТ и АсАТ. Их активность в клетках превышает активность в сыворотке крови. Эти ферменты появляются в сыворотке крови при повреждениях тканей. При поражении сердца преимущественно повышается активность сывороточной АсАТ, а при повреждениях гепатоцитов – АлАТ. Для дифференциальной диагностики используют коэффициент де-Ритиса: $\text{АсАТ}/\text{АлАТ} = 1,33$. При коэффициенте де-Ритиса $>1,33$ (преимущественный выход в кровь АсАТ) можно думать о повреждении мышцы сердца; при снижении коэффициента $<1,33$ – о поражении печеночной паренхимы (выход в кровь АлАТ).

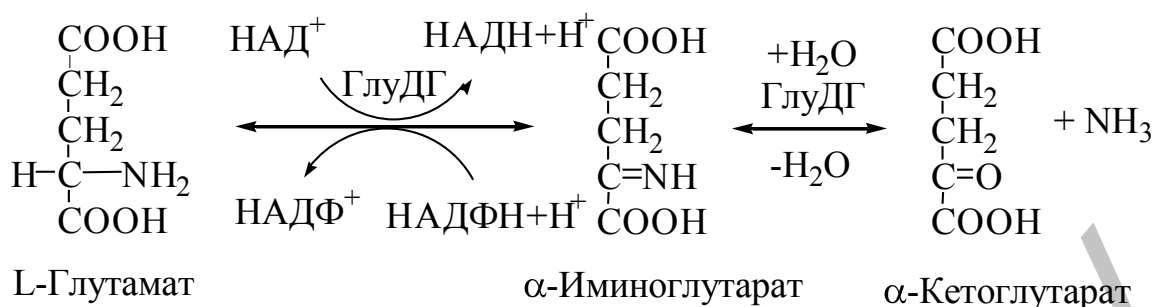
Окислительное дезаминирование аминокислот и восстановительное аминирование α -кетокислот.

В организме человека и животных в основном происходит окислительное дезаминирование аминокислот. Этот процесс катализируется оксидазами L- и D-аминокислот с простетическими группами ФМН и ФАД соответственно. Окислительное дезаминирование аминокислот связано с пероксисомами:



В тканях активны оксидазы D-аминокислот при физиологических значениях pH. Но в клетках млекопитающих нет D-аминокислот. Роль оксидаз D-аминокислот не понятна. Оксидазы L-аминокислот активны при pH = 10, а при pH = 7,4 они обладают в десять раз более низкой активностью. Поэтому прямого окислительного дезаминирования L-аминокислот в пероксисомах практически не происходит (за исключением L-лизина).

В митохондриях клеток обнаружена высокоактивная оксидаза L-глутаминовой кислоты. Она имеет специальное наименование – **глутамат-дегидрогеназа** (ГЛДГ). Коферментами этого фермента являются НАД и НАДФ. Глутаматдегидрогеназная реакция легко обратима и широко представлена в различных клетках.



Процесс синтеза L-глутамата из α -кетоглутарата и аммиака называется восстановительным аминированием (кофермент чаще НАДФ). Фермент глутаматдегидрогеназа играет ключевую роль во взаимосвязи метаболизма аминокислот и общего пути катаболизма.

Непрямое дезаминирование аминокислот. Этот процесс открыт А.Е. Браунштейном и Т. Эйлером (другое название процесса – трансдезаминирование). Процесс идет в два этапа: 1) в результате реакций трансаминирования аминные группы собираются в составе глутаминовой кислоты; 2) глутамат поступает в митохондрии, где подвергается прямому дезаминированию в глутаматдегидрогеназной реакции. Обратная последовательность реакций, при которой происходит синтез аминокислот из α -кетокислот (α -кетоглутарата) и аммиака был назван трансреаминированием. В результате реакций дезаминирования возникают α -кетокислоты, которые вступают в реакции глюконеогенеза, могут превращаться в жирные кислоты, заменимые аминокислоты и окисляться до углекислоты и воды с образованием энергии.

Источники и пути обезвреживания аммиака в организме. Подсчитано, что в состоянии азотистого равновесия организм здорового взрослого человека потребляет и выделяет около 15 г азота в сутки. Из экскретируемого с мочой количества азота на долю мочевины приходится 85%, креатинина – 5%, аммонийных солей – 3-6%, мочевой кислоты – 1% и на другие формы – 3-6%. В образовании мочевины и аммонийных солей главную роль играет аммиак.

Основные источники аммиака: 1) поступление аммиака из кишечника в портальную вену; 2) трансдезаминирование аминокислот; 3) дезаминирование биогенных аминов, пуриновых и пиримидиновых оснований; 4) дезамидирование глутамина и аспарагина; 5) окислительное дезаминирование аминокислот.

Аммиак токсичен. Он всасывается из кишечника в портальную венозную кровь, где уровень его намного выше, чем в общем кровотоке. В норме печень быстро захватывает аммиак из портальной крови и кровь, покидающая печень, практически свободна от аммиака. При циррозе печени, когда развиваются коллатерали между портальной и системными венами, аммиак попадает в общий кровоток и вызывает интоксикацию, проявляющуюся поражением нервной системы (тремор, затруднение речи, спутанное сознание, кома). Интоксикация аммиаком лежит в основе развития печеночной комы. Одной из главных причин токсичности аммиака на молекулярном уровне является его способность восста-

новительно аминировать α -кетоглутарат в глутамат. В результате α -кетоглутаровая кислота отвлекается из цикла трикарбоновых кислот. Это может привести: 1) к замедлению регенерации ЦУК и, как следствие, к накоплению ацетил-КоА и через него к кетонемии и ацидозу; 2) к ослаблению потока протонов и электронов в митохондриальные дыхательные цепи и снижению продукции АТФ. Поэтому в организме есть системы обезвреживания аммиака, в результате функционирования которых в крови поддерживается низкая концентрация аммиака (около 0,05 ммоль/л, что в тысячу раз меньше концентрации глюкозы). Условно выделяют местные (временное связывание) и общие (конечное обезвреживание) механизмы обезвреживания аммиака.

Местное обезвреживание аммиака. Осуществляется в тканях (мозг, сетчатка, мышцы, печень, почки и др.), продуцирующих аммиак, тремя путями:

1) основной путь – это связывание аммиака с глутаминовой и реже аспарагиновой кислотами с образованием соответствующих амидов – глутамина и аспарагина (фермент глутаминсинтаза): глутамат (глу) + NH_3 + АТФ + $\text{Mg}^{2+} \rightarrow$ глутамин (гln).

2) Амидирование остатков глутаминовой и аспарагиновой кислот в составе белков.

3) Восстановительное аминирование α -кетоглутарата в глутамат. Глутамат в реакциях трансаминирования с пируватом образует аланин (особенно в мышцах). Глутамин и аланин являются резервными и транспортными формами аммиака.

Следовые количества аммиака присутствуют в сыворотке крови в виде ионов аммония. Транспортные формы аммиака – глутамин и аланин – выполняют две основные функции. **Глутамин** является донором амидной группы для биосинтезов пуриновых азотистых оснований, карбамоилфосфата, глюкозамина, триптофана и других соединений в тканях с выраженной пролиферативной активностью (кишечник, опухоли и др.), а также является основным источником амидной группы для конечного обезвреживания аммиака в почках в виде аммонийных солей. **Аланин** транспортирует аммиак в виде аминной группы в печень, где используется для синтеза мочевины, а оставшийся углеродный скелет служит для образования глюкозы в реакциях глюконеогенеза. Описан глюкозо-аланиновый цикл в системе мышца – печень (в мышцах освобождается около 50% от общего пула свободных аминокислот, а печень выделяет около 85% от выводимого азота в виде мочевины).

Общее (конечное) обезвреживание аммиака. Образование и выведение аммонийных солей. В тканях, преимущественно в почках, есть фермент глутаминаза, который катализирует освобождение аммиака из глутамина. Фермент активируется в присутствии протонов. Глутамин + $\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ глутамат + NH_3 . Аммиак удаляется с мочой в виде ионов аммония: $\text{NH}_3 + \text{H}^+ \rightarrow \text{NH}_4^+$; соединение с анионами щавелевой, фосфорной, мочевой и других кислот ведет к образованию солей – оксалатов, фосфатов, уратов и т.п.

В сутки с мочой выделяется около 1,2 г аммонийных солей. Это позволяет выводить из организма не только аммиак, но и протоны, образующиеся в метаболизме. Поэтому выведение солей аммония является важным механизмом регуляции кислотно-основного равновесия, при котором нейтрализация неорганических и органических анионов катионами аммония сберегает важные для организма катионы калия, натрия, магния и др.

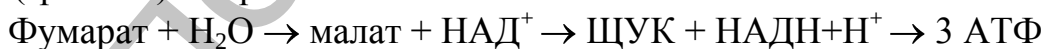
Биосинтез мочевины. Основным механизмом обезвреживания аммиака является синтез мочевины в печени. Из мышц и других тканей аммиак доставляется в печень в виде аланина и глутамина. Из кишечника по воротной вене поступает всосавшийся аммиак. В митохондриях гепатоцитов в реакциях трансдезаминирования освобождается аммиак. Аммиак включается в метаболизм двумя путями:

1) в цитозоле гепатоцитов и других клеток имеется глутаминзависимая карбамоилфосфатсинтетаза (КФ 6.3.5.5.): $\text{L-Глн-NH}_2 + \text{CO}_2 + \text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{карбамоилфосфат} + \text{L-Глу} + \text{АДФ}$. Этот карбамоилфосфат используется при синтезе пиримидиновых азотистых оснований.

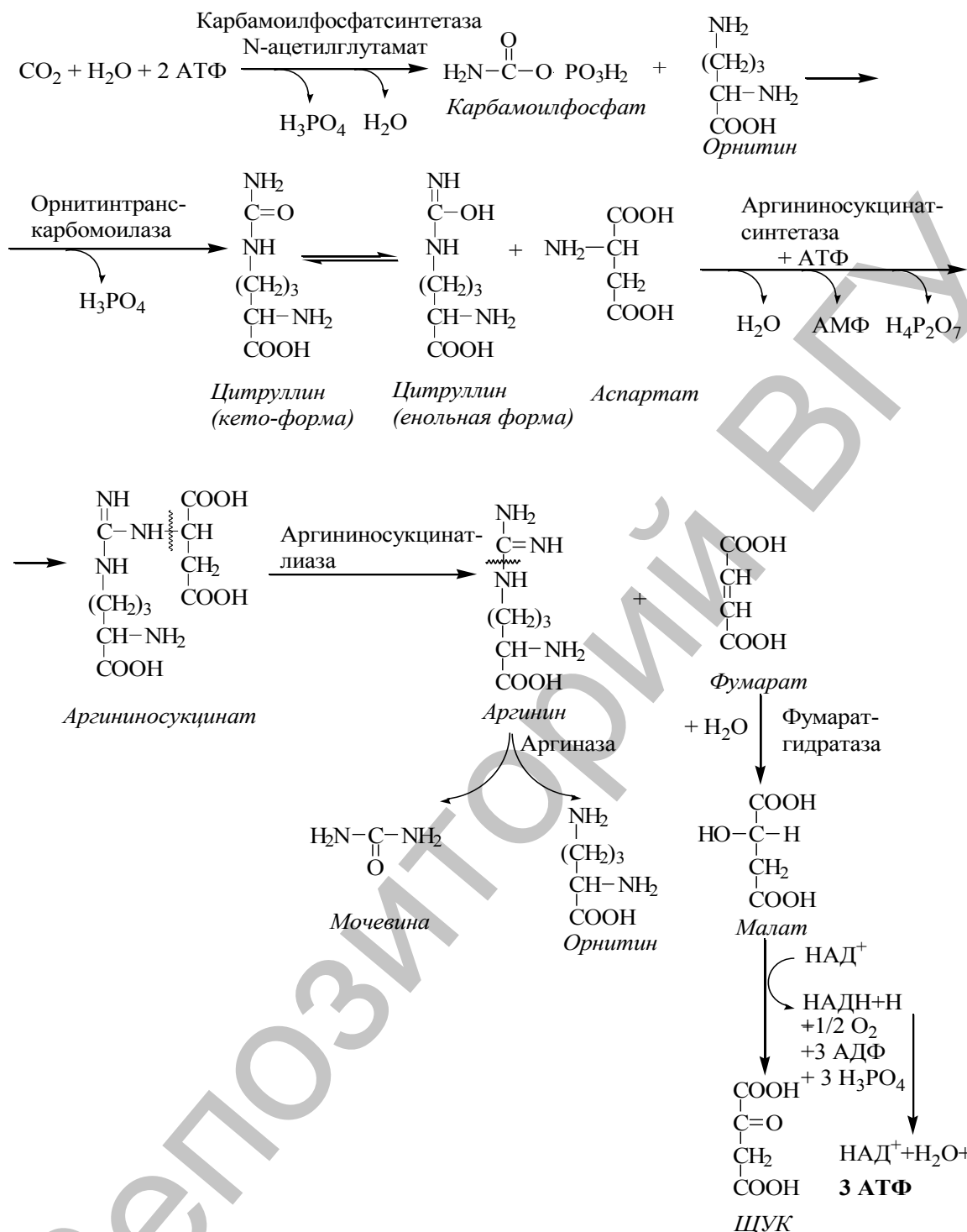
2) В митохондриях гепатоцитов аммиак конденсируется с углекислотой, также образуя карбамоилфосфат, фермент – аммиакзависимая карбамоилфосфатсинтетаза (КФ 6.3.4.16.). При этом расходуется две молекулы АТФ и требуется специфический активатор – N-ацетилглутамат.

Это первая реакция цикла мочевины. Далее карбамоилфосфат взаимодействует с орнитином (фермент орнитинкарбамоилтрансфераза) с образованием цитруллина: $\text{карбамоилфосфат} + \text{орнитин} \rightarrow \text{цитруллин}$.

Енольная форма цитруллина при участии аргининсукцинатсинтетазы (третий фермент цикла) взаимодействует с аспарагиновой кислотой; процесс требует затраты одной молекулы АТФ: $\text{цитруллин} + \text{аспартат} + \text{АТФ} \rightarrow \text{аргининянтарная кислота} + \text{АМФ} + \text{PPH}$. Четвертый фермент цикла – аргининсукцинатлиаза – катализирует распад аргининянтарной кислоты на аргинин и фумарат: $\text{аргининянтарная кислота} \rightarrow \text{аргинин} + \text{фумарат}$. аргинин + H_2O (аргиназа) $\rightarrow$ орнитин + **мочевина**



Мочевина простой диффузией по градиенту концентрации выходит из клеток в кровь и выделяется с мочой (около 30 г в сутки).

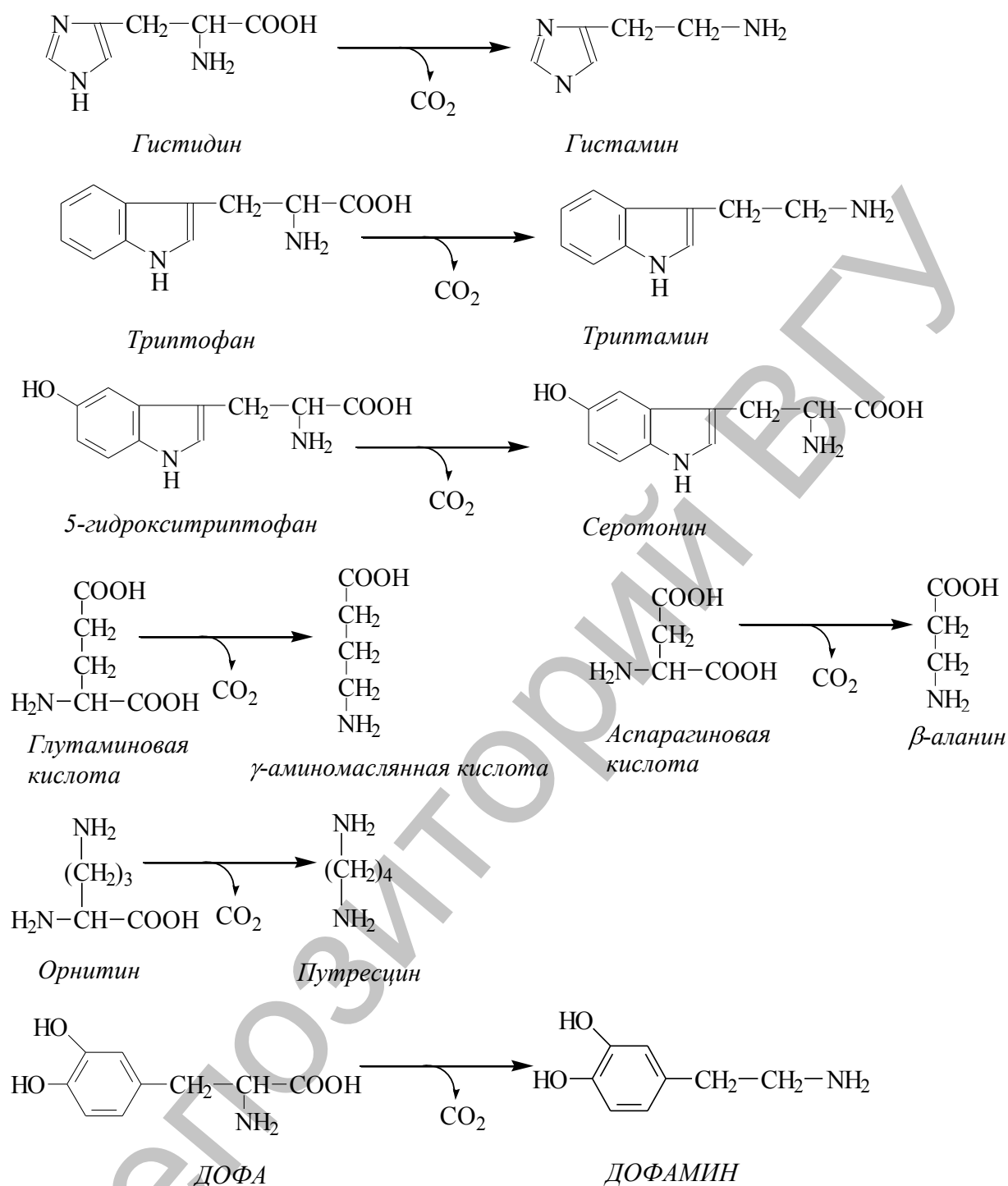


Рассматривая схему биосинтеза мочевины, следует найти ответы на два вопроса: 1) каково происхождение 3 молекул АТФ, необходимых для биосинтеза одной молекулы мочевины? Фумарат является общим метаболитом цикла мочевины и цикла трикарбоновых кислот. При превращениях в цикле трикарбоновых кислот фумарат→малат→ЦУК на стадии окисления малата малатдегидрогеназой образуется НАДН, который в митохондриальных ЦПЭ обеспечивает образование 3 молекул АТФ. 2) Каково происхождение атомов азота мочевины? Один атом азота поступает из кишечника или периферических тканей и включается через карбамоилфосфат. Второй атом

азота поступает в цикл мочевины в составе аспартата, а аспартат, в свою очередь, получает атом азота при трансаминировании глутамата с ЩУК. Как известно, атом азота аминокислотной группы глутамата происходит из аминокислот печени. Поэтому второй атом азота мочевины поступает из фонда аминокислот печени.

Декарбоксилирование аминокислот ведет к образованию биогенных аминов. В клетках эту реакцию катализируют декарбоксилазы, кофактором которых является пиридоксальфосфат. Биогенные амины обладают разнообразной биологической и фармакологической активностью. В высоких дозах большинству из них присуще токсическое действие. Поэтому в тканях имеются ферментативные системы их обезвреживания путем окислительного дезаминирования с образованием альдегидов и аммиака (моно- и диаминооксидазы).

Основные пути катаболизма аминокислот. В состав белков входят 20 аминокислот, различающихся по строению радикалов. Во второй стадии катаболизма существует, как минимум, двадцать наборов ферментов, катализирующих превращения этих радикалов. Из общего количества энергии, потребляемой организмом, на долю всех этих превращений приходится не более 10%. Следовательно, участие каждой из аминокислот в общем метаболизме выражается величиной порядка 0,5%. Очевидно, что такие величины не могут идти ни в какое сравнение со значением гликолиза или цикла трикарбоновых кислот и сопряженных митохондриальных дыхательных цепей в продукции энергии. В 40-50-е годы было установлено, что углеродные скелеты 12 аминокислот могут превращаться в углеводы («**гликогенные**» аминокислоты – аланин, аргинин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, глицин, гистидин, метионин, пролин, серин, треонин, валин, цистеин), в жиры («**кетогенная**» аминокислота – лейцин), а также в жиры и углеводы («**гликогенные и кетогенные**» аминокислоты – изолейцин, лизин, триптофан, тирозин, фенилаланин).



Метилирование и трансметилирование. Введение метильной группы в молекулу является распространенным способом изменения ее биологической активности. Метилирование веществ в клетках происходит:

- 1) при образовании многих низкомолекулярных соединений (холин, адреналин, креатин, тимидиловые нуклеотиды и др.);
- 2) при инактивации биологически активных веществ (например, метилирование катехоламинов катехол-О-метилтрансферазой);
- 3) при созревании ДНК, всех видов РНК и ряда белков.

Реакции метилирования катализируют ферменты метилтрансферазы. Универсальным донором метильных групп является S-аденозилметионин. Переносчиком метильных групп служит 5-метилтетрагидрофолиевая кислота (5-метил-ТГФК). Источниками метильных групп являются серин и холин.

Процесс метилирования требует следующих основных реакций:

1) образование S-аденозилметионина (S-АМ) из метионина: метионин + АТФ + H₂O → S-аденозилметионин + РРн + Рн.

2) Метилирование субстрата (фермент метилтрансфераза) и освобождение S-аденозилгомоцистеина (S-АГ): субстрат + S-аденозилметионин → субстрат-CH₃ + S-АГ.

3) Распад S-аденозилгомоцистеина на аденозин и гомоцистеин: S-АГ → аденозин + гомоцистеин.

4) Метилирование гомоцистеина с помощью 5-метил-ТГФК в метионин (фермент гомоцистеинметилтрансфераза, кофактор метилкобаламин - CH₃ - В₁₂): гомоцистеин + 5-метил-ТГФК → метионин + ТГФК.

Переносчиком одноуглеродных групп, в том числе и метильных, является фолиевая кислота. В ее структуре выделяют три фрагмента: птеридин, парааминобензойная кислота и L-глутаминовая кислота. Активной формой является 5,6,7,8-тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК, или FH₄). Одноуглеродные фрагменты переносятся в 5 и 10 положениях ТГФК.

ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ

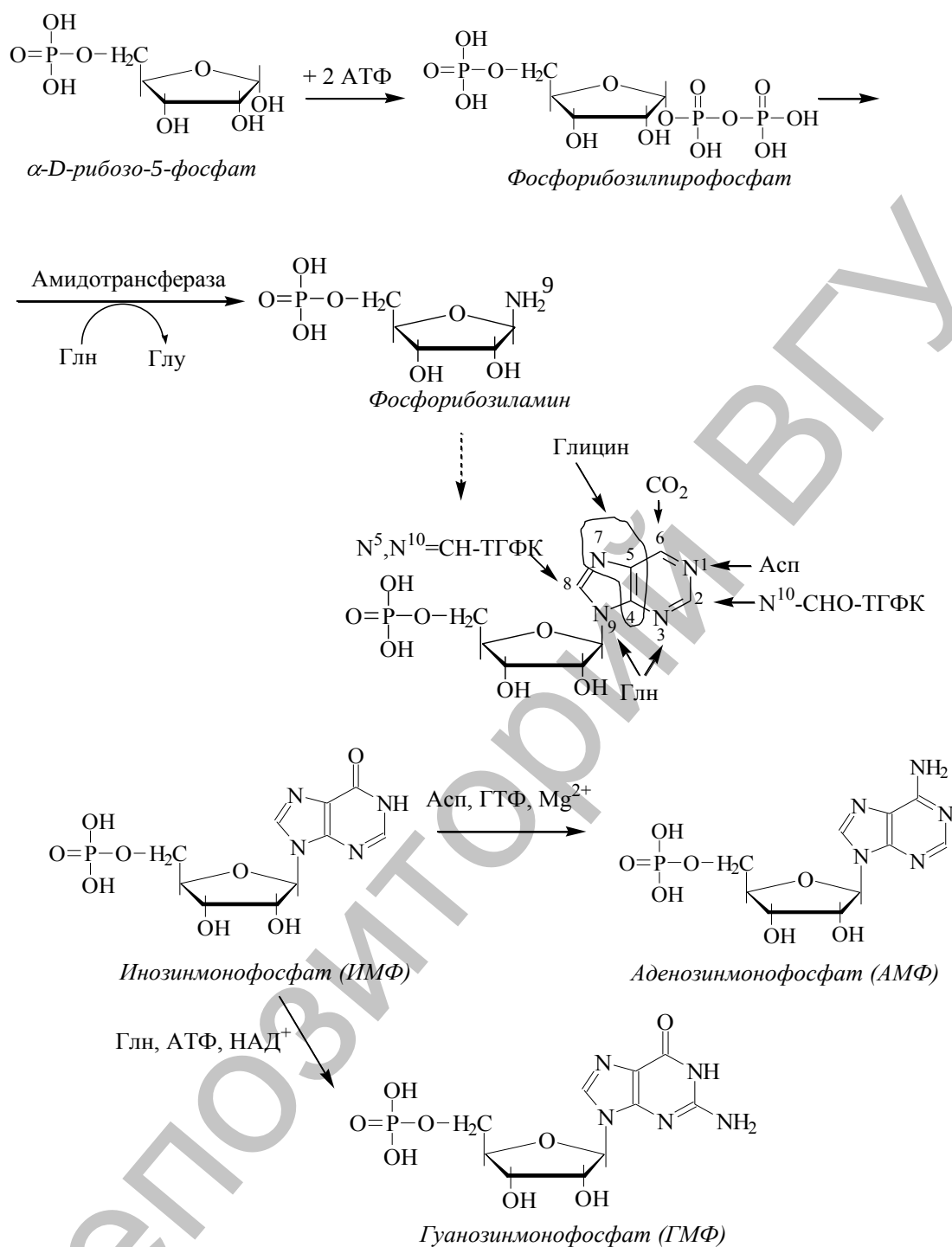
Представление о биосинтезе пуриновых нуклеотидов. Пищевые пуриновые азотистые основания в синтезе нуклеотидов и нуклеиновых кислот не используются, а синтезируются заново. В процессе биосинтеза **пуриновые основания** отдельно не синтезируются, а лишь в составе нуклеотида.

Синтез начинается от метаболита пентозофосфатного пути – рибоза-5-фосфата: Р-5-Ф + 2 АТФ → фосфорибозилпирофосфат (ФРПФ) + глу → 5-фосфорибозиламин. Реакцию образования 5-фосфорибозиламина катализирует фермент амидотрансфераза. Таким образом синтезируется 9-й атом пуринового скелета, к которому затем пристраивается последовательно весь скелет: 4,5,7 атомы из глицина, 8 атом из N⁵,N¹⁰-метенил-ТГФК, 6 атом из углекислоты (CO₂), 1 атом из аспартата, 2 атом из N¹⁰-формил-ТГФК и 3 атом (как и 9 атом) из глутамина.

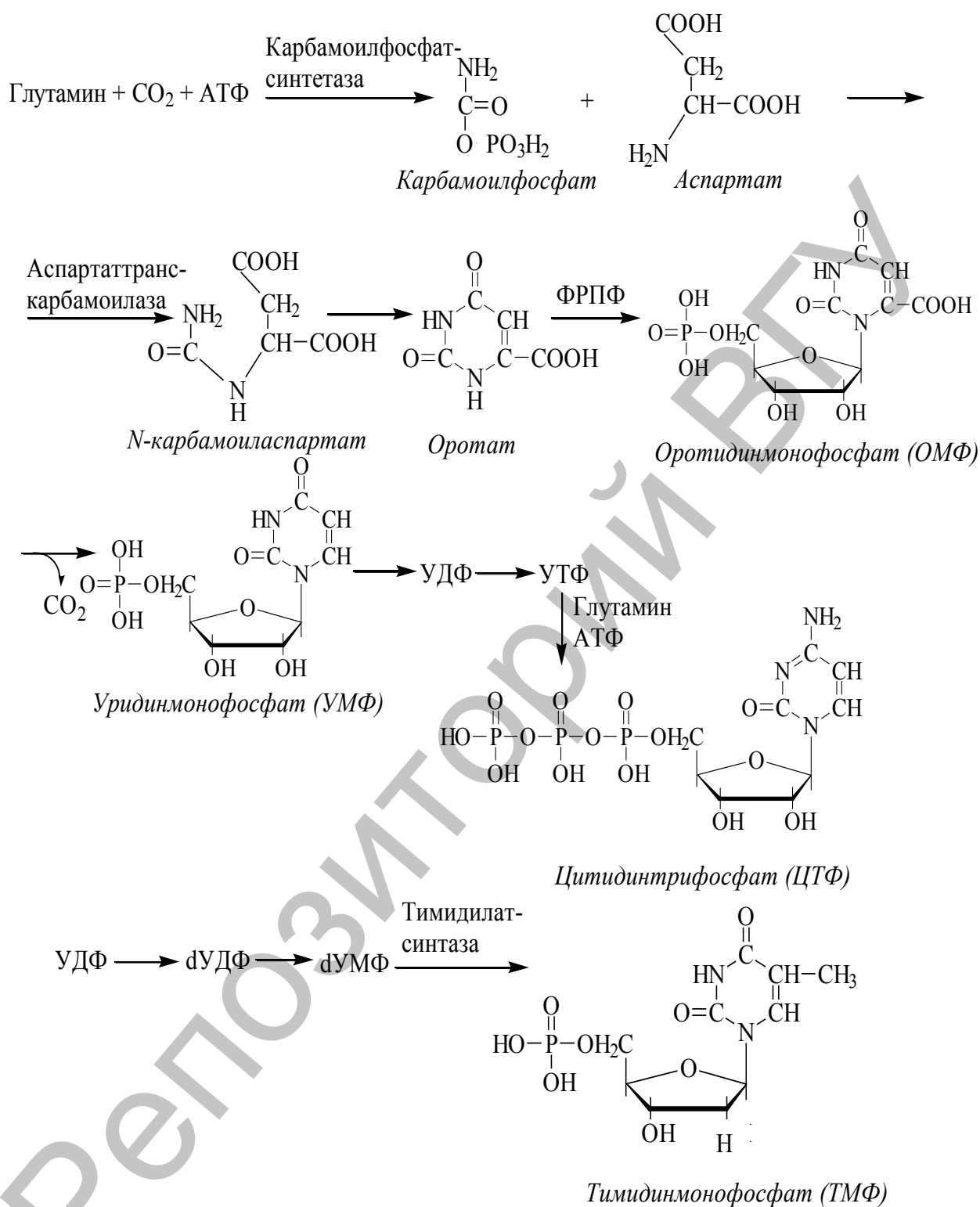
Синтез пуриновых нуклеотидов контролируется:

1) аллостерически (конечные продукты ингибируют ключевую стадию – реакцию, катализируемую амидотрансферазой);

2) накопление АМФ тормозит синтез АМФ, накопление ГМФ тормозит синтез ГМФ; 3) АТФ стимулирует синтез ГМФ, а ГТФ стимулирует синтез АМФ. Конечным продуктом пуринового обмена является мочевиная кислота (урат).



Представление о биосинтезе пиримидиновых нуклеотидов. Особенность биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов заключается в том, что вначале образуется азотистое основание, которое затем, соединяясь с фосфорибозилпирофосфатом, превращается в нуклеотид. Для биосинтеза пиримидиновых оснований используются CO₂, NH₃ и аспарагиновая кислота.



Вначале фермент карбамоилфосфатсинтаза катализирует реакцию образования карбамоилфосфата. Затем происходит конденсация карбамоилфосфата с аспарагиновой кислотой, что ведет к образованию N-карбамоиласпартата (фермент аспараттранскарбамоилаза) и оротовой кислоты (ферменты дигидрооротаза и дигидрооротатдегидрогеназа). После присоединения фосфорибозилпирофосфата (фермент оротат-

фосфорибозилтрансфераза) через стадию ОМФ синтезируется УМФ, УДФ, УТФ. Затем УТФ аминирован в ЦТФ, для реакции необходимы глутамин и АТФ. После восстановления рибозы в 2-дезоксирибозу в составе УДФ образуется $\text{дУДФ} \rightarrow \text{дУМФ} \rightarrow \text{ТМФ}$. Реакция метилирования дУМФ в ТМФ катализируется тимидилатсинтазой, использующей $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -метилен-ТГФК как донор метильной группы. Метиленовая группа $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -метилен-ТГФК в ходе реакции восстанавливается до метильной и присоединяется к атому С-5 дУМФ. Процесс сопровождается окислением тетрагидрофолатного переносчика до дигидрофолата. Для того, чтобы фолатный переносчик и далее мог функционировать, необходимо восстановить дигидрофолат до ТГФК. Эту реакцию катализирует дигидрофолатредуктаза. Именно поэтому делящиеся клетки, в которых идет активный синтез ТМФ, особенно чувствительны к ингибиторам дигидрофолатредуктазы. Один из таких ингибиторов – метотрексат (аметоптерин) широко используется как противоопухолевый препарат. Регуляция синтеза пиримидиновых нуклеотидов: 1) карбамоилфосфатсинтаза ингибируется УТФ и пуриновыми нуклеотидами; 2) карбамоилфосфатсинтаза активируется фосфорибозилпирофосфатом; 3) аспартаттранскарбамоилаза ингибируется ЦТФ. Скорость биосинтеза пиримидинов коррелирует со скоростью биосинтеза пуринов, что свидетельствует о координации биосинтеза нуклеотидов в клетках. Фосфорибозилпирофосфатсинтаза – фермент, катализирующий образование предшественников пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, ингибируется по принципу обратной связи пуриновыми и пиримидиновыми нуклеотидами.

Распад пиримидиновых нуклеотидов. Включает действие нуклеотидаз (освобождение нуклеотидов) и нуклеозидаз (освобождение азотистых оснований). В результате катаболизма пиримидинов, протекающем в основном в печени, образуются хорошо растворимые конечные продукты. Конечный продукт катаболизма пуринов – мочевая кислота (а также ее натриевая соль), которая плохо растворима в воде.

Нарушения метаболизма пуринов и пиримидинов. Нарушения обмена пуринов. Подагра. При $\text{pH } 5,75$ в растворенном состоянии находят мочевую кислоту и ее натриевую соль (урат натрия) в эквимольных количествах. При $\text{pH} < 5,75$ основной формой является мочевая кислота, при $\text{pH} > 5,75$ – урат натрия. О величине растворимого уратного пула можно судить по содержанию урата натрия в сыворотке крови (в норме 20-60 мг/л). При повышении этого показателя (гиперурикемия) и сдвиге pH в кислую сторону образуются кристаллы, чаще всего ведущие к острому или хроническому подагрическому артриту. В водных растворах мочевая кислота в 17 раз менее растворима, чем ее натриевая соль. При $\text{pH } 5$ насыщенный раствор уратов достигается при концентрации 150 мг/л, а при $\text{pH } 7$ в моче может раствориться в 10 раз больше уратов. Следовательно, интенсивность образования камней мочевой кислоты в мочевыводящих путях можно

уменьшить, смещая рН мочи в щелочную сторону. В лечении подагры используют диету, бедную пуринами, а также аналог гипоксантина – аллопуринол. Этот препарат вначале действует в качестве субстрата ксантиноксидазы, а затем в качестве ее ингибитора (фермент гидроксилирует аллопуринол, превращая его в аллоксантин, который остается прочно связанным с активным центром). Это пример самоубийственного ингибирования, когда фермент превращает какое-то соединение в мощный ингибитор, который сразу же инактивирует фермент.

Антибиотики – ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот и белков.

В настоящее время установлено, что антибиотики специфично блокируют разные стадии белкового синтеза. На уровне транскрипции: 1) актиномицин D – интеркалирующий агент; способен связываться с остатком дезоксигуанина в молекуле ДНК водородными связями и тем самым блокировать процесс транскрипции. Тормозит синтез всех видов РНК; обладает противоопухолевой активностью, но очень токсичен. 2) Рифампицин связывается с ДНК-зависимой РНК-полимеразой и блокирует синтез мРНК. Используется при лечении туберкулеза. Недавно открыто его противовирусное действие.

На уровне трансляции: 1) пуромидин связывается с пептидил-тРНК и прекращает элонгацию полипептидной цепи. Комплекс отделяется от рибосомы. 2) Тетрациклины ингибируют стадию элонгации, связываясь с аминоацильным участком рибосомы, и блокируют поступление в него аминоацил-тРНК. 3) Стрептомицин и неомицин связываются с 30S субъединицей рибосомы и изменяют ее конформацию. В результате ослабевает связь между аминоацил-тРНК и мРНК, возникают ошибки в считывании генетического кода и подавляется синтез (комплекс легко диссоциирует). 4) Хлорамфеникол (левомицетин), связываясь с 50S субъединицей рибосомы, ингибирует образование пептидной связи (пептидилтрансферазу). 5) Эритромицин и олеандомицин ингибируют стадию транслкации пептидил-тРНК в Р-участок. Циклогексимид проявляет ту же активность, но в рибосомах клеток эукариот.

