В.И. Гидранович
А.В. Гидранович

# МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

ВИТЕБСК 2006

Репозиторий ВГУ

**В.И. Гидранович**
**А.В. Гидранович**

# МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

***Учебное пособие***

*2006*

Репозиторий ВГУ

УДК 577.2(075.8)
ББК 28.070я73+28.072.0я73
Г46

Авторы: доктор биологических наук, профессор **В.И. Гидранович**, врач **А.В. Гидранович**

Рецензенты: проректор по учебной работе и международным связям, заведующий кафедрой общей и клинической биохимии УО «ВГМУ» доктор биологических наук, профессор Н.Ю. Коневалова; доцент кафедры химии УО «ВГУ им. П.М. Машерова» кандидат биологических наук Н.Ю. Германович

Репозиторий ВГУ

Учебное пособие «Молекулярная биология и биологическая химия» подготовлено на основании многолетнего опыта преподавания на биологическом факультете УО «ВГУ им. П.М. Машерова» по специальностям: «Биология и химия», «География и биология», «Палеонтология», «Биология и охрана природы» (ОЗО). Материал изложен с учетом новейших данных и современных теоретических представлений о процессах жизнедеятельности.

Предназначено для студентов биологического факультета.

УДК 577.2(075.8)
ББК 28.070я73+28.072.0я73

© Гидранович В.И., Гидранович А.В., 2006
© УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2006

# ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ ..... 4
Роль молекулярной биологии и биологической химии в системе биологического образования ..... 4
1. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ ..... 6
2. БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ВОДЫ ..... 14
3. ПРИРОДНЫЕ ПЕПТИДЫ. БЕЛКИ ..... 21
3.1. Природные пептиды ..... 21
3.2. Белки (протеины) ..... 33
4. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ ..... 58
5. ФЕРМЕНТЫ (ЭНЗИМЫ) ..... 78
6. ВИТАМИНЫ ..... 106
7. ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ ..... 153
8. ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ ..... 178
9. МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОВ ..... 187
10. МЕТАБОЛИЗМ ЛИПИДОВ ..... 224
11. ОБМЕН БЕЛКОВ ..... 266
12. МЕТАБОЛИЗМ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ..... 305
13. ИНТЕГРАЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ..... 317
14. ГОРМОНЫ ..... 323
ЛИТЕРАТУРА ..... 352

Репозиторий ВГУ

# ВВЕДЕНИЕ

## Роль молекулярной биологии и биологической химии в системе биологического образования

Современная молекулярная биология и биохимия входят в единый комплекс взаимосвязанных и тесно переплетенных между собой разделов современного естествознания, находятся на стыке различных наук и являются важным инструментом анализа многих проблем биологии (биохимической адаптации, экологии, охраны природы и др.), связанных с процессами жизнедеятельности. Провести четкие границы между молекулярной биологией, биохимией и смежными науками, такими, как физиология, генетика, цитология и другие, достаточно сложно, т.к. у них общие объекты исследований, но различные подходы и методы изучения.

Биологическая химия как самостоятельная наука сформировалась на рубеже XIX и XX столетий, позднее физики, химии и физиологии. Однако зачатки биохимических знаний входят своими корнями в глубокую древность. С незапамятных времен люди использовали биохимические знания при приготовлении хлеба, сыра, вина и т.д. Главной причиной становления биохимии как науки явилось признание того факта, что процессы жизнедеятельности обусловлены явлениями, которые можно объяснить на основе точных наук – химии и физики. Предположения о роли химических процессов в жизни человека были высказаны впервые в XVI веке иатрохимиками (Т. Парацельс). Термин «биохимия» предложен в 1903 г. К. Нейбергом.

Биологическая химия изучает химический состав веществ, содержащихся в живых организмах, их структуру, свойства, места локализации, обмен веществ (метаболизм) и энергии (биоэнергетику), это химия живой материи и она тесно связана с одной стороны с химией, в первую очередь с органической, а с другой – с биологией. Условно ее делят на три раздела. Статическая биохимия изучает химический состав живых организмов, динамическая биохимия – обмен веществ и энергии, функциональная биохимия исследует обмен веществ и энергии во взаимосвязи с функциями органов и тканей.

Современная биохимия базируется на знаниях неорганической, физической, аналитической и органической химии и в биохимических исследованиях широко используются физико-химические методы исследований. Поэтому биохимия, с одной стороны, заняла законное место среди других химических наук и для биологов биохимия играет такую роль, как математика для физиков (Р. Бохински, 1987). С другой стороны, поскольку живые организмы состоят из молекул, то вполне разумной и правомерной представляется точка зрения, согласно которой биология есть не что иное,

как химия. Но это не означает, что биология представляет собой просто один из разделов химии, подобно органической, физической или неорганической химии. По существу биология – это своего рода суперхимия, которая включает в себя традиционные области химии, но в то же время является и чем-то большим (А. Ленинджер, 1986).

На основе достижений классической биохимии возникли новые направления – биогеохимия, биоорганическая химия, молекулярная биология и другие науки. Молекулярная биология изучает способы хранения наследственной информации и механизмы ее реализации. Исходя из важнейших задач, она делится на молекулярную генетику, молекулярную биологию развития, молекулярную иммунологию и т.д.

На основе достижений классической биохимии и смежных наук возникли новые научные направления, такие, как биофизика, биоорганическая химия, бионеорганическая химия и др. Биология стремительно выходит на молекулярный уровень.

Молекулярная биология и биохимия представляют собой динамичные, быстро развивающиеся области знаний и стоят в ряду важнейших дисциплин в познании живой материи. Центральной проблемой современной молекулярной биологии и биохимии является изучение:

– распределения биомолекул в клетках и во всем организме;
– связи между химическим строением и биологической функцией;
– путей переноса информации;
– обмена веществ и энергии;
– эволюции как биохимического процесса;
– регуляторных механизмов и механизмов биохимической адаптации, благодаря которым клетка и организм поддерживают и контролируют свою жизнедеятельность.

В зависимости от объекта исследования биохимию подразделяют на биохимию животных и человека, биохимию микроорганизмов, биохимию растений. В зависимости от направления исследований выделяют общую биохимию, эволюционную биохимию, техническую биохимию, медицинскую биохимию, космическую биохимию и т.д. Молекулярная биология объединяет эти направления в единое целое.

В наше время непрерывно возрастает роль молекулярной биологии и биохимии в важнейших сферах человеческой деятельности, связанных с живой природой – охране окружающей среды, здравоохранении, сельском и лесном хозяйстве, биотехнологии, пищевой промышленности. Сегодня немыслимы полноценное биологическое, экологическое, медицинское, агрономическое образование, подготовка специалистов пищевой промышленности без общетеоретических и профессионально ориентированных знаний по молекулярной биологии и биохимии.

Молекулярная биология и биохимия играет важную роль в формировании научного мировоззрения. Мировоззренческое значение этих

Репозиторий ВГУ

дисциплин трудно переоценить, т.к. они дают представление, как химические и физические законы проявляются в высокоорганизованных системах живой материи, о единстве живой и неживой материи, о единстве и особенностях метаболизма в живых организмах, находящихся на разных ступенях эволюционного развития.

В последние годы многие разделы молекулярной биологии и биологической химии заняли достойное место в различных школьных курсах. Это в свою очередь требует более углубленной, фундаментальной подготовки студентов, будущих преподавателей биологии.

# 1. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ

**Химический элементарный состав живых организмов.** История органических молекул составляет более пяти миллиардов лет назад, когда не было Солнца, Земли и других планет нашей Солнечной системы. В то время в глубине нашей Галактики (возраст 10–15 миллиардов лет) угасла древняя звезда. Гибель старой звезды и ослепительная вспышка сверхновой ознаменовала возникновение Солнечной системы. При этой вспышке образовались и были выброшены атомы, из которых состоит Солнечная система, включая Землю и всех ее обитателей. Вспышку сверхновой и появление на Земле людей разделяет захватывающая история образования органических молекул, благодаря которым появилась жизнь на нашей планете. В настоящее время можно проследить путь атомов от простейшей органической молекулы метана до самого совершенного создания – человека.

Химический состав тканей и жидкостей живых организмов чрезмерно сложен, его изучали многие ученые в XVII и XVIII столетиях. Во второй половине XVIII столетия А. Лавуазье, исследуя химический элементарный состав веществ, выделенных из растений и животных, обратил внимание, что они состоят из ограниченного числа химических элементов, в основном из четырех элементов: C, H, O и N.

Большой вклад в изучение элементарного состава живой материи внес выдающийся ученый, основоположник биогеохимии академик В.И. Вернадский, установивший связь между химическим составом живых организмов и земной корой. Он показал, что в состав живых организмов входят, главным образом, те химические элементы, которые способны образовывать легкоподвижные химические соединения. Блестящие идеи В.И. Вернадского получили дальнейшее развитие в трудах А.П. Виноградова, В.В. Ковальского, Ф.Я. Бернштейна и других ученых.

Сегодня нет сомнений, что живая материя состоит из тех же химических элементов, что и окружающая нас неживая природа. Однако,

Репозиторий ВГУ

следует отметить, что из сотни химических элементов, обнаруженных в земной коре, в состав живой материи входят далеко не все элементы.

В состав живых организмов в большинстве случаев входит 15–16 химических элементов и еще 8–10 элементов обнаружено только в определенных организмах. Живое вещество по химическому элементарному составу отличается от литосферы и атмосферы и это свидетельство того, что не все химические элементы пригодны для построения молекул, входящих в состав живых организмов.

В живых организмах наиболее часто встречаются 11 химических элементов (99,9% всех атомов тела), входящих в состав важнейших биохимических соединений и поддерживающих электролитный баланс тканей организма. Главными биогенными элементами являются H, O, N, C, P и S. Из этих химических элементов состоят основные органические соединения, такие. как белки, углеводы, нуклеиновые кислоты, липиды и другие соединения, образующие живую материю. Наряду с другими химическими элементами, такие элементы, как Na, K, Ca, Mg и Cl, в живой природе представлены, главным образом, в виде целого ряда неорганических соединений – воды, солей аммония, карбонатов, сульфатов, орто- и пирофосфатов, которые поддерживают электролитный баланс жидкостей и тканей организма.

Следует отметить, что в живых организмах в наибольшем количестве встречаются H, O, N, C. В большинстве клеток содержание этих элементов составляет около 99% их массы. Относительное содержание C, H и N значительно выше в живом организме, чем в земной коре. В земной коре самыми распространенными элементами являются O, Si, Al и Na.

То, что H, O, N и C оказались наиболее подходящими для образования живой материи и выполнения биологических функций, имеется несколько причин. Во-первых, эти четыре элемента обладают одним общим свойством: они легко образуют ковалентные связи путем обобщения электронов. Для полного укомплектования внешних электронных оболочек и образования ковалентных связей водороду требуется один, кислороду – два, азоту – три и углероду – четыре электрона. Кроме того, они могут легко реагировать друг с другом, заполняя свои внешние электронные оболочки. Три из этих элементов – C, N и O способны к образованию не только одинарных, но и двойных связей, что ведет к разнообразию химических соединений. Соединения с тройными связями в живой природе встречаются сравнительно редко. Возможно, что живые организмы выбрали эти самые легкие четыре элемента из-за способности образования ими прочных ковалентных связей, так как прочность ковалентной связи обратно пропорциональна атомным массам атомов, образующих эту связь.

Уникальной особенностью атомов углерода является их способность взаимодействовать друг с другом с образованием стабильных ко-

Репозиторий БГУ

валентных углерод–углеродных связей. Атомы углерода для заполнения внешнего октета могут присоединять или отдавать четыре электрона, и каждый атом может образовывать ковалентные связи с четырьмя себе подобными атомами углерода, создавая основу бесчисленного множества органических соединений. Спаренные электроны образуют тетраэдрическую конфигурацию вокруг атома углерода, в результате чего органические соединения обладают различной трехмерной структурой. Никакие другие химические элементы, кроме углерода, не могут создавать такого многообразия стабильных молекул и с таким разнообразием функциональных групп.

Кремний имеет широкое распространение у некоторых типов организмов – растений, губок и моллюсков. Так, из $SiO_2$ состоит скелет одноклеточных диатомовых водорослей, у моллюсков он составляет основу зубцов. В небольшом количестве кремний находится в хрящах и связках животных и человека.

Атомы кремния могут соединяться друг с другом ковалентными связями, однако связи кремний-кремний нестабильны в присутствии кислорода. В этих условиях образуются силикаты и нерастворимые полимеры диоксида кремния, например, кварц. И хотя кремний в 150 раз чаще встречается в земной коре, по сравнению с углеродом, он не стал основой биомолекул, а основой стал углерод, что можно объяснить его такими химическими свойствами, как стабильностью углеродных цепочек, циклов и растворимостью диоксида.

Формирование химического состава живых организмов в значительной степени определялось содержанием химических элементов в Мировом океане. Так, 9 из 11 элементов, наиболее часто встречающихся в живой материи, являются самыми распространенными в морской воде. Только углерод и фосфор, важнейшие компоненты биологических молекул, слабо представлены в морской воде (табл. 1.1). Это может быть подтверждением гипотезы о возникновении жизни в водной среде.

В свое время В.И. Вернадский и А.П. Виноградов полагали, что живое на земле содержит все элементы космоса и обнаружение их в организмах – дело времени и технического прогресса в аналитической химии. В этом аспекте, рассматривая химический элементарный состав живых организмов, во взаимосвязи с химическим составом земной коры и Мирового океана, следует отметить космическое обилие биоэлементов.

Наиболее распространены (по отношению к углероду) во Вселенной такие биоэлементы, как C, H, O и N (табл. 1.2). Затем следуют: Mg – 0,29; Si – 0,27; Fe – 0,14; Ca – 0,018; Na – 0,013; K – 0,0017; Cl – $2{,}8 \cdot 10^{-4}$ на атом углерода. Считают, что наличие C, H, O, N, P и S на небесных телах являлось и является основным условием эволюции биологических молекул на Земле.

Репозиторий ВГУ

Таблица 1.1

**Распределение химических элементов в биологических системах (количество атомов на 100 000)**

| Элемент | Атомный № | Земная кора | Океан | Организм человека |
|---|---|---|---|---|
| H | 1 | 2,882 | 66,200 | 60,562 |
| C | 6 | 56 | 1,4 | 10,680 |
| N | 7 | 7 | <1 | 2,440 |
| O | 8 | 60,425 | 33,100 | 25,670 |
| F | 9 | 77 | <1 | <1 |
| Na | 11 | 2,554 | 290 | 75 |
| Mg | 12 | 1,784 | 34 | 11 |
| Si | 14 | 20,475 | <1 | <1 |
| P | 15 | 79 | <1 | 130 |
| S | 16 | 33 | 17 | 130 |
| Cl | 17 | 11 | 340 | 33 |
| K | 19 | 1,374 | 6 | 37 |
| Ca | 20 | 1,878 | 6 | 230 |
| V | 23 | 4 | <1 | <1 |
| Cr | 24 | 8 | <1 | <1 |
| Mn | 25 | 37 | <1 | <1 |
| Fe | 26 | 1,858 | <1 | <1 |
| Co | 27 | 1 | <1 | <1 |
| Ni | 28 | 3 | <1 | <1 |
| Cu | 29 | 1 | <1 | <1 |
| Zn | 30 | 2 | <1 | <1 |
| Se | 34 | <1 | <1 | <1 |
| Mo | 42 | <1 | <1 | <1 |
| I | 53 | <1 | <1 | <1 |

Содержание углерода в космосе более чем в 1000 раз превышает содержание этого элемента в земной коре. Относительное содержание азота в земной коре еще меньше, чем в космосе. Низкое содержание углерода и дефицит азота в земной коре связаны с их улетучиванием в виде $CH_4$, $C_2H_6$, $H_2C{=}O$, CO, $CO_2$, HCN, $N_2$ или $NH_3$ вместе с первичной атмосферой Земли.

Содержание кислорода (по отношению к углероду) в земной коре на 2–3 порядка выше, чем во Вселенной в целом, однако отношение O/Si при этом сохраняется без существенных различий. Это связано с тем, что кислород с большинством металлов и неметаллов, в том числе и с кремнием, образует нелетучие и термостабильные оксиды.

Репозиторий ВГУ

Таблица 1.2

**Относительное содержание химических элементов во Вселенной, в атмосфере Солнца и земной коре**

| Элементы | Число атомов на 1 атом углерода | | |
|---|---|---|---|
| | Во Вселенной | В атмосфере Солнца | В земной коре |
| H | 9200 | 51000 | 52 |
| C | 1 | 1 | 1 |
| N | 2,1 | 2,1 | 0,11 |
| O | 3,7 | 2,8 | 1,09 |
| P | 0,001 | Низкое | Низкое |
| S | 0,11 | 0,43 | 0,61 |
| H/O | 2500 | 182 | $4,7 \cdot 10^{-2}$ |
| C/Si | 3,8 | 1 | $2,7 \cdot 10^{-3}$ |

По количественному содержанию в живом веществе химические элементы делят на макроэлементы (>0,001%) и микроэлементы (<0,001%), отдельно выделяют группу органоэлементов (биоэлементов). Определенный интерес для биохимиков, физиологов, экологов представляет классификация по биологической роли элементов, согласно которой их делят на три группы:

1) органоэлементы, или биоэлементы, – H, O, N, C, P, S;

2) жизненно необходимые (биотические) элементы – Ca, P, K, Na, Cl, S, Mg, Fe, Cu, Co, Zn, Mn, Mo, I, Se;

3) вероятно необходимые элементы – F, Si, Ti, V, Cr, Ni, As, Br, Sr, Cd;

4) элементы с малоизученной ролью – Li, Al, As, Sn, Pb, Bi и другие.

Имеются и другие классификации, например, по распределению элементов в органах и тканях. Все они относительны и имеют определенное значение для специалистов различных областей знаний.

**Биогеохимические провинции и эндемии.** В процессе эволюции организмы адаптировались к определенному химическому составу среды обитания. Почва, растения и организм животного являются неразрывно связанными звеньями единой миграционной цепи. Это обусловило, с одной стороны, разнообразие химического состава флоры и фауны, а с другой – определило повышенную чувствительность организмов к изменениям концентраций в среде тех или иных элементов. Так как состав поверхности земли неоднородный, обнаруживаются области с повышенным или пониженным содержанием тех или иных химических элементов. Избыток или недостаток определенных элементов вызывает различную биологическую реакцию со стороны местной флоры и фауны. Такие области получили название биогеохимических провинций.

Репозиторий ВГУ

В нашей республике имеет место недостаток йода, кобальта, меди (особенно в зоне болот), селена.

Биологические реакции организмов на изменение геохимических факторов могут проявляться в следующих формах:

– приспособление;
– образование новых рас, видов, подвидов;
– эндемические заболевания;
– уродства и гибель животных, которые проявляются при резком недостатке или избытке какого-либо элемента в среде.

Так, например, недостаток йода приводит к заболеванию животных и людей эндемическим зобом. Низкое содержание в пище селена вызывает беломышечную болезнь у животных, экссудативный диатез у цыплят, болезнь Кешана и эндемическую кардиомиопатию у людей. Избыток же селена в почвах и растениях приводит к развитию щелочной болезни, в результате вытеснения серы из организма. Описано появление экотипов растений на повышенное содержание отдельных химических элементов.

В живых организмах наблюдается определенный синергизм и антагонизм между химическими элементами. Например, такие химические элементы, как K, Na и Cl; Cu, Mn и Fe; Zn, Mn и Mo; P, S, Mn, Cu, I и Co являются метаболическими синергистами. Такие элементы, как Se и S; Zn, Mn, Cu, I и Ca; Na, P, Ca, K, Fe, Co, Mo и Zn являются метаболическими антагонистами.

Синергистами считают такие элементы, которые взаимно способствуют абсорбции друг друга в пищеварительном тракте и взаимодействуют в осуществлении какого-либо процесса на клеточном или тканевом уровне. К антагонистам относят элементы, которые тормозят абсорбцию друг друга в пищеварительном тракте и оказывают противоположное действие на биохимические процессы в организме.

В отличие от синергизма, который чаще всего бывает взаимным, антагонизм может быть обоюдным и односторонним. Так, P и Mg, Zn и Cu взаимно тормозят всасывание друг друга, а Ca угнетает всасывание в желудочно-кишечном тракте Zn и Mn, но не наоборот.

**Молекулярный состав живых организмов.** Все живые организмы состоят из тех же атомов, что и неживая материя. Химические элементы образуют неорганические и сложные органические молекулы, многие из которых не встречаются в живой природе и их происхождение является загадкой. В этой связи следует несколько слов сказать о небиогенном происхождении некоторых биологических молекул.

Атмосфера юной Земли содержала метан, аммиак и пары воды до момента остывания земной коры и образования первичных океанов. Трудно представить, что земля тех времен представляла собой океан и безжизненные скалы, раскаляемые сиянием молодого Солнца. Излуче-

Репозиторий БГУ

ние Солнца не фильтровалось слоем озона, как в наше время, и состояло в основном из ультрафиолетовых лучей. Благодаря высокой энергии ультрафиолетовых лучей простые молекулы первоначальной атмосферы превращались в новые молекулы, способные к дальнейшим реакциям образования сложных молекул живой материи. Наиболее важными из этих новых молекул были циановодородная кислота (H–C≡N) и формальдегид ($H_2C$=O), образующиеся в процессе фотолиза. Под действием УФ-излучения циановодородная кислота образуется из метана и аммиака:

$$CH_4 + NH_3 \rightarrow H\text{–}C{\equiv}N + 6H,$$

а формальдегид – из метана и воды:

$$CH_4 + H_2O \rightarrow H_2C{=}O + 4H.$$

Синтез этих двух соединений в первичном безжизненном океане дает ключ к разгадке тайны появления двух основных составляющих живых организмов – белков (аминокислот) и нуклеиновых кислот (пуриновых и пиримидиновых оснований). Не углубляясь в механизмы химических реакций, лишь отметим, что образование аминоуксусной кислоты (глицина) в первичном океане из формальдегида, циановодородной кислоты, аммиака и воды могло легко происходить в три этапа: метиленимин → аминонитрил → глицин.

Составные компоненты нуклеиновых кислот – пуриновые и пиримидиновые основания и пентозы могли образоваться из циановодородной кислоты, формальдегида, аммиака и воды до возникновения жизни. Молекулярная формула аденина соответствует пяти молекулам циановодородной кислоты, а молекула рибозы соответствует пяти молекулам формальдегида.

Экспериментальные исследования показывают, что аминокислоты и другие важные для жизни молекулы могли образоваться абиогенным путем.

Для живой природы характерен ***принцип биохимического единства,*** который заключается в том, что все ***живые организмы состоят из одних и тех же соединений, примерно в одинаковых пропорциях, выполняющих определенные общие функции.***

Основные органические молекулы живых организмов, такие, как углеводы, липиды, белки, нуклеиновые кислоты, состоят из шести химических элементов (H, O, N, C, P, и S) и их биосинтез происходит из $CO_2$, $H_2O$ и атмосферного азота.

Органические соединения в живых организмах находятся в сильно восстановленном или гидрированном состоянии и обладают высоким запасом энергии, а поскольку атмосфера богата кислородом, то углерод и водород, входящие в состав органических молекул, стремятся к окислению до стабильных и бедных энергией соединений – $CO_2$ и $H_2O$. Этот

Репозиторий ВГУ

процесс сопровождается высвобождением энергии, необходимой для процессов жизнедеятельности.

В случаях необходимости создания биологических молекул с особыми уникальными свойствами, выполняющих специфические функции в организме, Природа использовала ряд других, порой довольно редких химических элементов.

Так, например, железо входит в состав гемоглобина, миоглобина, ферментов цитохромов, каталазы, пероксидазы и других. Магний является составной частью хлорофилла – основного пигмента зеленых растений, способного поглощать световую энергию в видимом диапазоне электромагнитного спектра при фотосинтезе. Йод входит в состав гормона щитовидной железы тироксина. Щитовидная железа способна накапливать йод, с чем связана опасность попадания в организм радиоактивных изотопов йода, которые в щитовидной железе, вызывают ее повреждение. Кобальт входит в состав витамина $B_{12}$ (кобаламина), цинк – ферментов карбоангидразы, РНК- и ДНК-полимераз, молибден – нитрогеназы, селен – глутатионпероксидазы.

Таблица 1.3

**Примерный химический состав клетки E. coli**

| Компоненты | Относительное содержание, % (к массе клетки) | Число молекул на клетку | Число типов на клетку |
|---|---|---|---|
| Вода | 70 | 40 млрд. | 1 |
| Белки | 15 | 1 млн. | 2000–3000 |
| ДНК | 1 | 2 или 4 | 1 |
| РНК | 6 | – | – |
| т-РНК | – | 400000 | 40 |
| м-РНК | – | 1 млн. | 1000 |
| Углеводы и метаболиты | 3 | 200 млн. | 200 |
| Липиды и метаболиты | 2 | 25 млн. | 50 |
| Неорганические ионы | 1 | 250 млн. | 20 |
| Аминокислоты и метаболиты | 0,8 | 30 млн. | 100 |
| Нуклеотиды и метаболиты | 0,8 | 12 млн. | 200 |
| Соединения другой природы | 0,4 | 15 млн. | 200 |

Подводя итог знакомству с химическим составом живой материи следует отметить, что в состав живых организмов входят белки и полипептиды, углеводы, липиды, нуклеиновые кислоты, нуклеозидмоно-, нуклеозидди- и нуклеозидтрифосфаты, различные низкомолекулярные

Репозиторий БГУ

органические соединения, выполняющие функцию гормонов, витаминов, коферментов и ряд других биологических регуляторов. Кроме этого, живые организмы характеризуются сложным электролитным составом.

Анализ приведенных данных свидетельствует, что чем уже функция химического соединения (например, ДНК), тем меньше молекул данного вещества в клетке, и наоборот, чем шире функция соединения, тем больше молекул в клетке и организме в целом (табл. 1.3).

По количественному содержанию в живых организмах на первом месте стоит вода – важнейшее вещество, обеспечивающее жизнедеятельность организмов. Живые организмы содержат 60–80% воды. У медуз содержание воды доходит до 95%. В расчете на молекулярный состав примерно 99% молекул в клетке – это вода, и только 1% от общего числа молекул приходится на те специфические вещества, которые определяют уникальный химический состав и химические реакции для каждого типа клеток, органов и тканей. Поэтому изучая роль органических и неорганических соединений следует отметить особую биологическую роль воды.

## 2. БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ВОДЫ

Земля же была безвидна и пуста,
и тьма над бездною; и Дух Божий носился над водою.

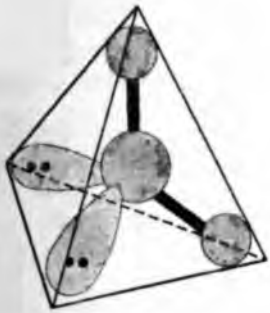
Бытие 1:2

Вода является одним из важнейших компонентов Вселенной, нашей планеты Земля и живой материи. Есть все основания считать, что жизнь зародилась в воде примерно 3 млрд. лет тому назад и тесно связана с водой. Любой живой организм примерно на 2/3 состоит из воды, и почти все процессы жизнедеятельности протекают в водной среде. Биологические функции воды, ее решающая роль в процессах жизнедеятельности связана с ее уникальными и весьма необычными физико-химическими свойствами, что в свою очередь определяется особенностями строения.

**Физико-химические свойства воды.** Молекула воды, как и молекула метана, имеет форму тетраэдра, в центре которого располагается атом кислорода (рис. 2.1). Две вершины тетраэдра заняты свободными электронными парами атома кислорода, а остальные две – атомами водорода. Связи H – O – H расположены под углом 104,5° друг к другу. Связь O – H полярна благодаря высокой электроотрицательности атома кислорода и молекула воды представляет собой электрический диполь. Атомы водорода несут частичный положительный заряд, а атом кисло-

Репозиторий ВГУ

рода – частичный отрицательный заряд. Благодаря биполярному строению каждая молекула воды способна проявлять свойства как донора, так и акцептора водорода и, подобно магниту, может притягивать к себе четыре другие (молекулы воды с образованием кластеров с помощью водородных связей рис. 2.2). Эти кластеры постоянно распадаются и вновь образуются, т.е. находятся в динамическом состоянии.



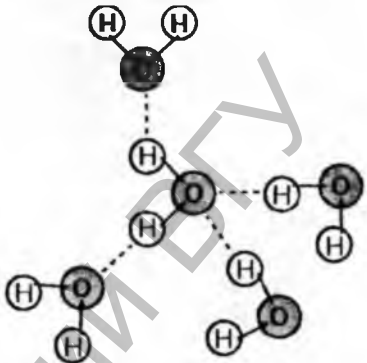


Рис. 2.1. **Строение молекулы воды.** Рис. 2.2. **Кластеры молекул воды.**

На поверхности Земли вода находится в жидком состоянии благодаря высокой температуре кипения и низкой температуре замерзания. Высокая температура кипения воды обусловлена высокой молярной теплотой испарения (40,8 кДж/моль). Испарение воды сопровождается определенными затратами энергии для разрушения многочисленных водородных связей.

Особым физическим свойством воды является хорошо известное явление увеличения объема при замерзании – явление, прямо противоположное тому, что наблюдается у большинства жидкостей. С понижением температуры вплоть до начала кристаллизации ($0^{\circ}$C, 273K) количество образовавшихся кластеров увеличивается. В кристаллах воды большинство молекул встроены в гексагональную решетку. Расстояние между молекулами воды в твердом состоянии больше, чем в жидком. Плотность льда (0,92 г/см$^3$) меньше по сравнению с плотностью воды. Лед при постепенном нагревании плавится при температуре $0^{\circ}$C, при этом образовавшаяся жидкость сжимается даже после того, как он весь растает. Уменьшение объема происходит до температуры $4^{\circ}$C, выше которой удельный объем воды начинает увеличиваться.

В результате влияния этих двух факторов максимальная плотность воды достигается при температуре $4^{\circ}$C, выше которой вода при нагревании только расширяется. Это свойство воды очень важно в эко-

Репозиторий ВГУ

логическом отношении. В зимний период на поверхности водоемов образуется плавающий слой льда, который предохраняет от глубокого промерзания и гибели водных живых организмов.

Теплоемкость воды в 3000 раз превышает теплоемкость воздуха. Высокая теплоемкость воды позволяет живым организмам поглощать большое количество тепла без значительных перепадов внутренней температуры.

Благодаря высокой теплоемкости и теплопроводности вода принимает участие в процессах терморегуляции путем равномерного распределения тепла по организму и выделения его излишков путем испарения. Кроме того, данное свойство воды имеет глобальное экологическое значение в поддержании климата на нашей планете.

Вода является идеальным растворителем для диссоциирующих веществ. Положительно и отрицательно заряженные ионы экранируются от взаимного воздействия оболочкой из молекул воды, которые располагаются по сферической поверхности иона в соответствии с законами электростатического взаимодействия. Гидратная оболочка стабилизирует ионы в растворе. Такое взаимодействие растворенных частиц (ионов) и молекул растворителя (воды) называют гидратацией. Молекулы воды образуют гидратные оболочки в соответствии с зарядом иона. Вода имеет высокую константу диэлектрической проницаемости (78).

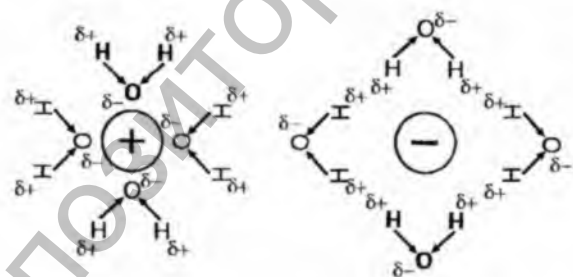


Рис. 2.3. **Гидратация полярных ионов.**

В воде электростатическое притяжение двух противоположно заряженных ионов снижается примерно в 80 раз (1/78). Молекулы воды гидратной оболочки как бы привязаны к иону, иммобилизированы и перемещаются вместе с ионом.

Хорошо растворимы в воде и нейтральные соединения с несколькими гидроксильными группами (глицерол, углеводы), так как они способны образовывать водородные связи с молекулами воды.

Следовательно, вода хороший растворитель для солей, легко диссоциирующих на ионы, и для многих соединений с полярными связями.

Репозиторий ВГУ

Такие соединения называют гидрофильными («водолюбивыми»), а вещества с противоположными свойствами называют гидрофобными.

Неполярные молекулы в воде образуют очень стабильные кристаллические гидраты, в которых похожие на клетки многогранники, состоящие из молекул воды, формируют полости, окружающие неполярные молекулы. Эти многогранники могут объединяться, образуя пространственную решетку. Такие гидраты обладают высокой стабильностью. Так, при растворении в воде неполярных молекул до достаточно высоких концентраций температура замерзания смеси понижается значительно ниже $0^0$С. Гидраты характеризуются большой по абсолютной величине отрицательной теплотой образования. Большой выигрыш в энтальпии обуславливается не взаимодействиями неполярных молекул с растворителем, а освобождением энергии при организации молекул воды в близкие по своим размерам, похожие на структуры клетки.

Вещества, имеющие в структуре как полярные, так и неполярные группы называют амфифильными (жиры, фосфолипиды, желчные кислоты, стероидные гормоны). В воде амфифилы образуют мицеллы, у которых полярные группы ориентированы в воду. По этому принципу построено большинство биологических мембран. Полые мембранные пузырьки – везикулы играют ключевую роль при выполнении транспортных функций в клетках и крови.

Вода самый важный компонент биологических систем и обладает весьма необычными свойствами, позволившими зарождению жизни в водной среде. Считают, что жизнь зародилась в воде примерно три миллиарда лет назад и полностью зависит от воды. Основной аргумент в доказательстве того, что жизнь зародилась на нашей планете Земля, – это изобилие воды. Кроме того, в течение длительного времени на Земле сохранялись оптимальные температурные условия для зарождающейся жизни, благодаря чему живые системы имели возможность выжить и развиваться в жидкой среде при умеренных температурах. Главная роль воды в живом организме состоит в обеспечении жидкой среды для протекания физико-химических процессов жизнедеятельности.

Живые существа содержат 60–80% воды; у медуз ее содержание доходит до 95%. В живом организме вода бывает внутриклеточной и внеклеточной. В организме взрослого животного внутриклеточная вода составляет около 70%, а внеклеточная примерно 30% от общего количества воды. Так, в организме человека массой 70 кг содержится примерно 40 кг воды. При этом около 25–30 кг приходится на внутриклеточную, а 10–15 кг – на внеклеточную воду, в которую входят вода плазмы крови, межклеточной жидкости, спинно-мозговой жидкости, внутриклеточной жидкости и жидкости содержимого желудочно-кишечного тракта. Соотношение между внутриклеточной и внеклеточной водой находится в состоянии динамического равновесия.

Электронная библиотека
Віцебскі дзяржаўны універсітэт
імя П.М.Машэрава

С физико-химической точки зрения вода организма также неоднородна. Основная часть воды внутриклеточной и внеклеточной жидкостей, которая служит растворителем неорганических и органических соединений, называется свободной водой. Вода, связанная в коллоидных системах с белками или находящаяся в клетках в виде гидратированных ионов, называется связанной водой.

В зависимости от типа связи вода может быть прочносвязанной и слабосвязанной. Прочносвязанная вода не может быть растворителем и замерзает при более низких температурах, что играет важную роль в предотвращении вымерзания (особенно растений).

В органах и тканях животных вода распределена неравномерно (табл. 2.1).

Таблица 2.1

**Среднее содержание воды в органах и тканях животных**

| Органы или ткани | Вода, % | Органы или ткани | Вода, % |
|---|---|---|---|
| Жировая | 7 | Почки | 81 |
| Дентин | 10 | Кровь цельная | 82 |
| Кость | 28 | Мозг (серое вещество) | 86 |
| Кожа | 58 | Эластическая ткань | 90 |
| Печень | 70 | Лимфа | 95 |
| Мышцы | 75 | Пищеварительные соки | 97 |
| Сердце, легкие | 80 | Спинномозговая жидкость | 99 |

Все органы и ткани по содержанию в них воды можно разделить на три группы:

1) бедные водой – жировая ткань, костная ткань;
2) умеренно богатые – мышечная ткань, печень, кровь;
3) очень богатые – серое вещество мозга, лимфа, эластическая ткань, спинномозговая жидкость.

Содержание воды в организме с возрастом уменьшается. У взрослых людей оно составляет 67%, у новорожденных – 74%, а четырехмесячных эмбрионов – 94%.

Вода является непосредственным участником химических реакций в живом организме. Все процессы переваривания пищи – протеолиз, липолиз, расщепление углеводов – протекают гидролитическим путем под действием специфических ферментов класса гидролаз. Всасывание продуктов гидролиза в пищеварительном тракте происходит с помощью воды.

Окислительно-восстановительные процессы в организме (цикл трикарбоновых кислот, окислительный пентозофосфатный путь метаболизма углеводов, β – окисление жирных кислот и др.) протекают при

Репозиторий ВГУ

непосредственном участии воды. Интересно отметить, что в трех вышеназванных метаболических путях (циклах) восстановление коферментов происходит на 50% за счет водорода воды.

Вода является непосредственным участником фотосинтеза – уникального процесса на нашей планете Земля, которому мы обязаны своим существованием. Вода играет роль восстановителя в превращении $CO_2$ – низкоэнергетической окисленной формы неорганического углерода в высокоэнергетическую восстановленную форму углерода в составе органических соединений – углеводов, в результате использования световой энергии Солнца.

Схему фотосинтеза можно представить суммарным уравнением:

$$6\ CO_2 + 6\ H_2O + \text{солнечная энергия} \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2$$

Как видно из приведенного уравнения, вода является единственным источником кислорода на нашей планете.

Продукты фотосинтеза затем используются аэробными гетеротрофными организмами, которые извлекают химическую энергию органических соединений в процессе окисления их кислородом до $CO_2$ и $H_2O$. Эти противоположные потоки химических превращений нашей биосферы называют углеродно-кислородным циклом (или просто углеродным циклом). Фотосинтез начинает этот цикл и в его отсутствие жизнь в той форме, с которой мы встречаемся, прекратила бы свое существование. Это указывает на важнейшее значение воды как восстановителя в фотосинтетических реакциях.

**Источники, потребность, баланс воды в организме и последствия ее лишения.** В организм человека и животных поступает питьевая вода и вода пищи (экзогенная вода), которая всасывается стенкой кишечника, поступает в кровеносное русло и включается в процессы метаболизма.

В окислительно-восстановительных процессах метаболизма образуется так называемая эндогенная (метаболическая) вода. При полном окислении 100 г белка образуется 41,5 г воды; 100 г углеводов – 55,5 г воды и 100 г жиров – 107 г воды. Количество метаболической воды легко рассчитать у птиц, т.к. у них на одну превращенную килокалорию образуется 0,135 г воды, что составляет примерно 15% суточной потребности. Особенно важную роль играет метаболическая вода для животных, впадающих в зимнюю спячку, и животных пустынь.

Суточная потребность в воде для взрослых людей в среднем составляет 3 литра. У детей она значительно выше в расчете на кг массы тела. У взрослых она равна 40 г на кг, а у детей – 150–160 г на кг.

Репозиторий ВГУ

В нормальных условиях организм находится в динамическом состоянии потребления и выделения воды. Вода из организма выделяется через почки (основная масса), кожу и легкие. Выделение минимума воды (2–5% всей воды организма) необходимо для экскреции электролитов и конечных продуктов обмена, таких, как мочевины и мочевой кислоты и других, и оно не может опускаться до определенного критического уровня, обусловленного концентрацией выводимых веществ.

Если потери воды превышают поступление экзогенной и образование эндогенной, то баланс ее становится отрицательным. Содержание воды в плазме уменьшается, осмотическое давление возрастает; вода переходит в кровь из интерстициальной жидкости, последняя становится гипертоничной. Происходит переход воды и ионов $K^+$ из клеток в межклеточное пространство, что нарушает функции клеток и ускоряет дегидратацию тканей.

Объем выделяемой мочи резко уменьшается вследствие усиленной секреции антидиуретического гормона вазопрессина (АДГ). При этом экскреция электролитов резко возрастает, насколько это позволяет небольшой объем мочи. Дефицит воды вызывает дегидратацию организма и потерю электролитов. Недостаток в воде значительно хуже переносят молодые животные связи с неполным функциональным развитием почек.

Степень дегидратации определяется уменьшением массы животного. При снижении массы на 4–5% наблюдается беспокойство животных и отказ от пищи; при снижении массы на 6–8% появляются признаки «дегидратационного истощения», которые характеризуются расстройством функции ЦНС, как следствие повышения вязкости крови. Потеря массы при дегидратации 15–20% приводит к гибели животных (8–36 дней в зависимости от вида животных).

Все вышеприведенные факты свидетельствуют о важной незаменимой роли воды для живых организмов и о том, что сама жизнь возникла в водной среде. И не имеет принципиального значения, или живая материя идеально приспособлена к воде, или вода идеально приспособлена к живой материи.

Репозиторий ВГУ

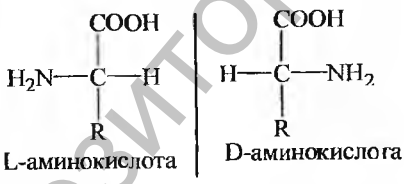
# 3. ПРИРОДНЫЕ ПЕПТИДЫ. БЕЛКИ

## 3.1. Природные пептиды

**Аминокислоты.** Аминокислоты являются составными компонентами белков и природных пептидов. В природе встречается около 300 аминокислот, но отдельные аминокислоты обнаружены только в организмах определенных видов. Из большого числа существующих в природе аминокислот белки всех видов живых организмов – от бактерий до человека – состоят в основном из одного и того же набора – ***20 α-L-аминокислот*** и этот универсальный белковый алфавит существует около 2 млрд. лет, что указывает на биохимическое единство биосферы. Аминокислоты D-ряда встречаются довольно редко, в частности, в некоторых природных пептидах с особыми функциями.

Взаимопревращение D- и L-энантиомеров называется рацемизацией. После смерти процесс рацемизации аминокислот протекает самопроизвольно с очень малой скоростью и приводит для каждой аминокислоты к равновесному соотношению D/L-энантиомеров, для достижения которого могут потребоваться десятки тысяч лет.

Стереоизомеры (энантиомеры) аминокислот




Метод определения геологического возраста образца основан на измерении соотношения D/L-энантиомеров аспарагиновой кислоты в образцах окаменелых костей.

Недавно установлено, что повышение D/L-отношения для аспарагиновой кислоты в зубах живущих в настоящее время животных коррелирует с биологическим возрастом.

Для более глубокого понимания строения белковых молекул удобна классификация аминокислот, основанная на полярности и ионных свойствах радикалов.

Неполярные, или гидрофобные (в радикале имеются неполярные связи C–C, C–H): аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, фенилаланин, триптофан, пролин.

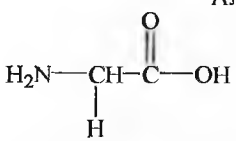
Полярные (гидрофильные) незаряженные аминокислоты в радикале содержат связи C–O, C–N и O–H. К ним относятся глицин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутаминовая кислота.

РЕПОЗИТОРИЙ БГМУ

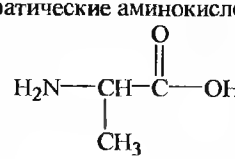
Отрицательно заряженные – аспарагиновая и глутаминовая кислоты; положительно заряженные – лизин, аргинин, гистидин.

Классификация (по химической структуре радикала), номенклатура и сокращенные (трех- и однобуквенные) обозначения аминокислот и молекулярная масса:

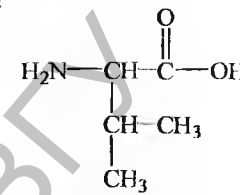
Алифатические аминокислоты



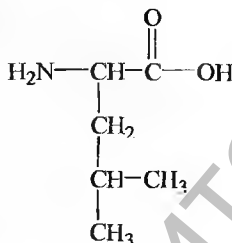
Глицин, Gly, G
М.м. 75



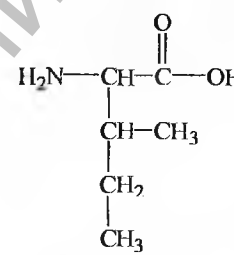
Аланин, Ala, A
М.м. 89



Валин, Val, V
М.м. 117

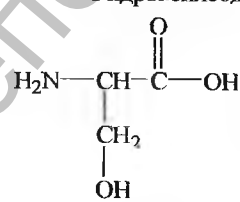


Лейцин, Leu, L
М.м. 131

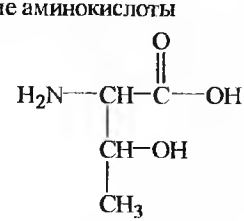


Изолейцин, Ile, I
М.м. 131

Гидроксилсодержащие аминокислоты



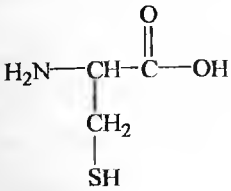
Серин, Ser, S
М.м. 105



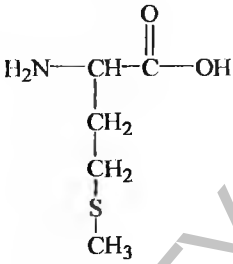
Треонин, Thr, T
М.м. 119

Репозиторий ВГУ

Серусодержащие аминокислоты

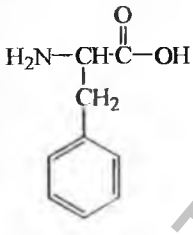


Цистеин, Cys, C
М.м. 121

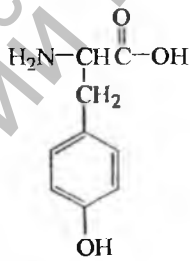


Метионин, Met, M
М.м. 149

Ароматические аминокислоты

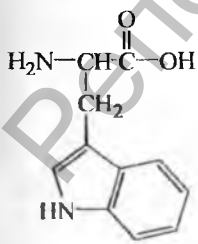


Фенилаланин, Phe, F,
М.м. 165

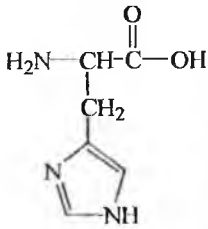


Тирозин, Tyr, Y,
М.м. 181

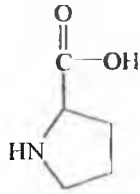
Гетероциклические аминокислоты



Триптофан, Trp, W,
М.м. 204



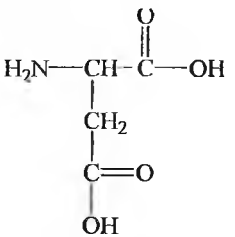
Гистидин, His, H,
М.м. 155



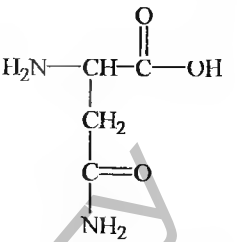
Пролин, Pro, P,
М.м. 115
(иминокислота)

Репозиторий ВГУ

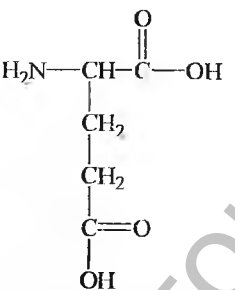
Кислые аминокислоты (и соответствующие нейтральные амиды)



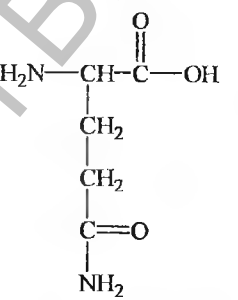
Аспарагиновая кислота, Asp, D,
М.м.133



Аспарагин, Asn, N,
М.м.132

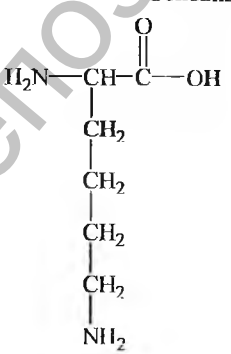


Глутаминовая кислота, Glu, E,
М.м. 147

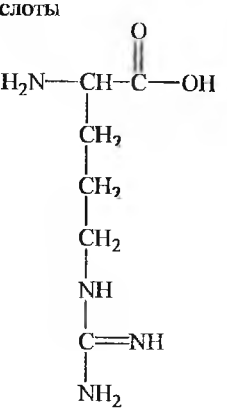


Глутамин, Gln, Q,
М.м. 146

Основные аминокислоты



Лизин, Lys, K



Аргинин, Arg, R

Репозиторий ВГУ

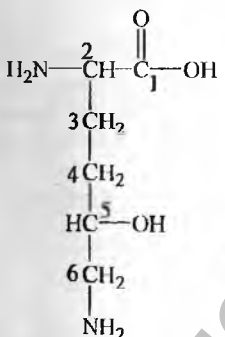
На основе ионных свойств радикалов цистеин и тирозин могут быть источником протонов. Поэтому, наряду с аспарагиновой и глутаминовой кислотами, их относят к кислым аминокислотам.

В молекуле гистидина атом азота в радикале может быть акцептором протонов, поэтому гистидин, наряду с лизином и аргинином, относят к основным аминокислотам.

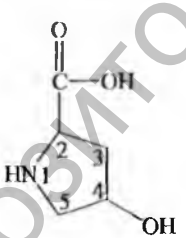
Остальные тринадцать аминокислот (глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, фенилаланин, серин, треонин, аспарагин, глутамин, полин и триптофан) являются нейтральными.

В белках встречаются модифицированные аминокислоты, около 140 из которых идентифированы. Химическая модификация аминокислот происходит после включения их в состав белков и, как правило, состоит из определенных окислительных превращений радикалов аминокислот.

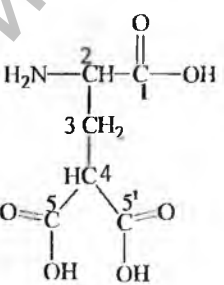
Примерами химической модификации аминокислот являются ***гидроксилирование*** лизина и пролина в молекуле коллагена с образованием 5-гидроксилизина и 4-гидроксипролина и ***карбоксилирование*** глутаминовой кислоты с образованием 4-карбоксиглутаминовой кислоты.



5-Гидроксилизин



4-Гидроксипролин



4-Карбоксиглутаминовая кислота

Ферментативное гидроксилирование остатков пролина в молекуле коллагена происходит с участием аскорбиновой кислоты в качестве кофермента. Карбоксилирование глутаминовой кислоты происходит с участием витамина К в качестве кофермента. Карбоксильная группа, введенная в радикал глутаминовой кислоты в составе белка протромбина, способствует связыванию $Ca^{2+}$ и, тем самым, активирует превращение протромбина в тромбин. Широко распространенным видом химической модификации является фосфорилирование остатков гидроксаминокислот и чаще всего аминокислоты серина с образованием фосфосерина.

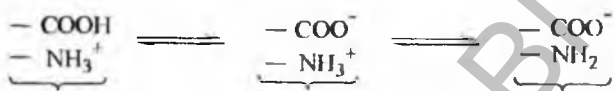
По биологической ценности аминокислоты делятся на ***незаменимые*** и ***заменимые.*** Заменимые аминокислоты могут синтезироваться в

репозиторий БГМУ

организме человека и животных, незаменимые не могут синтезироваться и должны поступать в организм с пищей. Незаменимыми аминокислотами являются: ***валин, лейцин, изолейцин, треонин, метионин, фенилаланин, триптофан, лизин.***

***Аргинин и гистидин*** незаменимы только для детского организма, поэтому эти аминокислоты иногда называют ***полузаменимыми.***

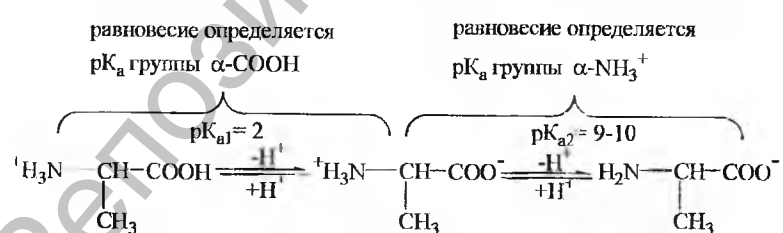
**Ионные свойства аминокислот.** В зависимости от реакции среды (pH) и в соответствии с принципами кислотно-основного равновесия α-карбоксильные и α-аминогруппы могут существовать в одной из следующих взаимопревращаемых форм:




| протонированные карбоксильная группа и аминогруппа | ионизированная карбоксильная группа и протонированная аминогруппа | ионизированная карбоксильная группа и свободная аминогруппа |
|---|---|---|

Частица аминокислоты с группами – $COOH$ и $NH_3^+$ полностью протонирована и может рассматриваться как двухосновная (два протона) кислота Бренстеда, диссоциация которой происходит в два этапа с различными значениями $pK_a$; $pK_a$ карбоксильной группы для большинства аминокислот равно 2, а аминогруппы ~ 9–10.

Процесс диссоциации аланина выглядит следующим образом:




| катионная форма (суммарный заряд равен +1) | биполярная ионная форма (суммарный заряд равен нулю), pI | анионная форма (суммарный заряд равен -1) |
|---|---|---|

Аминокислоты в сильнокислой среде (pH ~1) находятся в ***катионной форме*** (заряд +1), а в сильноосновной среде (pH ~11) – ***в анионной форме*** (заряд –1). Следовательно, аминокислоты проявляют ***амфотерные свойства,*** в кислой среде проявляют свойства оснований, а щелочной среде – свойства кислот. Когда заряд равен нулю, аминокислота находится в

Репозиторий ВГУ

***изоэлектрическом состоянии***. Значение pH, при котором заряд аминокислоты равен нулю, называется ***изоэлектрической точкой.***

Кроме вклада α-аминогруппы и α-карбоксильной группы в общий заряд молекулы в структуре некоторых аминокислот в радикале имеется третья ионогенная группа. Аспарагиновая и глутаминовая аминокислоты содержат дополнительные карбоксильные группы, которые при физиологическом значении pH, равном 7,4, ионизируются, сообщая молекуле дополнительный отрицательный заряд. Эти аминокислоты называют кислыми.

Группа –SH цистеина и группа –OH тирозина не такие кислые, как у аспарагиновой и глутаминовой кислот, но они могут существовать в ионизированной форме и эти аминокислоты относят к кислым.

Противоположная ситуация наблюдается для лизина и аргинина, которые в радикале содержат основные группы и при диссоциации эти группы вносят дополнительный положительный заряд в общий заряд молекулы аминокислоты. Радикал гистидина не обладает столь сильно выраженными основными свойствами, но может быть в виде положительно заряженной группы.

Таблица 3.1

**Показатели ионизации групп аминокислот**
**($pK_a$ ионогенных групп)**

| Кислота | α- COOH | α- $NH_3$ | RH, RH |
|---|---|---|---|
| Gly | 2,34 | 9,60 | – |
| Ala | 2,34 | 9,69 | – |
| Val | 2,32 | 9,62 | – |
| Leu | 2,36 | 9,68 | – |
| Ile | 2,36 | 9,68 | – |
| Ser | 2,21 | 9,15 | – |
| Thr | 2,63 | 10,43 | – |
| Met | 2,28 | 9,21 | – |
| Phe | 1,83 | 9,13 | – |
| Trp | 2,38 | 9,39 | – |
| Asn | 2,02 | 8,80 | – |
| Gln | 2,17 | 9,13 | – |
| Pro | 1,99 | 10,60 | – |
| Asp | 2,09 | 9,82 | 3,86* |
| Glu | 2,19 | 9,67 | 4,25* |
| His | 1,82 | 9,17 | 6,0* |
| CysH | 1,71 | 10,78 | 8,33* |
| Tyr | 2,20 | 10,07 | 9,11* |
| Lys | 2,18 | 8,95 | 10,53 |
| Arg | 2,17 | 9,04 | 12,48 |

* Ионизация групп в радикале происходит раньше ионизации α-$NH_3^+$-группы.

Репозиторий ВГУ

Ниже приведены примеры вычисления изоэлектрической точки для нейтральных, кислых и основных аминокислот.

Нейтральные аминокислоты:

$$pI = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2} \qquad \text{для аланина } pI = \frac{2{,}34 + 9{,}69}{2} = 2{,}02$$

Кислые аминокислоты:

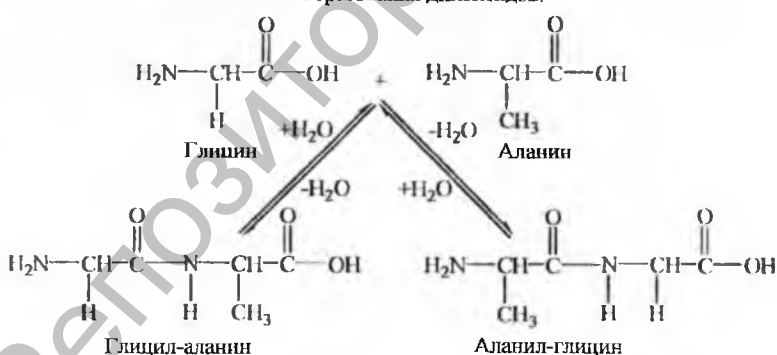
$$pI = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2} \qquad \text{для аспарагиновой кислоты } pI = \frac{2{,}09 + 3{,}86}{2} = 2{,}98$$

Основные аминокислоты:

$$pI = \frac{pK_{a2} + pK_{a3}}{2} \qquad \text{для лизина } pI = \frac{8{,}95 + 10{,}53}{2} = 9{,}74$$

**Пептиды.** α-Карбоксильная группа одной аминокислоты может реагировать с α-аминогруппой другой аминокислоты с образованием пептидов. Соединения, состоящие из 2 до 10 аминокислотных остатков, называются олигопептидами (дипептиды, трипептиды, тетрапептиды, пентапептиды и т.д.), из 10 и более - полипептидами, а из 50 и более – белками.

Схема образования дипептидов:




Из приведенной схемы видно, что из двух аминокислот (глицина и аланина) возможно образование двух дипептидов, различающихся по строению. Равновесие этой реакции сильно сдвинуто в сторону гидролиза, а не синтеза. Следовательно, биосинтез пептидных связей протекает с потреблением энергии, гидролиз – с освобождением энергии.

Количество возможных пептидов зависит от количества аминокислот, принимающих участие в их образовании:

Репозиторий ВГУ

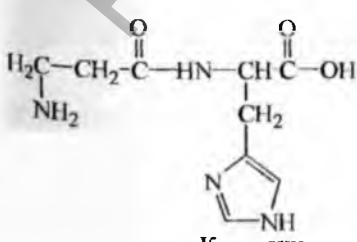
| количество аминокислот | количество пептидов |
|---|---|
| 2 | 2 |
| 3 | 6 |
| 4 | 24 |
| 5 | 120 |
| ... | ... |
| 20 | $10^{18}$ |

Существование различных типов пептидов практически не ограничено.

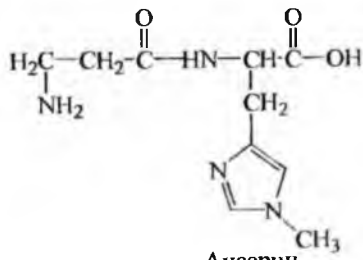
***Номенклатура пептидов.*** Пептидная цепь имеет одно направление и два разных конца – N-конец, несущий свободную аминогруппу первой аминокислоты, и С-конец, несущий карбоксильную группу последней аминокислоты. В названии пептидов аминокислотные остатки, принявшие участие в образовании пептидной связи карбоксильной группой, рассматриваются как радикалы и имеют окончание -ил. Например, аминокислотная последовательность пептидного гормона ангиотензина 11: ***аспартил-аргинил-валил-тирозил-изолейцил-гистидил-пролил-енилаланин.*** Чаще пользуются трехбуквенными, а в последнее время однобуквенными обозначениями аминокислотных остатков. Состав того же ангиотензина 11 записывается следующим образом: ***Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe*** или соответственно **DRVYIHPF**.

**Природные пептиды небелковой природы.** Многие пептиды содержатся во всех типах организмов и отличаются по своей структуре от белков. Они разнообразны по структуре, иногда содержат не только L-, но и D-аминокислоты. В связи с разнообразием структуры, и исходя из принципа взаимосвязи структуры и функции, биологические функции таких пептидов многоплановы.

В мышечной ткани позвоночных обнаружены ***карнозин*** *(β-аланил-гистидин)* и ***ансерин*** *(β-аланил-$N^3$-метилгистидин)*. Значение этих пептидов в биохимии мышц полностью не выяснено. Считают, что они в клетках мышц действуют как эффективные буферные системы в поддержании постоянного pH, благодаря наличию имидозольной группы гистидина (pKa≈6).



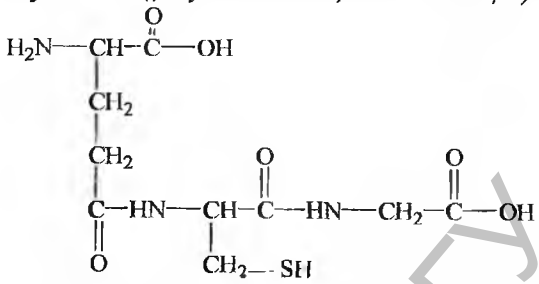
Карнозин



Ансерин

Репозиторий ВГУ

***Глутатион*** *(γ-глутаминил-цистеинил-глицин)*:



Особенностью строения глутатиона является то, что γ-карбоксильная (а не α-карбоксильная) группа глутаминовой кислоты принимает участие в образовании пептидной связи. Глутатион присутствует в организме животных, растений и бактерий. Он может быть в восстановленной (G–SH) и окисленной (G–S–S–G) формах, создавая окислительно-восстановительную систему.

Глутатион принимает участие в:

– транспорте аминокислот через клеточные мембраны;

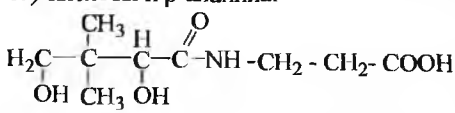
– поддержании восстановленного состояния железа ($Fe^{2+}$) в молекуле гемоглобина;

– обезвреживании ядовитых окисленных агентов.

Восстановленный глутатион защищает HS–группы белков от окисления; окисляются HS-группы не белков, а глутатиона. При этом восстановленный глутатион превращается в окисленный, т.е. глутатион выступает в организме как антиоксидант. Окисленный глутатион регенерирует в восстановленный.

Кишечнополостные (*Hydra*) очень чувствительно отвечают реакцией поедания на $10^{-6}$ молярные растворы глутатиона. Антагонистом глутатиона является офтальмовая кислота (*γ-глутамил-α-аминобутирил-глицин*).

***Пантотеновая кислота*** *(α,γ-дигидрокси-β,β-диметилбутирил-β-аланин)* представляет дипептид пантоевой *(α,γ-дигидрокси-β,β-диметилмасляной)* кислоты и β-аланина:

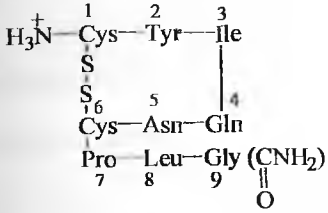


Пантотеновая кислота является витамином и входит в состав кофермента ацилирования (CoA).

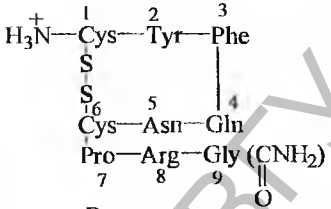
***Пептидные гормоны.*** Гормоны пептидной природы в основном пептиды небольшого и среднего размеров. Гормоны гипоталамуса, как правило, представлены полипептидами. Представителями пептидных гормонов являются ***окситоцин и вазопрессин*** гипофиза. Оба гормона

Репозиторий ВГУ

нонапептиды имеют цикл из шести остатков аминокислот и боковую цепь из трех аминокислотных остатков. На С-конце находится не свободная карбоксильная, а амидная группа глицина. Различие между ними состоит в аминокислотных остатках в 3 и 8 положениях, что и обуславливает их специфическое биологическое действие.




Окситоцин человека




Вазопрессин человека

Окситоцин стимулирует сокращение матки у беременных и выделение молока у кормящих самок. Вазопрессин обладает сильным антидиуретическим действием, стимулируя реабсорбцию воды почками, стимулирует сокращение гладких мышц, особенно стенок кровеносных сосудов и таким путем принимает участие в контроле кровяного давления.

***Ангиотензин.*** Сильным прессорным действием обладает ***ангиотензин II,*** который является линейным октапептидом и способствует повышению кровяного давления, стимулируя сокращение кровеносных сосудов. Ангиотензин II образуется в легких из декапептида ангиотензина I, источником которого служит белок плазмы ангиотензиноген, синтезируемый печенью. Ангиотензин I образуется из ангиотензиногена под действием фермента ренина, синтезируемого в почках и секретируемого в кровь.

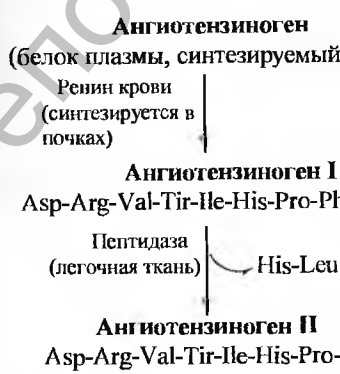



Рис. 3.1. **Схема превращения ангиотензиногена.**

Репозиторий ВГУ

Помимо влияния на кровяное давление ангиотензин II оказывает действие на центральную нервную систему, вызывая жажду и стимулируя секрецию вазопрессина гипофизом.

***Пептиды-нейромедиаторы.*** В 1975 г. открыта группа пептидов, которые регулируют передачу импульсов в нервных клетках (нейронах). Эти пептиды впервые были обнаружены в тканях мозга и названы ***энкефалинами.*** Их также называют ***опиатными*** пептидами, так как механизм их действия сходен с механизмом действия морфина и других опиоидов. Опиатные пептиды содержатся в организме позвоночных и беспозвоночных в очень малых количествах.

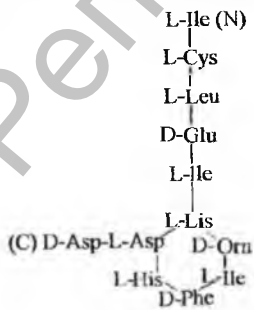
Первыми в этой группе открыты два пентапептида, которые отличаются одним аминокислотным остатком на С-конце:

Tyr- Gly-Gly- Phe- Met ***(Met)-энкефалин***

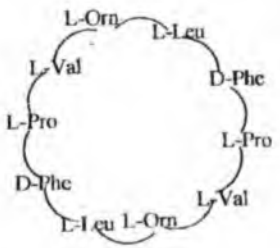
Tyr- Gly-Gly- Phe- Leu ***(Leu)-энкефалин***

Одной из функций опиатных пептидов является обезболивающее действие. В лабораторных испытаниях (Met)-энкефалин проявлял примерно в 20 раз более сильный обезболивающий эффект по сравнению с (Leu)-энкефалином, хотя различие в структуре только в последнем аминокислотном остатке. Имеются опиатные пептиды больших размеров и обладающих более сильным действием. Например, ***динорфин*** состоит из 13-ти, ***α β-эндорфин*** из 31 аминокислотного остатка и в этих полипептидах содержатся в качестве структурных фрагментов (Met)-энкефалин и (Leu)-энкефалин, что отражает происхождение этих соединений из одних и тех же предшественников. Известен ряд других опиатных пептидов, которые представляют особый предмет исследований.

***Пептидные антибиотики.*** Многие антибиотики имеют полностью пептидную природу либо в молекулу антибиотика входит пептидный фрагмент. ***Бацитрацин А*** содержит гексоциклическую структуру, состоит из 12 аминокислотных остатков D- и L- ряда. ***Грамицидин S*** представляет циклический декапептид, в состав которого входят два остатка D-фенилаланина и остаток L-орнитина.



Бацитрицин А



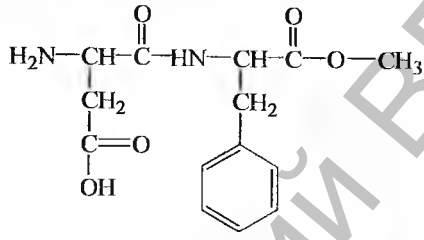
Грамицидин S

Репозиторий ВГУ

Пенициллин в своем составе содержит своеобразные пептидные фрагменты из цистеина и D-валина.

Антибиотики используют в качестве хемиотерапевтических препаратов для борьбы с болезнями, хотя природная биологическая их роль – это средство самозащиты микроорганизмов, которые их синтезируют.

Отдельные пептиды обладают сладким вкусом. Так, например, с 1981 г. используется в качестве низкокалорийной добавки для придания пищевым продуктам сладкого вкуса аспартам, который представляет метиловый эфир дипептида L-аспартил-L-фенилаланина.



Аспартам

## 3.2. Белки (протеины)

Белки являются основой структуры и функций живых организмов. По мнению Ф. Крика, одного из основоположников молекулярной биологии, белки важны потому, что они выполняют самые разнообразные функции с необыкновенной легкостью и изяществом.

В природе, по подсчетам, существует примерно от $10^{10}$ до $10^{12}$ различных белков, которые обеспечивают существование $1{,}2 \cdot 10^{6}$ видов живых организмов различной сложности организации, начиная от вирусов и кончая человеком.

Каждый организм характеризуется уникальным набором белков. Фенотипические признаки и многообразие функций обусловлены специфичностью объединения белков в виде надмолекулярных и мультимолекулярных структур, определяющих ультраструктуру клеток и их органелл. В клетке E. coli содержится около 3000 различных белков, а в организме человека насчитывается около 5000000 разнообразных белков. Известна точная структура примерно 1000 белков. В целях более полного понимания функций белков необходимо рассмотреть уровни структурной организации молекул белков.

**Первичная структура белка** – строго определенная последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи

Репозиторий ВГУ

(рис. 3.2). Она детерминирована генетически, определяется природой и относительным количеством входящих в молекулу белка аминокислотных остатков. Известна полная последовательность около 2000 белков. Высшие уровни организации белков, в частности, общая конформация и биологическая активность, определяются первичной структурой белка. Это ярко подтверждается на примере строения гемоглобина. Так, $\beta$-цепь нормального гемоглобина человека HbA в 6-м положении содержит отрицательно заряженную полярную глутаминовую кислоту, тогда как β-цепь гемоглобина серповидных клеток HbS содержит нейтральную и неполярную аминокислоту валин.

Рис. 3.2. **Схема первичной структуры белка.**

Рис. 3.3. **Последовательность аминокислотных остатков в молекуле рибонуклеазы (первичная структура).**

Репозиторий ВГУ

На первый взгляд, незначительное изменение в структуре, при общем числе 574 аминокислотных остатков, ведет к изменению свойств HbS. Падает способность связывать кислород, в результате развивается наследственная болезнь – серповидноклеточная анемия.

Первичная структура обеспечивается пептидными связями. Пептидная (амидная) связь образуется за счет карбоксильной группы одной аминокислоты и аминогруппы последующей аминокислоты. В результате рентгеноструктурного анализа, проведенного Л. Полингом и Р. Кори в начале 50-х годов прошлого столетия, были установлены строение и параметры пептидной связи.

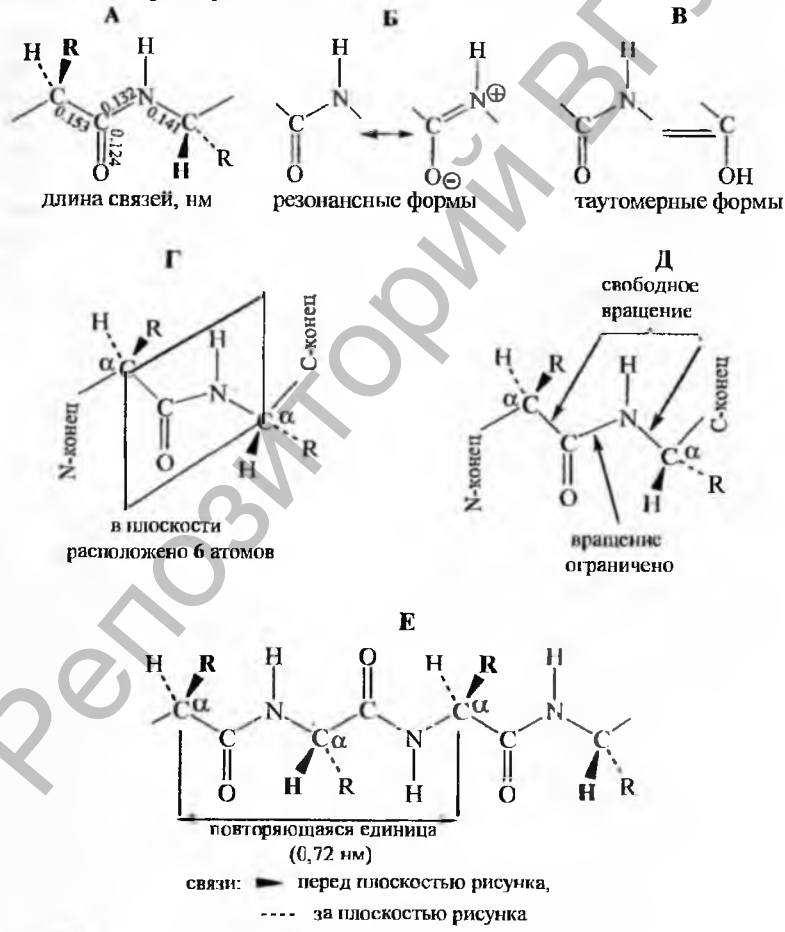



Рис. 3.4. **Строение и характеристика пептидной связи.**

Репозиторий ВГУ

Пептидная связь и полипептидная цепь характеризуются следующими особенностями строения (рис. 3.4).

**1.** Длина связи С – N в амидной группе (в пептидной связи) равна 0,132 нм (рис. 3.4А) и имеет промежуточное значение между длиной двойной ковалентной связи (0,121 нм) и одинарной ковалентной связи (0,147 нм). Некоторое выравнивание длин связей происходит в результате сопряжения. Связь С – N имеет частично характер двойной связи ($\pi$-связи), что можно объяснить исходя из резонансных и таутомерных структур (рис. 3.4Б, В). Исходя из $\pi$-характера связи следует, что вращение вокруг оси С – N затруднено (барьер вращения составляет 63–84 кДж/моль).

**2.** Электронное строение предопределяет жесткое планарное строение пептидной связи, где четыре атома пептидной связи и два присоединенных α-углеродных атома находятся в одной плоскости (рис. 3.4Г). Каждый планарный пептидный фрагмент содержит две σ-связи с двумя α-углеродными атомами, позволяющие свободное вращение по осям С – С и N – С (рис. 3.4Д).

**3.** Атомы О и Н пептидной связи и два α-углеродных атома имеют *транс*-ориентацию относительно пептидной связи, которой они связаны.

**4.** Радикалы каждого из α-углеродных атомов расположены регулярным образом в транс-положении относительно друг друга (рис. 3.4Е).

**Вторичная структура белка** – пространственная ориентация полипептидной цепи, т.е. способ упаковки, свертывания, скручивания полипептидной цепи в определенную конформацию в результате свободного вращения вокруг связей полипептидной цепи, соединяющих α-углеродные атомы. Некоторые из этих образований носят регулярный характер и обуславливают периодичность структуры. Примерами вторичной структуры, обнаруженными в природных полипептидных цепях, являются ***α-спираль, β-складчатый лист, статистический клубок***. Эти структуры возникают в соответствии с программой, заложенной в первичной структуре белка. Спиральные и складчатые формы представлены упорядоченным, а статистический клубок – относительно упорядоченным расположением полипептидной цепи. *α*-Спираль и *β*-складчатый лист были предложены в 1951 году Л. Полингом и Р. Кори. Структура α-спирали была ими предсказана за 6 лет до экспериментального подтверждения ее существования методом рентгеноструктурного анализа миоглобина.

***α-Спираль.*** В полипептидных цепях, состоящих из L-аминокислот, встречается ***правая α-спираль***, которая имеет вид стержня. Правая спираль выгодно отличается от левой благодаря тому, что радикалы аминокислотных остатков располагаются по спирали и направлены наружу от основной цепи, сводя к минимуму затруднения

Репозиторий ВГУ

их стерического расположения. В стабилизации конформации *α*-спирали играют ***водородные связи***, которые образуются между карбонильным атомом кислорода (**C=O**) каждого **первого** и атомом водорода **NH** – группы каждого **пятого** остатка α-аминокислот. В результате все CO и NH-группы полипептидной цепи связаны между собой водородными связями, расположенными почти параллельно центральной оси (рис. 3.5).

Шаг спирали составляет **0,54** нм, расстояние между аминокислотными остатками по оси спирали – **0,15** нм, а угол между ними составляет **100°**. На полный виток спирали приходится **3,6** аминокислотных остатка ($360^0 : 100^0 = 3,6$).

Спирилизация полипептидных цепей в различных белках колеблется от 0 до 80–90%. Так, например, в гемоглобине и миоглобине α-спираль является основой структуры на 75%, а фермент химотрипсин практически не содержит α-спиральной структуры.

Спиральную структуру полипептидной цепи может нарушить наличие остатка пролина, циклическая структура которого вносит излом в пептидную цепь и наличие кластера положительно заряженных радикалов лизина и аргинина или кластера отрицательно заряженных радикалов аспарагиновой и глутаминовой кислот.

Л. Полинг и Р. Кори открыли и другой вариант вторичной структуры и назвали ***β-складчатым слоем (β-складчатым листом)***, β потому, что второй после α-спирали. Сравнительная характеристика α-спирали и β-складчатого листа представлена на рис. 3.6.

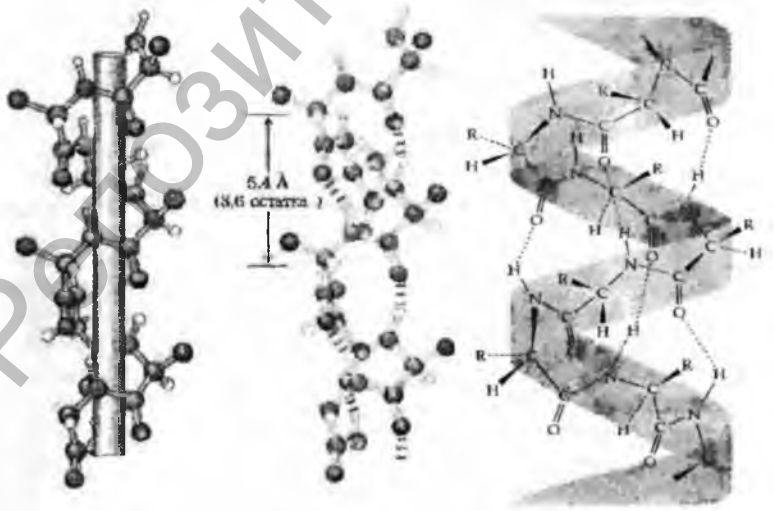
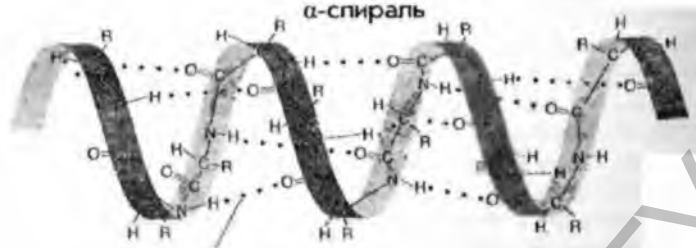



Рис. 3.5. **Пространственные модели структуры α-спирали.**

Репозиторий БГУ



Антипараллельный β-лист одной полипептидной цепи

Рис. 3.6. **Структура α-спирали и β-складчатого листа.**

β-Складчатая структура имеет плоскую форму. Полипептидные цепи в β-складках вытянуты. Расстояние по оси между аминокислотными остатками составляет 0,35 нм (в α-спирали – 0,15 нм). Особенность β-складчатой структуры состоит в том, что она поддерживается водородными связями между C=O и N–H группами разных полипептидных цепей или внутримолекулярными водородными связями между различными участками одной и той же пептидной цепи. Водородные связи расположены перпендикулярно полипептидной оси.

Полипептидные цепи, лежащие рядом в складчатой β-структуре, могут быть направлены параллельно в одну сторону (***параллельный***

Репозиторий ВГУ

***β-слой)*** и в противоположном направлении – ***антипараллельный β-слой*** (рис. 3.6). Хотя в природе встречаются оба типа, но антипараллельное расположение более стабильно, т.к. в этом случае диполи C=O и N–H оптимально взаимодействуют благодаря коаксиальному расположению. Например, фиброин шелка состоит почти целиком из «штабелей» антипараллельных β-складчатых листов.

***Статистический клубок*** представляет собой участок полипептидной цепи, не обладающий спиральной или складчатой структурой. Но это не означает произвольной ориентации полипептидной цепи, а наоборот, обладает определенной высокоупорядоченной статистической структурой.

**Третичная структура** описывает полную трехмерную архитектуру белка, в том числе и простетической группы, если она имеется. Другими словами, третичная структура характеризуется определенной пространственной ориентацией полипептидной цепи или способом укладки в определенном объеме (рис. 3.7).

Рис 3.7. **Пространственная укладка β-полипептидной цепи гемоглобина.**

Стабилизация третичной структуры белка кроме ковалентных связей (пептидных и дисульфидных) обеспечивается:

1) электростатическими силами притяжения между боковыми цепями с противоположно заряженными ионными группами (ион-ионные взаимодействия);

2) водородными связями между группами, не участвующими в образовании пептидной связи, например, между остатками тирозина и глутаминовой кислоты;

3) водородными связями пептидных группировок спиральных структур и структур типа складчатого листа;

4) гидрофобными взаимодействиями между неполярными боковыми радикалами аланина, лейцина и других неполярных аминокислот;

5) взаимодействиями в простетической группе, например, между ионом металла и различными R-группами.

В зависимости от укладки полипептидой цепи (цепей) молекулы белков бывают глобулярные (шароподобные) и фибриллярные (нитеподобные).

Две (или несколько) α-спирали могут закручиваться одна вокруг другой, как тяжи в канате. α-Спирализованная суперспираль содержится в кератине шерсти, волос, перьев, ногтей, когтей, рогов, эпидермисе кожи, миозине и тропомиозине мышц, фибрине в сгустках крови.

Репозиторий БГУ

Из фибриллярных белков наиболее изучен ***коллаген***. Коллаген является основным компонентом соединительной ткани. Около 30% массы белков и 6% массы организма приходится на коллаген. Его количество в нашей биосфере оценивают в 1 миллиард тон.

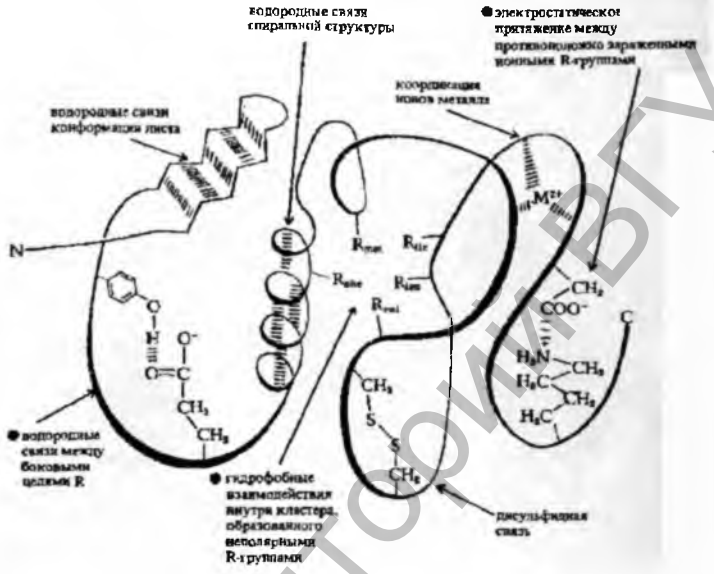



Рис. 3.8. **Схема связей в молекуле глобулярного белка.**

Структура коллагена представляет собой перекрученную спираль, которую называют ***тропоколлагеном***. В тропоколлагене три одинаковые левозакрученные цепи скручены вместе с образованием правозакрученной тройной спирали.

Каждая цепь более вытянута по сравнению с α-спиралью. Структура тройной спирали обусловлена аминокислотым составом и последовательностью. Почти треть аминокислотных остатков составляет глицин, четверть – пролин и гидроксипролин, а остальная часть приходится на все остальные аминокислоты, включая гидроксилизин. Почти в каждом третьем положении находится остаток глицина, очень часто встречаются трипептидные фрагменты Gly-X-Pro, Gly-X-Hyp и Gly-Pro-Hyp и тетрапептидный фрагмент Gly-Gly-Gly-Gly, обеспечивающие образование тройной спирали и невозможность α-спирали.

Репозиторий ВГУ

Перекрученная тройная спираль, или ***тройной скрученный тяж,*** поддерживается многими ***межмолекулярными водородными связями.*** Кроме того, имеются ***ковалентные,*** так называемые ***альдольные, связи*** между полипептидными цепями, образованные лизином и гидроксилизином. Альдольная поперечная связь может превращаться в гистидин-альдольную поперечную связь. Все это позволяет относить тройную спираль коллагена как к третичной, так и четвертичной структуре.

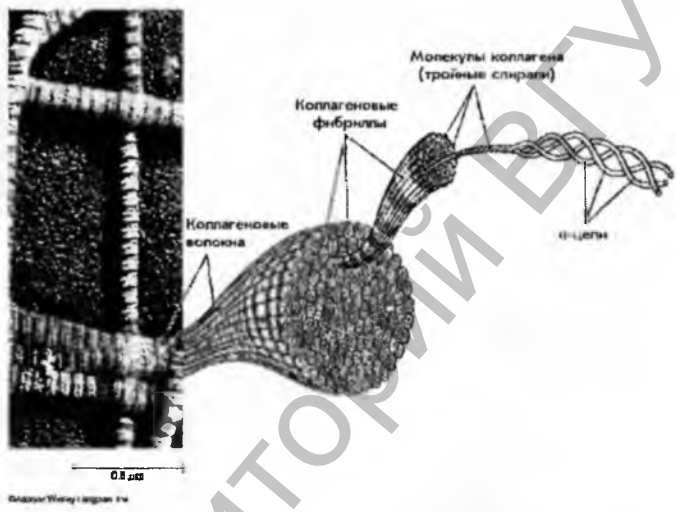



Рис. 3.9. **Тройная спираль коллагена и коллагеновые фибриллы.**

Электронно-микроскопические и гидродинамические исследования показали, что тропоколлаген имеет форму стержня длиной 300 и диаметром 1,5 нм. Благодаря строению коллагеновое волокно обладает удивительной прочностью. Для разрыва волокна диаметром 1 мм нужно приложить силу в 10 кг.

В процессе нагревания раствора коллагена происходит дестабилизация тройной спирали, падение вязкости раствора с исчезновением спиральности структуры отдельных цепей. В результате возникает разорванная структура – желатин, имеющий конфигурацию статистического клубка.

Следует отметить, что различие между различными уровнями структурной организации белковой молекулы в определенной мере условно.

Репозиторий ВГУ

Рис. 3.10. **Образование тропоколлагена и коллагенового волокна.**

**Четвертичная структура.** Белки, состоящие из нескольких полипептидных цепей (субъединиц), соединенных ***нековалентными связями,*** характеризуются четвертичной структурной организацией. Четвертичная структура – это способ агрегации (укладки) отдельных полипептидных цепей, обладающих одинаковыми (или разными) первичными, вторичными и третичными уровнями структурной организации. Белки такого типа называют олигомерами. В природе чаще встречаются димеры, тетрамеры и гексамеры, хотя известны и олигомеры с большим числом субъединиц. Гомогенные олигомеры состоят из одинаковых субъединиц, а гетерогенные олигомеры – из разных.

РЕПОЗИТОРИЙ БГУ

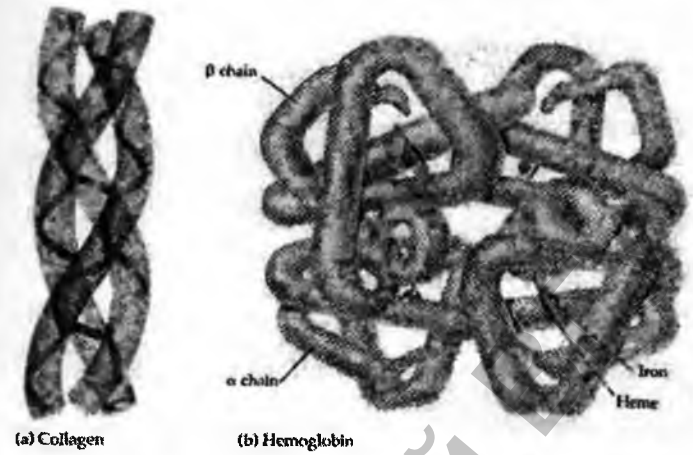



Рис 3.11. **Тетрамерная структура гемоглобина и тройная спираль коллагена.**

Стабилизация четвертичной структуры поддерживается за счет электростатических, водородных связей и гидрофобных взаимодействий между боковыми цепями, расположенными вблизи поверхности каждого протомера.

Наиболее полно изучена четвертичная структура гемоглобина, молекула которого имеет почти правильную глобулярную форму диаметром 0,55 нм. Четыре (2α- и 2β-) цепи гемоглобина расположены в виде тетраэдра (рис. 3.11). У каждой субъединицы в углублении на наружной стороне молекулы содержится гем на далеком расстоянии от других. Расстояние между двумя ближайшими атомами железа составляет 0,25 нм. Каждая α-цепь тесно взаимодействует с двумя β-цепями, в то время как между двумя α- или двумя β-субъединицами связь незначительная.

Для многих белков с четвертичной структурой характерно явление ***кооперативности***. Суть положительной кооперативности состоит в том, что первоначальное связывание лиганда с одним центром облегчает связывание следующего лиганда с другим центром и так далее.

В случае гемоглобина первая связанная молекула кислорода облегчает связывание второй молекулы $O_2$ со вторым гемом, что в свою очередь облегчает связывание третьей молекулы $O_2$ с третьим гемом, а это облегчает связывание четвертой молекулы $O_2$ с четвертым гемом (рис. 3.12).

Репозиторий БГМУ

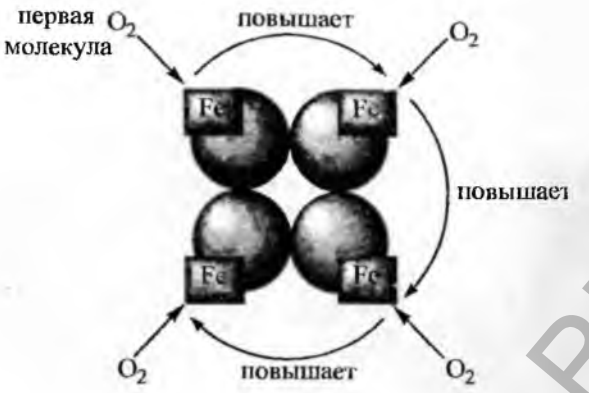



Рис. 3.12. **Кооперативность связывания кислорода гемоглобином.**

Свойство кооперативности связано с явлением ***аллостеризма***. Присоединение первой и последующих лиганд (в случае гемоглобина молекул $O_2$) изменяет трехмерную конформацию и активность белка.

**Физико-химические свойства белков.** Физико-химические свойства белков определяются аминокислотным составом и структурной организацией белковой молекулы. Отдельный конкретный белок характеризуется особыми уникальными свойствами, присущими только данному белку. Но для белков характерны и общие физико-химические свойства.

***Молекулярная масса.*** Белки представляют полимерные соединения, в состав которых входят сотни и тысячи аминокислотных остатков и их молекулярная масса колеблется от 600 до 1 000 000 Да и выше в зависимости от количества субъединиц, входящих в состав единой молекулярной структуры. Молекулярная масса субъединиц варьирует в значительных пределах.

Для определения молекулярной массы белков применялись и применяются осмометрический, вискозиметрический, диффузионный, оптический методы, метод ультрацентрифугирования, гель-фильтрации и другие методы. Определение молекулярной массы белка довольно сложная задача. Первое успешное измерение молекулярной массы белка было проведено Адаиром (Adair) в 1920 г. Он определил молекулярную массу гемоглобина по осмотическому давлению в 72 000, а по современным данным – 64 500–66 000 Да. Результаты измерений зависят от метода. Например, молекулярная масса β-лактоглобулина, измеренная осмометрическим методом, составляла 48 000, ультрацентрифугирования – 38 000, оптическим – 36 000 и методом рентгеноструктурного анализа – 40 000 Да.

Репозиторий ВГУ

Таблица 3.2

**Молекулярная масса белков**

| Белок | Молекулярная масса | Количество субъединиц |
|---|---|---|
| Инсулин | 11 466 | 1 |
| Цитохром *с* | 13 000 | 1 |
| Рибонуклеаза | 13 700 | 1 |
| Лизоцим | 13 900 | 1 |
| Миоглобин | 16 900 | 1 |
| Химотрипсин | 21 600 | 1 |
| Карбоангидраза | 30 000 | 1 |
| Пероксидаза | 40 000 | 1 |
| Гемоглобин | 64 500 | 4 |
| Гексокиназа | 102 000 | 2 |
| Лактатдегидрогеназа | 140 000 | 4 |
| Церулоплазмин | 151 000 | 8 |
| Гликогенфосфорилаза | 194 000 | 2 |
| Пируватдегидрогеназа | 260 000 | 4 |
| Аспартаткарбамоилтрансфераза | 310 | 12 |
| Ферритин | 440 000 | 24 |

***Растворимость белков*** является важным показателем, характеризующим их физико-химические свойства. Белки, растворяясь в воде, образуют коллоидные растворы, диаметр частиц колеблется от 0,001 до 0,1 мкм. Частицы белка не проходят через полупроницаемые мембраны, и это свойство лежит в основе очистки белков от низкомолекулярных соединений методом диализа. Растворимость белков определяется наличием полярных боковых радикалов, электрическим зарядом и степенью гидратации. Чем больше в молекуле белка ионогенных радикалов, тем выше его растворимость и чем больше молекулярная масса белка, тем большее количество таких радикалов необходимо для его растворения. Изоэлектрическая точка большинства белков ниже pH 7, поэтому в физиологических условиях большинство белков несут избыточный отрицательный заряд. В результате этого происходит связывание молекул воды с образованием гидратной оболочки и связывание положительно заряженных ионов, которые окружают молекулу белка, и эти факторы обеспечивают устойчивость раствора белка. Чем больше полярных радикалов в белке, тем больше связывается воды (в расчете на 1 г белка). Гидратная вода может составлять 20% массы белка. Большинство глобулярных белков жидкостей и тканей организма хорошо растворимы. Некоторые хорошо гидратированные белки

Репозиторий ВГУ

растворяются плохо. Например, коллаген связывает воды намного больше, чем многие хорошо растворимые глобулярные белки, но сам не растворяется. Такой фибриллярный белок, как кератин волос, шерсти, ногтей, когтей, копыт, рогов, нерастворим.

Нейтральные соли в небольших концентрациях повышают растворимость белков. Высокие концентрации солей (повышение ионной силы раствора) оказывают противоположное действие. В связи с этим растворы нейтральных солей используются для выделения из биологического материала и избирательного осаждения белков, т.е. их фракционирования путем ***высаливания.*** Механизм высаливания состоит в том, что анионы и катионы растворов солей снимают гидратную оболочку белков, обеспечивающую их устойчивость в растворе.

Высаливание широко используется для разделения и очистки белков и белковых препаратов. Белки, полученные путем высаливания, сохраняют свои биологические свойства и функции после удаления солей или снижения их концентрации. Для высаливания белков чаще всего применяют сульфат натрия и аммония. Белки осаждают органическими водоотнимающими средствами, такими, как этанол, метанол, ацетон и др. Механизм аналогичен высаливанию.

***Кислотно-основные свойства.*** В белках и полипептидах все α-карбоксиьные и α-аминогруппы, за исключением концевых, принимают участие в образовании пептидных связей. Поэтому ***ионный характер*** белков (полипептидов) ***определяется кислотными и основными группами радикалов,*** присутствующими в белке.

В зависимости от **pH** ионогенные группы радикалов ***Glu, Asp, Tyr*** и ***SysH*** способны вносить ***отрицательный заряд***, а группы радикалов ***Lys, Arg*** и ***His*** при диссоциации вносят ***положительный заряд.*** Радикалы нейтральных аминокислот на суммарный заряд молекулы белка не влияют. Белки, как и аминокислоты, проявляют ***амфотерные свойства,*** для них характерно ***изоэлектрическое состояние*** и для каждого белка определенное значение pH, соответствующее ***изоэлектрической точке.*** В изоэлектрической точке молекулы белка электронейтральны и белок неподвижен в электрическом поле.

При значениях ***pH выше*** изоэлектрической точки белок имеет суммарный ***отрицательный заряд,*** а при ***pH ниже*** изоэлектрической точки – суммарный ***положительный заряд.***

***Полионная природа*** белков и биологически активных полипептидов играет важную роль в их структуре, которая определяет их биологическую активность. Кроме того, ионные свойства позволяют провести лабораторный анализ белков, полипептидов и аминокислот методом ***электрофореза*** и ***ионообменной хроматографии.*** Различные виды хроматографии и электрофореза широко используются в целях

Репозиторий ВГУ

выделения и очистки, измерения молекулярной массы, изучения структуры и оценки чистоты выделенных белков.

***Электрофорез*** основан на передвижении заряженных частиц (ионов) в электрическом поле. Впервые различие в зарядах было использовано для разделения макромолекул Тизелиусом в 1937 г. За достижения в этой области ему присуждена в 1948 г. Нобелевская премия.

Под действием внешнего электрического поля молекулы, несущие заряд, двигаются к электроду противоположного знака. Движение белка (полипептида) происходит в жидкой среде, которая удерживается инертным твердым носителем, например, бумагой или полужидким гелем. Подвижность заряженной молекулы в электрическом поле называется ***электрофоретической подвижностью μ***. Для сферической молекулы $\mu = Q / 6\pi\eta r \cdot V$, где **Q** – суммарный заряд молекулы, **r** – радиус молекулы (в см), **η** – вязкость жидкой среды, в которой движется ион, **V** – приложенное напряжение.

В среде с постоянной вязкостью и напряжением движение молекулы определяется отношением заряда к ее размеру: $\mu = Q / r$. С увеличением этого отношения подвижность молекул растет и если они не слишком различаются по размерам, то подвижность μ становится пропорционально заряду: $\mu = Q$, и с повышением заряда подвижность возрастает.

Электрофорез широко использовался и используется при анализе сыворотки крови на содержание альбуминов и глобулинов. Важную роль сыграл этот метод при изучении гемоглобина больных серповидноклеточной анемией. Было установлено, что ***HbS*** отличается по своей электрофоретической подвижности от нормального ***HbA*** человека (Л. Полинг и др., 1949) и это положило начало изучению «молекулярных болезней». Серповидноклеточная анемия наследуется по простым законам Менделя. Гомозиготные индивидуумы по гену ***HbS*** обычно умирают в раннем возрасте. У гетерозиготных индивидуумов по этому гену содержится примерно 40% ***HbS***. Такие люди испытывают неприятные ощущения после физической нагрузки и недостаточности кислорода. В окисленной форме ***HbS*** и ***HbA*** можно различить только с помощью электрофореза. В восстановленной форме ***HbS*** в 50–100 раз менее растворим, чем ***HbA***. Частота гена ***HbS*** высока в малярийных местностях, что связано с устойчивостью к малярии.

В последние годы наибольшее распространение получил электрофорез в полиакриламидном геле при анализе белков и нуклеиновых кислот.

***Хроматография***. Впервые предложенный метод хроматографии для изучения пигментов растений русским ботаником М.С. Цветом в 1905 г. в настоящее время используется в различных вариантах: бумажная хроматография, ионообменная колоночная хроматография, жидкостная хроматография и др.

Репозиторий ВГУ

В основе всех видов хроматографии лежит один принцип: непрерывный поток подвижной фазы, содержащей анализируемый образец, проходит через стационарную фазу, которая в зависимости от своей природы взаимодействует компонентами изучаемого образца в различной степени, что и определяет скорость движения изучаемых компонентов.

Методы хроматографии различаются по типу взаимодействия изучаемых компонентов и стационарной фазой, в которых используются ионный обмен, растворимость, адсорбция или фильтрация. Часто используется комбинация этих свойств и процессов.

***Денатурация и ренатурация белков.*** Осаждение белков под действием различных физико-химических факторов, нарушающих вторичную, третичную и четвертичную структуру, молекула теряет свои нативные (природные) физико-химические и биологические свойства. Это явление получило название ***денатурации*** белка.

Денатурация белка сопровождается разрывом связей, стабилизирующих четвертичный, третичный и вторичный уровни организации белковой молекулы. Полипептидная цепь находится в растворе в развернутом виде или в виде беспорядочного клубка, теряет гидратную оболочку, происходит нейтрализация зарядов полярных групп, уменьшается растворимость, белок выпадает в осадок. Денатурированный белок не обладает присущей ему биологической активностью, он более легко подвергается гидролизу в желудочно-кишечном тракте под воздействием ферментов пептидаз. В желудке животных и человека синтезируется соляная кислота, которая выполняет роль природного денатурирующего фактора.

Денатурацию белков вызывают кислоты, щелочи, спирт, ацетон, детергенты, алкалоиды, соли тяжелых металлов, мочевина, соли гуанидина.

Механизм денатурирующего действия химических соединений определяется их физико-химическими свойствами. Кислоты и щелочи изменяют реакцию среды и вызывают осаждение белков. Большинство белков денатурируется при pH ниже 2 или выше 10–11. Но гистоны и протамины не денатурируются при этих значениях pH.

Тяжелые металлы взаимодействуют с полярными группами аминокислотных радикалов и тем самым нарушают систему водородных и ионных связей.

Мочевина в концентрации 8 моль/л, а гуанидин гидрохлорид в концентрации 2 моль/л конкурируют своими амидными группами в образовании водородных связей, в результате происходит диссоциация белков с четвертичной структурой на субъединицы, а затем разворачивание полипептидных цепей. Это свойство мочевины нашло широкое применение в лабораторной практике для обнаружения и

Репозиторий ВГУ

доказательства четвертичной структуры белка и в борьбе с вредителями.

Рис. 3.13. **Схема денатурации и ренатурации белка**.

Долгое время считали, что денатурация является процессом необратимым. Однако в отдельных случаях при удалении денатурирующего агента происходит восстановление первоначальной структуры белка, его физико-химических свойств и биологической активности. Этот процесс носит название ренатурации (рис. 3.13).

Физическими факторами, вызывающими денатурацию белка, являются температура, давление, механическое воздействие, ультразвуковое и ионизирующее излучение. Наиболее детально изучена тепловая денатурация. Большинство белков термолабильны, при нагревании коагулируют и выпадают в осадок. В природе встречаются и термостабильные белки, такие, как трипсин, химотрипсин, лизоцим и некоторые белки мембран. Особой термоустойчивостью отличаются белки бактерий – обитателей горячих источников.

Термическая обработка продуктов, содержащих белки, способствует лучшему гидролизу под действием пищеварительных ферментов.

**Классификация белков.** В настоящее время нет единой классификации белков. Одни авторы придерживаются химической структуры, формы белковых молекул, происхождения, другие – биологической функции.

Репозиторий ВГУ

По классификации белков, основанной на их биологической функции, выделяют:

– структурные белки – коллаген, эластин, кератин, фиброин и др.;

– запасные белки – казеин молока, альбумин яиц, глиадин пшеницы и др.;

– ферменты – амилаза, липаза, каталаза и др. (более двух с половиной тысяч);

– транспортные белки – гемоглобин, миоглобин, гемоцианин (переносят $O_2$), альбумин сыворотки (переносит жирные кислоты в крови), $\beta_1$-липопротеин (переносит липиды в крови), церулоплазмин (переносит медь в крови) и др.;

– защитные белки – иммуноглобулины, интерфероны, фибриноген, тромбин;

– сократительные белки – миозин, актин и др.;

– белки гормоны – инсулин, адренокортикотропин и др.;

– белки рецепторы – родопсин (фоторецепторный белок), рецепторы гормонов;

– токсины – токсин ботулизма, дифтерийный токсин, змеиные яды, рицин семян клещевины и др.

По химическому строению белки подразделяют на ***простые и сложные***. Простые белки состоят только из аминокислот, а сложные белки кроме аминокислот в своем составе содержат небелковый компонент, который называют ***простетической группой***. Такое деление белков условно, так как относительно простые белки существуют в виде различных комплексов с углеводами, липидами и неорганическими веществами.