ГОРМОНЫ

Представление о гормонах и общих механизмах их действия.

Эндокринология изучает структуру и функции эндокринных желез, продукты их секреции и другие соединения, выполняющие функции химических посредников, а также последствия избыточного или недостаточного образования гормонов. Гормоны – это биологически активные вещества, которые выделяются эндокринными клетками в кровь или лимфу и регулируют в клетках-мишенях биохимические и физиологические процессы. Эндокринная система функционирует в тесной взаимосвязи с нервной системой как нейро-эндокринная система. Условно в нейроэндокринной системе можно выделить четыре уровня:

1) периферические эндокринные железы (щитовидная железа, паращитовидные железы, надпочечники, поджелудочная железа, половые железы, тимус, плацента как временная эндокринная железа);

2) гипофиз, который контролирует несколько периферических эндокринных желез (щитовидную, кору надпочечников, половые);

3) гипоталамус, который координирует вегетативные процессы; место, где электрические сигналы нервной системы трансформируются в химические сигналы эндокринной системы;

4) центральная нервная система и эпифиз (возможный регулятор биоритмов).

Функция периферических эндокринных желез регулируется двумя путями: трансгипофизарным и парагипофизарным.

Трансгипофизарный путь – из ЦНС поступают электрические сигналы в гипоталамус, где они трансформируются в химические сигналы (нейропептиды-либерины и статины); либерины и статины регулируют выделение тропных гормонов аденогипофизом; тропные гормоны регулируют синтез и выделение гормонов периферическими эндокринными железами. Парагипофизарный путь – нервные импульсы прямо регулируют выработку и выделение гормонов эндокринными клетками (например, образование адреналина в мозговом веществе надпочечников).

Требуемый уровень гормонов в крови поддерживается благодаря механизмам саморегуляции (регуляция по принципу обратной связи; «плюс-минус» взаимодействия: 1) гормональная обратная связь – тропные гормоны стимулируют образование и секрецию гормонов периферическими железами (+), а последние угнетают образование тропных гормонов через гипоталамус и гипофиз (-); 2) метаболитно-гормональная обратная связь – гормон, действуя на обмен веществ в клетках-мишенях, вызывает изменение содержания какого-либо метаболита (+), который влияет на секрецию гормонов прямо в железе или через гипофиз и гипоталамус (-).

Классификации гормонов. Исходя из первой части определения, гормоны классифицируются по эндокринным железам, в которых они образуются. По химическому строению гормоны подразделяются на три группы: 1) белково-пептидной природы (нейропептиды гипоталамуса, гормоны гипофиза, поджелудочной и паращитовидной желез, кальцитонин щитовидной железы); 2) производные аминокислот (адреналин – производное фенилаланина и тирозина; йодтиронины – производные тирозина; мелатонин – производное триптофана); 3) стероиды (половые гормоны – андрогены, эстрогены, гестагены; кортикостероиды – глюкокортикоиды и минералокортикоиды).

Исходя из второй части определения, гормоны обязательно выделяются в кровь и реже в лимфу. В крови гормоны могут быть в свободной форме или в связи с транспортными белками. Метаболически активными

являются свободные формы гормонов. Транспортные белки абсолютно необходимы для нерастворимых в воде гормонов, например, стероидной природы. Бывают специфические транспортные белки (транскортин для глюкокортикоидных гормонов, эстрадиол-тестостерон-транспортирующий глобулин для половых гормонов) и неспецифические переносчики (альбумины, поверхность эритроцитов).

Из третьей части определения вытекают следующие общие признаки гормонов:

1) дистантность действия, т.е. они регулируют обмен и функции эффекторных клеток на расстоянии; 2) строгая специфичность биологического действия; 3) высокая биологическая активность.

Гормоны регулируют метаболизм в очень малых концентрациях – 10^{-8} - 10^{-11} моля, метаболизм протекает при концентрациях метаболитов в 1000-1000000 раз более высоких. Следовательно, одна молекула гормона должна регулировать превращения 1000-1000000 молекул метаболитов. Поэтому необходимы механизмы выделения и усиления регуляторного сигнала гормона. Эти механизмы включают наличие клеток-мишеней и клеточных рецепторов. Клетки-мишени специфически настроены на прием управляющего сигнала определенного гормона. Гормон связывается с клеткой-мишенью с помощью специфического рецептора клетки к этому гормону. Рецепторы – это специфические структуры клетки (как правило, сложные белки), обладающие высоким сродством по отношению к гормону. Связывание гормона с рецептором – обязательное условие проявления эффекта гормона на клетку. Рецепторы «настроены» на низкую концентрацию гормонов в крови. В молекуле гормона есть группы, ответственные за связывание с рецептором (адресная часть) и группы, ответственные за проявление биологического эффекта. Утрата последних извращает действие гормона и даже превращает его в антагонист.

По механизму действия и основному конечному эффекту все гормоны делятся на три группы: 1) гормоны, не проникающие в клетку. Их рецепторы находятся в плазматической мембране. Для передачи управляющего сигнала служат внутриклеточные посредники (вторичные мессенджеры). Основной конечный эффект – изменение активности ферментов. К этой группе относятся гормоны белково-пептидной природы и катехоламины. 2) Гормоны, проникающие в клетку. Их рецепторы находятся внутри клеток. Основной конечный эффект – изменение количества белков через экспрессию тех или иных генов. К этой группе относятся гормоны стероидной природы и частично тироидные гормоны. 3) Гормоны мембранного действия и возможно проникающие в клетку (инсулин, тироидные гормоны). Гормон является аллостерическим эффектором транспортных систем мембран.

Общие механизмы действия не проникающих в клетку гормонов. Механизм действия не проникающих гормонов включает сле-

дующие этапы: 1) взаимодействие гормона с рецептором. Рецептор состоит из трех компонентов. Первый компонент – это функциональные группы молекул, которые на поверхности плазматической мембраны клетки обеспечивают взаимодействие гормона с рецептором. Второй компонент – это связующие N- или G-белки. Они могут усиливать передачу гормонального сигнала (Ns) или ослаблять (Ni). Для функционирования этих белков необходима ГТФ. Третий компонент – это фермент, катализирующий образование в цитоплазме вторичного посредника для данного гормона (аденилатциклаза – цАМФ, гуанилатциклаза – цГМФ, фосфолипаза C – инозитолтрифосфат и диацилглицерол и др.). Во время передачи гормонального сигнала происходит сборка рецептора и усиление сигнала. Без ГТФ возможна передача гормонального сигнала, но во много раз слабее.

2) Внутриклеточный вторичный посредник включает реакции, которые ведут к изменению функциональной активности белков (изменение активности ферментов). Например, цАМФ связывается с рецепторной субъединицей протеинкиназы и активирует каталитические субъединицы (активная протеинкиназа). Активная протеинкиназа катализирует фосфорилирование ферментов – фосфорилазы и гликогенсинтазы. Образуется активная фосфорилированная форма фосфорилазы «а» и неактивная фосфорилированная форма гликогенсинтазы D; такие изменения обеспечивают фосфоролитический распад гликогена.

3) Снятие гормонального сигнала достигается уменьшением концентрации внутриклеточного вторичного посредника (например, фосфодиэстераза превращает цАМФ в неимеющий регуляторного значения 5'-АМФ).

На роль внутриклеточных вторичных посредников претендуют ряд веществ:

1) циклические нуклеотиды – 3',5'-АМФ (цАМФ) и 3',5'-ГМФ (цГМФ), образуемые соответственно в аденилатциклазной и гуанилатциклазной реакциях. Они активируют соответствующие протеинкиназы. Внутриклеточные эффекты этих циклических нуклеотидов часто противоположны по направленности. Благодаря наличию двух типов адренорецепторов (α -адренорецепторы содержат гуанилатциклазу, β -адренорецепторы содержат аденилатциклазу) один и тот же гормон – адреналин оказывает противоположное действие на коронарные сосуды (расширение) и сосуды дермы (сужение). Эти циклические нуклеотиды запускают каскады реакций аденилатциклазного или гуанилатциклазного механизмов регуляции активности ферментов или функционального состояния мембранных белков путем их химической модификации (фосфорилирования-дефосфорилирования).

2) Ионы кальция. В отличие от других посредников ионы кальция не могут превращаться, поэтому кальциевые сигнальные системы мембран

способны лишь изменять поступление ионов кальция в цитозоль. Содержание ионов кальция вне клетки строго контролируется и составляет около 5 ммоль/л. В клетке концентрация кальция в 5000-10000 раз меньше (0,1-10 мкмоль/л) и этот кальций связан с митохондриями или эндоплазматическим ретикулумом. Изменение концентрации кальция в цитоплазме происходит по трем механизмам. Ряд гормонов повышает проницаемость мембраны для ионов кальция. Кальций связывается с внутриклеточным регуляторным белком кальмодулином (м.м. 17000 Да). Кальмодулин гомологичен мышечному тропонину С. В виде субъединицы входит в состав киназы фосфорилазы. Кальмодулин имеет четыре кальций-связывающих участка и при полном связывании изменяется конформация белка. Это позволяет комплексу кальмодулин-кальций модулировать активность ферментов. По сути взаимодействие кальция с кальмодулином напоминает взаимодействие цАМФ с протеинкиназой. Этот же комплекс способен регулировать активность многих структурных элементов клетки (актомиозиновый комплекс гладких мышц, микрофиламенты, митотическое деление, эндоцитоз и др.). Полагают, что быстрые эффекты кальция связаны с его мобилизацией из органелл клетки, более поздние связаны с поступлением его извне или с уменьшением выхода кальция из клетки (сопряжено часто с повышением цАМФ). Итак: гормон → рецептор → вход кальция в цитозоль → образование комплекса кальций+кальмодулин → изменение функционального состояния белков (активность ферментов, сокращение мышечных волокон и др.). Отмена эффектов, опосредованных ионами кальция, осуществляется с помощью кальций-связывающих белков типа кальциневрину.

3) Продукты превращения фосфоинозитидов. Схема регуляции следующая: гормон связывается с рецептором, что приводит к активации фосфолипазы С. Этот фермент катализирует расщепление мембранного фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата на 2 вторичных посредника – инозитол-трифосфат (IP_3) и диацилглицерол. IP_3 усиливает поступление Ca^{2+} в цитозоль, обеспечивая его регуляторные эффекты. Диацилглицерол активирует фосфолипид-зависимую протеинкиназу С. Конечным эффектом обоих посредников будет фосфорилирование белков. Рассмотрим примеры непроникающих гормонов.

Гормоны гипоталамуса и гипофиза. ЦНС оказывает регулирующее влияние на эндокринную систему через гипоталамус. В гипоталамусе открыто 7 стимуляторов и 3 ингибитора секреции гормонов гипофиза. Эти вещества образуются в нервных клетках гипоталамуса и оттуда по системе порталных капилляров достигают гипофиза, регулируя секрецию (а, возможно, и биосинтез) гипофизарных гормонов. Те вещества, которые освобождают, называют рилизинг-факторы (release – освобождать). Рекомендуются к названию освобождаемого гормона добавлять окончание «либерин», а при ингибировании освобождения гормонов – «статин».

Тропные гормоны гипофиза	Нейропептиды гипоталамуса
Соматотропин (СТГ) Кортикотропин (АКТГ) Тиротропин (ТТГ) Фоллитропин (ФСГ) Лютропин (ЛТГ) Пролактин (ПСГ) Меланотропин (МСГ)	Соматолиберин, соматостатин Кортиколиберин Тиролиберин Фоллилиберин Люлиберин Пролактолиберин, пролактостатин Меланолиберин, меланостатин

Нейропептиды гипоталамуса освобождают тропные гормоны гипофиза через аденилатциклазный механизм и быстро инактивируются в крови (время полужизни – 2-4 мин). Применяются для дифференцировки поражения в гипофизе или железе. Их введение при нормальном гипофизе обеспечивает выброс тропных гормонов, а через них и выброс гормонов соответствующей периферической железой. Ряд гормонов гипофиза образуется из одного общего белкового предшественника методом ограниченного протеолиза. Образование гормонов из одного предшественника важно для патологии, когда индукция или репрессия одного из гормонов может приводить к параллельному ускорению или замедлению синтеза других.

Гормоны задней доли гипофиза – вазопрессин и окситоцин. Фактически они синтезируются в ядрах гипоталамуса, а задней долей гипофиза только секретируются. Это циклические пептиды, включающие 9 аминокислотных остатков и содержащие по одному дисульфидному мостику.

Вазопрессин характеризуется следующими эффектами: 1) суживает просвет сосудов за счет сокращения гладких мышечных волокон, оказывая вазопрессорное действие; 2) в дистальных канальцах и собирательных трубках почек активирует аденилатциклазу → увеличение внутриклеточной концентрации цАМФ → активация протеинкиназ → фосфорилирование белков мембран → повышение проницаемости для воды (отсюда второе название – антидиуретический гормон). При недостатке вазопрессина развивается несахарный диабет – выделение 4-10 л мочи низкой плотности и жажда. В отличие от сахарного диабета отсутствует глюкозурия.

Окситоцин характеризуется следующими эффектами: 1) повышает внутриклеточную концентрацию кальция и образование цГМФ, что стимулирует сокращение матки и других полых органов; используется для стимуляции родов; 2) усиливает синтез белка в молочной железе и отделение молока (за счет сокращения миоэпителия молочных ходов); 3) инсулиноподобное действие на жировую ткань, усиление потребления глюкозы и синтеза триацилглицеринов.

В клетках переднего сегмента задней доли гипофиза (у животных – средней доли гипофиза) образуются α - и β -меланотропины (пептиды α - из

13 аминокислотных остатков, а β - от 18 до 22 аминокислотных остатков). Эти гормоны стимулируют образование меланина в коже, радужке, пигментном эпителии сетчатки глаза. В жировой ткани они оказывают жиромобилизующее действие за счет повышения цАМФ.

В передней доле гипофиза образуется группа тропных гормонов, обеспечивающих трансгипофизарный путь регуляции функции эндокринных желез.

Кортикотропин: 1) стимулирует синтез и секрецию гормонов коры надпочечников; 2) жиромобилизующее действие за счет повышения уровня цАМФ в липоцитах; 3) эффект, сходный с меланотропинами.

Соматотропин – гормон роста, единственный гормон, обладающий видовой специфичностью; обеспечивает рост до полового созревания (деление клеток хрящей, рост костей в длину, задержка кальция, увеличение массы внутренних органов). Оказывает прямое и опосредованное действие. Прямое действие связано с увеличением внутриклеточной концентрации цАМФ в тканях. В островках Лангерганса стимулирует выделение глюкагона и в меньшей степени инсулина, поэтому соматотропину присуще диабетогенное действие. Опосредованное действие связано с образованием в тканях (печени) ростостимулирующих пептидов (соматомедины, или инсулиноподобные факторы роста 1 и 2 – IGF-1 и IGF-2), которые обеспечивают многогранное анаболическое действие, сопряженное с ростом. При недостатке соматотропина у детей формируются гипофизарные карлики (недоразвитие сомы при нормальных пропорциях и психическом развитии). При гиперфункции у детей развивается гигантизм, а у взрослых – акромегалия. Наиболее частые причины – опухоль аденогипофиза или недостаточная выработка соматостатина.

Пролактин – крупный белок, состоящий из 199 аминокислотных остатков. Это наиболее «древний» гормон гипофиза. Его эффекты: 1) стимулирует развитие молочных желез и лактацию (перед родами содержание гормона повышается в крови в 10-20 раз); 2) стимулирует секрецию желтого тела, рост внутренних органов, материнский инстинкт.

Фоллитропин и лютропин образуют группу гонадотропных гормонов. Фоллитропин регулирует созревание фолликулов у женщин и сперматогенез у мужчин; лютропин стимулирует секрецию эстрогенов и прогестерона, разрыв фолликулов и образование желтого тела у женщин, развитие интерстициальной ткани и секрецию тестостерона у мужчин. Оба гормона являются сложными белками – гликопротеинами; состоят из двух субъединиц α - и β - (каждая из них в отдельности лишена биологической активности). Специфичность действия гормонов зависит от β -субъединиц (они отличаются), а α -субъединицы имеют сходное строение.

Тиротропин – контролирует функцию щитовидной железы. Является сложным белком – гликопротеином, состоящим из двух субъединиц: β -

субъединица определяет биологическую активность гормона, а α -субъединица похожа на α -субъединицу лютропина.

α - и β -липотропины оказывают специфическое жиромобилизирующее действие через стимуляцию образования цАМФ. Кроме того, они выделяют кортикотропную, меланотропную, гипокальциемическую и инсулиноподобную активности.

Все перечисленные выше гормоны действуют через рецепторы на поверхности клеток-мишеней.

Гормоны поджелудочной железы. В pancreas вырабатывается несколько веществ гормональной природы:

Типы клеток	Продуцируемый гормон	Относительный объем продукции
α (A)	Глюкагон	25%
β (B)	Инсулин	70%
δ (D)	Соматостатин	<5%
F	Панкреатический полипептид	Следы

Инсулин. На рибосомах шероховатого ретикулума β -клеток синтезируется препроинсулин, имеющий на N-конце молекулы гидрофобную последовательность из 16 аминокислот, с помощью которой белок проникает в эндоплазматический ретикулум. В просвете трубочек теряется сигнальная последовательность и образованный проинсулин транспортируется в аппарат Гольджи. Там и в секреторных гранулах с помощью протеиназ отщепляется C-пептид (connecting – связующий). Образуется инсулин, который накапливается в секреторных гранулах и секретируется при слиянии мембран гранул с плазматической мембраной клетки. Молекула инсулина состоит из двух полипептидных цепей: A-цепь – 21 аминокислотный остаток, B-цепь – 30 аминокислотных остатков. Молекулу стабилизируют 2 межцепочечные дисульфидные связи A7-B7, A20-B19 и одна в пределах цепи A A6-A11. Человеческий ген инсулина изолирован из короткой ветви 11 хромосомы. Синтез человеческого инсулина в бактериальной экспрессивной системе осуществляют с помощью рекомбинантной ДНК-технологии. Рекомбинантный, а также бычий и свиной инсулины используются в медицине для лечения больных инсулинзависимым сахарным диабетом (I типа). Ежедневно поджелудочная железа человека секретирует в кровь 40-50 ед инсулина (это 15-20% от запаса инсулина в железе). Сигналом для выделения инсулина в кровеносное русло является повышение глюкозы в крови (порог – 80-100 мг/дл, максимум – 300-500 мг/дл). Адреналин угнетает стимулированное глюкозой освобождение инсулина. Повышают выделение в кровь инсулина соматотропин, кортизол, плацентарный лактоген, эстрогены и прогестерон (третий триместр беременности). Для стимуляции секреции инсулина (II типа) используют

производное сульфаниламидов – толбутамид. Концентрация инсулина в крови – 20-40 мЕ/л.

В крови выделяют три формы инсулина: 1) свободная форма – стимулирует усвоение глюкозы мышечной и жировой тканями; 2) связанная с глобулинами форма – резерв действует только на жировую ткань; 3) форма А занимает промежуточное положение и появляется в ответ на быструю потребность организма в инсулине. Строго говоря, инсулин не имеет специфического плазменного переносчика-белка. Время его полужизни в кровеносном русле – 3-5 мин. Инсулин подвергается катаболизму в печени, почках, плаценте (за один проход через печень метаболизируется 50% инсулина). Для этого требуются две ферментативные системы: 1) инсулин-специфичная протеиназа печени и других тканей; 2) печеночная глутатион-инсулин трансгидрогеназа, катализирующая восстановление дисульфидных связей; это обеспечивает более легкий протеолиз отдельных А- и В-цепей инсулина.

Ткани делятся на инсулинчувствительные (соединительная ткань, жировая ткань, мышцы, отчасти печень) и нечувствительные – нервная ткань. В инсулинчувствительных клетках имеются рецепторы к инсулину (примерно 20000 на клетку). Инсулиновый рецептор – это гетеродимер ($\alpha_2\beta_2$), причем обе субъединицы гликозилированы (удаление сиаловой кислоты и галактозы подавляет связывание инсулина с рецептором). Цитоплазматическая часть β -субъединицы обладает тирозинкиназной активностью. Время полужизни рецептора – 7-12 часов. При связывании инсулина с рецептором происходят следующие события: 1) повышается трансмембранный перенос в клетку глюкозы, аминокислот, катионов, жирных кислот; 2) изменяется конформация комплекса инсулин-рецептор и этот комплекс проникает внутрь клетки (интернализация); 3) генерация одного или нескольких сигналов в виде вторичных посредников, в качестве которых могут выступать сам инсулин, ионы кальция, циклические нуклеотиды, перекись водорода, отщепленные от мембраны пептиды, продукты метаболизма фосфатидилинозитолов, моновалентные катионы, тирозинкиназа.

После связывания инсулина с рецептором возможны два типа эффектов: 1) быстрые (секунды, минуты) – трансмембранный транспорт, фосфорилирование белков, активация и ингибирование ферментов, транскрипция генов; 2) медленные (часы) – синтез белков, репликация ДНК, пролиферация клеток). Основные эффекты инсулина представлены в таблице:

Метаболический процесс	Характер изменений
Синтез гликогена	Повышен
Активность глюкокиназы	Повышена
Синтез липидов	Повышен
Синтез белков	Повышен

Пролиферация клеток	Повышена
Распад гликогена	Снижен
Распад жира	Снижен
Глюконеогенез из аминокислот	Снижен
Синтез кетоновых тел (за счет жирных кислот)	Снижен

В норме инсулин выделяется в кровь после приема пищи и обеспечивает анаболические процессы: увеличивает скорость синтеза и накопления белков, а также веществ, являющихся резервом энергии (гликоген и липиды). Практически все клетки (кроме нервных) нуждаются в инсулине для перевода предшественников в резервные вещества. Стимуляция инсулином синтеза макромолекул не связана с влиянием гормона на утилизацию глюкозы.

Инсулин участвует в ряде метаболических процессов.

Обмен углеводов: 1) инсулин стимулирует гликолиз, повышая активность ключевых ферментов глюкокиназы, фосфофруктокиназы и пируваткиназы; 2) в печени инсулин снижает активность глюкозо-6-фосфатазы; 3) эти процессы и стимуляция трансмембранного транспорта глюкозы обеспечивают поток глюкозы из крови в клетки; 4) инсулин стимулирует синтез гликогена за счет активации гликогенсинтазы (дефосфорилирование фермента в форму I – активную); этот процесс сопряжен с активацией фосфодиэстеразы и уменьшением внутриклеточной концентрации цАМФ, а также активацией фосфатазы гликогенсинтазы. Действие инсулина на транспорт глюкозы, гликолиз, гликогеногенез продолжается секунды (или минуты) и включает фосфорилирование-дефосфорилирование ферментов. Длительное действие на уровень глюкозы в плазме зависит от ингибирования инсулином глюконеогенеза: в печени гормон ингибирует ключевой фермент – фосфоенолпируват-карбоксикиназу (путем селективного ингибирования транскрипции гена, кодирующего мРНК этого фермента). Инсулин – единственный гормон, снижающий содержание глюкозы в крови.

Обмен липидов. Инсулин стимулирует синтез триглицеридов в жировой ткани: 1) за счет накопления ацетил-КоА и НАДФН для биосинтеза жирных кислот; 2) за счет поддержания нормального уровня ацетил-КоА-карбоксилазы, катализирующей превращение ацетил-КоА в малонил-КоА; 3) за счет запасаания глицерина. Инсулин – потенциальный ингибитор липолиза в печени и жировой ткани (из-за уменьшения концентрации цАМФ нет эффективной активации триглицеридлипазы). Инсулин уменьшает концентрацию циркулирующих неэстерифицированных жирных кислот, которые ингибируют гликолиз и стимулируют глюконеогенез.

Обмен белков. Инсулин стимулирует синтез белков и замедляет их катаболизм. Инсулин стимулирует включение нейтральных аминокислот в белки мышц.

Пролиферация клеток. Инсулин стимулирует пролиферацию и число клеток в культуре и может участвовать в пролиферации клеток *in vivo*. Инсу-

лин потенцирует действие ряда ростовых факторов – фактора роста фибробластов, тромбоцитарного, эпидермального, а также простагландинов и вазопрессина. Инсулиновый рецептор подобен рецепторам многих ростовых веществ, т.е. обладает тирозинкиназной активностью. Отметим, что более 10 продуктов онкогенов, участвующих в пролиферации клеток, являются тирозинкиназами.

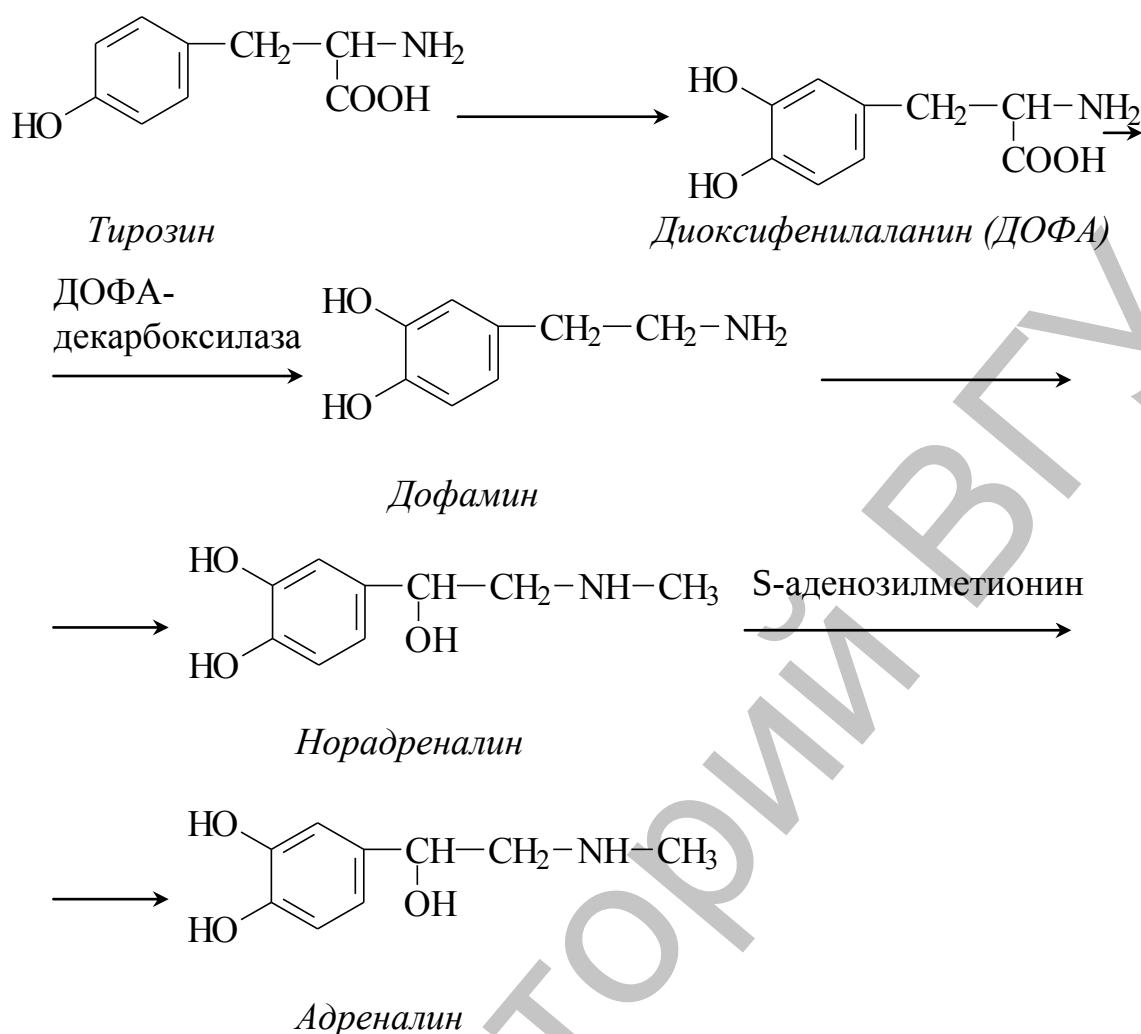
Нарушения метаболизма инсулина ведут к сахарному диабету: у 10% больных имеется инсулинзависимый диабет (в крови мало инсулина, катаболические процессы преобладают над анаболическими); у 90% больных имеется инсулиннезависимый диабет (в крови достаточно инсулина, но снижено количество инсулиновых рецепторов; тучные люди). Причины диабета: 1) дегенерация или истощение островков Лангерганса; 2) снижение чувствительности тканей к инсулину (нарушение метаболизма рецепторов, антитела к рецепторам); 3) повышение активности инсулиназы; 4) множественные молекулярные дефекты биосинтеза инсулина.

Основные признаки диабета: 1) гипергликемия за счет уменьшения поступления глюкозы в клетки; уменьшения утилизации глюкозы тканями; повышения продукции глюкозы (глюконеогенез) в печени; 2) полиурия, полидипсия, потеря веса, кетонемия, кетонурия.

Глюкагон выделяется α -клетками островков Лангерганса между приемами пищи. Является пептидом из 29 аминокислотных остатков. Период полужизни – 15-20 мин. Был выделен в 1953 году Штраубом.

Глюкагон связывается с рецепторами клеток-мишеней (печень, жировая ткань, в меньшей мере – мышцы). Действует через активацию аденилатциклазы и увеличение внутриклеточной концентрации цАМФ. Основное действие – мобилизация резервных веществ: гликогена в печени и отчасти в мышцах, триглицеридов в жировой ткани. Мобилизация этих веществ приводит к повышению уровня глюкозы, неэстерифицированных жирных кислот и глицерина в крови. В печени из жирных кислот через ацетил-КоА синтезируются кетоновые тела (умеренно). Глюкагон в печени угнетает синтез белков и облегчает их катаболизм. Образованные аминокислоты используются в синтезе глюкозы (глюконеогенез) и после дезаминирования – в синтезе мочевины. Центральный эффект – гипер-гликемия – обеспечивается двумя механизмами: быстрый – гликогенолиз и медленный – глюконеогенез. Метаболические эффекты глюкагона напоминают таковые при сахарном диабете.

Гормоны мозгового вещества надпочечников. Катехоламины синтезируются из аминокислоты тирозин:



1) катехоламины синтезируются в аксонах нервных клеток и накапливаются в синаптических пузырьках. 2) Катехоламины образуются в мозговом веществе надпочечников (в виде секреторных гранул в хромоаффинных клетках) и секретируются в кровь. Повышенная секреция адреналина происходит при понижении концентрации глюкозы в крови и при стрессе. Содержание адреналина в крови 2 нмоль/л, норадреналина – 4 нмоль/л (за счет диффундирования из синапсов). При стрессе количество катехоламинов увеличивается в 4-8 раз. Период полужизни – 1-3 мин. Гематоэнцефалический барьер является препятствием для катехоламинов. Может проходить через гематоэнцефалический барьер только ДОФА, что и определяет использование этого препарата при паркинсонизме. Катехоламины крови подавляют свой собственный синтез и секрецию. Адреналин является мощным ингибитором метилтрансферазы, катализирующей превращение норадреналина в адреналин.

Катехоламины инактивируются моноаминоксидазой митохондрий (окислительное дезаминирование) и катехолометилтрансферазой цитоплазмы (метилирование кольца). Продукты теряют активность. Катехоламины и продукты метаболизма (ванилил-миндальная кислота) выводятся с мочой. В клетках-мишенях имеется два типа рецепторов. Эффекты ад-

ренина зависят от типа рецептора. Связывание адренина с β -адренорецепторами стимулирует аденилатциклазу и вызывает изменения, характерные для накопления цАМФ в клетке: в мышцах и печени – гликогенолиз, в жировой ткани – липолиз (действие, как у глюкагона). Связывание адренина с α -адренорецепторами стимулирует гуанилатциклазу и вызывает в обмене изменения, характерные для накопления цГМФ. Через транслокацию цАМФ (возможно с рецепторными субъединицами протеинкиназ) адренин в ядре усиливает транскрипцию, что ведет к усилению биосинтеза ряда белков.

Адренин в печени усиливает выброс глюкозы в кровь, в мышцах – специфический путь распада глюкозы. При этом потребление кислорода растет примерно на 30%. В результате мобилизации жира в крови повышаются уровни холестерина и фосфолипидов. Адренин действует на сердечно-сосудистую систему: инотропное действие (увеличение силы и частоты сердечных сокращений), повышает артериальное давление, расширяет мелкие артериолы. Адренин вызывает расслабление гладких мышц кишечника, бронхов, матки.

Гиперфункция мозгового вещества – опухоль хромаффинной ткани – феохромоцитома: устойчивая гипертония, глюкозурия. Содержание адренина и норадренина в крови может превышать норму в 500 раз, содержание неэстерифицированных жирных кислот превышает норму в сотни раз. Гипофункция мозгового вещества надпочечников не описана.

Проникающие гормоны (стероидной природы, тироидные гормоны) имеют рецепторы внутри клетки. После связывания с ними гормоны транспортируются в ядро клетки, где взаимодействуют с гормонально чувствительными фрагментами ДНК и регулируют процессы биосинтеза белков (экспрессия генов).

Гормоны стероидной природы, глюкокортикоиды. Стероидные гормоны – производные циклопентанпергидрофенантрена. Их делят на три группы: глюкокортикоиды, действующие преимущественно на углеводный обмен; минералокортикоиды, действующие преимущественно на минеральный обмен; половые гормоны.

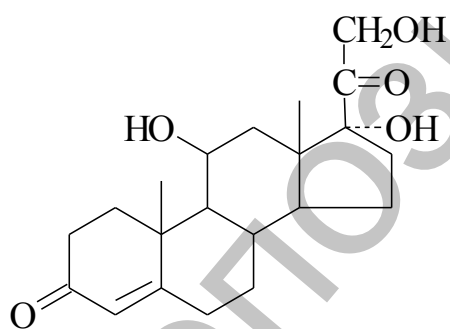
Синтез стероидных гормонов происходит по следующей схеме: 1) в эндокринных клетках холестеролэстераза освобождает холестерин из эфиров холестерина (30-40% эндогенные эфиры холестерина, 60-70% эфиров холестерина поступает в составе ЛПНП). 2) Свободный холестерин переносится в митохондрии, где из него образуется прегненолон. 3) Прегненолон переносится в эндоплазматическую сеть. Все дальнейшие реакции идут в эндоплазматической сети и цитоплазме с использованием метаболитов обмена углеводов и липидов.

Синтез стероидных гормонов стимулируется в коре надпочечников кортикотропином, а в половых железах – лютропином. Эти тропные гормоны аденогипофиза регулируют: 1) транспорт эфиров холестерина в

клетку; 2) активность холестеролэстеразы; 3) митохондриальные ферменты превращения холестерина в прегненолон; 4) процессы катаболизма углеводов и липидов, обеспечивающие стероидогенез энергией и пластическим материалом. Стимуляция тропными гормонами опосредована аденилатциклазным механизмом: 1) через протеинкиназу происходит цАМФ-зависимое фосфорилирование белков цитоплазмы; 2) регуляторная субъединица переносит цАМФ в ядро и через фосфорилирование гистонов и негистоновых белков происходит активация матричной активности генома.

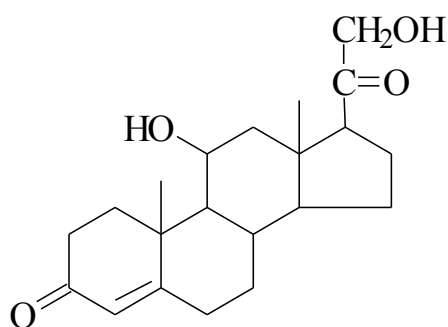
В крови 90-95% стероидных гормонов связаны с белками. Активные свободные формы. По обратной связи стероидные гормоны тормозят продукцию тропных гормонов гипофизом. Период полужизни стероидных гормонов – 0,5-1,5 часа. О функции желез судят по концентрации гормонов в крови и выделению их метаболитов с мочой. В печени, почках и других тканях гормоны модифицируются (восстановление двойных связей, гидроксирование, метоксилирование и др.), что приводит к потере биологической активности. Повышение гидрофильности достигается образованием парных соединений (глюкуронаты, сульфаты, фосфаты), которые выводятся с мочой.

Глюкокортикоидные гормоны – это C_{21} -стероиды, имеющие в кольцо А двойную связь, ОН-группу в 21 положении и две оксо-группы в 3 и 20 положениях (в основе скелета лежит углеводород – прегнан). Выделяют наиболее важные глюкокортикоиды: кортизол (компонент F) – 11β , 17α , 21-тригидрокси-4-прегнене-3,20-дион и кортизон (компонент E) – 17α , 21-

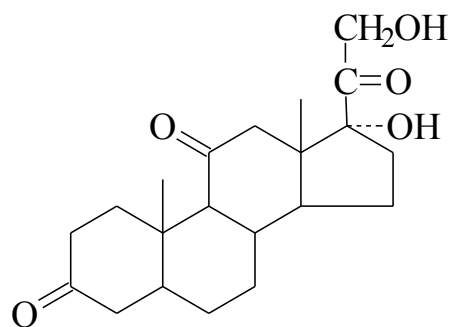


дигидрокси-4-прегнене-3,11,20-трион.