К типичным сложным белкам относят те белки, у которых простетическая группа определяет химическую структуру и функцию данного белка.

**Характеристика отдельных групп простых белков.** ***Гистоны*** (греч. histos – ткань) – тканевые ядерные белки, являющиеся составной частью нуклеопротеинов. Они обладают выраженными основными свойствами, pI колеблется в пределах 9,5–12. Существует пять основных типов гистонов: H1, H2A, H2B, H3 и H4; каждый тип характеризуется высоким содержанием основных аминокислот. В составе гистонов лизин, аргинин и гистидин составляют 20–30%. Благодаря своей поликатионной природе гистоны (несут много положительных зарядов) идеально приспособлены для взаимодействия с полианионным пентозофосфатным остовом (несущим много отрицательных зарядов) двойной спирали ДНК. Белки гистоны связаны с ДНК ионными связями, отношение белок/ДНК близко к единице. У бактерий нет типичных гистонов, а у вирусов имеются гистоноподобные белки.

Репозиторий БГУ

Гистоны выполняют структурную функцию в стабилизации ДНК, обуславливая ее уникальную структуру и регуляторную в биосинтезе белка – блокировка передачи генетической информации от ДНК к м-РНК.

***Протамины*** представляют собой самые низкомолекулярные белки (М.м. 4 000–12 000), содержат в своем составе до 80% аргинина и обладают резко выраженными основными свойствами. Как и гистоны, протамины являются поликатионными белками и связываются с ДНК в хроматине спермиев, хотя замена гистонов на протамины наблюдается не у всех животных. Широко представлены протамины в сперматозоидах рыб. Отдельные протамины получили названия по источнику выделения: *сальмин* – протамин из молоки лосося, *клупеин* – из икры сельди, *труттин* – из молоки форели, *скумбрин* – из молоки скумбрии. Протамины выполняют структурную функцию, входя в состав нуклеопротеинов, но не выполняют регуляторной функции, поэтому и присутствуют в клетках, не способных к делению.

***Проламины*** представляют группу белков растительного происхождения, содержащихся в клейковине злаков. В составе проламинов преобладает иминокислота пролин, что положено в основу их названия, и глютаминовая кислота. Проламины не содержат лизина и триптофана. Для белков этой группы характерна нерастворимость в воде и солевых растворах. Они растворимы в 70–80%-ном этиловом спирте. В пшенице и ржи содержится белок глиадин, в ячмене – гордеин, в кукурузе – зеин, в овсе – овенин, в сорго – каферин.

***Глутелины*** – белки злаковых культур, в составе которых содержится 20–50% глутаминовой кислоты и 10–15% пролина. Глутелины обычно находятся вместе с проламинами в семенах злаков и обнаружены в листьях многих растений, где на их долю приходится более 40% от общего содержания белков. Они растворимы только в слабых растворах щелочей в связи со значительным содержанием аргинина.

Проламины и глутелины составляют основу клейковины и в значительной мере обуславливают вкусовые и питательные качества хлебо-булочных изделий.

***Альбумины*** – широко распространенные белки в растительном и животном мире, которые составляют значительную часть протоплазмы почти всех клеток. Они входят в состав крови, мышц, молока. Чем выше организм по своему филогенетическому развитию, тем больше альбуминов в крови. Так, в крови высших животных и людей они составляют большую часть белков плазмы. Молекулярная масса составляет 15 000–70 000. Альбумины характеризуются кислыми свойствами (pI 4,7) из-за высокого содержания глутаминовой кислоты, высокой гидрофильностью, хорошо растворимы в воде и в водно-солевых растворах, осаждаются при 80–100%-ном насыщении нейтральными солями (сульфатом аммония или натрия). Альбумины

Репозиторий ВГУ

обладают высокими адсорбционными свойствами, благодаря которым альбумины плазмы крови выполняют транспортную роль.

***Глобулины*** – белки растений и животных с высокой молекулярной массой (от 90 000 до 1 500 000 и более) по сравнению с альбуминами. Глобулины – слабокислые или нейтральные белки (pI 6 – 7,3), содержат меньше кислых аминокислот по сравнению с альбуминами. Это крупнодисперсные, слабогидратированные белки, нерастворимые в воде, но хорошо растворимые в растворах солей и щелочей, осаждаются при 30–50%-ном насыщении сульфатом аммония. Глобулины, как и альбумины, легко вступают во взаимодействие с липидами, углеводами, витаминами, солями. Они образуют комплексы различной прочности, выполняя роль специфических и неспецифических переносчиков.

Глобулины представлены тремя главными электрофоретическими фракциями: α-, β- и γ-глобулинами. Некоторые глобулины в организме животных играют роль защитных белков против инфекционных заболеваний. Фракция γ-глобулинов содержит антитела, которые называют иммуноглобулинами.

***Иммуноглобулины (Ig)*** – это белки, которые синтезируются в организме животного в ответ на присутствие чужеродного вещества – антигена. Известно пять типов иммуноглобулинов.

Молекулы антител секретируются плазматическими клетками, образовавшимися из В-лимфоцитов. Т-лимфоциты обеспечивают клеточный иммунный ответ, дополняя гуморальный ответ, состоящий в образовании растворимых иммуноглобулинов.

***IgM*** – это класс антител, которые первыми появляются в сыворотке, после введения антигена.

Таблица 3.3

**Свойства иммуноглобулинов человека**

| Тип | Масса, кДа | Концентрация в сыворотке, мг/мл | Относительное содержание, % | Содержание углеводов, % |
|---|---|---|---|---|
| IgG | 150 | 12 | 71 | 3 |
| IgA | 180–500 | 3 | 22 | 8 |
| IgM | 950 | 1 | 7 | 12 |
| IgD | 175–186 | 0.1 | Очень мало | ? |
| IgE | 200 | 0.001 | Очень мало | 11 |

***IgG*** – основной класс антител (иммуноглобулинов) сыворотки, которые длительное время называли γ-глобулинами.

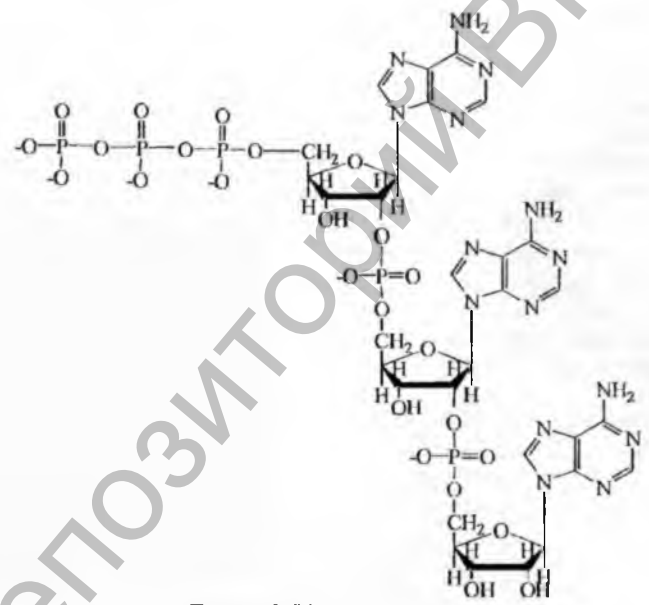
***IgA*** – это класс антител, выделяемых с различными продуктами внешней секреции, такими, как слезная жидкость, слизь бронхиального

Репозиторий БГУ

и кишечного эпителия, служат первой линией защиты против бактериальных и вирусных антигенов.

Роль ***IgD*** и ***IgE*** изучена недостаточно, однако следует отметить, что ***IgE*** опосредует аллергические реакции в организме.

***Интерфероны*** – группа небольших природных защитных белков, которые синтезируются лейкоцитами, фибробластами и тимусзависимыми лимфоцитами (Т-лимфоцитами) в ответ на вирусную инфекцию, нарушая процессы размножения вирусов. Интерфероны являются активными антивирусными агентами ($10^6$–$10^9$ единиц антивирусной активности на 1 мг белка). Одна молекула интерферона способна защитить от инфекции одну клетку. Известно 14 видов интерферонов.



Тример 2-5А

Интерфероны связываются с плазматической мембраной других клеток организма и клетки приобретают устойчивость к широкому спектру вирусов. Механизм действия интерферонов обусловлен тем, что интерфероны стимулируют биосинтез ферментов: ***олигонуклеотидсинтетазы*** (олигонуклеотидполимеразы), ***эндонуклеазы и протеинкиназы.*** Эти три фермента не проявляют своей активности до тех пор, пока клетка не заражается вирусом или не подвергается воздействию двухцепочной РНК. Активация этих ферментов блокирует биосинтез белка вирусов двумя различными путями.

Репозиторий ВГУ

Двухцепочная РНК активирует олигонуклеотидсинтетазу, которая синтезирует из АТР короткие олигоаденилаты, содержащие 2′–5′-фосфодиэфирные связи и несущие на 5′-конце трифосфатную группировку.

Триммер 2-5А активирует эндонуклеазу, которая расщепляет м-РНК на нуклеотиды, и тем самым ингибирует биосинтез белков.

С другой стороны протеинкиназа фосфорилирует фактор инициации белка IF-2 и таким путем инактивирует его и нарушает биосинтез белков.

Таким образом, интерфероны осуществляют антивирусное действие, ингибируя биосинтез белков, необходимых для размножения вирусов.

**Характеристика отдельных групп сложных белков.** Большую группу сложных белков представляют хромопротеины, содержащие хромофорные (окрашенные) группы. Основными представителями хромопротеинов являются миоглобин, гемоглобин, цитохромы, гемоцианин.

***Миоглобин*** относительно небольшой, мономерный белок, состоящий из 153 аминокислотных остатков (17,8 кДа), молекула очень компактна, ее объем равен 4,5 х 3,5 х 2,5 нм. Примерно 75% цепи находится в конформации α-спирали. Внутри молекулы практически нет свободного пространства. Внутренняя часть молекулы почти целиком состоит из остатков неполярных аминокислот, таких, как лейцин, валин, метионин, фенилаланин, и только два остатка гистидина расположены в активном центре. На наружной стороне молекулы располагаются как полярные, так и неполярные аминокислотные остатки.

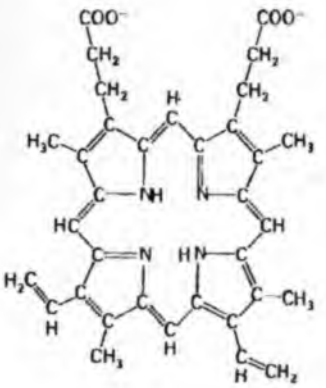
Миоглобин в мышцах выполняет функцию резервного источника кислорода. У высших животных и людей миоглобин связывает около 10–15% кислорода, поступающего в организм. Большую роль он играет в организме водоплавающих ныряющих животных – китов, дельфинов, тюленей, черепах и других, длительное время пребывающих под водой. Мышцы этих животных очень богаты миоглобином, обогащенным кислородом. У тюленя около 40–50% всего кислорода в организме связано с миоглобином. Черепахи около часа могут находиться под водой, процессы тканевого дыхания в это время обеспечивает оксимиоглобин.

Способность миоглобина связывать кислород обусловлена наличием в молекуле простетической группы, представленной гемом.

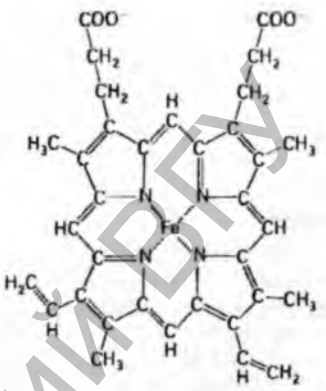
Гем является комплексом протопорфирина с железом ($Fe^{2+}$), представляет сложную копланарную циклическую систему, в центре которой находится атом железа, связанный с четырьмя атомами азота остатков пиррола, соединенных метиленовыми мостиками (=CH–). В миоглобине и гемоглобине железо имеет координационное число 6.

Репозиторий ВГУ

Поэтому, помимо четырех координационных связей с атомами азота четырех пиррольных остатков, атом железа связан с глобином через атомы азота двух остатков гистидина, занимающих пятое и шестое координационные места.



Протопорфирин IX



Гем (Fe-протопорфирин IX)

Кислород присоединяется к атому железа, заместив гистидиновый остаток в шестом координационном месте атома железа, и переносится в виде лиганда. Железо при этом не меняет степень окисления, благодаря особому расположению полипептидной цепи с образованием гидрофобного гемового кармана.

Гем характеризуется высоким сродством к CO. В водном растворе свободный гем связывается примерно в 25 000 раз сильнее с CO, чем с $O_2$, а в составе миоглобина или гемоглобина только в 200 раз. Белковая часть подавляет связывание оксида углерода миоглобином и гемоглобином, что играет очень важную биологическую роль.

В организме при расщеплении гема образуется эндогенный CO, который блокирует только до 1% участков связывания $O_2$, благодаря снижению сродства этих белков к CO. В противном случае эндогенный CO вызывал бы отравление организма. В ходе эволюции появление гемсодержащих белков со стерическими свойствами белковой части обеспечили снижение сродства гема к CO, но не к кислороду.

***Гемоглобин*** – составная часть эритроцитов, принимает участие в транспорте кислорода с легких в ткани, а из тканей – $CO_2$ и $H^+$. Гемоглобины разных видов животных отличаются сродством к кислороду, по форме кристаллов, растворимости, что связано с различиями белковой части, и являются аллостерическими белками. Гем же одинаков у всех видов позвоночных и большинства беспозвоночных животных.

РЕПОЗИТОРИЙ БГУ

Гемоглобин человека является гетеротетрамером, состоит из двух α-субъединиц и двух β-субъединиц, содержащих по 141 и 146 аминокислотных остатков соответственно. Каждая субъединица связана с гемом. В первичной структуре α- и β-субъединиц существует значительная гомология и сходство в конформации полипептидных цепей. Четыре субъединицы упакованы в форме тетраэдра, молекула имеет сферическую форму диаметром 5,5 нм.

Гемоглобин (Hb) в легких соединяется с $O_2$ с образованием оксигемоглобина ($HbO_2$), при этом степень окисления железа ($Fe^{2+}$) не изменяется. В капиллярах тканей при уменьшении парциального давления кислорода $HbO_2$ распадается на Hb и $O_2$ и таким путем происходит снабжение тканей кислородом. Сродство гемоглобина к $O_2$ ниже по сравнению с миоглобином.

Гемоглобин аллостерический белок и связывание $O_2$ происходит кооперативно. Присоединение $O_2$ к одному гему облегчает присоединение $O_2$ к другим гемам той же тетрамерной молекулы гемоглобина. Такая же закономерность наблюдается и в обратном направлении – отщепление $O_2$ от одного гема облегчает его отщепление от остальных. Аллостерические эффекты гемоглобина подробно изучены и описаны М. Перутцем, который показал, каким образом связывание $O_2$ с гемом вызывает кооперативный эффект. В дезоксигемоглобине $Fe^{2+}$ несколько выступает из плоскости гема. Ключевым моментом в предложенной им схеме является перемещение $Fe^{2+}$ в плоскость группы гема при связывании $O_2$. Это перемещение иона железа вызывает изменение гистидиновой группы, с которой связан ион $Fe^{2+}$ гема координационной связью. В свою очередь происходят изменения положений других радикалов аминокислот в микроокружении гема, которые вступают в новые взаимодействия с другими радикалами аминокислот. Последовательные взаимодополняющие изменения, обусловленные перемещением $Fe^{2+}$ и радикалов аминокислот от гема, вызывают структурные превращения в другом геме, облегчая связывание $O_2$.

Помимо кооперативности при связывании $O_2$ гемоглобин способен изменять свою конформацию при взаимодействии с 2,3-бисфосфоглицератом (2,3-БФГ), содержащимся в эритроцитах. 2,3-БФГ понижает сродство Hb к $O_2$ и тем самым способствует освобождению связанного кислорода в тканях. Схематично этот процесс протекает по уравнению:

$$\underset{\text{в легких } O_2 \text{ замещает 2,3-БФГ}}{\mathbf{Hb\text{-}2,3\text{-}БФГ} + 4\,O_2} \rightleftharpoons \underset{\text{в тканях 2,3-БФГ замещает } O_2}{\mathbf{Hb\,(O_2)_4} + \mathbf{2,3\text{-}БФГ}}$$

Репозиторий ВГМУ

Этот регуляторный механизм играет важную роль в обеспечении тканей $O_2$ и особенно при кислородной недостаточности.

В 1904 г. К. Бор установил, что повышение $CO_2$ и $H^+$ в капиллярах активно метаболизирующих тканей способствует отщеплению $O_2$ от оксигемоглобина. В 1914 г. Дж. Холдейн в капиллярах легких обнаружил противоположное явление: высокая концентрация $O_2$ способствует отщеплению $H^+$ и $CO_2$ от гемоглобина. Эта взаимосвязь между связыванием $O_2$, $H^+$ и $CO_2$ получила название ***эффекта Бора*** и схематично представлена на рис. 3.14.

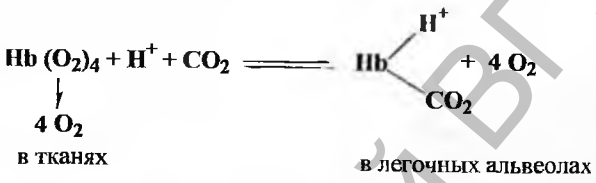



Рис. 3.14. **Схема эффекта Бора.**

***Ферритин*** – железосодержащий хромопротеин, который является основной резервной формой железа в организме. На этот металлопротеин приходится около 70% резервов железа или 30% железа всего организма.

Ферритин отличается высоким содержанием не только железа (около 20%), но и фосфатов. Он состоит из высокомолекулярного белка апоферритина и простетической группы – соединения железа с фосфорной кислотой. Больше всего ферритина содержится в селезенке и печени. Ферритин выполняет важную роль в обмене железа.

***Гемэритрин*** обнаружен в организме червей, состоит из восьми субъединиц белка, соединенных с железом. Молекула кислорода связывается с двумя атомами железа.

***Церулоплазмин*** – металлопротеин, содержащий в молекуле восемь атомов меди, молекулярная масса церулоплазмина человека составляет 32 000, выполняет ферментативно-транспортную функцию в крови.

***Гемоцианины*** – хромопротеины, в своем составе содержат медь, в гемолимфе некоторых беспозвоночных переносят кислород к тканям. Акцептором $O_2$ являются ионы меди, связанные с субъединицами белков, и каждые два иона меди соединяются с $O_2$. При соединении с кислородом они приобретают голубую окраску, как и многие другие соединения меди.

Репозиторий ВГУ

# 4. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

История нуклеиновых кислот начинается с 60-х годов XIX века. Швейцарский химик Ф. Мишер в 1869 г. выделил из ядер лейкоцитов (а практически из гноя) и спермы рыб вещество кислотной природы, которое вначале назвал нуклеин, а впоследствии нуклеиновой кислотой. Биологическая роль этого соединения оставалась загадкой почти в течение столетия. Следующее важное открытие свершилось в 40-х гг. XX века. Эвери, Мак-Леод и Мак-Карти в 1944 г. установили, что нуклеиновая кислота (ДНК) ответственна за передачу наследственной информации у бактерий. В 1953 году Уотсон и Крик предложили молекулярную модель двойной спирали ДНК и с этого времени в биохимии, молекулярной биологии и генетике началась новая эра.

Существует два типа нуклеиновых кислот: рибонуклеиновая кислота (РНК) и дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК). В большинстве живых организмов присутствуют оба типа нуклеиновых кислот. Исключением являются лишь вирусы, которые могут содержать только один тип нуклеиновых кислот. Например, вирус гепатита В содержит только ДНК, а вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) – только РНК. В ядре клеток человека содержится ДНК и особая ДНК – в митохондриях.

Биологическая роль нуклеиновых кислот заключается в:

- хранении генетической информации,
- репликации,
- рекомбинации,
- передаче генетической информации,
- участии в биосинтезе белков.

Нуклеиновые кислоты являются высокомолекулярными полимерными соединениями, молекулярная масса которых зависит от конкретной нуклеиновой кислоты. Самой малой молярной массой обладает транспортная РНК (тРНК) ≈25 000. Самой большой молярной массой обладает ДНК от 1 000 000 до 1 000 000 000.

**Азотистые основания.** Высокомолекулярные полимеры РНК и ДНК состоят из мономеров – нуклеотидов. Каждый нуклеотид состоит из трех компонентов: неорганического фосфата, β-D-рибозы в РНК, β-D-2-дезоксирибозы в ДНК и азотистого основания:

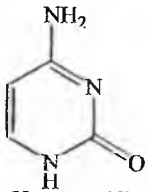
| Название азотистого основания | Отечественное обозначение | Международное обозначение |
|---|---|---|
| аденин | А | A |
| тимин | Т | T |
| гуанин | Г | G |
| цитозин | Ц | C |
| урацил | У | U |

Репозиторий ВГМУ

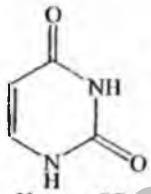
ДНК и РНК отличаются не только моносахаридным компонентом, но и составом азотистых оснований.

Пиримидиновые и пуриновые осиования:

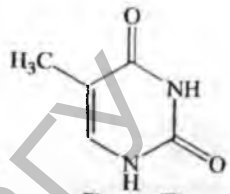
Пиримидин



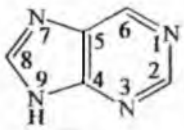
Цитозин (С)
(2-оксо-4-амино-пиримидин)



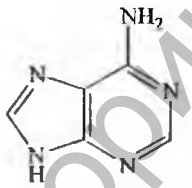
Урацил (U)
(2,4-диоксо-пиримидин)



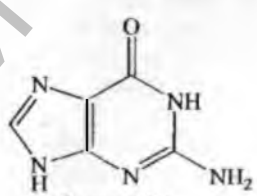
Тимин (Т)
(5-метил-2,4-диоксо-пиримидин)



Пурин



Аденин (А)
(6-аминопурин)



Гуанин (G)
(2-амино-6-оксопурин)

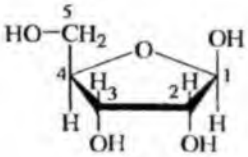
Основания, входящие в состав пуклеиновых кислот:

| ДНК | РНК |
|---|---|
| аденин (А) | аденин (А ) |
| гуанин (G) | гуанин (G) |
| цитозин (С) | цитозин (С) |
| тимин (Т) | урацил (U) |

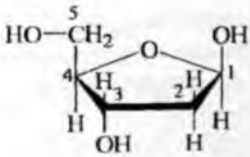
Как видно, ДНК и РНК отличаются одним пиримидиновым основанием, в ДНК входит тимин, а в РНК – урацил.

Азотистые основания, производные пурина и пиримидина, связаны с моносахаридным компонентом – β-D-рибозой (в РНК) или β-D-2-дезоксирибозой (в ДНК). Оба этих моносахарида являются пентозами и имеют следующую структуру:

Репозиторий ВГУ



β-D-рибоза



β-D-2-дезоксирибоза

Различие состоит в отсутствии у β-D-2-дезоксирибозы гидроксильной группы при $C_2$. Азотистые основания присоединяются к $C_1$ углеродному атому, а гидроксильные группы при $C_3$ и $C_5$ участвуют в образовании эфирных связей с неорганическим фосфатом.

**Нуклеозиды.** Нуклеозиды представляют собой ***$N_1$- или $N_9$- гликозиды*** и состоят из азотистого основания и остатков β-D-рибозы или β-D-2-дезоксирибозы. Азотистое основание связано посредством ковалентной связи между $C_1'$ атомом пентозы и $N_1$ атомом пиримидиновых или $N_9$ атомом пуриновых оснований. Названия нуклеозидов формируются в соответствии с названиями образующих их азотистых оснований:

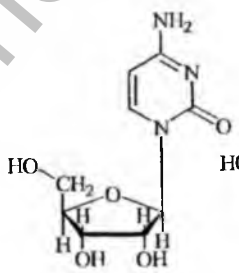
аденозин, цитидин,
гуанозин, уридин.

В случае, если в их состав входит дезоксирибоза, то к названию присоединяется приставка дезокси-:

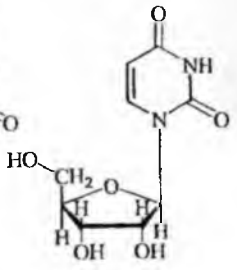
дезоксиаденозин, дезоксицитидин,
дезоксигуанозин, дезокситимидин
или просто тимидин.

Нумерация атомов углерода фуранозного кольца пентоз в нуклеозидах и нуклеотидах осуществляется цифрой со штрихом, например: 5′ ($C_5'$) означает пятый атом углерода пентозы.

Пиримидиновые нуклеозиды:

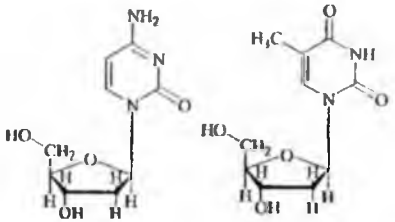


Цитидин



Уридин

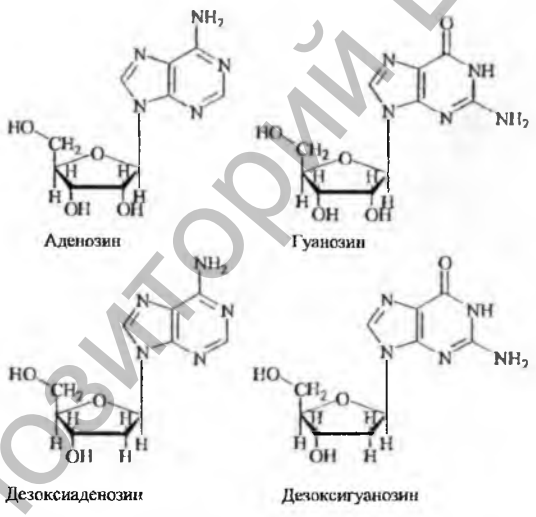
Репозиторий БГУ




Дезоксицитидин Тимидин

В случаях, когда нуклеозид состоит из рибозы и тимина, то его называют рибозилтимином.

Пуриновые нуклеозиды:




Аденозин Гуанозин

Дезоксиаденозин Дезоксигуанозин

Нуклеозиды не только являются структурными компонентами ДНК и РНК, но и встречаются в свободном виде. Например, выделяемый грибком рода Streptomyces пуромицин, мощный антибиотик, проявляет антибактериальные свойства, ингибируя биосинтез белков. Различные микроорганизмы выделяют арабинозилцитозин (ara-C) и арабинозиладенин (ara-A). В них в качестве углеводного компонента содержится арабиноза. Эти вещества ингибируют биосинтез ДНК.

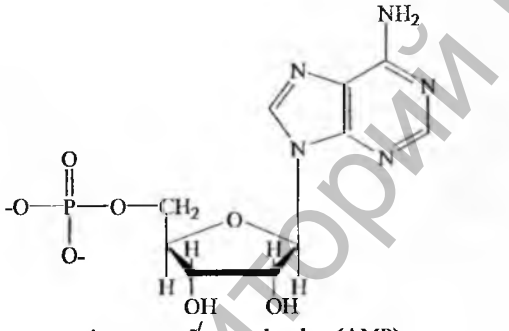
**Нуклеотиды.** Нуклеотид представляет собой сложный эфир нуклеозида и фосфорной кислоты. К $C_5'$ пентозы нуклеозида может быть

Репозиторий ВГУ

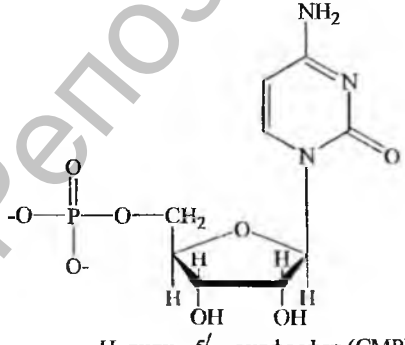
присоединен один или несколько фосфатных остатков. Нуклеотиды классифицируют:

- по входящему в состав углеводному компоненту на:
  - рибонуклеотиды,
  - дезоксирибонуклеотиды;
- по количеству остатков фосфорной кислоты на:
  - нуклеозидмонофосфаты,
  - нуклеозиддифосфаты,
  - нуклеозидтрифосфаты.

Рассмотрим структуру нуклеозидмонофосфатов, нуклеозиддифосфатов и нуклеозидтрифосфатов на примере представителей пуринового и пиридинового ряда.

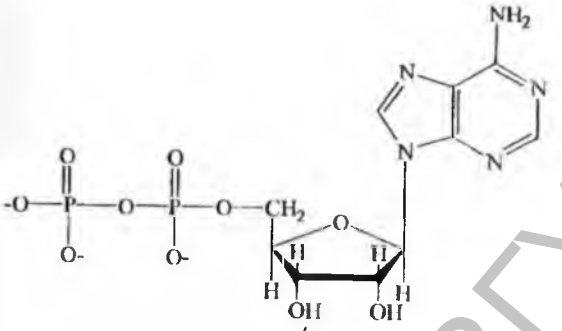


Аденозин-5′-монофосфат (AMP)

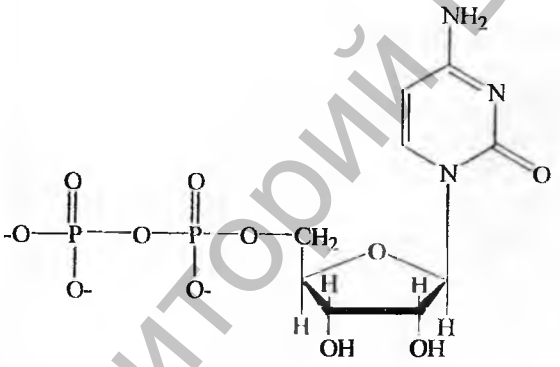


Цитидин-5′-монофосфат (CMP)

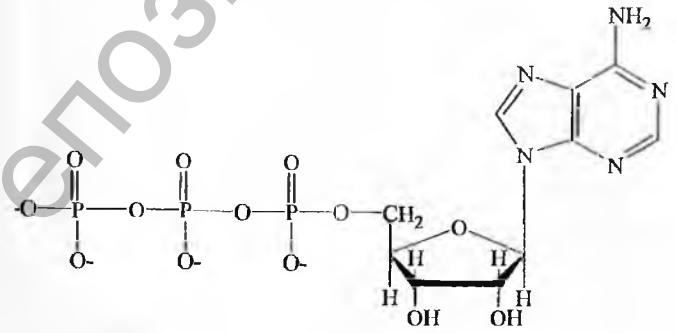
Репозиторий ВГУ



Аденозин-5′-дифосфат (ADP)

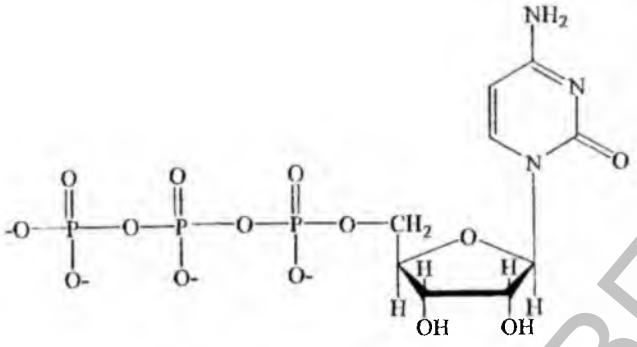


Цитидин-5′-дифосфат (CDP)



Аденозин-5′-трифосфат (ATP)

Репозиторий ВГУ



Цитидин-5′-трифосфат (CTP)

Аналогичное строение имеют гуанозин-5′-дифосфат (GDP),
гуанозин-5′-трифосфат (GTP),
уридин-5′-дифосфат (UDP) и
уридин-5′-трифосфат (UTP).

Дезоксинуклеозидфосфаты построены из оснований, β-D-2-дезоксирибозы и остатков неорганического фосфата и имеют следующие названия:

дезоксиаденозин-5′-монофосфат (dAMP),
дезоксиаденозин-5′-дифосфат (dADP),
дезоксиаденозин-5′-трифосфат (dATP),

дезоксигуанозин-5′-монофосфат (dGMP),
дезоксигуанозин-5′-дифосфат (dGDP),
дезоксигуанозин-5′-трифосфат (dGTP),

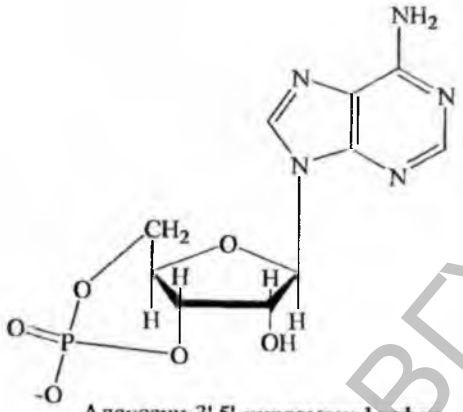
дезоксицитозин-5′-монофосфат (dCMP),
дезоксицитозин-5′-дифосфат (dCDP),
дезоксицитозин-5′-трифосфат (dCTP),

тимидинмонофосфат (TMP)*,
тимидиндифосфат (TDP)*,
тимидинтрифосфат (TTP)*.

* Можно писать с приставкой «дезокси-».

**Циклические нуклеотиды.** В циклических нуклеотидах одна фосфатная группа образует с рибозой две сложноэфирные связи с $C_5$· и $C_3$·. Наиболее известным циклическим нуклеотидом является циклический аденозинмонофосфат cAMP. Он является посредником (вторичным медиатором) в действии многих гормонов.

Репозиторий ВГУ



Аденозин-3',5'-цикломонофосфат
(3',5'-cAMP)

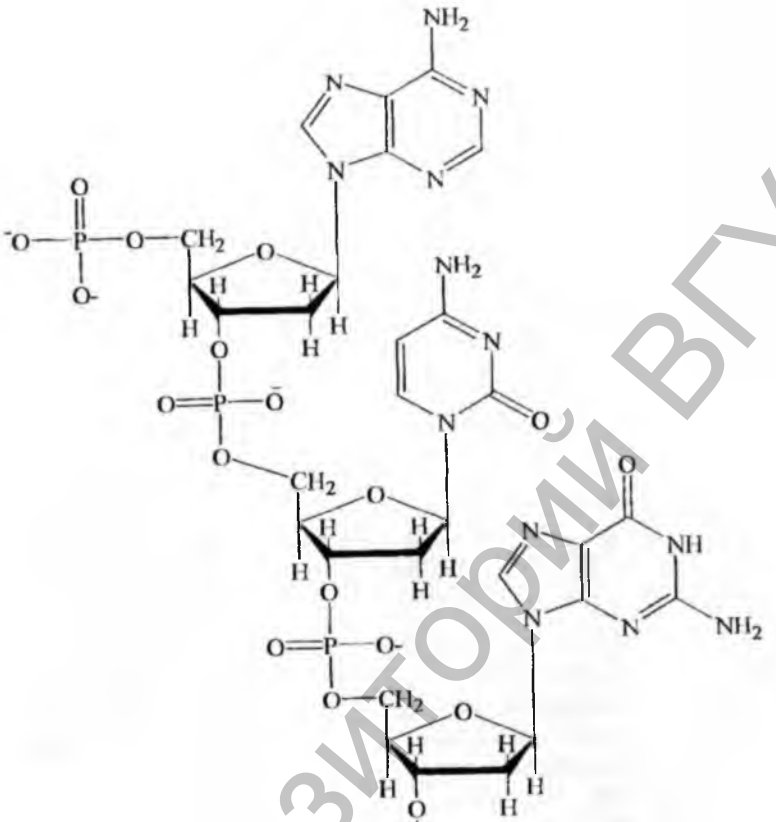
При реализации механизма адреналина на клетку вначале происходит активация фермента, ответственного за выработку cAMP, а cAMP, в свою очередь, контролирует активность других ферментов. Известны также другие циклические нуклеотиды: cGMP и cCMP.

Биосинтез циклических нуклеотидов происходит из соответствующих нуклеозидтрифосфатов под действием фермента аденилатциклазы и гуанилатциклазы. Расщепление их происходит под действием фермента циклической фосфодиэстеразы, который катализирует разрушение эфирной связи по $C_3'$, что приводит к образованию соответствующего нуклеозид-5′-монофосфата.

**Первичная структура нуклеиновых кислот.** Нуклеиновые кислоты являются биополимерами, мономерными звеньями которых являются нуклеотиды, поэтому нуклеиновые кислоты называют полинуклеотидами.

Полинуклеотиды состоят из остатков нуклеотидов, соединенных между собой 3′–5′-фосфодиэфирной связью. Фосфатная группа в полинуклеотидной цепи образует две сложноэфирные связи с участием гидроксильной группы $C_3$-рибозы (дезоксирибозы) предыдущего нуклеотидного остатка и гидроксильной группы $C_5$-рибозы (дезоксирибозы) последующего нуклеотидного звена. Полимерная основа РНК и ДНК представлена чередующимся пентозофосфатным остовом, а азотистые основания являются боковыми группами, присоединенными к $C_1$ пентозных остатков пентозофосфатного остова.

РЕПОЗИТОРИЙ ВГУ



Цепь ДНК

Концы полинуклеотидной цепи отличаются друг от друга. Один конец представлен гидроксильной группой при $C_3'$ пентозного остатка – **3′ конец** (НО-конец), второй конец полинуклеотидной цепи представлен фосфорилированной гидроксильной группой при $C_5'$ пентозного остатка – **5′ конец** (Р-конец).

Первичная структура нуклеиновых кислот определяется последовательностью нуклеотидов в полинуклеотидной цепи, которая определяет уникальность структуры РНК и ДНК. Описывается она при помощи перечисления обозначений нуклеотидов, начиная с 5′ конца.

Репозиторий ВГУ

**Правила Чаргаффа.** В состав ДНК входят остатки дезоксирибонуклеотидов дАМР, дСМР, дGMP и дТМР. В 1949–1953 гг. были установлены закономерности нуклеотидного состава ДНК независимо от источника выделения, известные как правила Чаргаффа. Правила Чаргаффа были сформулированы до открытия Уотсоном и Криком пространственной структуры ДНК.

Правила Чаргаффа описывают соотношения нуклеотидов в нуклеиновых кислотах и справедливы для двойной антипараллельной спирали ДНК:

1. Число пуриновых оснований (A+G) равно числу пиримидиновых оснований (T+C), то есть правомочно соотношение: $\frac{A+G}{T+C}=1$.
2. Число остатков аденина равно числу остатков тимина, т.е. отношение аденина к тимину равно единице: $\frac{A}{T}=1$.
3. Число остатков гуанина равно числу остатков цитозина, т.е. отношение гуанина к цитозину равно единице: $\frac{G}{C}=1$.

Данные Чаргаффа и других исследователей позволили сделать ряд важных выводов:

1. ДНК различных органов и тканей имеют одинаковый нуклеотидный состав.
2. Нуклеотидный состав ДНК в организме данного вида не зависит от возраста, условий питания и внешней среды.
3. Нуклеотидный состав ДНК у разных видов различен.
4. ДНК близких видов имеют сходный нуклеотидный состав. Эволюционно отдаленные организмы, как правило, отличаются по нуклеотидному составу и нуклеотидный состав ДНК может быть использован как таксономический признак.

Определение первичной структуры ДНК является достаточно трудоемкой задачей. Принцип ее состоит в том, что молекулу ДНК разрезают при помощи специфических эндонуклеаз (рестриктаз). Эти ферменты разрезают нуклеиновую кислоту в определенном участке, специфичном для данной эндонуклеазы. В полученных фрагментах определяют последовательность нуклеотидов. Затем обрабатывают такую же ДНК другой эндонуклеазой, которая разрезает ее по другим участкам на другие фрагменты, где также определяют последовательность нуклеотидов. Затем сравнивая данные последовательности фрагментов, полученных действием различных рестриктаз, находят перекрывающиеся участки, которые и являются ключом к расшифровке последовательности.

**Вторичная структура нуклеиновых кислот.** Вторичная структура нуклеиновых кислот представляет собой пространственную орга-

Репозиторий БГУ

низацию полинуклеотидных цепей. Известно несколько форм пространственной организации ДНК: A, B, C, D, E, Z.

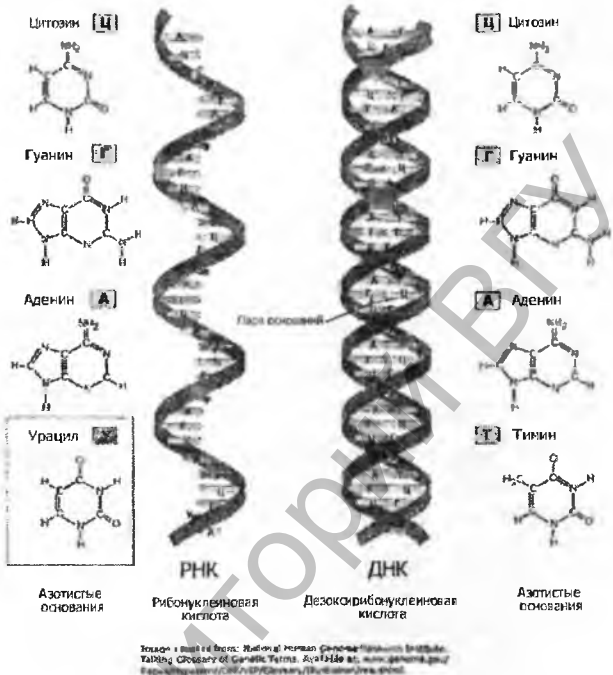


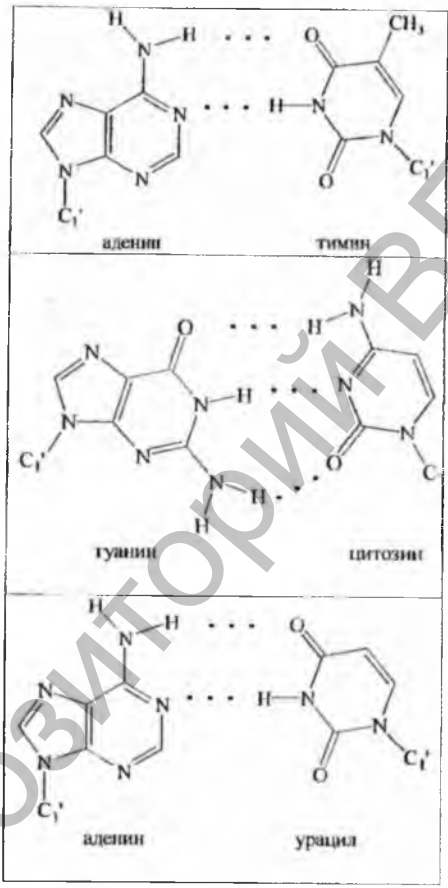

Рис. 4.1. **Двойная спираль ДНК.**

Наиболее часто встречаемой является B-форма, представляющая собой две антипараллельные полинуклеотидные цепи, образующие правую спираль вокруг общей оси.

Спираль стабилизирована ***водородными связями***, возникающими между комплементарными азотистыми основаниями, которые направлены перпендикулярно оси. Аденин комплементарен тимину и между ними возникают две водородные связи, а гуанин – цитозину и они образуют три водородные связи. Кроме того, аденин комплементарен урацилу.

Постулат о взаимодействии азотистых оснований объясняет правило Чаргаффа. Пурин всегда комплементарно связан с пиримидином водородными связями. Точнее, в ДНК аденин всегда связан с тимином, гуанин с цитозином; в РНК аденин связан с урацилом, гуанин с цитозином.

Репозиторий ВГУ




Репозиторий ВГУ

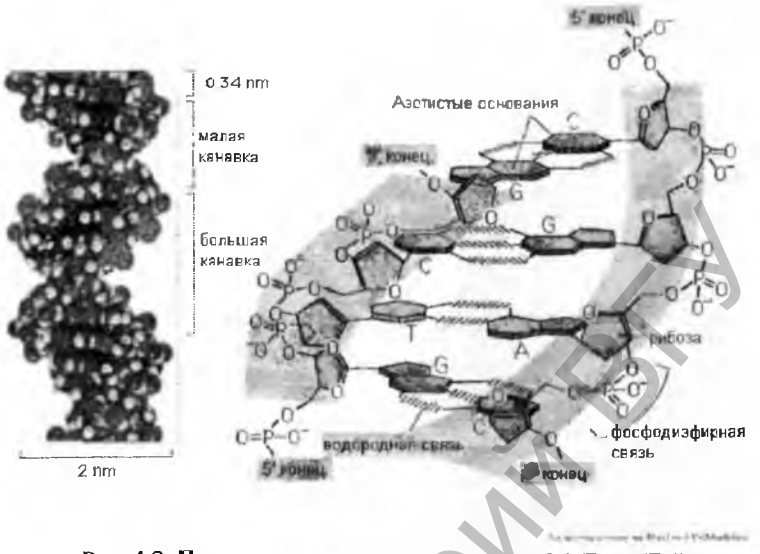



Рис. 4.2. **Пространственная ориентация компонентов двойной спирали ДНК.**

Плоские молекулы азотистых оснований лежат параллельно друг другу и перпендикулярно оси молекулы.

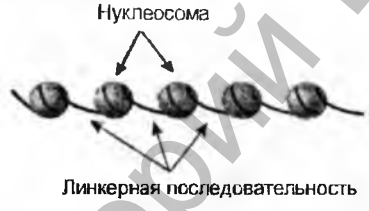
Правильную пространственную ориентацию цепей в двойной цепи обеспечивает противоположная направленность. Одна из цепей ориентирована в направлении $3' \rightarrow 5'$, а вторая – в направлении $5' \rightarrow 3'$.

Водородные связи являются не единственными силами взаимодействия, возникающими в молекуле ДНК. Ввиду большого числа фосфатных групп молекула ДНК имеет отрицательный заряд, т.е. представляет ***полианион***, поэтому с ней могут взаимодействовать положительно заряженные агенты, например, белки гистоны, содержащие в боковых цепях большое количество положительно заряженных аминокислотных остатков аргинина и лизина. Третьим стабилизирующим фактором двойной спирали ДНК считаются гидрофобные взаимодействия между азотистыми основаниями, уложенными стопкой в середине спирали (рис. 4.2).

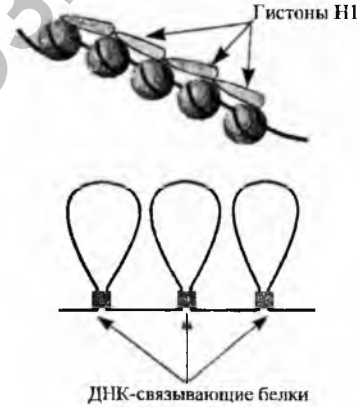
**Третичная структура ДНК.** Под третичной структурой ДНК понимают расположение полинуклеотидных цепей в пространстве и их связь с гистоновыми белками. Главную роль в формировании третичной структуры играют нуклеосомы. Нуклеосома состоит из 8 молекул гистонов, по две молекулы каждого из типов гистонов H2A, H2B, H3, H4. Нуклеосома ведет себя как белковый сердечник, вокруг которого оборачивается молекула ДНК на 1¾ оборота.

Репозиторий БГУ

На каждый оборот приходится 83 пары нуклеотидов. Это приводит к компактизации ДНК примерно в 7 раз. Участок ДНК, который находится между двумя нуклеосомами, называется линкерной последовательностью. В итоге накручивания ДНК на нуклеосомы возникает нуклеопротеидная структура в виде четок.




В дальнейшем происходит скручивание нуклеосомной последовательности в спираль (соленоид) диаметром 30 нм. В этом процессе участвуют гистоны Н1, которые, взаимодействуя с нуклеосомами, сближают соседние нуклеосомы и формируют регулярную структуру.




Репозиторий ВГУ

Дальнейшая упаковка ДНК происходит при помощи ДНК-связывающих белков, которые связывают нуклеосомные последовательности, упорядоченные гистонами Н1 и образуют петли.

Далее петли образуют минидиски, которые укладываются в стопку, формируя хромосому (рис. 4.3).

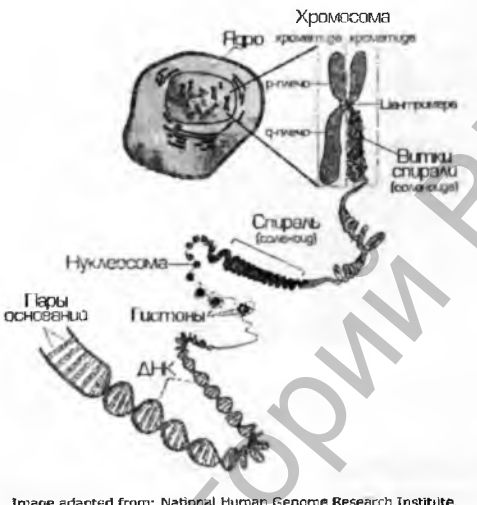



Image adapted from: National Human Genome Research Institute.

Рис. 4.3. **Схема формирования хромосомы.**

**Рибонуклеиновые кислоты (РНК).** В состав РНК входят остатки рибонуклеотидов AMP, GMP, CMP и UMP. В качестве углеводного компонента в их состав входит рибоза. Различают 5 типов РНК:

1) информационная РНК – м-РНК,
2) транспортная РНК – т-РНК,
3) рибосомальная РНК - р-РНК,
4) гетерогенные ядерные РНК – гя-РНК (hnRNA),
5) малые ядерные РНК – мя-РНК (snRNA).

***Информационная РНК (и-РНК или м-РНК).*** К началу 1960-х годов было известно, что белки синтезируются в цитоплазме, а генетическая информация, кодирующая структуру белков, хранится в ядре. Таким образом, должен быть некий посредник, переносящий информацию из ядра в цитоплазму. В 1961 году Франсуа Жакоб и Жак Моно выдвинули концепцию м-РНК, в которой постулировали

1) полинуклеотидную природу посредника,

Репозиторий ВГУ

2) соответствие его полинуклеотидного состава структуре ДНК,
3) гетерогенность посредника для разных генов,
4) временную связь посредника с рибосомами,
5) высокую скорость метаболизма посредника.

Эти же ученые предположили, что последовательность из трех нуклеотидных остатков (триплет) м-РНК кодирует определенную аминокислоту, а последовательность триплетов кодирует последовательность аминокислот в молекуле полипептида, белка, фермента. В процессе жизнедеятельности клетка синтезирует сотни и тысячи различных типов молекул м-РНК. м-РНК представляет собой одноцепочечные молекулы разной длины. Различие этих молекул состоит в последовательности нуклеотидных остатков A, U, G, C. Таким образом, м-РНК является посредником между генетической информацией ядра и процессом биосинтеза белков (полипептидов).

***Транспортная РНК (т-РНК).*** Молекулы т-РНК являются самыми маленькими из всех нуклеиновых кислот (их молекулярная масса колеблется в пределах 25 000. В состав т-РНК входят нетипичные (модифицированные) нуклеозиды. Кроме того, различных типов молекул т-РНК значительно меньше, чем м-РНК. Считают, что их не менее 60. Каждый тип молекул т-РНК способен связывать строго определенную для этого типа аминокислоту.

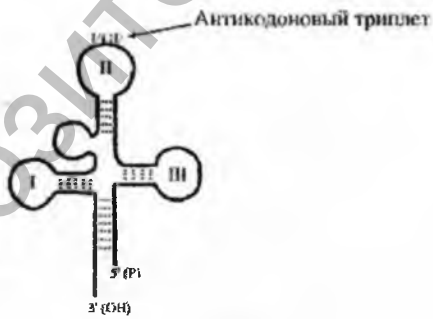



Рис. 4.4. **Схема строения т-РНК.**

Молекула т-РНК имеет, в отличие от м-РНК, пространственную структуру. Общепринятой является двухмерная схематическая структура «клеверного листа». Согласно этой структуре, внутримолекулярные водородные связи складывают одноцепочечную молекулу в структуру, напоминающую трилистник. Эта структура имеет три основных петли,

Репозиторий БГУ

одну минорную петлю и открытый конец, в котором располагаются оба конца полинуклеотидной цепи.

Молекула т-РНК содержит модифицированные азотистые основания: псевдоуридин, пиримидин, пурин, дигидроуридин. Названия петель пространственной структуры т-РНК происходят от входящих в их состав модифицированных азотистых оснований: псевдоуридиловая петля (I), дигидроуридиловая петля (III). Антикодоновый триплет находится во II (антикодоновой) петле, аминокислота, соответствующая этому триплету, присоединяется к 3′ концу полинуклеотидной цепи т-РНК.

***Рибосомная РНК (р-РНК).*** Рибосомы являются мультимолекулярными агрегатами, состоящими из примерно 35% белков и примерно 65% р-РНК. Интактные рибосомы представляют собой комплекс из двух субъединиц: тяжелой (50S) и легкой (30S). Тяжелые субъединицы содержат две молекулы р-РНК – 23S р-РНК и 5S р-РНК. Легкие субъединицы содержат одну молекулу 16S – р-РНК.

Рибосомальная РНК и белки образуют рибосомы – клеточные органеллы, непосредственно участвующие в биосинтезе белка.

***Гетерогенные ядерные РНК (гя-РНК).*** Гетерогенные ядерные РНК являются точной РНК копией участка ДНК, кодирующего биосинтез определенного белка. Она содержит избыточную информацию, которая удаляется в процессе созревания РНК. В результате созревания гя-РНК превращаются в и-РНК.

***Малые ядерные РНК (мя-РНК).*** Их биологическая роль до конца не изучена.

***2–5А Олигонуклеотиды.*** Интерфероны – класс белков, синтезируемых клетками животных в очень малых количествах после вирусной инфекции. Интерфероны защищают клетку от инфекции другими вирусами.

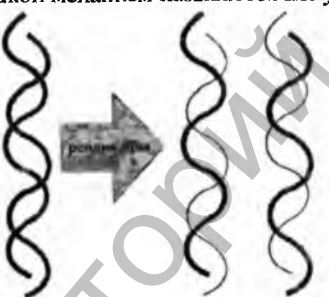
Клетки, обработанные интерфероном, синтезируют несколько новых белков, в том числе и фермент ***олигонуклеотидполимеразу***. Олигонуклеотидполимераза, в свою очередь, синтезирует небольшое количество коротких олигоаденилатных цепочек, в которых мононуклеотидные звенья соединены между собой $2' \rightarrow 5'$-фосфодиэфирными связями, несущих на $5'$-конце трифосфатную группировку.

Так, например, триммер 2–5А представляет собой уникальный олигонуклеотид, в котором остатки АМР соединены между собой $2' \rightarrow 5'$-фосфодиэфирными связями и он действует как селективный ингибитор биосинтеза белков, необходимых для размножения вирусов.

Репозиторий БГУ

**Репликация ДНК.** В процессе жизнедеятельности клетки необходим постоянный синтез ДНК, так как при делении клетки ее количество уменьшается вдвое. Процесс удвоения ДНК называется репликацией.

ДНК имеет две комплементарные цепи, связанные друг с другом водородными связями между остатками азотистых оснований. Поскольку при репликации должна быть создана точная копия генома, то в этом процессе каждая цепь материнской ДНК используется в качестве шаблона для синтеза двух дочерних цепей ДНК под действием фермента ДНК-полимеразы и в присутствии dATP, dGTP, dCTP и dTTP. В результате репликации из одной двухцепочечной материнской молекулы ДНК образуются две двухцепочечные дочерние молекулы ДНК, каждая из которых состоит из одной цепи материнской ДНК и одной синтезированной вновь цепи. Такой механизм называется полуконсервативным.

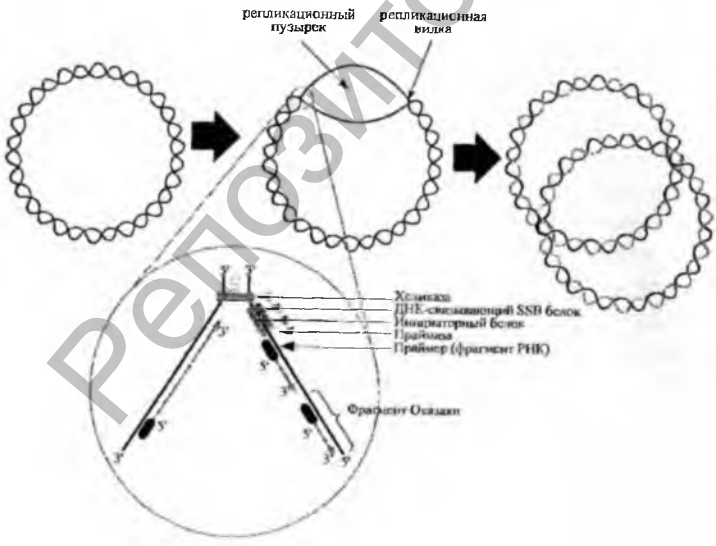


Репликация ДНК – сложный процесс, в котором участвует более 15 белков. Этот процесс изучен в классических трудах на основании генома E. coli. Основными ферментами репликации ДНК считаются ДНК-полимеразы. Для E. coli выделяют три различных ДНК-полимеразы: ДНК-полимераза I, ДНК-полимераза II и ДНК-полимераза III. Эти ферменты различаются строением и скоростью репликации. Их общее свойство – включение дезоксирибонуклеозид-5′-трифосфатов в цепь дочерней ДНК в направлении 5′→ 3′. ДНК-полимераза I, кроме того, способна расщеплять фосфодиэфирные связи и исправлять ошибки в ДНК. Репликация ДНК начинается в одном определенном месте хромосомы. Это место называется точкой начала репликации. К точке начала репликации присоединяется инициаторный белок. К инициаторному белку присоединяется фермент хеликаза, обладающий АТР-азной активностью и способностью разрывать водородные связи между комплементарными нуклеотидами. На разделение каждой связи требуется примерно 2 молекулы АТР. Для предупреждения образования связей между

Репозиторий БГМУ

комплементарными остатками азотистых оснований происходит связывание с каждой цепочкой ДНК особого белка, который в литературе называют белком, связывающимся с одноцепочечной ДНК (ОЦ-белок, SSB-белок), или белком, дестабилизирующим спираль (белок ДС). В результате две цепи расходятся с образованием репликационного глазка, репликационного пузырька. Репликационный пузырек состоит из двух репликационных вилок, направленных в противоположные стороны.

Для увеличения репликационного пузырька необходимо расплетание спирали ДНК. В области репликационной вилки ДНК вращается со скоростью 100 об/с, поэтому рост репликационного пузырька вызывает образование положительных супервитков в циркулярно замкнутой молекуле ДНК E. coli. Для уничтожения возникающих супервитков необходим особый механизм – «молекулярный шарнир». Эту функцию выполняет ДНК-гираза. Уничтожение положительных супервитков происходит следующим образом: ДНК-гираза разрушает фосфодиэфирные связи в одной из цепей, в результате вращения вокруг второй цепи происходит уничтожение положительных супервитков, следующим этапом ДНК-гираза восстанавливает фосфодиэфирную связь и целостность цепи ДНК. Функция фермента ДНК-топоизомеразы сходна с таковой ДНК-гиразы.




Репозиторий БГУ

ДНК-полимеразы не могут начинать синтез цепи ДНК de novo. Для начала синтеза им нужно проверить правильность синтеза предыдущей пары оснований, если же мы имеем дело с началом цепи, то предыдущей пары оснований нет, соответственно ДНК-полимераза не может начать свою работу.

РНК-полимеразы, в отличие от ДНК-полимеразы I, не имеют функции проверки предыдущей пары оснований, это снижает надежность синтезируемой РНК (что ввиду ограниченного времени ее существования не очень существенно), однако они могут начинать синтез цепи.

Таким образом, синтез ДНК начинается с РНК-затравки, надежность которой ниже, однако РНК-затравка может быть легко распознана (по наличию рибозы вместо дезоксирибозы), вырезана и заменена ДНК (этим занимается ДНК-полимераза). РНК-затравку (праймер) синтезирует особая РНК-полимераза или праймаза.

Цепь синтезируется в направлении 5′→ 3′. В процессе синтеза участвуют различные ДНК-полимеразы, различающиеся по характеру предпочитаемых матриц. ДНК-полимеразы II и III предпочитают двухцепочечные ДНК, имеющие короткие одноцепочечные участки, а ДНК-полимераза I предпочитает продолжительные одноцепочечные участки.

Репликационная вилка имеет две антипараллельные цепи. Синтез дочерней ДНК происходит по двум цепям в противоположные стороны, начинаясь от репликационной вилки. Рост одной цепи происходит в направлении 5′→ 3′, а второй в обратном в направлении 3′→5′.

Однако все известные ДНК-полимеразы способны синтезировать ДНК **только в направлении 5′→ 3′**. Поэтому одна цепь синтезируется непрерывно от 5′ конца в направлении 3′ конца, вторая же цепь синтезируется тоже в направлении 5′→ 3′, но прерывисто, отдельными участками, которые называются фрагментами Оказаки. Для начала синтеза каждого фрагмента Оказаки требуется синтез праймера. В ходе синтеза ДНК цепь, синтезирующаяся фрагментами Оказаки, называется запаздывающей, а цепь, синтезирующаяся непрерывно, называется лидирующей. Сшивание всех фрагментов в единую молекулу ДНК происходит при помощи фермента ДНК-лигазы.

Репозиторий БГУ

# 5. ФЕРМЕНТЫ (ЭНЗИМЫ)

Ферменты, или энзимы, представляют собой высоко специализированные белки, которые обладают каталитическими свойствами. Ферменты катализируют тысячи взаимосвязанных реакций, обеспечивающих процессы жизнедеятельности, в связи с чем их называют ***биологическими катализаторами,*** которые являются самыми ***эффективными*** из известных катализаторов. Учение о ферментах выделено в самостоятельную науку – энзимологию, или ферментологию.

**Химическая природа и строение ферментов.** Химическая природа ферментов до 1926 г. была загадкой и отнесение фермента уреазы, выделенной в этом же году Самнером, к белкам посчитали вначале нелепым фактом. Последующие исследования Самнера и одновременно Нортропа и Стенли позволили выделить несколько ферментов в кристаллическом виде и с 1935 г. белковая природа ферментов стала общепризнанной, а Самнеру, Нортропу и Стенли в 1946 г. присудили Нобелевскую премию.

По строению ферменты могут быть однокомпонентными (простыми белками) и двухкомпонентными (сложными белками), мономерными и олигомерными белками.

**Строение мономерных ферментов.** Мономерные ферменты представляют собой глобулярные белки. Полипептидные цепи, состоящие из аминокислотных остатков, высокоспецифичным образом уложены в виде компактной трехмерной структуры – глобулы. Простейшие ферменты, такие, как лизоцим, трипсин, рибонуклеаза, представляют собой одну глобулу (рис. 5.1).

Мономерные ферменты, как и у другие глобулярные белки, имеют различные уровни структурной организации: ***первичную структуру*** – строгую последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи; ***вторичную структуру*** – упорядоченную укладку полипептидной цепи (остова) в виде α-спирали, β-складчатой структуры (листа), β-изгиба и неупорядоченной структуры (статистического клубка); ***третичную структуру*** – общую трехмерную конформацию полипептидной цепи.

Структурно обособленные и пространственно отдаленные друг от друга области белковой молекулы, обладающие определенной структурной и функциональной автономией, носят название ***структурных доменов.*** Молекула фермента может содержать один или несколько структурных доменов, выполняющих одинаковые или различные функции. Домен одного типа может входить в состав разных ферментов, выполняя одинаковые функции. Примером может быть NAD – связывающий домен дегидрогеназ. Один и тот же домен может встречаться более

Репозиторий БГУ

одного раза в мономерном белке-ферменте, что придает структуре элементы квазисимметрии.

| Уровень организации | Схематическое изображение | Название |
|---|---|---|
| Глобулярный белок | | Мономерный фермент |
| Четвертичная структура | | Олигомерный фермент<br>Сложный фермент |
| Надмолекулярная структура | | Мультиферментный комплекс<br>Мультиферментный конъюгат<br>Ферментные ансамбли:<br>адсорбционный<br>интегральный |

Рис. 5.1. **Уровни структурной организации ферментов.**

Репозиторий ВГУ

в молекуле фермента структурные элементы, необходимые для выполнения каталитических функций, объединены в одной полипептидной цепи и в целом ферменты сконструированы по модульному принципу.

**Строение олигомерных ферментов.** Исходя из четвертичной организации белков, ферменты в большинстве случаев построены из двух или более полипептидных цепей, каждая из которых представляет отдельную глобулу, которую называют ***субъединицей***. Ферменты, состоящие из субъединиц, называют олигомерными или олигомерами. В случае если фермент состоит из одинаковых субъединиц, его называют гомогенным олигомером, а субъединицы – ***протомерами***. Фермент, состоящий из разных субъединиц, называют гетерогенным олигомером.

Гетерогенный олигомер, состоящий из различных субъединиц, выполняющих особые функции, один тип субъединиц выполняет каталитические (С), а другой тип – регуляторные (R) функции, называют ***сложным ферментом*** (рис. 5.1).

Большинство олигомерных ферментов представлены в виде димеров и тетрамеров. Встречаются гексомеры, октомеры, немногие ферменты содержат 10, 12 и более субъединиц. Значительно меньше встречается тримерных ферментов, пентомерные ферменты встречаются редко, а гептомеры пока не обнаружены.

Характерным свойством для олигомерных ферментов является ***кооперативность*** (положительная и отрицательная) и ***аллостеризм***. Аллостерические эффекты проявляются при взаимодействии субъединиц.

**Изоферменты.** Ряд ферментов существует в виде нескольких молекулярных форм, которые могут встречаться у одного и того же организма и внутри одной и той же клетки. Множественные формы фермента, присутствующие внутри одного вида или одной клетки и генетически обусловленные, были названы ***изоферментами***. Явление существования изоферментов впервые открыто в 1957 году для тетрамерного фермента лактатдегидрогеназы, состоящего из субъединиц двух типов – сердечного (Н – heart) типа и мышечного (М – muscle) типа. В результате ассоциации субъединиц в тетрамер в различных соотношениях лактатдегидрогеназа существует в виде пяти форм – пяти изоферментов:

$ЛДГ_1$ – Н Н Н Н или $Н_4$ – гомогенный тетрамер
$ЛДГ_2$ – Н Н Н М или $Н_3М$ – гетерогенный тетрамер
$ЛДГ_3$ – Н Н М М или $Н_2М_2$ – гетерогенный тетрамер
$ЛДГ_4$ – Н М М М или $НМ_3$ – гетерогенный тетрамер
$ЛДГ_5$ – М М М М или $М_4$ – гомогенный тетрамер

В основе номенклатуры изоферментов лежит их электрофоретическая подвижность. Для обозначения изоферментов используют обычные названия ферментов (тривиальные или систематические), присваивая номера по порядку в соответствии с их электрофоретической под-

Репозиторий БГМУ

вижностью, причем низшие номера отдают формам с большей скоростью движения к аноду.

Роль изоферментов состоит в регуляции активности некоторых ферментов, связанных с особенностями их молекулярной структуры, регуляции обмена веществ и биохимической адаптации. Изучение изоферментов имеет важное значение в исследовании молекулярных основ клеточной дифференцировки и морфогенеза, а также в клинической практике.

**Надмолекулярная организация ферментов.** Под надмолекулярной организацией ферментов имеют в виду мультиферментные комплексы, мультиферментные конъюгаты и ферментные ансамбли. Эти структуры состоят из двух или более ферментов с различными каталитическими активностями, объединенных посредством нековалентных взаимодействий (комплексы) либо с помощью ковалентных связей (конъюгаты).

***Мультиферментные комплексы*** состоят из нескольких разных субъединиц, катализирующих различные, часто связанные друг с другом реакции. Примерами мультиферментных комплексов являются оксоглутаратдегидрогеназный и пируватдегидрогеназный комплексы, которые имеют близкое строение и в состав которых входят три фермента. Первый является частью ферментной системы цикла трикарбоновых кислот, а второй связывает гликолиз с циклом трикарбоновых кислот.

***Мультиферментные конъюгаты*** представляют собой два или более связанных между собой фермента и являются частью одной полипептидной цепи. Мультиферментный конъюгат напоминает структуру мономерного фермента, состоящего из различных доменов. Отличительное свойство мультиферментного конъюгата состоит в том, что в каждом домене есть отдельный активный центр, катализирующий реакцию.

В мультиферментном конъюгате AROM, принимающем участие в биосинтезе ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина и триптофана), из семи общих ферментов этого метаболического пути, пять локализованы в одной полипептидной цепи. Конъюгат AROM обнаружен у микроорганизмов и у высших растений.

Синтетазы жирных кислот из животных тканей являются мультиферментными конъюгатами. Синтетаза жирных кислот дрожжей сочетает свойства мультиферментных конъюгатов и комплексов – это гексомерный комплекс двух мультиферментных α- и β-конъюгатов.

Все вышеперечисленные ферментные структуры обладают одним общим свойством. Они могут перемещаться без нарушения их строения и активности.

***Ферментные ансамбли.*** В случае, когда топология ферментов поддерживается за счет какой-либо опоры или матрикса, мы имеем дело с ферментными ансамблями. Прочность связей между ферментами и клеточными структурами может варьировать в довольно широких пределах. У ***адсорбционных ансамблей*** ферменты присоединены к поверх-

Репозиторий ВГУ

ности мембраны или поверхности другой макромолекулы и они являются динамичными структурами. ***Интегральные ансамбли*** довольно стабильны, т.к. интегральные мембранные ферменты встроены (погружены), частично или полностью, в липидный бислой мембраны. Типичным представителем интегральных ансамблей является дыхательная цепь.

**Активный центр.** Превращение субстрата (субстратов) в продукт (продукты) ферментативной реакции происходит с разрывом старых и образованием новых химических связей. Участвующие в ферментативных реакциях молекулы субстратов имеют небольшие размеры по сравнению с размерами молекул ферментов. На этом основании было выдвинуто предположение, что в контакт с молекулой субстрата вступает не вся, а ограниченная часть молекулы фермента (рис. 5.2). Так возникло представление об активном центре фермента. ***Активный центр фермента представляет кластер специфических радикалов аминокислот, определенным образом расположенных в пространстве.*** Большинство этих R-групп занимают удаленные положения в полипептидной цепи и пространственно сближены благодаря многочисленным изгибам, поворотам и скручиванию полипептидной цепи, т.е. благодаря формированию для каждого фермента уникальной условно различают субстратный и каталитический участки. Другими словами, ***активный центр фермента – это участок, который связывает субстраты (и простетические группы, если они есть), в котором содержатся аминокислотные остатки, участвующие в разрыве и образовании химических связей.*** Такие остатки аминокислот называют каталитическими группами (R-группами) третичной структуры. Несмотря на огромное разнообразие структуры ферментов, их специфичности и механизмов каталитического действия, активные центры ферментов имеют ***общие закономерности в строении и свойствах:***

1. На активный центр приходится относительно малая часть общего объема фермента. Почти все ферменты содержат более 100 аминокислотных остатков и имеют массу свыше 10 кДа и диаметр – свыше 2,5 нм. Большая часть аминокислотных остатков в молекуле фермента не контактирует с субстратом. Почему молекула фермента так велика, остается загадкой.

2. Активный центр – сложное трехмерное образование, в формировании которого участвуют группы, принадлежащие разным участкам полипептидной цепи. Так, например, в лизоциме, состоящем из 129 аминокислот, активный центр представлен 18 аминокислотными остатками, занимающими 34–37 (Phe-Glu-Ser-Asp), 44 (Asp), 52 (Asp), 56–57 (Leu-Gln), 59 (Asp), 62–63 (Trp-Trp), 75 (Leu), 101 (Asp), 103 (Asp), 107–110 (Ala-Trp-Val-Ala) и 104 (Arg) положения.

Репозиторий БГМУ

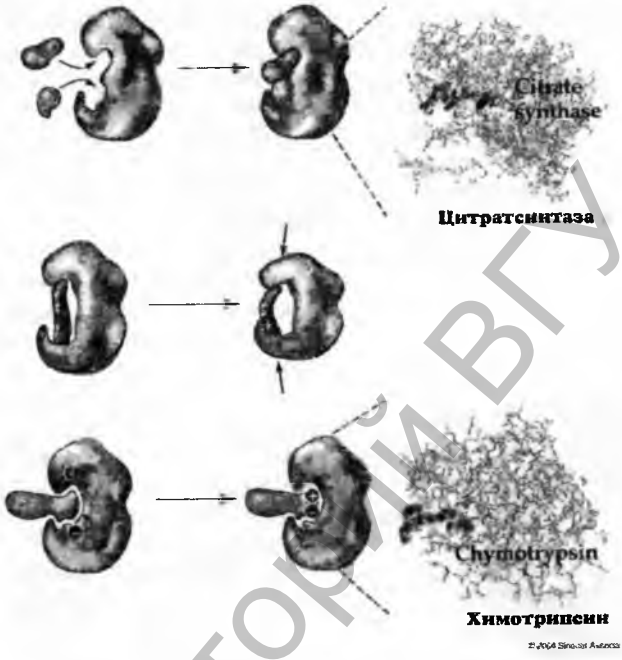



Рис. 5.2. **Активные центры ферментов.**

3. Активный центр имеет форму узкого углубления или щели, куда нет доступа воде, за исключением тех случаев, когда вода является одним из реагирующих веществ. В этом углублении присутствует несколько полярных аминокислотных остатков, необходимых для связывания и катализа.

4. Связь ферментов с субстратами относительно слабая. Константы равновесия ES-комплексов находятся в пределах от $10^{-2}$ до $10^{-8}$ М, что соответствует свободным энергиям взаимодействия от –12 до –50 кДж/моль. Энергия ковалентной связи составляет от –209 до –460 кДж/моль.

5. Специфичность связывания субстрата ферментом определяется расположением атомов в активном центре. При этом должно быть строгое соответствие активного центра субстрату по принципу ключ – замок (Э. Фишер, 1890). Активные центры некоторых ферментов не являются жесткими структурами и их формы становятся комплементарными к субстратам в процессе образования фермент-субстратных комплексов. Такой процесс динамического узнавания называют ***индукцией соответствия.***

Репозиторий ВГУ

**Аллостерический центр.** В молекуле фермента, наряду с активным центром, может быть аллостерический (регуляторный) центр (или центры), который представляет ***участок молекулы фермента, с которым связываются низкомолекулярные химические соединения (эффекторы или модификаторы)***. Присоединение аллостерического эффектора приводит к изменению конформации (третичной и часто четвертичной структуры) фермента и конфигурации активного центра, вызывая соответствие или неосоответствие к его субстрату, оказывая активирующее или ингибируюшее действие.

**Кофакторы, коферменты.** Все ферменты относятся к глобулярным белкам и выполняют специфические функции, связанные с присущей им глобулярной структурой. Во многих (но не во всех) ферментативных реакциях принимают участие вспомогательные соединения небелковой природы называемые ***кофакторами.***

***Молекулярный комплекс белка и кофактора называют холоферментом,*** который обладает максимальной каталитической активностью. Белковый компонент (без кофактора) – ***апофермент*** обладает очень низкой активностью, а в большинстве случаев вообще не активен.

Различают ***неорганические кофакторы*** ($Zn^{2+}$, $Mg^{2+}$, $Mn^{2+}$, $Fe^{2+}$, $Cu^{2+}$, $Na^{+}$, $K^{+}$ и др.) и ***органические кофакторы***, которые обычно называют ***коферментами.*** Большинство коферментов являются производными витаминов или в их состав входят витамины. Коферментами, в состав которых входят витамины, являются TPP, FMN, FAD, NAD, NADP, CoA-SH и др.

***Коферменты*** выполняют функции промежуточных переносчиков атомов или функциональных групп, они каталитически не активны и правильнее было бы их называть ***косубстратами.*** Ферменты обычно высоко специфичны к своим субстратам, а коферменты взаимодействуют со многими ферментами с различной субстратной специфичностью.

***Роль кофактора*** сводится:

1) к изменению трехмерной структуры белка и/или связанного субстрата, обеспечивая взаимодействие фермента с субстратом,
2) или к непосредственному участию в реакции в качестве второго субстрата.

Кроме того, коферменты обеспечивают сопряжение ферментативных реакций (см. никотинамидные коферменты).

По способам взаимодействия с ферментом различают ***растворимые*** коферменты ***и простетические группы.*** Растворимый кофермент присоединяется к молекуле фермента во время реакции подобно субстрату, а после реакции освобождается в химически видоизмененном состоянии (окисленном, восстановленном и т.п.). Первоначальная форма кофермента регенерируется во второй, независимой ферментативной реакции. Простетической группой называется кофермент, который

Репозиторий БГУ

прочно связан с апоферментом и во время реакции и после реакции не покидает его. Атомы, группы атомов или электроны, которые принял на себя кофермент (простетическая группа), далее переносятся на следующий субстрат или другой кофермент.

По выполняемым функциям коферменты можно разделить на две основные группы: 1) окислительно-восстановительные коферменты и 2) коферменты переноса групп.

**Окислительно-восстановительные коферменты.** Все ферменты класса оксидоредуктаз нуждаются в коферментах и наиболее важными из них являются NAD, NADP, FMN. FAD, липоевая кислота, убихинон, группа гема.

***Никотинамидные коферменты (NAD$^+$ и NADP$^+$)*** широко распространены в природе как коферменты дегидрогеназ, переносят гидрид ион (2e и 1 H$^+$) и действуют всегда в растворимой форме.

Перенос электронов (в форме H) осуществляется в результате двух реакций, катализируемых разными ферментами, но с участием одного кофермента (NAD). В ходе первой реакции происходит превращение NAD$^+$ в NADH, а в ходе второй реакции – NADH в NAD$^+$. Обе эти реакции взаимосвязаны с помощью кофермента. В одной реакции **NADH** продукт, а в другой – реагент. Такие реакции называются ***сопряженными.***

Следует отметить, что **NADH** передает восстановительные эквиваленты из катаболических путей в дыхательную цепь, и, тем самым, участвует в энергетическом обмене, а **NADPH** выполняет главную роль восстановителя в биосинтетических процессах.

***Флавиновые коферменты (FMN и FAD)*** входят в состав дегидрогеназ, оксидаз и монооксигеназ и ковалентно связаны с апоферментами.

***Липоамид.*** Липоевая кислота в окисленной и восстановленной формах принимает участие в окислительно-восстановительных процессах. Функцию окислительно-восстановительного центра выполняет внутримолекулярный дисульфидный мостик. Липоевая кислота ковалентно связана с остатком лизина молекулы апофермента и участвует в окислительном декарбоксилировании 2-оксокислот.

***Глутатион (G-SH*** и ***G-S-S-G)*** относится к окислительно-восстановительным коферментам.

***Убихинон (кофермент G)*** выполняет функцию переносчика восстановительных эквивалентов в дыхательной цепи. К окислительно-восстановительным системам принадлежат витамины группы Е и К.

***Группа гема*** является окислительно-восстановительным кофактором, входит в состав цитохромов дыхательной цепи, фотосинтеза, монооксигеназ, каталаз и пероксидаз.

**Коферменты переноса групп.** ***Нуклеозидфосфаты (AMP, ADP, ATP и соответствующие аналоги)*** обладают функциями коферментов, принимают участие в цепи переноса и аккумулирования энергии, в акти-

Репозиторий ВГУ

вировании моносахаридов, глицерола и др. путем фосфорилирования (присоединение фосфатных остатков) и присоединения нуклеозидфосфатных остатков к метаболитам при биосинтезе углеводов, липидов, белков.

***Кофермент (коэнзим) ацилирования (CoA-SH)***. Остатки жирных кислот (ацилы) активируется путем переноса на коэнзим А. В реакции CoA-SH с карбоновой кислотой образуется тиолсложноэфирная связь. Эта реакция высоко эндоэргична, протекает за счет энергии АТР и поэтому сопряжена с экзоэргическими процессами. Ацил-СоА как тиоэфир представляет собой активированную форму карбоновой кислоты, и ацильный остаток может легко переноситься на другую молекулу.

***Тиаминпирофосфат (TPP)*** принимает участие в активировании альдегидов и кетонов и переносе в виде гидроксиалкильных групп на другие молекулы (транскетолаза), в декарбоксилировании оксокислот.

***Пиридоксальфосфат (PLP)*** – наиболее важный кофермент в метаболизме аминокислот. Он принимает участие в реакциях трансаминирования, декарбоксилирования и дегидратирования. В ***PLP*** альдегидная группа в свободном виде не встречается, а в отсутствие субстрата она связана с аминогруппой остатка лизина фермента в виде альдимина (шиффово основание).

***Биотин*** в качестве кофермента входит в состав карбоксилаз и связан с амидной связью с остатком лизина боковой цепи фермента. Биотин вступает в реакцию с гидрокарбонатом ($HCO_3^-$) с образованием ***N-карбоксибиотина***, который представляет активированную форму диоксида углерода. Примерами биотинзависимых реакций являются карбоксилирование пирувата и ацетил-СоА с образованием оксалоацетата и малонил-СоА.

***Тетрагидрофолат (THF)*** образуется из фолиевой кислоты в результате двойного гидрирования птеринового цикла и может переносить $C_1$-остатки в различных состояниях окисления. $C_1$-фрагменты присоединяются к N-5, N-10 или обоим атомам N. Наиболее важными производными THF являются:

1) $N^{10}$-формил-THF ($C_1$-остаток находится в виде карбоксильной группы),
2) $N^5$, $N^{10}$-метилен-THF ($C_1$-остаток находится в виде альдегида),
3) $N^5$-метил-THF ($C_1$-остаток находится в виде спирта).

Перенос $C_1$-фрагмента THF играет важную роль в синтезе пуриновых нуклеотидов, дезокситимидинмонофосфата, метионина.

***Кобамидные коферменты (производные витамина $B_{12}$)*** принимают участие около десятка реакций, большая часть которых осуществляется в бактериях. Существуют разные формы коферментов, различающиеся по группам, расположенным по шестой координационной связи кобальта, которые могут быть в виде $H_2O$, $OH^-$, метила или дезоксиаденозина и принимают участие в превращении метилмалонил-СоА в сукцинил-СоА, биосинтезе метионина из гомоцистеина, восстановлении рибонуклеотидов до дезоксирибонуклеотидов.

Репозиторий ВГУ

**Свойства ферментов как биологических катализаторов.** Ферменты по химической природе являются белками, в связи с чем для них характерны все физико-химические свойства белков. Ферменты как катализаторы отличаются следующими уникальными свойствами.

***1) Ферменты*** обладают ***огромной каталитической силой*** и являются самыми эффективными из известных катализаторов. Очень малые (микромолярные) количества фермента способны в очень большой степени ускорять реакцию. Большинство реакций в клетке протекает примерно в 1000000 раз быстрее, чем если бы они протекали без ферментов. Например, одна молекула карбоангидразы способна гидратировать 1000000 молекул $CO_2$ за 1 сек:

$$CO_2 + H_2O \Longrightarrow H_2CO_3$$

Скорость реакции в присутствии фермента протекает в $10^8 - 10^{12}$ раз быстрее, чем без фермента.

Фермент, являясь катализатором, не может изменять равновесие химической реакции, а это означает, что фермент в одинаковой степени ускоряет как прямую, так и обратную реакцию. Ферменты ускоряют установление равновесия реакции, но не сдвигают его.

В 1962 г. принята международная единица активности, которая соответствует количеству фермента, катализирующее образование 1 мкмоль продукта или превращение 1 мкмоль субстрата в минуту. В 1972 г. рекомендована новая единица активности – **катал** – количество фермента, которое катализирует превращение 1 моль субстрата (или образование 1 моль продукта) за 1 сек.

Катал величина довольно большая, поэтому ферментативную активность выражают в микрокаталах (мккат) – $10^{-6}$ кат, нанакаталах (нкат) – $10^{-9}$ кат, пикокаталах (пкат) – $10^{-12}$ кат.

Молекулярную активность выражают числом молекул субстрата, превращенных 1 молекулой фермента за единицу времени, а удельную активность в единицах активности на мг белка (мккат · $мг^{-1}$ белка).

***2) Ферменты*** обладают ***высокой специфичностью действия*** как в отношении катализируемой реакции, так и в отношении субстратов. Каждый фермент катализирует одну химическую реакцию или несколько очень сходных реакций. Степень специфичности к субстрату обычно высока (относительная), а во многих случаях абсолютная.

В качестве примера могут быть протеолитические ферменты. Так, ***субтилизин*** бактерий расщепляет пептидную связь независимо от природы аминокислотных остатков. ***Трипсин*** проявляет высокую специфичность в том отношении, что расщепляет пептидные связи, образованные карбоксильными группами только лизина и аргинина. ***Тромбин,*** участвующий в свертывании крови, проявляет более высокую специфичность и разрывает пептидные связи, образованные карбоксильной группой аргинина и аминогруппой глицина.

Репозиторий ВГУ

***ДНК-полимераза 1*** обладает высокой специфичностью. В синтезированных цепях ДНК ошибочно включенный нуклеотид встречается реже, чем один раз на миллион.

***3) Действие многих ферментов регулируется***, т.е. они способны переходить из неактивной формы в активную форму и наоборот. В совокупности эти механизмы регуляции представляют сложную систему контроля всех функций организма.

***4) Ферменты осуществляют трансформацию различных видов энергии.*** Во многих биохимических реакциях энергия реагирующих веществ переходит из одной формы в другую с высокой степенью эффективности. Так, например, энергия света при фотосинтезе превращается в энергию химических связей. В митохондриях свободная энергия питательных веществ переходит в энергию АТР. Энергия химических связей АТР, в свою очередь, используется при мышечном сокращении, транспорте молекул и ионов против химического и электрического градиентов и др. Эти превращения энергии осуществляются ферментами, составляющими интегральную часть высокоорганизованных клеточных структур.

**Механизм действия ферментов и основы ферментативной кинетики.** Прежде чем перейти к рассмотрению каталитических свойств ферментов, необходимо отметить, что химические реакции по числу реагирующих молекул бывают мономолекулярные, бимолекулярные и тримолекулярные. В живой природе чаще всего встречаются первые два типа реакций. В зависимости от того, как скорость (V) реакции зависит от концентрации реагирующих веществ, различают реакции нулевого, первого, второго или третьего порядка.

***К реакциям первого порядка*** относятся реакции, скорость которых строго пропорциональна концентрации одного реагирующего вещества. Примером может быть реакция: **A** → **P**, скорость которой пропорциональна скорости убыли вещества **A** или скорости образования продукта реакции (**P**). В таком случае скорость реакции в любой момент определяется уравнением

$$d[A]/dt = k[A],$$

где [A] – молярная концентрация вещества **A**,

d [A] /d t – скорость уменьшения концентрации вещества **A**,

k – константа скорости (константа пропорциональности) реакции.

В случае реакции первого порядка константы скорости имеют размерность $с^{-1}$ или $мин^{-1}$.

Для расчетов чаще используется интегральная форма кинетического уравнения:

$$\lg [A_0]/[A] = k\,t/2.303,$$

где $[A_0]$ – концентрация вещества А в начальный момент;

[A] – концентрация вещества А в момент t.

Репозиторий КГМУ

Из данного уравнения легко получается выражение для полураспада реакции первого порядка:

$$T_{1/2} = 0.693 / k .$$

Следовательно, время, необходимое для прохождения половины реакции ($t_{1/2}$), не зависит от начальной концентрации субстрата.

***К реакциям второго порядка*** относятся реакции, скорость которых пропорциональна произведению концентраций двух реагирующих веществ или второй степени концентрации одного из этих веществ. Примером может быть реакция:

$$\mathbf{A + B \rightarrow P.}$$

Если скорость реакции – d [A] /d t , – d [B] /d t или + d [P] /d t пропорциональна произведению концентраций веществ А и В, то в таком случае для реакции второго порядка получаем следующее кинетическое уравнение:

$$- d [A] /d t = k [A] [B],$$

где k – константа скорости второго порядка.

Константы скорости реакций второго порядка имеют размерность отношения 1/ (концентрация · время), т.е. $M^{-1} \cdot c^{-1}$. Интегральная форма уравнения реакции второго порядка имеет вид:

$$t = 2{,}303 /k([A_0] - [B_0] \lg [B_0] [A] /[A_0] [B],$$

где $[A_0]$ и $[B_0]$ – начальные концентрации, а [A] и [B] – концентрации в момент времени t.

***Реакции третьего порядка*** встречаются сравнительно редко. Скорость реакции в этом случае пропорциональна произведению концентраций трех реагирующих веществ.

***Реакциями нулевого порядка*** являются реакции, скорость которых не зависит от концентрации реагирующих веществ, а от концентрации катализатора или другого фактора.

В определенных условиях реакции не соответствуют определенному порядку и являются ***реакциями смешанного порядка.***

***Катализ.*** Химическая реакция **А → Р** протекает, когда часть молекул **А** в данный момент обладает большей энергией, чем остальная часть, и этой энергии достаточно для перехода в активированное состояние, разрыва или образования новой химической связи образования продукта (продуктов) реакции, т.е. химическая реакция протекает через ***переходное состояние***:

$$A \rightarrow [\text{переходное состояние}] \rightarrow P.$$

Реагирующее вещество Продукт(ы)

***Переходное состояние*** существует для каждой химической реакции, которое характеризуется высокой свободной энергией взаимодействующих молекул и соответствует вершине активационного барьера (рис. 5.3).

Репозиторий БГУ

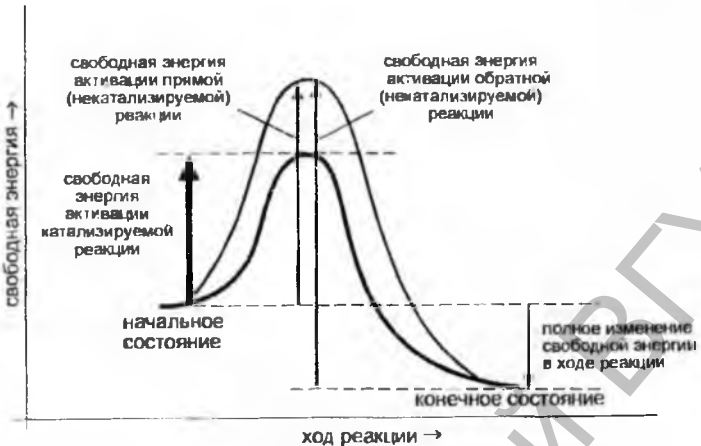



Рис. 5.3. **Энергетическая схема некатализируемой и катализируемой реакций.**

Скорость реакции зависит от температуры и от разности значений свободной энергии для А и переходного состояния. ***Разность*** общей энергии исходных реагирующих частиц и энергии возбужденного переходного состояния называется ***свободной энергией активации Гиббса,*** которая характеризует данную химическую реакцию и определяет условия, при которых она протекает. ***Энергия активации*** – количество энергии, которое необходимо для перевода при данной температуре всех молекул одного моля вещества в активированное состояние.

Скорость реакции пропорциональна концентрации молекул в переходном состоянии, свободная энергия которых равна или выше свободной энергии активации. ***Следовательно, скорость реакции обратно пропорциональна энергии активации.***

Повышение температуры повышает энергию теплового движения молекул и увеличивает их число, достигшее переходного состояния. Во многих реакциях при повышении температуры на 10°С скорость реакции возрастает примерно в 2 раза.

***Ферменты повышают скорость реакции путем снижения активационного барьера (энергии активации).*** При взаимодействии субстрата с ферментом реакция протекает по новому механизму, который характеризуется более низкой энергией переходного состояния.

Ферментативный катализ – процесс многоступенчатый и протекает по трем основным этапам:

$$E + S \rightleftharpoons E\,S \rightleftharpoons E\,S_1 \rightleftharpoons E + P.$$

РЕПОЗИТОРИЙ ВГУ

1. ***Образование фермент-субстратного комплекса.*** Расщеплению старых или образованию новых химических связей ферментом предшествует образование ***фермент-субстратного комплекса (ES)*** путем присоединения субстрата к активному центру фермента. Ферменты проявляют высокую специфичность в отношении связывания субстратов, чем в основном, и определяется специфичность каталитического действия ферментов. На этом этапе, в большинстве случаев, осуществляется регуляция ферментативной активности.

2. ***Активация фермент-субстратного комплекса.*** Скорость реакции зависит, главным образом, от энергии активации данной реакции, величину которой можно определить как количество энергии, которое необходимо дополнительно «ввести» в комплекс ES, чтобы ослабить или деформировать межатомные связи в молекуле субстрата с образованием ***активированного фермент-субстратного комплекса [$ES_1$]*** и тем самым обеспечить более легкое превращение субстрата в продукт реакции.

3. ***Образование продукта реакции и регенерация свободного фермента.***

Следует отметить, что регуляторная функция связана, как правило, с начальным этапом реакции – образованием ES комплекса.

Рассматривая ***основы ферментативной кинетики,*** следует отметить, что кинетика – это раздел физической химии, изучающий скорости протекания реакций и их механизмов, т.е. во сколько стадий протекает реакция, какова природа превращений на каждой стадии и какая стадия самая медленная и определяющая скорость суммарной реакции.

Механизм действия определенного фермента уникален, однако считают, что все или большинство ферментов «работают» сходным образом. Общие принципы кинетики химических реакций применимы и к ферментативным реакциям. Однако отличительной особенностью ферментативных реакций является эффект ***насыщения фермента субстратом.***

Генри (1903) и Михаэлис и Ментен (1913) предложили практически одинаковую модель, но Леонор Михаэлис и Мод Ментен свой подход обосновали экспериментальными данными. Модель Генри – Михаэлиса – Ментен лежит в основе ферментативной кинетики.

Л. Михаэлис и М. Ментен в начале, изучая начальную скорость ($v_o$) расщепления сахарозы дрожжевыми экстрактами (инвертазой дрожжей) от концентрации фермента (инвертазы) **[E]** при постоянной концентрации субстрата (сахарозы) **[S]**, установили линейное увеличение скорости при линейном увеличении концентрации фермента (рис. 5.4а). Концентрация субстрата является одним из наиболее важных факторов, определяющих скорость ферментативных реакций.

Репозиторий ВГУ

Рис. 5.4. **Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации фермента (а) и концентрации субстрата (б).**

В другой серии опытов, при постоянной концентрации фермента и изменении концентрации субстрата, наблюдалась гиперболическая (нелинейная) зависимость между скоростью реакции и концентрацией субстрата (рис. 5.4б). Гиперболическую зависимость можно представить как переход от кинетики реакции первого порядка (где $v_0 \propto [s]^1$) к кинетике реакции нулевого порядка (где $v_0 \propto [S]^0$).

Для объяснения полученных данных и роли фермента Михаэлис и Ментен предположили, что фермент **E** может обратимо связываться с субстратом **S** с образованием промежуточного фермент-субстратного комплекса **ES**, который затем распадается с образованием продукта (продуктов) **P** и свободного фермента **E** в исходном виде:

$$E + S \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_3} E + P$$

Фермент-субстратные комплексы ES представляют собой ***реально существующие химические соединения*** и некоторые удалось выделить.

Правомочность модели при изучении кинетики инвертазной реакции проверена путем вывода математического уравнения, описывающего экспериментальные данные и связывающего начальную скорость ($\mathbf{v_0}$) с концентрацией фермента **[E]** и начальную скорость ($\mathbf{v_0}$) с концентрацией субстрата **[S]**.

Разными авторами в зависимости от принятых предположений относительно модели фермент-субстратного комплекса получены различные виды уравнений, но так как кинетика многих ферментативных реакций описывается моделью Михаэлиса – Ментен и уравнение выведенное ими справедливо в подавляющем большинстве случаев, приводим ***уравнение Михаэлиса – Ментен:***

$$v_0 = \frac{Vmax \cdot [S]}{Km + [S]}; \qquad Km = \frac{k_2 + k_3}{k_1}.$$

Приведенное классическое уравнение Михаэлиса – Ментен описывает гиперболическую зависимость в координатах $v_0 \leftrightarrow [S]$, где при увеличении концентрации субстрата скорость реакции стремится к максимальной ($V_{max}$). В том случае, когда $v_0 = V_{max}$, все активные центры фермента заняты и нет свободных молекул фермента. В данном случае мы имеем 100%-ное насыщение фермента субстратом.

При 50%-ном насыщении фермента субстратом, когда $v_0 = 1/2V_{max}$, из уравнения Михаэлиса – Ментен следует:

$$1/2V_{max} = V_{max} \cdot [S]/K_m + [S];$$
$$K_m + [S] = 2V_{max} \cdot [S]/V_{max} = 2[S];$$
$$K_m = 2[S] - [S] = [S];$$
$$K_m = [S].$$

Следовательно, $K_m$ – это концентрация субстрата, необходимая для связывания половины имеющегося фермента (полунасыщения фермента субстратом) и достижения скорости равной $1/2V_{max}$ (рис. 5.5). В случаях ферментов с гиперболической кривой насыщения полунасыщающую концентрацию субстрата называют ***кажущейся Кт.*** Следует отметить, что для любого фермента график зависимости скорости реакции от концентрации субстрата определяется $V_{max}$ и $K_m$. Из вывода уравнения Михаэлиса – Ментен видно, что $K_m$ (принимаемой равной $K_s$) является константой равновесия реакции, а $V_{max}$ – константой скорости распада фермент-субстратного комплекса.

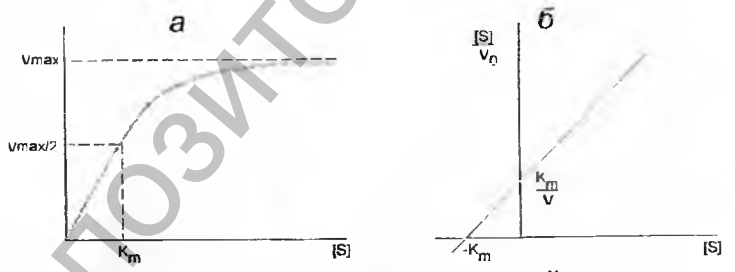



**Рис. 5.5. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата: (а) – гиперболическая, (б) – прямолинейная.**

Следовательно, эти две величины относятся соответственно к двум постулированным стадиям ферментативной реакции.

Факторы, оказывающие влияние на скорость ферментативных реакций, могут осуществлять свое действие путем влияния на образование фермент-субстратного комплекса, либо путем влияния на его распад (или же на оба эти процесса одновременно). Так как $K_m$ зависит от образования фермент-субстратного комплекса, а $V_{max}$ служит мерой скоро-

Репозиторий ВГУ

сти его распада, определение $K_m$ и $V_{max}$ позволяет изучать эти два пути влияния раздельно.

Для определения $\mathbf{K_m}$ и $\mathbf{V_{max}}$ по данным ряда измерений скорости при различных концентрациях субстрата график уравнения Михаэлиса – Ментен может быть построен несколькими путями.

График зависимости $\mathbf{v_0}$ от **S** представляет собой отрезок равнобочной гиперболы. Заменяя $\mathbf{v_0}$ на $\mathbf{½\ V_{max}}$ получаем $\mathbf{S = K_m}$ и величина $\mathbf{K_m}$ будет равна абсциссе «средней» точки экспериментальной кривой (рис. 5.5а).

Наиболее широко используется метод двойных обратных величин. График зависимости $\mathbf{1/v_0}$ от **1/S** представляет собой прямую, описываемую уравнением

$$1/v_0 = K_m / V_{max} \cdot 1 / S + 1 / V_{max}$$

и пересекающую ось абсцисс в точке $\mathbf{-1/K_m}$, а ось ординат в точке $\mathbf{1/V_{max}}$ и имеет наклон, равный $\mathbf{K_m / V_{max}}$.

Удобным методом, с помощью которого получают прямую, сходную с прямой, которую получают методом двойных обратных величин, является метод построения графика зависимости $\mathbf{S/v_0}$ от **S** в соответствии с уравнением, полученным в результате умножения обеих частей уравнения двойных обратных величин на **S**:

$$\mathbf{S/v_0 = K_m/V_{max} + 1/V_{max} \cdot S.}$$

В этом случае наклон равен $\mathbf{1/V_{max}}$ и отрезок, отсекаемый на оси ординат, равен $\mathbf{K_m/V_{max}}$. Величину $-K_m$ получают путем продолжения прямой до пересечения с осью абсцисс (рис. 5.5б).

Аллостерические ферменты не подчиняются кинетике Михаэлиса – Ментен, для которых зависимость начальной скорости от концентрации субстрата имеет не гиперболическую, а сигмоидную форму. У ферментов с сигмоидными кривыми насыщения полунасыщающую концентрацию субстрата обозначают величиной $\mathbf{S_{0,5}}$.

$\mathbf{K_m}$ – величина, обратная величине сродства фермента к субстрату. По $\mathbf{K_m}$ или $\mathbf{S_{0,5}}$ оценивают специфичность действия фермента к данному субстрату, а величина **1/Km** является мерой сродства фермента к субстрату. Высокое значение $\mathbf{K_m}$ указывает на малое сродство между ферментом и субстратом, а низкое – на высокое сродство. Так, $\mathbf{K_m}$ гексокиназы (из мозга) составляет для глюкозы $8 \cdot 10^{-5}$ моль/л, аллозы – $8 \cdot 10^{-3}$ (в 1000 раз больше, чем для глюкозы), а для маннозы – $5 \cdot 10^{-6}$.

Функциональное значение высоких и низких величин сродства между ферментом и субстратом удобно рассмотреть на примере, когда две «разновидности» какого-либо фермента ($\mathbf{E_1}$ и $\mathbf{E_2}$) обладают одинаковой способностью к снижению энергетического барьера (энергией активации), но резко отличаются по сродству к одному и тому же субстрату. Возникает вопрос: будет ли различие в их активности?

Копосов Юрий ВГУ

При высоких концентрациях субстрата, при полном насыщении $E_1$ и $E_2$ у них $V_{max}$ будет одинаковой и при этих условиях фактором, лимитирующим скорость, является не связывание субстрата, а, вероятнее всего, активация фермент-субстратного комплекса.

В ситуации при низких (не насыщающих) концентрациях субстрата фермент $E_1$ с меньшей величиной $K_m$ проявляет более высокую активность по сравнению с ферментом $E_2$. В данном случае этапом, лимитирующим скорость реакции, является образование фермент-субстратного комплекса и поэтому скорость реакции зависит от сродства фермента к субстрату. Чем ниже концентрация субстрата, тем сильнее это сродство оказывает влияние на скорость ферментативной реакции.

Ярким примером могут быть гексокиназа и глюкокиназа печени, которые имеют неодинаковое сродство к глюкозе. Так, гексокиназа имеет $K_m = 10^{-5}$ моль/л, а для глюкокиназы $K_m = 10^{-2}$ моль/л глюкозы, т.е в 1000 раз больше. Глюкокиназа действует только при высоких концентрациях глюкозы, и в организме млекопитающих служит в качестве предохранительного клапана, который действует при очень высоком уровне глюкозы в крови и помогает преодолеть многие нарушения метаболизма.

Физиологические концентрации субстратов близки к величинам $K_m$ и $S_{0,5}$. Небольшие изменения $K_m$ (сродства между ферментом и субстратом) могут приводить к большим изменениям в интенсивности катализа, что играет важную роль в механизмах регуляции ферментативной активности.

**Регуляция ферментативной активности.** Регуляция метаболиза в организме сводится к регуляции интенсивности и направленности ферментативных процессов.

Интенсивность катализа может регулироваться только двумя способами:

1) изменением количества (концентрации) ферментов на уровне биосинтеза;

2) модуляцией (изменением) активности имеющихся ферментов.

Эти два механизма регуляции различаются по скорости, тонкости и многосторонности ответной реакции:

– по скорости ответной реакции 1-й механизм медленный, для его проявления необходимо длительное время, по меньшей мере несколько часов; 2-й механизм быстрый, можно считать, мгновенный;

– по тонкости ответной реакции 1-й – «грубая» регуляция количеством фермента, а 2-й – позволяет осуществлять тонкую «настройку» фермента.

– по многосторонности ответной реакции 1-й – обладает большими возможностями, т.к. позволяет организму модулировать относительные количества и типы ферментов в широких пределах в зависимости

Репозиторий ВГУ

от сигналов из окружающей среды, а с помощью 2-го механизма качественный состав набора ферментов не может быть изменен.

Концентрация (количество) ферментов может регулироваться на четырех уровнях: транскрипции, трансляции, сборки ферментного белка и его разрушения.

На уровне транскрипции специфические химические сигналы могут инициировать или блокировать транскрипцию определенного участка ДНК в мРНК. Регуляция на уровне генов может вести 1) к увеличению или уменьшению количества определенных ферментов, 2) к изменению типов ферментов в клетке, 3) к изменению относительного содержания изоферментов.

После образования фермента его активность определяется многими факторами, такими, как наличие субстрата, влияние температуры, давления, pH, взаимодействие с группой метаболитов, называемых ***модуляторами ферментов***, обеспечивающих наиболее быструю, точную и тонкую регуляцию ферментов и метаболизма.