Кортизол (гидрокортизон)



Кортикостерон



Кортизон

Глюкокортикоиды связываются в крови с транскортином (α_1 -глобулин) и транспортируются к органам-мишеням: печень, почки, лимфоидная ткань (селезенка, лимфоузлы, лимфоидные бляшки кишечника, лимфоциты, тимус и др.), соединительная ткань (кости, подкожная соединительная ткань, жировая ткань и др.), скелетные мышцы. Глюкокортикоиды проникают в клетку и связываются с цитозольными рецепторами. По действию гормонрецепторного комплекса на синтез белков все органы можно разделить на две группы: 1) в печени и почках усиливается транскрипция специфических генов, например, кодирующих синтез ключевых ферментов глюконеогенеза; 2) в остальных тканях ингибируется синтез белков, а в лимфоидной ткани (лимфоциты) усиливается распад (лимфоцитоллиз). Блокада синтеза белка в лимфоидной ткани и активный протеолиз в ней увеличивают фонд аминокислот, которые поступают в кровь. В печени и почках эти аминокислоты используются в синтезе белков и для глюконеогенеза. В печени и почках глюкокортикоиды обеспечивают превращение аминокислот в глюкозу (т.к. индуцируют синтез пируваткарбоксилазы, фосфоэнолпируваткарбоксикиназы, фруктозо-1,6-бисфосфатазы и глюкозо-6-фосфатазы) и гликоген (индукция гликогенсинтазы). Глюкоза хуже проникает в мышцы, в результате в крови накапливается глюкоза (гипергликемия), используемая мозгом и другими жизненно важными тканями.

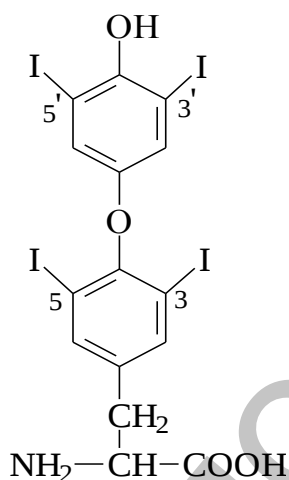
Глюкокортикоиды выделяются при стрессе совместно с катехоламинами; кроме того глюкокортикоиды способны усиливать секрецию катехоламинов. В связи с этим ряд эффектов глюкокортикоидов опосредован адреналином – мобилизация жира из депо, поступление в кровь глицерина (используется в глюконеогенезе) и жирных кислот (дают в печени через ацетил-КоА кетонные тела). Итак, в крови повышается содержание глюкозы, аминокислот, жирных кислот, кетонных тел; в моче – глюкозурия, кетонурия, аминоацидурия. Такие изменения обозначены как стероидный диабет.

Существуют, по крайней мере, **три группы гормонов, регулирующих рост** и развитие: 1) на базе одной из наиболее распространенных и устойчивых аминокислот – тирозина – синтезируются трийодтиронин (T_3) и тетрайодтиронин (T_4); 2) на основе белково-пептидных структур образуются

соматотропин, инсулин, ростовые факторы; 3) на базе цикlopentanпергидрофенантреновой структуры холестерина синтезируются глюкокортикоидные и половые гормоны.

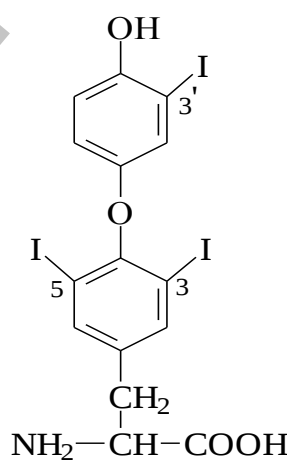
Гормоны щитовидной железы. Синтезируются в составе тироглобулина. Йод поступает в организм в виде органических и неорганических солей (растения, вода). В кровь всасывается и транспортируется в виде йодида (I^-). Йодид химически инертен и накапливается в щитовидной железе против градиента концентрации (йод в железе/йод в крови=25). Тироидная йодная помпа связана с Na^+, K^+ -АТФазой. В коллоиде фолликулов происходит окисление йодида с участием пероксидазы в электрофильную частицу йодинум (I^+). Затем происходит электрофильная атака тирозиновых радикалов белка-тироглобулина и образуются монойод- и дийодтирозины (MIT-TG, DIT-TG), которые сшиваются в трийодтиронины и тироксины. Везде присутствует -ил, т.к. синтез идет в составе тироглобулина. Йодированные молекулы тироглобулина пиноцитозом поступают в клетки фолликулов. После слияния с лизосомами (вторичные лизосомы) протеолитическим путем освобождаются T_3 и T_4 в соотношении 1:4.

3,3',5,5'-тетрайодтиронин



(тироксин, T_4)

3,3',5-трийодтиронин



(T_3)

Синтез и секреция T_3 и T_4 контролируется тиролиберинем и тиротропином. Тиротропин оказывает следующие эффекты: 1) стимулирует активный транспорт I^- против 500-кратного градиента в полость фолликула за счет цАМФ-зависимого фосфорилирования белков клеточных мембран; 2) усиливает транскрипцию и трансляцию тироглобулина; 3) стимулирует рост эпителиальных клеток, формирующих фолликулы; в фолликулярном коллоиде – йодирование тирозилов; 4) по аденилатциклазному механизму стимулирует синтез T_3 , T_4 (аналогично действуют адреналин и ПГЕ₂); 5) стимулирует секрецию йодированного тироглобулина путем пиноцитоза и отщепления T_3 и T_4 при слиянии пино-

цитозных пузырьков с мембранами лизосом (протеолитическим путем); поступление T_3 и T_4 в кровь и лимфу. Регуляция: тиролиберин гипоталамуса стимулирует выделение тиротропина. Соматотропин ингибирует выделение тиротропина. Циркулирующие в крови T_3 и T_4 подавляют секрецию тиролиберина и тиротропина; T_4 подавляет синтез тироглобулина. Йодтиронины транспортируются в связи с тироксинсвязывающим глобулином (TBG) и тироксинсвязывающим преальбумином (TBPA). Сродство гормонов к TBG в 100 раз выше, чем к TBPA. TBG синтезируется в печени и синтез активируется эстрогенами. Снижение синтеза TBG наблюдается при введении андрогенов или глюкокортикоидов и заболеваниях печени. Большее сродство к белкам (в 10-100 раз) имеет T_4 , поэтому его период полужизни в 4-5 раз превышает период полужизни T_3 (T_4 – 6-8 суток, T_3 – 16 ч). Относительно стабильной поддерживается концентрация метаболически активных свободных форм гормонов. Разрушение гормонов включает дейодирование (особенно быстро в 3' и 5' положениях), восстановление до двух молекул тирозина. Возможно декарбоксилирование, дезаминирование и трансаминирование тиронина. В печени могут образоваться конъюгаты тиронина с глюкуроновой кислотой или сульфатом, которые затем экскретируются. Йодтиронины действуют на многие ткани организма, хотя наиболее чувствительны печень, сердце, почки, скелетные мышцы; в меньшей степени жировая и нервная ткани. В клетках-мишенях предполагают наличие цитозольных, митохондриальных и ядерных рецепторов (не исключены и мембранные рецепторы).

Последовательность проявления гормонального эффекта: 1) T_4 отщепляется от T_4 -связывающих белков плазмы и переносится внутрь клетки. (В случае связывания с мембранным рецептором усиливается поступление аминокислот в клетку). 2) На мембранах эндоплазматического ретикулума T_4 дейодируется в T_3 . 3) T_3 связывается с хроматиновым рецептором (его сродство к рецептору в 100-1000 раз выше, чем у T_4). 4) Результатом связывания T_3 с хроматиновым рецептором является повышение активности РНК-полимеразы, синтеза мРНК и трансляция более 100 типов белков. В эмбриогенезе усиливается синтез специфических белков, обеспечивающих развитие и дифференцировку тканей за счет экспрессии специфических белков. Основная метаболическая функция тироидных гормонов – повышение потребления кислорода. Согласно гипотезе Эдельмана и соавторов большая часть энергии клетки утилизируется при работе Na^+ , K^+ -АТФазной помпы. Тироидные гормоны повышают функцию этого насоса и увеличивают число единиц АТФазы. Повышение утилизации АТФ ассоциируется с повышением потребления кислорода через механизмы окислительного фосфорилирования. Повышенный обмен АТФ (образование и использование) определяет теплопродукцию.

Проявления действия йодтиронинов в норме: 1) на уровне клетки – пролиферация, рост, дифференцировка. 2) На уровне организма –

нормальный рост и правильное развитие тканей, органов. Следует учитывать взаимоотношения тироидных гормонов и соматотропина. T_3 и глюкокортикоиды повышают транскрипцию гена соматотропина, что приводит к усиленной продукции гормона роста.

Нарушения функции щитовидной железы: 1) гипofункция щитовидной железы в детском возрасте – кретинизм (снижение и замедление метаболизма, физического и умственного развития). 2) Гипofункция щитовидной железы в зрелом возрасте – микседема (нарушение водно-солевого, липидного обменов на фоне замедления метаболизма – ожирение и отеки). 3) Недостаточность йода в воде и растениях в регионах – эндемический зоб (увеличение щитовидной железы преимущественно за счет разрастания соединительной ткани). 4) Радиационно-индуцированные поражения щитовидной железы преимущественно у детей (воздействие в первые две недели после аварии на Чернобыльской АЭС) – чаще гипотироидные состояния (уменьшение T_3), но возможны гипертироидные состояния, гиперплазии и рак. 5) Повышение функции щитовидной железы (тиротоксикоз, Базедова болезнь). Избыток T_3 ингибирует синтез белков, вызывает отрицательный азотистый баланс, мобилизацию липидов, углеводов; усилена теплопродукция.

Гормон роста – соматотропин – синтезируется в ацидофильных клетках гипофиза. Концентрация гормона в гипофизе – 5-15 мг/г, что в 1000 раз выше, чем других гипофизарных гормонов. Соматотропин – это полипептид, который состоит из 191 аминокислотного остатка (м.м. 22000 Да). Синтез и выделение соматотропина регулируется нейропептидами гипоталамуса – соматолиберин и соматостатином. Гормон видоспецифичен. Для терапевтических целей получен рекомбинантный соматотропин. Соматотропин является необходимым (эссенциальным) для постнатального роста и нормального обмена углеводов, липидов и минеральных солей. Соматотропин обладает прямыми (через цАМФ-зависимые эффекты) и опосредованными действиями. Соматотропин непосредственно влияет на транспорт аминокислот и липолиз. Связанные с ростом эффекты опосредуются IGF-1 (инсулиноподобный фактор, полученный по информации одного из семейства инсулиноподобных генов). Он усиливает включение сульфата в хрящи (поэтому он сначала назывался сульфатирующим фактором, затем соматомедином С); по строению сходен с проинсулином (70 аминокислотных остатков). Из плазмы крови человека выделен IGF-2, состоящий из 67 аминокислотных остатков. Этот инсулиноподобный фактор обладает многогранной митогенной стимулирующей активностью. Содержание в плазме крови IGF-2 в два раза выше, чем IGF-1, но эффекты соматотропина тесно коррелируют с IGF-1. Некоторые авторы считают, что в печени образуется до 7 типов соматомединов, которые опосредуют действие соматотропина (А, В, С).

К биологическим эффектам соматомединов в хрящевой ткани относятся: 1) стимуляция включения $^{35}\text{SO}_4$ в протеогликаны; 2) стимуляция включения тимидина в ДНК; 3) стимуляция синтеза РНК; 4) стимуляция синтеза белков.

Выделяют следующие биохимические аспекты действия соматотропина.

На обмен белков соматотропин действует подобно (синергично) инсулину:

1) увеличивает транспорт аминокислот в мышцы; 2) усиливает биосинтез ДНК, РНК и белков; 3) снижает содержание аминокислот и мочевины в моче; 4) обеспечивает положительный азотистый баланс.

На обмен углеводов соматотропин действует противоположно (антагонист) инсулину: 1) гипергликемия после введения соматотропина является результатом снижения периферической утилизации глюкозы и повышения продукции глюкозы печенью в глюконеогенезе; 2) повышает содержание гликогена в печени (возможно за счет глюконеогенеза из аминокислот); 3) тормозит гликолиз в мышцах из-за ингибирующего действия жирных кислот, освобождающихся при липолизе жира в липоцитах; 4) длительное введение соматотропина ведет к сахарному диабету.

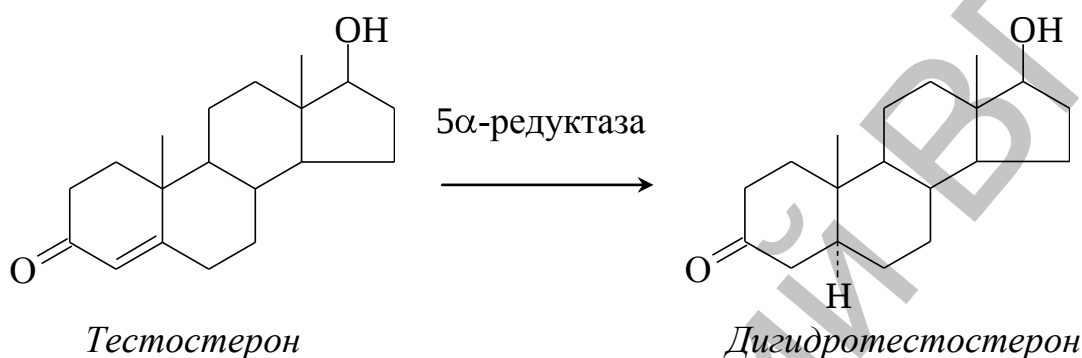
Обмен липидов – соматотропин способствует освобождению свободных жирных кислот и глицерина из жировой ткани, их повышению в крови и β -окислению в печени. При дефиците инсулина соматотропин повышает кетогенез. Эти эффекты не опосредуются IGF-1.

Минеральный обмен – соматомедины, или IGF-1, способствуют положительному кальциевому, магниевому и фосфатному балансу и задержке Na^+ , K^+ и Cl^- . Первый эффект имеет отношение к действию соматотропина на кости, где он обеспечивает рост длинных костей за счет метафизарных зон у детей или роста акральных областей у взрослых. У детей соматотропин повышает образование хрящевой ткани.

Пролактиноподобный эффект – соматотропин связывается с рецепторами пролактина и стимулирует рост молочных желез и лактогенез. Сниженная продукция соматотропина или наличие дефектов рецепторов к соматотропину в печени в детском возрасте ведут к гипофизарной карликовости (подавлен рост, но сохранены пропорции и не страдает психофизическое развитие). Избыток соматотропина, вызванный опухолью ацидофильных клеток до закрытия зон роста костей, ведет к гигантизму. Избыток соматотропина у взрослых ведет к ак-ромегалии.

Мужские половые гормоны. Testes продуцируют тестостерон и сперматозоиды. Для этого требуются три типа клеток: сперматогонии (из них образуются сперматозоиды), клетки Лейдига (продуцируют тестостерон) и клетки Сертоли (создают условия для дифференцировки и созревания половых клеток). Тестикулярные андрогены синтезируются клетками Лейдига из холестерина. Лимитирующей стадией синтеза всех

стероидных гормонов в коре надпочечников и гонадах является стадия ферментативного освобождения холестерина из эфиров холестерина (холестеролэстераза) и расщепления боковой цепи (переход С-27-стероида в С-21-стероид) до прегненолона. Эти стадии регулируются кортикотропином, лютропином и ангиотензином II. В гонадах эффективнее лютропин. Ежедневно в testes синтезируется 5 мг тестостерона. Содержание тестостерона в плазме крови мужчин составляет 7,3 мкг/л, что в 20 раз выше, чем у женщин - 0,37 мкг/л.



Тестостерон транспортируется в плазме с помощью тестостерон-эстрадиол-связывающего глобулина (секс-гормон-связывающий глобулин), который синтезируется в печени. Синтез стимулируется эстрогенами, поэтому содержание секс-гормон-связывающего глобулина у женщин в два раза выше, чем у мужчин. Синтез этого глобулина уменьшается с возрастом, при гипотиреозе и введении андрогенов. Большая часть циркулирующего в крови тестостерона (97-99%) связана с секс-гормон-связывающим глобулином; 1-3% – активная свободная форма гормона.

Метаболизм тестостерона в тканях: 1) окисление в 17-положении и образование 17-кетостероидов (андростерон, этиохоланолон, эпиандростерон), при этом 30% 17-кетостероидов семенникового происхождения и 70% (андростендион, дегидроэпиандростерон) надпочечникового. 2) В печени 17-кетостероиды образуют конъюгаты с глюкуроновой кислотой и серной кислотой и выделяются с мочой, желчью и калом. Уровень 17-кетостероидов в моче является интегральным показателем секреции стероидных гормонов. 3) Восстановление двойной связи в кольце А и оксо-группы в 3-м положении происходит преимущественно в тканях-мишенях и ведет к образованию потенциальных метаболитов дигидротестостерона. Ткани, чувствительные к тестостерону, – эмбриональный Вольфов проток, сперматогонии, мышцы, кости, почки, мозг. Классические клетки-мишени – простата, семенные пузырьки, внешние гениталии, кожа гениталий – содержат высокую активность фермента 5-α-редуктазы, который катализирует образование активной формы андрогенов – дигидротестостерона (до 400 мкг в сутки). В плазме крови содержание дигидротестостерона составляет 10% от уровня тестостерона.

Андрогены (тестостерон и дигидротестостерон) участвуют в процессах: 1) сексуальной дифференцировки; 2) сперматогенезе; 3) развитии вторичных половых признаков; 4) регуляции генов и стимуляции анаболических процессов; 5) определении психофизического статуса мужчины.

Андрогены – это проникающие гормоны и действуют по схеме: 1) свободный тестостерон проникает через плазматическую мембрану пассивной или облегченной диффузией. Клетки-мишени удерживают гормон благодаря связи со специфическими внутриклеточными рецепторами. 2) В ряде клеток с помощью 5- α -редуктазы тестостерон превращается в дигидротестостерон. Его сродство к внутриклеточным рецепторам выше, чем у тестостерона. 3) Гормон-рецепторный комплекс проникает в ядро и связывается с хроматином в области андроген-чувствительного элемента ДНК. 4) Тестостерон/дигидротестостерон-рецепторный комплекс активирует специфические гены, что обеспечивает синтез ряда белков, опосредующих практически все эффекты андрогенов. Например, тестостерон стимулирует синтез белков в мужских половых органах (андроген-связывающий глобулин), увеличивает размеры почек и синтез многих ферментов, стимулирует репликацию ДНК в клетках-мишенях.

Андрогены оказывают сложное влияние на рост. Рост в отрочестве связан с косвенным влиянием их через стимуляцию секреции соматотропина. Но чрезмерная андрогенизация в периоде полового созревания может привести к раннему заращению эпифизарных зон роста и остановке роста.

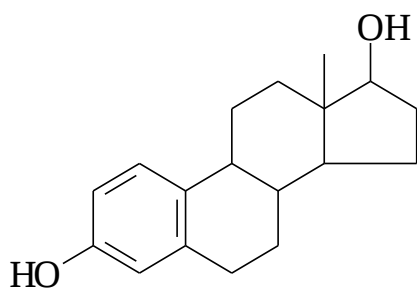
Нарушения андрогенной функции отмечают при отсутствии синтеза тестостерона – гипогонадизма. Гипогонадизм до полового созревания нарушает развитие вторичных половых признаков, а после полового созревания ведет к их регрессии. Первичный гипогонадизм связан с нарушением процессов в самих testes. Вторичный гипогонадизм связан с дефектом секреции гонадотропинов.

Анаболические эффекты андрогенов использованы при создании анаболических стероидов 19-нор-ряда, т.е. лишенных метильной группы в 10-м положении (19-го углеродного атома): отношение анаболические эффекты/андрогенные эффекты для тестостерона 1:1, а для анаболических стероидов – 20:1. Длительное пероральное применение их может вызвать поражение печени, опухоли и проблемы в сексуальной функции.

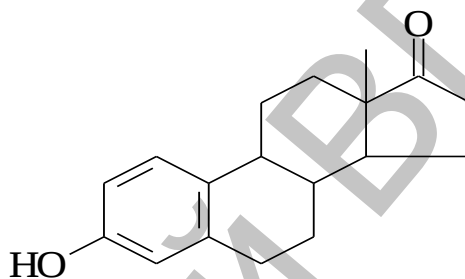
Женские половые гормоны. К ним относят эстрогены (C_{18} -стероиды) и прогестины (C_{21} -стероиды). Эстрогены – это семейство стероидных гормонов, образующихся в различных тканях. 17- β -эстрадиол является первичным эстрогеном овариального происхождения. Синтез эстрогенов происходит в яичниках и периферических тканях: 1) синтез эстрадиола в предовуляторной фазе менструального цикла обусловлен взаимодействием двух типов клеток: в клетках теки синтезируется тестостерон, а в клетках гранулезы происходит ароматизация тестостерона

и превращение его в эстрадиол. 2) Эстрогены образуются во многих периферических тканях путем ароматизации андрогенов (тестостерон → эстрадиол, андростендион → эстрон). В печени и плаценте эстрон может превращаться в эстриол.

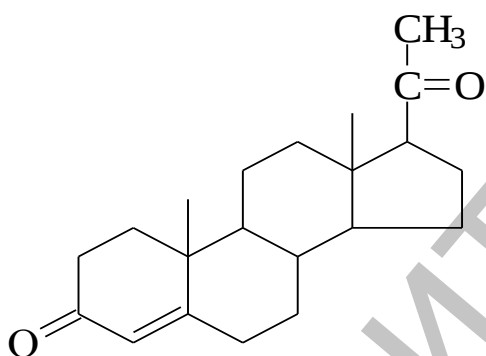
В желтом теле вырабатывается прогестерон: (C₂₁-стероид). Он экскретируется из организма в виде прегнандиола.



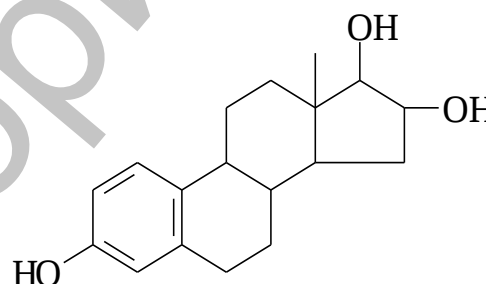
Эстрадиол



Эстрон



Прогестерон



Эстриол

Синтез гормонов осуществляется в рамках полового цикла:

1) фолликулиновая фаза (овуляторная). В конце менструации эстрогены на низком уровне. Начинает увеличиваться содержание фоллитропина и лютропина. Это ведет к росту группы фолликулов, продуцирующих эстрогены (они обеспечивают регенерацию эндометрия). Эстрогены подавляют дальнейший выброс фоллитропина. Одна из групп фолликулов становится относительно независимой от фоллитропина и их рост продолжается, а остальные атрофируются.

2) Овуляция. Доминирующий фолликул развивается быстро и секретирует много эстрадиола, который инициирует высвобождение лютропина из гипофиза (по механизму положительной обратной связи). Примерно через 16 ч происходит овуляция. Высокое содержание лютропина тормозит секрецию эстрогенов и стимулирует секрецию прогестерона. Фолликул трансформируется в желтое тело.

3) Лютеиновая (секреторная) фаза. Наблюдается расцвет и затем угасание желтого тела, которое берет на себя функцию секреции гормонов яичников. Лютропин стимулирует развитие желтого тела и секрецию прогестерона и эстрогенов. По мере обратного развития желтого тела содержание гормонов яичников падает (обеспечивает сморщивание и отслойку слизистой эндометрия), что стимулирует увеличение выброса фоллитропина и лютропина, и цикл повторяется.

Эстрогены транспортируются секс-связывающим глобулином, а прогестерон кортикостероидсвязывающим глобулином. Активны свободные формы гормонов. Клиренс гормонов зависит от их аффинности к секс-связывающему глобулину: эстрон > эстрадиол > тестостерон (т.е. из тканей быстрее уходит эстрон). В печени эстрадиол и эстрон превращаются в эстриол, связываются с глюкуроновой или серной кислотой (при этом повышается растворимость) и выводятся с мочой, желчью и калом. Процесс идет очень быстро, поэтому пероральное применение эстрогенов неэффективно. Прогестерон в печени превращается в прегнандиол, который в виде прегнандиол-20-глюкуронида является главным метаболитом прогестина в моче. При применении *per os* неэффективен. Созданы синтетические стероидные препараты, обладающие прогестероновой активностью, но избегающие быстрого метаболизма в печени – оральные контрацептивы.

Эстрогены и прогестерон как бы дополняют регуляторные эффекты друг друга на обмен веществ, рост, развитие тканей и органов. Как правило, эффекты прогестерона возможны на фоне предварительного действия на ткани эстрогенов. Механизм действия этих проникающих в клетку гормонов связан с усилением матричных синтезов белков. Так, например, эстрогены в печени усиливают синтез ряда специфических белков: белков-переносчиков стероидных и тироидных гормонов, факторов свертывания крови II, VII, IX, X, субстрата ренина – ангиотензиногена, ЛПВП, ЛПОНП. Для эстрогенов характерен анаболический эффект и положительный азотистый баланс. Эстрогены как индукторы ферментов активируют гликолиз, пентозофосфатный путь (восстановительные синтезы); ускоряют обновление липидов и выведение холестерина (атеросклероз развивается у женщин реже). Эстрогены оказывают тормозящее действие на Na^+, K^+ -АТФазу, в результате чего возникает деполяризация мембран миометрия, повышающая его возбудимость и сократимость. Тормозящее действие прогестерона связано со стойкой деполяризацией мембран миометрия, в результате чего он не реагирует на медиаторы.

Итак, эстрогены обеспечивают: 1) развитие органов половой сферы; 2) формирование вторичных половых признаков; 3) процессы в фолликулярную фазу цикла; 4) психофизический статус женщины; 5) протекание беременности, родов, лактации.

Прогестерон действует только в период функционирования желтого тела: 1) торможение сокращения матки и труб; 2) подготовка и импланта-

ция оплодотворенной яйцеклетки; 3) лактация; 4) снижение возбудимости гиппокампа, центра терморегуляции и сексуальной реактивности.

Нарушения гормональной функции яичников: 1) инфантилизм – дефицит эстрогенов до полового созревания (задержка развития половой сферы, нарушения циклов, отрицательный азотистый баланс, потеря ионов кальция и фосфатов, гипергликемия); 2) дефицит прогестерона – нарушения половых циклов, привычные выкидыши.

Эстрогены и прогестерон применяют для восстановления нарушенных половых циклов. Прогестерон – для сохранения беременности.

Беременность. Если происходит оплодотворение яйцеклетки и она имплантируется в слизистую эндометрия, трофобласт уже через сутки начинает выделять хорионический гонадотропин. Он подобно лютропину стимулирует рост, развитие и секреторную функцию желтого тела яичника. Его инволюции нет.

Во время беременности формируется временная эндокринная железа – **плацента**, которая секретирует: 1) хорионический гонадотропин (обладает активностью лютропина); 2) плацентарный лактоген, или соматомаммотропин (лактотропное, лютеотропное и соматотропное действие); тиротропин (обеспечивает повышение функции щитовидной железы у беременных); 3) фетоплацентарной системой (плод-плацента) синтезируются и секретируются стероидные гормоны – прогестерон, эстрадиол, эстрон, эстриол, тестостерон.

Минеральные вещества, содержащиеся в тканях в больших количествах (г, мг) относятся к макроэлементам (Ca, P, K, Na, Fe, Mg, Cl). Микроэлементы (J, Zn, Mn, Cu, Co, Br) входят в состав организма в очень малых количествах – микрограммы. Функции минеральных веществ: 1) создание осмотического давления в тканях; 2) образование буферных систем и поддержание pH; 3) образование комплексных соединений с белками, нуклеиновыми кислотами, что приводит к изменению их конформации и физиологических свойств; 4) участие в ферментативном катализе (могут входить в состав ферментов, фермент-субстратных комплексов или служить эффекторами).

Кальций и фосфаты Содержание кальция в организме взрослого человека составляет 1-1,5 кг (или 20 г на 1 кг массы тела); 90% кальция находится в костях, где вместе с фосфатами образуются кристаллы гидроксиапатита (неорганический структурный компонент скелета). Кальций – это внеклеточный катион: в плазме крови содержание кальция – 2-2,8 ммоль/л, фосфатов – 0,8-2,0 ммоль/л. Ежедневно с пищей должно поступать до 1,1 г кальция и 1,5 г фосфатов. Основная часть кальция выводится из организма с калом – 500-800 мг/сутки, с мочой – 100-300 мг/сутки.

Функции кальция: 1) участие в свертывании крови; 2) участие в мышечном сокращении; 3) внутриклеточный посредник ряда гормонов – уча-

стие в проведении нервного импульса; 4) участие в секреторной активности железистых клеток; 5) формирование скелета.

Функции фосфатов: 1) образование важнейших органических соединений (нуклеотидов, нуклеиновых кислот, фосфолипидов, коферментных форм витаминов и др.); 2) участие в регуляции активности биомолекул путем фосфорилирования-дефосфорилирования; 3) образование фосфатной буферной системы крови; 4) формирование скелета.

В плазме крови кальций присутствует в трех формах: 1) в комплексе с органическими и неорганическими кислотами; 2) в связанной с белками форме; 3) в ионизированной форме. В комплексы с цитратом, фосфатом и другими анионами вовлечено около 6% общего кальция. Остальное количество распределяется почти поровну между связанной с белками (альбуминами) формой и ионизированной формой. При падении концентрации альбуминов на 10 г/л содержание кальция падает на 8 мг/л. Ионизированный кальций (Ca^{2+}), концентрация которого у большинства млекопитающих, птиц и пресноводных рыб поддерживается в пределах 1,1-1,3 ммоль/л – это биологически активная фракция. Организм обладает очень малой толерантностью к значительным отклонениям уровня ионизированного кальция от указанных границ нормы. В случае снижения уровня кальция у животных нарастают явления повышенной возбудимости (вплоть до возникновения тетанических судорог). Заметное повышение ионизированного кальция в плазме может привести к смерти из-за паралича мышц и комы. Ион кальция и парный ему ион фосфата присутствуют в плазме крови в концентрациях, близких к пределу растворимости их солей; отсюда следует, что связывание ионов кальция с белками предупреждает возможность образования осадка и эктопической кальцификации. Около 1% кальция скелета легко обменивается и еще 1% находится в периостальном пространстве (надкостница) – вместе эти два источника составляют мобильный (смешанный) фонд ионов кальция.

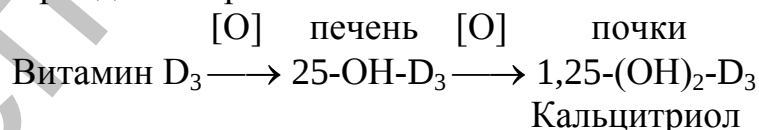
Регуляция фосфатно-кальциевого обмена. В поддержании необходимого уровня Ca^{2+} в крови участвуют почки, кости и кишечник. Обмен Ca^{2+} регулируется паратгормоном, кальцитонином и производным витамина D – кальцитриолом.

Паратгормон – белок, состоит из 84 аминокислот, м.м. 9500 Да, вырабатывается в паращитовидных железах. Низкая концентрация кальция в крови (менее 1,1 ммоль/л) вызывает синтез и секрецию гормона, а высокая концентрация кальция ингибирует оба процесса (синтез и секрецию). В паращитовидных железах сравнительно мало накопительных гранул, и количество гормона в них может обеспечить максимальную секрецию лишь в течение 1,5 часов (для сравнения – в островковом аппарате поджелудочной железы содержание инсулина достаточно для нескольких дней секреции, а в щитовидной железе запас гормонов на несколько недель). Поэтому биосинтез паратгормона должен быть постоянным. Периферический протео-

лиз паратгормона протекает, главным образом, в купферовских клетках печени. Органы-мишени: кишечник, кости, почки. Гормон-непроникающий действует в клетках-мишенях по аденилатциклазному механизму. В клетках почек и кости имеются мембранные рецепторы к паратгормону, являющиеся простым белком с молекулярной массой 70000 Да. В кишечнике паратгормон усиливает всасывание кальция (косвенное действие через образование кальцитриола в почках). В костях паратгормон активирует остеокласты и вызывает мобилизацию и выход Ca^{2+} и фосфатов в кровь; остециты тормозит (это наиболее значимый эффект). В почечных канальцах паратгормон стимулирует реабсорбцию кальция (самый быстрый эффект) и угнетает реабсорбцию фосфатов. В норме реабсорбируется 90% Ca^{2+} , а при действии паратгормона – 98%. Конечный эффект паратгормона – повышение концентрации кальция в крови (во внеклеточной жидкости) при постоянной или сниженной концентрации фосфатов.

Кальцитонин – пептид, состоит из 32 аминокислот, синтезируется в парафолликулярных К (С)-клетках щитовидной железы (реже клетками паращитовидной железы и тимуса). Секреция кальцитонина происходит при значительном увеличении уровня кальция в крови. Уровни секреции кальцитонина и паратгормона связаны обратной зависимостью. Органы-мишени: кости; в регуляции участвуют кишечник и почки. В костях кальцитонин ингибирует остеокласты, снижает высвобождение Са и фосфата. Увеличивает содержание цАМФ в кости, влияя на клетки, которые не являются мишенью паратгормона. Способствует входу фосфата в клетки кости и периостальную жидкость, снижая при этом выход Са из костей в плазму крови. Вход фосфата в кость может сопровождаться и входом кальция. Уровень гормона повышается у кормящих и беременных, что защищает организм от потерь кальция.

Витамин D. В почках под контролем паратгормона из малоактивного предшественника 25-гидроксиголекальциферола образуется активная форма 1,25-дигидроксиголекальциферол (кальцитриол), который рассматривается как стероидный гормон.



Органы-мишени: кишечник, кости, почки. Механизм действия осуществляется через индукцию синтеза белков на уровне транскрипции. Основная биологическая роль кальцитриола – это стимуляция всасывания кальция и фосфата в кишечнике. Кальцитриол – единственный гормон, способствующий транспорту кальция против концентрационного градиента, существующего на мембране клеток кишечника. Действие кальцитриола на клеточном уровне аналогично действию стероидных гормонов. Внутриклеточный рецептор кальцитриола – этот белок с молекулярной массой 90000-100000 Да найден в клетках кишечных ворсинок, а также в

клетках мальпигиевого слоя кожи, островков Лангерганса, в некоторых клетках головного мозга и гипофиза, яичников, семенников, плаценты, в клетках-предшественниках миелоидного ряда. Во многих из этих клеток кальцитриол стимулирует синтез группы кальций-связывающих белков. В кишечнике кальцитриол способствует всасыванию кальция, стимулируя синтез кальций-связывающего белка. Кальцитриол оказывает влияние на следующие этапы переноса ионов кальция и фосфата через слизистую кишечника: 1) захват и перенос через мембрану щеточной каемки и микроворсинок; 2) транспорт через мембрану клеток слизистой; 3) выведение через базальную латеральную мембрану во внеклеточную жидкость. В костях кальцитриол стимулирует разрушение старых клеток остеокластами и активирует захват Ca^{2+} молодыми костными клетками. Участвует в дифференцировке клеток кости. В почках кальцитриол увеличивает реабсорбцию кальция и фосфатов. Конечный эффект – повышение кальция в крови.

Водно-солевой обмен. Обмен натрия и калия тесно связан с обменом воды и функцией почек. Поэтому их обмен и обмен воды выделяют в водно-солевой обмен.

Водные пространства организма. Вода составляет до 75% массы тела; у мужчин ее больше, чем у женщин. Возможно, это связано с тем, что у мужчин выше процент белковых веществ (мышцы), а у женщин выше процент жировых веществ, которые обладают гидрофобными свойствами и в меньшей степени способны связываться с водой. При средней массе человека в 76 кг примерно 46 кг приходится на долю воды. Большая часть воды (около 40% от общей массы тела – 28 л) входит в состав внутриклеточных жидкостей организма. Внеклеточная вода входит в состав межклеточной и внутрисосудистой жидкости. Межклеточная жидкость включает неорганизованную воду, которая относительно свободно перемещается в межклеточном пространстве (около 10% от массы тела – 7 л) и организованную воду, которая связана со структурами межклеточного пространства, например, с коллагеновыми волокнами, с рыхлой соединительной тканью. Эта вода также составляет примерно 10% от общей массы организма, т.е. около 7 л. На внутрисосудистую жидкость – плазму крови – приходится примерно 5% массы, т.е. около 4 л жидкости.

Кроме того, всю воду делят на две фракции: фракцию, способную к обмену, и фракцию, связанную в коллоидных системах с молекулами органических веществ. Известно, что на каждый грамм откладывающихся в тканях гликогена и белка задерживается соответственно 1,5 и 3 мл связанной воды. В результате катаболизма в организме человека образуется ежедневно 300-350 мл воды. При окислении 100 г жира образуется 107 мл воды, 100 г белка – 41 мл воды и 100 г углеводов – 55 мл воды. Потеря 10% воды приводит к состоянию дегидратации, а 20% – к смерти. Преобладающие ионы внутриклеточной жидкости – K^+ , Mg^{2+} , HPO_4^{2-} , SO_4^{2-} ; 310 мосмоль/л. Преобладающие ионы межклеточной жидкости – Na^+ , Cl^- ,

HCO_3^- ; 310 мосмоль/л. Преобладающие ионы плазмы крови, как в межклеточной жидкости; 311,5 мосмоль/л.

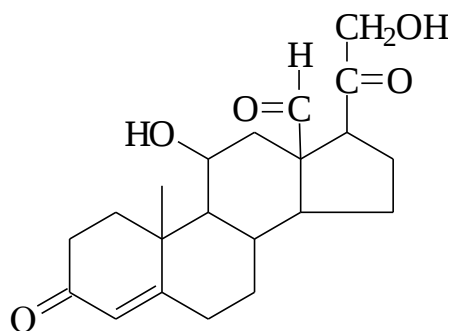
Натрий – внеклеточный катион, содержание натрия в плазме крови 135-150 ммоль/л, в эритроцитах – 8-13 ммоль/л. В течение суток с пищей поступает 3-4 г натрия, практически такое же количество выводится почками. Реабсорбция натрия в почечных канальцах – это активный процесс, требующий затраты АТФ и сопровождающийся секрецией калия и протонов в мочу. Функции натрия: 1) создание электрохимического потенциала на мембранах клетки; 2) поддержание осмотического давления; 3) при реабсорбции натрия в мочу секретируются протоны, т.е. удаляются кислые продукты метаболизма (регуляция кислотно-основного равновесия).

Калий – внутриклеточный катион. Содержание калия в плазме крови – 4-4,5 ммоль/л, в эритроцитах – 115 ммоль/л. Суточная потребность – 2-3 г. Функция калия: вместе с натрием участвует в создании электрохимического потенциала (см. Na^+, K^+ - АТФаза).

Регуляция водно-солевого обмена. Принимает участие система ренин-ангиотензин-альдостерон, а также гормоны вазопрессин и атриальный натрийуретический фактор.

Система ренин-ангиотензин-альдостерон. Функция системы – регуляция артериального давления и объема крови. При снижении артериального давления и объема крови (вместе или по отдельности) раздражаются клетки юкстагломерулярного аппарата почек. Они начинают секретировать ренин. Ренин – это белок, обладающий ферментативной протеолитической активностью. Субстратом для него является α_2 -глобулин, синтезирующийся в печени. Ренин расщепляет α_2 -глобулин с образованием декапептида – ангиотензина-I. Под действием карбоксипептидазы плазмы крови (карбоксикапепсин) ангиотензин-I превращается в октапептид – ангиотензин-II, который является одним из наиболее активных сосудосуживающих веществ. Он действует на гладкую мускулатуру артерий и вызывает повышение артериального давления. Одновременно ангиотензин-II выступает в роли «тропного» гормона для клеток клубочковой зоны коры надпочечников (как кортикотропин для клеток пучковой зоны коры надпочечников). Рецепторы для ангиотензина-II и его метаболита ангиотензина-III расположены на поверхности клеток клубочковой зоны, т.е. они действуют по механизму непроникающих гормонов. Они активируют фосфатидилинозитольный механизм и повышают внутриклеточную концентрацию ионов кальция – это и опосредует синтез альдостерона. Синтез альдостерона стимулируется также кортикотропином, простагландинами группы E, высокой концентрацией ионов калия и низкой концентрацией ионов натрия в крови.

Альдостерон – C_{21} -стероидный гормон, минералокортикоид.



Он адсорбируется на альбумине и транспортируется к клеткам-мишеням – эпителий дистальных канальцев почек. Это проникающий гормон, рецепторы для которого находятся в цитозоле. По современным представлениям механизм реабсорбции натрия включает следующие этапы: 1) вход ионов натрия через натриевые каналы апикальной поверхности клеток (из просвета канальцев); перемещение пассивное; 2) выход ионов натрия из клетки в межклеточную жидкость с помощью Na^+ , K^+ -АТФазы базальной мембраны клеток.

Действие альдостерона: 1) увеличивает количество натриевых каналов; 2) увеличивает количество (цитратсинтаза) и активность ряда митохондриальных ферментов, обеспечивающих продукцию АТФ; 3) опосредованная активация Na^+ , K^+ зависимой АТФазы за счет увеличения концентрации в клетке ионов натрия и АТФ. В результате усиливается реабсорбция натрия и увеличивается секреция калия и протонов в мочу.

Задержка натрия имеет два следствия: 1) увеличивается осмотическое давление крови, что вызывает продукцию вазопрессина. Это приводит к задержке воды. Кроме того, имеет значение и пассивное движение воды вслед за натрием. В результате восстанавливается объем крови. 2) Повышенная концентрация ионов натрия придает мышечным клеткам артериол большую чувствительность к вазоактивным веществам. Это приводит в сочетании с прямым действием ангиотензина-II на сосуды к восстановлению артериального давления до стабильного уровня. Альдостерон восстанавливает объем крови, артериальное давление крови и тормозит секрецию ренина.

Итак, в практическом отношении следует выделить пять основных эффектов альдостерона: 1) повышает реабсорбцию натрия в почечных канальцах; 2) увеличивает поступление в мочу ионов калия; 3) увеличивает экскрецию протонов; 4) повышает объем циркулирующей крови; 5) повышает сниженное артериальное давление.

Вазопрессин или антидиуретический гормон. Секретируется задней долей гипофиза в кровь, а синтезируется в нейронах гипоталамуса. Секрецию вазопрессина стимулируют: 1) повышение осмотического давления крови, которое воспринимается осморецепторами мозга; 2) умень-

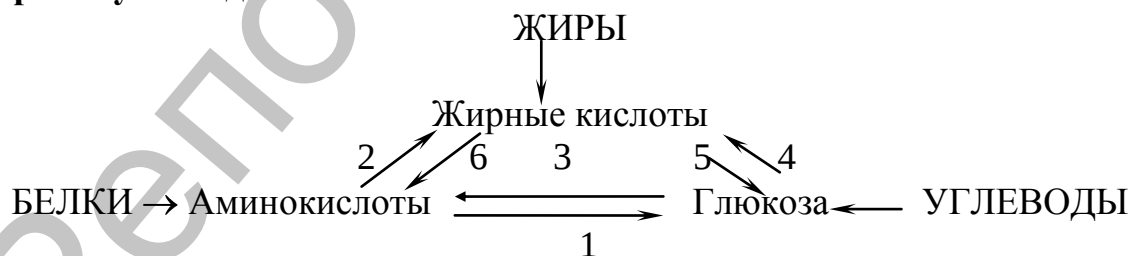
шение объема крови, которое воспринимается барорецепторами кровеносных сосудов; 3) боль, возбуждение.

По строению вазопрессин состоит из 9 аминокислотных остатков. Является непроникающим гормоном, рецепторы для него находятся на поверхности клеток-мишеней трех типов: 1) клетки почечных канальцев; 2) гладкомышечные клетки сосудов; 3) клетки печени.

В клетках почечных канальцев под действием вазопрессина увеличивается концентрация цАМФ, активируется протеинкиназа и фосфорилируются белки мембраны клеток дистальной части извитых канальцев и собирательных трубок (в результате мембрана становится проницаемой для воды). Вода поступает из первичной канальцевой мочи в клетку, а затем в кровь, увеличивая объем жидкости и уменьшая осмотическое давление. В гладкомышечных клетках сосудов под действием вазопрессина увеличивается концентрация ионов кальция в цитоплазме, что ведет к сокращению клеток и сужению сосудов (в мышцах, коже и органах брюшной полости; но артериальное давление при этом не возрастает, т.к. одновременно снижается минутный объем сердца). В печени посредниками вазопрессина являются продукты распада фосфатидилинозитолов и ионы кальция. Вазопрессин стимулирует в печени гликогенолиз и глюконеогенез. Итак, вазопрессин стимулирует задержку воды в организме и уменьшает диурез.

Предсердный атриальный натрийуретический фактор. Это пептид, вырабатываемый в клетках предсердия. Это физиологический антагонист ангиотензина II: он расширяет сосуды и стимулирует потерю натрия. Рецепторы к нему расположены на мембранах клеток клубочковой зоны, где он ингибирует секрецию альдостерона и на клетках пучковой зоны, где он ингибирует выделение кортизола. Часто выделяется в раннюю фазу гипертонического криза с целью компенсации гипертензии.

Количественная характеристика взаимопревращений белков, жиров и углеводов.



Рассматривая степень взаимопревращений белков, жиров и углеводов, необходимо, прежде всего, рассмотреть взаимопревращения аминокислот, жирных кислот и глюкозы. Рассмотрим возможные пути превращений: 1) синтез глюкозы из аминокислот (глюконеогенез) идет через фосфоенолпируват (гликогенные аминокислоты – арг, асп, асн, цис, глу, глн, гли, гис, мет, про, сер, тре, три, вал); глюконеогенез усилен при голоде, стрессе, диабете; 2) синтез жирных кислот из аминокислот идет через ацетил-КоА (кетогенные аминокислоты – лей, лиз, фен, тир); при этом

возможен синтез кетоновых тел через ацетоацетил-КоА; 3) синтез заменимых аминокислот из глюкозы путем восстановительного аминирования и трансаминирования с тремя кетокислотами (пируват, ЩУК и α -кетоглутарат); 4) синтез жирных кислот из глюкозы (через ацетил-КоА) и глицерина через 3-фосфоглицериновый альдегид, это путь депонирования энергии; 5) жирные кислоты весьма слабо превращаются в углеводы; 6) жирные кислоты практически не превращаются в аминокислоты. Важно отметить **однонаправленность потока веществ в сторону липогенеза от углеводных или белковых источников через ацетил-КоА**. Поскольку в организме человека не существует механизма, обеспечивающего превращение этого двууглеродного фрагмента (ацетил-КоА) в трехуглеродные соединения, необходимые для глюконеогенеза или для образования заменимых аминокислот (аланин), обратный переход углерода жирных кислот в глюкозу или белки практически невозможен. Таким образом, можно ранжировать пути взаимопревращений глюкозы, аминокислот и жирных кислот $4 > 2 > 1 > 3 > 5, 6$.

ВИТАМИНЫ

Витамины. Во второй половине XIX века было установлено, что пищевая ценность продуктов питания определяется содержанием в них белков, жиров, углеводов, минеральных солей, воды. Однако практический опыт свидетельствовал, что даже самая обильная пища не всегда могла предотвратить некоторые заболевания, связанные с дефектом питания, а именно с недостатком или отсутствием витаминов.

Определение и классификации. Витамины – это незаменимые компоненты пищи, которые, присутствуя в небольших количествах в пище, обеспечивают нормальное протекание биохимических и физиологических процессов путем участия в регуляции обмена веществ в целостном организме; при этом витамины не используются для пластических и энергетических нужд организма. Человек в сутки потребляет около 600 г пищи в пересчете на сухое вещество, из этого количества пищи на витамины приходится 100-200 мг.

Все витамины называются тремя способами: 1) по предложению Мак-Коллума (1913 г.) их называют латинскими буквами А, В, С, Е, D, К и др.; 2) наименование по физиологическому эффекту – к названию болезни, которую предупреждает или излечивает витамин, добавляется приставка «анти» (антискорбутный, антигеморрагический, антистерильный и др.); 3) химическое наименование.

В 1974 году принята временная классификация витаминов:

1) витамины, растворимые в воде: В₁ – тиамин, антинеуритный; В₂ – рибофлавин, витамин роста; В₃ – пантотеновая кислота, антидерматитный; В₅ (РР) – никотиновая кислота, антипеллагрический; В₆ – пиридоксол, антидерматитный; В₁₂ – цианкобаламин, антианемический; Вс – фолиевая кислота,

антианемический; Н – биотин, антисеборрейный; С – аскорбиновая кислота, антискорбутный; Р – рутин, капилляроукрепляющий.

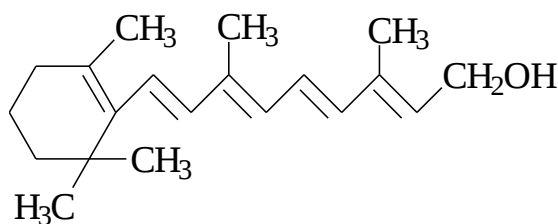
2) Витамины, растворимые в жирах: А – ретинол, антиксерофтальмический; D – кальциферол, антирахитический; Е – токоферол, антистерильный; К – филлохинон, антигеморрагический;

3) Витаминоподобные вещества: холин; липоевая кислота; оротовая кислота; витамин В₁₅; инозит; ПАБК (парааминобензойная кислота); карнитин; витамин U.

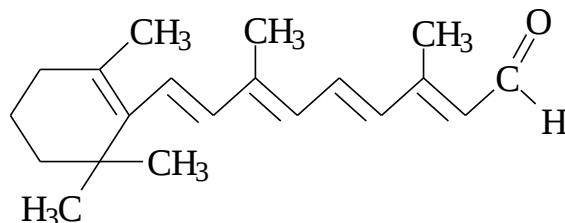
Биологическое действие витаминов. Биологическая роль большинства витаминов сводится к участию их в ферментативных реакциях в качестве кофакторов ферментов (коферментная функция). Для витаминов, растворимых в воде, известны авитамины. Это аналоги витаминов, которые оказывают противоположное витаминам действие (например, авитамином тиамина является окситиамин). Среди жирорастворимых витаминов авитамины известны только к витамину К – производные кумарина (дикумарин, варфарин, тромексан). Недостаточное поступление витаминов с пищей вызывает заболевания, называемые гиповитаминозами. При отсутствии витаминов в пище развивается авитаминоз. При недостатке нескольких витаминов – полигиповитаминозы, а при их отсутствии в пище – полиавитаминозы. При чрезмерном введении витаминов (чаще жирорастворимых) могут развиваться гипервитаминозы. В медицинской практике чаще всего встречаются гиповитаминозы, причинами которых являются: 1) недостаток витаминов в продуктах питания; 2) нарушения всасывания витаминов; 3) нарушения метаболизма витаминов; 4) подавление жизнедеятельности микрофлоры кишечника, вырабатывающей ряд витаминов, при пероральном применении антибиотиков и сульфаниламидных препаратов.

Количественное определение витаминов: 1) физико-химические методы определения содержания витаминов как химических веществ (нг, мкг, мг). 2) Микробиологические методы – по скорости роста микроорганизмов в присутствии витамина судят о его количестве. 3) Биологические методы – определяют минимальное количество пищи или лекарственного препарата, способное предохранить животное (находящееся на диете, в которой отсутствует изучаемый витамин) от заболевания. Это количество пищи или витаминного препарата принимают за витаминную единицу.

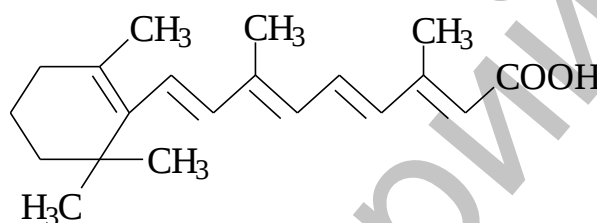
Витамин А (ретинол, антиксерофтальмический). Витамин А является полиизопреноидом, содержащим циклогексенильное кольцо. В группу витамина А входят ретинол, ретиналь и ретиноевая кислота. Только ретинол обладает полной функцией витамина А. Термин «ретиноиды» включает природные и синтетические формы ретинола. Растительный предшественник бета-каротин обладает 1/6 активности витамина А.



Ретинол



Ретиналь



Ретиновая кислота

Эфиры ретинола растворяются в жирах пищи, эмульгируются желчными кислотами и всасываются кишечным эпителием. Всосавшийся β -каротин расщепляется на две молекулы ретиналя. В клетках эпителия ретиналь восстанавливается в ретинол и небольшая часть ретиналя окисляется в ретиновую кислоту. Большая часть ретинола эстерифицируется насыщенными жирными кислотами и в составе хиломикронов поступает через лимфу в кровь. После липолитической трансформации ремнанты хиломикронов захватываются печенью. В печени витамин А запасается в виде эфиров. Для транспорта к периферическим тканям эфиры ретинола гидролизуются и свободный ретинол связывается в сыворотке крови с ретинолсвязывающим протеином (ПРСП). Ретиновая кислота транспортируется альбуминами. Внутри периферических клеток ретинол связывается с клеточным ретинол-связывающим протеином (КРСП). Токсическое действие витамина А проявляется при появлении свободной формы витамина, т.е. после истощения мощности КРСП. Ретинол и ретиналь взаимопревращаются друг в друга с помощью НАДФ-зависимых дегидрогеназ или редуктаз. Ретиновая кислота не может превращаться в ретинол или ретиналь, поэтому ретиновая кислота может поддерживать рост и дифференцировку тканей, но не может заменить ретиналь в зрении или ретинол в функционировании репродуктивных органов.

Биологическое действие витамина А: 1) ретинол действует подобно гормонам, проникающим в клетку, – связывается с ядерными белками и

регулирует экспрессию определенных генов. Ретинол необходим для осуществления нормальной репродуктивной функции. 2) Ретиналь участвует в акте зрения. 11-цис-ретиналь связан с белком опсином и образует родопсин. На свету родопсин диссоциирует и цис-ретиналь переходит в транс-ретиналь. Реакция сопровождается конформационными изменениями мембран палочек и открытием кальциевых каналов. Быстрый вход ионов кальция инициирует нервный импульс, который передается в зрительный анализатор. Для повторного восприятия (т.е. в темноте) транс-ретиналь восстанавливается алкогольдегидрогеназой в транс-ретинол (здесь возможны потери витамина А). Транс-ретинол изомеризуется в цис-ретинол (здесь возможно восполнение убыли витамина А). Цис-ретинол окисляется в цис-ретиналь, который, соединяясь с опсином, образует родопсин. Система светоощущения готова к восприятию следующего кванта света. 3) Ретиноевая кислота участвует в синтезе гликопротеинов, усиливает рост и дифференцировку тканей. 4) Ретиноиды обладают антиопухолевой активностью и ослабляют действие канцерогенов. 5) β -каротин – антиоксидант и способен обезвреживать пероксидные свободные радикалы ($\text{ROO}^\bullet$) в тканях с низким парциальным давлением кислорода.

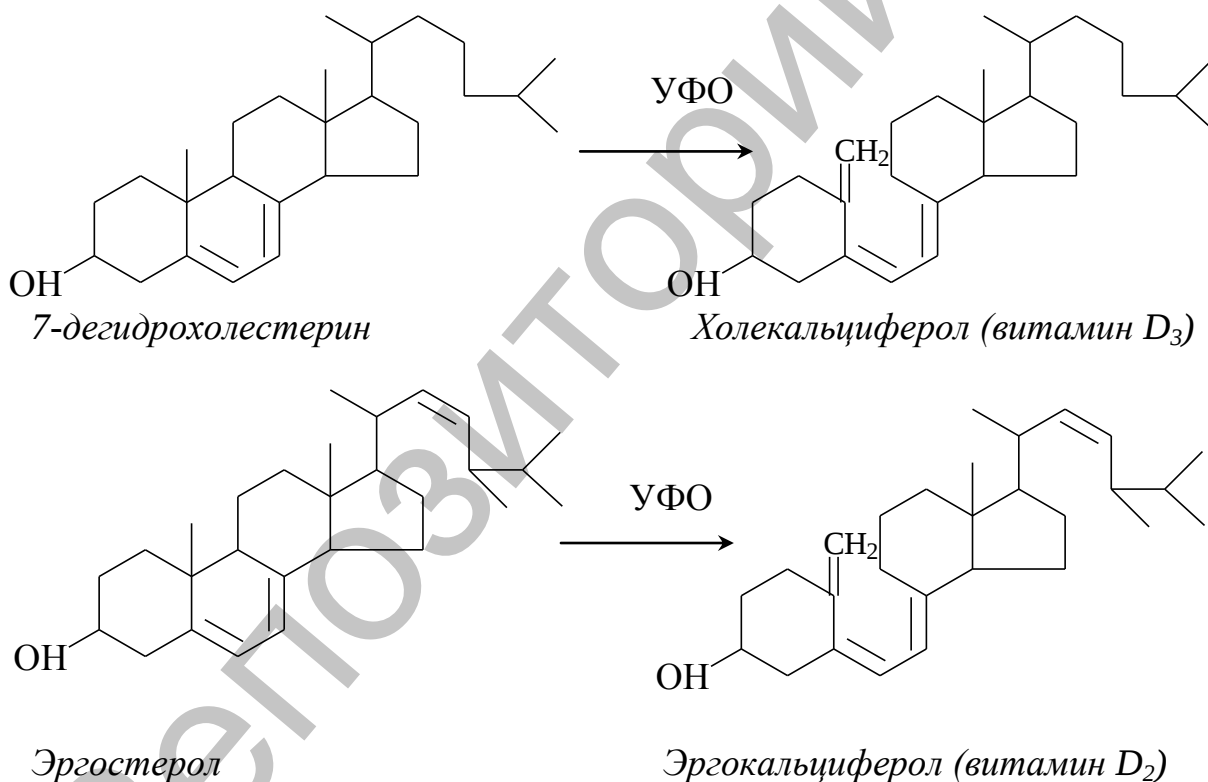
Источники витамина А. Витамин А содержится только в продуктах животного происхождения (печень, почки, сливочное масло, рыбий жир). Из печени пресноводных рыб выделен витамин A_2 , который отличается наличием еще одной двойной связи в 3-4 положении и называется 3-дегидроретинол. Биологическая активность витамина A_2 для млекопитающих соответствует примерно 40% активности витамина A_1 . В растениях есть пигменты – α -, β - и γ -каротины, которые могут превращаться в витамин А (морковь, томаты).

Суточная потребность – 1-2,5 мг витамина А (5000-7000 МЕ). 1 МЕ = 0,344 мкг ретинолацетата. Частично потребность в витамине А может покрываться за счет каротина (2-5 мг), причем 1 мг каротина = 0,67 мг ретинола. Гиповитаминоз проявляется в виде куриной слепоты – гемералопия. Это наиболее ранний признак недостаточности витамина А: человек нормально видит при дневном освещении и очень плохо различает предметы при плохом освещении (в сумерках). Авитаминоз характеризуется падением массы тела, остановкой роста, пролиферацией и ороговеванием эпителия, сухости кожи и слизистых, слущиванием эпителия, нарушением репродуктивной функции. Сухость роговицы глаза называется ксерофтальмия (отсюда название витамина – антиксерофтальмический). Повреждение эпителия мочевых путей, кишечника приводит к развитию воспалительных заболеваний. Важнейшей причиной недостаточности витамина А являются нарушения всасывания и транспорта липидов. При введении высоких доз витамина А развивается гипervитаминоз А. Токсические дозы 1000000-6000000 МЕ. При остром гипervитаминозе А у грудных детей повышается внутричерепное давление, выпячиваются роднички; бессонница вначале, за-

тем развивается сонливость. При хронической интоксикации у детей 1-4-летнего возраста появляются раздражительность, безразличие к пище, истончение, сухость и выпадение волос, трещины на коже (ладони, ступни ног), себоррея, увеличение печени и селезенки.

Витамин D (кальциферол, антирахитический). В растительных продуктах содержится эргостерин, который при действии ультрафиолетовых лучей превращается в витамин D₂ (эргокальциферол). В животных тканях распространен 7-дегидрохолестерин, который при облучении ультрафиолетовыми лучами превращается в витамин D₃ (холекальциферол).

Витамин D пищи всасывается в составе мицелл. В крови транспортируется в связи со специфическим транспортным глобулином. В гепатоцитах гидроксилируется в 25-гидроксихолекальциферол (25-ОН-D₃). Это главная резервная в печени и транспортная в крови форма витамина D. Часть 25-ОН-D₃ участвует в энтеро-печеночной циркуляции (как желчные кислоты). При ее нарушении может возникать дефицит витамина D.



В почках, плаценте и костях 25-ОН-D₃ может гидроксилироваться в положении 1 с образованием 1,25-дигидроксихолекальциферола (или кальцитриола). Продукция кальцитриола регулируется собственной концентрацией, паратгормоном и сывороточными фосфатами. Кальцитриол функционирует подобно проникающим гормонам. Кальцитриол – единственный регулятор перемещения кальция через мембрану энтероцитов против градиента концентрации. Кальцитриол стимулирует биосинтез в энтероцитах кальций-связывающего белка, что обеспечивает всасывание кальция и

фосфатов в тонком кишечнике. Витамин D₃ усиливает реабсорбцию фосфатов в почечных канальцах, что способствует поддержанию нормального соотношения Ca²⁺ и HPO₄³⁻ в плазме и внеклеточных жидкостях. Это необходимо для кальцификации молодой растущей костной ткани.

Источник витамина D: рыбий жир, печень рыб и животных, сливочное масло, яичный желток, молоко. Потребность в витамине D зависит от возраста и состояния организма и составляет 12-25 мкг (500-1000 ME) в сутки (1 мкг=40 ME). При недостатке витамина D у детей развивается заболевание рахит: нарушение минерализации костей, позднее развитие зубов, гипотония мышц. При недостатке витамина D у взрослых развивается остеопороз. Для профилактики D-гиповитаминоза используют ультрафиолетовое облучение кожи и пищи. При передозировке витамина D (в дозах, превышающих лечебные в 2-3 тысячи раз 1 500 000 ME) развивается гипервитаминоз: у детей остановка роста, рвота, исхудание, повышение артериального давления, возбуждение с переходом в ступор. В основе – гиперкальциемия и кальцификация внутренних органов.

Витамин Е (токоферол, антистерильный). Это группа природных соединений – производных токола. α-токоферол является 5,7,8-триметилтоколом. Токоферол всасывается в кишечнике и в составе хиломикронов через лимфу поступает в кровь. Токоферол попадает в ткани, в капиллярах которых хиломикроны подвергались действию липопротеинлипазы, и в печень в составе ремнантов хиломикронов. Токоферол транспортируется из печени к периферическим тканям в составе ЛПОНП и депонируется в жировой ткани.

Биологическое действие витамина Е заключается в следующем: 1) витамин Е накапливается в мембранах клеток и действует как антиоксидант, прерывая цепи свободно-радикальных реакций. Это препятствует пероксидации полиненасыщенных жирных кислот фосфолипидов. В отличие от других витаминов, витамин Е повторно не используется и после своего действия должен заменяться новыми молекулами токоферола. Антиоксидантное действие токоферола эффективно при высокой концентрации кислорода, поэтому он находится в мембранах клеток с высоким парциальным давлением кислорода (мембраны эритроцитов, клеток респираторных органов). Потребность в витамине Е повышается при увеличении потребления ненасыщенных жирных кислот. 2) Витамин Е и селен (Se) действуют как синергисты. Se входит в состав глутатионпероксидазы, которая обеспечивает обезвреживание пероксидных радикалов. Se необходим для нормального функционирования поджелудочной железы. При нарушении функции ее нарушается переваривание и всасывание липидов и вторично витамина Е. 3) Витамин Е может участвовать в функционировании SH-содержащих ферментов, влиять на биосинтез CoQ, участвовать в механизмах переноса электронов по дыхательной цепи митохондрий.

Источником витамина Е для человека являются растительные масла, а также зерновые продукты, ягоды шиповника, салат, капуста. Суточная потребность 20-30 мг. При дефиците витамина Е нарушается образование сперматозоидов у мужчин и развитие плода у женщин. Развиваются дегенеративные изменения клеток репродуктивных органов, мышечная дистрофия, дегенеративные изменения клеток спинного мозга, жировое перерождение печени, дислипопроотеинемии. У новорожденных может развиваться анемия, поэтому витамин Е необходимо добавлять к пище беременных и лактирующих женщин. Анемия развивается из-за уменьшения продукции гемоглобина и сокращения продолжительности жизни эритроцитов. При нарушении переваривания и всасывания липидов развивается гиповитаминоз Е, ведущий к неврологическим заболеваниям.

Витамин Е разрушается при высокой и низкой температурах. В лечебной практике разумно сочетание витамина А и Е (аевит).

Витамин К (филлохинон, антигеморрагический). Витамин К₁ является производным 2-метил-1,4-нафтохинона, содержащий в положении 3 боковую цепь (фитол). Выделен из люцерны. Витамин К₂ выделен из гниющей рыбной муки. Отличается от витамина К₁ строением боковой цепи, представленной фарнезилдигеранилом. Витамин К₃ (синтетический) не имеет боковой цепи в положении 3. На его основе А.Б. Палладин синтезировал водорастворимый препарат викасол (натриевая соль бисульфитного производного 2-метил-1,4-нафтохинона).

Для всасывания природных витаминов группы К (нафтахинонов) требуются желчные кислоты. В кровь они поступают в составе хиломикронов через лимфу. Викасол может всасываться без желчных кислот и прямо поступает в воротную вену и печень. Витамин К вначале аккумулируется в печени, но быстро расходуется.

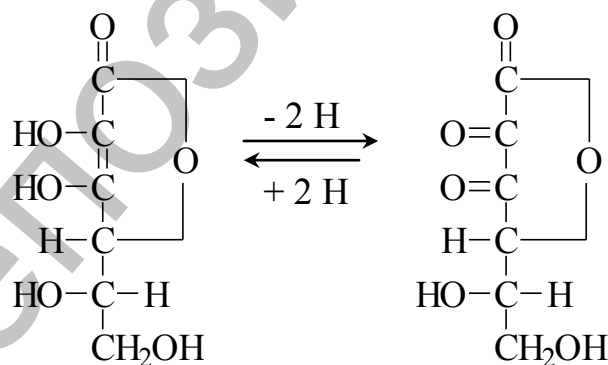
Биологическая роль: 1) витамин К стимулирует биосинтез в печени четырех белковых факторов свертывания крови (II-протромбин; VII-проконвертин; IX-фактор Кристмаса, или антигемофильный глобулин В; X-фактор Стюарта-Прауэра). 2) Витамин К действует как кофактор карбоксилазы на этапе посттрансляционной модификации глутаминовых остатков протромбина. Протромбин содержит 10 таких остатков, которые карбоксилируются витамин К-зависимой карбоксилазой и затем хелатируются кальцием, что важно для свертывания крови. Реакция карбоксилирования требует СО и восстановленной (гидрохиноидной) формы витамина К. В эндоплазматическом ретикулуме есть цикл восстановления продукта карбоксилазной реакции витамина К (т.е. хиноидной формы в гидрохиноидную). Центральное место занимают две редуктазные реакции (в первой используются дитиоловый восстановитель, во второй – НАДФ-зависимая редуктаза). Первая реакция чувствительна к ингибирующему действию антикоагулянтов – варфарин (дикумаролы). Поэтому важнейшее терапевтическое использование витамина К – антидот при передозировке дикума-

роловых антикоагулянтов. 3) Описано участие витамина К в окислительном фосфорилировании, его многостороннее анаболическое действие, функционирование в составе мембран.

Основной источник витамина К-микрофлора кишечника. Поэтому суточная потребность условно выражается 0,2-0,3 мг. Возможно поступление нафтохинонов с пищей (шпинат, тыква, капуста, ягоды рябины, печень животных). При нормальной микрофлоре кишечника у взрослых дефицита витамина К не бывает. Основная причина гиповитаминоза К – это стерилизация кишечника антибиотиками и сульфаниламидными препаратами. У новорожденных возможен дефицит витамина К, т.к. плацента его не пропускает, а кишечник стерил. После родов витамин К в плазме падает, но после еды восстанавливается. Если уровень протромбина низкий, возможно развитие геморрагического синдрома. Гиповитаминоз К бывает при мальабсорбции, дисфункции гепато-билиарной и панкреатической систем, при атрофии слизистой кишечника, сопровождается стеатореей. Основные проявления гиповитаминоза К связаны с нарушением внутрисосудистого свертывания крови и кровоточивостью.

Для лечения – викасол (порошки, таблетки, растворы).

Витамин С (аскорбиновая кислота, антискорбутный). Аскорбиновая кислота является лактоном. Кислотные свойства этого соединения обусловлены двумя енольными гидроксилами, которые способны к диссоциации (особенно в 3-м положении). Витаминная активность аскорбиновой кислоты определяется наличием лактонного кольца. После его раскрытия (2,3-дикето-Л-гулоновая кислота) витаминная активность исчезает. Аскорбиновая кислота обратимо превращается в дегидро-аскорбиновую кислоту, которая является транспортной формой витамина.



Аскорбиновая кислота

Дегидроаскорбиновая кислота

Аскорбиновая кислота синтезируется из гулонолактона. Ферментов этого синтеза нет у приматов, морских свинок. Поэтому для них аскорбиновая кислота – эссенциальный фактор пищи, т.е. витамин (у крыс и собак витамин С может синтезироваться в организме).

Биологическая роль витамина С: 1) аскорбиновая кислота участвует в создании окислительно-восстановительного потенциала в клетке и тем самым влияет на активность ряда ферментов. ОВП системы аскорбиновая

кислота $\leftrightarrow$ дегидроаскорбиновая кислота равен 0,08 В. Поэтому аскорбиновая кислота может участвовать в восстановлении цитохромов *c* и *a*, кислорода, нитратов. 2) Оказывает защитное действие на гемоглобин, препятствуя его окислению. 3) Принимает участие в синтезе коллагена на этапе гидроксирования пролина и лизина в оксипролин и оксилизин, что повышает прочность коллагеновых волокон. 4) Способствует биосинтезу хондроитинсульфатов соединительной ткани. 5) Участвует в обмене аминокислоты тирозин (участвует в биосинтезе адреналина на этапе гидроксирования дофамина и предохраняет адреналин от окисления; участвует в обмене тирозина на этапе окисления *p*-оксифенилпировиноградной кислоты в гомогентизиновую кислоту и ее окислении). 6) Участвует в образовании желчных кислот на этапе 7α -гидроксирования предшественника. 7) Участвует в синтезе фолиевой кислоты и через нее влияет на обмен нуклеиновых кислот и превращение рибозы в дезоксирибозу, косвенно активирует кроветворение и регенераторные процессы. Увеличивает всасывание железа. 8) В коре надпочечников содержится много аскорбиновой кислоты, которая используется в биосинтезе кортикостероидных гормонов. Этот процесс усиливается кортикотропином. 9) Витамин С действует как главный водорастворимый антиоксидант и может ингибировать образование нитрозаминов (канцерогены) при приеме пищи.

Суммарные физиологические эффекты: 1) повышение неспецифической резистентности. 2) Активация регенераторных процессов и кроветворение. 3) Поддержание функции ряда систем организма в условиях напряжения.

Источники: летом – шиповник, черная смородина, рябина, зеленый лук, щавель, ягоды. Зимой – лук, капуста, картофель, ягоды без термической обработки. Витамин С нельзя хранить во влажной среде и на свету. Суточная потребность: 70-120 мг. Недостаточность витамина С ведет к цинге (скорбут). Проявление: 1) общая слабость, утомляемость, сниженная резистентность организма; 2) кровоточивость десен, кровоизлияния из-за ломкости сосудов; 3) хрупкость костей, усиленный кариес зубов; 4) подавление регенераторных процессов, развитие анемии.

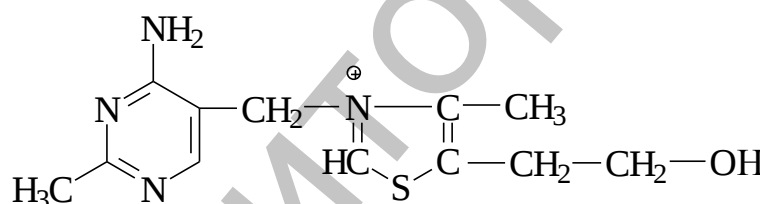
Витамин Р (витамин проницаемости). Витамин Р – группа веществ, являющихся производными флавонола (дифенил-пропановый скелет, т.е. два ароматических кольца соединены трехуглеродным алифатическим фрагментом): 1) витамин Р из листьев чайного дерева в качестве основного действующего начала содержит катехин. 2) Рутин из листьев гречихи (агликон-кверцетин, сахар-рутиноза). 3) Из кожуры цитрусовых выделен гесперидин (цитрин). Количество охарактеризованных биофлавоноидов из различных источников с каждым годом увеличивается.

Биологическое действие витамина Р обусловлено связью с аскорбиновой кислотой: 1) витамин Р предохраняет аскорбиновую кислоту от превращения ее в дегидроаскорбиновую, а также восстанавливает дегидроа-

скорбиновую кислоту в аскорбиновую при участии глутатиона. 2) Есть данные об участии витамина Р в процессах тканевого дыхания. 3) Регулирует проницаемость стенки капилляров (возможно, за счет торможения активности гиалуронидазы). 4) Биофлавоноиды являются водорастворимыми антиоксидантами. 5) Для биофлавоноидов характерно гипополипидемическое действие.