Модуляторы обычно изменяют сродство фермента к субстрату и не изменяют $\mathbf{V_{max}}$. ***Положительные модуляторы*** снижают $\mathbf{K_m}$ или $\mathbf{S_{0,5}}$ и тем самым повышают сродство фермента к субстрату и скорость реакции приближают к $\mathbf{V_{max}}$. ***Отрицательные модуляторы*** повышают $\mathbf{K_m}$ или $\mathbf{S_{0,5}}$ и снижают сродство фермента к субстрату и тем самым уменьшают интенсивность катализа.

**Модуляция активности ферментов** представляет наиболее быстрый и тонкий механизм регуляции, который осуществляется несколькими путями.

***Ковалентная модификация*** бывает обратимой и необратимой. Важнейшими видами ***обратимой*** ковалентной модификации являются обратимое присоединение функциональных химических групп (фосфатной, аденилатной) и восстановление дисульфидов.

Модификация путем ***фосфорилирования и дефосфорилирования*** представляет собой один из распространенных видов химической модификации, которая осуществляется путем присоединения фосфатной группы к –ОН группе аминокислотных остатков серина и треонина под действием фермента ***протеинкиназы*** и ее гидролиза при участии ***фосфопротеинфосфатазы*** (рис. 5.6).

Путем фосфорилирования регулируются ферменты метаболизма углеводов (гликоген-фосфорилаза, фосфорилаза киназы, гликоген-синтаза, фосфофруктокиназа-2, пируваткиназа, пируватдегидрогеназа), липидов (гидроксиметилглутарил-СоА-редуктаза, ацетил-СоА-карбоксилаза, триацилглицерол-липаза), аминокислот (дегидрогеназа разветвленных кетокислот, фенилаланин-гидроксилаза, тирозин-гидроксилаза).

РЕПОЗИТОРИЙ БГМУ

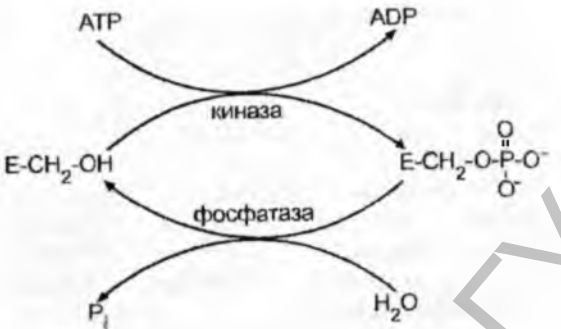



Рис. 5.6. **Регуляция активности ферментов путем фосфорилирования–дефосфорилирования**

Примеры активных и неактивных форм ферментов.

| Фосфорилированная форма | Фермент | Дефосфорилированная форма |
|---|---|---|
| активная | протеинкиназа | неактивная |
| активная | гликоген-фосфорилаза | неактивная |
| неактивная | гликоген-синтаза | активная |

Недавно открыт новый класс протеиновых киназ, фосфорилирующих остатки тирозина, действие которых связано с определенными видами злокачественных заболеваний, вызываемых вирусами.

Другим видом ковалентной модификации является ***аденилирование.*** Примером может быть присоединение аденилатной группы (АМФ) к остатку тирозина глутаминсинтетазы, близко расположенному к активному центру. Относительно большая отрицательно заряженная аденилатная группа закрывает активный центр глутаминсинтазы и ингибирует фермент, выполняющий ключевую роль в метаболизме азота.

Обратимой ковалентной модификацией является ***восстановление дисульфидных связей*** в молекуле фермента с образованием сульфгидрильных групп **(–SH)**, принимающих участие в ферментативном катализе.

Необратимая ковалентная модификация представлена ***активацией зимогенов*** (проферментов) путем ***частичного протеолиза.*** Частичным протеолизом регулируются пищеварительные ферменты (пепсин, трипсин, химотрипсин, карбоксипептидазы А и В, эластаза, фосфолипаза), ферменты системы свертывания крови (факторы VII, IX, X, XIII, тромбин), ферменты, растворяющие сгустки крови (плазминоген, активатор плазминогена) и ферменты программированного развития (хитинсинтетаза, коллагеназа). Например, от трипсиногена под действием энтеропептидазы отщепляется гексапептид с образованием трипсина.

Репозиторий БГУ

$$\text{Трипсиноген} \xrightarrow[\text{Энтеропептидаза}]{} \text{Трипсин} + \text{Val-(Asp)}_4\text{-Lys}$$

Зимиген не активен, потому что у него не сформирован активный центр. Функциональные группы, ответственные за связывание и катализ, присутствуют, но они не должным образом расположены в трехмерной структуре. Расщепление одной или нескольких пептидных связей в зимогене служит пусковым механизмом для изменения конформации всей молекулы и образования активного центра фермента.

**Регуляция активности ферментов путем ассоциации – диссоциации.** Взаимопревращение активной и неактивной форм олигомерных ферментов может происходить путем ***ассоциации – диссоциации.*** В олигомерном состоянии ферменты почти всегда представляют активную форму Этот процесс часто запускается ковалентной модификацией (фосфорилирования и дефосфорилирования и др.), а иногда связыванием некоторых соединений (например, циклического аденозинмонофосфата (ц-АМР) с одной из субъединиц олигомерного фермента.

**Регуляция ферментов путем ингибирования.** Ингибирование ферментов представляет собою один из механизмов биорегуляции. Действие многих антибиотиков, антивирусных и противоопухолевых препаратов, инсектицидов и гербицидов основано на ингибировании какого-то определенного клеточного фермента. Ингибирование бывает ***обратимым и необратимым, конкурентным и неконкурентным.***

Классическим примером ***конкурентного*** ингибирования является ингибирование сукцинатдегидрогеназы малонатом, который конкурирует с сукцинатом за связывание с активным центром и образует непродуктивный фермент-ингибиторный комплекс **[EI]**, не способный давать продукт реакции. Кроме того, образование **EI** уменьшает число молекул свободного фермента, способных взаимодействовать с сукцинатом, в результате чего скорость реакции снижается. Но так как малонат обратимо связывается с ферментом, то равновесие реакции $\mathbf{E + I = EI}$ можно сдвинуть влево, увеличивая концентрацию сукцината. Распад **EI** на **E** и **I** при избытке субстрата способствует образованию нормального фермент-субстратного комплекса.

Тип ингибирования определяют путем оценки влияния ингибитора на $\mathbf{K_m}$ и $\mathbf{V_{max}}$. В результате конкурентного ингибирования $\mathbf{V_{max}}$ не изменяется, $\mathbf{K_m}$ возрастает, сродство фермента к субстрату снижается.

Лечебное действие сульфамидных препаратов (микробные инфекции), аллопуринола (подагра), фторурацила (рак) основано на конкурентном ингибировании. Этанол является конкурентным субстратом по отношению к метанолу и этиленгликолю и применяется при отравлении этими спиртами.

Репозиторий БГУ

***Конкурентное ингибирование конечным продуктом*** реакции (метаболического пути) – один из типов биорегуляции. Ингибирование конечным продуктом одного из ферментов многоэтапного метаболического пути, катализирующего ранний этап этого пути называется ***ингибированием по типу обратной связи*** и такой способ контроля рассматривают как основную стратегию биорегуляции во всех живых клетках, что связано с ***аллостерической регуляцией*** активности ферментов.

Акт связывания аллостерического эффектора с аллостерическим (регуляторным) центром вызывает конформационные изменения в разных частях молекулы и в активном центре фермента. Изменения конформации активного центра, в свою очередь, ведут к изменению активности фермента. Такое явление носит название ***аллостеризма***, а регуляция аллостерической.

***Неконкурентное ингибирование.*** Когда влияние **I** (ингибитора) не может быть преодолено повышением концентрации **S**, мы имеем дело с неконкурентным ингибированием. Это значит, что **I** и **S** не конкурируют за фермент, а образуют непродуктивный тройной комплекс **EIS**. В зависимости от того, как первоначальное связывание **I** или **S** влияет на последующее связывание второго компонента, эффекты могут быть разные. В случае, когда **S** имеет одинаковое сродство к **E** и **EI**-комплексу, а **I** к **E** и **ES**-комплексу, то в присутствии **I** изменяется только $V_{max}$. Такой случай называют чистым неконкурентным ингибированием.

В случае различного сродства **S** и **I** к ферменту и соответствующему комплексу (**EI, ES**) изменяется как $V_{max}$, так и $K_m$. Такой случай называют смешанным неконкурентным ингибированием. Ингибирование конечным продуктом в большинстве случаев является смешанным видом ингибирования.

***Необратимое ингибирование.*** Ряд ингибиторов (**I**) необратимо связываются с **E** или **ES**, что, в свою очередь, оказывает влияние на $V_{max}$. Поэтому такое ингибирование относят к неконкурентному. Такие ингибиторы, как $Hg^{2+}$, $Pb^{2+}$ и соединения мышьяка, ковалентно связываются с **E** или с **ES**, изменяют нативную конформацию фермента, с чем и связано их токсическое действие. Ингибиторы (*n*-(хлоромеркурио)бензоат и диизопропилфторофосфат), которые ковалентно связываются с **HS**–группами цистеина и **HO**–группами серина соответственно, широко используются в изучении механизмов ферментативных реакций.

На необратимом ингибировании основано действие пенициллина, аспирина (ацетилсалициловой кислоты) и других лекарственных препаратов. Пенициллин ингибирует фермент, участвующий в сборке клеточных стенок бактерий, а аспирин ингибирует простагландин-эндопероксидсинтазу и таким путем ограничивает биосинтез простагландинов.

Репозиторий ВГУ

**Практическое применение ферментов и ферментных препаратов**. В последние годы широко внедряются методы ферментативного анализа в лабораторную практику, где чистые ферменты используются в качестве реагентов с целью определения различных метаболитов (глюкозы, пирувата, лактата, глюкозо-6-фосфата и др.).

Ферменты и ферментные препараты находят широкое применение в пищевой промышленности, биотехнологии, в медицинской клинической практике. Связь между ферментами и многими болезнями не вызывает сомнений. Энзимопатиями называют патологические состояния, которые характеризуются отсутствием или понижением активности определенных ферментов, связанных с дефектами генов, и передаются по наследству. При таких болезнях наилучший способ лечения состоит в замене поврежденного фермента нормальным, но как отмечает П. Фридрих (1986), такой способ легко предложить, но совсем не просто реализовать. Однако, несмотря на многие трудности в этом вопросе, многие ферментативные препараты широко применяются в клинической практике.

Отрасли химической, фармацевтической, пищевой промышленности и переработка вторичного сырья кардинально меняются под воздействием технологий, связанных с использованием ферментов в этих отраслях. В перспективе возможно создание искусственных или близких к искусственным мультиферментных систем для производства определенных продуктов, но для этого необходимы дальнейшие теоретические разработки.

**Номенклатура и классификация ферментов.** Первоначальные тривиальные названия некоторых ферментов, таких, как пепсин, трипсин, птиалин, лизоцим и др., не отражают их функций. Большинство рациональных названий ферментов образовано от природы субстрата, на который действует фермент с помощью окончания *-аза* (амилаза, липаза, уреаза, аргиназа) и от природы субстрата и типа катализируемой реакции (пируватдекарбоксилаза, пируваткарбоксилаза, гистидиндекарбоксилаза, алкогольдегидрогеназа и т.д.). С открытием новых ферментов и новых реакций появились и другие названия: такие, как оксидаза, оксигеназа, мутаза, трансальдолаза, транскетолаза и т.п.).

Современная систематичская классификация и номенклатура ферментов базируются на химических реакциях, которые они катализируют. Поэтому вопросы номенклатуры и классификации ферментов удобно рассматривать одновременно в виду их тесной взаимосвязи.

***По типу катализируемых реакций*** ферменты делят на ***шесть классов***. В свою очередь, классы делятся на подклассы, а подклассы на подподклассы. В подподклассе ферменту присваивается порядковый номер. Такая классификация позволяет использовать шифр ферментов, который состоит из четырех разделенными точками чисел, имеющих следующий смысл:

1) первое число показывает, к какому классу принадлежит фермент;

Репозиторий ВГУ

2) второе число указывает подкласс;
3) третье число обозначает подподкласс;
4) четвертое число соответствует порядковому номера фермента в подклассе.

***1. Оксидоредуктазы.***

К классу оксидоредуктаз относятся ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции. Окисляемый субстрат рассматривается как донор водорода или электронов. Систематическое название составляется по типу «донор: акцептор – оксидоредуктаза». Рекомендуемое название включает термин «дегидрогеназа», а в качестве альтернативы может быть использован термин «акцептор – редуктаза».

Известно около 200 ферментов, использующих молекулярный кислород в качестве одного из субстратов. Термин «оксидаза» используется в тех случаях, когда молекулярный кислород ($O_2$) используется только как акцептор электронов. Существует два типа оксидаз:

1) оксидазы, генерирующие $H_2O$ по реакции:

$$RH_2 + 1/2\ O_2 \xrightarrow[\text{Оксидаза}]{} R + H_2O;$$

2) оксидазы, генерирующие $H_2O_2$ по реакции:

$$RH_2 + O_2 \xrightarrow[\text{Оксидаза}]{} R + H_2O_2.$$

В случаях, когда $O_2$ в ходе реакции включается в другой субстрат, то используется термин оксигеназа. Существует также два типа оксигеназ:

1) монооксигеназы или гидроксилазы включают в субстрат только олин атом кислорода:

$$RH_2 + AH_2 + O_2 \xrightarrow[\text{Монооксигеназа}]{} R\text{-}OH + H_2O + A;$$

2) диоксигеназы, включающие оба атома кислорода в субстрат:

$$RH_2 + O_2 \xrightarrow[\text{Диоксигеназа}]{} HO\text{-}R\text{-}OH.$$

Термин «пероксидаза» относится к ферментам, использующим $H_2O_2$ в роли акцептора. Название каталаза используется как исключение.

***Цитохромы*** – группа внутриклеточных железосодержащих геминовых окислительно-восстановительных ферментов, принимающих участие в транспорте электронов в клетках аэробных организмов. Функциональная активность цитохромов связана с обратимым изменением степени окисления железа: $Fe^{2+} = Fe^{3+}$.

В клетках высших организмов цитохромы (b, c, $c_1$, a, $a_3$) являются компонентами дыхательной цепи, локализованы в митохондриях и расположены вдоль поверхности мембраны митохондрий.

Репозиторий ВГУ

Примеры оксидоредуктаз:

| Кодовый номер (шифр) | Рекомендуемое (рабочее) название | Реакция | Основание классификации (систематическое название) |
|---|---|---|---|
| 1.1.1.1 | Алкоголь-дегидрогеназа | Алкоголь + $NAD^+$ = альдегид или кетон + NADH+$H^+$ | Алкоголь: $NAD^+$ оксидоредуктаза |
| 1.1.1.27 | Лактат-дегидрогеназа | L-Лактат + $NAD^+$ = пируват + NADH +$H^+$ | L-Лактат: $NAD^+$ оксидоредуктаза |
| 1.4.1.2 | Глутамат-дегидрогеназа | L-Глутамат + $H_2O$ + $NAD^+$= 2-оксоглуторат +$NH_3$+NADH +$H^+$ | L-Глутамат: $NAD^+$ оксидоредуктаза |
| 1.6.4.2 | Глутатион-редуктаза [NAD(P)H] | NAD(P)H+окисленный глутатион = $NAD(P)^+$ + 2 глутатион | NAD(P)H: окисленный глутатион |
| 1.10.3.3 | Аскорбат-оксидаза | 2 L-Аскорбат + $O_2$ = 2 дегидроаскорбат + 2 $H_2O$ | L-Аскорбат: кислород оксидоредуктаза |
| 1.11.1.9 | Глутатион-пероксидаза | 2 Глутатион + $H_2O_2$ = окисленный глутатион + 2 $H_2O$ | Глутатион: пероксид водорода оксидоредуктаза |

### *2. Трансферазы.*

Трансферазы - ферменты, катализирующие перенос той или иной группы (метильной, гликозильной, аминной и т.п.) от одного соединения (донора) к другому соединению (акцептору). Систематическое название формируется по схеме: «донор: акцептор–группа–трансфераза», рабочие названия – по типу «акцептор – группа трансфераза» или «донор – группа трансфераза».

Донором во многих случаях является кофактор, присоединивший группу переноса. Особый случай представляют аминотрансферазы. Взамен термина «аминотрансфераза» может употребляться – «трансаминаза». Применяется ряд специальных терминов для названий ферментов этого класса. Так, *киназа* обозначает перенос фосфатного остатка от АТР на какое-либо соединение или, наоборот, с образованием АТР. Термин «*фосфомутаза*» используется в случае переноса фосфата по кажущемуся внутримолекулярному механизму.

Примеры трансфераз:

| Кодовый номер (шифр) | Рекомендуемое (рабочее) название | Реакция | Основание классификации (систематическое название) |
|---|---|---|---|
| 2.1.1.28 | Норадреналин–N-метилтрансфераза | S-аденозил-L-метионин + норадреналин = S-аденозил-L-гомоцистеин + адреналин | S-аденозил-L-метионин: фенилэтаноламин N-метилтрансфераза |
| 2.3.1.7 | Карнитин-ацетилтрансфераза | Ацетил-СоА + карнитин = СоА +О-ацетилкарнитин | Ацетил-СоА: карнитин О-ацетилтрансфераза |

Репозиторий БГУ

| Кодовый номер (шифр) | Рекомендуемое (рабочее) название | Реакция | Основание классификации (систематическое название) |
|---|---|---|---|
| 2.4.1.1 | Фосфорилаза | (1,4-α-D-Глюкозил)$_n$ +ортофосфат = (1,4-α-D-гликозил) $_{n-1}$ + α-D-глюкозо-1-фосфат | 1,4-α-D-Глюкан: ортофосфат гликозилтрансфераза |
| 2.4.1.11 | Гликоген (крахмал)-синтаза | UDP глюкоза + (1,4-α-D-гликозил) $_n$ = UDP + (1,4-α-D-гликозил) $_{n+1}$ | UDP глюкоза: гликоген 4-α-глюказилтрансфераза |
| 2.6.1.2 | Аланин-аминотрансфераза | L-Аланин + 2-оксоглутарат = пируват + L-глутамат | L-Аланин: 2-оксоглутарат аминотрансфераза |
| 2.7.1.2 | Глюкокиназа | ATP + D-глюкоза = ADP + D-глюкозо-6-фосфат | ATP: D-глюкозо-6-фосфотрансфераза |
| 2.7.5.1 | Фосфоглюкомутаза | α-D-Глюкозо-1,6-бисфосфат + α-D-глюкозо-1-фосфат = α-D-глюкозо-6-фосфат + α-D-глюкозо-1,6-бисфосфат | α-D-Глюкозо-1,6-бисфосфат: α-D-глюкозо-1-фосфат фосфотрансфераза |

***3. Гидролазы.*** Ферменты класса гидролаз катализируют разрыв различных химических связей путем гидролиза, т.е. путем присоединения элементов воды. ***Эстеразы*** (3.1) катализируют гидролиз сложноэфирных связей, которые, в свою очередь, подразделяются на эстеразы карбоновых кислот – карбоксиэстеразы (3.1.1), типичным представителем является липаза; эстеразы тиоловых соединений (3.1.2); гидролазы фосфорных эфиров (фосфатазы).

Гидролиз гликозидных связей осуществляют ***гликозидазы.*** К ***О-гликозидазам*** относятся инвертаза (сахараза), лактаза, мальтаза, целлобиаза, целлюлаза, α-амилаза и др. Представителями ***N-гликозидаз*** являются различные нуклеозидазы (инозин-нуклеозидаза, уридин-нуклеозидаза, AMP-нуклеозидаза, NAD(P)$^+$-нуклеозидаза и др.)

***Пептидазы*** (пептид-гидролазы) катализируют гидролиз пептидных связей и представляют большой подкласс гидролаз. К этому подклассу относятся субтилизин, пепсин А, пепсин В, пепсин С, эластаза, трипсин, химотрипсин, тромбин (фибриногеназа), аминопептидазы, карбоксипептидазы, дипептидазы.

Примеры гидролаз:

| Кодовый номер (шифр) | Рекомендуемое (рабочее) название | Реакция | Основание классификации (систематическое название) |
|---|---|---|---|
| 3.1.1.3 | Триацилглицероллипаза | Триацилглицерол+$H_2O$=диацилглицерол + анион жирной кислоты | Триацилглицерол ацилгидролаза |
| 3.1.1.7 | Ацетилхолинэстераза | Ацетилхолин + $H_2O$ = холин + ацетат | Ацетилхолин ацетилгидролаза |
| 3.1.3.9 | Глюкозо-6-фосфатаза | D-Глюкозо-6-фосфат + $H_2O$ = D-глюкоза + ортофосфат | D-Глюкозо-6-фосфат фосфогидролаза |

Репозиторий ГГМУ

| Кодовый номер (шифр) | Рекомендуемое (рабочее) название | Реакция | Основание классификации (систематическое название) |
|---|---|---|---|
| 3.5.1.2 | Глутаминаза | L-Глутамин + $H_2O$ = L-глутамат + $NH_3$ | L-Глутамин-амидогидролаза |
| 3.5.1.5 | Уреаза | Мочевина + $H_2O$ = $CO_2$ + 2 $NH_3$ | Мочевина-амидогидролаза |
| 3.5.3.1 | Аргиназа | L-Аргинин + $H_2O$ = L-орнитин + мочевина | L-Аргинин-амидиногидролаза |
| 3.6.1.8 | АТР-пирофосфатаза | АТР +$H_2O$ = АМР + пирофосфат | АТР-пирофосфогидролаза |

***4. Лиазы (синтазы).*** Лиазы – ферменты, которые разрывают С–С, С–О, С–N и другие связи негидролитическим и неокислительным способами (путями) и отличаются от других ферментов тем, что в катализируемых ими реакциях в одном направлении участвует два субстрата, а в обратной реакции только один. При действии на один субстрат от него отщепляется молекула с образованием непредельного соединения.

Систематическое название дается от названия субстрата и термина «субстратная группа-лиаза». В рекомендованных названиях использованы такие термины, как «декарбоксилаза», «альдолаза», и для ферментов, отщепляющих молекулу воды, – «дегидратаза». В тех случаях, когда обнаружена только обратная реакция или она играет более важную роль, в названиях таких ферментов используют термин «синтаза».

Примеры лигаз (синтаз):

| Кодовый номер (шифр) | Рекомендуемое (рабочее) название | Реакция | Основание классификации (систематическое название) |
|---|---|---|---|
| 4.1.1.1 | Пируватдекарбоксилаза | 2-Оксокислота = альдегид + $CO_2$ | Карбоксилиаза 2-оксокислот |
| 4.1.1.17 | Орнитиндекарбоксилаза | L-орнитин = путресцин + $CO_2$ | L-Орнитин-карбоксилиаза |
| 4.1.1.18 | Лизиндекарбоксилаза | L-Лизин = кадоверин + $CO_2$ | L-Лизин-карбоксилиаза |
| 4.1.2.13 | Фруктозобисфосфат-альдолаза | D-Фруктозо-1,6-бисфосфат = D-дигидроксиацетонфосфат + D-глицеральдегид-3-фосфат | D-Фруктозо-1,6-бисфосфат D-глицеральдегид-3-фосфат-лиаза |
| 4.1.3.7 | Цитрат-синтаза | Цитрат + CoA = ацетил-CoA + $H_2O$ + оксалоацетат | Цитрат-оксалоацетат-лиаза |
| 4.2.1.4 | Цитрат-дегидратаза | Цитрат-*цис*-аконитат+ $H_2O$ | Цитрат-гидролиаза |

***5. Изомеразы.*** Изомеразы катализируют изомерные превращения, происходящие в пределах одной молекулы. Подклассами изомераз являются рацемазы и эпимеразы, цис-транс-изомеразы, внутримолекулярные оксидоредуктазы, внутримолекулярные трансферазы и другие.

Рацемазы и эпимеразы катализируют либо рацемизацию, либо эпимеризацию центра асимметрии, и подразделены по субстратам: аминокислот, гидроксикислот, углеводов и их производных и других соединений.

Репозиторий БГУ

Цис-транс-изомеразы катализируют перестройку при двойных связях.

Примеры изомераз:

| Кодовый номер (шифр) | Рекомендуемое (рабочее) название | Реакция | Основание классификации (систематическое название) |
|---|---|---|---|
| 5.1.1.1 | Аланинрацемаза | L-Аланин = D-аланин | Аланинрацемаза |
| 5.1.2.1 | Лактатрацемаза | L-Лактат = D-лактат | Лактатрацемаза |
| 5.1.3.1 | Рибулозофосфат-3-эпимераза | D-Рибозо-5-фосфат = D-ксилулозо-5-фосфат | D-Рибулозо-5-фосфат 3-эпимераза |
| 5.2.1.1 | Малеинат-изомераза | Малеинат = фумарат | Малеинат-*цис-транс*-изомераза |
| 5.3.1.9 | Глюкозофосфат-изомераза | D-глюкозо-6-фосфат = D-фруктозо-6-фосфат | D-Глюкозо-6-фосфат кетолизомераза |

Внутримолекулярные оксидоредуктазы катализируют окисление одной части и восстановление второй части молекулы. В этот подкласс входят ферменты, катализирующие превращение альдоз в кетозы, и наоборот, взаимопревращения кетонных и енольных групп (таутомеразы), перемещение двойной C = C и S – S связей из одного положения в другое.

Внутримолекулярные трансферазы (мутазы) катализируют перенос ацильных, фосфо-, амино- и других групп из одного положения в молекуле в другое.

***6. Лигазы (синтетазы).*** Лигазы катализируют реакции соединения двух молекул, сопряженные с гидролизом ATP или аналогичного нуклеозидтрифосфата. Образуемые при этом связи часто являются высокоэнергетическими (макроэргическими). В рекомендованных названиях применяется термин «синтетаза».

На подклассы лигазы делятся по образованным ими химическим связям: C–O, C–S, C–N, C–C, фосфоэфирным.

Примеры лигаз (синтетаз):

| Кодовый номер (шифр) | Рекомендуемое (рабочее) название | Реакция | Основание классификации (систематическое название) |
|---|---|---|---|
| 6.1.1.7 | Аланил-тРНК–синтетаза | ATP + L-Аланин = L-аланин-тРНК$^{Ala}$ + пирофосфат | L-Аланин: тРНК$^{Ala}$ лигаза (образующая AMP) |
| 6.2.1.3 | Ацил-CoA–синтетаза | ATP + кислота + CoA = AMP + ацил-CoA + пирофосфат | Кислота: CoA лигаза (образующая AMP) |
| 6.3.1.2 | Глутамин-синтетаза | ATP+L-Глутамат + $NH_3$ = ADP + ортофосфат + L-глутамин | L-Глутамат: аммиак лигаза (образующая ADP) |
| 6.3.2.11. | Карнозин-синтетаза | ATP + L-гистидин + β-аланин = AMP + пирофосфат + карнозин | L-Гистидин: β-аланин лигаза (образующая AMP) |
| 6.4.1.1 | Пируваткарбоксилаза | ATP + пируват + $CO_2$ + $H_2O$ =ортофосфат+оксалоацетат | Пируват: двуокись углерода лигаза (образующая ADP) |

Репозиторий ВГУ

# 6. ВИТАМИНЫ

***Витамины*** – это незаменимые жизненно важные факторы питания, необходимые в небольших количествах по сравнению с углеводами, белками и липидами. Они представляют собой органические соединения различной химической природы. Многие витамины используются для биосинтеза коферментов, гормонов и сигнальных веществ.

Более 250 лет тому назад было известно, что цинга, которой болели в основном мореплаватели, связана с нарушением питания.

В 1880 г. русский ученый Н.И. Лунин в опытах на мышах доказал, что для поддержания жизни кроме основных компонентов – углеводов, белков, жиров и минеральных солей, необходимы еще какие-то факторы.

В конце XVIII столетия тысячи моряков японского флота болели и многие умирали от таинственной в то время болезни «бери-бери». Загадкой было то, что моряки других стран этой болезнью не болели. В 1882 г. японский морской врач Канегиро Такаки обнаружил, что замена очищенного риса, основного продукта питания моряков, неочищенным рисом не только излечивает, но и предотвращает ее развитие.

Голландский тюремный врач Эйкманн на острове Ява в 1896 г. наблюдал заболевание подобное на бери-бери у кур, которых кормили пищевыми отходами из очищенного риса.

На возникновение определенных заболеваний при одностороннем питании указывал русский патофизиолог В.В. Пашутин в 1902 году.

В 1909 г. немецкий ученый Степп показал, что кормление мышей черным хлебом после экстракции спиртом и эфиром приводило к гибели подопытных животных, в то время как спиртовые и эфирные экстракты предотвращали их от гибели. Автором был сделан вывод, что с жирами экстрагируется какое-то вещество, необходимое для жизнедеятельности, и назвал его фактором А, впоследствии известный как витамин А.

В 1912 г. польский ученый К. Функ установил, что вытяжка из отрубей риса предотвращает развитие заболевания бери-бери. Из вытяжки получил вещество, содержащее аминогруппу, и ввел термин ***«витамины»*** (амины жизни). Впоследствии оказалось, что многие витамины не содержат не только аминогруппы, но и атома азота, однако, термин «витамины» вошел в науку и практику и широко используется в мировой литературе.

В 1922 г. Н.Д. Зелинский высказал предположение, что витамины входят в состав ферментов, выполняющих каталитические функции в организме животных и растений.

***Номенклатура и классификация.*** Первоначально витаминам (факторам питания) давали буквенные названия латинского алфавита – А, В, С, Д, Е и т.д. Затем стали давать дополнительные, так называемые биологические, названия, по тем болезням, развитие которых они пре-

Репозиторий ВГУ

дупреждают. С изучением химического состава и установлением химической структуры появились химические названия.

Классификация витаминов основывается на их растворимости. По растворимости витамины подразделяют на жирорастворимые (липофильные) и водорастворимые (гидрофильные).

***Провитамины*** – предшественники витаминов, т.е. вещества из которых образуются витамины.

***Гиповитаминоз*** – реакция организма на недостаточное поступление (содержание) того или иного витамина с нарушением определенных звеньев обмена веществ.

***Авитаминоз*** – реакция организма на отсутствие определенного витамина с глубоким нарушением обмена веществ и развитием специфических заболеваний. Могут встречаться полигиповитаминозы и полиавитаминозы. В связи с этим появилось изречение: «Присутствие витаминов можно обнаружить по их отсутствию».

***Гипервитаминоз*** – реакция организма на избыток витаминов, ведущая к нарушению метаболизма и развитию специфических симптомов. Другими словами это токсическое действие витаминов. Гипервитаминоз описан для витаминов А и D, которые не экскретируются из организма.

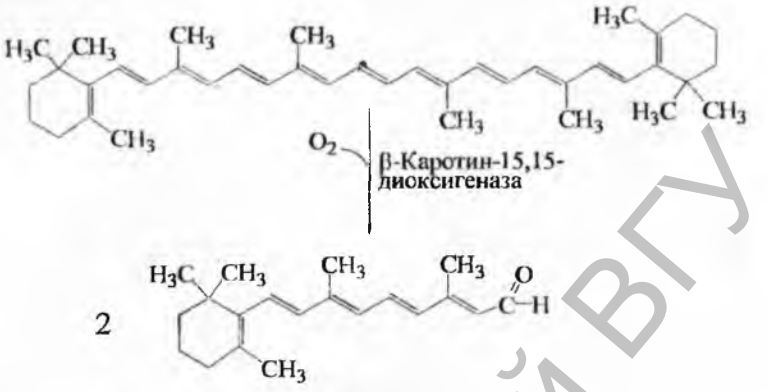
**Жирорастворимые (липофильные) витамины.** Основными жирорастворимыми витаминами являются витамины А, D, E, K и F. По химической природе липофильные витамины представляют собой типичные липиды.

**Витамин А** (ретинол, антиксерофтальмический фактор). Витамин А вначале выделен из рыбьего жира и назван ***ретинолом*** за участие в химических реакциях, происходящих в фоторецепторах, расположенных в ретине (сетчатке) глаза. В организме растений витамина А нет, а имеются каротиноиды (α-, β- и γ-каротины), наиболее распространенным из них является β-каротин. β-Каротин представляет собой непредельный углеводород ($C_{40}$), состоящий из двух β-иононовых циклов, соединенных четырьмя остатками изопрена.

У животных и человека в слизистой тонкого кишечника, печени и лактирующей молочной железе содержится фермент β-каротин 15,15-диоксигеназа, которая катализирует окислительное расщепление β-каротина с образованием двух молекул ретиналя. Ретиналь может восстанавливаться до ретинола (витамина $A_1$) и окислятся до ретиноевой кислоты. Использование каротина у разных видов животных неодинаково. Плотоядные не могут использовать каротин из-за отсутствия в организме фермента β-каротин–15,15-диоксигеназы. Обнаружено интересное явление между морскими и пресноводными рыбами. Жир печени пресноводных рыб содержит ретинол (витамин $A_1$) и дегидроретинол (витамин $A_2$), а в печени рыб, обитающих в соленой воде обнаружен только ретинол (витамин $A_1$).

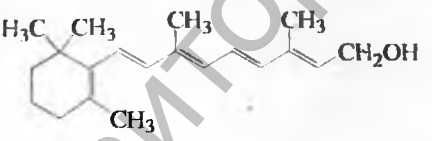
Репозиторий ВГУ

β-Каротин

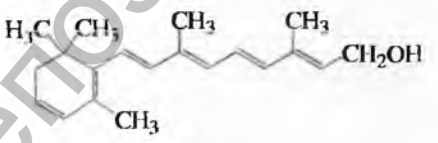



Ретиналь

У большинства высших животных преобладает витамин $A_1$, который в организме крыс в два раза активнее витамина $A_2$. В молекулах витаминов $A_1$ и $A_2$ все двойные связи находятся в *транс*-конфигурации.



Ретинол (витамин $A_1$)

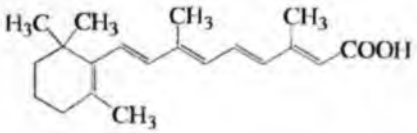


Дегидроретинол (витамин $A_2$)

Для различий близких по структуре соединений, проявляющих общие биологические свойства, но порой не одинаковую активность, введен термин «***витамеры***». Ретинол и дегидроретинол являются витамерами. В подобных случаях часто дают групповые названия – витамины группы A, D, E и т.д.

По химической природе витамин А представляет собой циклический непредельный одноатомный первичный спирт. В организме витамин А может находиться в спиртовой, альдегидной и кислотной формах.

Репозиторий ВГУ




Ретиноевая кислота

Ретинол в виде сложных эфиров, в основном с пальмитиновой кислотой, депонируется в печени. Ретиналь принимает участие в зрительном акте, а ретиноевая кислота выполняет функции фактора роста, обеспечивая процессы развития и дифференцировку тканей. Витамин А принимает активное участие в репродуктивных процессах.

***Механизм зрительного восприятия*** изучен на молекулярном уровне. В сетчатке глаза позвоночных содержится два вида фоторецепторных клеток – палочки и колбочки.

В палочках и колбочках находится светочувствительный белковолипидный комплекс – родопсин, состоящий из ретиналь-связывающего белка опсина и 11-*цис*-ретиналя.

Предшественником 11-*цис*-ретиналя является *транс*-ретинол, который превращается в 11-*цис*-ретиналь в два этапа. Сначала под действием фермента ретинолдегидрогеназы, коферментом которой является $NADP^+$, происходит окисление *транс*-ретинола в *транс*-ретиналь. Затем ретинальизомераза катализирует изомеризацию двойной связи между 11 и 12 атомами углерода из *транс*-положения в *цис*-положение. Высокие хромофорные свойства 11-*цис*-ретиналя обусловлены сопряженной системой, способной переносить электроны.

Колбочки функционируют на ярком свету и ответственны за восприятие цвета, а палочки воспринимают слабый свет и нечувствительны к цвету. В сетчатке глаза человека содержится 3 миллиона колбочек и 1 миллиард палочек, которые преобразуют энергию света в специфическое движение атомов в молекуле светочувствительного хромопротеина – родопсина, а затем в нервный импульс.

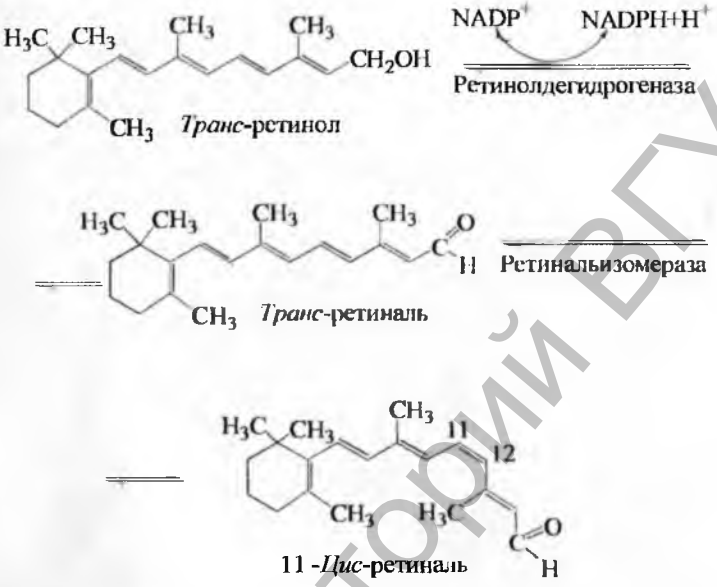
Палочки и колбочки образуют синапсы с биполярными клетками, которые взаимодействуют с другими нервными клетками в сетчатке. Электрические сигналы, генерированные фоторецепторными клетками, преобразуются, проходя по сложной сети нервных клеток, в сетчатке, а затем по зрительным нервам передаются в мозг.

В состав родопсина палочек входит один вид опсина, а в колбочках имеется три вида опсина, которые образуют ретиналь-опсиновые комплексы, воспринимающие голубой, красный и зеленый цвет.

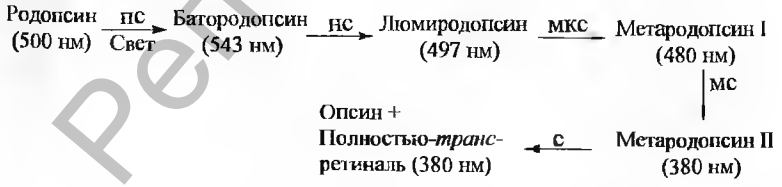
Молекула 11-*цис*-ретиналя ковалентно связана через шиффово основание между альдегидной группой с ε-аминогруппой остатка лизина в опсине. Поглощение молекулой родопсина кванта света индуцирует фо-

Репозиторий ВГУ

тоизомеризацию 11-*цис*-ретиналя в полностью-*транс*-ретиналь, и это является пусковым механизмом зрительного восприятия.




Образующийся при этом промежуточный продукт фотолиза батородопсин содержит напряженный полностью-*транс*-ретиналь. Далее и хромофор ретиналь и белок опсин продолжают изменять свои конфомации с образованием промежуточных продуктов с различными спектральными свойствами:




Переход от метародопсина I к метародопсину II сопровождается депротонированием шиффова основания, что, в свою очередь, ведет к гидролизу метародопсина II с образованием опсина и полностью-*транс*-ретиналя. Гидролиз шиффова основания по сравнению с фотолизом протекает очень медленно и не играет никакой роли в генерировании нервного импульса.

Репозиторий ВГУ

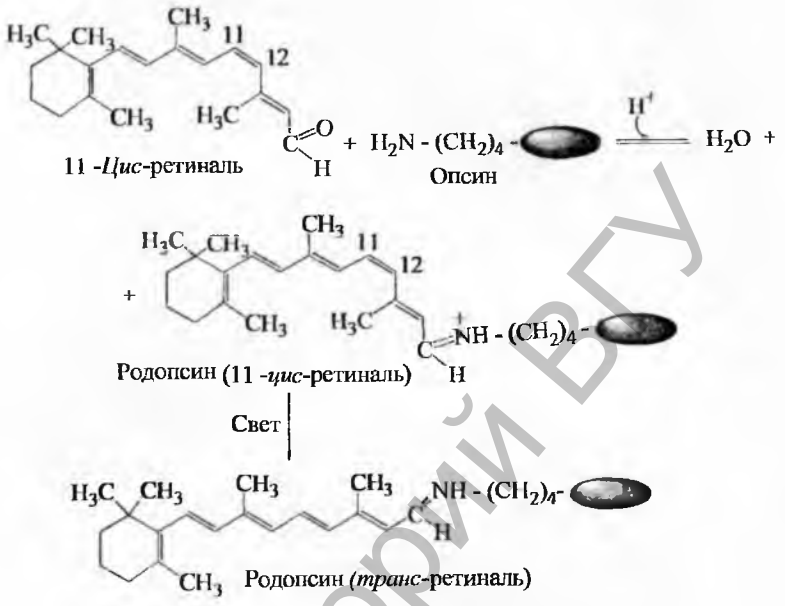



Рис. 6.1. **Схема биосинтеза родопсина и изомеризации 11-*цис*-ретиналя в полностью-*транс*-ретиналь в молекуле родопсина.**

Полностью-*транс*-ретиналь в темноте под действием ретинальизомеразы превращается в 11-*цис*-ретиналь, который снова вступает в реакцию с опсином с образованием родопсина. Зрительный процесс носит циклический характер (рис. 6.2).

Зрительный процесс на молекулярном уровне сводится к регулярному повторению ***цис-транс-изомеризации*** ретиналя и генерации электрических потенциалов, активирующих нервную систему. Цикл зрительного восприятия завершается регенерацией 11-*цис*-ретиналя, необходимого для повторного образования родопсина. Потери 11-*цис*-ретиналя в процессе метаболизма восполняются за счет каротина пищи.

Следует отметить, что в процессе зрительного акта в генерировании, усилении и передаче нервного импульса принимают участие целый ряд других факторов, таких, как белок трансдуцин, GTP, c-GMP, $(Na^+ + K^+)$-АТР-аза, ионы Na, Ca, глутамат и другие медиаторы.

Витамин А входит в состав клеточных и субклеточных мембран, принимает участие в окислительно-восстановительных процессах, транспорте углеводов, биосинтезе нуклеиновых кислот и белков.

Репозиторий ВГУ

**Рис. 6.2. Схема превращений родопсина при зрительном акте.**

Недостаток витамина А в организме животных приводит к нарушению роста и развития, сопровождается снижением иммунитета, что сопровождается инфекционными заболеваниями и особенно туберкулезом. У людей одним из ранних симптомов А-витаминной недостаточности является «куриная слепота». Авитаминоз ведет к развитию ксерофтальмии, а в тяжелых случаях к кератомаляции.

Избыток витамина А оказывает токсическое действие на организм.

**Витамин D** (кальциферол, антирахитический фактор). Витамины группы D являются производными стероидов. Известно более десяти производных, обладающих в той или иной мере D-витаминной активностью, но биологическое значение для животных и человека имеют витамины $D_2$ и $D_3$.

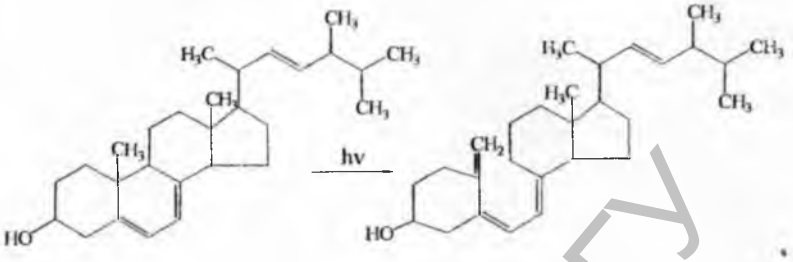
Один из наиболее интересных аспектов биохимии этих витаминов состоит в том, что они образуются из стериновых предшественников при УФ-облучении. В растениях содержится провитамин – эргостерол, который превращается в витамин $D_2$.

В организме животных и человека витамин $D_3$ (холекальциферол) образуется в коже из провитамина – 7-дегидрохолестерола, который, в свою очередь, синтезируется из холестерола.

Холекальциферол, поступив в печень, под воздействием гидроксилазы, при участии молекулярного кислорода и NADPH, гидроксилируется по 25 атому углерода с образованием 25-гидроксихолекальцидиола (кальцидиола, $25(OH)D_3$).

25-Гидроксихолекальцидиол в почках гидроксилируется по 1 атому углерода с образованием 1,25-дигидроксихолекальциферола (кальцитриола, $1,25(OH)_2\ D_3$). Кальцитриол на генном уровне индуцирует биосинтез кальцийсвязывающего белка в слизистой тонкого отдела кишечника, тем самым обеспечивая всасывание кальция и фосфора.

Репозиторий ВГУ




Эргостерол Эргокальциферол (витамин $D_2$)

Активность фермента гидроксилазы (кальцидиол-1-монооксигеназы) в почках регулируется паратгормоном, который синтезируется в паращитовидных железах в ответ на низкий уровень циркулирующего кальция в организме. В присутствии достаточного уровня кальция $25(OH)D_3$ превращается в неактивный метаболит $24,24(OH)_2D_3$.

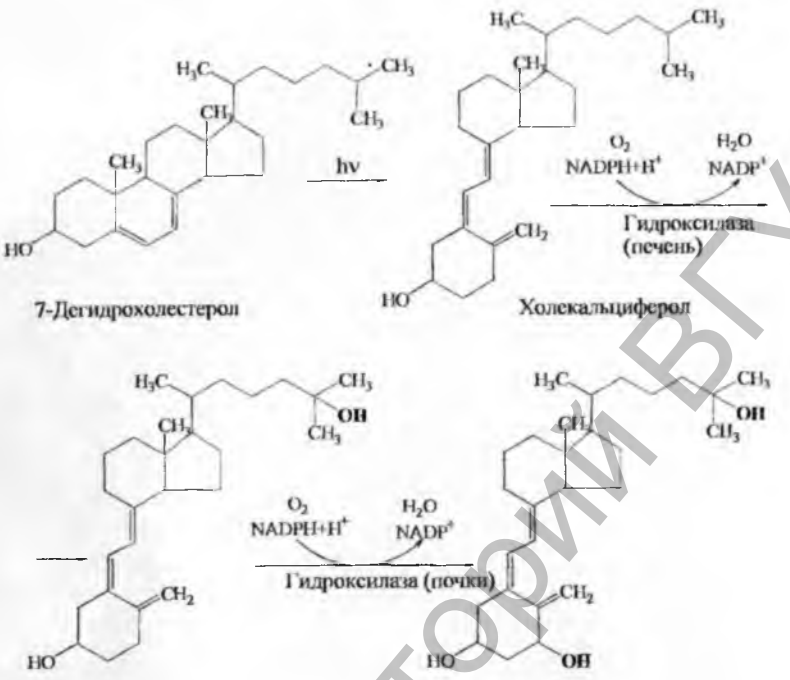
В костной ткани взрослого человека содержится примерно 1 кг кальция, главным образом в виде нерастворимых фосфатов кальция (гидроксилапатита–$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ и карбонатапатита–$Ca_{10}(PO_4)_6CO_3$). В результате активности остеобластов – костеобразующих клеток и остеокластов, разрушающих костную ткань, кальций постоянно откладывается и вымывается из костной ткани.

Кальцитриол ($1,25(OH)_2D_3$) представляет собой гормон потому, что он транспортируется из почек в клетки-мишени, имеющие клеточные рецепторы, аналогичные типичным стероидным гормонам. Таким образом, 1,25-дигидроксихолекальциферол стимулирует всасывание и транспорт кальция из клеток тонкого отдела кишечника и повышает отложение кальция остеобластами.

Недостаток кальцитриола у молодых животных, птенцов и детей приводит к заболеванию рахитом, у взрослых – остеомаляции. Отрицательный баланс между процессами отложения и вымывания кальция, особенно в пожилом возрасте, вызывает заболевание остеопороз.

Биосинтетические процессы в коже не всегда могут обеспечить потребности организма в витамине $D_3$. В таком случае вторая необходимая часть витамина $D_3$ может поступать в организм с продуктами питания. Витамин $D_3$ содержится в молоке, масле, в печени рыб (рыбьем жире) и других продуктах животного происхождения.

Репозиторий ВГУ



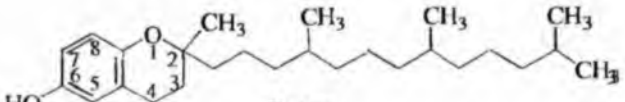

25-Гидроксихолекальциферол (кальцидиол)

1,25-Дигидроксихолекальциферол (кальцитриол)

**Рис. 6.3. Схема биосинтеза кальцитриола.**

**Витамин Е** (токоферол). Витамины группы Е называют токоферолами, поскольку все они содержат углеродный скелет токола. Токол формально можно рассматривать как производное гидрохинона и изопрена.

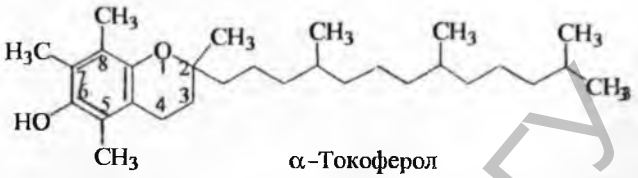
Большинство из известных токоферолов содержат насыщенную боковую цепь токола (радикал фитола), хотя ε-токофеол содержит три несопряженные двойные связи в боковой цепи. Наиболее распространенными в природе являются α-, β- и γ-токоферолы.



Токол

Репозиторий ВГУ

Самым активным из них является α-токоферол (2, 5, 7, 8-тетраметил-2-(4', 8', 12'-триметилтридецил)-6-гидроксихроман). Синтетически α-токоферол получен из триметилгидрохинона и фитола.



α-Токоферол

Структура β- и γ-токоферолов отличается от строения α-токоферола тем, что они в бензольном кольце содержат не три, а два метильных радикала. В β-токофероле метильные группы расположены у 5 и 8, а у γ-токоферола у 7 и 8 атомов углерода.

Что касается биологической роли и механизма действия витаминов группы Е, то долгое время они были окутаны тайной. В то же время им приписывали многие удивительные эффекты, такие, как способность снимать у алкоголиков тягу к дьявольскому зелью, излечивать бесплодие, замедлять процессы старения организма.

В 1926 г. Эванс (Evans) наблюдал, что крысы, которых содержали на диете, лишенной витамина Е, теряли способность к размножению. Что касается других животных, то этот вопрос остается нерешенным по настоящее время. У человека ни гиповитаминоза, ни авитаминоза Е обнаружить не удалось. У обезьян при авитаминозе Е возникает мышечная дистрофия и анемия. Подтвержденным фактом является то, что токоферол необходим для репродукции грызунов.

Витамин Е функционирует в организме как переносчик электронов в окислительно-восстановительных реакциях. Наряду с аскорбиновой кислотой и глутатионом витамин Е является важнейшим внутриклеточным антиоксидантом. Он тормозит пероксидное окисление липидов, особенно фосфаацилглицеролов клеточных мембран, витамина А. Образование пероксидов липидов мембран может, в свою очередь, привести к окислению мембранных белков. Такое разрушительное действие на первом этапе связано с превращением пероксидов липидов в пероксид-радикалы – высокореакционные агенты. Витамин Е принимает участие в детоксикации пероксида водорода ($H_2O_2$), супероксиданион-радикала ($O_2^{\cdot}$) и других активных форм кислорода (АФК).

Травоядные животные более чувствительны к недостатку витамина Е. Ткани животных при недостатке витамина Е, особенно скелетная и сердечная мышцы, потребляют значительно больше кислорода по сравнению с нормальными, что связано с пероксидным окислением непредельных кислот липидов. При этом развиваются мышечная дистро-

Репозиторий ЗГУ

фия, дегенеративные процессы в сердечной мышце, некротические процессы в печени (дистрофия печени), студневидные отеки в подкожной клетчатке, желудке и кишечнике. Мышечная дистрофия излечивается витамином Е и селеном. Мышечной дистрофией и экссудативным диатезом страдают цыплята и утята при высокой концентрации пероксидов и недостатке витамина Е и селена в кормах.