Источники: в тех же продуктах, что содержат витамин С, много биофлавоноидов в цветах и листьях гречихи, плодах цитрусовых и др. Суточная потребность – 30-50 мг. Картина гиповитаминоза близка к таковой при недостатке витамина С, на первый план выходят поражения мелких сосудов. В связи с этим эффективно применение препаратов витамина С и Р совместно: аскорутин, галаскорбин и катехины чая с аскорбиновой кислотой.

Витамин В₁ (тиамин, антиневритный). В основе химического строения тиамин лежит структура, состоящая из пиримидинового и тиазолового колец, соединенных метиленовым мостиком. Четвертичный азот проявляет основные свойства, поэтому в кислой среде образуется соль в виде тиаминхлорида. Тиамин устойчив в кислой среде и выдерживает нагревание до 140°C. В щелочной среде быстро разрушается. АТФ-зависимая тиаминдифосфотрансфераза (преимущественно в мозге, печени) переводит тиамин в активную форму – тиаминдифосфат (тиаминпирофосфат).



Тиаминдифосфат как кофермент участвует в двух типах важнейших реакций:

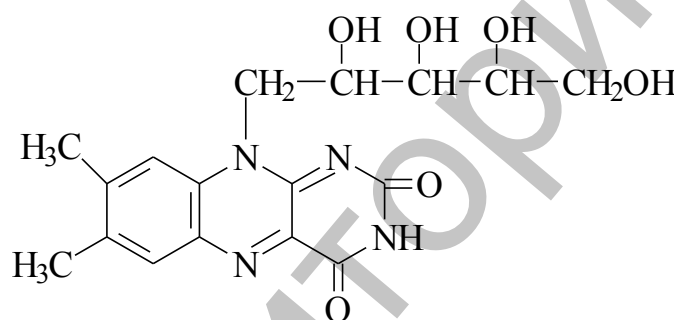
1) окислительное декарбоксилирование α-кетокислот (пирувата, α-кетоглутарата, а также кетоаналоги аминокислот с разветвленным радикалом – лейцина, изолейцина и валина); эти реакции занимают центральное место в общем пути катаболизма. 2) Транскетолазные реакции в неокислительной ветви пентозофосфатного пути; в этих реакциях участвуют пентозофосфаты, необходимые для биосинтеза нуклеотидов.

Источники витамина В₁: оболочки злаковых и бобовых, черный хлеб, гречневая крупа, горох. В организме животных витамин В₁ в наибольшем количестве содержится в печени, почках, сердечной мышце, мозгах. Суточная потребность: 2-3 мг. При недостаточности витамина В₁ развивается заболевание бери-бери. На первый план выходит накопление пирувата, пентозофосфатов и α-кетокетаналогов аминокислот с разветвленными радикалами (последние накапливаются преимущественно в нервной ткани). С этими метаболическими нарушениями сопряжены ранние симптомы гиповитаминоза В₁: 1) периферические нейропатии (онемение участков кожи,

покалывания, зуд и пр.), парестезия; 2) потеря аппетита, истощение; 3) дегенеративные изменения в нервной, сердечно-сосудистой и мышечной системах; 4) многообразные метаболические нарушения и ухудшение процессов физиологической и репаративной регенерации. С дефицитом тиамина связана энцефалопатия Вернике. Она встречается у хронических алкоголиков. К гиповитаминозу В₁ ведет однообразное высокоуглеродное питание (сахар, полированный рис, белая мука). У некоторых рыб находят термолабильный фермент – тиаминазу, который разрушает тиамин. Но этот механизм едва ли важен для человека.

В лечении гиповитаминозных В₁ состояний используют хлористые, бромистые соли тиамина и тиаминдифосфат (кокарбоксилаза). При чрезмерном и длительном введении тиамина возможен гипervитаминоз по типу аллергических реакций: крапивницы, кожного зуда, одышки, судорог.

Витамин В₂ (рибофлавин). В основе молекулы рибофлавина лежит гетероциклическое соединение – изоаллоксазин (сочетание бензольного, пиразинового и пиримидиновых колец), к которому в положении 9 присоединен спирт рибитол (6,7-диметил-9-D-рибитил-изоаллоксазин).



Рибофлавин хорошо растворим в воде, устойчив в кислых растворах, но легко разрушается в нейтральных и щелочных растворах. Он весьма чувствителен к видимым и ультрафиолетовым лучам и сравнительно легко подвергается обратимому восстановлению, присоединяя водород по месту двойных связей (1 и 10), превращаясь из оранжево-желтого раствора в бесцветную лейкоформу. Это свойство рибофлавина легко восстанавливаться и окисляться лежит в основе биологического действия витамина В₂.

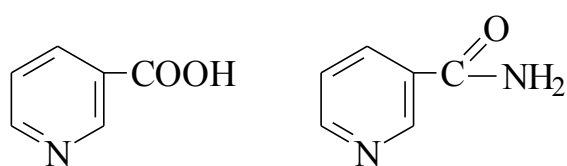
В тканях рибофлавин входит в состав флавиновых ферментов – флавопротеидов в качестве простетической группы (присоединение к апоферментам через атом азота в 3-м положении). Часто в состав флавопротеидов входят FeS-белки – металлофлавопротеиды. Кофакторную функцию рибофлавин выполняет в виде флафинмонопнуклеотида (ФМН) и флавинаденидинуклеотида (ФАД). ФМН синтезируется из свободного рибофлавина при участии флавокиназы и АТФ. ФАД синтезируется из ФМН с помощью АТФ и флавиннуклеотидфосфорилазы (ФАД-синтетазы).

Различают два типа реакций, катализируемых флавопротеидами: 1) простые дыхательные системы – это прямое окисление субстрата с участи-

ем кислорода, перенос на него атомов водорода с образованием H_2O_2 и выделением энергии в виде тепла: оксидазы L- и D-аминокислот; ксантиноксидаза (при деградации пуриновых азотистых оснований); альдегиддегидрогеназа (деградация альдегидов); 2) участие в сложных дыхательных системах (полная и укороченная цепи переноса электронов во внутренней мембране митохондрий): сукцинатдегидрогеназа (дегидрирование метаболита цикла трикарбоновых кислот сукцината и направление протонов и электронов в укороченную дыхательную цепь); ацил-КоА-дегидрогеназа (первое дегидрирование ацил-КоА в β -окислении жирных кислот и направление протонов и электронов в укороченную дыхательную цепь); глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (транспорт восстановительных эквивалентов через внутреннюю мембрану митохондрий — челночный α -глицерофосфатный механизм в печени и дыхательных мышцах насекомых); НАДН-дегидрогеназа (перенос протонов и электронов от НАДН+ H^+ матрикса митохондрий в полную цепь переноса протонов и электронов во внутренней мембране митохондрий; разделение потоков протонов и электронов с помощью FeS-белков; дигидролипоилдегидрогеназа (фермент окислительного декарбоксилирования α -кетокислот, переносящий протоны и электроны с восстановленного ФАД на НАД $^+$ и последующем введении их в полную цепь переноса электронов в митохондриальной внутренней мембране).

Источники: витамин B_2 широко представлен в продуктах питания — печени, почках, сердце, молоке, дрожжах и др. Суточная потребность: 2-4 мг. При дефиците витамина B_2 и витамина РР развивается пеллагра. Многие симптомы дерматита исчезают при сочетанной терапии витаминами РР и B_2 . При дефиците витамина B_2 у людей развиваются хейлоз (поражение уголков рта), ангулярный стоматит, глоссит (воспаление языка), поражения глаз (фотофобия, кератит, прорастание сосудов в роговую оболочку, катаракта). Возможно развитие метаболических нарушений сердечной мышцы и анемии. При остром авитаминозе B_2 возможно развитие комы. При подавлении кишечной микрофлоры антибиотиками и сульфаниламидными препаратами возможно проявление гиповитаминоза B_2 , т.к. рибофлавин может образовываться кишечной микрофлорой.

Витамин РР (никотинамид, никотиновая кислота, ниацин, антипеллагрический, B_3). Витамин РР представляет собой соединение пиридинового ряда. Название витамина РР происходит от preventive pellagra (предупреждение пеллагры).



Никотиновая кислота Никотинамид

В обмене витамина РР ведущую роль играет биосинтез НАД⁺ и НАДФ⁺. Через эти коферменты реализуются основные биохимические функции витамина РР. Известны три основных источника для образования коферментных форм витамина РР: 1) никотинамид пищи, который дезаминируется в никотиновую кислоту; 2) никотиновая кислота пищи, из которой образуется никотинатмононуклеотид (НМН); 3) триптофан пищи. В цитозоле клеток через ряд ферментативных стадий, требующих наличия витамина В₆, образуется хинолиновая кислота и из нее НМН. Затем из НМН через стадию дезамино-НАД образуются НАД⁺ и при его фосфорилировании в 2'-положении НАДФ⁺. Считают, что 60 мг пищевого триптофана равноценно 1 мг ниацина (ниациновый эквивалент).

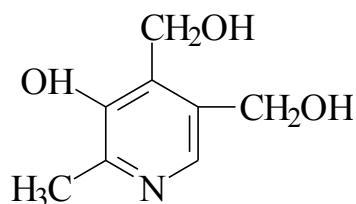
Никотинамидные нуклеотиды выполняют коферментную функцию в двух типах реакций. 1) НАД⁺ входит в состав дегидрогеназ, катализирующих окислительно-восстановительные превращения пирувата (гликолиз), изоцитрата, α -кетоглутарата, малата (ЦТК) и др. Эти реакции чаще локализованы в митохондриях и служат для освобождения энергии в сопряженных митохондриальных цепях переноса протонов и электронов. 2) НАДФ⁺ входит в состав дегидрогеназ (редуктаз), которые чаще локализованы в цитозоле или эндоплазматическом ретикулуме и служат для восстановительных синтезов (НАДФ-зависимые дегидрогеназы пентозофосфатного пути, синтез жирных кислот и холестерина, микросомальные и митохондриальные монооксигеназные системы – синтез желчных кислот, кортикостероидных гормонов).

Источники витамина РР: печень, почки, сердце животных, мясо, рыба, зерновые и бобовые продукты, овощи. Много ниацина в оболочках злаков и дрожжах.

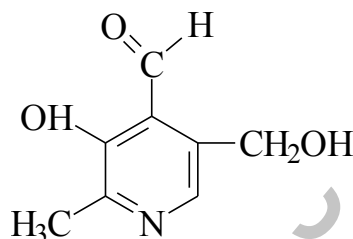
Суточная потребность: 15-25 мг. Недостаточность витамина РР развивается: 1) при постоянном питании маисом. В маисе ниацин находится в связанной форме – ниацитине (из него ниацин может освободиться при обработке щелочью). 2) При постоянном питании сорго, зерна которого содержат высокую концентрацию лейцина – ингибитора ключевого фермента превращения триптофана в НАД – хиолин-фосфорибозилтрансферазы. 3) Дефицит витамина В₆ и его коферментной формы пиридоксальфосфата, необходимого для превращения триптофана в хинолиновую кислоту, усиливает дефицит ниацина. 4) Дефицит витамина РР возникает при длительном применении противотуберкулезного препарата изониазида. 5) При опухолевом карциноидном синдроме возможно усиленное превращение триптофана в серотонин, но не в НАД. 6) При болезни Хартнупа нарушается абсорбция триптофана, что вторично ведет к дефициту витамина РР. При сочетанном гиповитаминозе РР, В₆ и В₂ возникает заболевание пеллагры. Для пеллагры характерны три основных симптома (три Д): 1) поражение кожи – дерматит; 2) поражение желудочно-кишечного тракта – диарея; 3) нарушение нервной деятельности – деменция. При

этом возникают разнообразные метаболические нарушения. Из организма витамин РР выводится в виде метилникотинамида с мочой.

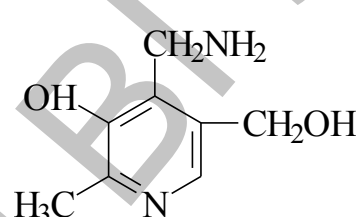
Витамин В₆ (пиридоксин, антидерматитный). Термин «витамин В₆» объединяет три производных, обладающих витаминной активностью: пиридоксол, пиридоксаль, пиридоксамин. Фосфорилированные производные пиридоксаля и пиридоксамина выполняют коферментную функцию витамина В₆. Фосфорилированные и нефосфорилированные формы витамина В₆ всасываются в кишечнике и при этом происходит фосфорилирование нефосфорилированных форм витамина В₆.



Пиридоксол



Пиридоксаль



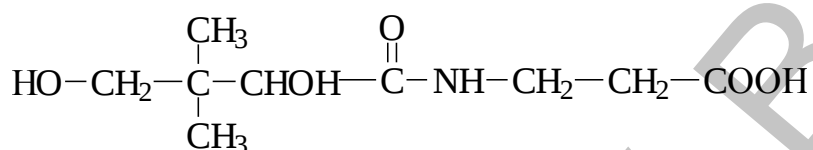
Пиридоксамин

Пиридоксальфосфат является главной транспортной формой витамина в плазме крови. В настоящее время известно более 20 пиридоксальзависимых ферментов, специфичность которых определяется апоферментами: 1) пиридоксальфосфат является простетической группой аминотрансфераз, катализирующих обратимый перенос аминогруппы от аминокислоты на α -кетокислоту (образование заменимых аминокислот, не прямое деаминирование и восстановительное аминирование аминокислот). 2) Декарбоксилирование аминокислот, ведущее к образованию биогенных аминов (простетическая группа декарбоксилаз). 3) Неокислительное дезаминирование серина, треонина, триптофана, серусодержащих аминокислот. 4) В составе мышечной фосфоорилазы (димер) на каждый мономер приходится 1 моль пиридоксальфосфата. Считают, что пиридоксальфосфат участвует в фосфоролитическом распаде гликогена (мышечная фосфоорилаза содержит более 70-80% от всех запасов витамина В₆).

Источники витамина В₆: витамин широко распространен в природе, синтезируется растениями и микроорганизмами, в том числе микрофлорой кишечника. Наиболее богаты витамином В₆ пивные дрожжи, печень, сердце, почки животных, мясо, рыба, цельное зерно злаков и их отруби, горох, бобы, свежий зеленый перец. Суточная потребность – 2-3 мг, у беременных – 6-7 мг. Поскольку витамин В₆ синтезируется микрофлорой кишечника, дефицит витамина В₆ является редким. Гиповитаминоз В₆ встречается при: 1) групповой недостаточности витаминов группы В; 2) подавлении кишечной микрофлоры антибиотиками и сульфаниламидными препаратами; 3) дефицит витамина В₆ может возникать у грудных детей, матери которых истощили запасы витамина В₆ длительным пероральным приемом контрацептивов (мало витамина В₆ в молоке); 4) недостаточность витами-

на В₆ возможна у алкоголиков, поскольку ацетальдегид стимулирует дефосфорилирование пиридоксальфосфата; 5) противотуберкулезный препарат изониазид может индуцировать В₆-дефицит из-за образования гидроazonа с пиридоксалем, который быстро экскретируется. Недостаточность витамина В₆ сопровождается возникновением дерматитов, стоматита, глоссита, конъюнктивита, гипохромной анемии, остановкой роста. При пеллагре часто имеется также недостаточность пиридоксина.

Витамин В₃ (пантотеновая кислота). Пантотеновая кислота состоит из β-аланина и α, γ-дигидрокси-β, β-диметилмасляной кислоты, связанных пептидной связью.

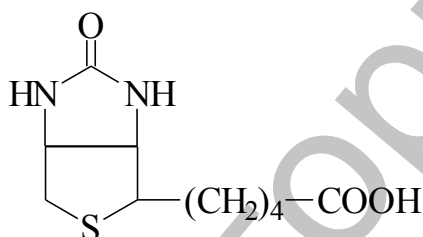


Пантотеновая кислота представляет собой вязкую светло-желтую жидкость, хорошо растворимую в воде. Она малоустойчива и легко гидролизуется по месту пептидной связи под действием слабых кислот и щелочей. Биологическая роль пантотеновой кислоты реализуется через кофермент А, в состав которого она входит: 1) фосфопантетеин – коферментная форма витамина В₃; 2) 4-фосфопантетеин – простетическая группа АПБ и КоА.

Поскольку реакционноспособным участком молекулы КоА является SH-группа, принято сокращенное написание – SH-КоА. Пантотеновая кислота в форме КоА участвует во многих биохимических реакциях. Сульфгидрильная группа SH-КоА служит для переноса ацильных остатков. SH-КоА участвует в ряде важнейших метаболических процессов: 1) в обмене углеводов – окислительное декарбоксилирование пирувата в ацетил-КоА и α-кетоглутарата (2-оксоглутарата) в сукцинил-КоА; 2) в β-окислении жирных кислот на этапах активации до образования ацил-КоА и тиолитическом расщеплении с выделением ацетил-КоА и укороченного на 2 углеродных атома ацил-КоА; 3) в форме ацетил-КоА переносится остаток ацетила на холин с образованием медиатора – ацетилхолина; 4) в форме сукцинил-КоА инициируется синтез порфиринов; 5) в биосинтезе жирных кислот роль переносчика метаболитов в пальмитатсинтазном комплексе выполняет 4-фосфопантетеин; 6) ацетил-КоА используется для синтеза кетонных тел, холестерина и стероидных гормонов. Ацетил-КоА занимает центральное место в процессах взаимосвязи обменов углеводов, аминокислот и жирных кислот, это центральный метаболит общего пути катаболизма. Распространение: пантотеновая кислота (от греческого – присутствовать везде) широко представлена в продуктах питания животного (печень, почки, яйца, мясо, молоко и др.) и растительного (картофель, капуста, фрукты и др.) происхождения. Суточная потребность точно неизвестна и ориентировочно составляет 10-15 мг. В связи с широкой представленностью вита-

мина В₃ в продуктах питания картина авитаминоза В₃ не встречается. При гиповитаминозе пантотеновой кислоты возможны метаболические нарушения, вызванные выпадением функции SH-КоА. Симптоматика гиповитаминозного состояния весьма разнообразна: дерматиты, невриты, язвы слизистых пищеварительного тракта, нарушение продукции стероидных гормонов.

Витамин Н (биотин). Это первое вещество, которое было определено как необходимый ростовой фактор для микроорганизмов. Позже в 1916 году было показано токсическое действие сырого яичного белка на крыс. Употребление печени или дрожжей снимало этот эффект. Фактор, предотвращающий развитие токсикоза, был назван витамином Н, или биотином (от греческого *bios* – жизнь). В сыром яичном белке оказался гликопротеин-авидин, который обладал способностью связывать биотин с образованием нерастворимого в воде комплекса. Этот комплекс не переваривается в пищеварительном тракте, что ведет к развитию авитаминоза Н. Молекула биотина состоит из имидазольного и тиюфенового колец, составляющих гетероциклическую часть молекулы, а боковая цепь представлена валериановой кислотой.



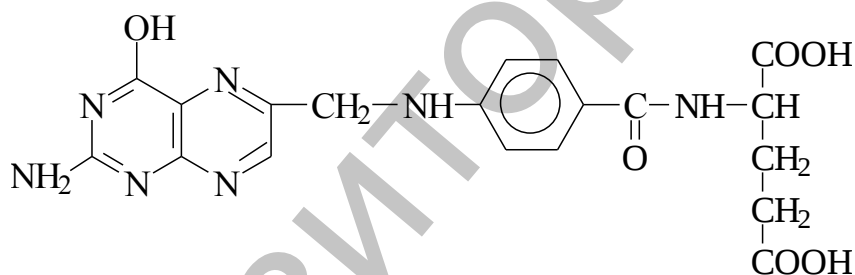
Биотин – компонент специфических олигомерных ферментов, которые катализируют реакции карбоксилирования. Карбоксилатный ион присоединяется к N₁ биотина при образовании холофермента (карбоксибиотин-фермент). Этот этап требует HCO₃⁻, АТФ, Mg²⁺, ацетил-КоА. Ацетил-КоА является при этом аллостерическим эффектором. Активная карбоксильная группа затем переносится на субстрат реакции. Примеры биотин-зависимых ферментов: 1) фермент пируваткарбоксилаза катализирует первую реакцию превращения трехуглеродных предшественников в глюкозу (глюконеогенез). Ацетил-КоА – положительный модулятор реакции, т. е. при его избытке стимулируется карбоксилирование пирувата. (Образованная ЦУК обеспечивает окисление большого количества молекул ацетил-КоА. Поскольку ЦУК образуется преимущественно из углеводов, а ацетил-КоА образуется преимущественно из жирных кислот, говорят, что «жиры горят в пламени углеводов»). 2) Ацетил-КоА-карбоксилаза катализирует образование малонил-КоА, играющего ведущую роль в биосинтезе жирных кислот. 3) Путь превращения пропионата в сукцинат требует этапа карбоксилирования, катализируемого пропионил-КоА-карбоксилазой. Это важный путь метаболизма жирных кислот с короткой цепью углеродных атомов и продуктов распада жирных кислот с нечетным числом углерод-

ных атомов. Особое значение этот путь имеет для взаимодействия кишечной микрофлоры и организма хозяина. 4) В катаболизме лейцина и некоторых изопреноидов участвует реакция, катализируемая β -метил-кротонил-КоА-карбоксилазой. Источники: витамин Н широко распространен в природных продуктах питания (печень, сердце, яичный желток, отруби, бобы, соя, цветная капуста и др.). Витамин синтезируется кишечной микрофлорой. Суточная потребность – 150-200 мкг.

Авитаминоз Н у человека не встречается. Гиповитаминоз Н: 1) наследственный дефект фермента, который присоединяет биотин к лизин-овым остаткам апофермента, вызывает симптомы биотиновой недостаточности, в том числе накопление субстратов биотин-зависимых ферментов в моче (лактат, β -метил-кротонат, β -гидроксиизовалериат, β -гидроксипропионат). У детей с таким дефектом развиваются иммунодефицитные заболевания. 2) При подавлении кишечной микрофлоры сульфаниламидными препаратами и антибиотиками.

Проявление гиповитаминоза Н: дерматит, себоррея, облысение, параличи.

Фолиевая кислота (фолацин). Это соединение, построенное из производного птеридина, пара-аминобензойной кислоты (ПАБК) и глутаминовой кислоты.



Животные клетки не способны синтезировать параамино-бензойную кислоту или присоединять глутамат к птероевой кислоте. Поэтому фолиевая кислота является эссенциальным (незаменимым) компонентом пищи, т.е. витамином. В растениях фолиевая кислота представлена конъюгатом, включающим 7 остатков глутаминовой кислоты, в печени животных содержится пентаглутамильный конъюгат. Фолиевая кислота отщепляется от природных конъюгатов при переваривании в кишечнике и всасывается. В клетках кишечника происходит гидрирование фолиевой кислоты: 1) с помощью НАДФН-зависимой фолатредуктазы вначале в 7,8-дигидрофолат (FH_2); 2) затем в 5,6,7, 8-тетрагидрофолат (FH_4). Коферментной формой фолиевой кислоты является тетрагидрофолиевая кислота (FH_4), которая является переносчиком одноуглеродных групп. Эти группы присоединяются к N в 5 и 10 положениях.

N^5 -формил- FH_4 называют фолининовой кислотой. N^5 -метил- FH_4 является главной формой дериватов фолиевой кислоты в крови. Фолиевая кислота играет важную роль в метаболизме глицина, серина, глутамата,

гистидина, бетаина и холина. Ее производные играют роль в биосинтезах путем включения формильного углерода в пуриновый скелет и в синтезе тимина. У низших организмов фолиевая кислота необходима для образования N-формилметионина – иницирующей аминокислоты в синтезе белка. Источники: свежие овощи – салат, капуста, морковь, помидоры, лук. Суточная потребность – 50-200 мкг. При недостатке фолатина развивается мегалобластическая анемия (в крови незрелые ядросодержащие эритроциты – мегалобласты, мегалоциты). Лечение фолатином до 200 мг per os или 10-20 мг в/в. В сочетании с витамином B₁₂ доза уменьшается.

Витамин B₁₂ (цианкобаламин, антианемический). Это единственный металлосодержащий витамин (кобальт). В витамине B₁₂ четыре пиррольных кольца образуют планарную (плоскостную) структуру: I, II, III и IV пиррольные кольца связаны через метиленовые мостики, IV и I – кольца непосредственно, в центре расположен атом кобальта. Эта система колец называется коррин. Перпендикулярно плоскости коррина расположен нуклеотид, содержащий 5,6-диметилбензимидазол, α-D-рибозу и остаток фосфорной кислоты. В витамине B₁₂ у 13 из 19 углеродных атомов, составляющих ядро коррина, водород полностью замещен метильными группами, ацетамидными и пропионамидными радикалами. Пропионамидный радикал при кольце IV через изопропиловый спирт связан с фосфатным остатком нуклеотида. Одним из атомов азота диметилбензимидазол координационно связан с атомом кобальта. Атом кобальта трехвалентен и ковалентно связан с группой CN. Вся структура получила название цианкобаламина или кобаламина, поскольку считают, что цианид-ион является артефактом, зависящим от способа выделения. Коэнзимные формы витамина вместо цианида содержат аденозильную или метильную группу.

Кобаламины:

R-CN (цианкобаламин-промышленная форма)

R-OH - гидроксикобаламин

R-CH₃ - метилкобаламин

R-5'-дезоксиаденозилкобаламин

} коферментные формы
витамина B₁₂

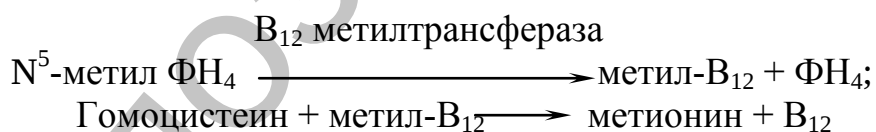
Эти коэнзимные формы часто называют корриноидные коэнзимы. Кобаламины растворимы в воде, термостабильны и устойчивы в присутствии растворов кислот при pH 4,0. Кобаламин-связывающие белки, известные как «R-протеины», секретируются слюнными железами и желудком и связывают кобаламины при кислом pH. «R-протеины» в норме разрушаются панкреатическими протеазами. Затем кобаламины связываются внутренним фактором Кастла. Абсорбция витамина B₁₂ в илеум требует предварительного освобождения витамина B₁₂ в желудке в присутствии HCl. Поэтому поступление витамина B₁₂ во внутреннюю среду организма требует наличия нормальной кислотности желудочного сока и функции поджелудочной железы. Внутренний фактор Кастла – это низкомолекулярный специфический гликопротеин, не чувствительный к протеолизу. Он секре-

тируется париетальными клетками слизистой кардии и дна желудка. После освобождения от «R-протеинов» кобаламины связываются внутренним фактором Кастла и этот комплекс пересекает слизистую илеум. Витамин В₁₂ освобождается от внутреннего фактора Кастла и связывается в плазме крови с транспортирующим белком – транскобаламином II. В печени и плазме крови имеется транскобаламин I. Этот белок выполняет уникальную роль – хранение, резервирование водорастворимого витамина в печени и в плазме крови (циркулирующий резерв). Основная транспортная форма в крови – метилкобаламин. Кобаламин связывается с рецептором на поверхности плазматической мембраны клеток и затем интернализуется. В цитозоле клеток свободный витамин превращается в гидроксикобаламин и метилкобаламин, а в митохондриях – в аденозилкобаламин (5'-дезоксияденозилкобаламин). При отсутствии внутреннего фактора Кастла нет абсорбции витамина В₁₂. В этих условиях его вводят парентерально.

Ферментативные реакции, катализируемые кобаламидными коферментами:

1) превращение метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА в животных тканях (фермент L-метилмалонил-КоА мутаза и кофермент 5'-дезоксияденозилкобаламин). Эта реакция происходит в митохондриях. Это ключевая реакция включения пропионата в метаболизм, а конкретнее – в глюконеогенез. Метилмалоновая кислота появляется в моче больных пернициозной анемией и исчезает при лечении витамином В₁₂. Неврологические симптомы при пернициозной В₁₂-дефицитной анемии связаны с накоплением метилмалоновой кислоты.

2) В цитозоле клеток метилкобаламин является коферментом взаимосвязанных превращений гомоцистеина в метионин и метил-ФН₄ (метил-ТГФК) в ФН₄ (ТГФК)



В этой реакции метильная группа связывается с кобаламином и переносится на гомоцистеин с образованием метионина; ФН₄ образуется при передаче метильной группы N⁵-метил ФН₄ на витамин В₁₂. Эта реакция важна для процессов метилирования и трансметилирования (синтез метионина, пуриновых, пиримидиновых оснований и др.). При дефиците витамина В₁₂ фолат постоянно находится в форме N⁵-метил ФН₄ (фолатная ловушка), в связи с чем нарушен перенос одноуглеродных фрагментов. Это приводит к нарушению синтеза тимидилата и ДНК.

3) Витамин В₁₂ требуется для превращения D-рибонуклеотидов в дезокси-D-рибонуклеотиды. Эту реакцию у прокариот катализирует специфическая рибонуклеотид-редуктаза. Механизм, используемый в эритропоэзе и повышении числа эритроцитов после введения витамина В₁₂, реали-

зуется через биосинтез ДНК, благодаря освобождению фолата (FH_4) из фолатной ловушки (N^5 -метил- FH_4).

Источники: витамин B_{12} отсутствует в растениях, но образуется микроорганизмами. Активно синтезируется витамин B_{12} организмами группы *Streptomyces*, в связи с чем витамин B_{12} – сопутствующий продукт при получении стрептомицина. Витамин B_{12} содержится в животных тканях, особенно в печени, в молоке, яичном желтке. Витамин B_{12} вырабатывается кишечной микрофлорой. Суточная потребность – 2-5 мкг. Недостаточность витамина B_{12} (внешнего фактора Кастла, необходимого для гемопоэза) возможна при опухолях желудка, гастроэктомиях, долговременной стерилизации кишечника. Как правило, причиной развивающегося дефицита витамина B_{12} является абсолютная или относительная недостаточность внутреннего фактора Кастла. При B_{12} -дефиците развивается пернициозная анемия. Нарушаются синтез метионина, ДНК, образование эритроцитов. Из-за дефицита FH_4 (ТГФК) повреждается синтез пуриновых и пиримидиновых оснований. В моче – гомоцистеинурия и метилмалонилацидурия. Вторично развиваются неврологические расстройства.

БИОХИМИЯ МЫШЦ

Различают 2 группы мышечных белков: саркоплазматические и миофибриллярные. Саркоплазматические белки экстрагируются из мышц солевыми растворами с малой ионной силой. К ним относятся миоглобин, способный связывать кислород, ферменты гликолиза, ферменты митохондрий, белки, участвующие в обмене Ca – кальсеквестрин и белок «с высоким сродством к кальцию». Миофибриллярные белки экстрагируются из мышц солевыми растворами с высокой ионной силой. Эти белки составляют основу молекулярной структуры миофибрилл.

Молекулярная структура миофибрилл. Миофибрилла поперечно исчерчена и содержит: 1) А-диск, темный, сильное двойное лучепреломление (анизотропный диск) – 1,5-1,6 мкм; 2) I-диск, светлый, изотропный диск – 1 мкм. 3) Z-линия (ширина = 80 нм) пронизывает поперек все волокно, что обеспечивает удержание фибрилл в пучки и упорядоченное расположение А- и I-дисков многих фибрилл. Пучок миофибрилл от одной до другой Z-линии образует саркомер ($Z-Z = 2,5-3,0$ мкм). Каждый саркомер включает: 1) сеть поперечных трубочек, ориентированных под прямым углом к продольной оси волокна и соединяющихся с наружной поверхностью клетки; 2) саркоплазматический ретикулум, составляющий 8-10% объема клетки; 3) несколько митохондрий. Миофибрилла скелетной мышцы состоит из сократительных элементов – саркомеров. Саркомеры содержат параллельными белковые нити двух типов – тонкие и толстые.

Толстые нити содержат миозин, тонкие – актин, тропомиозин, тропонин. Каждая толстая нить окружена шестью тонкими. Толстые нити образованы белком миозином. Миозин (м.м. 500000 Да), состоит из двух тяжелых полипептидных цепей и четырех легких. N-конец каждой тяжелой цепи имеет глобулярную форму, образуя «головку» молекулы. К каждой из головок нековалентно присоединены по 2 легкие цепи. С-конец тяжелой цепи имеет конформацию альфа-спирали. Головка миозина присоединена к остальной части молекулы гибким участком. Это позволяет головке обратимо присоединяться к актину. Палочкообразные хвосты молекул миозина могут соединяться друг с другом, образуя пучки, головки будут располагаться вокруг пучка по спирали. В области М-линии пучки соединяются «хвост к хвосту», образуя миозиновые нити саркомера. В головке миозина есть центры связывания с актином и АТФ. Она способна гидролизовать АТФ на АДФ+Рн, т.е. обладает ферментативной активностью. Присоединение АТФ к миозину и гидролиз АТФ происходит очень быстро. Однако отщепление продуктов гидролиза АДФ и Рн от миозина происходит медленно.

Тонкие нити. Основным белком тонких нитей является актин. Актин имеет центры связывания с миозином. Он бывает в двух формах: глобулярной – G-актин (м.м. 43000 Да) и фибриллярной – F-актин. F-актин образуется при полимеризации G-актина, это двухцепочечная спираль из мономеров G-актина (бусы).

Тропомиозин – двухцепочечная альфа-спирализованная палочковидная молекула м.м. 70000 Да. Располагается в желобке между цепями F-актина. В покое тропомиозин закрывает в G-актине центры связывания с миозином. Длина молекулы тропомиозина равна семи глобулам G-актина.

Тропонин – м.м. 76000 Да, состоит из трех субъединиц с глобулярной структурой, расположен на концах каждой молекулы тропомиозина. Субъединица Т обеспечивает связывание с тропомиозином, субъединица С образует связь с Ca^{2+} , субъединица I расположена таким образом, что в покое мешает взаимодействию актина с миозином. Между собой актин, тропомиозин и тропонин связаны нековалентными связями. В последние годы широкое распространение получило определение тропонинов Т и I в сыворотке крови при диагностике инфаркта миокарда.

Биохимические механизмы мышечного сокращения и расслабления. Большую роль в этом процессе играют ионы Са и саркоплазматические белки кальсеквестрин и белок с высоким сродством к Са. Эти белки расположены в цистернах саркоплазматического ретикулума. Саркоплазматический ретикулум – это внутриклеточная мембранная система, окружающая мышечные нити. В цистернах ионы Са связаны с кальсеквестрином и «белком с высоким сродством к Са». Кальсеквестрин – кислый гликопротеин с м.м. 45000 Да, способен присоединять 45 молекул Са, второй белок – м.м. 55000 Да связывает 25 молекул Са. Эти белки расположены на внутренней

мембране ретикулума. Перенос Са из цистерн происходит по градиенту концентрации простой диффузией; перенос Ca^{2+} из цитоплазмы в цистерны – против градиента при участии Ca^{2+} -зависимой АТФазы и затраты АТФ. В состоянии покоя система активного транспорта накапливает Са в цистернах. Сокращение мышцы начинается с прихода потенциала действия на концевую пластинку двигательного нерва. В синапс выделяется ацетилхолин, который связывается с постсинаптическими рецепторами мышечного волокна. Далее потенциал действия распространяется вдоль сарколемы к поперечным трубочкам Т-системы. В области Z-линий происходит передача сигнала от поперечных трубочек на цистерны саркоплазматического ретикулума.

Деполаризация мембран цистерн приводит к освобождению Са и началу мышечного сокращения. 1) Са связывается с субъединицей С тропонина. Это изменяет конформацию всей молекулы тропонина – субъединица I перестает мешать взаимодействию актина с миозином; изменение конформации субъединицы Т передается на тропомиозин. 2) Тропомиозин поворачивается на 20° и открывает закрытые ранее центры в актине для связывания с миозином. 3) Головка миозина, которая в покое представляет собой комплекс $\text{M} + \text{АДФ} + \text{P}_\text{H}$, присоединяется к актину перпендикулярно. Причем актин обладает к этому комплексу большим сродством (образование поперечных мостиков). 4) Присоединение актина вызывает быстрое освобождение АДФ и P_H из миозина. Это приводит к изменению конформации и головка миозина поворачивается на 45% (рабочий ход). Поворот головки, связанной с актином, вызывает перемещение тонкой нити относительно миозина. 5) К головке миозина, вместо ушедших АДФ и P_H , вновь присоединяется АТФ, образуя комплекс $\text{M} + \text{АТФ}$. Актин обладает к нему малым сродством, это вызывает отсоединение головки миозина (разрыв поперечных мостиков). Она вновь становится перпендикулярно около тонкой нити. 6) В головке миозина, не связанной с актином, происходит гидролиз АТФ. Вновь образуется комплекс $\text{АДФ} + \text{P}_\text{H} + \text{миозин}$ и все повторяется с 3-го пункта. После прекращения действия двигательного импульса Ca^{2+} с помощью Ca^{2+} -зависимой АТФазы переходит в саркоплазматический ретикулум. Уход Са из комплекса тропонина приводит к смещению тропомиозина и закрытию активных центров актина, делая его неспособным взаимодействовать с миозином. Мышца расслабляется.

Энергетика мышц. АТФ, необходимая для выполнения мышечной работы, образуется при использовании трех видов источников: 1) алактатных анаэробных (использование АТФ и креатинфосфата); 2) лактатных анаэробных (использование гликогена) и 3) аэробных (окисление субстратов). Мышца потребляет огромное количество энергии. То количество АТФ, которое имеется в мышце, может поддержать сократительную активность всего лишь на протяжении доли секунды. Однако в мышцах позвоночных богатые энергией фосфатные связи запасаются в виде креатинфосфата. Это соединение в термодинамической шкале стоит выше АТФ,

поэтому при участии креатинкиназы может происходить перенос фосфата от креатинфосфата к АДФ.



В работающей мышце запас креатинфосфата быстро истощается, а, следовательно, снижается и содержание АТФ. При этом возрастает концентрация АДФ и Рн, а также уровень АМФ при участии миокиназы (аденилаткиназа).



Накопление АМФ, АДФ приводит к стимуляции гликолиза, ЦТК и окислительного фосфорилирования, что обеспечивает восстановление резервов АТФ и креатинфосфата. В скелетных мышцах, кроме адениловых нуклеотидов (АТФ, АДФ, АМФ), креатинфосфата, креатина содержатся и другие небелковые азотистые вещества – карнозин (бета-аланил-гистидин) и ансерин (N-метилкарнозин). Это имидазолсодержащие дипептиды. Синтезируются из конечного продукта распада пиримидиновых нуклеотидов – бета-аланина. Эти соединения активируют Na^+, K^+ -АТФазу, а также увеличивают амплитуду мышечного сокращения, предварительно сниженную утомлением. Скелетные мышцы содержат медленные (красные) – I тип и быстрые (белые) – II тип волокна. Для волокон I типа характерны окислительные процессы, они содержат миоглобин и митохондрии. Тип II волокон получают энергию из анаэробного гликолиза. При тренировке можно изменить состав мышц: у марафонцев преобладает I тип, у спринтеров – II тип волокон. Спринт: работают волокна II типа (гликолитические). В первые 5 секунд тратится креатинфосфат как источник энергии. Затем используется глюкоза, полученная из гликогена и дающая энергию в гликолизе. Гликоген мышц быстро истощается. Марафон: работают волокна I типа (окислительные). Основной источник энергии – АТФ. АТФ образуется при тканевом превращении глюкозы и жирных кислот крови. Гликоген мышц истощается медленно.

Утомление – состояние организма после длительной и напряженной физической нагрузки; сигнал о приближающихся грубых нарушениях метаболизма (активация катаболических процессов). Биохимические сдвиги включают развитие гипознергетического состояния, снижение продукции гормонов, снижение активности ферментов аэробного метаболизма, уменьшение величины рН (ацидоз). В состоянии утомления снижается активность ферментов аэробного окисления субстратов, в связи с чем нарушается сопряжение реакций окисления с синтезом АТФ. Для поддержания концентрации АТФ на должном уровне происходит усиление гликолиза, которое приводит к накоплению молочной кислоты и, как следствие, к закислению внутренних сред организма. С увеличением концентрации молочной кислоты происходит снижение рН крови. При выполнении интенсивных физических нагрузок спортсменами можно наблюдать снижение рН на 0,2-0,3 единицы. Снижение рН в мышцах отражается на скорости

сократительных процессов; снижается активность Ca^{2+} -актомиозиновой АТФазы, уменьшается скорость максимального сокращения актомиозинового комплекса, увеличивается связывание катионов кальция с белками саркоплазматического ретикулума, изменяется активность ключевых ферментов гликолиза (фосфофруктокиназы) и фосфорилазы. Внутриклеточный ацидоз приводит к усилению катаболизма мышечных белков, что сопровождается повышением содержания мочевины.

Биохимические процессы в период отдыха после работы. Активируются анаболические процессы, а также энергетические процессы. Анаболические процессы нуждаются в затратах энергии в форме АТФ, поэтому наиболее выраженные изменения обнаруживаются в сфере энергетического обмена, так как в период отдыха АТФ постоянно тратится, и, следовательно, запасы АТФ должны восстанавливаться. Анаболические процессы в период отдыха обусловлены катаболическими процессами, которые совершались во время работы. Во время отдыха ресинтезируются АТФ, креатинфосфат, гликоген, фосфолипиды, мышечные белки, приходит в норму водно-электролитный баланс организма, происходит восстановление поврежденных клеточных структур. При *срочном восстановлении* (30-90 мин после работы) устранение накопившихся во время работы продуктов метаболизма. Молочная кислота окисляется в пировиноградную кислоту (фермент лактатдегидрогеназа). Образовавшийся NADH и пируват дегидрируются и в процессе переноса протонов и электронов по цепи переноса электронов в митохондриях образуется энергия методом окислительного фосфорилирования. *Отставленное восстановление* (12-48 ч) включает процессы ресинтеза гликогена в мышцах и печени. В основе этого процесса лежит суперкомпенсация – это превышение запасов энергетических веществ в период отдыха над исходным уровнем. Затем идет волнообразное изменение концентрации гликогена до нормальных значений. Длительность фазы суперкомпенсации зависит от продолжительности выполнения работы и глубины вызываемых ею биохимических сдвигов в организме. Мощная кратковременная работа вызывает наступление и быстрое завершение фазы суперкомпенсации: при восстановлении внутримышечных запасов гликогена фаза суперкомпенсации обнаруживается через 3-4 ч, а завершается через 12 ч. После длительной работы умеренной мощности суперкомпенсация гликогена наступает через 12 ч и заканчивается в период от 48 до 72 ч после окончания работы. Причина суперкомпенсации гликогена связана прежде всего с повышенной концентрацией инсулина после работы; в зависимости от характера работы наибольшая концентрация инсулина наблюдается через 30-120 мин после ее окончания. Содержание инсулина повышает активность гликогенсинтазы и снижает активность фосфорилазы. После ресинтеза энергетических запасов организма значительно усиливаются процессы ресинтеза фосфолипидов и белков (12-72 ч).

Биохимические показатели натренированности организма: повышение запасов энергетических ресурсов в тканях, включая мышцы; расширение потенциальных возможностей ферментов; совершенствование механизмов регуляции обмена веществ с участием нервной и эндокринной систем. *Срочный тренировочный эффект* определяется величиной и характером биохимических изменений в организме, происходящих во время действия физической нагрузки и в период восстановления (30-90 мин после окончания работы) когда идет ликвидация кислородного долга. *Отставленный тренировочный эффект* наблюдается на поздних фазах восстановления после физической нагрузки. Сущность его составляют процессы, направленные на восполнение энергетических ресурсов (гликоген, АТФ, креатинфосфат) и ускоренную регенерацию поврежденных при работе клеточных структур. *Кумулятивный тренировочный эффект* возникает как результат последовательного суммирования следов многих нагрузок или большого числа срочных и отставленных эффектов. В кумулятивном тренировочном эффекте воплощаются биохимические изменения, связанные с усилением синтеза нуклеиновых кислот и белков и наблюдаемые на протяжении длительного периода тренировки. Кумулятивный тренировочный эффект выражается в приросте показателей работоспособности и улучшении спортивных достижений.

Существует четыре основных принципа спортивной тренировки: повторность, регулярность, правильное соотношение работы и отдыха, постепенное увеличение нагрузок. Под влиянием тренировки существенно улучшаются показатели физической работоспособности. Так, аэробная мощность начинающих спортсменов составляет 45 мл/кг×мин, а спортсменов международного класса – 90 мл/кг×мин; алактатная мощность – 60 ммоль/кг×мин для начинающих и 102 ммоль/кг×мин для мастеров международного класса; гликолитическая мощность – 20 ммоль/кг×мин и 35 ммоль/кг×мин лактата, соответственно.

Реабилитация, восстановление организма после нагрузок – это биологическое уравнивание организма, его отдельных функций, органов, тканей, клеток после интенсивной мышечной и другой работы. Существуют следующие методы восстановления: 1) рациональное питание; 2) рациональный режим; 3) бальнеологические методы; 4) физиотерапевтические методы; 5) массаж; 6) фармакологические методы; 7) психологические методы. Каждый из этих методов имеет биохимическую составляющую, определяющую молекулярную сущность восстановительных процессов.

РОЛЬ БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В СПОРТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

Современные спортивные нагрузки предъявляют чрезвычайные требования к спортсмену и приводят к необходимости применения различных диетических и фармакологических средств с целью профилактики и лечения предпатологических и патологических состояний, для ускорения процессов восстановления и повышения работоспособности. Постоянный рост национальных и мировых спортивных достижений и связанные с этим все возрастающие физические и психологические нагрузки в период тренинга и соревнований приводят к омоложению спорта, появлению новых видов спорта и проблем, связанных с переносимостью физических нагрузок.

Классификация видов спорта. Все виды физической деятельности подразделяются по степени нагрузок на очень высокие, высокие, средней и низкой интенсивности. Это соответствует уровню спортивной квалификации спортсменов экстра-класса (олимпийских чемпионов и чемпионов мира), мастеров спорта международного класса, мастеров спорта, разрядников, лиц, занимающихся физической культурой, не занимающихся физической культурой и занимающихся лечебной физкультурой с целью реабилитации тех или иных функций при помощи дозированной двигательной активности. Однако, все они на своем уровне имеют пределы своих возможностей, которые ограничивают физическую работоспособность человека. Следует иметь в виду, что эти факторы, лимитирующие работоспособность, зависят от вида физической деятельности, которая может быть подразделена в соответствии с классификацией видов спорта на 5 основных групп.

1. Циклические виды спорта с преимущественным проявлением выносливости (бег, плавание, лыжный, велосипедный, конькобежный спорт, все виды гребли и другие), когда одно и то же движение повторяется многократно. Этот вид деятельности требует расходования большого количества энергии, а сама работа выполняется с высокой и очень высокой интенсивностью.

2. Скоростно-силовые виды, когда главным качеством является выполнение взрывной, короткой по времени и очень интенсивной физической деятельности (все спринтерские дистанции, метания, тяжелая атлетика и другие). В большинстве случаев скорость зависит от генетических детерминант и мало поддается как тренировке, так и влиянию лекарственных средств. Различают циклическую последовательность моторных действий (бег) и ациклическую (бросок).

3. Спортивные единоборства представляют собой весьма многочисленные виды физической деятельности (все виды борьбы, бокс и другие). Характерной чертой расходования энергии при единоборствах является не постоянный, циклический уровень физических нагрузок, зависящий от

конкретных условий соперничества, достигающих порой очень высокой интенсивности.

4. Игровые виды спорта характеризуются постоянным чередованием интенсивной мышечной деятельности и отдыха в моменты, когда спортсмены задействованы непосредственно в игровых эпизодах. При этом помимо выносливости большое значение имеют координация движений и психическая устойчивость.

5. Сложнокоординационные виды основаны на тончайших элементах движения, что характерно для фигурного катания, гимнастики, прыжков в воду, стрельбы, где требуется значительная выдержка и внимание. При этом физические нагрузки варьируют в широких пределах.

Существуют также сложотехнические виды, связанные с применением технических средств (автогонки, бобслей, парашютный спорт и другие), когда на первое место выходят нервнопсихические нагрузки. В многоборьях имеется сочетание различных видов физической деятельности человека. Проблема восстановления и поддержания на высоком уровне интеллектуальной и физической формы является важной на соревнованиях по шахматам и шашкам.

Основные термины и определения. Существует ряд терминов спортивной медицины, которые связаны с биохимическими процессами.

1. Выносливость – это способность организма противостоять утомлению. Она измеряется временем и напрямую зависит от интенсивности выполняемой нагрузки. В самой общей форме утомление определяют как *обратимое нарушение физиологического и биохимического гомеостаза, которое компенсируется в посленагрузочном периоде*. Выносливость включает в себя два отдельных, но взаимосвязанных понятия – мышечную выносливость и кардиореспираторную выносливость. Каждая из них вносит свой вклад в тот или иной вид спортивной деятельности, в связи с чем их значение для представителей различных видов спорта неодинаково.

2. Мышечная выносливость особенно характерна для спринтеров. Она отражает способность отдельной мышцы или группы мышц выдерживать высокоинтенсивную, повторяющуюся (бег на спринтерские дистанции) или статическую нагрузку (тяжелая атлетика, борьба). При этом мышечная деятельность может быть ритмичной или повторяющейся (бокс) и статической (борьба). В этом случае результирующее утомление возникает в определенной мышечной группе, а продолжительность мышечной нагрузки исчисляется секундами. *Мышечная выносливость тесно связана с мышечной силой и анаэробной производительностью энергии.*

3. Кардиореспираторная выносливость связана со способностью организма выдерживать длительную циклическую нагрузку и характеризует возможности всего организма в целом. Этот тип выносливости характерен для бегунов, велосипедистов, пловцов, преодолевающих длинные дистанции с относительно высокой скоростью. *Кардиореспираторная выносли-*

вость напрямую зависит от развития и функционирования сердечно-сосудистой и дыхательной систем и характеризуется аэробными возможностями производства энергии.

4. Максимум потребления кислорода (МПК) является основным показателем эффективности кардиореспираторной системы и определяется наибольшим количеством кислорода, которое человек способен потреблять в течение одной минуты, или максимальной интенсивностью утилизации кислорода при предельной изнурительной нагрузке.

5. При напряженной мышечной деятельности на определенном этапе наступает несоответствие между потребностью в кислороде работающими мышцами и его доставкой. В этих условиях активируются бескислородные (анаэробные) пути энергообеспечения. Накопление недоокисленных продуктов обмена (метаболиты углеводного и липидного обмена) приводит к нарушению кислотно-щелочного состояния крови, снижению емкости буферных оснований и рН крови. Устранение кислых метаболитов связано с повышенным потреблением кислорода в восстановительном периоде. Эта излишняя, по сравнению с уровнем покоя, величина потребления кислорода называется общим кислородным долгом (КД). Поэтому величина КД определяется количеством метаболитов аэробного обмена. Анаэробная производительность спортсмена зависит как от возможности тканевых систем к энергообразованию в условиях гипоксии, так и от способности спортсмена продолжать работу при критических изменениях рН внутренней среды организма.

Из наиболее валидных физиологических и биохимических показателей, служащих оценками мощности, емкости и эффективности аэробных и анаэробных процессов, следует указать на прямые измерения МПК, КД, максимума накопления молочной кислоты в крови, наибольшего сдвига рН крови.

Рабочая классификация метаболитов и лекарств, оптимизирующих физическую работоспособность. Согласно Ю.Г.Бобкову и В.М.Виноградову выделяют три группы веществ для оптимизации физической деятельности человека.

1. Стимуляторы «Мобилизирующего типа»:

1.1. Адреномиметики непрямого или смешанного действия (фенамин и его аналоги).

1.2. Вещества с общестимулирующим действием на ЦНС - analeптики (стрихнин, секуринин, кофеин и содержащие его напитки).

1.3. Ингибиторы моноаминоксидазы – ниаламид и др.

2. Стимуляторы «экономизирующего типа»:

2.1. Антигипоксанты – препараты группы гутимина, цитохром С, соединения металлов с переменной валентностью, коэнзим Q (убихинон) и его аналоги.

2.2. Актопротекторы – производные бензимидазола, ацетилена и других.

2.3. Некоторые психозэнергизаторы и ноотропы – ацефен, мефексамид и их аналоги (пирацетам и аналоги; тонибрал и аналоги; эуклидан, панклар и другие).

2.4. Энергодающие соединения и метаболиты (фосфорилированные гексозы, аминокислоты, янтарная, яблочная, альфа-кетоглутаровая кислоты).

3. Препараты растений с различным механизмом действия.

3.1. Преобладают адаптогенные и экономизирующие свойства (препараты женьшеня, элеутерококка, золотого корня).

3.2. Преобладают умеренно выраженные стимулирующие свойства (препараты китайского лимонника, стеркулии, левзеи и другие).

Многие препараты, которые стимулируют физическую работоспособность, оказывают оптимизирующее влияние и на процессы умственной работоспособности, внимания, психической устойчивости и координации движений.

Тестирование физической работоспособности у человека. В нагрузочном тестировании обычно используется один из четырех видов эргометрии: 1) велоэргометр, работа сидя или в положении лежа); 2) ступенька или степэргометрия; 3) тредбан (бегущая дорожка; 4) ручной эргометр. Простым методическим приемом для оценки работоспособности является степ-тест, который выполняется на ступеньках различной высоты. Для расчета объема выполненной работы используется формула:

$W=1,5(P \times h \times n)$ кгм/мин, в которой W – мощность работы; P – масса тела (кг); h – высота ступеньки; n – число подъемов на ступеньку.

Широкое распространение в спортивной практике получила проба PWC 170: физическая работоспособность при частоте сердечных сокращений, равной 170 уд/мин. Эту пробу нельзя применять для оценки эффективности лекарств в спортивной медицине.

Лабораторные исследования в спортивном тестировании. Наибольшее распространение имеют стандартизованные лабораторные процедуры, осуществляемые на специализированных компьютеризованных стендах, включающих газоаналитическую компьютерную систему с велоэргометром и тредмиллом лактатного автоматического анализатора для определения накопления молочной кислоты в крови (или набора реактивов для ручного определения), аппаратом для регистрации изменений кислотно-щелочного состояния в организме спортсмена. В более простом варианте характер энергообеспечения нагрузки можно оценить с помощью диагностического комплекса, в который помимо велоэргометра или тредбана входит газоанализатор, блок наблюдения за деятельностью сердечно-сосудистой системы.

Наиболее информативным тестом для лабораторной оценки уровня работоспособности спортсмена признан тест ступенчато-возрастающей нагрузки. Этот тест помимо работоспособности позволяет оценить максимальный уровень энергетических возможностей спортсменов в тех видах спорта, где требуется проявление выносливости и метаболические изменения существенно ограничивают работоспособность спортсмена. В качестве тестирующей нагрузки обычно используется бег на тредмиле или работа на велоэргометре с постепенно возрастающей интенсивностью.

При использовании велоэргометра в качестве нагрузочного теста обычно выбирается ступенчато-возрастающая нагрузка «до отказа». Мощность начальной нагрузки при этом составляет 1 ватт на 1 кг массы тела с увеличением на исходную величину на каждой ступени продолжительностью по 3 мин при скорости вращения педалей 60 об/мин. В качестве другой модели велоэргометрической нагрузки (для спортсменов с большой массой тела – обычно спортсмены, занимающиеся академической греблей) может быть предложена модель с мощностью начальной нагрузки 100 ватт для женщин и 200 ватт для мужчин с приростом по 50 ватт на каждой ступени продолжительностью 2 минуты.

С помощью газоанализатора в покое (до нагрузки), каждые 30 сек выполнения нагрузки и в течение 10 мин восстановления автоматически регистрируются концентрации кислорода и углекислого газа в выдыхаемом воздухе, частота дыхания и ряд производных от этих показателей в расчете на 1 кг массы тела. В капиллярной крови с помощью автоматических анализаторов определяются показатели кислотно-щелочного состояния (pH, BE, pCO₂) и концентрации молочной кислоты (до нагрузки, сразу после нагрузки и через 15 мин). Большое распространение имеют средства сухой химии (тест-полоски) оснащенные автономными миниатюрными анализаторами количественного содержания глюкозы (глюкометры) и лактата (лактометры). Эти средства используются в месте проведения тренировок или соревнований. Для них требуются минимальные количества капиллярной крови.

Для оценки эффективности химических веществ (лекарственных препаратов) на анаэробную производительность используют пробу Н.И.Волкова, при которой определяется содержание молочной кислоты (лактата) в крови через 3, 4, 10 и 20 мин восстановления после предельной 1-минутной работы, выполняемой 3 раза с 1-минутными интервалами.

Измерение мышечной силы. Силой мышц обозначают максимальное проявление произвольного усилия, которое может развить группа мышц в определенных условиях. Различают статическую (изометрическую) и динамическую силу. Сокращение мышцы, при котором она развивает напряжение, не изменяя при этом своей длины, обозначается как изометрическое. *Мерой статической силы является максимум изометрического напряжения.* Если внешнее сопротивление при мышечном сокраще-

нии преодолевается (например, при поднятии тяжести), мышца укорачивается и происходит движение. *Мерой концентрической силы является максимальное сопротивление, которое мышцы способны преодолевать на всем пути соответствующего движения (динамическая сила).* Обычно измеряют статическую силу динамометрами (силу кисти – динамометром Колена, силу разгибателей туловища – станovým динамометром). Величина динамической силы зависит от скорости движения, которую трудно фиксировать. Электрические динамометры с тензодатчиками позволяют измерять помимо силы и выносливость мышц. Для этого измеряют время, в течение которого испытуемый в состоянии выдержать статическое напряжение (обычно равное 50-75% максимума), не снижая усилия.

Схема клинико-фармакологических исследований в спортивной медицине. Перед началом исследования спортсмен должен отдохнуть 15-20 мин лежа или сидя в удобном кресле. В конце периода отдыха до исследования регистрируется электрокардиограмма в 12-ти стандартных отведениях, измеряется артериальное давление и производится забор капиллярной крови из мякоти пальца или из мочки уха для измерения показателей кислотно-щелочного состояния, концентрации молочной кислоты (исходный уровень для определения анаэробной производительности) или других биохимических параметров в зависимости от целей эксперимента.

Функциональные показатели работоспособности спортсменов

№	ФИО	t	W	A общ.	A/кг	МПК	МПК/кг	O ₂ D	O ₂ D/кг	VE max	КП max	ДК
1												
2												
3												
4												

Обозначения: t – время работы; W – мощность нагрузки; A, A/кг – работа, выполненная в тесте (кгм, кгм/кг); МПК, МПК/кг – максимальное потребление кислорода (мл/мин, мл/мин/кг); O₂D, O₂D/кг – кислородный долг (мл, мл/кг); VE_{max} – максимальная легочная вентиляция (л/мин); КП_{max} – максимальный кислородный пульс (мл/уд); ДК – дыхательный коэффициент.

Биохимические показатели работоспособности спортсменов

№	ФИО	pH			BE			pCO ₂			Лактат		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1													
2													
3													
4													

Обозначения: 1 – исходные данные, 2 – после нагрузки, 3 – уровень в восстановительном периоде. BE – буферная емкость, избыток оснований

(ммоль/л); $p\text{CO}_2$ – концентрация углекислого газа в крови (кПа); лактат – концентрация молочной кислоты в крови (ммоль/л).

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

Лабораторный практикум по биохимии требует знания техники безопасной работы, особенностей работы в химической лаборатории с биологическим материалом, основных положений международной системы единиц «СИ».

Работа 1. Особенности работы в биохимической лаборатории и инструктаж по технике безопасности. (Информация преподавателя о структуре занятий и требованиях, предъявляемых к студентам при проведении лабораторных работ).

Студенты должны переписать в тетрадь для протоколов:

- Положение о требованиях, предъявляемых к студентам при проведении лабораторных и практических занятий по биологической химии.
- Инструкцию по безопасной работе студентов в учебных лабораториях кафедры химии.

Работа 2. Применение международной системы единиц (СИ) в биохимической лабораторной практике. Наименования физических величин, применяемых в биохимической лабораторной практике, должны соответствовать научно-техническим терминам, установленным соответствующими государственными стандартами. Ниже приведены некоторые определения физических величин, применяемых в биохимической лабораторной практике.

Масса. Под массой тела понимается скалярная величина, характеризующая инерционные и гравитационные свойства тела. Массу тела в состоянии покоя, в частности, определяют взвешиванием на весах. Результат взвешивания тела на весах следует называть массой, а не весом, и выражать результат взвешивания в единицах массы – килограммах (кг), граммах (г), в долях от грамма – миллиграммах (мг), микрограммах (мкг), нанограммах (нг). Единицами массы следует пользоваться для выражения результатов биохимических исследований веществ, относительная молекулярная масса которых неизвестна.

Количество вещества – величина, определяемая числом структурных элементов (атомов, молекул, ионов, электронов и других частиц) в рассматриваемом веществе. За единицу количества вещества принят моль (моль – это количество вещества, содержащее столько структурных единиц, сколько содержится атомов в 0,012 кг изотопа углерода ^{12}C . Число частиц в моле любого вещества одно и то же. Оно равно $6,02 \times 10^{23}$ и называется посто-

янной Авогадро). Кратные и дольные единицы от моль – киломоль (кмоль), миллимоль (ммоль), микромоль (мкмоль) и др. Количество вещества предлагается применять для выражения результатов исследования веществ, относительная молекулярная масса которых известна.

Молярная масса – отношение массы вещества к количеству вещества (или иначе – масса вещества, взятого в количестве 1 моль). Ее выражают в кг/моль в СИ, или в г/моль и обычно обозначают буквой M . В общем случае молярная масса вещества, выраженная в граммах, численно равна ее относительной молекулярной (атомной) массе, выраженной в атомных единицах массы. В практическом плане это означает, что при необходимости взятия 1 моля вещества нужно брать число граммов этого вещества, равное его относительной молекулярной (атомной) массе.

Массовая концентрация компонента – отношение массы компонента к объему смеси. Единицы в СИ – кг/м³, в биохимических исследованиях – г/л (для выражения концентрации веществ, относительная молекулярная масса которых известна).

Молярная концентрация компонента (молярность компонента) – отношение количества вещества к объему смеси. Единицы в СИ – моль/м³, в биохимических исследованиях – моль/л (для выражения концентрации веществ с известной относительной молярной массой).

Нормальная концентрация (или нормальность) выражается числом эквивалентов вещества, содержащегося в 1 л раствора. Раствор, в 1 л которого содержится один эквивалент растворимого вещества, называется нормальным (0,1 экв. вещества – децинормальным, 0,01 экв. – сантинормальным, 0,001 экв. – миллинормальным).

Активность фермента применяют для количественной характеристики биологических катализаторов – ферментов. В качестве единицы СИ принимается моль/с (моль в секунду) – активность фермента, катализирующего превращение 1 моль субстрата (имеется в виду убыль субстрата или «наработка» продукта реакции) в 1 секунду при определенных условиях.

Скорость химической реакции определяется по убыли субстрата или «наработке» продукта реакции за определенное время в определенном объеме исследуемого материала. В качестве единицы СИ принимается моль в секунду на кубический метр – моль/(с·м³). Однако для выражения результатов биохимических исследований пользуются единицами: моль в секунду на литр – моль/(с·л) или чаще миллимоль в час на литр – ммоль/(ч·л). При исследовании скорости ферментативных реакций полученный результат обычно называют «активностью фермента», например: «Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови равна 0,5-1,3 ммоль/(ч·л)».

Показатели величины экскреции исследуемого компонента с суточным объемом мочи принято обозначать количеством выводимого веществ-

ва, отнесенного к единице измерения «сутки» (например: ммоль/сут, мкмоль/сут, нмоль/сут).

Для правильного использования кратных и дольных значений единиц в таблице 1 представлены соответствующие множители и приставки.

Таблица 1

Множители и приставки, применяемые для обозначения кратных и дольных единиц

Множитель	Приставка	Обозначение приставки	Множитель	Приставка	Обозначение приставки (символ)
			10^{-1}	Деци	д
			10^{-2}	Санتي	с
10^{12}	Тера	Т	10^{-3}	Милли	м
10^9	Гига	Г	10^{-6}	Микро	мк
10^6	Мега	М	10^{-9}	Нано	н
10^3	Кило	к	10^{-12}	Пико	п
10^2	Гекто	г	10^{-15}	Фемто	ф
10^1	Дека	да	10^{-18}	Атто	а

Реабилитолог должен уметь ориентироваться в показателях нормы клинико-биохимических исследований и уметь их интерпретировать. Поэтому для ориентировки в современных показателях нормы для основных клинико-биохимических исследований, выполненных с применением унифицированных методик, приведена таблица 2, в которой биохимические показатели выражены в единицах СИ.

Этот справочный материал может быть полезен в дальнейшем при изучении специальных дисциплин.

Таблица 2

Показатели нормы основных клинико-биохимических исследований

Наименование биохимического теста	Показатели нормы в единицах СИ
1	2
Плазма (сыворотка) крови	
Адреналин	1,91 – 2,46 нмоль/л
Аланинаминотрансфераза	0,10 – 0,68 ммоль/(ч·л)
Аспартатаминотрансфераза	0,10 – 0,45 ммоль/(ч·л)
Альбумины	40 – 50 г/л
Альфа-амилаза	16 – 30 г/л (ч·л)
Аммиак	17 – 78 мкмоль/л
Белок общий	65 – 85 г/л
Белковые фракции:	
Альбумины	56,5 – 66,8 %
Глобулины	33,2 – 43,5 %
Альфа1-глобулины	3,5 – 6,0 %
Альфа2-глобулины	6,9 – 10,5 %
Бета-глобулины	7,3 – 12,5%
Гамма-глобулины	12,8 – 19,0%
Билирубин	8,55 – 20,52 мкмоль/л

Галактоза	до 0,24 ммоль/л
Гистамин (в цельной крови)	0,18 – 0,72 мкмоль/л
Гаптоглобин	0,28 – 1,90 г/л
Глюкоза	3,33 – 5,55 ммоль/л
Гемоглобин (в крови): у мужчин у женщин	2,0 – 2,79 ммоль/л 1,86 – 2,48 ммоль/л
Гликопротеиды (общие)	1,2 – 1,6 г/л
Гексозы, связанные с белком	1,05 – 1,15 г/л
Железо: у мужчин у женщин	14,32 – 25,06 мкмоль/л 10,74 – 21,48 мкмоль/л
Индикан	0,87 – 3,33 мкмоль/л
Калий в сыворотке	3,16 – 5,4 ммоль/л
Калий в эритроцитах	79,4 – 112,6 ммоль/л
Кальций	2,0 – 2,75 ммоль/л
Кортикостероиды(17-ОКС)	0,14 – 0,55 мкмоль/л
Креатинин	0,044 – 0,088 ммоль/л
Креатинкиназа	до 1,2 ммоль Рн/(ч.л)
Кисотно-основное равновесие:	
Бикарбонат стандартный	4,5 – 5,5 ммоль/л
рН (активная реакция крови)	7,35 – 7,45 ед.
Избыток оснований (в крови)	(-2,3) – (+2,3) ммоль/л
Парциальное давление углекислого газа рСО ₂ (в крови)	4,52 – 5,99 кПа
Парциальное давление О ₂ (в артериальной крови)	12,0 – 12,6 кПа
Парциальное давление О ₂ (в венозной крови)	4,66 – 5,99 кПа
Лактатдегидрогеназа	0,8 – 4,0 ммоль/(ч.л)
Липиды общие	4,00 – 8,00 г/л
Липопротеины	3,50 – 7,50 г/л
Магний сыворотки	0,78 – 0,92 ммоль/л
Магний ликвора	1,03 – 1,43 ммоль/л
Медь	11 – 22 мкмоль/л
Молочная кислота (в венозной крови)	0,56 – 1,67 ммоль/л
Молочная кислота (в артериальной крови)	0,33 – 0,78 ммоль/л
Мочевая кислота	0,12 – 0,24 ммоль/л
Мочевина	2,50 – 8,33 ммоль/л
Натрий сыворотки	130 – 150 ммоль/л
Натрий эритроцитов	12,5 – 21,7 ммоль/л
Норадреналин	3,84 – 5,31 ммоль/л
17-оксикортикостероиды	0,138 – 0,550 мкмоль/л
Пировиноградная кислота (в крови)	45,6 – 114 мкмоль/л
Протромбин	1,4 – 2,1 мкмоль/л
Серомукоид (серовликоиды общие)	0,22 – 0,28 г/л
Серотонин (в плазме)	0,25 ± 0,05 мкмоль/л
Серотонин (в крови)	0,51 – 1,02 мкмоль/л
Сиаловые кислоты	2,0 – 2,36 ммоль/л

Тимоловая проба	0 – 4 ед. S-H
Трансферин	35,80 – 44,75 ммоль/л
Триацилглицериды (триацилглицерины)	0,44 – 1,82 ммоль/л
Фибриноген (в плазме)	2,0 – 4,0 г/л (5,9 – 11,7) мкмоль/л
Фосфатаза кислая	0,05 – 0,13 мкмоль/(ч·л)
Фосфатаза щелочная	0,5 – 1,3 мкмоль/(ч·л)
Фосфолипиды общие	2,52 – 2,91 ммоль/л
Фосфор липоидный	1,97 – 4,68 ммоль/л
Фосфор неорганический	0,646 – 1,292 ммоль/л
Фруктоза (в крови)	2,77 – 27,75 мкмоль/л
Хлор (хлорид-ионы)	96 – 108 ммоль/л
Холестерин	3,64 – 6,76 ммоль/л
Холинэстераза	160 – 340 ммоль/(ч·л)
Моча	
Аммиак	30 – 60 ммоль/сут
Адреналин	16,4 – 82,0 ммоль/сут
Альдостерон	2,8 – 41,6 нмоль/сут
Альфа-амилаза	28 – 160 г/(ч·л)
Белок	– г/л
Белок Бенса-Джонса	– г/л
Ванилил-миндальная кислота	3,53 – 19,2 мкмоль/сут
Глюкоза	следы, мкмоль
ДОФА (диоксифенилаланин)	40,6 – 563,0 нмоль/сут
Дофамин	732,0 – 2940,0 нмоль/сут
Калий	38,4 – 89,5 ммоль/сут
17-оксикортикостероиды суммарные	3,61 – 20,38 мкмоль/сут
Плотность	1,012 – 1,020 нг/л
РН	5,0 – 7,0 ед
Фосфор неорганический	0,026 – 9,048 ммоль/сут
Эстрогены: у женщин у мужчин	17,65– 211,8 нмоль/сут до 35,3 нмоль/сут
Спинномозговая жидкость	
Глюкоза	2,50 – 3,89 ммоль/л
Белок	0,22 – 0,33 г/л
Хлор	120 – 130 ммоль/л

Работа 3. Буферные системы крови в организме человека. Кислотно-основное состояние. Ацидоз. Алкалоз.

Водородный показатель pH – отрицательный десятичный логарифм концентрации ионов водорода в растворе, выраженной в моль/л: 0-3 – сильнокислая среда; 3-7 – слабокислая среда; 7 – нейтральная среда; 7-11 – слабощелочная среда; 11-14 – сильнощелочная среда. Для определения pH используют колориметрический (с помощью индикаторов, точность $\pm 0,1$ pH) и потенциометрический (с помощью pH-метров, точность $\pm 0,01$ pH) методов. Индикаторы – слабые органические кислоты или основания, дис-

социрующие в зависимости от рН среды и изменяющие свою окраску. Одноцветные индикаторы – если окрашена молекула или ион индикатора; двухцветные индикаторы – молекула окрашена в один цвет, а ион – в другой. Например: 1) фенолфталеин – молекула бесцветная (в кислой среде), ион – малиново-красный (в щелочной среде); 2) метил-оранж – молекула желтая (в щелочной среде), ион – красный (в кислой среде). Универсальный индикатор – смесь пяти различных индикаторов (диметиламиноазобензола, бромтимолового синего, метилового красного, фенолфталеина и тимолфталеина) – изменяет окраску на протяжении всей шкалы рН и служит для приближенного ($\pm 0,1$ рН) определения рН среды.

В поддержании постоянства рН в организме участвуют легкие, почки, буферные системы, ионный обмен и диффузия. В организме человека каждая биологическая жидкость имеет определенное значение рН: слюна – 6,4-6,8; желудочный сок 0 1,5-2,5 (натощак 0,9-1,5); сок поджелудочной железы – 7,5-8,0; желчь в желчном пузыре – 5,4-6,9; спинномозговая жидкость – 7,35-7,45; моча – 4,8-7,8. Сыворотка крови характеризуется постоянством и устойчивостью рН (изогидрия) = 7,36-7,42. Изогидрию в сыворотке крови поддерживают буферные системы.

Буферной системой называют протолитическую систему, обладающую способностью стойко удерживать рН среды при добавлении небольших количеств сильной кислоты или щелочи, или при разведении (разбавлении). Протолитические буферные системы состоят из слабой кислоты и избытка сопряженного с ней основания (1 тип) или из слабого основания и избытка сопряженной с ним кислоты (2 тип). Буферные системы – двухкомпонентные системы, состоящие из слабого электролита, обладающего резервной кислотностью или основностью, и сильного электролита, имеющего одноименный ион со слабым электролитом и удерживающим слабый электролит от диссоциации. *Буферная емкость – количество молярных эквивалентных масс сильной кислоты или сильного основания, которые надо добавить к 1 л буферного раствора, чтобы сдвинуть рН на 1.*

Буферные системы крови человека:

1. Бикарбонатная (10% буферного действия).

В плазме $\text{H}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3 = 1/20$;

В эритроцитах $\text{H}_2\text{CO}_3/\text{KHCO}_3 = 1/20$

2. Фосфатная (1% буферного действия).

В плазме $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4 = 1/4$.

3. Белковая (14% буферного действия).

Белки плазмы 65-85 г/л. Белок- COOH /Белок- COONa

4. Гемоглобиновая и оксигемоглобиновая.