В настоящее время большое внимание привлекает одно из свойств, приписываемое витамину Е. Существует мнение, что он является «элексиром молодости». Согласно современным теориям процессы старения, вырождения тканей и изменения их функций связаны с повышенным содержанием свободных радикалов, которые образуются в процессах жизнедеятельности. Свободные радикалы являются весьма реакционноспособными частицами и при высокой концентрации они очень легко вступают в реакцию рекомбинации по схеме:

$$\mathbf{R^{\cdot} + R^{\cdot} = R - R.}$$

Такого типа реакции между молекулами белков и нуклеиновых кислот приводят к расстройству выполняемых ими функций в процессах жизнедеятельности. В результате этого клетки постепенно вырождаются и отмирают, что в конечном итоге приводит к смерти всего организма. Витамин Е выступает в качестве ловушки радикалов (рис. 6.4) и таким образом поддерживает концентрацию радикалов на низком уровне и тем самым препятствует их взаимодействию друг с другом и развитию нежелательных химических процессов в организме животных.

Рис. 6.4. **Схема гашения радикалов α-токоферолом.**

Витамины группы Е представляют собой устойчивые и широко распространенные в природе соединения. Много витамина Е находится в зародышах семян злаковых культур, мясных продуктах, сливочном масле, желтке яиц. Самым богатым источником является масло ростков



Репозиторий БГУ

пшеницы. В животном организме наиболее богаты витамином Е средняя доля гипофиза и плацента.

Витамин Е добавляют при переработке пищи для предохранения порчи.

**Витамин К** (антигеморрагический фактор). Витамин К открыт в 1925–1935 гг. в опытах на цыплятах, так как авитаминоз К можно вызвать только у цыплят диетой, не содержащей этого витамина, поэтому цыплят широко используют в экспериментальных исследованиях. Оказалось, что этот витамин необходим для свертывания крови и его назвали Koagulations-vitamin (нем.), отсюда и происходит название **витамин К**.

По химической природе витамины группы К являются производными 2-метил-1,4-нафтохинона и различаются количеством изопреноидных звеньев в боковой цепи. Витамин $К_1$ – 2-метил-3-фитил-1,4-нафтохинон (филлохинон) выделен из растений, а витамин $К_2$ – 2-метил-3-дифарнезил-1,4-нафтохинон (фарнохинон) из тканей животных. В 1939 г. установлено строение витамина $К_1$, а в 1940 г. он синтезирован и в этом же году установлена структура витамина $К_2$. Многие производные нафтохинона обладают К-витаминным действием.

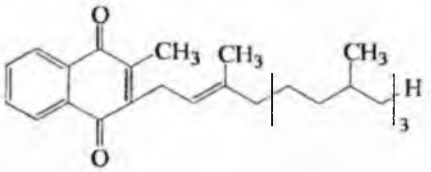
Главным свойством витамина К является его действие на свертывание крови. Исследования последних лет весьма сложного механизма свертывания крови позволили раскрыть роль витамина К в этом процессе. Белковые факторы свертывания крови II – протромбин КФ 3.4.21.5), VII – проконвертин (КФ 3.4.21.21), IX – фактор Кристмаса (КФ 3.4.21.22) и X – фактор Стюарта–Проуэра (КФ 3.4.21.6) представляют собой ферменты, которые синтезируются в виде проферментов. Витамин К выполняет коферментную функцию в процессах посттрансляционного карбоксилирования остатков глутамата в вышеуказанных белках-ферментах, расположенных в особых доменах.

Витамин-К-зависимые реакции карбоксилирования, слабо хелатирующий глутамат превращают в γ-карбоксиглутамат, являющийся сильным хелатирующим агентом. Остатки γ-карбоксиглутамата присоединяют ионы $Ca^{21}$ и связывают соответствующие регуляторные факторы с фосфоацилглицеролами на поверхности плазматической мембраны.

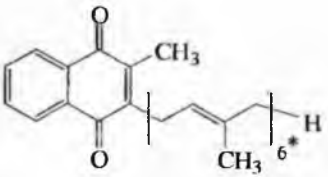
Так, например, в N-концевой части (пре)протромбина первые десять остатков глутамата карбоксилируются в γ-карбоксиглутамат витамин-К-зависимой ферментативной системой и (пре)протромбин превращается в протромбин (рис. 6.5). Протромбин, связываясь с $Ca^{2+}$, заякоривается на фосфолипидных мембранах тромбоцитов, скапливающихся в местах повреждений. Благодаря присоединению протромбина к фосфолипидным поверхностям происходит сближение с активным фактором X и V, а это, в свою очередь, ускоряет активацию протромбина фактором X более чем в $10^4$ раз с превращением протромбина в тром-

Репозиторий ВГУ

бин. На этом этапе активации N-концевой фрагмент протромбина, имеющий участок связывания $Ca^{2+}$, отщепляется.



Витамин $K_1$ (2-метил-3-фитил-1,4-нафтохинон)



Витамин К2 (2-метил-3-дифарнезил-1,4-нафтохинон)

* – Число остатков изопрена может быть 6, 7 или 9.

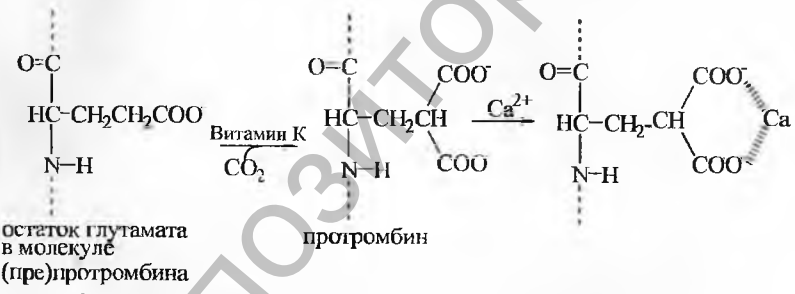


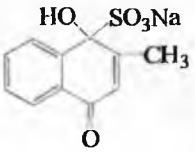

Рис. 6.5. **Схема посттрансляционной модификации протромбина.**

В результате тромбин освобождается от фосфолипидных поверхностей и, находясь в свободном виде, принимает участие в превращении фибриногена плазмы в фибрин.

В настоящее время широко используются синтетические препараты витамина К под различными названиями. В получении синтетических препаратов витамина К большое значение имели работы А.В. Палладина и М.М. Шемякина. Они синтезировали бисульфитное производное 2-метил-1,4-нафтохинона, названное викасолом. Синтетические препараты витамина К имеют ряд преимуществ в том, что их не трудно производить, они водорастворимы и их можно вводить парентерально.

Репозиторий ВГУ

Недостатком их является токсичность в больших дозах, в то время как природные витамины К токсическими свойствами не обладают.



Викасол

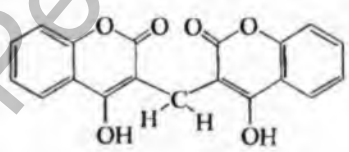
Реакция животных различных видов на недостаточность витамина К не одинакова. Для млекопитающих содержание витамина К в пище не играет роли, поскольку у них флора кишечника вырабатывает достаточное количество этого витамина, обеспечивающее потребности организма. Птица особенно чувствительна к недостатку витамина К в рационе, т.к. микрофлора кишечника синтезирует недостаточное количество витамина К. При недостаточности витамина К у птиц развивается геморрагический диатез, который сопровождается кровоизлияниями под кожу, в полость брюшины, в мышцы, развитием анемии.

Особое внимание следует обращать на снабжение витамином К грудных детей. Пока у них нет кишечной флоры, снабжение витамином К не гарантировано и у них могут развиться геморрагические диатезы.

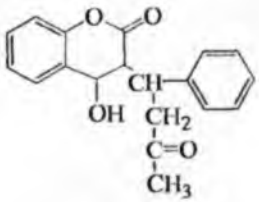
Кроме того, витамин К принимает участие в окислительно-восстановительных процессах, окислительном фосфорилировании в организме животных и человека.

Витамином К богаты овощи, например, капуста, шпинат, ягоды рябины, продукты животного происхождения.

Известно много веществ антагонистов витамина К. При массовом заболевании скота геморрагическим диатезом из испорченного клевера и донника было выделено токсическое начало, которым оказался дикумарол.



Дикумарол



Варфарин

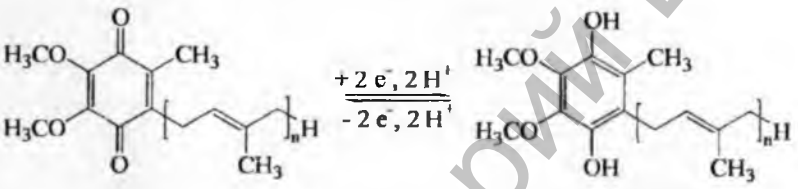
Под влиянием дикумарола в крови появляется дефектный протромбин, не способный связывать $Ca^{2+}$. Антагонисты витамина К подавляют биосинтез факторов коагуляции, являются ингибиторами свер-

Репозиторий ВГУ

тывания крови и применяются в клинической практике в качестве антикоагулянтов.

Дикумарол и варфарин, родственные по структуре и антагонисты витамину К по действию, применяются в качестве сильного крысиного яда. Дикумарол разобщает окислительное фосфорилирование и окисление, т.е. является ингибитором тканевого дыхания.

**Витамин (кофермент) Q.** К группе витаминов Q относят убихиноны (вездесущие хиноны), которые в организме выполняют коферментные функции. Убихиноны по структуре напоминают витамины групп Е и К и являются производными хинона, имеется боковая изопреноидная цепь, где число изопреноидных остатков (n) варьирует от 6 до 10. В хиноновом кольце имеется две метоксигруппы, а рядом с боковой цепью находится метильная группа.




Убихинон (CoQ)

Убихинон восстановленный ($CoQ\ H_2$)

В организме убихиноны находятся в клеточных мембранах и являются компонентами дыхательной цепи транспорта электронов. Они легко обратимо восстанавливаются и окисляются, принимая участие в транспорте электронов.

**Витамин F.** К витаминам группы F (англ. fat – жир) относят полиеновые жирные кислоты: линолевую, линоленовую и арахидоновую. Они содержатся в растительных маслах и не синтезируются в организме млекопитающих животных и человека. Экспериментальным путем установлено, что при недостатке этих кислот у крыс наблюдается дерматит с явлениями экземы, патологические явления в почках и остановка роста у молодых животных. В тяжелых случаях наблюдается жировое перерождение органов, склероз сосудов, снижение устойчивости к инфекционным заболеваниям. Подобные патологические изменения могут наблюдаться и у других млекопитающих, организм которых не способен синтезировать эти кислоты. Характерным признаком недостатка полиеновых кислот является нарушение метаболизма холестерола, холина и фосфатов. Все эти симптомы исчезают после введения в рацион полиеновых кислот. Любая из этих трех эссенциальных жирных кислот способна предотвратить возникновение авитаминоза.

Репозиторий ВГ

Линолевая кислота

Линоленовая кислота

Арахидоновая кислота

Арахидоновая кислота является предшественником эйкозаноидов – простагландинов и лейкатриенов, обладающих гормональным действием. Другие авторы считают их модуляторами гормонов. Линолевая и линоленовая кислоты, поступив в организм, могут наращивать углеродную цепь и таким путем превращаться в арахидоновую кислоту.

**Биосинтез эйкозаноидов** происходит во всех клетках организма и начинается с гидролиза фосфолипидов плазматической мембраны под действием фосфолипазы $A_2$, который приводит к освобождению предшественника эйкозаноидов – арахидоновой кислоты.

Вторым путем освобождения арахидоновой кислоты из фосфолипидов является действие фосфотидилинозитол-зависимой фосфолипазы С, приводящей к образованию диацилглицерола, на который действует диацилглицероллипаза с высвобождением арахидоновой кислоты. Этап высвобождения арахидоновой кислоты из фосфолипидов считается лимитирующим в процессе синтеза эйкозаноидов.

Простагландины являются производными арахидоновой кислоты, содержащими циклопентановое кольцо внутри цепи. Основные классы простагландинов обозначаются как $PGH_2$, $PGE_2$, $PGF_2$, $PGI_2$ и т.д. Нижний индекс указывает число двойных углерод-углеродных связей в углеводородной цепи вне цилопетанового остатка. Биосинтез простагландинов и тромбоксанов начинается с превращения арахидоновой кислоты в два эндопероксидных метаболита – $PGG_2$ и $PGH_2$. Вначале действует циклооксигеназа, катализирующей присоединение $O_2$ и образование циклопетанового фрагмента. В результате этой реакции происходит образование $PGG_2$, в котором циклопентановое ядро содержит пероксидную группу (–О–О–), боковая цепь – гидропероксидную группу (–О–О–Н). Затем включается пероксидаза и катализирует восстановление гидропероксидной группы до гидроксильной (–ОН) с образованием $PGH_2$. Циклооксигеназно-пероксидазную систему называют простагландин-эндопероксид – синтазой (рис. 6.6).

Репозиторий ВГУ

Простагландин $PGH_2$ играет роль предшественника при биосинтезе других простагландинов (рис. 6.7).

В некоторых клетках из $PGG_2$ и $PGH_2$ образуются тромбоксаны $TXA_2$ и $TXB_2$ и простациклин $PGI_2$.

Тромбоксаны синтезируются в тромбоцитах и способствуют свертыванию крови, вызывая агрегацию тромбоцитов и сужение артерий.

Биосинтез простациклина $PGI_2$ происходит в клетках, выстилающих артерии и вены. Простациклин $PGI_2$ препятствует свертыванию крови, ингибируя те же процессы, которые активируют тромбоксаны.

Относительная активность тромбоксанов и простациклина является определяющим фактором в процессе тромбообразования. Помимо этого, смещение активности в сторону тромбоксанов может быть первопричиной образования атеросклеротических бляшек. В связи с этим исследования простагландинов имеют огромное общебиологическое и клиническое значение в расшифровке аномального образования тромбов, связанных с сердечными приступами и инсультами.

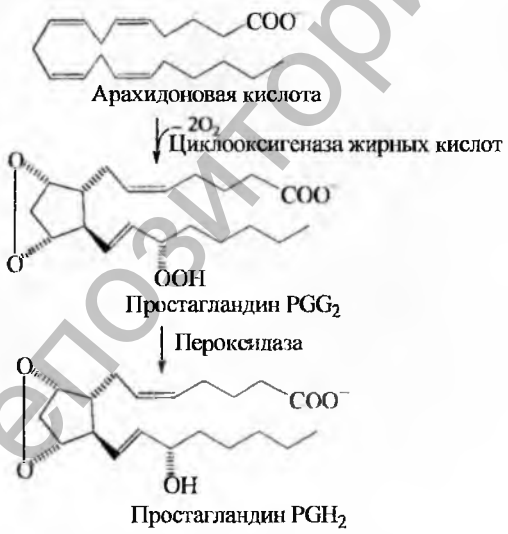



Рис. 6.6. **Схема биосинтеза $PGH_2$.**

Репозиторий БГУ

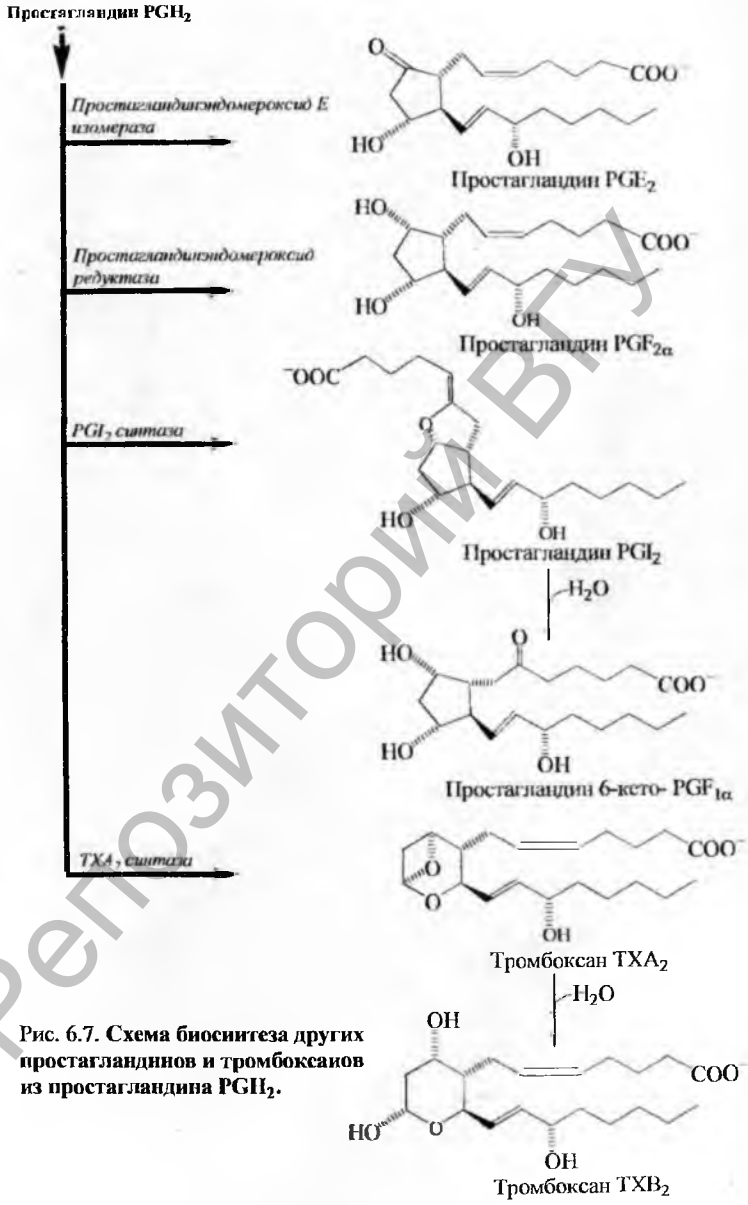



**Рис. 6.7. Схема биосинтеза других простагландинов и тромбоксаиов из простагландина $PGH_2$.**

Репозиторий ВГУ

Изучение биохимии простагландинов способствовало выяснению механизма действия ацетилсалицилата (аспирина), служившего долгое время эффективным болеутоляющим, антивоспалительным и жаропонижающим средством. Оказалось, что болевые ощущения, воспаление и повышение температуры в определенной мере зависят от повышенного биосинтеза простагландинов.

Аспирин снижает скорость биосинтеза простагландинов, ингибируя циклооксигеназный компонент эндопероксид-синтазы. Ингибирование фермента циклооксигеназы происходит путем ковалентной химической модификации. Ацетилсалицилат является ацилирующим агентом активной формы фермента. В процессе ацилирования циклооксигеназа из активной формы превращается в неактивную форму. Что касается механизма ацилирования фермента, то одни авторы считают, что присоединение ацетила происходит по гидроксильной группе остатка аминокислоты серина (рис. 6.8), а другие – по N-концевой аминогруппе полипептидной цепи. Реакция ацилирования по N-концевой аминогруппе будет протекать легче, но остатков аминокислоты серина в молекуле может быть несколько и их ацилирование может быть более эффективным.

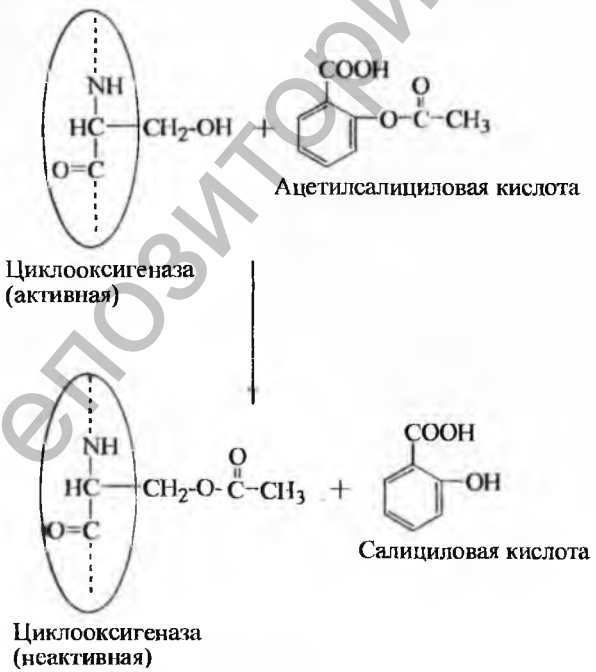



Рис. 6.8. **Схема ковалентной химической модификации циклооксигеназы.**

Репозиторий БГУ

Нимесулид (N-(4-нитро-2-феноксифепил)метансульфонамид), функциональной группой которого является сульфонамид, проявляет селективное ингибирующее действие на циклооксигеназу II, синтез которой преобладает в процессе воспаления и оказывает незначительное воздействие на циклооксигеназу I, оказывающую защитное действие на слизистую желудка и почек.

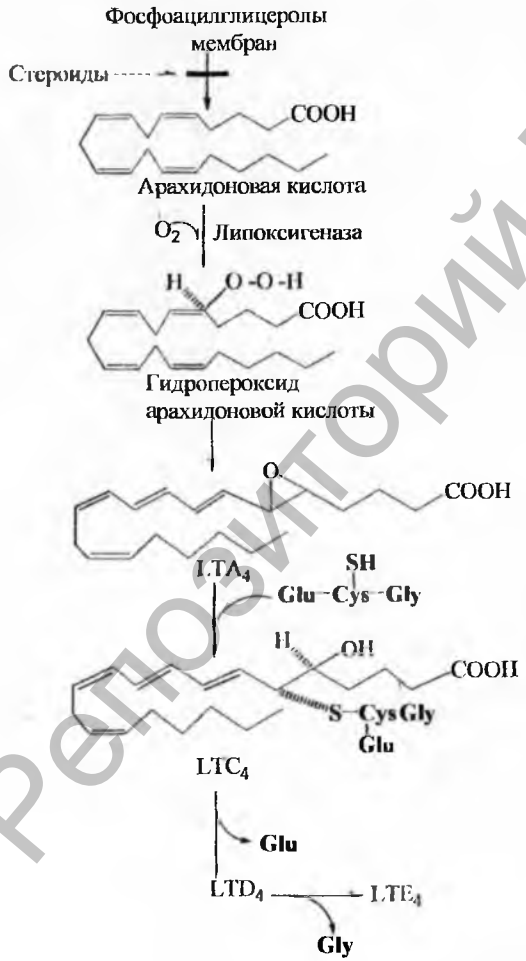



Рис. 6.9. **Схема биосинтеза лейкотриенов.**

Репозиторий ВГУ

Индометацин – производное индолилуксусной кислоты относится к активным противовоспалительным нестероидным средствам и сильным ингибиторам биосинтеза простагландинов. Он ингибирует синтазу путем не ковалентной модификации.

Препараты стероидной природы снижают биосинтез простагландинов, подавляя гидролиз мембранных липидов с освобождением арахидоновой кислоты.

Недавно обнаружены соединения, родственные простагландинам, которые назвали лейкотриенами, содержащие четыре двойные связи, три из которых являются сопряженными. Лейкотриены синтезируются лейкоцитами из арахидоновой кислоты с образованием других промежуточных продуктов по сравнению с биосинтезом простагландинов (рис. 6.9). На первом этапе фермент липоксигеназа катализирует окисление арахидоновой кислоты в гидропероксид. Липоксигеназа не ингибируется ни аспирином, ни индометацином. Сильнодействующими лейкотриенами являются соединения, образующиеся в результате взаимодействия с глутатионом и соединенные тиоэфирной связью (– C – S – C – ).

Лейкотриены являются мощными активаторами сокращения гладких мышц, особенно мелких бронхиол, что, возможно, связано с затруднением дыхания у больных бронхиальной астмой. Ревматоидные артриты обусловлены воспалительным эффектом лейкотриенов.

### Водорастворимые витамины. Коферменты

**Витамин $B_1$** (тиамин, антиневритный фактор). Витамин $B_1$ впервые выделил в 1912 г. К. Функ из отрубей риса. Впоследствии оказалось, что витамин $B_1$ является производным пиримидина и тиазола, циклы которых соединены между собой метиленовой группой. Пиримидиновый цикл содержит аминогруппу, что и послужило основанием названия тиамин.

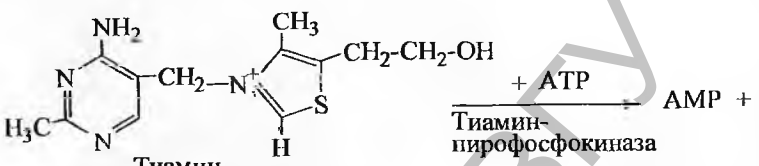
В организме фермент ***тиаминпирофосфокиназа*** катализирует реакцию фосфорилирования тиамина по первичной спиртовой группе с образованием ***тиаминпирофосфата (TPP)***.

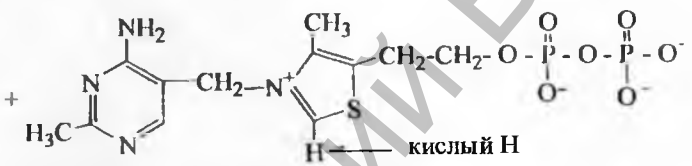
В молекуле тиаминпирофосфата происходит отщепление протона водорода в тиазоловом цикле с образованием ***карбаниона***, который, в свою очередь, легко вступает в реакцию с карбонильными группами оксокислот и кетоз (моносахаридов).

Тиаминпирофосфат выполняет функцию кофермента в процессе декарбоксилирования пирувата при спиртовом брожении, при переносе гидроксиалкильных групп («активированных альдегидов») в реакциях окислительного декарбоксилирования 2-оксокислот и в переносе двууглеродных фрагментов с кетозы на альдозу с образованием гидроксикарбонильных связей, находясь в составе фермента ***транскетолазы*** в тра-

РЕПОЗИТОРИЙ ВГУ

скетолазной реакции неокислительного пентозофосфатного пути метаболизма углеводов. Тиаминпирофосфат выполняет эти функции, входя в состав ***пируватдекарбоксилазы*** дрожжей, ***пируватдегидрогеназы, 2-оксоглутаратдегидрогеназы, 3-гидрокси-2-оксоглутаратдегидрогеназы*** и ***транскетолазы***.




Тиаминпирофосфат

Тиаминпирофосфат входит в состав **пируватдегидрогеназного** и **оксоглутаратдегидрогеназного комплексов**, выполняющих важную роль в метаболизме оксокислот. В состав этих комплексов, наряду с ТРР, входит **липоевая кислота**.

**Липоевая кислота** является кофактором (коферментом) ***дигидроацетилтрансферазы, дигидролипоилсукцинилтрансферазы*** и ***дигидролипоилдегидрогеназы***.

Кофермент липоевая кислота ковалентно присоединяется к апоферментам амидной связью, образованной между карбоксильной группой кислоты и ε-аминогруппой остатка лизина апофермента, поэтому используется термин «липоамид».

Липоамид, совместно с тиаминпирофосфатом, выступает в роли кофермента в реакциях переноса ацильной группы. Окисленная форма липоевой кислоты принимает ацил с тиаминпирофосфата с последующим переносом на акцептор – CoASH.

Так, например, окислительное декарбоксилирование пирувата протекает в несколько этапов (рис. 6.10).

На первом этапе фермент пируватдегидрогеназа катализирует реакцию взаимодействия карбаниона тиаминпирофосфата с пируватом, сопровождающуюся декарбоксилированием и образованием гидроксиэтил-ТРР.

Репозиторий БГУ

В процессе дигидролипоилтрансферазной реакции вначале происходит перенос гидроксиэтила с гидроксиэтила-ТРР на липоамид с образованием ацетиллипоамида, а затем перенос ацетила на CoASH. Конечными продуктами этой реакции являются ацетил-CoA дигидролипоиламид.

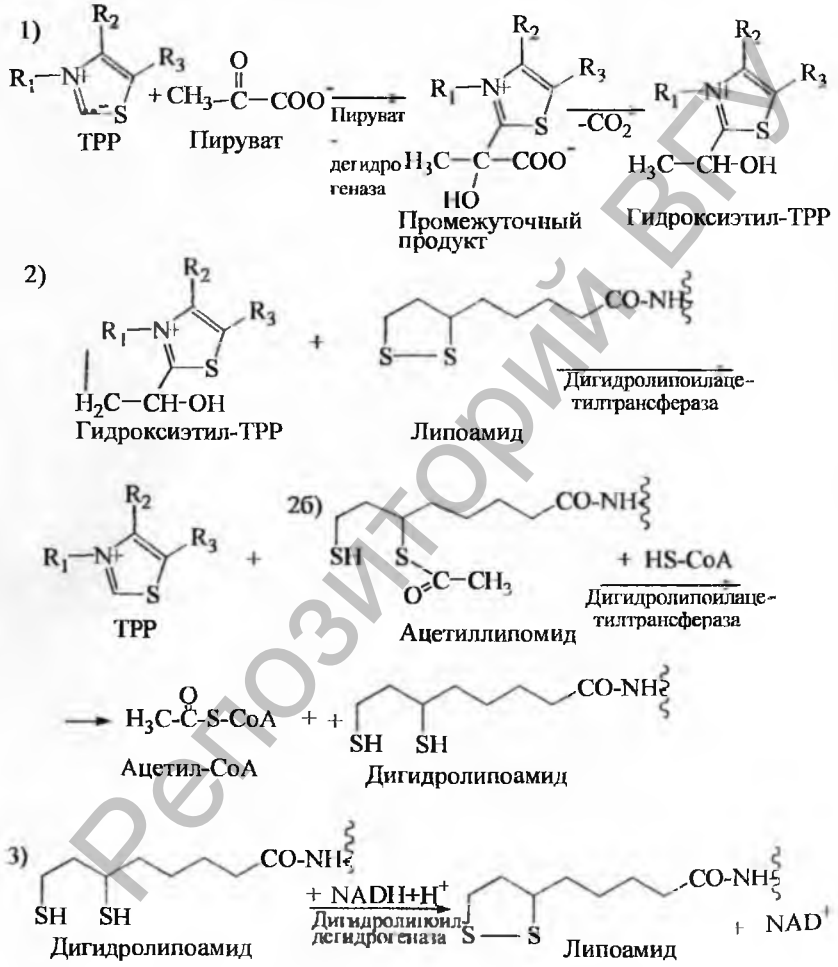
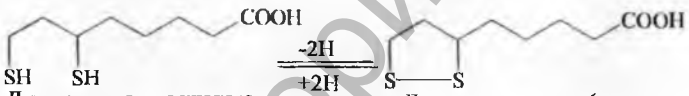



Рис. 6.10. **Окислительное декарбоксилирование пирувата.**

Репозиторий ВГУ

Фермент липоилдегидрогеназа катализирует реакцию окисления дигидролипоамида в липоамид. Электроны переносятся на растворимый NAD через FAD. Восстановленный липоамид снова может принимать на себя ацетил (или иной ацил), и процесс окислительного декарбоксилирования пирувата (и 2-оксоглутарата) носит циклический характер. Следует отметить, что кофермент липоевая кислота очень подвижен благодаря связи с остатком лизина фермента дигидролипоацетилтрансферазы. Липоамидная связь («ручка») имеет длину примерно 1,4 нм и позволяет коферменту в процессе катализа перемещаться между активными центрами пируватдегидрогеназы и дигидролиподегидрогеназы в составе ферментного комплекса. Липоевая кислота выполняет связующую роль в реакциях декарбоксилирования и окисления в составе пируватдегидрогеназного и оксоглутаратдегидрогеназного комплексов.

Кроме того, липоевая кислота принимает участие в переносе атомов водорода, т.е. окислительно-восстановительных реакциях в процессе фотосинтеза, в ходе которых происходит обратимое взаимопревращение окисленной и восстановленной форм липоевой кислоты:



Дигидролипоевая кислота (донор водорода)

Липоевая кислота (акцептор водорода)

Некоторые микроорганизмы не способны синтезировать липоевую кислоту, поэтому для них она является фактором роста. Для высших животных ее относят к витаминам по выполнению функции кофермента.

Недостаточное поступление в организм витамина $B_1$ сопровождается ограниченным образованием тиаминпирофосфата, что, в свою очередь, является лимитирующим фактором ферментативных реакций, в которых ТРР выполняет коферментную роль. При авитаминозе $B_1$ нарушается окисление оксокислот, пирувата – до ацетил-СоА, и его дальнейшее окисление и окисление 2-оксоглутарата в цикле трикарбоновых кислот. Происходит накопление оксокислот, в результате чего они оказывают токсическое действие на клетки тканей, в первую очередь нервной ткани.

Внешними признаками тиаминовой недостаточности являются судороги, параличи и полупараличи (полиневриты) и другие нарушения. У людей, питающихся очищенным рисом, наблюдается заболевание бери-бери (овечья походка).

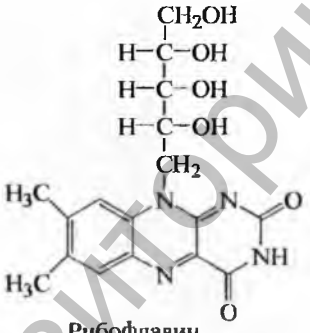
Суточная потребность для людей составляет 2–3 мг. Потребность в витамине $B_1$ возрастает при повышенном содержании в пище углево-

РЕПОЗИТОРИЙ БГМУ

дов. В среднем на 4,19 кДж (1 ккал) питательных веществ должно приходиться не менее 0,6 мг тиамина.

Больше всего содержится тиамина в дрожжах, особенно в пивных. В растительных и мясных продуктах содержание витамина $B_1$ приблизительно одинаково, достаточно его в картофеле. Тиамином богато зерно злаковых. Витамин содержится, в основном, в поверхностных слоях и при обработке попадает в отруби. Из зернобобовых по содержанию витамина выделяется горох, а из тканей животных – печень, почки, сердечная мышца и мозг.

**Витамин $B_2$** (рибофлавин). Рибофлавин впервые описан в 1879 г. как желтый пигмент молока, затем был выделен из сыворотки молока в 1933 г. Для получения 1 г этого витамина было переработано 5400 л молока. В 1935 году была установлено его химическое строение и подтверждено синтезом.



Рибофлавин

Витамин $B_2$ представляет собой производное метилзамещенного изоаллоксазина, связанного с D-рибитолом (6,7-диметил-9-рибитилизоаллоксазин).

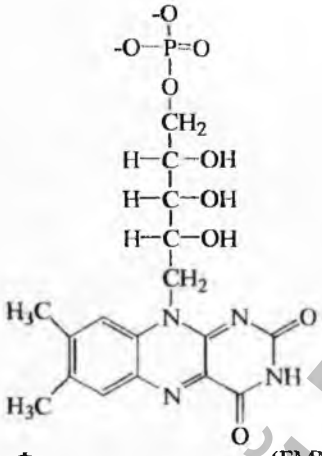
Биологическая роль рибофлавина состоит в том, что он в процессе фосфорилирования за счет АТР при участии фермента ***флавокиназы*** превращается в ***рибофлавинфосфат***, который является нетипичным нуклеотидом, однако, и его называют флавинмононуклеотидом (FMN):

**Рибофлавин + ATP = Рибофлавин-5'-фосфат (FMN) + ADP**.

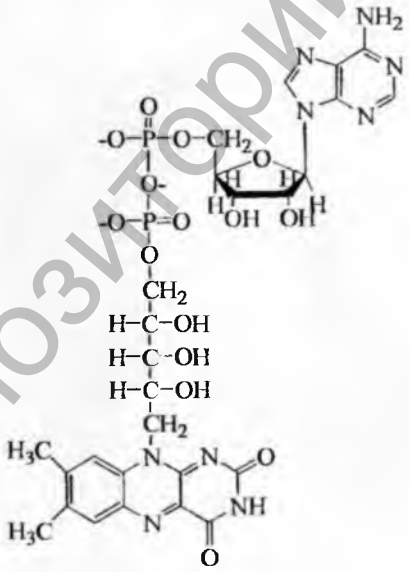
Флавинмононуклеотид вступает в реакцию с АТР и под действием фермента ***флавиннуклеотидфосфорилазы*** образуется флавинадениндинуклеотид (FAD):

**Рибофлавин-5'-фосфат + ATP = Флавинадениндинуклеотид (FAD) + Ppi**.

Репозиторий ВГУ



Флавинмононуклеотид (FMN)



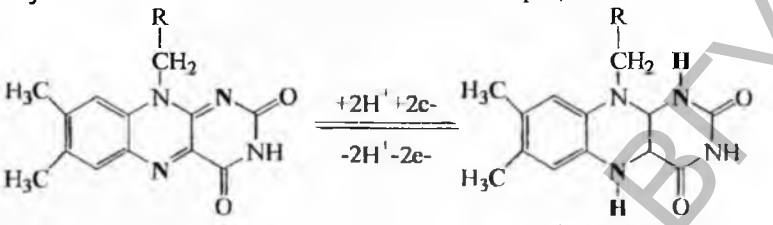
Флавинадениндинуклеотид (FAD)

**FMN и FAD** входят в состав многочисленных флавинзависимых оксидоредуктаз в качестве простетических групп, прочно связанных с белковой частью фермента, и не отщепляются от него ни на одной из стадий катализа. В связи с этим данные ферменты часто называют фла-

Репозиторий ВГУ

вопротеинами. Исключение составляет оксидаза D-аминокислот, обладающая слабовыраженным сродством к FAD.

FAD и FMN представляют собой метаболически активную форму витамина $B_2$. Активной частью FAD и FMN является изоаллоксазиновая сопряженная циклическая система, которая принимает непосредственное участие в окислительно-восстановительных процессах:




FMN (FAD) $FMNH_2$ ($FADH_2$)

Восстановленные флавопротеины становятся субстратами в реакциях с другими акцепторами электронов, в результате чего окисленные формы коферментов регенерируют. Так, например, FAD, присоединяя два атома водорода ($2H^+$ и $2e^-$), превращается в восстановленную форму $FADH_2$. Образование $FADH_2$ происходит при «высокоэнергетическом переходе электронов», окисление которого $O_2$ в качестве конечного окислителя является сильно экзергонической реакцией.

$$FADH_2 + 1/2\ O_2 = FAD + H_2O,\ E^{0'} = +0{,}94\ В$$
$$\Delta G^{0'} = n \cdot F \cdot E^{0'} = (-2) \cdot (96{,}49) \cdot (0{,}94) = -181{,}4\ кДж/моль$$

**FMN** входит в состав ***NADH-дегидрогеназы, оксидаз L-аминокислот***, а **FAD** является составным компонентом ***сукцинатдегидрогеназы, липоилдегидрогеназы, ацил-СоА-дегидрогеназ, глицерол-3-фосфатдегидрогеназы, оксидаз D-аминокислот, глюкозооксидазы, ксантиноксидазы*** и других ферментов.

Рибофлавин является фактором роста для крыс и многих микроорганизмов. Типичного авитаминоза у человека не наблюдается, так как микрофлора кишечника синтезирует определенное количество рибофлавина.

Недостаточность рибофлавина проявляется снижением биосинтеза FMN и FAD и соответственно FMN- и FAD-зависимых ферментов, что сказывается на нарушении окислительно- восстановительных процессов, нарушается цикл трикарбоновых кислот, β-окисление жирных кислот, окислительное дезаминирование аминокислот, дыхательная цепь транспорта электронов, биоэнергетика клеток, биосинтез белков. Практически нарушается метаболизм углеводов, липидов, аминокислот и белков.

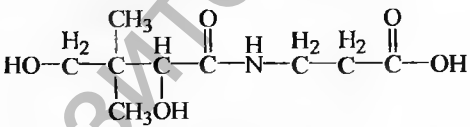
Репозиторий ВГУ

Недостаточность витамина $B_2$ проявляется в первую очередь на регенерирующих тканях симптомами поражения эпителия слизистых кожи и роговицы глаза. Наблюдается сухость слизистых губ и полости рта, на губах и в уголках рта трещины (заеды), повышено шелушение кожи лица, сухость конъюктивы, ее воспаление, светобоязнь, прорастание роговицы сосудами (васкулизация), а затем ее помутнение. Васкулизация компенсирует недостаточность дыхательной функции роговицы, вызванной дефицитом флавопротеинов, усиливая поступление кислорода.

Суточная потребность в рибофлавине для человека составляет примерно 1,5–2,5 мг. Потребность в витамине $B_2$ возрастает по мере потребления белков с пищей.

Все виды клеток содержат рибофлавин, поэтому большой разницы в содержании его в растительной пище и пище животного происхождения нет, однако в семенах растений его мало, а корнеклубнеплодах практически не обнаруживается.

**Витамин $B_3$** (пантотеновая кислота). Пантотеновая кислота широко распространена в растениях и в организме животных, за что и получила свое название (pantothen – везде, повсюду). По химической природе она представляет собой дипептид, состоящий из остатка пантоевой кислоты (α,γ-дигидрокси-β,β-бутирата) и β-аланина. Химическое название – α,γ-дигидрокси-β,β-диметилбутирил-β-аланин.



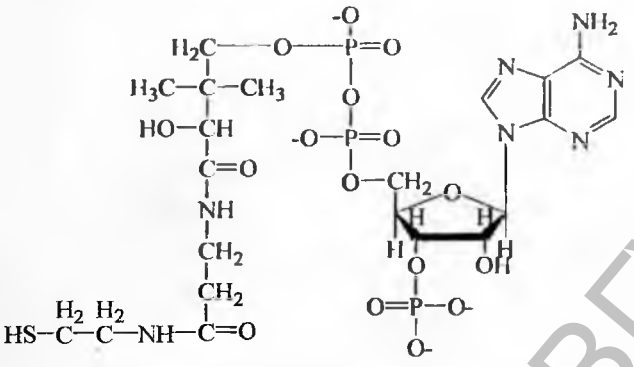
Пантотеновая кислота

Пантотеновая кислота является составной частью кофермента (коэнзима) ацилирования (CoA-SH).

Структура кофермента А установлена в 1951 г. Дж. Бадли и Э. Тэйном, а 1953 г. Ф.А. Липман удостоен Нобелевской премии за работы по выделению и изучению биологической роли этого кофермента.

Бактерии и растения синтезируют кофермент ацилирования из аминокислот валина, аспарагиновой кислоты, цистеина и АТР. В организме животных биосинтез кофермента ацилирования начинается со стадии пантотеновой кислоты, чем и обусловлена их потребность в этом витамине.

Репозиторий ВГУ



Кофермент ацилирования (CoA-SH)

Биосинтез кофермента А из пантотеновой кислоты представлен в виде схемы (рис. 6.11):

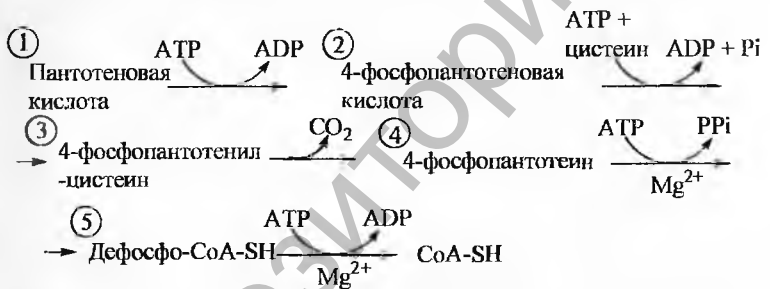



Рис. 6.11. **Схема биосинтеза кофермента ацилирования (CoA-SH).**

Биосинтез этого кофермента в организме животных представляет довольно сложный биохимический процесс. На биосинтез одной молекулы кофермента А затрачивается четыре молекулы АТР, одна из которых расщепляется до пирофосфата, благодаря чему процесс биосинтеза становится необратимым.

Кофермент А имеет довольно сложную структуру и содержит большое число функциональных групп, но главной функциональной группой молекулы в биохимических реакциях является концевая сульфгидрильная группа (–**SH**) и все ацильные производные содержат тиолсложноэфирную связь. Поэтому чаще всего используют сокращенное написание – CoA-SH.

CoA-SH наряду с АТР принимает участие в активировании жирных кислот с образованием ацил-CoA. Эта реакция высоко эндоэргична

Репозиторий ВГУ

и сопряжена с экзоэргическими процессами. Тиоэфиры, которыми являются ацилы-СоА, представляют собой активированные формы карбоновых кислот. Ацильный остаток ацил-СоА может легко переносится на другой акцептор.

β-Окисление карбоновых кислот происходит в виде произвоных СоА-SH (ацил-СоА). СоА-SH принимает участие в окислительном декарбоксилировании пирувата, входя в состав сложного пируватдегидрогеназного комплекса.

Ключевым производным СоА-SH является **ацетил-СоА**. Ацетил-СоА принимает участие в следующих процессах:

– в образовании цитрата в цикле трикарбоновых кислот;

– в окислении 2-оксоглутарата, являясь составным компонентом оксоглутаратдегидрогеназного комплекса, с образованием сукцинил-СоА, и последующем субстратном фосфорилировании;

– в биосинтезе высокомолекулярных карбоновых (жирных) кислот, холестерола и других стероидов, кетоновых тел, ацетилхолина, ацетилглюкозоаминов и других соединений;

– в реакциях ацетилирования биогенных аминов и чужеродных соединений (ксенобиотиков) с целью их обезвреживания.

Кроме того, следует отметить, что промежуточный метаболит 4-фосфопантетеин является коферментом ацилпереносящего белка (АПБ-SH) синтетазы жирных кислот, а дефосфо-СоА-SH – коферментом цитратлиазы.

Роль пантотеновой кислоты определяется тем кругом процессов, в которых принимают участие ее производные – коферменты.

Недостаток пантотеновой кислоты приводит к недостаточности СоА-SH и АПБ-SH в клетках, нарушению многочисленных метаболических процессов, и в частности биоэнергетики, метаболизма углеводов, липидов и белков.

При отсутствии пантотеновой кислоты в рационе у животных возникают дерматиты, выпадение шерсти, изменения миелиновых оболочек спинного мозга. У людей-добровольцев наблюдали поражения кожи, поседение волос, нарушение функции нервной системы, понижение адаптационной способности к изменению факторов внешней среды.

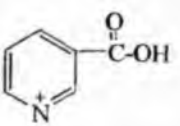
У человека авитаминоз из-за дефицита витамина $B_3$ встречается редко по причине широкого распространения его в составе различных продуктов питания, и кишечная палочка (*E. coli)* синтезирует пантотеновую кислоту в достаточных количествах, которая затем всасывается из кишечника.

Суточная потребность в пантотеновой кислоте у человека составляет 10–5 мг.

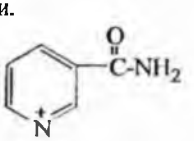
Много пантотеновой кислоты содержнтся в дрожжах, молоке, яичном желтке, печени, сердце, почках, горохе, шпинате и др.

Репозиторий ВГУ

**Витамин $B_5$** (антипеллагрический фактор, PP). Витамин $B_5$ представлен никотиновой кислотой (ниацин) и никотинамидом (ниацинамид), обладающими одинаковой витаминной активностью. Витамин $B_5$ часто называют витамином PP (от англ. pellagra preventing factor – антипеллагрический фактор). Никотиновая кислота и ее амид были известны задолго до обнаружения их витаминной активности.

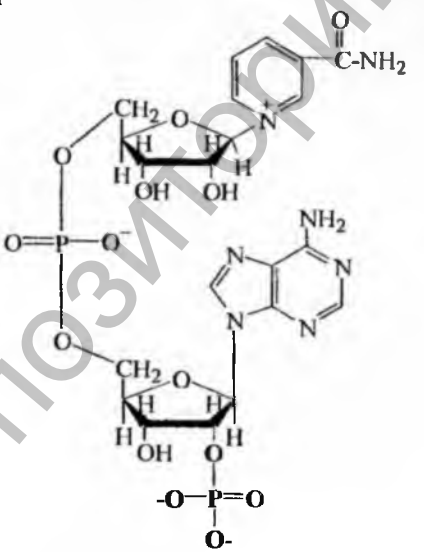


Никотиновая кислота
(3-пиридинкарбоновая)



Никотинамид

В 1935 г. О.Г. Варбург обнаружил два кофермента, в состав которых входит витамин $B_5$. Это никотинамидадениндинуклеотид ($NAD^+$) и никотинамидадениндинуклеотидфосфата ($NADP^+$), так называемые никотинамидные коферменты.



Никотинамидадениндинуклеотид ($NAD^+$)
(никотинамидадениндинуклеотидфосфат, $NADP^+$)

$NAD^+$ синтезируется из свободной никотиновой кислоты в результате следующих реакций:

Репозиторий ВГУ

1) Никотиновая кислота + 5-фосфорибозил-1-пирофосфат –
= Мононуклеотид никотиновой кислоты + PPi;
2) Мононуклеотид никотиновой кислоты + ATP = Дезамидо-$NAD^+$ + Ppi;
3) Дезамидо-$NAD^+$ + Глутамин + ATP = $NAD^+$ + Глутамат + ADP + Pi.

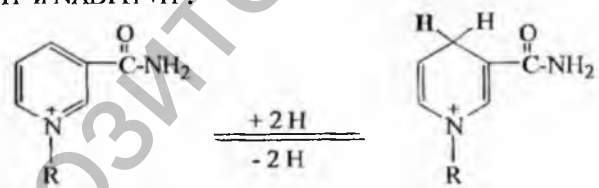
В некоторых клетках для биосинтеза $NAD^+$ вместо никотиновой кислоты может использоваться никотинамид.

$NADP^+$ синтезируется из $NAD^+$ в результате реакции фосфорилирования по гидроксильной группе у второго атома углерода остатка рибозы:

$$NAD^+ + ATP = NADP^+ + ADP.$$

В окислительно-восстановительных реакциях участвует никотинамидный цикл. В окисленной форме цикл имеет ароматический характер, несет положительный заряд и существует в виде катиона пиридиния. По этому коферменты в окисленном состоянии обозначают как $NAD^+$ и $NADP^+$.

$NAD^+$- и $NADP^+$-зависимые дегидрогеназы, воздействуя на субстраты, отнимают от них два атома водорода (2 e и $2H^+$), однако на кофермент переносится гидрид-ион (2 e и $1H^+$). Акцептором гидрид-иона является атом углерода в *пара*-положении к атому азота никотинамидного цикла $NAD^+$ или $NADP^+$. Второй протон в высвобождается реакционную среду, поэтому обозначение восстановленных форм обозначают – NADH +$H^+$ и NADPH +$H^+$.




$NAD^+$, $NADP^+$ NADH + $H^+$, NADPH + $H^+$

Главная роль никотинамидных коферментов в окислительно-восстановительных реакциях – это перенос гидрид-ионов. Восстановленный NAD переносит восстановительные эквиваленты из катаболических путей в дыхательную цепь и тем самым участвует в энергетическом обмене, а NADPH является главным восстановителем в биосинтетических процессах.

$NAD^+$ и $NADP^+$ являются коферментами многих оксидоредуктазных систем и принимают участие примерно в 200 реакциях в различных биохимических процессах, таких, как цикл трикарбоновых кислот, гликолиз, пентозофосфатный путь метаболизма углеводов, в метаболизме

Репозиторий ВГУ

липидов, дыхательной цепи транспорта электронов, фотосинтезе, восстановлении нитратов до нитритов и т.д.

При недостатке витамина $B_5$ нарушаются процессы биосинтеза никотинамидных коферментов, что, в свою очередь, ведет к нарушению окислительно-восстановительных процессов, метаболизма углеводов, липидов, белков и других метаболических процессов.

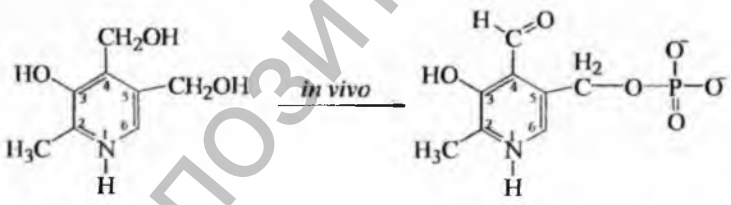
В тяжелых случаях может развиваться заболевание пеллагра с симптомами трех D: дерматиты, диарея и деменция.

Животные и люди не очень чувствительны к недостатку или даже отсутствию никотиновой кислоты (или никотинамида) в пище при обеспеченности аминокислотой триптофаном. Триптофан считают провитамином, так как из этой аминокислоты в организме синтезируется никотиновая кислота. Интенсивность биосинтеза не высока, из 60 мг триптофана получается 1 мг никотиновой кислоты.

Суточная потребность составляет 15–25 мг.

Кукуруза и сорго бедны триптофаном и недостаток этой незаменимой аминокислоты может быть причиной заболевания пеллагрой в тех случаях, когда они являлись основными продуктами пищи.

**Витамин $B_6$** (пиридоксол, адермин). Пиридоксол впервые выделен из полированного риса в 1932 г., его структура установлена и подтверждена химическим синтезом в 1939 г. Витамин $B_6$ представляет собой замещенный пиридин – 3-гидрокси-4,5-дигидроксиметил-2-метилпиридин.