Hb/KHb $\text{HbO}_2/\text{KhbO}_2$

Кислотно-основное состояние (КОС), или кислотно-щелочное равновесие (КЩР) в организме человека чаще всего характеризуют тремя показателями плазмы крови: 1) щелочными резервами $-(\text{BE}) = \pm 2,3$ ммоль/л;

2) парциальным давлением углекислого газа ($p\text{CO}_2$) = 36-44 мм рт. ст. (4,52 – 5,99 кПа); 3) $p\text{H}$ = 7,36-7,42. ВЕ – это количество оснований, которое необходимо добавить или нейтрализовать, чтобы $p\text{H}$ крови сохранился в норме. Положительное значение ВЕ указывает на избыток оснований или на дефицит кислот; отрицательное значение ВЕ указывает на дефицит оснований или избыток кислот.

Нормальные величины показателей кислотно-основного состояния

Показатель	Значение
$p\text{H}$ крови	7,35-7,45
артериальная	7,37-7,45
Венозная	7,34-7,43
напряжение углекислого газа($p\text{CO}_2$), кПа:	
мужчины	4,7-6,0
Женщины	4,3-5,7
напряжение кислорода ($p\text{O}_2$), кПа:	
артериальная кровь мужчины до 40 лет	11,1-11,4
мужчины старше 40 лет	9,6-13,7
общая углекислота (TCO_2), ммоль/л:	
артериальная кровь, мужчины	24,6-28,6
Женщины	22,7-28,5
капиллярная кровь, мужчины	19,84-24,76
Женщины	18,93-24,87
бикарбонат плазмы крови (HCO_3^-), ммоль/л:	
мужчины	23,6-27,2
Женщины	21,8-27,2
стандартный бикарбонат плазмы крови (SB), ммоль/л:	
мужчины	22,5-26,9
Женщины	21,8-26,2
Анионный интервал $\text{Na}^+ - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-)$, ммоль/л	7-16
Анионный интервал $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-)$, ммоль/л	10-20
буферные основания (BB), ммоль/л:	
капиллярная кровь	43,7-53,5
избыток основания (BE), ммоль/л:	
капиллярная кровь, мужчины	от -2,7 до +2,5
Женщины	от -3,4 до +1,4
артериальная кровь, мужчины	от -1,0 до +3,1
Женщины	от -1,8 до +2,8
дети до 3 лет	от -4,0 до +2,0

Первичные нарушения кислотно-основного равновесия

Патологическое состояние	$p\text{H}$	Нереспираторный фактор (BE, HCO_3^-)	Респираторный фактор
--------------------------	-------------	--	----------------------

Респираторный ацидоз	<N	N	>N
Метаболический ацидоз	<N	<N	N
Респираторный алкалоз	>N	N	<N
Нереспираторный алкалоз	>N	>N	N

Механизмы метаболического ацидоза (МАЦ)

1. Увеличение продукции кислот (молочной при физических нагрузках, кетокилот при диабете).
2. Снижение экскреции кислот почками.
3. Потери щелочей (Диарея тяжелой степени, синдром мальабсорбции).

Механизмы метаболического алкалоза (МАЛ)

1. Вследствие уменьшения объема циркулирующей жидкости (рвота или дренаж желудка; прием диуретиков).
2. Гиперфункция надпочечников.
3. Тяжелый дефицит калия (содержание калия в сыворотке обычно 2 ммоль/л или даже меньше).
4. Избыточное потребление щелочей.

Респираторный ацидоз (РАЦ) делится на:

1. Острый (внезапное снижение вентиляции легких — подавление дыхательного центра вследствие заболевания ЦНС или приема лекарственных средств, нервно-мышечных расстройств и др.);
2. Хронический (заболевания легких — хронические бронхит и эмфизема легких, первичная альвеолярная гиповентиляция).

Причины респираторного алкалоза (РАЛ):

1. Гипоксия:
 - Острая (пневмония, астма);
 - Хроническая (фиброз легких, легочное сердце, условия высокогорья, анемия).
2. Стимуляция дыхательного центра.
3. Избыточная искусственная вентиляция легких.

Характеристика нарушений кислотно-основного равновесия (по Marks V. et al., 2002)

Тип нарушения	pCO ₂	pH	SB	Компенсация
МАЦ – первичное снижение HCO ₃ ⁻				
а) некомпенсированный	=	<	<	
б) компенсированный	<	=	<	Гипервентиляция
МАЛ – первичное повышение HCO ₃ ⁻				
а) некомпенсированный	=	>	>	
б) компенсированный	>	=	>	Гиповентиляция
РАЦ – первичное повышение pCO ₂				
а) некомпенсированный	=	<	=	
б) компенсированный	>	=		Кислая моча
РАЛ – первичное снижение pCO ₂				
а) некомпенсированный	=	>	=	
б) компенсированный	<	=		Щелочная моча

Границы жизни при pH 6,8-8,0: при pH = 6,8 наступает изоэлектрическая точка для γ-глобулинов, которые при этом теряют заряд, и идет коа-

гуляция, ведущая к образованию тромбов в сосудах (последствия: инсульт, инфаркт).

Работа 4. Определение буферной емкости сыворотки крови.

Ход работы

Берут две колбы, в одну из них наливают 2 мл сыворотки крови, разведенной в 10 раз водой, во вторую – 2 мл фосфатного буфера $pH = 7,4$, разведенного в 10 раз водой. Затем в обе колбы добавляют по 2 капли индикатора фенолфталеина. Содержимое колбы с фосфатным буфером титруют 0,1 н. NaOH до появления малиново-красного окрашивания ($pH = 9,0$). Содержимое колбы с сывороткой титруют 0,1 н. NaOH до достижения такой же окраски.

Расчет производят по формуле $V = A \times 10 \times n / (pH_1 - pH_0) \times 2$, где A – мл сильной щелочи, пошедшей на титрование; 10 – разведение сыворотки; n – молярная масса эквивалента щелочи; pH_0 – водородный показатель до начала титрования ($pH_0 = 7,4$); pH_1 – водородный показатель после окончания титрования ($pH_1 = 9,0$); 2 – объем взятой сыворотки.

Сравнить буферную емкость сыворотки крови с буферной емкостью фосфатного буфера и сделать вывод.

Контрольные вопросы по лабораторной работе

1. Основные правила ТБ и ОТ при работе в лаборатории.
2. Основные требования СИ.
3. Что называют «буферными системами»? Их биологическое значение. Примеры.
4. Какие буферные системы находятся в крови человека?
5. Какие показатели характеризуют КОС?
6. Что называют: а) метаболическим ацидозом? б) респираторным ацидозом? в) метаболическим алкалозом? г) респираторным алкалозом? Когда эти состояния могут возникнуть у спортсмена?
7. Принцип метода определения буферной емкости сыворотки крови.

Лабораторная работа № 2

Работа 1. Цветные реакции на белки и аминокислоты.

Диагностическое значение и принцип реакций. Цветные реакции дают возможность обнаружить присутствие белка в биологических жидкостях, растворах и установить аминокислотный состав различных природных белков. Эти реакции применяют как для качественного, так и для количественного определения белка и содержащихся в нем аминокислот.

Биуретовая реакция открывает пептидную связь в белке. Ее способны давать вещества, которые содержат не менее двух пептидных связей. При добавлении серно-кислой меди к сильнощелочному раствору белка

или полипептида образуются соединения меди с пептидной группировкой, окрашенные в красно-фиолетовый или сине-фиолетовый цвет в зависимости от длины полипептидной цепи. Раствор белка дает сине-фиолетовое окрашивание, а продукты неполного его гидролиза (пептоны) – розовое или красное окрашивание.

Нингидриновая реакция характерна для аминогрупп, находящихся в α -положении. Растворы белка, α -аминокислот и пептидов при нагревании с нингидрином дают синее или фиолетовое окрашивание. В этой реакции α -аминокислоты и пептиды окисляются нингидрином и подвергаются окислительному дезаминированию и декарбоксилированию с образованием аммиака, альдегида и CO_2 . Нингидрин восстанавливается и связывается со второй молекулой нингидрина посредством молекулы аммиака, образуя продукты конденсации, окрашенные в синий, фиолетовый, красный, а в случае пролина – в желтый цвет. Нингидриновая реакция используется для количественного определения α -аминокислот в аминокислотных анализах.

Ксантопротеиновая реакция открывает наличие в белках циклических аминокислот – триптофана, фенилаланина, тирозина, содержащих в своем составе бензольное ядро. Большинство белков при нагревании с концентрированной азотной кислотой дает желтое окрашивание, переходящее в оранжевое при подщелачивании. Реакция обусловлена нитрованием бензольного кольца этих аминокислот с образованием нитросоединений желтого цвета.

Реакция Миллона открывает в белке циклическую аминокислоту тирозин. При добавлении к раствору белка реактива Миллона, состоящего из смеси азотно-кислых и азотисто-кислых солей закиси и окиси ртути, растворенных в концентрированной азотной кислоте, образуется белый осадок (действие соли тяжелого металла), окрашивающийся при нагревании в красный цвет. Реактив Миллона дает окрашивание почти со всеми фенолами, и в случае белков реакция обусловлена присутствием в них фенольной группы тирозина. Белки, не содержащие тирозина, этой реакции не дают. Следует избегать прибавления избытка реактива Миллона, поскольку он содержит азотную кислоту, которая при взаимодействии с белком может дать желтое окрашивание (ксантопротеиновую реакцию), маскирующее реакцию Миллона.

Реакция Фоля указывает на присутствие в белке аминокислот цистина и цистеина, содержащих слабосвязанную серу. Метионин, хотя и является содержащей серу аминокислотой, этой реакции не дает, поскольку сера в нем связана прочно. Реакция состоит в том, что при кипячении белка с реактивом Фоля (плюмбит натрия в избытке NaOH) под действием щелочи от цистеина или цистина легко отщепляется сера в виде сернистого натрия, который с плюмбитом дает черный или бурый осадок сернистого свинца.

РЕАКТИВЫ, ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

1. Раствор едкого натра, 100 г/л. 2. Раствор серно-кислой меди, 10 г/л. 3. Раствор нингидрина, 1 г/л. 4. Азотная кислота концентрированная. 5. Реактив Миллона. 6. Раствор фенола, 1 г/л. 7. Реактив Фоля. 8. Раствор яичного белка для цветных реакций.

ХОД РАБОТЫ

Биуретовая реакция: К 5 каплям раствора белка прибавить 5 капель раствора едкого натра, 2 капли серно-кислой меди и перемешать. Содержимое пробирки приобретает сине-фиолетовый цвет.

Нингидриновая реакция: К 5 каплям раствора белка прибавить 5 капель раствора нингидрина и прокипятить 1-2 минуты. Появляются розово-фиолетовое или сине-фиолетовое окрашивания.

Ксантопротеиновая реакция: К 5 каплям раствора белка добавить 3 капли концентрированной азотной кислоты и осторожно кипятить. Вначале образуется осадок свернувшегося белка (под влиянием кислоты), который при нагревании окрашивается в желтый цвет. После охлаждения в пробирку налить по каплям раствор едкого натра до появления оранжевого окрашивания (вследствие образования натриевой соли динитротирозина).

Реакция Миллона: К 5 каплям раствора белка прилить 3 капли реактива Миллона. Появляется белый осадок белка. Содержимое пробирки осторожно нагреть. Осадок белка окрашивается в кирпично-красный цвет. К 10 каплям раствора фенола добавить 5 капель реактива Миллона и осторожно нагреть. Появляется розовое окрашивание.

Реакция Фоля: К 5 каплям раствора белка прибавить 5 капель реактива Фоля, прокипятить и дать постоять 1-2 минуты. При стоянии появляется бурый или черный осадок сернистого свинца.

Работа 2. Реакции осаждения белков.

Диагностическое значение и принцип реакций. Реакции осаждения белков в зависимости от применяемого осадителя могут быть обратимыми и необратимыми. В случае обратимых реакций белки не подвергаются глубоким изменениям, и получаемые осадки могут быть вновь растворены в первоначальном растворителе (обычно в воде). Белки при этом сохраняют свои начальные естественные свойства. При необратимых реакциях осажденные белки подвергаются глубоким изменениям. Получаемые осадки не могут быть вновь растворены в первоначальном растворителе (обычно в воде) т.е. наступает денатурация белков. Обратимые реакции осаждения белков можно получить путем так называемого высаливания при помощи нейтральных солей: NaCl, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 , спиртом (в случае непродолжительного действия его на белок при низкой температуре) и др. Значение реакций осаждения белков в том, что они дают возможность: 1) изу-

чить свойства белков;

2) освободить жидкость от присутствия белка, что бывает необходимо при некоторых исследованиях; 3) установить наличие белка (например, в моче) при различных патологических состояниях (заболеваниях почек – нефрите, сердечной декомпенсации и др.); 4) высаливанием с помощью различных концентраций нейтральных солей или спиртом выделить отдельные белковые фракции.

Почти все белки осаждаются при нагревании в нейтральной или слабокислой среде. Более полное и быстрое осаждение белков происходит при достижении изоэлектрической точки. Для большинства белков изоэлектрическая точка соответствует слабокислой среде (рН около 5,0). Протамины и гистоны имеют изоэлектрическую точку в щелочной среде (рН около 8,0). Кроме рН среды важную роль в осаждении белков при нагревании играет концентрация солей.

Реакция высаливания (осаждения белков с помощью высоких концентраций нейтральных солей) обусловлена дегидратацией макромолекул белка с одновременной нейтрализацией электрического заряда. Для высаливания различных белков требуется неодинаковая концентрация одних и тех же солей. Глобулины, имеющие большую молекулярную массу, легче высаливаются, чем альбумины. Глобулины осаждаются в полунасыщенном, а альбумины – в насыщенном растворе сернокислого аммония.

Осаждение белков солями тяжелых металлов, в отличие от высаливания, происходит при небольших концентрациях солей. Белки при взаимодействии с солями тяжелых металлов (свинца, меди, серебра, ртути и др.) адсорбируют их, образуя с ними солеобразные и комплексные соединения, растворимые в избытке этих солей (за исключением солей AgNO_3 , HgCl_2), но нерастворимые в воде. Соли тяжелых металлов вызывают необратимое осаждение белков, т.е. денатурацию. Растворение осадка в избытке солей называется адсорбционной пептизацией. Данное явление происходит вследствие возникновения одноименного положительного заряда на частицах белка.

Концентрированные минеральные кислоты вызывают денатурацию белка. Выпадение белка в виде осадка связано с денатурацией белковых частиц и образованием комплексных солей белка с кислотами. Ортофосфорная кислота осадка не дает. В избытке всех минеральных кислот, за исключением азотной, выпавший в осадок белок растворяется. В связи с этим реакция осаждения белков азотной кислотой особенно распространена при клинических исследованиях мочи (проба Геллера). Эта качественная реакция с концентрированной азотной кислотой лежит в основе количественного определения белка в моче по методу Робертса-Стольников-Брандберга.

Органические кислоты вызывают необратимое осаждение белков. Большое практическое применение получили кислоты трихлоруксусная и

сульфосалициловая. Сульфосалициловой кислотой широко пользуются в клинике при обнаружении малого количества белка в моче и других биологических жидкостях (чувствительность реакции – 1:50000). Сульфосалициловая кислота, помимо белков, осаждает также продукты их распада – высокомолекулярные пептоны и полипептиды. Трихлоруксусная кислота способна осаждать только белки и не осаждает продукты распада белков. В связи с этим трихлоруксусной кислотой осаждают, например, белки крови, когда хотят отделить их от высокомолекулярных пептидов.

В органических растворителях, таких, как спирт, ацетон и др., белки не растворяются и выпадают в осадок. В зависимости от природы белка для его осаждения требуются различные концентрации спирта. Спирт вызывает воду, вызывая дегидратацию мицелл белка и неустойчивость их в растворе. При осаждении спиртом раствор белка должен быть нейтральным или слабокислым, но не щелочным. Реакция проходит лучше в присутствии электролита хлористого натрия вследствие снятия заряда с частиц белка. Реакция осаждения белка спиртом или кратковременным действием спирта на холоду обратима. Если осадок быстро отделить от спирта, то белок сохранит нативное состояние и может быть вновь растворен в воде. При длительном воздействии спирта наступает необратимая денатурация белка.

Осаждение белков алкалоидными реактивами также относится к необратимым реакциям. К группе алкалоидных реактивов принадлежат танин, пикриновая кислота, железистосинеродистая кислота, растворы йодной ртути и фосфорно-молибденовой кислоты и др. Способность белков осаждаться теми реактивами, что и алкалоиды, объясняется наличием в белках, как и в алкалоидах, аналогичных азотистых гетероциклических группировок: пиррольных, индольных, имидазольных и др. Механизм осаждения белков алкалоидными реактивами связан с образованием нерастворимых солеобразных соединений с основными азотосодержащими группами белка. В этом соединении белок является катионом, а алкалоидный реактив – анионом. С этой целью рекомендуется слабое подкисление раствора белка уксусной кислотой, способствующей появлению положительного заряда на мицелле белка, которая в результате этого легко взаимодействует с отрицательно заряженными частицами осадителя. Белки – протамины и гистоны, несущие положительный заряд, хорошо осаждаются алкалоидными реактивами в нейтральной среде без подкисления.

РЕАКТИВЫ, ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

1. Раствор уксусной кислоты, 10 г/л.
2. Раствор едкого натра, 100 г/л.
3. Насыщенный раствор хлористого натрия.
4. Насыщенный раствор серно-кислого аммония.
5. Серно-кислый аммоний кристаллический, тонко измельченный порошок.
6. Раствор серно-кислой меди, 100 г/л.
7. Раствор уксусно-кислого свинца 50 г/л.
8. Азотная кислота концентриро-

ванная. 9. Серная кислота концентрированная. 10. Раствор сульфосалициловой кислоты, 200 г/л. 11. Раствор трихлоруксусной кислоты, 100 г/л. 12. Насыщенный раствор пикриновой кислоты. 13. Раствор уксусной кислоты, 10 г/л. 14. Раствор яичного белка для реакции осаждения (не высаливанием). 15. Раствор яичного белка для высаливания.

ХОД РАБОТЫ

Осаждение белков кипячением. В 5 пробирок налить по 5 капель раствора яичного белка. В первой пробирке нейтральный раствор белка нагреть до кипения. Жидкость мутнеет (возникает опалесценция), поскольку разрушаются водные оболочки вокруг молекул белка и происходит укрупнение его частиц. Мицеллы белка несут заряд и удерживаются во взвешенном состоянии. Во второй пробирке раствор белка нагреть до кипения и прибавить 1 каплю раствора уксусной кислоты до слабого подкисления. При стоянии выпадает хлопьевидный осадок белка. Частицы белка теряют заряд и приближаются к изоэлектрическому состоянию. В третью пробирку добавить 5 капель раствора уксусной кислоты для получения сильноокислой реакции среды. При кипячении жидкости осадка не образуется, поскольку белковые мицеллы перезаряжаются и несут положительный заряд, что повышает их устойчивость. В четвертую пробирку прилить 5 капель раствора уксусной кислоты и 2 капли насыщенного раствора хлористого натрия и нагреть. Выпадает хлопьевидный осадок белка, так как частицы белка теряют заряд вследствие взаимодействия белка с разноименно заряженными ионами хлористого натрия. В пятую пробирку добавить 2 капли раствора едкого натра, создавая щелочную среду. При кипячении жидкости осадка не образуется, поскольку в щелочной среде отрицательный заряд на частицах белка увеличивается.

Реакции осаждения белков при комнатной температуре нейтральными солями – высаливание. К 15 каплям раствора белка добавить 15 капель насыщенного раствора серно-кислого аммония и перемешать. Получается полунасыщенный раствор серно-кислого аммония, в котором выпадает осадок глобулинов. Через 5 минут отфильтровать содержимое пробирки. В фильтрате остается другой белок – альбумин. К фильтрату добавить тонко измельченный порошок серно-кислого аммония до полного насыщения, т.е. пока порция порошка остается нерастворимой. При этом выпадает осадок яичного альбумина. Альбумин отфильтровать. Проверить фильтрат на отсутствие белка с помощью биуретовой реакции.

Осаждение белков солями тяжелых металлов. К 5 каплям раствора яичного белка прибавить осторожно 1 каплю раствора серно-кислой меди. Образуется бледно-голубой осадок, нерастворимый в воде. К другой такой же порции раствора белка прилить вначале 1 каплю раствора серно-кислой меди, а затем еще 10 капель и наблюдать растворение осадка в избытке реактива. К 5 каплям раствора яичного белка прибавить 2 капли

раствора уксусно-кислого свинца, образуется осадок, нерастворимый в воде, но легко растворяющийся в избытке осадителя.

Осаждение белков концентрированными минеральными кислотами. К 5 каплям концентрированной азотной кислоты осторожно по стенке пробирки прилить 5 капель раствора белка так, чтобы обе жидкости не смешивались. На границе двух жидкостей образуется осадок в виде небольшого белого кольца (проба Геллера). Осторожно встряхнуть пробирку и добавить избыток азотной кислоты: осадок не исчезает, так как в избытке азотной кислоты он не растворяется. Осаждение серной кислотой проводится аналогично реакции с азотной кислотой. К 5 каплям концентрированной серной кислоты осторожно по стенке пробирки налить 5 капель раствора белка. Образуется осадок, растворимый в избытке серной кислоты (при встряхивании).

Осаждение белков органическими кислотами. К 5 каплям раствора белка добавить 2 капли раствора сульфосалициловой кислоты. Выпадает осадок белка. К 5 каплям раствора белка добавить 2 капли раствора трихлоруксусной кислоты. Выпадает осадок белка.

Осаждение белков органическими растворителями. К 5 каплям раствора белка прилить 15-20 капель этилового спирта. Раствор мутнеет. Добавить 1 каплю насыщенного раствора хлористого натрия. При стоянии выпадает осадок белка. Осаждение белков алкалоидными реактивами: к 5 каплям раствора белка прибавить 2 капли насыщенного раствора пикриновой кислоты и 2 капли раствора уксусной кислоты. Выпадает осадок белка.

УКАЗАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

Протокол лабораторной работы оформите в виде таблиц.

1. Цветные реакции на белки и аминокислоты

Название реакции	Принцип	Ход Реакции	Наблюдаемый результат	Что открывает
------------------	---------	-------------	-----------------------	---------------

2. Реакции осаждения

а) Осаждение белков кипячением.

№ пробирки	Ход реакции	Наблюдаемый результат	Принцип осаждения
------------	-------------	-----------------------	-------------------

б) Осаждение белков различными веществами

Название реакции	Принцип	Ход реакции	Наблюдаемый Результат
------------------	---------	-------------	-----------------------

Сделайте выводы:

- 1) о специфичности цветных реакций на белки и аминокислоты;
- 2) о механизме осаждения белка при нагревании;

- 3) о влиянии концентрации водородных ионов и ионов солей на устойчивость в растворе молекул денатурированного при нагревании белка;
- 4) о возможности применения реакций осаждения в лабораторной практике.

Контрольные вопросы по лабораторной работе

1. Объясните принципы цветных реакций на белки и аминокислоты: биуретовой, нингидриновой, ксантопротеиновой, на тирозин, на серусодержащие аминокислоты.
2. Чем обусловлены реакции осаждения белков?
3. Какими реактивами вызывается обратимое осаждение белков?
4. Какими реактивами вызывается необратимое осаждение белков?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3

Для исследования активности амилазы слюны и ее свойств используют собственную слюну, разведенную в 10 раз. Для этого в мерную пробирку собирают 1 мл слюны (предварительно полость рта с поласкивается водой) и доводят водой до метки 10 мл.

Работа 1. Определение термолабильности амилазы слюны.

№ пробирок	1	2	3
Реактивы, исследуемый материал			
Слюна 1:10, кап.	10	–	–
Кипяченая слюна, кап. (кипятить 2 мл разведенной слюны 5-8 мин, охладить)	–	10	–
H ₂ O, кап.	–	–	10
Крахмал 1%, кап.	10	10	10
Термостат 38°C – 10 минут			
Реакция с йодом (5 кап. раствора из пробирки + 1 кап. I ₂ в KI), окраска			
Реакция Троммера (5 кап. раствора из пробирки+5 кап. 10% NaOH+3 кап. 1% CuSO ₄ , кипятить 1 мин.), окраска			
Вывод:			

Работа 2. Определение оптимума pH для действия амилазы.

№ пробирок	1	2	3	4	5	6
Реактивы, исследуемый материал						
pH	6,0	6,4	6,8	7,2	7,6	8,0
Буферный раствор, мл	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

Крахмал 0,5%, мл	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Слюна, 1:10, мл	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Термостат 38°C – 10 минут						
Раствор I ₂ в KI, кап	1	1	1	1	1	1
Окраска:						
Вывод:						

Работа 3. Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы.

№ пробирок	1	2	3
Реактивы, исследуемый материал			
Слюна 1:10, мл	1,0	1,0	1,0
H ₂ O, кап.	2	–	–
NaCl, 1%, кап.	–	2	–
CuSO ₄ , 1%, кап.	–	–	2
Крахмал, 1%, кап.	5	5	5
Экспозиция – 5 минут			
Раствор I ₂ в KI, кап.	1	1	1
Результат, окраска:			
Вывод:			

Специфичность ферментов

Работа 4. Специфичность действия амилазы. Приготовить разведение слюны в 5 раз (1 мл слюны + 4 мл воды)

№ пробирок	1	2
Реактивы, исследуемый материал		
Слюна 1:5, кап.	5	5
Крахмал 1%, кап.	10	–
Сахароза 1%, кап.	–	10
Термостат 37°C – 10 минут		
Реакция Фелинга (по 5 кап. раствора из каждой пробирки+3 кап. реактива Фелинга, кипятить 1 мин.), окраска		
Вывод:		

Работа 5. Специфичность действия сахаразы.

№ пробирок	1	2
Реактивы, исследуемый материал		
Фильтрат дрожжей (сахароза), кап.	5	5
Крахмал 1%, кап.	10	–

Сахароза 1%, кап.	—	10
Термостат 37°C – 10 минут		
Реакция Фелинга (5 кап. раствора из каждой пробирки + 3 кап. реактива Фелинга, кипятить 1 мин.), окраска		
Вывод:		

Работа 6. Исследование свойств тирозиназы из картофеля.

Тирозиназа – фермент, окисляющий аминокислоту тирозин в темный пигмент за счет кислорода. Этот фермент может окислить и гваяковую смолу. При окислении гваяковой смолы образуется озонид синего цвета.

РЕАКТИВЫ, ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

1. Гваяковая смола. 2. Срезы сырого картофеля. 3. Срезы вареного картофеля.

	Срез сырого картофеля	Срез вареного картофеля
Гваяковая настойка, кап.	1	1
Результат:		
Вывод:		

Работа 7. Ингибирующее действие хлорид-ионов на дегидрогеназный комплекс картофеля. Хлорид-ионы ингибируют дегидрогеназный комплекс и срез картофеля остается без изменений, остальные темнеют.

РЕАКТИВЫ, ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

1. NaCl, крист. 2. NaI, крист. 3. KClO₃, крист. 4. Сырой картофель.

Срезы картофеля	Посыпать порошком	Результат, окраска (через 15-20 мин):	Вывод:
1	—		
2	NaCl		
3	NaI		
4	KClO ₃		

УКАЗАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

Ход работы оформите в виде таблиц, сделайте выводы о свойствах амилазы слюны (субстратная специфичность, термолабильность, оптимум pH, активаторы и ингибиторы) и тирозиназы картофеля.

Контрольные вопросы по лабораторной работе

1. При каких оптимальных условиях следует определять активность ферментов?
2. Как можно оценить специфичность ферментов?
3. Как можно выявить действие активаторов и ингибиторов ферментов?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №4

Работа 1. Определение глюкозы в крови унифицированным ортотолуидиновым методом (УИРС) – реагенты НТК «Анализ Х».

Диагностическое значение и принцип метода. Основным компонентом сахара в крови является глюкоза, концентрация которой в норме колеблется от 3,33 до 5,55 ммоль/л. Другие сахара (фруктоза, галактоза, пентозы) присутствуют в крови в незначительных количествах.

Увеличение концентрации глюкозы в крови – гипергликемия – наблюдается обычно при следующих состояниях: 1) сахарном диабете, острым панкреатите, панкреатических циррозах (эти заболевания дают гипергликемию, связанную с недостатком в организме инсулина); 2) токсическом, травматическом, механическом раздражении центральной нервной системы. Травма, опухоль мозга, а также эпилепсия, менингит, отравление окисью углерода, синильной кислотой, эфиром, ртутью сопровождаются так называемой центральной (нервной) гипергликемией; 3) повышение гормональной деятельности щитовидной железы, коры и мозгового вещества надпочечников, гипофиза. 4) после обильного приема с пищей углеводов – алиментарная гипергликемия. 5) сильном эмоциональном и психическом возбуждении.

Уменьшение уровня глюкозы в крови – гипогликемия – встречается при: 1) передозировке инсулина (во время лечения сахарного диабета); 2) заболевании почек, когда нарушается процесс реабсорбции в канальцах; 3) плохом всасывании углеводов вследствие заболевания тонкого кишечника; 4) сниженной гормональной деятельности перечисленных выше желез внутренней секреции; 5) после большой потери крови; 6) гиперфункции островков Лангерганса поджелудочной железы (опухоли, гипертрофии); 7) от недоедания и голода – алиментарная гипогликемия.

Принцип ортотолуидинового метода определения глюкозы в крови состоит в том, что глюкоза при нагревании с ортотолуидиновым реактивом в растворе уксусной кислоты дает зеленое окрашивание, интенсивность которого пропорциональна концентрации сахара в крови.

РЕАКТИВЫ, ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

1. Ортотолуидиновый реактив. 2. Раствор трихлоруксусной кислоты, 30 г/л. 3. Основной стандартный раствор глюкозы, 5,55 и 16,67 ммоль/л. 4. Кровь (сыворотка, моча, спинномозговая жидкость).

ХОД РАБОТЫ

Реактивы	Опыт	Стандарт
Кровь, мл	0,1 (в центрифужную пробирку)	–
ТХУ, мл	0,9	0,9

Стандартный раствор глюкозы, мл	—	0,1
	Центрифугировать 10 мин	—
Перенести в химические пробирки, мл	0,5 центрифугата	0,5
Ортотолуидиновый реактив, мл	4,5	4,5
Кипящая баня, 8 мин (!) Охладить		
Колориметрировать на КФК, λ 595: кювета 5 мм против смеси 4,5 мл о-толуидинового реактива и 0,5 мл ТХУ		

Расчет провести по формуле: $C_{оп} = A_{оп} \cdot (C_{ст}/A_{ст})$, где $C_{оп}$ – концентрация глюкозы в опытной пробе (ммоль/л), $C_{ст}$ – концентрация глюкозы в стандартной пробе, близкая к определяемой (5,55 или 16,67 ммоль/л); $A_{оп}$ – оптическая плотность опытной пробы; $A_{ст}$ – оптическая плотность раствора стандарта.

Работа 2. Изучение углеводного обмена методом нагрузок (УИРС).

Диагностическое значение и принцип метода. Метод сахарных нагрузок (тесты толерантности к глюкозе – ТТГ) используется для углубленного исследования углеводного обмена в случаях, когда результаты анализов мочи и крови при однократном определении оказываются нормальными. Проба с сахарной нагрузкой (однократная) заключается в следующем: утром натощак у больного берут кровь из пальца для определения содержания сахара, после чего дают выпить заранее приготовленный раствор 100 или 50 г глюкозы (из расчета 1 г глюкозы на 1 кг массы тела) в 200 мл теплой кипяченой воды. Время, в течение которого обследуемый пьет раствор, не должно превышать 5 мин. Затем повторно исследуют содержание глюкозы в крови через каждые 30 мин в течение 2,5 часа. На основании полученных данных строят кривую, откладывая на вертикальной оси значение концентрации глюкозы, а на горизонтальной – время в мин. Анализируя гликемические кривые, можно отметить, что у здорового человека уже через 15 мин после приема глюкозы наблюдается увеличение концентрации сахара в крови, которое достигает максимума к первому часу (в промежутке между 30-й и 60-й мин). После этого начинается уменьшение содержания сахара, которое ко второму часу наблюдения (120-я мин) или снижается до исходной цифры (до уровня глюкозы натощак), или не достигает его (остается повышенным), или же падает ниже исходной величины. К 3-му часу во всех трех описанных вариантах уровень сахара в крови приходит к исходному уровню.

Первый подъем уровня сахара после введения углеводов отражает силу рефлекторного раздражения симпатических нервов, возникающего при попадании глюкозы в пищеварительный канал. Дальнейшее увеличение концентрации сахара, как правило, связано с быстротой всасывания углеводов, определяемой состоянием кишечной стенки, функцией печени. У здорового человека величина содержания сахара в крови через час после приема нагрузки на 50-75% превышает уровень сахара в крови натощак. Нисходящая часть гликемической кривой отражает продукцию инсулина и зависит от состояния парасимпатической нервной системы обследуемого, функции поджелудочной железы, печени и других органов. Этот отрезок гликемической кривой носит название гипо-гликемической фазы. Последняя точка на гликемической кривой, определяемая через 2,5-3 часа, обусловлена состоянием равновесия всех систем организма, участвующих в регуляции содержания сахара в крови. В норме она должна совпадать с уровнем сахара в крови у обследуемого натощак. У больных сахарным диабетом содержание глюкозы в крови натощак бывает повышенным, нарастание гликемической кривой происходит медленнее, достигая через 60-150 мин значительной величины (более чем в 1,8 раза превышающая исходное значение). Гипогликемическая фаза спада за время проведения пробы обычно не выявляется (отсутствует). Повреждение печени характеризуется быстрым увеличением концентрации глюкозы (нарастание гликемической кривой) в результате ослабления ассимиляционной способности печени. Однако максимальный подъем линии на графике не достигает такого уровня, как при диабете. Заболеваниям щитовидной железы, связанным с ее гиперфункцией, свойственны гликемические кривые с более быстрым, чем в норме, подъемом.

У больных с аденомой Лангергансовых островков, гипотиреозом, болезнью Аддисона график характеризуется низким исходным уровнем кривой, низкой ее вершиной.

В ходе проведения пробы с сахарной нагрузкой обследуемый не должен принимать пищи.

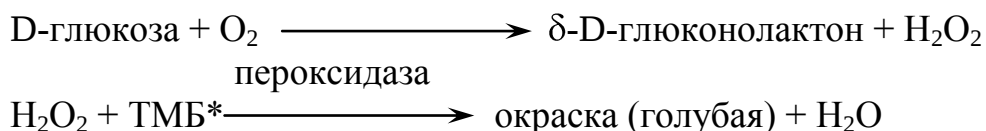
ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Пробы крови, взятые у обследуемого больного натощак и через 30, 60, 90, 120, 150 мин.

Реактивы и ход определения концентрации глюкозы в крови (см. работу №4). По данным концентрации глюкозы в крови построить гликемическую кривую и сделать заключение о характере кривой и предполагаемом диагнозе.

Работа 3. Определение количества глюкозы в крови с помощью метода «сухой химии». Используются тест-полоски на глюкозу.

Принцип: глюкозооксидаза



*- ТМБ – 3,3',5,5'-тетраметилбензидин

Голубая окраска оценивается визуально или с помощью анализаторов сухой химии (персональных типа «Рефлोलюкс» или лабораторных типа «Рефлотрон»).

УКАЗАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

В протоколе отметьте цель занятия, принцип метода, порядок работы. В тетради зарисуйте сахарные кривые здорового человека, больного сахарным диабетом. Сделайте вывод о содержании глюкозы в крови, определенной методом сухой химии. В таблицу показателей норм основных клинико-биохимических исследований выпишите значения концентрации глюкозы в крови, моче. Повторите показатели активности α -амилазы в крови, моче.

Контрольные вопросы по лабораторной работе

1. Объясните принципы методов определения глюкозы в крови.
2. Для чего используются тесты толерантности к глюкозе?

Объясните принцип теста с однократной нагрузкой глюкозой и его диагностическое значение.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №5

Работа 1. Определение кальция фотометрическим методом с глиоксаль-бис (2-гидроксианилом) с помощью наборов НТК «Анализ Х» (УИРС).

Принцип метода. Глиоксаль-бис (2-гидроксианил) (ГБОА) образует с кальцием в щелочной среде окрашенное соединение, которое фотометрируют.

Состав набора

1. ГБОА, 100 мг. 2. Боратный буфер, рН 12,6 – 200 мл. 3. Растворитель-этанол – 200 мл. 4. Стандарт кальция 25 ммоль/л – 6 мл. 5. Приготовление раствора ГБОА – 100 мг ГБОА растворить в 200 мл этанола. Хранить несколько недель в холодильнике в темной склянке. 6. Приготовление стандарта – в мерную колбу на 50 мл внести пипеткой 5 мл реагента 4 и довести до метки дистиллированной водой.