Пиридоксол Пиридоксальфосфат

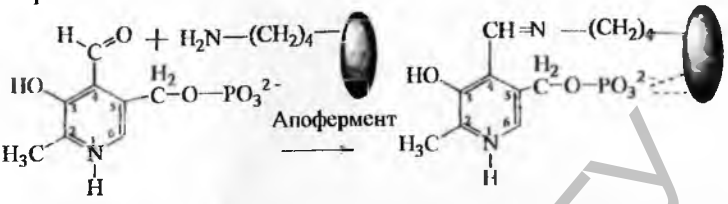
Окисление одной гидроксиметильной группы (–$CH_2OH$) до альдегидной и фосфорилирование второй приводит к образованию пиридоксальфосфата – метаболически активной формы витамина $B_6$. Пиридоксальфосфат (PLP) – наиболее важный кофермент в метаболизме аминокислот.

Активной функциональной группировкой пиридоксальфосфата является альдегидная группа, способная вступать в реакции с аминогруппами с образованием альдиминов (шиффовых оснований).

В отсутствие субстрата альдегидная группа пиридоксальфосфата ковалентно связана с аминогруппой остатка лизина белковой части

Репозиторий ВГУ

фермента в виде внутримолекулярного алдимина и таким образом заблокирована.

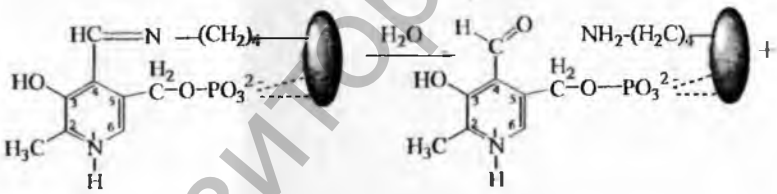



Пиридоксальфосфат

Внутримолекулярный альдимин

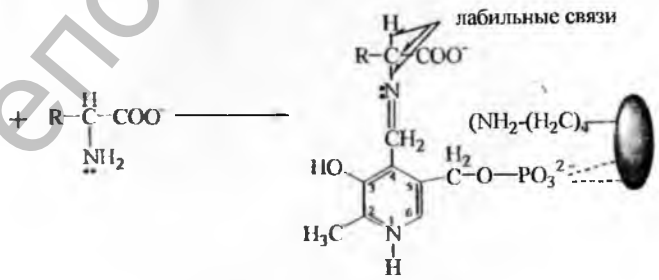
**Рис. 6.12. Образование внутримолекулярного комплекса (альдимина).**

При наличии субстратов перед их взаимодействием предшествует гидролиз внутримолекулярного алдимина с образованием свободной альдегидной группы пиридоксальфосфата, которая затем может реагировать с аминогруппой субстрата-аминокислоты с образованием нового альдимина – фермент-кофермент-субстратного комплекса.



Внутримолекулярный альдимин

Фермент со свободной альдегидной группой пиридоксальфосфата




Фермент-кофермент-субстратный комплекс

**Рис. 6.13 Схема взаимодействия пиридоксальзависимых ферментов с субстратами.**

Репозиторий ВГУ

Дальнейшие превращения фермент-кофермент-субстратного комплекса в ходе последующих реакций определяются каталитической активностью фермента. Первую реакцию, катализируемую пиридоксалевыми ферментами, – реакцию трансаминирования аминокислот открыли российские биохимики в 1937 г. А.Е. Браунштейн и М.М. Шемякин, механизм которой они установили в 1952–1954 гг.

Впоследствии установлено, что пиридоксальфосфат входит в состав более 50 ферментов:

– аминотрансфераз аминокислот (метаболизм аминокислот);
– аминотрансфераз йодтиронинов (биосинтез гормонов щитовидной железы и их катаболизм в периферических тканях);
– аминотрансферазы γ-аминобутирата (окисление (обезвреживание) медиатора торможения ЦНС);
– моноаминооксидаз, диаминоксидаз (окисление (обезвреживание) биогенных аминов);
– кинурениазы и кинуренинаминотрансферазы (биосинтез витамина $B_5$ из триптофана);
– синтетазы δ-аминолевуленовой кислоты (биосинтез гема из глицина и сукцинил-СоА);
– декарбоксилаз аминокислот (образование биогенных аминов (тканевых и нервных медиаторов);
– изомераз (рацемаз) аминокислот (метаболизм D-аминокислот);
– гликогенфосфорилазы (фосфоролиз гликогена).

Кроме того, пиридоксальфосфат-зависимые ферменты катализируют реакции альдольного расщепления серина с образованием глицина и формальдегида, синтеза триптофана из серина и индола, дегидратацию серина и ряда других ферментативных реакций.

Широкий круг пиридоксальфосфат-зависимых ферментативных реакций создает предпосылки многочисленных нарушений метаболизма при дефиците в организме витамина $B_6$. При его недостатке наблюдаются специфическое заболевание кожи («симметричный» дерматит), повышенная возбудимость центральной нервной системы, судороги, что связано с недостаточным образованием тормозного медиатора – γ-аминобутирата, анемия и задержка роста у молодых особей.

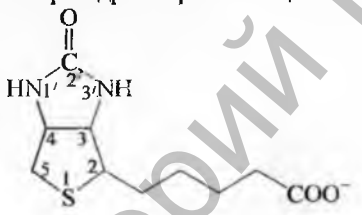
В организм человека определенная часть витамина $B_6$ поступает за счет кишечной микрофлоры. Богаты витамином $B_6$ зерновые и бобовые, мясные продукты и рыба. Суточная потребность в витамине $B_6$ взрослого человека составляет примерно 2–3 мг.

У взрослых людей $B_6$-авитаминоз, как правило, не наблюдается. Признаки витаминной недостаточности могут развиваться при длительном применении противотуберкулезного препарата изониазида, способного связывать витамин $B_6$.

Репозиторий ВГУ

**Витамин Н** (биотин). Биотин как необходимый компонент пищи впервые выделил в 1935 г. Ф. Кёгль из яичного желтка и назвал биотином. Для получения 1 мг биотина потребовалось 225 кг сухого яичного желтка. Исследования по выделению фактора роста азотфиксирующих бактерий (коэнзима R) завершились в 1939 г. Впоследствии этим фактором оказался биотин. В этот период при изучении причин дерматита у крыс, возникающего при скармливании сырых яиц, был выделен витамин Н (нем. haut – кожа). В 1940 г. было установлено, что биотин и витамин Н одно и то же вещество, химическая структура которого установлена в 1942 г.

По химической природе витамин Н представляет конденсированную гетероциклическую систему, состоящую из имидозолонового цикла *цис*-объединенного с тетрагидротиофеновым циклом.



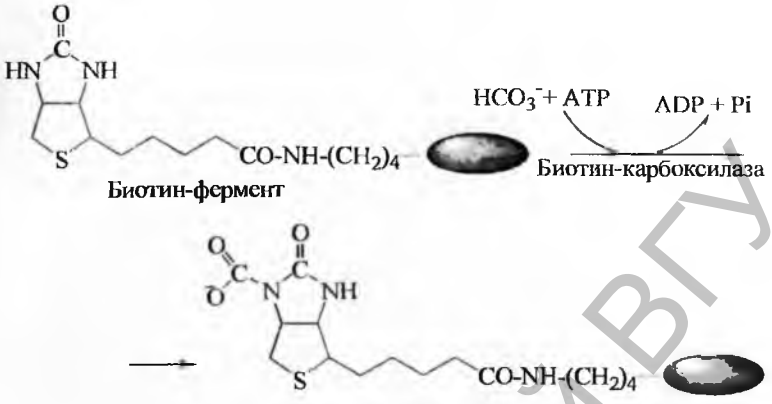

Витамин Н (биотин)

В тетрагидротиофеновом цикле в 2-положении имеется радикал валериановой кислоты. Из восьми оптических изомеров биологической активностью обладает только D (+) - биотин. В организме биотин ковалентно связан пептидной связью между карбоксильной группой биотина и аминогруппой остатка лизина, находящегося в активном центре фермента.

Биотин выполняет коферментную функцию в реакциях карбоксилирования с участием бикарбоната как карбоксилирующего агента. Вначале происходит карбоксилирование биотина в биотинпереносящем белке с образованием карбоксибиотин-фермента. Этот процесс протекает с затратой энергии и образующийся промежуточный продукт (карбоксибиотин-фермент) является высокоактивным соединением и называется «активированный $CO_2$». Свободная энергия Гиббса отщепления карбоксильной группы составляет –19,7 кДж/моль, что позволяет карбоксибиотину переносить $CO_2$ на акцепторы без потребления дополнительной энергии.

$N^1$-карбоксильная группа находится на конце свободновращающейся цепи около девяти простых связей с расстоянием 1,6 нм. Длина и гибкость цепи между биотином и белковой частью фермента позволяет биотину поворачиваться и переносить активированную карбоксильную группу от одного активного центра фермента к другому.

Репозиторий БГМУ




Биохимическую роль биотин выполняет в виде кофермента $N^1$-карбоксибиотина в двух типах реакций: АТР-зависимом карбоксилировании и транскарбоксилировании (без АТР), входя в состав пируваткарбоксилазы, ацетилкарбоксилазы, пропионилкарбоксилазы, метилкротонилкарбоксилазы, метилмалонил-СоА-транскарбоксилазы и др.

Симптомами авитаминоза у лабораторных и некоторых домашних подопытных животных являются задержка роста, депигментация кожи, выпадение шерсти на конечностях и вокруг глаз и перьев у птицы, развитие специфического экзематозного дерматита, нервные расстройства.

Природным антагонистом биотина является белок сырых яиц авидин. Он обладает высоким сродством к биотину и образует нерастворимый биотин-авидиновый комплекс.

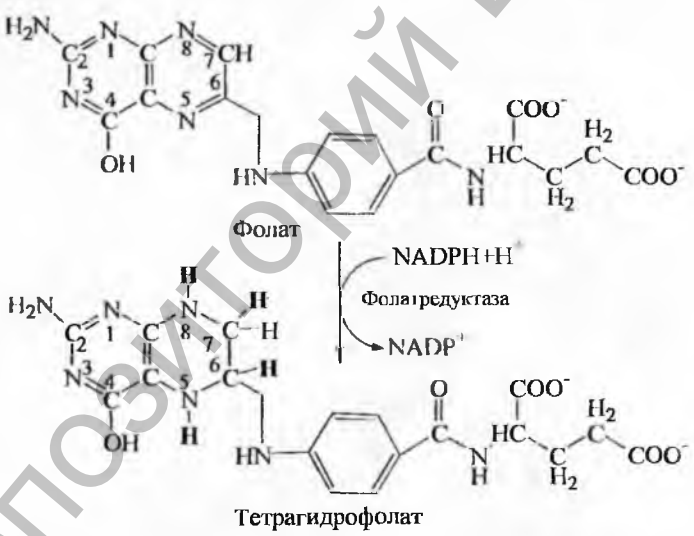
Суточная потребность человека в витамине Н составляет 150–200 мкг. У человека вызвать авитаминоз не удается, т.к. биосинтез биотина кишечной микрофлорой в несколько раз превышает потребность организма.

**Витамин $B_9$** ($B_c$, фолат). В 1931 г. был открыт фактор, предохраняющий беременных женщин и обезьян от заболевания злокачественной анемией и назван витамином М (от англ. mokey – обезьяна), а в 1940 г. в печени обнаружен фактор, предохраняющий от анемии цыплят и назван был витамином $B_c$ (от англ. chicken – цыпленок). В 1941 г. из листьев шпината выделен фактор роста цыплят. Оказалось, что все эти факторы являются одним и тем же соединением – фолиевой кислотой (от лат. folium – лист), ионная форма – фолат. Фолат является ростовым фактором ряда микроорганизмов.

Репозиторий ВГУ

Витамин $B_c$ широко распространен в природе, его молекула состоит из остатков замещенного птерина, *пара*-бензоата и глутамата, поэтому фолат называют птероилглутаматом. Обнаружено несколько разновидностей витамина $B_c$, содержащих несколько остатков глутамата, связанных γ-глутамильными пептидными связями. Наиболее метаболически активными формами являются птероилолигоглутаматы и птероилполиглутаматы.

В организме животных фолат под действием фолатредуктазы с участием NADPH восстанавливается до 5, 6, 7, 8-тетрагидрофолата. Тетрагидрофолат является коферментом трансфераз, а вернее косубстратом, т.к. он функционирует не связанный с ферментом. С различными ферментами он принимает участие в переносе $C_1$-радикалов, таких, как метил, гидроксиметил, метилен, метин, формил, формимин (–CH=NH).




Тетрагидрофолат образует метаболические активные $C_1$-производные с различной степенью окисления атома углерода: $N^5$-метилтетрагидрофолат, $N^5$,$N^{10}$-метилентетрагидрофолат, $N^{10}$-формилтетрагидрофолат, формиминотетрафолат, $N^5N^{10}$-метенилгидрофолат, которые могут взаимопревращаться (рис. 6.14). В виде $C_1$-производных тетрагидрофолат принимает участие в различных биосинтетических реакциях. Так, взаимопревращение глицин-серин-гистидин, биосинтез холина, метионина, пуриновых и пиримидиновых оснований, нуклеиновых кислот происходит с участием тетрагидрофолата и часто эти функции он выполняет совместно с витамином $B_{12}$.

Репозиторий БГУ

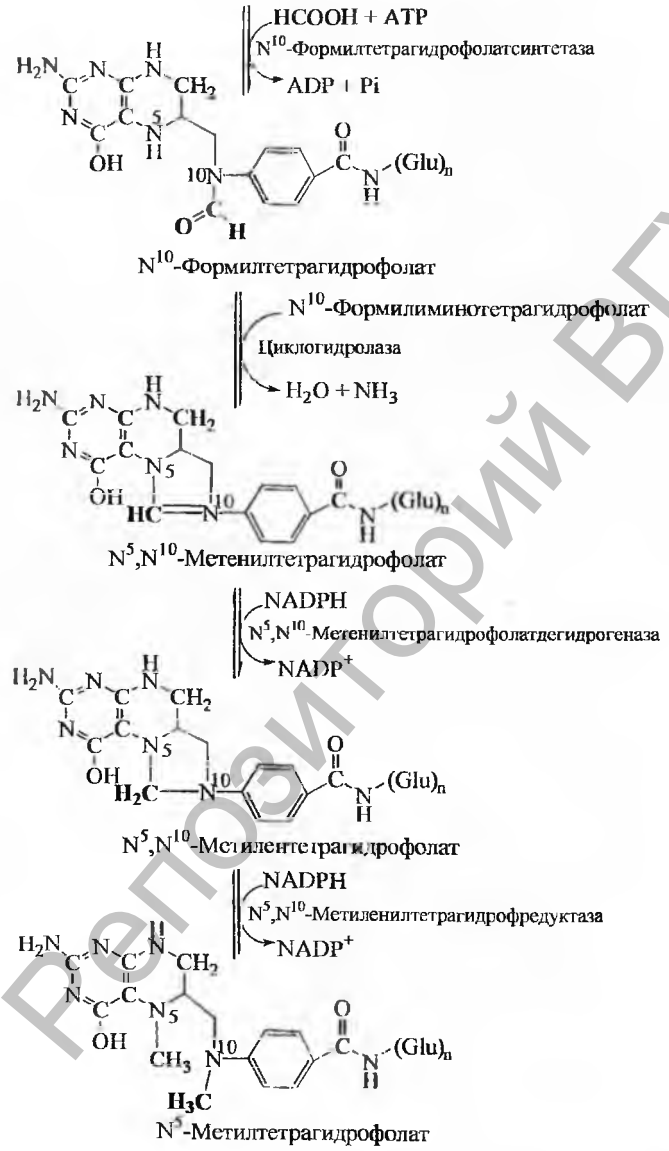



Рис. 6.14. **Образование $C_1$-производных тетрагидрофолата.**

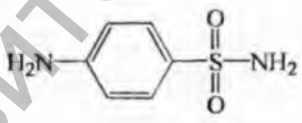
Репозиторий ВГУ

Микроорганизмы и животные чувствительны к недостатку витамина $B_c$, который сопровождается глубокими нарушениями биосинтеза нуклеиновых кислот и белков. При авитаминозе $B_c$ у животных и человека развивается анемия в результате нарушения эритропоэза, тромбоцитопоэза и особенно лейкопоэза.

Потребность в фолиевой кислоте для человека составляет примерно 200 мкг в сутки. В обычной пище содержится достаточное количество этого витамина и значительные количества синтезирует кишечная микрофлора.

В отличие от животных и человека, многие микроорганизмы не могут использовать экзогенную фолиевую кислоту, а синтезируют ее сами. Поэтому для них фактором роста является витамин $B_x$ – *пара*-бензоат (ПАБК), который они используют для биосинтеза фолата.

Механизм губительного действия амида сульфоновой кислоты и ее производных на бактерии связан с нарушением биосинтеза фолиевой кислоты, необходимой для их жизнедеятельности. Благодаря химическому сходству с *пара*-аминобензоатом сульфаниламиды блокируют включение *пара*-аминобензоата в фолат. Нарушение биосинтеза фолата становится лимитирующим фактором образования тетрагидрофолата, необходимого для биосинтеза пуриновых и пиримидиновых оснований нуклеиновых кислот. Животные и люди используют готовый фолат (витамин $B_c$) и сульфаниламидные препараты на них не действуют.



Амид сульфоновой кислоты
(сульфаниламид)

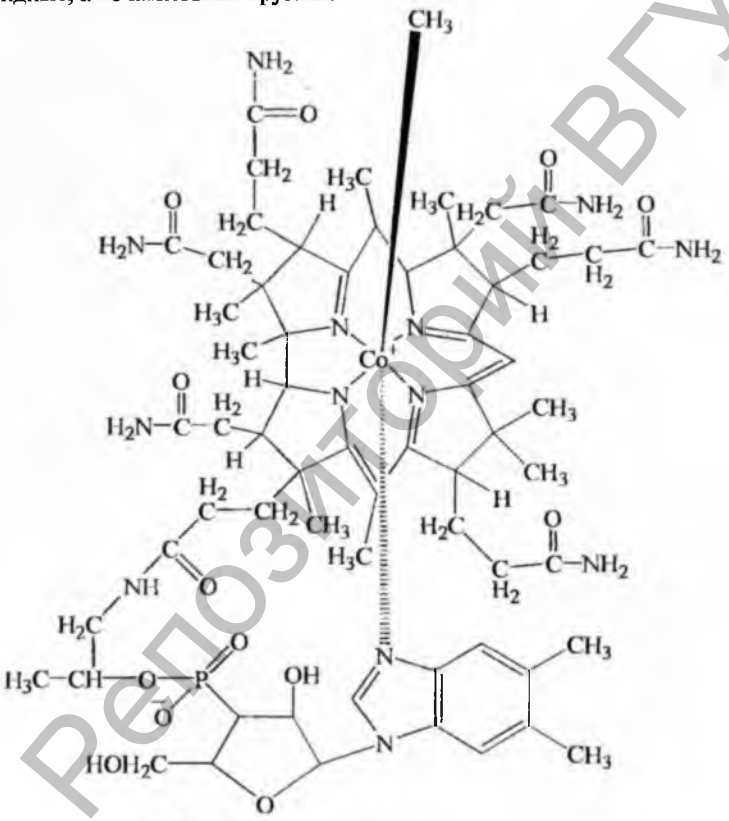
**Витамин $B_{12}$** (кобаламин, антианемический фактор). История открытия витамина $B_{12}$ связана с изучением причин заболевания злокачественной анемией, описанной в 1849 году. Позднее было установлено лечебное действие сырой печени, а в 1929 г. обнаружена необходимость двух факторов: внешнего (пищевого) и внутреннего (гликопротеина слизистой желудка, обеспечивающего всасывание пищевого).

Витамин $B_{12}$ (внешний фактор) впервые выделен из печени в 1948 г., структура установлена в 1955–1956 гг., а химический синтез осуществлен в 1972 г. В то время это был один из сложнейших органических синтезов. Витамин $B_{12}$ синтезируют только микроорганизмы, в особенности анаэробные бактерии. Растения, а тем более животные, не способны синтезировать этот витамин.

Репозиторий БГУ

Молекула витамина $B_{12}$ представляет комплексное соединение и состоит из трех частей.

Первая часть представлена планарным тетрапирольным корриновым ядром, связанным координационными связями с атомом кобальта. Корриновый цикл по строению напоминает порфирин, но имеет свои особенности структуры. Так, два пиррольных кольца непосредственно связаны друг с другом и заместителями в пиррольных кольцах являются амидные, а не кислотные группы.



Метилкобаламин

Вторая нуклеотидная часть, одна из пиррольных заместителей, состоит из рибозы и 5,6-диметилбензимидозола, связанных α-гликозидной связью, и аминоизопропанола, образует пятую координационную связь с атомом кобальта.

Репозиторий ВГУ

Третья – анионная часть, благодаря которой существуют разные коферментные формы кобаламина, различающиеся заместителями по шестой координационной связи у атома кобальта, которыми могут быть $H_2O$, $OH^-$, $-CH_3$ или дезоксиаденозин.

В промышленном производстве при выделении из ферментативного бульона витамин $B_{12}$ получается в виде комплекса с цианид-ионом ($CN^-$), расположенным по шестой координационной связи атома кобальта. В организме цианид с кобаламином не связан.

В организме кобаламин, превращаясь в кабамидные коферменты, входит в состав таких ферментов, как рибонуклеотидредуктаза, катализирующая превращение рибонуклеотидов в дезоксирибонуклеотиды; метилмалонил-СоА-мутаза, катализирующая превращение малонил-СоА в сукцинил-СоА; гомоцистеинметилтрансфераза, катализирующая превращение гомоцистеина в метионин. Кроме этого $B_{12}$-коферменты в составе ферментов принимают участие в превращении глицерола в β-гидроксипропионовый альдегид; лизина – в ацетат и бутират; глутамата – в β-метиласпартат; совместно с тетрагидрофолатом принимают участие в синтезе нуклеиновых оснований.

Витамин $B_{12}$ в роли кофермента необходим при образовании метана из метилированных соединений у различных анаэробных метанобразующих бактерий.

В реакции превращения гомоцистеина в метионин кобаламин переносит метильную группу от $N^5$-метилтетрафолата на гомоцистеин с промежуточным образованием метилкобаламина.

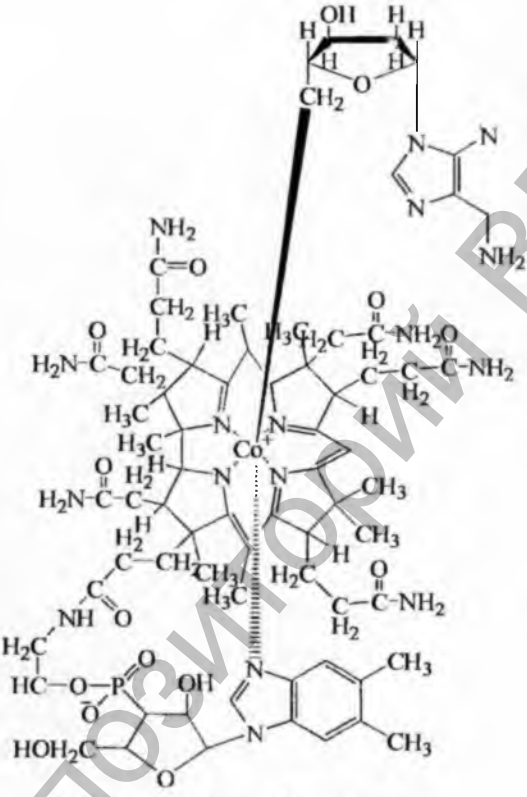
Очень важной реакцией для млекопитающих, и особенно жвачных, является реакция изомеризации метилмалонила-СоА в сукцинил-СоА под действием фермента метилмалонил-СоА-мутазы, коферментом которой выступает 5'-дезоксиаденозилкобаламин. Эта реакция составляет одну из стадий окисления пропионил-СоА, который образуется в процессе β-окисления жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов и при катаболизме некоторых аминокислот и пропионовой кислоты, образующейся в результате пропионовокислого брожения в преджелудках жвачных. По этой причине у жвачных повышенная потребность в витамине $B_{12}$ и микроэлементе кобальте, необходимом для биосинтеза кобаламина.

У человека $B_{12}$-авитаминоз проявляется симптомами пернициозной анемии, нарушением миелинизации нервов, развивается глоссит, а у животных – задержкой роста, исхуданием, поражением почек, параличом задних конечностей, эмбриональной смертностью и смертностью новорожденных.

Суточная потребность взрослого человека в витамине $B_{12}$ составляет 2–5 мкг. Невысокая потребность в витамине $B_{12}$ связана с небольшим числом $B_{12}$-зависимых реакций у человека с тем, что витамин синтезируется

Репозиторий ВГУ

кишечной микрофлорой кишечника. Главными пищевыми источниками витамина $B_{12}$ являются продукты животного происхождения.



5'-Дезоксиаденозилкобаламин

**Витамин С** (аскорбиновая кислота, антицинготный или антискорбутный фактор). История открытия витамина С связана с драматическими событиями среди мореплавателей в начале XVI в., болевших цингой. Исследования, начатые после гибели от цинги в 1535 г. большей части морской экспедиции на острове Ньюфаундленд, завершились в начале XX в. выделением витамина из лимона (1918–1925), капусты, сладкого перца и надпочечников (1928–1930). Структура витамина установлена и подтверждена синтезом в 1933 г.

Репозиторий ВГУ

L-Аскорбиновая кислота представляет собой γ-лактон 2,3-дегидрогулоновой кислоты, содержащий диенольную группу и обе гидроксильные группы имеют кислый характер, $pK_a$ которых равно 4,2.

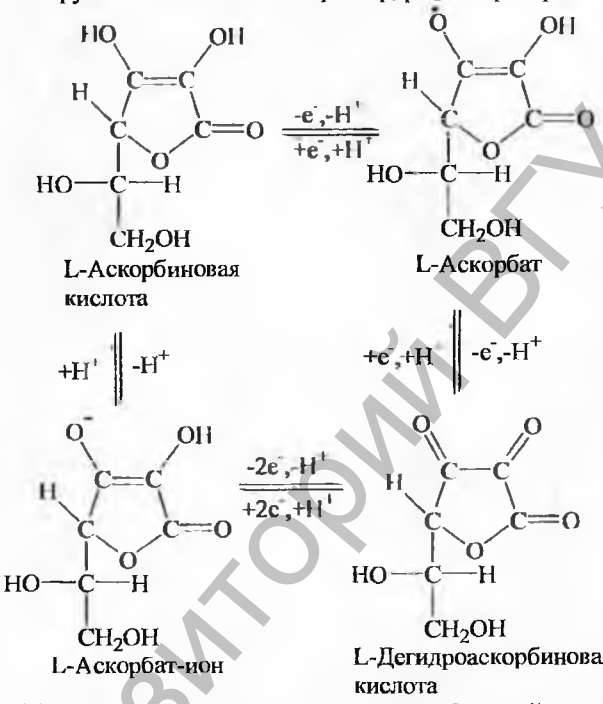



Рис. 6.15. **Цикл взаимопревращения аскорбиновой кислоты.**

При потере протона аскорбиновая кислота может существовать в виде ***аскорбат-иона,*** а при потере электрона и протона превращается в ***радикал – аскорбат.*** Аскорбат (радикал) при потере электрона и протона, а аскорбат-ион – двух электронов и одного протона превращаются в L-дегидроаскорбиновую кислоту (рис. 6.15). Дегидроаскорбиновая кислота не проявляет кислых свойств.

D-Аскорбиновая кислота витаминной активностью не обладает. Аскорбиновая кислота синтезируется всеми хлорофилсодержащими растениями, пресмыкающимися и земноводными. Биосинтез аскорбиновой кислоты происходит из глюкозы и галактозы.

Беспозвоночные, рыбы, высокоорганизованные виды птиц и некоторые млекопитающие, такие, как человек, обезьяны, морские свинки и ряд летучих мышей а процессе эволюции утратили способность к биосинтезу фермента гулонолактоноксидазы, катализирующей последний

Репозиторий ВГУ

этап биосинтеза аскорбиновой кислоты – превращение 2-кетогулонолактона в аскорбиновую кислоту. Для этих видов животных аскорбиновая кислота является витамином С.

Аскорбиновая кислота, являясь самым сильным восстановителем в организме, принимает участие во многих биохимических процессах транспорта электронов. Образующаяся при этом дегидроаскорбиновая кислота легко восстанавливается до аскорбиновой кислоты ферментом дегидроаскорбинредуктазой при участии восстановленного глутатиона.

Метаболическими функциями аскорбиновой кислоты являются:

- восстановление ионов $Fe^{3+}$ до $Fe^{2+}$ в кишечнике, при этом обеспечивается его всасывание;
- поддержание атома железа в восстановленном состоянии ($Fe^{2+}$)
- активных центров ряда ферментов;
- участие в дыхательной цепи транспорта электронов;
- восстановление дисульфидных связей в белках до сульфгидрильных, активируя ферменты;
- восстановление фолата до тетрагидрофолата;
- участие в качестве косубстрата в реакциях гидроксилирования пролина и лизина в процессе превращения проколлагена в коллаген;
- гидроксилирование стероидов при биосинтезе гормонов коры надпочечников; β-бутиробетаина – при биосинтезе карнитина; триптофана – при биосинтезе серотонина и т.д.

Аскорбиновая кислота в качестве косубстрата с ферментами пролилгидроксилазой и лизилгидроксилазой принимает участие в гидроксилировании остатков пролина и лизина в проколлагене в процессе превращения его в коллаген. Аскорбиновая кислота, являясь сильным восстановителем, поддерживает атом железа активного центра пролилгидроксилазы в ферроформе.

Аскорбиновая кислота, наряду с глутатионом и витамином Е, выполняет функции антиоксиданта, является антимутагенным антистрессовым фактором и принимает участие во многих других биохимических процессах. Уместно отметить, что антиоксиданты в высоких концентрациях сами могут быть прооксидантами.

Недостаточность аскорбиновой кислоты сопровождается нарушением тех многочисленных функций, в которых она принимает участие. Типичный авитаминоз С наблюдается у животных, зависящих от экзогенного поступления, и проявляется в виде тяжелого заболевания цингой. Биохимическими дефектами при цинге являются нарушение реакций гидроксилирования при образовании коллагена, цементирующего соединительную ткань, деполимеризация и гидролиз ее волокнистых структур. В результате повышается проницаемость и ломкость капилляров, возникают подкожные кровоизлияния. Нарушается биосинтез гемоглобина, развивается анемия.

Репозиторий ВГУ

Вследствие биохимических нарушений развиваются внешние проявления цинги. Ж. Картье в 1536 г. описал эту болезнь своих спутников во время путешествия по реке Св. Лаврентия следующим образом: «Одни лишились всех своих сил и не могли стоять на ногах. У других к тому же появились на коже багровые пятна крови, которые постепенно покрывали голени, колени, бедра, ягодицы, плечи, руки, шею. Изо рта стал идти зловонный запах, десны так загнили, что отпало все мясо до корней зубов, а сами зубы почти все выпали». К этой картине можно добавить поражения костей, боли в суставах, нарушение заживления ран.

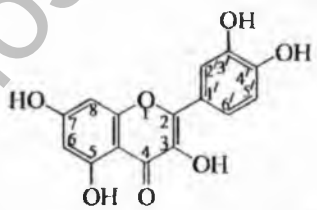
Суточная потребность для человека составляет 75–100 мг, беременным женщинам и подросткам требуется 100–200 мг.

Источниками аскорбиновой кислоты, покрывающими потребности людей, являются овощи и фрукты. Особенно богаты аскорбиновой кислотой шпинат, салат и отдельные разновидности красного перца, в которых ее содержание составляет 1–2% сухого веса. В продуктах животного происхождения аскорбиновой кислоты мало.

Следует отметить высокое содержание аскорбиновой кислоты в надпочечниках, что связано с ее функциями.

**Витамин Р** (биофлавоноиды). В 1936 г. А. Сент-Дьерди установил, что ломкость капилляров у животных обусловлена не только отсутствием аскорбиновой кислоты, но и отсутствием ряда биофлавоноидов, обнаруженных в лимонном соке, в корке лимона, перце и названных витамином Р (витамином проницаемости).

Основой химической структуры флавоноидов является конденсированная система бензольного кольца и шестичленного кислородсодержащего гетероцикла γ-пирона с боковым фенильным заместителем.



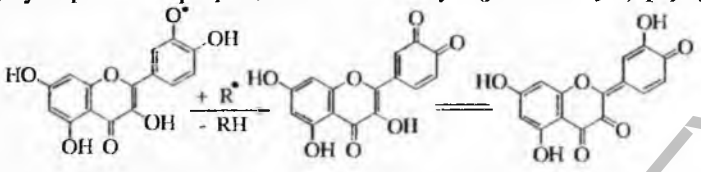

Кверцетин (3, 5, 7, 3′, 4′-пентагидроксифлавон)

Разнообразие биофлавоноидов обеспечивается наличием в базовой структуре различного количества и положения гидроксильных, алкоксильных и гликозильных заместителей в молекуле. Одним из представителей является кверцетин, впервые выделенный из коры дуба Quercus vtlutina, родоначальник различных лекарственных фитопрепаратов.

Благодаря наличию в структуре витамина Р полифенольных компонентов флавоноиды принимают участие в окислительно-

Репозиторий ГГУ

восстановительных реакциях радикального типа. В таких реакциях молекула флавоноида играет роль восстановителя по отношению к радикалу субстрата R и превращается в окисленную (радикальную) форму.



Радикал кверцетина Хиноидные структуры

Флавоноидный радикал характеризуется высокой стабильностью в результате распределения электронной плотности по сопряженной системе молекулы и существования изомерных хиноидных структур.

В организме животных и человека радикалы флавоноидов как участники окислительно-восстановительных процессов могут восстанавливаться при взаимодействии с аскорбиновой кислотой, α-токоферолом и другими антиоксидантами, имеющими более низкие редокс-потенциалы.

Биофлавоноиды обладают широким спектром действия, проявляя антиоксидантные свойства инактивируют различные активные формы кислорода (АФК) и, наряду с аскорбиновой кислотой, α-токоферолом, убихиноном и другими, принимают участие в защите организма от оксидативного стресса. За счет ингибирования фермента гиалуронидазы, расщепляющей гиалуроновую кислоту стенок кровеносных сосудов, флавоноиды снижают проницаемость сосудов и являются синергистами витамина С. Кроме того они проявляют антиаллергический эффект.

Положительные эффекты оказывают биофлавоноиды при лечении и профилактике сердечно-сосудистых заболеваний, атеросклероза, гипертонии, диабета, нарушений функций печени, воспалительных процессов, катаракты и др., объединяемым термином «болезни оксидативного стресса».

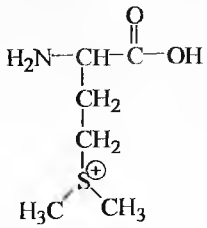
Флавоноиды синтезируются растениями, имеют широкое распространение в природе. Витамин Р содержится в овощах, фруктах, злаках, чае, красном вине и является незаменимым компонентом пищи.

**Витамин U.** Витамин U (от лат. ulcus – язва), или противоязвенный фактор, открыт в 1952 г. на основании изучения лечебного действия капустного сока при язвах желудка и двенадцатиперстной кишки. По химической природе витамин U представляет S-метилированную форму аминокислоты метионина – S-метилметионин.

Витамин U является активным донором метильных групп. Подвижность метильных групп позволяет S-метилметионину принимать активное участие в реакциях метилирования и трансметилирования, обеспечивая биосинтез холина, креатина и других метилированных соеди-

Репозиторий ВГУ

нений. Витамин U способствует эпителизации оболочки желудка и кишечника у язвенных больных, оказывает болеутоляющее действие, что связано с детоксикацией гистамина.



Витамин U
(S-метилметионин)

Витамин U содержится, в основном, в овощах. Большое количество его находится в капусте, шпинате, спарже, петрушке, сельдерее, томатах и молоке.

## 7. ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ

**Основы биоэнергетики.** Прежде чем перейти к рассмотрению обмена веществ и энергии, дыхательной цепи транспорта электронов и окислительного фосфорилирования, остановимся на основных понятиях биоэнергетики.

Описанием любой системы (живой, неживой и т.п.) занимается ***термодинамика***, которая рассматривает изменение энергии по мере изменения состояния системы.

***Система*** – любая исследуемая часть Вселенной или совокупность веществ, предметов, подлежащих изучению внутри определенного пространства, условно отделенного от окружающего мира. Все, что находится за пределами системы, называется окружающей средой.

Энергия может переходить из системы в окружающую среду и, наоборот, из окружающей среды в систему. При изучении процесса рассматриваются начальные энергетические состояния системы и окружающей среды и конечные их энергетические состояния, т.е. состояния после установления равновесия.

Для описания перехода от одного состояния к другому пользуются термодинамическими понятиями:

U – внутренняя энергия, полная энергия системы,

H – энтальпия, тепловое содержание системы (в единицах энергии),

S – энтропия, степень неупорядоченности системы,

РЕПОЗИТОРИЙ ВГУ

G – свободная энергия, энергия, доступная для превращения в полезную работу.

Каждая из этих термодинамических свойств системы называется функцией состояния, или состоянием системы.

Законы термодинамики приложимы и к живым организмам, а науку, изучающую функцию энергообеспечения, называют *биоэнергетикой*.

***Биоэнергетика*** изучает превращение энергии внешних ресурсов в биологически полезную работу. В этой связи следует рассматривать молекулярную биоэнергетику, биоэнергетику клетки, целостного организма, биоценоза, биосферы.

Живые организмы (клетки) представляют собой *открытые системы*, т.е. они обмениваются веществом и энергией с окружающей средой и они практически никогда не достигают полного равновесного состояния. Живая клетка в каждый данный момент находится в стационарном состоянии. При этом наблюдается определенная скорость притока вещества и энергии и оттока вещества и энергии.

Живая клетка представляет собой изотермическую химическую машину, поглощающую энергию из внешней среды для выполнения трех основных функций:

- биосинтетических процессов;
- активного транспорта молекул и ионов;
- мышечного сокращения и других форм клеточных движений.

Первый закон термодинамики гласит, что общая энергия системы и окружающей среды – величина постоянная. Энергия не может быть ни создана, ни уничтожена. Следовательно, живые организмы не могут ни создать энергию из ничего, ни уничтожить ее. Они могут только преобразовывать одну форму энергии в другую форму (тепловую, световую, электрическую, химическую, механическую).

Математическое выражение первого закона термодинамики имеет следующий вид:

$$\Delta U = U_B - U_A = Q - W,$$

где $U_A$ – энергия системы в начале процесса,

$U_B$ – энергия в конце процесса,

Q – теплю, поглощенное системой,

W – работа, совершаемая системой.

Живые организмы потребляют энергию из окружающей среды в той форме, в которой они могут использовать в конкретных условиях, а затем возвращают в окружающую среду эквивалентное количество энергии в другой форме, не пригодной или менее пригодной для них. Так, *хемотрофы* получают энергию в результате окисления пищевых (питательных) веществ, а *фототрофы* получают ее, улавливая световую энергию.

Репозиторий БГУ

Таким образом, живые организмы создают и поддерживают присущую им упорядоченность за счет внешней среды, степень упорядоченности которой в результате этого уменьшается.

Первый закон термодинамики не дает возможности предсказать направление протекания реакции, хотя в ряде случаев реакции протекают несмотря даже на положительное значение $\Delta U$. При этом система поглощает теплю из окружающей среды так, что суммарная энергия системы и окружающей среды остается постоянной.

Для предсказания направления протекания процесса одной из функций является *энтропия* (S), которая служит мерой степени беспорядочности, или разупорядоченности системы. Энтропия системы возрастает (+ $\Delta S$), когда увеличивается степень разупорядоченности.

Второй закон термодинамики гласит, что процесс может протекать самопроизвольно только при условии увеличения энтропии системы и окружающей среды ($\Delta S$ системы $+\Delta S$ среды) > 0).

Высокий уровень организации живых организмов, согласно второму закону термодинамики, не может возникнуть из беспорядка и этот уровень должен каким-то образом окупаться, хотя в живых организмах и биологических системах многие процессы протекают спонтанно.

Трудность использования энтропии в качестве критерия возможности спонтанного протекания биохимического процесса заключается в том, что очень трудно измерить изменения энтропии при химических реакциях. При этом надо знать изменение не только исследуемой системы, но и окружающей среды. Эти трудности устраняются при использовании другой термодинамической функции, называемой ***свободной энергией Гиббса*** **(G)**, с помощью уравнения, объединяющего первый и второй законы термодинамики, согласно которому изменение свободной энергии ($\Delta G$) при постоянной температуре (T) и давлении (P) равно:

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

где $\Delta G$ – изменение свободной энергии, претерпевшей трансформацию при постоянных T и P,

$\Delta H$ – изменение теплосодержания,

$\Delta S$ – изменение энтропии системы.

Как видим, в приведенное уравнение никакие параметры окружающей среды не входят. Изменение *энтальпии* вычисляют по уравнению:

$$\Delta H = \Delta U + \Delta PV,$$

где $\Delta U$ – изменение общей энергии системы,

P – давление, V – объем.

Поскольку в биологических системах химические реакции протекают в разбавленных водных растворах, в которых T, P и V остаются постоянными, то величина $\Delta PV$ равна нулю, а это значит, что $\Delta H$ почти равно $\Delta U$. Отсюда

$$\Delta G = \Delta U - T\,\Delta S.$$

Репозиторий БГУ

Следовательно, ΔG реакции зависит от изменения внутренней энергии и от изменения энтропии системы. Изменение свободной энергии (ΔG) реакции, в отличие от изменения внутренней энергии (ΔU), служит важным критерием оценки возможности спонтанного протекания этой реакции. Из приведенных данных вытекают следующие выводы:

1) $\Delta G = 0$ – система находится в равновесии, не претерпевает никаких изменений;
2) $\Delta G > 0$ – реакция не может идти самопроизвольно, для индукции такой реакции требуется приток свободной энергии;
3) $\Delta G < 0$ – реакция может протекать самопроизвольно.

**Основные понятия мембранной биоэнергетики.** Во всех живых организмах клетки отделены от окружающей среды клеточными мембранами. В эукариотических клетках имеется ряд субклеточных органелл, таких, как ядро, митохондрии и другие структуры, ограниченные мембранами, а такие субклеточные системы, как аппарат Гольджи и эндоплазматический ретикулум, по своей природе являются мембранами.

***Химический состав мембран.*** Мембраны состоят из липидов (преимущественно фосфоацилглицеролов) и белков. Соотношения между этими компонентами существенно различаются для различных мембран и колеблются от 20% белок + 80% липиды до 75% белок + 25% липиды. Углеводы в виде гликопротеинов и гликолипидов составляют 0,5–10% вещества мембраны.

Липиды биомембран расположены двумя слоями (билипидный слой) (рис. 7.1). Каждый монослой состоит из сложных липидов, расположенных «хвост к хвосту», так, что образуется структура двойного слоя, имеющего неполярную внутреннюю часть и две полярные поверхности. Толщина липидного двойного слоя примерно составляет 3,5–4 нм.

В состав мембраны эритроцитов человека входит фосфатидная кислота (1,5%), фосфатидилхолин (19,5%), фосфатидилэтаноламин (18,0%), фосфатидилсерин (8,5%), фосфатидилинозитолбифосфат (1,0%), сфингомиелин (17,5%), гликолипиды (10,0%) и холестерол (25,0%).

Подвижность (жесткость) и текучесть липидного слоя определяется типом и длиной углеводородных радикалов жирных кислот. Жесткость мембран повышается с увеличением соотношения предельных и непредельных жирных кислот и повышением содержания холестерола.

Физико-химические свойства мембран во многом зависят от типа и расположения белков, связанных с билипидным слоем.

В структуре мембран белки могут быть связаны с гидрофильной поверхностью липидного бислоя – ***поверхностные мембранные белки*** и погруженные в гидрофобную область бислоя – ***интегральные мем-***

Репозиторий ВГУ

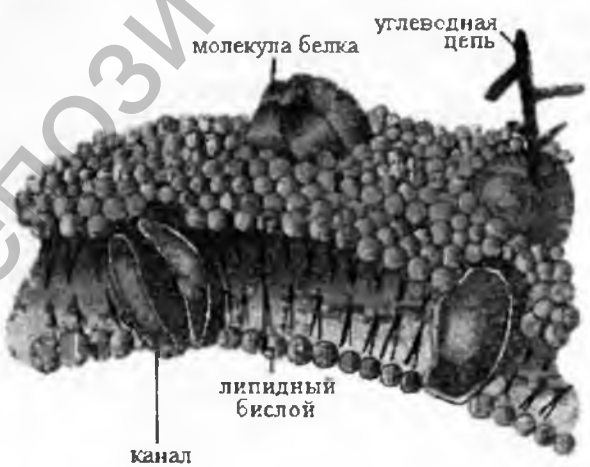
***бранные белки.*** Все мембраны содержат оба вида белков, но в разных типах мембран разное их соотношение.

Мембранные белки (поверхностные и интегральные) на основе их роли делят на две группы: 1) структурные белки, поддерживающие структуру всей мембраны, и 2) динамические белки, непосредственно участвующие в клеточных процессах, происходящих на мембране. Во всех типах клеток существует три класса динамических белков: 1) транспортные белки, участвующие в транспорте веществ внутрь и наружу клеток; 2) каталитические белки – ферменты, катализирующие реакции, протекающие на мембранах; 3) белки-рецепторы, специфически связывающие на наружной стороне мембраны гормоны, токсины, нейромедиаторы и другие вещества, что служит сигналом для изменения химических процессов в мембране или внутри клетки.

Мембраны представляют собой очень активные биохимические системы, обеспечивающие различные виды функциональной активности.

***Плазматическая мембрана*** обеспечивает селективный транспорт веществ внутрь и наружу клетки и субклеточных компартментов, связывание гормонов и других регуляторных молекул, электрическую возбудимость и передачу электрических импульсов.

***Ядерная мембрана*** отделяет ядерные структуры, состоит из внешней и внутренней мембран, имеет поры, через которые РНК проникает в цитоплазму, а регуляторные белки – из цитоплазмы в ядро.




Репозиторий ВГУ

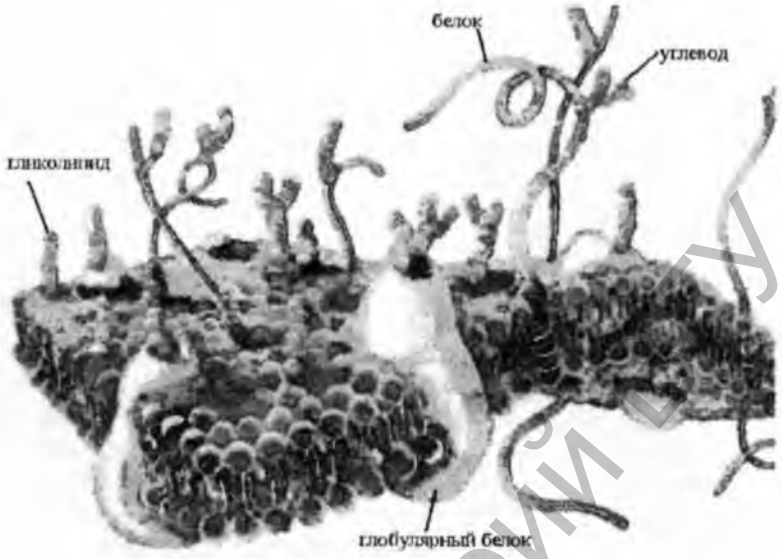



Рис. 7.1. **Структура биологических мембран.**

***Эндоплазматический ретикулум (ЭР)*** обеспечивает биосинтез секреторных, лизосомальных и мембранных белков, микросомальное окисление метаболитов и ксенобиотиков, биосинтез стероидов и фосфоацилглицеролов.

***Мембрана аппарата Гольджи*** принимает участие в посттрансляционной модификации белков, синтезированных в ЭР для секреции, включении в плазмотическую мембрану или доставки в лизосомы.

***Митохондриальная мембрана*** состоит из наружной и внутренней, разделенных межмембранным пространством. Внутренняя мембрана содержит ферменты дыхательной цепи транспорта электронов и окислительного фосфорилирования.

***Лизосомальная мембрана*** поддерживает кислую среду (pH 5,0), необходимую для действия гидролаз (протеаз, липаз), осуществляющих деградацию макромолекул и клеточных компонентов.

Важнейшей функцией многих биомембран является превращение одной формы энергии в другую. Эту функцию выполняют специальные белки, встроенные в особого типа мембраны, называемые ***энергопреобразующими.*** Такие мембраны не проницаемы для подавляющего большинства веществ, находящихся по обе ее стороны.

Любая энергопреобразующая мембрана способна к превращению химической энергии окисляемых субстратов или АТР, либо энергии

Библиотека ГГМУ

света в электрическую энергию, а именно в трансмембранную разность электрических потенциалов ($\Delta\psi$) или в энергию разности концентраций веществ, содержащихся по разные стороны мембраны (осмотическая энергия). Некоторые энергопреобразующие мембраны могут превращать электрическую или осмотическую энергию в механическую, как у подвижных прокариот. Определенные ткани теплокровных животных и некоторые растения способны превращать накопленную энергию в тепло при понижении окружающей температуры.

Наибольшее биологическое значение из энергопреобразующих мембран имеют внутренняя мембрана митохондрий, внутренняя (цитоплазматическая) мембрана бактерий, внешняя мембрана клеток эукариот, мембрана бактериальных хроматофоров, тилакоидов хлоропластов и цианобактерий, вакуольная мембрана (тенопласт) растений и грибов.

В большинстве случаев преобразование энергии в биологических мембранах описывается общей схемой:

**Энергетические ресурсы** $\longrightarrow$ **$\Delta\mu$I** $\longrightarrow$ **работа,**

где **$\Delta\mu$I** – трансмембранная разность электрохимических потенциалов иона **I**. Эта схема означает, что энергия, потребляемая мембранной системой, сначала используется для транспорта иона **I** через мембрану против сил электрического поля и в направлении большей концентрации **I** (против градиента концентрации). Этот процесс называют ***энергизацией мембраны***. Затем энергия, накопленная в электрической и осмотической формах, используется в качестве движущей силы для совершения полезной работы.

Таким образом, процессы использования внешней энергии и совершения за ее счет работы сопряжены через образование и использование разности электрохимических потенциалов иона **I** (**$\Delta\mu$I**) и этот ион называют ***сопрягающим ионом***. Роль сопрягающих ионов чаще всего выполняют $H^+$ и $Na^+$, в отдельных случаях – $K^+$ и $Ca^{2+}$. По этому признаку мембраны делятся на несколько групп.

***Энергопреобразующие мембраны, использующие $H^+$ как сопрягающий ион.***

1. Внутренняя мембрана митохондрий.
2. Мембрана тилакоидов хлоропластов.
3. Внутренняя мембрана оболочки хлоропласта.
4. Внутренняя (цитоплазматическая) мембрана многих бактерий.
5. Мембрана бактериальных хроматофоров.
6. Внешняя мембрана клеток растений и грибов.
7. Мембрана вакуолей (тонопласт) растений и грибов.
8. Мембрана хромаффинных и некоторых других секреторных гранул животной клетки.

***Энергопреобразующие мембраны, использующие $Na^+$ как сопрягающий ион.***

Репозиторий БГУ

1. Внешняя мембрана животной клетки.
2. Внутренняя (цитоплазматическая) мембрана некоторых морских аэробных бактерий и морских анаэробных бактерий.

***Энергопреобразующие мембраны, ограничивающиеся созданием ионного градиента.***

1. Мембраны лизосом и аппарата Гольджи (**АТР** ⟶ **ΔpH**).
2. Внешняя мембрана некоторых животных клеток, например, клеток слизистой желудка (**АТР** ⟶ **ΔpH**).
3. Саркоплазматический ретикулум и другие пузырьки, накапливающие $Ca^{2+}$ (**АТР** ⟶ **ΔpCa**).

Внешние мембраны митохондрий, бактерий и оболочки хлоропластов не способны к превращению энергии.

**Катаболизм и анаболизм.** Обмен веществ, или метаболизм, представляет собой непрерывный, самосовершающийся, саморегулируемый круговорот веществ, протекающий в процессе жизнедеятельности живых организмов, сопровождающийся постоянным их самообновлением.