Ход работы

В три пробирки налить реактивы согласно таблице:

Реагент, мл	Образец	Стандарт	Холостая проба
Вода	–	–	0,01

Сыворотка	0,01	—	—
Стандарт	—	0,01	—
Боратный буфер	1,0	1,0	1,0

Перемешать и дать отстояться 5-10 мин. Добавить в каждую пробирку по 1 мл ГБОА и сразу же перемешать. В интервале 8-18 мин после перемешивания измерить оптическую плотность образца A_1 и стандарта A_2 относительно холостой пробы. Раствор холостой пробы пригоден для сравнения только в интервале 8-18 мин после его приготовления. Измерения ведут при $\lambda=540$ нм в кювете, толщиной 5 мм (КФК).

Расчет ведут по формуле C_a (ммоль/л = $2,5A_1/A_2$).

Работа 2. Титрометрическое определение хлоридов с помощью набора НТК «Анализ Х» (УИРС).

Принцип метода. В основу метода положена способность хлорид-ионов в кислой среде образовывать с ионами ртути растворимую слабодиссоциируемую соль. При достижении точки эквивалентности избыток ионов ртути образует с дифенилкарбазоном комплекс фиолетового цвета.

Состав набора

1. Реактив – раствор 120 ммоль/л по нитрату ртути (II) и 800 ммоль/л по азотной кислоте – 100 мл. 2. Стандарт – раствор хлоридов 100 ммоль/л. 3. Индикатор – дифенилкарбазон – 100 мл. Приготовление растворов. 4. Раствор реактива перенести в мерную колбу емкостью 2 л и довести объем раствора до метки дистиллированной водой. 5. Навеску индикатора (реактив 3) 50 мг растворить в 50 мл 96% этилового спирта и перемешать до полного растворения. Раствор хранится месяц в холодильнике в склянке из темного стекла. Раствор должен иметь оранжево-желтую окраску.

Ход работы

1. В широкую пробирку вносят 1,9 мл воды и 0,1 мл стандарта, добавляют 2 капли (0,1 мл) индикатора. При постоянном перемешивании титруют раствором реактива до появления фиолетового окрашивания. 2. В широкую пробирку вносят 1,9 мл воды и 0,1 мл исследуемой биологической жидкости, добавляют 2 капли (0,1 мл) индикатора и титруют раствором реактива.

Концентрация хлоридов $X(\text{ммоль/л}) = C_{\text{ст}}/V_{\text{ст}} \cdot V_x$, где $C_{\text{ст}}$ – концентрация хлоридов в исследуемом растворе; $V_{\text{ст}}$ – объем реактива, который уходит на титрование стандарта. Примечание: если биологическая жидкость имеет щелочную среду, ее необходимо подкислить разбавленной азотной кислотой ниже $\text{pH}=8,0$. Нормальные величины по этому методу: сыворотка крови – 95-110 ммоль/л, спинно-мозговая жидкость – 120-130 ммоль/л, моча – 170-210 ммоль/л.

Работа 3. Полуколичественное определение компонентов мочи с помощью тест-полосок Комбур-9 RL фирмы «Роше-диагностика».

Принцип метода. Диагностическая полоска позволяет определить в моче наличие лейкоцитов, нитритов, рН, белка, глюкозы, кетоновых тел, уробилиногена, билирубина, наличие крови, гемоглобина. Диагностические полоски для определения одного или нескольких компонентов в моче представлены также НТК «Анализ Х» и фирмой «Лахема».

Ход работы

Опустить полоску в образец мочи на 1-2 мин, извлечь из мочи, подсушить края фильтровальной бумагой и приложить к стандартной шкале полуколичественных изменений на упаковке. Сравнить окраски и сделать вывод о наличии патологических примесей в моче.

Работа 4. Качественное обнаружение молочной кислоты в экстрактах из скелетных мышц.

Молочную кислоту обнаруживают по появлению зелено-желтой окраски с раствором фенола, содержащим хлорное железо (реакция Уффельмана).

Принцип метода. При смешивании хлорного железа с фенолом появляется фиолетовое окрашивание благодаря образованию комплекса фенолята железа. В присутствии молочной кислоты образуется соль железа и окраска становится зелено-желтой.

Реактив: к 15 мл раствора фенола добавляют несколько капель хлорного железа и взбалтывают, жидкость окрашивается в фиолетовый цвет.

Ход работы

В первую пробирку вносят 2 мл реактива и по каплям добавляют экстракт из мышечной ткани. Во вторую пробирку – 2 мл реактива и раствор молочной кислоты. В обеих пробирках развивается зелено-желтое окрашивание.

Работа 5. Определение молочной кислоты энзиматическим методом.

Принцип метода. Метод основан на ферментативном окислении молочной кислоты в пировиноградную лактатдегидрогеназой (КФ 1.1.1.27) при одновременном восстановлении NAD^+ в NADH . Равновесие реакции смещено в сторону образования молочной кислоты. Однако, если образующуюся пировиноградную кислоту связывать гидразином или семикарбазидом в виде гидразонов или семикарбазонов и реакцию проводить в щелочном буфере, молочную кислоту можно полностью перевести в пировиноградную. О количестве молочной кислоты судят по количеству образовавшегося NADH , измеряя оптическую плотность при 340 нм.

Реактивы

1. Глицин-гидразиновый буфер, рН 9,0 (глицин – 0,1 М раствор, содержащий 0,1 М гидразин). Растворяют навески глицина и гидразина в небольшом количестве дистиллированной воды, доводят рН смеси 2 н. рас-

твором NaOH до 9,0 (контроль на pH-метре) и доливают дистиллированной водой до 100 мл. Гидразин можно заменить на 0,1 М семикарбазид.

2. NAD^+ - 3×10^{-2} М раствор, pH 6,0.

3. Калий-фосфатный буфер – 0,1 М раствор, pH 7,4.

4. Лактатдегидрогеназа – 2 мг/мл (или экстракт мышц в разведении 1:25 как источник фермента).

5. HClO_4 – 0,5 н. раствор.

6. NaOH – 2 н. раствор.

7. HCl – 2 н. раствор.

8. KOH – 5 н. раствор.

9. Раствор молочнокислого лития или молочнокислого кальция

Заполнение проб для определения молочной кислоты

Состав пробы	Объем, мл	
	Контрольная	Опытная
Глицин-гидразиновый буфер	2,6	2,6
Раствор NAD^+	0,2	0,2
Раствор фермента или экстракт	0,1	0,1
Вода	0,1	-
Исследуемый раствор	-	0,1

Содержимое пробирок тщательно перемешивают и ставят в термостат при 25°C на 60 мин. После инкубации пробы охлаждают и измеряют оптическую плотность пробы при 340 нм.

Количество молочной кислоты (в микромолях) рассчитывают по формуле: $x = \Delta A_{340} \times V / 6,22$, где ΔA_{340} – изменение оптической плотности реакционной смеси; V – объем пробы (мл), в которой протекает реакция.

Коэффициент молярного поглощения NADH (NADPH) при 340 нм равен $6,22 \times 10^3 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$. Это значит, что при восстановлении 1 мкмоль кофермента при 340 нм в кювете с расстоянием между рабочими гранями 1 см в 1 мл реакционной смеси оптическая плотность меняется на 6,22 ед. При 366 нм коэффициент молярного поглощения NADH уменьшается до $3,3 \times 10^3 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$.

При исследовании биологического материала берут навеску или объем ткани, добавляют 5-кратный объем холодного 0,5 М раствора HClO_4 , экстрагируют на холоде 30 мин. Белки удаляют центрифугированием. Центрифугат нейтрализуют 5 ню раствором KOH. Осадок перхлората калия KClO_4 удаляют центрифугированием. В полученном экстракте определяют молочную кислоту.

Контрольные вопросы по лабораторной работе

1. Объясните принцип определения кальция в сыворотке крови.
2. Объясните принцип определения хлоридов в биологических жидкостях.
3. Каковы нормальные величины содержания кальция и хлора в биологических жидкостях?
4. Какое значение имеет определение компонентов мочи с помощью средств сухой химии?

5. Опишите методы качественного и количественного определения молочной кислоты.

ПРОГРАММНЫЕ ВОПРОСЫ ПО БИОХИМИИ

Введение

1. Предмет и задачи биологической химии. Важнейшие признаки живой материи. Проявления диалектических законов в организации и функциях живой материи.
2. Объекты биохимического исследования. Основные разделы и направления в биохимии. место биохимии среди других биологических дисциплин. Биохимия и медицина.

Строение и функции белков

3. Белки – важнейшие компоненты организма: функции, классификация. Форма и размеры белковых молекул, молекулярная масса, физико-химические свойства.
4. Первичная структура белков, ее роль. Наследственные и приобретенные протеинопатии. Полиморфизм белков.
5. Конформация белковых молекул (вторичная и третичная структуры). Типы внутримолекулярных связей в белках. Нативная структура и денатурация белков. Структура белков и функция.
6. Четвертичная структура белков. Кооперативные изменения конформации протомеров (гемоглобин в сравнении с миоглобином). Способность белков к специфическим взаимодействиям. Самосборка многомолекулярных белковых структур.

Ферменты

7. История открытия и изучения ферментов. Особенности биокатализаторов. Специфичность действия ферментов. Особенности выделения ферментов. Классификация и номенклатура ферментов.
8. Структурная и функциональная организация ферментов. Активный и аллостерический центры. Изоферменты. Механизм и стадии ферментативного катализа. Единицы измерения активности ферментов.
9. Зависимость скорости ферментативных реакций от концентрации субстрата, фермента, температуры и pH.
10. Активаторы и ингибиторы ферментов. Применение ингибиторов в качестве лекарств. Антиметаболиты. Энзимодиагностика, энзимотерапия, наследственные энзимопатии.

Нуклеиновые кислоты. Биосинтез белков

11. Представление о биосинтезе и распаде пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Нарушения обмена нуклеотидов (подагра, ксантинурия, оротацидурия).
12. Нуклеопротеиды. ДНК, структурная организация, размеры молекул, способы укладки в хроматине и хромосомах. Репликация ДНК: меха-

- низм и биологическое значение. Репликация и фазы клеточного цикла. Повреждения ДНК. Репарация повреждений и ошибок репликации ДНК.
13. Первичная и вторичная структуры РНК. Типы РНК, строение, локализация в клетке, функции. Биосинтез РНК (транскрипция). Строение рибосом и полирибосом. Синтез аминоксил-т-РНК. Субстратная специфичность аминоксил-т-РНК-синтетаз.
 14. Биосинтез белков. Биологический код. Основные компоненты белок-синтезирующей системы. Функционирование рибосом и последовательность реакций при синтезе полипептидной цепи. Адапторная функция т-РНК, роль иРНК.
 15. Регуляция действия генов. Индукция и репрессия синтеза белков в организме человека. Роль гормонов в регуляции действия генов. Лекарственные препараты – ингибиторы матричных синтезов у прокариот и эукариот.

Мембраны

16. Общая характеристика и функции мембран, компоненты мембран.
17. Модели строения мембран, трансмембранный транспорт.

Энергетический обмен

18. Метаболизм и его функции, регуляция метаболизма в клетке. Введение в биохимию пищеварения, характеристика пищи, ферментов пищеварения. Регуляция пищеварения гормоноподобными веществами.
19. Катаболизм и анаболизм, их взаимосвязь. Эндергонические и экзергонические реакции в метаболизме. АТФ и другие высокоэнергетические соединения. Цикл АДФ-АТФ. Виды фосфорилирования АДФ и пути использования АТФ.
20. Биологическое окисление и пути использования кислорода. Строение митохондрий и структурная организация цепи переноса электронов. Типы окисляемых субстратов. НАД-зависимые дегидрогеназы. ФАД-зависимые дегидрогеназы: сукцинатдегидрогеназа и ацил-КоА-дегидрогеназа.
21. Внутренняя мембрана митохондрий и дыхательная цепь: НАДН-дегидрогеназа, убихинон, цитохромы, их структура и механизм переноса протонов и электронов на кислород.
22. Окислительное фосфорилирование, коэффициент Р/О. Гипотезы механизма окислительного фосфорилирования.
23. Сопряжение окисления с фосфорилированием в дыхательной цепи. Н⁺-АТФ-синтетаза. Дыхательный контроль. Разобщение дыхания и фосфорилирования. Гипоэнергетические состояния.
24. Окислительные системы, не связанные с аккумуляцией энергии. Микросомальное окисление. Свободнорадикальное окисление. Роль в патологии клеток.

25. Общие и специфические пути катаболизма. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты: строение пируватдегидрогеназного комплекса и последовательность реакций.

26. Цикл трикарбоновых кислот: последовательность реакций и характеристика ферментов, регуляция. Биологическая роль ЦТК.

Обмен и функции углеводов

27. Основные углеводы тканей человека, биологическая роль. Переваривание углеводов, характеристика ферментов. Схема источников и путей расходования глюкозы в организме. Ключевая роль глюкозо-6-фосфата.

28. Биосинтез и мобилизация гликогена: последовательность реакций, физиологическое значение. Регуляция активности фосфорилазы и синтазы гликогена. Гликогенозы и агликогенозы.

29. Аэробный распад глюкозы: химизм, физиологическое значение. Челочные механизмы переноса восстановительных эквивалентов.

30. Анаэробный распад глюкозы: химизм, физиологическое значение. Центральная окислительно-восстановительная реакция гликолиза. Спиртовое брожение. Метаболизм этанола в организме.

31. Биосинтез глюкозы (глюконеогенез), физиологическое значение. Глюкозо-лактатный (цикл Кори) и глюкозо-аланиновый циклы.

32. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы: химизм, биологическая роль.

Обмен и функции липидов

33. Пищевые жиры: переваривание, всасывание продуктов расщепления. Роль желчных кислот. Транспорт липидов в организме.

34. Важнейшие липиды тканей человека. Функции липидов. Депонирование и мобилизация жиров в жировой ткани. Регуляция. Транспорт и использование жирных кислот. Химизм окисления глицерина.

35. Активация и окисление высших жирных кислот : химизм, энергетика, физиологическая роль. Биосинтез и использование кетонных тел.

36. Биосинтез жирных кислот: синтез и роль малонил-КоА, характеристика пальмитатсинтазного комплекса, регуляция. Пути образования жирных кислот с более длинной углеродной цепью и ненасыщенных жирных кислот.

37. Транспортные липопротеины крови: характеристика, синтез, физиологическая роль. Липопротеинлипаза. Типы гиперлипидемий. Биохимия атеросклероза.

38. Биосинтез триацилглицеринов, глицерофосфолипидов.

39. Обмен и функции холестерина, прямой и обратный транспорт. Биосинтез холестерина: химизм, регуляция.

40. Основные патологические процессы, связанные с нарушениями превращений ацетил-КоА (голодание, ожирение, атеросклероз).

Обмен и функции аминокислот

41. Переваривание белков. Всасывание аминокислот. Динамическое состояние белков в организме. Азотистый баланс. Биологическая ценность пищевых белков и нормы белков в питании. Регуляция пищеварения гормоноподобными веществами.
42. Трансаминирование аминокислот: химизм, значение, характеристика трансаминаз. Непрямое дезаминирование аминокислот.
43. Окислительное дезаминирование аминокислот: химизм, характеристика ферментов. Восстановительное аминирование альфа-кетоглутарата, значение.
44. Декарбоксилирование аминокислот. Образование биогенных аминов, их роль в регуляции метаболизма и функций, обезвреживание. Ингибиторы аминooksидаз как лекарственные препараты.
45. Общее обезвреживание аммиака: синтез мочевины и аммонийных солей, значение процессов.
46. Трансметилирование. Метионин и S-аденозилметионин (участие в синтезе креатина, адреналина, фосфатидилхолина, метилировании чужеродных соединений). Участие тетрагидрофолиевой кислоты в метилировании.

Регуляция обмена веществ. Гормоны

47. Иерархия регуляторных систем. Место гормонов в системе регуляции метаболизма и функций органов. Классификация гормонов по химическому строению и механизму действия. Основные механизмы регуляции метаболизма.
48. Центральная регуляция эндокринной системы: гормоны гипоталамуса и тропные гормоны гипофиза.
49. Инсулин: строение, синтез, биологическое действие. Характеристика нарушений обмена веществ при сахарном диабете. Биохимические механизмы развития осложнений сахарного диабета.
50. Источники и пути расходования глюкозы крови. Регуляция содержания глюкозы в крови инсулином, глюкагоном, адреналином и глюкокортикоидами.
51. Адреналин и норадреналин: строение, синтез, влияние на обмен веществ.
52. Регуляция водно-солевого обмена. Строение, механизм действия вазопрессина и альдостерона. Ренин-ангиотензиновая система. Биохимические механизмы развития почечной гипертензии.
53. Обмен кальция и фосфатов: роль паратгормона, кальцитонина, витамина D.
54. Йодтиронины: строение, синтез, метаболизм, влияние на обмен веществ. Гипо- и гипертиреозы. Особенности функции щитовидной железы в связи с аварией на ЧАЭС.

55. Гормоны коры надпочечников – глюко- и минералокортикостероиды. Строение, влияние на обмен веществ. Проявление гипер- и гипofункции.
56. Мужские половые гормоны: строение, влияние на обмен веществ. Анаболические препараты стероидной структуры. Женские половые гормоны: строение, роль в половом цикле, влияние на обмен веществ.
57. Простагландины и их роль в регуляции метаболизма и физиологических функций. Кининовая система и ее функции. Использование гормонов в клинической практике.

Витамины

58. Витамины, общая характеристика, классификация, функции. Патологические состояния, возникающие при нарушениях обмена витаминов. Особенности жирорастворимых витаминов.
59. Витамины группы А: строение, биологическая роль, распространение, суточная потребность. Гипо-, а- и гипервитаминозы.
60. Витамины группы К: строение, биологическая роль, распространение в природе, суточная потребность, проявления недостаточности. Водорастворимый препарат витамина К.
61. Витамин Е: строение, биологическая роль, распространение в природе, суточная потребность. Проявление недостаточности.
62. Витамины группы D. Строение, биологическая роль, распространение в природе, суточная потребность. Гипо-, а- и гипервитаминозы.
63. Витамины С и Р, строение, биологическая роль, распространение в природе, суточная потребность. Гипо- и авитаминозы.
64. Витамин В₁: строение, биологическая роль, распространение в природе, суточная потребность. Авитаминоз.
65. Витамины В₂ и РР: строение (коферментные формы), биологическая роль, распространение в природе, суточная потребность.
66. Биотин. Пантотеновая кислота. Строение, биологическая роль (примеры реакций карбоксилирования), распространение в природе.
67. Фолиевая кислота. Строение, коферментные формы, биологическая роль, распространение в природе. Суточная потребность. Сульфаниламидные препараты как антиметаболиты.
68. Витамин В₁₂. Строение, биологическая роль, распространение в природе, суточная потребность. Пернициозная анемия.

Биохимия органов и тканей

69. Характеристика минерального обмена: кальций, фосфаты, медь, цинк, магний. Функциональная роль, регуляция обмена, нарушения обмена. Особенности минерального обмена в связи с аварией на ЧАЭС.
70. Характеристика водно-солевого обмена: Распределение воды в организме, водный баланс. Натрий и калий, функциональная роль, нарушения обмена. Роль почек в регуляции водно-солевого обмена.

71. Биохимия мышц. Источники энергии для мышечной работы. Биохимические изменения в организме при утомлении. Биохимические процессы в период отдыха после мышечной работы

ПРИМЕРЫ ТЕСТОВ И СИТУАЦИОННЫХ ЗАДАЧ

1. Подберите к каждой из аминокислот (три, асп, цис, лей, арг, сер) соответствующее свойство радикала: а) гидрофильный положительно заряженный; б) гидрофильный отрицательно заряженный; в) гидрофильный незаряженный; г) гидрофобный.
2. Для каких уровней структурной организации (первичной, вторичной или третичной) характерны следующие типы связей: 1) связь между карбоксильными и аминогруппами радикалов аминокислот; 2) связь между α -амино- и α -карбоксильными группами аминокислот; 3) связи между радикалами цистеина; 4) водородные связи между пептидными группировками; 5) водородные связи между радикалами аминокислот; 6) гидрофобные взаимодействия радикалов аминокислот.
3. Подберите к каждому уровню структурной организации белка (первичная, вторичная, третичная и четвертичная) соответствующее понятие: 1) конформация пептидного остова, в формировании которой участвуют водородные связи между пептидными группировками; 2) порядок чередования аминокислот в белках; 3) пространственное расположение и характер взаимодействия пептидных цепей в олигомерном белке; 4) конформация полипептидной цепи, стабилизированная межрадикальными связями.
4. В изоэлектрической точке пептиды имеют: а) отрицательный заряд; б) положительный заряд; в) нулевой заряд.
5. Заряд дипептида лизилпролина в кислой среде равен: а) 0; б) 2+; в) 1+; г) 2-; д) 1-.
6. Ферменты – это: а) катализаторы углеводной природы; б) катализаторы белковой природы; в) катализаторы неорганической природы; г) катализаторы липидной природы.
7. Какие положения правильно характеризуют активный центр ферментов: а) это участок, непосредственно взаимодействующий с субстратом и участвующий в катализе; б) между активным центром и субстратом имеется комплементарность; в) активный центр составляет относительно небольшую часть молекулы фермента; г) в активный центр входят только полярные аминокислоты.
8. Какое из приведенных ниже утверждений характеризует апофермент: а) представляет собой комплекс белка и кофактора; б) обладает высокой каталитической активностью; в) представляет собой неорганический ион или органическое соединение, являющееся производным витамина; г) определяет специфичность фермента.

9. Выберите и запишите последовательность событий, происходящих при аллостерическом ингибировании активности фермента: 1) уменьшается скорость ферментативной реакции; 2) изменяется конформация фермента; 3) эффектор присоединяется в активном центре; 4) изменяется конформация аллостерического центра; 5) нарушается комплементарность активного центра субстрату; 6) эффектор присоединяется в аллостерическом центре; 7) изменяется конформация активного центра.
10. Ферменты, катализирующие синтез биологических молекул с участием АТФ, относятся к классу: а) трансфераз; б) лигаз; в) гидролаз; г) лиаз; д) изомераз.
11. Внеклеточное превращение веществ на путях их поступления и выделения называется: а) метаболизмом; б) внешним обменом; в) катаболизмом; г) анаболизмом.
12. Процессы синтеза сложных молекул из более простых, сопровождающиеся потреблением энергии, называются: а) анаболизмом; б) катаболизмом; в) конденсацией; г) полимеризацией.
13. К макроэргическим соединениям относятся все, кроме: а) АДФ; б) карбамоилфосфата; в) глюкозо-6-фосфата; г) креатинфосфата; д) фосфоенолпирувиновой кислоты.
14. Универсальным аккумулятором, донором и трансформатором энергии в организме является: а) ГТФ; б) АТФ; в) ЦТФ; г) 1,3-дифосфоглицериновая кислота; д) глюкозо-6-фосфат.
15. Процесс синтеза АТФ, идущий сопряжено с реакциями окисления при участии дыхательных ферментов, называется: а) субстратным фосфорилированием; б) фотосинтетическим фосфорилированием; в) окислительным фосфорилированием; г) фосфотрансферной реакцией
16. Выберите соединения, которые участвуют в переносе электронов от изоцитрата на кислород, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи: 1) НАД⁺; 2) ФАД; 3) цитохром *c*; 4) цитохромы *aa₃*; 5) убихинон; 6) кислород; 7) ФМН; 8) Н⁺АТФаза; 9) цитохромы *bc₁*.
17. Сукцинатдегидрогеназа, коферментом которой является ФАД, отдает атомы водорода, снятые с сукцината, на: а) флавопротеин; б) кофермент Q; в) цитохром *c*; г) железосерные белки.
18. Выберите положения, правильно характеризующие физиологическое значение катаболизма глюкозы: а) синтезируется АТФ – донор энергии в биологических процессах; б) промежуточные вещества используются в реакциях анаболизма; в) катаболизм глюкозы может протекать как в аэробных, так и в анаэробных условиях, и, следовательно, служить источником АТФ для клеток в разных физиологических условиях; г) аэробный распад глюкозы может происходить только в клетках печени.
19. Подберите особенности, характерные для аэробного и анаэробного распада глюкозы:

1. Конечным продуктом является лактат А. Аэробный распад
2. Акцептором водорода от НАДН является пируват Б. Анаэробный распад
3. Сопряжен с синтезом АТФ при участии ЦПЭ
4. Является источником энергии для клеток, лишенных митохондрий
5. Метаболиты используются в анаболических процессах
20. Укажите, какой метаболит гликолиза окисляется, а какой восстанавливается в ходе гликолитической оксидоредукции.
21. Соотношение энергетических эффектов гликолиза и аэробного распада глюкозы составляет: а) 1:2; б) 1:10; в) 1:15; г) 1:19; д) 1:38.
22. Человек совершает срочную физическую работу (например, убегает от опасности) через 30 минут после обеда, состоящего преимущественно из углеводной пищи. а) какой процесс протекает в этой ситуации в скелетных мышцах: синтез гликогена или его распад? б) укажите физиологическое значение процесса; в) какой гормон стимулирует этот процесс?
23. Энергетически наиболее выгоден обмен углеводов, идущий по пути: а) гликогенолиза; б) брожения; в) дыхания; г) гликолиза; д) глюконеогенеза
24. Липиды в виде комплексов с белками входят в состав: а) мультиэнзимных комплексов; б) рибосом; в) синтазы высших жирных кислот; г) биологических мембран.
25. Главными липидами мембран являются: а) диольные липиды; б) триглицериды; в) гликолипиды; г) фосфолипиды; д) воски
26. Рассчитайте, сколько АТФ образуется при окислении одной молекулы стеариновой кислоты. Если окисляется линолевая кислота, то на сколько молекул АТФ образуется меньше?
27. Назовите основной источник энергии скелетных мышц через 40-50 мин после начала работы.
28. Какие органы и ткани используют кетоновые тела в качестве источника энергии при голодании: а) мозг; б) скелетные мышцы; в) сердце; г) печень; д) корковый слой почек?
29. Какие жирные кислоты не могут синтезироваться в организме?
30. Сравните процессы β -окисления и биосинтеза жирных кислот, подобрав соответствующие пары утверждений:
 1. Процесс локализован в цитоплазме А. β -окисление
 2. Процесс локализован в митохондриях Б. Биосинтез жирных кислот
 3. Один из ферментов этого процесса имеет кофермент биотин
 4. Один из ферментов имеет кофермент НАДФН
 5. Один из ферментов имеет кофермент

НАД⁺

6. Процесс связан с синтезом АТФ

7. Процесс связан с расходом АТФ

31. Из представленных ниже компонентов составьте схему процесса, активность которого возрастает в жировой ткани при интенсивной физической нагрузке: 1) протеинкиназа неактивная; 2) протеинкиназа активная; 3) триацилглицеринлипаза нефосфорилированная; 4) триацилглицеринлипаза фосфорилированная; 5) аденилатциклаза неактивная; 6) аденилатциклаза активная; 7) ↑цАМФ; 8) АТФ; 9) адреналин.

32. Окислительное дезаминирование α-аминокислот приводит к образованию: а) α-оксикислот; б) α-кетокислот; в) непредельных кислот; г) альдегидокислот

33. Ферменты аминотрансферазы ускоряют реакции: а) дезаминирования; б) трансаминирования; в) восстановительного аминирования; г) декарбоксилирования; д) трансгликозилирования.

34. Сравните процессы трансаминирования и дезаминирования аминокислот:

1. Является этапом катаболизма аминокислот А. Дезаминирование

2. Может служить для синтеза аминокислот Б. Трансаминирование

3. Не приводит к изменению общего количества аминокислот В. Оба процесса

4. Приводит к увеличению общего количества аминокислот Г. Ни один из процессов

5. Сопровождается образованием аммиака

35. Сульфаниламиды являются эффективными антибактериальными препаратами, которые нарушают у бактерий перенос одноуглеродных фрагментов; некоторые лекарственные препараты – новокаин и др., содержащие остаток п-аминобензойной кислоты и распадающиеся в организме с ее освобождением, могут оказывать значительное антисульфаниламидное действие. Какие метаболические процессы будут нарушены при приеме сульфаниламидов? Произойдут ли такие же нарушения в клетках человека? Какова причина антисульфаниламидного действия новокаина?

36. Какие особенности строения характерны для вторичной структуры ДНК: а) построена из двух полинуклеотидных цепей; б) цепи антипараллельны; в) азотистые основания цепей комплементарны друг другу; г) обе нити закручены в спираль, имеющую общую ось.

37. Выберите ответ, какими из перечисленных параметров различаются разные типы РНК: а) первичной структурой; б) молекулярной массой; в) вторичной структурой; г) способом соединения нуклеотидов в полинуклеотидной цепи.

38. Выберите соединения, являющиеся донорами азота в синтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов:

1. Глицин
 2. Глутамин
 3. Аспартат
 4. Аланин
 5. Формил-ТГФК
39. Выберите соединения, являющиеся донорами углерода в синтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов:
1. Глицин
 2. Глутамин
 3. Метилен-ТГФК
 4. Аспартат
 5. Метенил-ТГФК
 6. CO₂
40. Если любители мяса едят его в количествах, превышающих их потребности в калориях, они могут приобрести лишний вес: а) каким метаболическим путем мясо, богатое белками, может привести к отложению триацилглицеринов?
41. Кошкэм, не получавшим пищи накануне вечером, дали утром натошак аминокислотную смесь, содержащую весь набор аминокислот, за исключением аргинина. Через 2 часа содержание аммиака в крови значительно увеличилось и появились симптомы аммиачного отравления. В контрольной группе, получившей полный набор аминокислот, не было отклонений. Объяснение причины аммиачного отравления в подопытной группе животных.
42. Казеин – белок молока не содержит остатков цистина и цистеина, его нативная конформация напоминает беспорядочный клубок. Кератин – белок шерсти, богат цистином, цистеином, высокоупорядочен. Каким образом свойства этих белков отражаются на их перевариваемости?
43. Подберите для ферментов, участвующих в обмене аминокислот, соответствующие коферменты:
1. Декарбоксилазы
 2. Аминотрансферазы
 3. Глутаматдегидрогеназа
 4. Моноаминооксидазы
 5. Метилтрансферазы
- А. ФАД
 - Б. НАД⁺
 - В. Пиридоксальфосфат
 - Г. ТГФК
 - Д. Тиаминпирофосфат
 - Е. Биотин
44. Выберите свойства, характерные для гормонов: 1) действуют при очень низких концентрациях; 2) действуют через специфические рецепторы; 3) поступают в клетки-мишени из крови; 4) секретируются специализированными эндокринными клетками; 5) используются в качестве энергетического или строительного материала; 6) обладают тканевой избирательностью действия; 7) вызывают спе-

- цифический спектр эффектов; 8) обладают коротким периодом полужизни.
45. В какой фазе яичникового цикла наблюдается высокий уровень эстрогенов?
 46. Активной формой андрогенов является: а) дигидротестостерон; б) андростерон; в) андростендион?
 47. Пациенту в лечебных целях назначили диету с низким содержанием углеводов. Количество белков и жиров в рационе достаточно. Концентрация глюкозы в крови нормальная, уровень гликогена в печени не существенно снижен. А). За счет какого процесса поддерживается уровень глюкозы в крови? Б). Какие субстраты могут быть использованы в этом процессе: а) при интенсивной мышечной нагрузке; б) через 5-6 часов после еды; в) при голодании в течение 7 дней?
 48. Нарушения в организме, вызванные избыточным накоплением витамина, называются: а) гипервитаминозом; б) гиповитаминозом; в) авитаминозом.
 49. Витамин В₁₂ содержит в своем составе катион: а) калия; б) кобальта; в) натрия; г) магния; д) цинка.
 50. Антипелларгическим является витамин: а) Е; б) С; в) В₂; г) В₁₂; д) В₅.
 51. Физиологическое название витамина Н: а) антицинготный; б) антисеборрейный; в) антинеуритный; г) антирахитический.
 52. Основными источниками витамина С являются: а) мясные продукты; б) растительные продукты; в) молочные продукты.
 53. Близкие по химической структуре соединения, обладающие одинаковыми биологическими свойствами, являются: а) витаминами; б) изомерами; в) гомологами; г) витамерами.
 54. В состав кофермента ФМН входит: а) витамин А; б) витамин В₆; в) витамин В₂; г) витамин К; д) витамин В₁₂
 55. Пантотеновая кислота входит в состав кофермента: а) НАД; б) ФАД; в) пиридоксальфосфата; г) коэнзима А; д) тиаминпирофосфата
 56. Структурными единицами мышечного волокна являются: а) полисахариды; б) миофибриллы; в) липопротеины; г) биологические мембраны.
 57. Сарколемма представляет собой: а) мембрану; б) полипептид; в) мультиэнзимный комплекс; г) рибонуклеопротеиновый комплекс
 58. Толстые филаменты состоят из: а) актина; б) миоглобина; в) миозина; г) тропонина; д) карнозина
 59. Ведущую роль в мышечном сокращении играют катионы: а) магния; б) натрия; в) калия; г) железа; д) кальция
 60. Запасным источником энергии в мышце является: а) холестерин; б) гликоген; в) молочная кислота; г) глюкоза; д) креатинфосфат

61. В энергообеспечении кратковременных упражнений максимальной мощности основную роль играет: а) гликолиз; б) креатинкиназная реакция; в) миокиназная реакция; г) аэробный распад глюкозы
62. При интенсивной мышечной работе происходит уменьшение содержания в крови: а) глюкагона; б) вазопрессина; в) норадреналина; г) инсулина; д) тестостерона

ОТВЕТЫ К ТЕСТАМ И СИТУАЦИОННЫМ ЗАДАЧАМ

- 1 – гидрофильный положительно заряженный радикал – арг; б) гидрофильный отрицательно заряженный радикал – асп; в) гидрофильный незаряженный радикал – цис, сер; г) гидрофобный радикал – три, лей
- 2 – для первичной структуры - 2,3; для вторичной структуры - 4; для третичной структуры - 1,3,5,6
- 3 – первичная – 2, вторичная – 1, третичная – 4, четвертичная – 3
- 4 – в
- 5 – б
- 6 – б
- 7 – а, б, в
- 8 – г
- 9 – 6, 4, 2, 7, 5, 1
- 10 – б
- 11 – б
- 12 – а
- 13 – в
- 14 – б
- 15 – в
- 16 – 1, 7, 5, 9, 3, 4, 6
- 17 – б
- 18 – а, б, в
- 19 – А-3,5, Б-1,2,4
- 20 – окисляется 3-фосфоглицериновый альдегид до 1,3-бисфосфоглицериновой кислоты, восстанавливается – пируват до лактата
- 21 – г
- 22 – а) распад гликогена; б) обеспечение мышечной ткани энергией; в) адреналин
- 23 – в
- 24 – г
- 25 – г
- 26 – в молекуле стеариновой кислоты 18 углеродных атомов. Используем формулу для расчета количества образующихся молекул АТФ:

$$[5 (n/2 - 1) + n/2 \cdot 12] - 1 = [5 (18/2 - 1) + 18/2 \cdot 12] - 1 = 147 \text{ молекул АТФ.}$$
 Линолевая кислота содержит 2 двойные связи. Поэтому два-

- жды будет отсутствовать окисление с участием ФАД-зависимой дегидрогеназы и количество АТФ будет на 4 молекулы меньше
- 27 – жирные кислоты
- 28 – а, б, в, д
- 29 – полиненасыщенные жирные кислоты (линолевая, линоленовая, арахидоновая)
- 30 – А-2,5,6, Б-1,3,4, 7
- 31 – 9, 5, 6, 8, 7, 1, 2, 3, 4
- 32 – б
- 33 – б
- 34 – А-5, Б-2,3, В-1, Г-4
- 35 – при приеме сульфаниламидных препаратов нарушается синтез фолиевой кислоты у бактерий, т.к. эти препараты являются антиметаболитами п-аминобензойной кислоты (по механизму конкурентного ингибирования). В клетках человека эти нарушения не произойдут, т.к. фолиевая кислота не синтезируется. При распаде новокаина образуется п-аминобензойная кислота, которая может использоваться для синтеза фолиевой кислоты бактериями, что способствует их размножению
- 36 – а, б, в, г
- 37 – а, б, в
- 38 – А-1,2,5, В-2,3, Г-4
- 39 – А-1,3,5,6, Б-3, В-2,4
- 40 – углеродный скелет кетогенных аминокислот используются для синтеза жирных кислот и триацилглицеролов
- 41 – аргинин является промежуточным продуктом цикла синтеза мочевины. При его дефиците нарушается обезвреживание аммиака
- 42 – казеин подвергается денатурации в желудке и легко переваривается. Кератин не переваривается ферментами желудочно-кишечного тракта
- 43 – 1–В, 2–В, 3–Б, 4–А, 5–Г
- 44 – 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8
- 45 – в фоликулиновую
- 46 – а
- 47 – А) глюконеогенез; Б) а) лактат; б) глицерин; в) аминокислоты
- 48 – а
- 49 – б
- 50 – д
- 51 – б
- 52 – б
- 53 – г
- 54 – в
- 55 – г

56 – б
57 – а
58 – в
59 – д
60 – б
61 – б
62 – г

Репозиторий ВГУ