Метаболизм можно определить как высоко интегрированную систему химических реакций живого организма. В результате обмена веществ организм взаимодействует с окружающей средой, получает энергию для процессов жизнедеятельности (энергетический обмен) и материал для построения субклеточных структур, клеток, органов и тканей и организма в целом (пластический обмен).

Среди величайшего разнообразия живых организмов, их строения и способов существования отчетливо прослеживается ***единство*** метаболизма. В целом общий метаболизм всех классов органических соединений в основных принципах одинаков, а метаболизм многих соединений идентичен для всех организмов.

Метаболизм состоит из совокупности противоположных катаболических (от греч. κατα – вниз) и анаболических (от греч. ανα – вверх) процессов, или катаболизма и анаболизма.

Особенности катаболических и анаболических процессов.

| Катаболизм | Анаболизм |
|---|---|
| 1. Расщепление (деградация). | 1. Синтез. |
| 2. Окисление. | 2. Восстановление. |
| 3. Выделение энергии. | 3. Потребление энергии. |
| 4. Из различных исходных соединений образуются одинаковые конечные продукты. | 4. Из одинаковых исходных соединений образуются различные конечные продукты. |

Катаболические и анаболические пути во многих отношениях хоть и различаются, но тесно взаимосвязаны. В разные периоды жизни имеет место преобладание анаболических процессов над катаболическими, и наоборот.

Репозиторий БГУ

Число реакций метаболизма очень велико, а типов (видов) химических реакций относительно небольшое.

**Метаболические пути, метаболические циклы, этапы, узловые точки и ключевые метаболиты.** В процессе метаболизма превращение основных химических соединений из одного в другое не происходит непосредственно, а проходя целый ряд последовательных химических реакций. Совокупность последовательных биохимических реакций, приводящих к превращению одного вещества в другое (конечный или промежуточный продукт метаболизма) называется ***путем (или цепью)*** метаболизма. Примерами путей метаболизма являются гликолитический путь, пентозофосфатный путь метаболизма углеводов, β-окисление карбоновых кислот, дыхательная цепь транспорта электронов.

Отдельные реакции метаболического пути называются ***этапами, звеньями или ступеньками*** метаболизма.

***Метаболические циклы.*** Протекание некоторых путей метаболизма характеризуется тем, что в конце процесса происходит регенерация одного из исходных метаболитов, что ведет к замыканию метаболического пути и образованию кругового, циклического процесса. Такие замкнутые метаболические пути называют ***метаболическими циклами.*** Циклическими путями метаболизма являются цикл трикарбоновых кислот, глиоксилатный цикл, орнитиновый цикл биосинтеза мочевины, цикл Кори, цикл Кальвина и др.

Существование метаболических циклов имеет глубокий биологический смысл, т.к. в них совершаются определенные биохимические реакции, чрезвычайно экономно используя одно и то же количество исходного соединения, которое при каждом кругообороте регенерируется и вновь вступает в процесс.

Метаболические пути могут пересекаться. Место пересечения называют *узловой точкой метаболизма*, а соответствующий метаболит, через который проходят различные пути обмена веществ, – *узловым (или ключевым) метаболитом.* Так, например, узловыми (ключевыми) метаболитами являются глюкозо-6-фосфат, пируват, ацетил-СоА и др., через которые может происходить переключение метаболизма с одного метаболического пути на другой.

Часто одно и то же превращение метаболита может осуществляться двумя или несколькими путями. Обменная мощность одного из путей больше и его называют ***основным путем метаболизма***, а другого или других меньше и их относят к ***вторичным путям метаболизма. Побочными путями метаболизма*** называют пути, которые исходят из общего метаболита основного пути, но приводят к образованию другого (побочного) конечного продукта (метаболита).

***Регуляторные (ограничивающие) этапы.*** Интенсивность метаболического потока, или обменная мощность данного пути метаболиз-

Репозиторий БГУ

ма, зависит от узкого звена, так называемого «ограничивающего этапа», т.е. от этапа, обладающего наименьшей метаболической мощностью. В ограничивающих этапах Природой заложена экономность регуляторных систем метаболизма. В целях повышения (усиления) метаболического потока нет необходимости изменять все этапы метаболического пути, а достаточно изменить один или несколько. Такими этапами в гликолитическом пути является гексокиназная реакция, в цикле трикарбоновых кислот – цитратсинтазная реакция, в окислительном пентозофосфатном пути – глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназная реакция и т.д.

**Последовательность процессов метаболизма.** С момента поступления пищи в организм, в зависимости от последовательности протекания процессов обмена их разделяют на три группы:

1. Пищеварение и резорбция (всасывание). В процессе пищеварения в желудочно-кишечном тракте происходит гидролиз высокомолекулярных соединений с образованием простых. Сюда относится и бактериальное воздействие на пищевые вещества со стороны желудочно-кишечной флоры, что имеет особое значение для жвачных. Затем происходит резорбция питательных веществ через слизистые оболочки кишок и поступление через мембраны в клетки.

2. Промежуточный обмен – совокупность внутриклеточных химических реакций синтеза и деградации с образованием промежуточных и конечных продуктов метаболизма.

3. Выделение конечных продуктов обмена.

**Стадии метаболизма извлечения энергии питательных веществ.** В зависимости от количества освобождаемой энергии в процессе расщепления и окисления питательных веществ Г. Кребс выделяет три основные стадии.

***На первой стадии*** большие (полимерные) молекулы питательных веществ расщепляются на малые (мономеры). Полисахариды превращаются до моносахаридов (в основном до гексоз: глюкозы, фруктозы, галактозы). Жиры расщепляются до глицерола и жирных кислот, а белки – до аминокислот. При этом освобождается около 0,6–1% общей энергии питательных веществ и эта энергия может быть использована только для образования тепла, но не может быть использована для других целей.

Значение химических реакций первой стадии состоит, главным образом, в подготовке питательных веществ к дальнейшему освобождению энергии. Эти подготовительные реакции совершаются в желудочно-кишечном тракте. Конечными продуктами первой стадии являются примерно 25–30 различных химических соединений (аминокислоты, моносахариды, глицерол, жирные кислоты).

***На второй стадии*** (начальной фазе промежуточного метаболизма) вещества, образовавшиеся на первой стадии, подвергаются дальнейшему расщеплению. Результат этих превращений, на первый взгляд,

Репозиторий ВГУ

кажется неожиданным, т.к. из большого количества химических соединений, образовавшихся на первой стадии, образуется три главных метаболита: *2-оксоглутарат, оксалоацетат и ацетил-СоА,* среди которых преобладает ацетил-СоА. Образовавшиеся метаболиты второй стадии играют центральную роль в метаболизме. На этой стадии освобождается 25–30% энергии, содержащейся в питательных веществах.

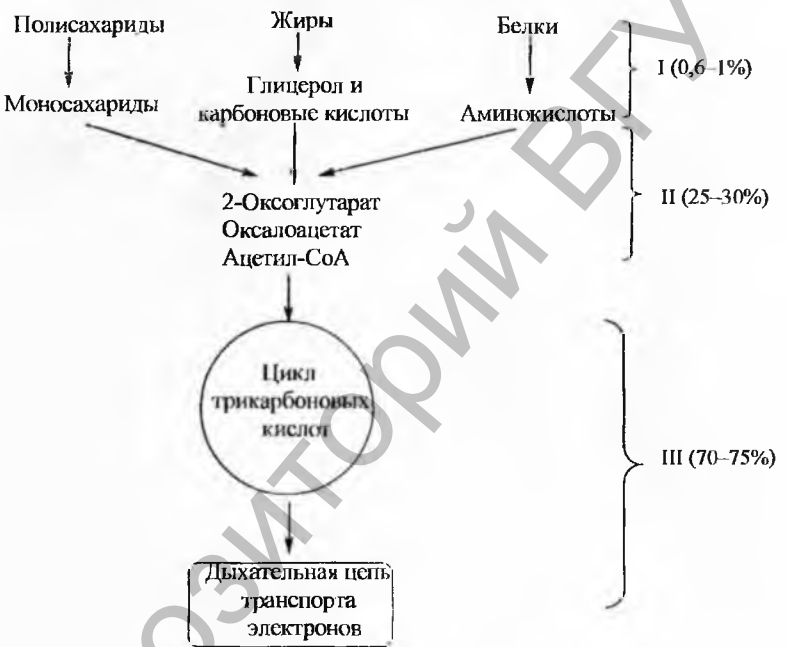



Рис. 7.2. **Схема стадий освобождения энергии питательных веществ.**

***Третья стадия*** (конечная фаза промежуточного метаболизма) включает цикл трикарбоновых кислот и дыхательную цепь транспорта электронов – конечные пути в окислении питательных веществ до $CO_2$ и $H_2O$.

Цикл трикарбоновых кислот и дыхательная цепь транспорта электронов, сопряженная с окислительным фосфорилированием, являются общими, магистральными путями метаболизма, через которые проходит метаболизм углеводов, липидов и белков. На третьей стадии освобождаются остальные 70–75% энергии питательных веществ.

**Биологическое окисление (тканевое дыхание).** Биологическое окисление, или тканевое дыхание, представляет совокупность окисли-

Репозиторий БГУ

тельно-восстановительных процессов, протекающих в живых клетках, основной функцией которого является обеспечение организма энергией в доступном для использования виде и восстановительных эквивалентов для биосинтетических процессов.

В XVIII столетии А. Лавуазье обратил внимание на сходство процессов горения органических веществ (горения) и дыхания животных, в связи с чем в науке долгое время господствовало мнение, что биологическое дыхание представляет собой медленное горение.

Принципиальными отличительными особенностями тканевого дыхания от горения является то, что окислительные процессы в организме протекают при низкой температуре без резких ее перепадов и без появления пламени, т.к. энергия выделяется не одномоментно, а порционно (частями).

Вторая особенность состоит в том, что при биологическом окислении вода является не только конечным продуктом, как при горении, но непосредственным участником окислительных процессов, которые более интенсивно протекают в тканях с высоким содержанием воды.

Третьей особенностью биологического окисления является то, что реакцией, поставляющей энергию в живых организмах, за незначительным исключением, является реакция окисления водорода кислородом, которая в обычных условиях протекает с взрывом.

В целях объяснения особенностей биологического окисления было выдвинуто несколько теорий. Первой из них была теория активирования кислорода (А.Н. Бах, К. Энглер и Вилд), затем В.И. Палладин и Г. Виланд разрабатывали теорию активирования водорода. Таким образом, в начале XX столетия было противостояние двух этих теорий биологического окисления. Открытие цитохромов (Д. Кейлин, 1925), снимающих электроны с водорода и фермента цитохромоксидазы (О. Варбург, 1928), на которую передаются электроны с водорода, несколькими годами позже позволило создать современную теорию биологического окисления (или тканевого дыхания), получившую название дыхательной цепи транспорта электронов.

***Стадии тканевого дыхания.*** У аэробно дышащих клеток конечным акцептором электронов и протонов является кислород. В этой связи тканевое дыхание в аэробных клетках протекает по трем основным стадиям.

1. Образование ацетил-СоА. Эта стадия состоит из различных путей метаболизма углеводов, липидов, аминокислот, отличающихся своими механизмами от субстрата к субстрату.

2. Окисление ацетил-СоА в цикле трикарбоновых кислот с образованием восстановленных коферментов ($NADH$, $FADH_2$) и выделением $CO_2$.

РЕПОЗИТОРИЙ БГУ

3. Окисление водорода восстановленных коферментов в дыхательной цепи транспорта электронов, сопряженной с окислительным фосфорилированием. В результате сопряжения окисления и фосфорилирования значительная часть энергии аккумулируется в макроэргических (высокоэнергетических) соединениях.

**Энергетические носители («валюта») живой клетки.** Энергетические превращения, протекающие в живой клетке, могут быть подразделены на две группы по их локализации:

1) энергетические превращения в мембранах,
2) энергетические превращения в немембранных отделах протоплазмы.

В каждой группе энергетические затраты обеспечиваются своими носителями («валютой»).

В мембранах используется:

1) разность электрохимических потенциалов ионов $H^+$ ($\Delta\mu H$),
2) разность электрохимических потенциалов ионов $Na^+$ ($\Delta\mu Na$).

В немембранных отделах протоплазмы используются АТР и другие высокоэнергетические (макроэргические) соединения.

Энергия $\Delta\mu H$ и $\Delta\mu Na$ может обратимо превращаться в энергию АТР. Эти процессы катализируются $H^+$–синтазой ($H^+$–АТР-азой) в протонных мембранах, создающих $\Delta\mu H$, и $Na^+$–синтазой ($Na^+$–АТР-азой), или $Na^+/K^+$–АТР-азой, в натриевых мембранах, поддерживающих $\Delta\mu Na$. Уровень $\Delta\mu H$ (забуферивание) поддерживают градиенты ионов $Na^+$ и $K^+$.

$\Delta\mu H$ может трансформироваться в:

– осмотическую работу, транспорт химических соединений против градиента концентрации;
– механическую работу, вращение бактериального жгутика и другие движения;
– теплопродукцию, образование теплоты митохондриями животных в ответ на понижение окружающей температуры.

В немембранных частях клетки все перечисленные типы энергетических превращений поддерживаются энергией АТР и другими макроэргическими (высокоэнергетическими) соединениями. Энергетика клетки животных носит сложный характер, где используются три различные энергетические «валюты»: $\Delta\mu H$ – в митохондриях, $\Delta\mu Na$ – на внешней клеточной мембране, АТР и другие нуклеозидтрифосфаты – в прочих частях клетки.

Репозиторий ВГУ

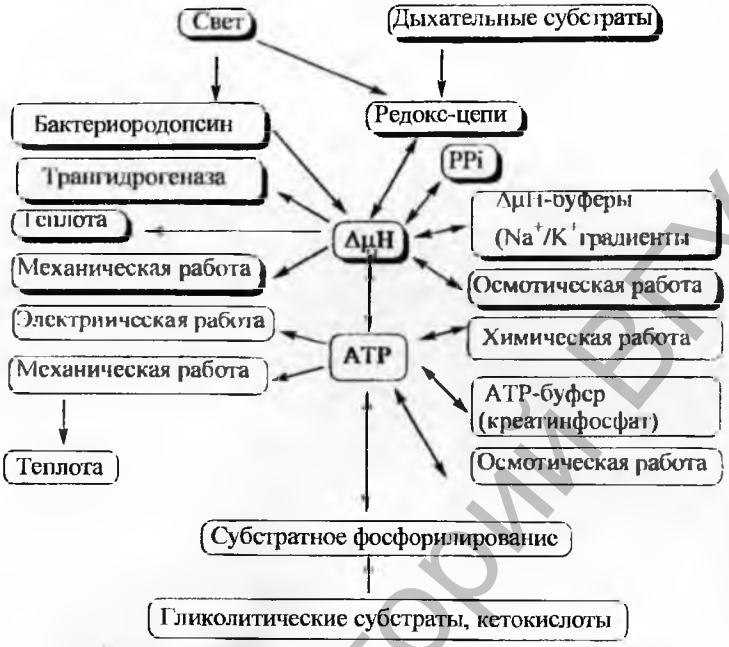



**Рис. 7.3. Схема энергетики клетки по В.П. Скулачеву (1989).**

**Окислительное фосфорилирование.** Процесс образования ATP, сопряженный с транспортом электронов в дыхательной цепи, называют окислительным фосфорилированием. У аэробных организмов этот механизм является главным в биосинтезе ATP. Так, окислительное фосфорилирование обеспечивает образование 32 молекул ATP (84–89%) из 36–38 молекул ATP, образующихся при полном окислении глюкозы.

Окислительное фосфорилирование можно представить в виде схемы:

$$\mathbf{ADP + Pi} \xrightarrow[\text{комплекс}]{\text{Энергия}} \mathbf{ATP}$$

Движущей силой окислительного фосфорилирования является потенциал переноса электронов восстановленных коферментов (NADH, $FADH_2$). В расчете окислительно-восстановительного потенциала ($\Delta E_o'$) и свободной энергии ($\Delta G_o'$) исходят из частичных реакций:

Репозиторий ВГУ

а) $NAD^+ + H^+ + 2e^- \rightleftarrows NADH$ $E_o' = -0,32$ В;

б) $\frac{1}{2} O_2 + 2 H^+ + 2 e^- \rightleftarrows H_2O$ $E_o' = +0,82$ В.

NADH – сильный восстановитель, обладает отрицательным окислительно-восстановительным потенциалом ($E_o' = -0,32$ В), тогда как $O_2$ – сильный окислитель, имеет положительный редокс-потенциал ($E_o' = +0,82$ В).

Величину окислительно-восстаиовительного потенциала дыхательной цепи транспорта электронов получаем путем вычитания редокс-потенциала из реакции б) редокс-потенциала реакции а):

$$\Delta E_0' = +0,82 \text{ В} - (-0,32 \text{ В}) = +1,14 \text{ В}.$$

Свободная энергия окисления NADH в дыхательной цепи составляет:

$\Delta G_o' = n \cdot F \cdot \Delta E_o' = -2 \cdot 96,49 \cdot 1,14 = -220$ кДж/моль (– 52,6 ккал/моль),

где n – число перенесенных атомов,

F – число Фарадея (96,49 кДж $\cdot B^{-1} \cdot$ моль$^{-1}$ ( 23,062 ккал $\cdot B^{-1} \cdot$моль$^{-1}$),

$\Delta E_o'$ – окислительно-восстановительный потенциал, выраженный в вольтах (В).

Электроны от восстановленных коферментов (NADH, $FADH_2$) не переносятся прямо на кислород, а они проходят через три комплекса (I, III, IV), содержащих не менее десяти окислительно-восстановительных систем, в состав которых входят различные коферменты или простетические группы. Наличие промежуточных дополнительных систем между NADH и $O_2$ не изменяет свободной энергии ($\Delta G_o'$), т.к. она зависит только от разности окислительно-восстановительных потенциалов донора и акцептора электронов.

Общая энергия суммарной реакции составляет 220 кДж/моль, выделяется частями, величина которых определяется разностью окислительно-восстановительных потенциалов соответствующих промежуточных систем. Это, в свою очередь, обеспечивает высокий выход энергии в дыхательной цепи.

Таблица 7.1

**Окислительно-восстановительные потенциалы биохимических систем**

| Окислительно-восстановительные потенциалы ($E^{0'}$) | $E^{0'}$ (V) | n* |
|---|---|---|
| Сукцинат + $CO_2$ + $2H^+$ + $2e^-$ ⇌ 2-оксоглутарат + $H_2O$ | – 0,67 | 2 |
| 3-Фосфоглицерат + $2H^+$ + 2e ⇌ глицеральдегид-3-фосфат + $H_2O$ | – 0,55 | 2 |
| 2-Оксоглутарат + $CO_2$ + $2H^+$ + 2e ⇌ изоцитрат | –0,38 | 2 |
| $NAD^+ + H^+ + 2e^-$ ⇌ NADH | –0,32 | 2 |
| 1,3-Бисфосфоглицерат + $2H^+$ + 2e ⇌ глицеральдегид-3-фосфат + Pi | –0,29 | 2 |

Репозиторий ВГУ

| | | |
|---|---|---|
| Липоевая кислота + $2H^+ + 2e^-$ ⇌ дигидролипоевая кислота | –0,29 | 2 |
| | –0,22[а] | 2 |
| $FMN + 2H^+ + 2e^-$ ⇌ $FMNH_2$ | –0,22[а] | 2 |
| $FAD + + 2H^+ + 2e^-$ ⇌ $FADH_2$ | –0,20 | 2 |
| Ацетальдегид + $2H^+$ + $2e^-$ ⇌ этанол | –0,19 | 2 |
| Пируват + $2H^+ + 2e^-$ ⇌ лактат | –0,17 | 2 |
| Оксалоацетат + $2H^+ + 2e^-$ ⇌ малат | –0,03 | 2 |
| Фумарат + $2H^+ + 2e^-$ ⇌ сукцинат | –0,03 | 1 |
| Цитохром $b_L$ ($Fe^{3+}$) + $e^-$ ⇌ цитохром $b_L$ ($Fe^{2+}$) | +0,05 | 1 |
| Цитохром $b_H$ ($Fe^{3+}$) + $e^-$ ⇌ цитохром $b_H$ ($Fe^{2+}$) | +0,11[б] | 2 |
| Убихинон (UQ) + $2H^+$ + $2e^-$ ⇌ убихинон восстановленный ($UQH_2$) | +0,23 | 1 |
| Цитохром $c_1$ ($Fe^{3+}$) ⇌ цитохром $c_1$($Fe^{2+}$) | +0,24 | 1 |
| Цитохром c ($Fe^{3+}$) ⇌ цитохром c ($Fe^{2+}$) | +0,28 | 1 |
| Цитохром a ($Fe^{3+}$) ⇌ цитохром a ($Fe^{2+}$) | +0,35 | 1 |
| Цитохром $a_3$ ($Fe^{3+}$) ⇌ цитохром $a_3$ ($Fe^{2+}$) | +0,82 | 4 |

$O_2 + 4\ H^+ + 4e^-$ ⇌ $2\ H_2O$

n* – число электронов.

**Дыхательная цепь транспорта электронов и окислительное фосфорилирование.** Дыхательная цепь транспорта электронов состоит из четырех комплексов:

I – NADH-CoQ-оксидоредуктазный (1 FMN, 2 $Fe_2S_2$, 4–5 $Fe_4S_4$, 25–30 субъединиц);

II – сукцинат-CoQ-оксидоредуктазный (1 FAD, 1 $Fe_2S_2$, 1 $Fe_4S_4$, 1 $Fe_3S_4$, 2Q, 1 гем b, 4–6 субъединиц);

III – $CoQH_2$-цитохром-*c*-оксидоредуктазный (2 гема b,1 гем $c_1$, 2 $Fe_2S_2$, 11 субъединиц)

IV – цитохром-*c*-оксидазный (1 гем a, 1 гем $a_3$, 2 Cu, 1 Zn, 8–13 субъединиц).

Репозиторий ВГУ

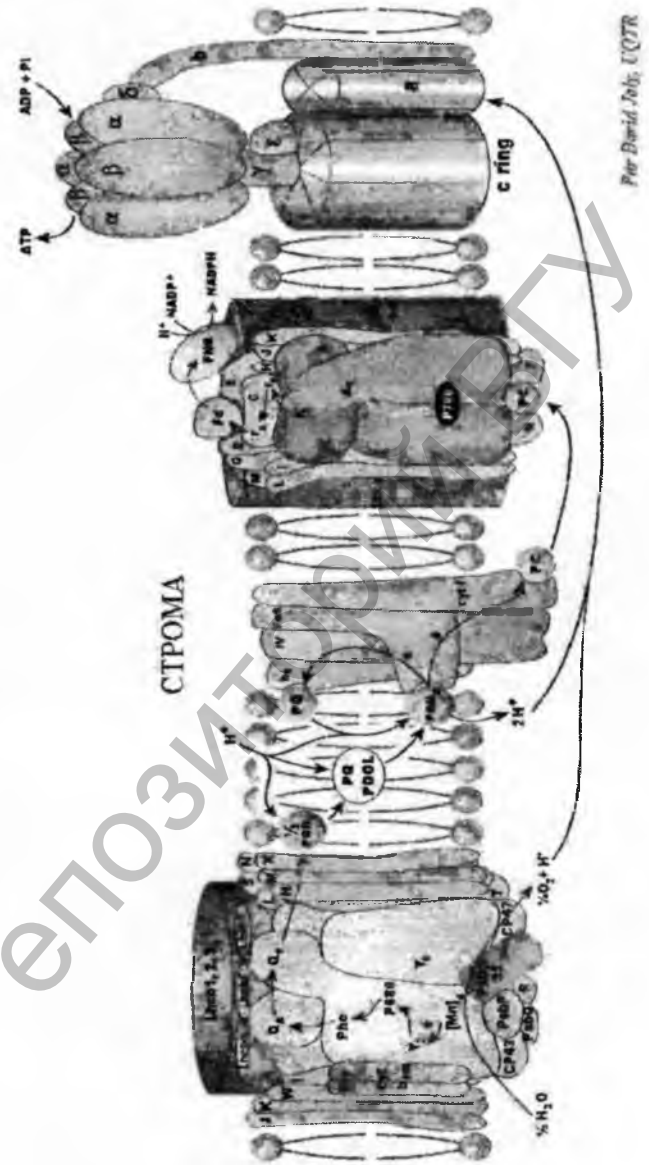



Рис. 7.4. **Структура внутренней мембраны митохондрий.**

Репозиторий ВГУ

Процесс окисления начинается с переноса электронов от восстановленных субстратов ($RH_2$) на NAD$^+$ или FAD в зависимости от типа дегидрогеназ (рис. 7.4, 7.5).

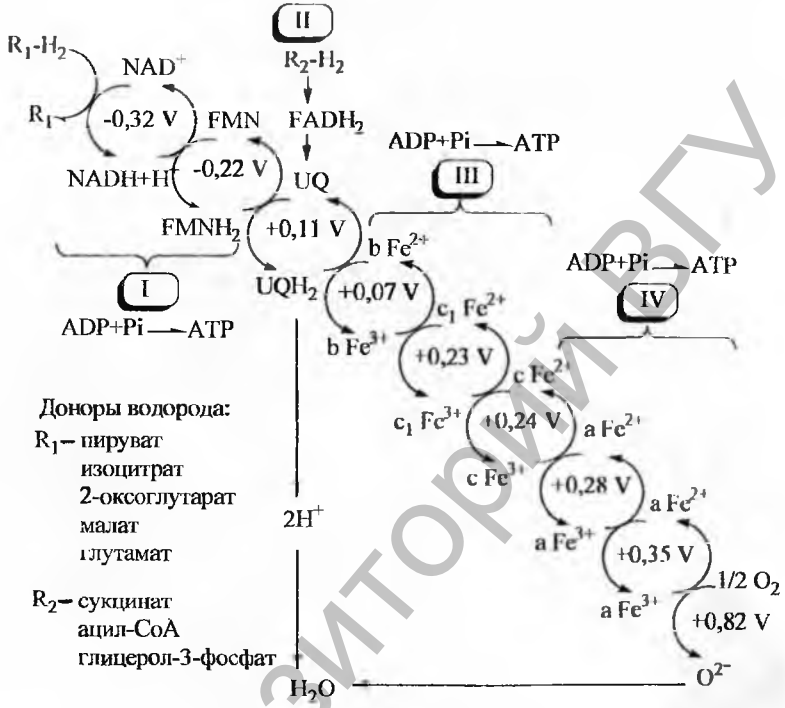
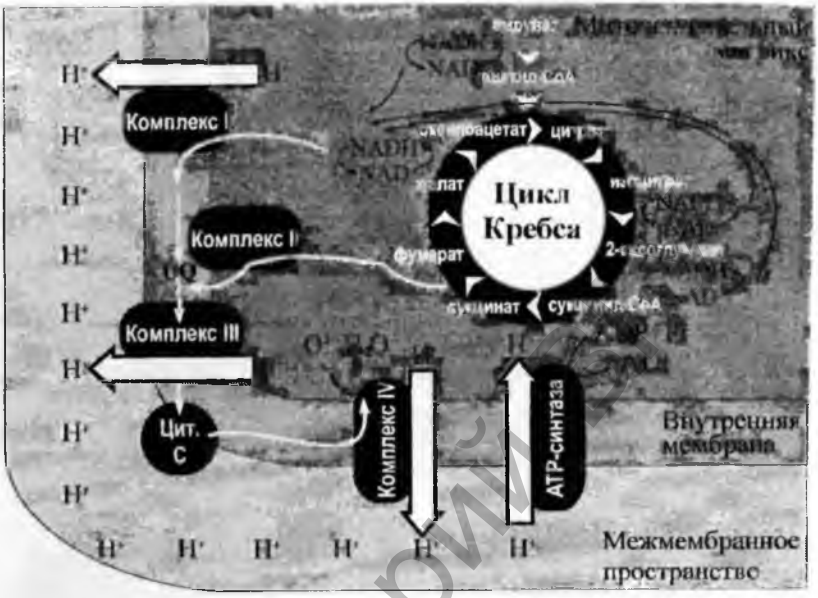



Рис. 7.5. **Схема дыхательной цепи транспорта электронов.**

***Механизм окислительного фосфорилирования.*** Компоненты дыхательной цепи транспорта электронов (ДЦТЭ) расположены по возрастанию редокс-потенциала и организованы в три комплекса во внутренней мембране митохондрий. Комплексы, используя энергию электронов, обеспечивают перенос протонов водорода ($H^+$) из матрикса в межмембранное пространство, создается протонный электрохимический потенциал $\Delta\mu H^+$. При достижении определенной величины $\Delta\mu H^+$ происходит активация АТР-синтазы (V комплекс). В АТР-синтазе открывается канал, через который протоны водорода возвращаются в матрикс из межмембранного пространства, а энергия $\Delta\mu H^+$ используется для синтеза АТР.

В процессе транспорта электронов каждый комплекс ДЦТЭ (I, II, IV) обеспечивает активацию АТР-синтазы и синтез 1 молекулы АТР.

Репозиторий ВГУ




Эффективность окислительного фосфорилирования выражают коэффициентом фосфорилирования (P/O), т.е. количеством молей ATP, образованных при восстановлении 1 атома кислорода до $H_2O$. При окислении NADH синтезируется 3 молекулы ATP (P/O = 3), а $FADH_2$ – 2 (P/O = 2). Энергия электронов трансформируется в макроэргические связи ATP.

Синтезированная ATP под действием ATP–ADP-транслоказы транспортируется в цитоплазму в обмен на ADP, т.е. ADP поступает в митохондриальный матрикс при условии выхода ATP, и наоборот. Повышение скорости потока ADP, который является субстратом ATP-синтазы, увеличивает скорость синтеза ATP. Это, в свою очередь, сопровождается повышением скорости переноса протонов из матрикса в межмембранное пространство и скорости дыхания. Ускорение окислительного фосфорилирования и дыхания при повышении концентрации ADP называется дыхательным контролем. Благодаря этому скорость синтеза ATP точно соответствует потребностям клетки в энергии.

**Макроэргические (высокоэнергетические) соединения.** Живые организмы в процессе жизнедеятельности нуждаются в притоке свободной энергии, которая используется в трех основных направлениях: 1) для биосинтеза биомолекул клетки, 2) для активного транспорта молекул и ионов и 3) для механической работы (мышечное сокращение и другие формы клеточных движений). Свободная энергия, которая поддерживает организм в состоянии, далеком от равновесия, поступает из

Репозиторий

окружающей среды. Хемотрофы получают эту энергию путем окисления веществ пищи, а фототрофы – улавливая световую энергию. Эта свободная энергия, прежде чем быть использованной в процессах биосинтеза, активного транспорта и движения, частично преобразуется клеткой в специальную форму – энергию высокоэнергетических (макроэргических) соединений.

Одним из аспектов биоэнергетики является передача химической энергии внутри клетки и термодинамическая характеристика специальной группы химических соединений, принимающих участие в этих процессах.

Соединения клетки в зависимости от *величины свободной энергии гидролиза ($\Delta G^0$)* делят на высокоэнергетические (макроэргические) и низкоэнергетические. Высокоэнергетические соединения содержат макроэргическую связь (~), энергия гидролиза которой составляет от –30 до –35 кДж/моль и более. Макроэргические связи представлены фосфоангидридными (нуклеозидтрифосфаты), ацилфосфоангидридными (ацилфосфаты), фосфоэфирными (енолфосфаты), фосфоамидными (гуанидинфосфаты: креатинфосфат, аргининфосфат), ацилтиоэфирными (ацилпроизводные CoA).

Таблица 7.2

**Стандартная свободная энергия гидролиза биологически важных фосфорилированных соединений**

| Соединения | ΔG кДж/моль | ΔG ккал/моль * |
|---|---|---|
| Фосфоенолпируват | –61,9 | –14,8 |
| Карбомоилфосфат | –51,4 | –12,3 |
| 1,3-Бисфосфоглицерат | –49,3 | –11,8 |
| Креатинфосфат | –43,1 | –10,3 |
| Ацетилфосфат | –42,3 | –10,1 |
| Аргининфосфат | –32,2 | –7,7 |
| ATP → ADP + Pi | –30,5 | –7,3 |
| ADP → AMP + Pi | –27,6 | –6,6 |
| Пирофосфат | –27,6 | –6,6 |
| Глюкозо-1-фосфат | –20,9 | –5,0 |
| Фруктозо-6-фосфат | –15,9 | –3,8 |
| AMP | –14,2 | –3,4 |
| Глюкозо-6-фосфат | –13,8 | –3,3 |
| Глицерол-3-фосфат | –9,2 | –2,2 |

* 1 калория = 4,1868 Дж

Макроэргическими соединениями являются ацилтиоэфиры коэнзима А. Так, например, при гидролизе ацетил-SCoA ΔG составляет 30,8 кДж/моль (7,37 ккал/моль).



Репозиторий БГУ

Приведенные данные показывают, что не существует четкой границы между высокоэнергетическими и низкоэнергетическими соединениями, а, наоборот, наблюдается плавный переход, что играет важную роль в энергетике клетки.

***Аденозинтрифосфат*** (АТФ, ATP) в термодинамической шкале занимает центральное место и, в этом отношении, представляет собой уникальное соединение, выполняющее центральную роль в обмене энергии в биологических системах. Система ATP – ADP выполняет функцию переноса энергии от высокоэнергетических соединений, занимающих в термодинамической шкале место выше ATP, к акцепторным молекулам с образованием соединений, стоящих в этой шкале ниже ATP, которые представляют собой довольно активные производные с относительно высокой энергией и выполняющие важную роль в метаболизме.

Многие годы шли дискуссии о точном значении ΔG гидролиза ATP. В стандартных условиях получены величины в интервале от –30 до –35 кДж/моль. Некоторые авторы эту величину считают –33,5 кДж/моль (–8 ккал/моль) при гидролизе ATP до ADP, ATP до AMP и пирофосфата до неорганического фосфата. В клетке действительное изменение свободной энергии при гидролизе ATP до ADP и Pi составляет примерно –50 кДж/моль.

Образование макроэргических соединений представляет собой механизм использования энергии – аккумулирование и перенос в доступном для клетки виде. Их считают аккумуляторами, донорами и трансформаторами метаболической энергии.

ATP постоянно образуется и потребляется, являясь главным донором свободной энергии в биологических системах, но не формой запасания свободной энергии. В клетке молекула ATP расходуется в течение одной минуты после ее образования и оборот ее очень высок. Так, например, в покое человек за сутки расходует 40 кг ATP, а во время интенсивных упражнений скорость использования ATP может достигать 0,5 кг за минуту.

Свободная энергия гидролиза ATP используется для запуска реакций, требующих притока свободной энергии. Некоторые реакции биосинтеза запускаются аналогами ATP – GTP, UTP, CTP.

**Энергетический заряд клетки.** Живая клетка способна реагировать на изменение концентрации ATP, ADP и AMP, и многие метаболические процессы регулируются энергетическим статусом клетки. Показателем энергетического статуса клетки служит ***энергетический заряд***.

$$\text{Энергетический заряд} = \frac{[ATP] + 1/2\,[ADP]}{[ATP] + [ADP] + [AMP]}$$

где [ATP] и др. – молярная концентрация.

Энергетический заряд клетки выражает относительную молярную концентрацию аденилсодержащих нуклеозидфосфатов (AMP, ADP, ATP).

Репозиторий ВГУ

Максимальная величина энергетического заряда может быть равна 1,0. В этом случае концентрации ADP и AMP равны нулю и в системе присутствует только ATP. Это указывает, что клетка находится в состоянии насыщения энергией.

Минимальное значение энергетического заряда клетки может быть равно нулю. При этом концентрации ATP и ADP равны нулю и в системе присутствует только AMP. В этом состоянии клетка энергетически истощена.

Живая клетка избегает этих экстремальных состояний путем регуляции метаболизма, поддерживая значение энергетического заряда в узком интервале, в пределах 0,8–0,9.

Снижение энергетического заряда (< 0,8) является сигналом для клетки о низком уровне ATP из-за высокой скорости потребления энергии.

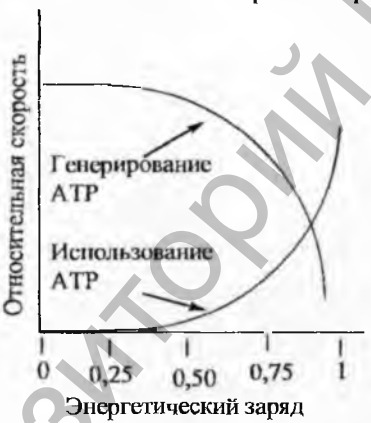



Рис. 7.6. **Энергетический заряд клетки.**

Клетка отвечает на это ускорением ATP-синтезирующих метаболических реакций. В состоянии, когда энергетический заряд превышает 0,9, сообщая о повышении внутриклеточного уровня ATP вследствие уменьшения скорости использования энергии, клетка реагирует снижением скорости ATP-синтезирующих реакций.

Высокий энергетический заряд ингибирует метаболические пути синтеза ATP и стимулирует метаболические пути использования ATP.

**Теплопродукция и способы превращения метаболической энергии в тепло.** Все метаболизирующие системы порождают тепло. Около половины получаемой энергии при окислении питательных веществ выделяется в виде тепла. Мускулатура, железы и особенно печень у позвоночных являются основными органами метаболизма и теплопро-

Репозиторий ВГУ

дукции. Теплообмен с окружающей средой у большинства животных происходит очень быстро.

Скорость ферментативных реакций и интенсивность метаболических процессов связаны с температурным коэффициентом $Q_{10}$. Значение $Q_{10}$, равное $(K_1/K_2)$ x 10/ $(T_2 - T_1)$, показывает, во сколько раз увеличивается скорость реакции при повышении температуры на 10 $^0$C ($K_1$ и $K_2$ – константы скорости при температурах $T_1$ и $T_2$).

У пойкилотермных животных (с переменной температурой) температура тела меняется в зависимости от активности организма и наружной температуры и быстро достигается нижний предел температуры среды, за которым они впадают в холодовое оцепенение (анабиоз), сопровождающееся сильным замедлением обмена веществ. На этом разработаны современные методы криоконсервации, используемые в практических целях.

У некоторых перезимовывающих насекомых точка замерзания жидкостей тела очень низка, что связано с высокой концентрацией в гемолимфе глицерола (до 2,7 моль/л). У некоторых арктических и антарктических рыб, обитающих в покрытой льдом морской воде, температура, при которой в клетках начинается образование льда, понижается до –2 $^0$C за счет более высокой концетрации белков в цитоплазме и такие рыбы способны выжить в переохлажденной воде.

У животных, дышащих кислородом, растворенном в воде, потери тепла в $10^5$ раз большие, чем у наземных животных, дышащих кислородом воздуха. Однако у некоторых быстроплавающих видов рыб (например, тунцов) тело может быть на 10 $^0$C выше окружающей среды.

В процессе развития ***гомойотермии*** температура тела и интенсивность метаболизма у млекопитающих и птиц приобрели значительную независимость от внешних температурных условий. Температура тела колеблется у них в очень узких интервалах, причем разница между ней и температурой окружающей среды может составлять 70–80 $^0$C. Достижение таких температур требует по сравнению с пойкилотермными животными более интенсивного обмена веществ, специальных механизмов превращения метаболической энергии в тепло и терморсгуляции.

В реакциях дыхательной цепи транспорта электронов часть энергии аккумулируется в макроэргических связях АТР, часть рассеивается в виде тепла, которое поддерживает температуру тела у теплокровных животных. В живой клетке теплота может выделяться тремя основными способами:

– при рассеивании $\Delta\mu H$;

– при гидролизе АТР (работающие мышцы, мышечная дрожь);

– при окислении субстратов системами, не образующими ни АТР, ни $\Delta\mu H$ (свободное окисление).

Репозиторий БГУ

Свободное окисление может быть представлено как первоначально не сопряженными, так и разобщенными дыхательными системами. Вещества, функционально разделяющие окисление и окислительное фосфорилирование, называют ***разобщающими агентами***, или ***разобщителями***. Разобщнтели содействуют переносу протонов из мембранного пространства в матрикс митохондрий без участия АТР-синтазы, при этом Р/О снижается, так как часть энергии выделяется в виде тепла.

Разобщение может быть связано с повреждением внутренней мембраны митохондрий и в результате действия так называемых переносчиков ионов гидроксония через мембрану. К разобщителям относятся жирные кислоты, тироксин, 2,4-динитрофенол и некоторые другие кислотные ароматические соединения. Эти соединения переносят протоны через внутреннюю мембрану митохондрий, минуя каналы АТР-синтазы, снижая протонный градиент ($\Delta\mu H$), в результате чего образование АТР не происходит. Потеря дыхательного контроля сопровождается повышением поглощения $O_2$ и окисления NADH, усилением термогенеза и повышением температуры в организме.

Разобщение окислительного фосфорилирования у зимнеспящих животных, у некоторых новорожденных и у млекопитающих, адаптированных к холоду, играет важную биологическую роль как способ генерирования тепла. Этот процесс термогенеза протекает в высокоспециализированной бурой жировой ткани, богатой митохондриями. Природным разобщителем является термогенин, который представляет собой протонный канал в митохондриях жировых клеток.

Митохондрии бурого жира хорошо приспособлены для образования тепла. Концентрация дыхательных ферментов в них значительно превышает содержание $H^+$- АТР-синтазы (комплекса V). На внутренней мембране митохондрий бурого жира содержится примерно 15% термогенина (протонофора), функция которого – разобщение окислительного фосфорилирования.

При охлаждении организма норадреналин активирует гормонзависимую липазу. Интенсивный липолиз приводит к образованию большого количества свободных жирных кислот, которые окисляются в результате функционирования β-окисления, цикла трикарбоновых кислот и дыхательной цепи транспорта электронов.

Микромолярные концентрации жирных кислот открывают протонный канал термогенина, активируют его протонофорную функцию, что приводит к разобщению окислительного фосфорилирования. Окисление жирных кислот, в силу потери дыхательного контроля, не зависит от ADP, протекает с максимальной скоростью и генерирует энергию в форме тепла.

Репозиторий ВГУ

Жирные кислоты с одной стороны являются субстратами окисления (дыхания), а с другой – вторичными внутриклеточными медиаторами гормонального сигнала норадреналина. Таким образом, бурая жировая ткань играет роль биологического «подогревателя». Тепло, образующееся в бурой жировой ткани, эффективно направляется к двум важным органам – сердцу и головному мозгу.

Некоторые насекомые (например, бражники) при внешней температуре 20–30$^0$С перед полетом, за счет ритмичных сокращений мышц (мышечная дрожь) и вибрации крыльев, могут поднять температуру грудной части тела до 40–41$^0$С, в то время как температура брюшка тела остается такой, как у окружающей среды.

У пчел охлаждение вызывает мышечную дрожь и вибрацию крыльев, благодаря чему они поддерживают зимой в улье температуру 20–30$^0$С, и не впадают в холодовое оцепенение.

Оригинальным механизмом образования тепла, наряду с дрожью, является «короткозамкнутый» метаболический путь в летательных мышцах шмеля (рис. 7.7).

Рис. 7.7. **Метаболический цикл освобождения тепла.**

Суммарная реакция этого процесса:

**$ATP + H_2O = ADP + Pi +$ тепло.**

Из вышеприведенного уравнения видно, что тепло выделяется за счет гидролиза АТР, который происходит не прямым путем, а через образование фруктозо-1,6-бисфосфата.

Репозиторий ВГУ

# 8. ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Цикл трикарбоновых кислот, или цикл Кребса (лауреата Нобелевской премии 1953 г.), – это циклический метаболический путь, который является центральным (магистральным) путем почти во всех аэробных организмах. Цикл Кребса представляет строго последовательную совокупность химических реакций, обеспечивающих электронами дыхательную цепь транспорта электронов в виде восстановленных коферментов. В дыхательной цепи происходит восстановление кислорода, и совместно с окислительным фосфорилированием цикл трикарбоновых кислот представляет основной механизм освобождения энергии питательных веществ и источник метаболической энергии в форме АТР (GTP).

***Краткая история открытия.*** Открытие цикла трикарбоновых кислот стоит в ряду классических исследований современной биохимии, и в нем блестяще сочетались теоретические и экспериментальные подходы.

«Меня часто спрашивали, как возникло и развивалось исследование цикла трикарбоновых кислот. Была ли эта концепция результатом внезапного вдохновения и предвидения?» «Ничего подобного – отвечает Г. Кребс, – это был очень медленный эволюционный процесс, развивающийся в течение пяти лет, начиная с 1932 г. (когда я включился в эту работу ...)». Следует отметить, что в это время Г. Кребс имел опыт разработки цикла биосинтеза мочевины.

Тунберг один из первых изучал окисление органических соединений в животных тканях и в период с 1910 по 1920-й год обнаружил около 40 органических соединений, способных окисляться. Было установлено, что быстрее всего окислялись сукцинат, фумарат, малат и цитрат.

В 1935 г. Сент-Дьерди установил, что фумарат, малат и сукцинат стимулируют процессы тканевого дыхания при окислении эндогенных субстратов и что этот процесс носит каталитический характер.

Г. Кребс вначале изучал скорость окисления различных соединений, используя срезы печени и почек. Он использовал соединения, представляющие возможные промежуточные метаболиты при окислении пищевых веществ. Было установлено, что цитрат, сукцинат, фумарат и ацетат очень быстро окислялись в различных тканях.

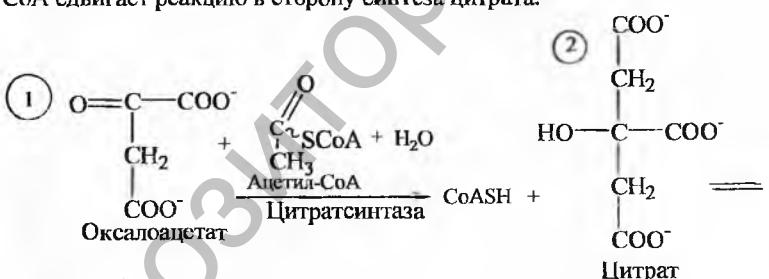
Очередным шагом вперед на данном пути была расшифровка биологического окисления цитрата К. Мартиусом и Ф. Кнопом в 1937 году. Они установили, что цитрат изомеризуется в изоцитрат через цисаконитат. Далее изоцитрат подвергается окислительному декарбоксилированию с образованием 2-оксоглутарата. В то время была известна возможность окисления 2-оксоглутарата в сукцинат. Это открытие позволило установить путь от цитрата до сукцината. На основании этих данных Г. Кребс объяснил каталитическое усиление дыхания измельченной грудной мышцы голубя цитратом.

Репозиторий БГУ

К этому времени было известно конкурентное ингибирование фермента сукцинатдегидрогеназы малонатом и что малонат является дыхательным ядом. При добавлении цитрата к мышце, отравленной малонатом, наблюдалось накопление сукцината. Аналогичная картина наблюдалась и при добавлении фумарата. Это указывало о важности пути от цитрата до сукцината и о существовании пути от фумарата до сукцината. Г. Кребс пришел к выводу, что сукцинатдегидрогеназа может играть ключевую роль в тканевом дыхании.

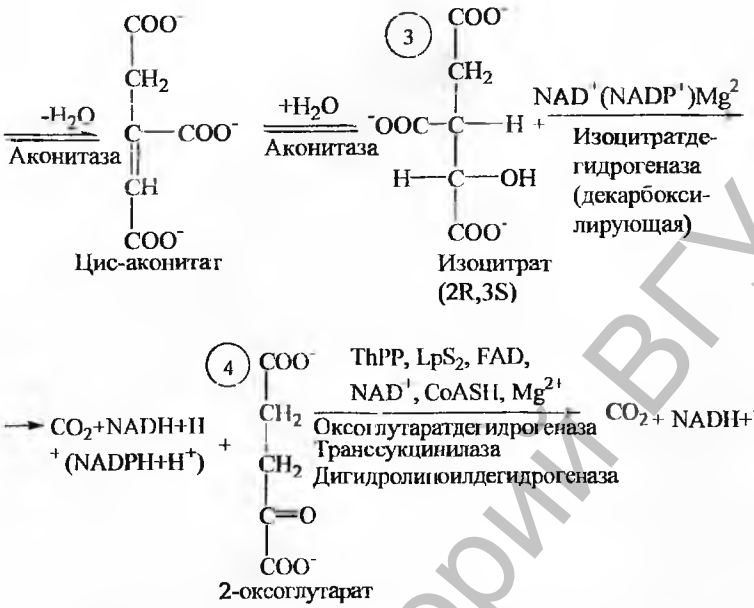
Заключительным этапом исследований Г. Кребса явился факт обнаружения быстрого образования цитрата в мышечной суспензии при добавлении оксалоацетата. Открытие синтеза цитрата из оксалоацетата позволило Г. Кребсу построить полную схему циклического метаболического пути (в чем и заключается гениальность Г. Кребса), и этот цикл носит название цикла Кребса.

**Химизм цикла трикарбоновых кислот.** Цикл трикарбоновых кислот состоит из восьми основных этапов и начинается с альдольной конденсации оксалоацетата и ацетил-СоА с образованием цитрил-СоА с последующим его гидролизом на цитрат и СоА-SH. Гидролиз цитрил-СоА сдвигает реакцию в сторону синтеза цитрата.



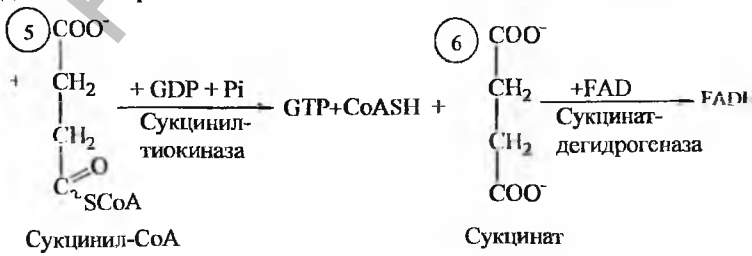

Для дальнейшего превращения цитрата (окислительного декарбоксилирования) происходит его изомеризация путем дегидратации с последующей гидратацией в изоцитрат через промежуточный продукт – цис-аконитат, при участии фермента аконитат-гидратазы (аконитазы). $NAD^+$–зависимая изоцитратдегидрогеназа содержится в митохондриях, а $NADP^+$- зависимая – как митохондриях, так и в цитоплазме. В тех случаях, когда на изоцитрат действует NADP-зависимая изоцитратдегидрогеназа, образуется промежуточный продукт – оксалосукцинат, который при связывании с ферментом быстро декарбоксилируется до 2-оксоглутарата.

Репозиторий БГУ



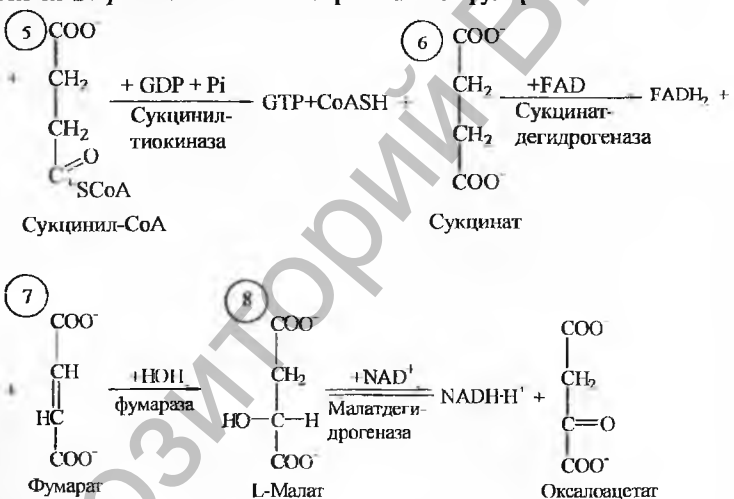

На следующем этапе на 2-оксоглутарат действует оксоглутаратдегидрогеназный комплекс, который состоит из трех ферментов и пяти коферментов и включает в качестве кофактора $Mg^{2+}$. Каждый фермент данного мультиферментного комплекса принимает участие в определенном этапе суммарной реакции. Энергия окисления аккумулируется в макроэргической связи и сопровождается образованием сукцинил-CoA (предшественника GTP).

Расщепление макроэргической тиоэфирной связи сукцинил-CoA сопряжено с фосфорилированием GDP и образованием GTP (субстратное фосфорилирование). В организме животных данный фермент специфичен к GDP и GTP, в то время как фермент растений специфичен к ADP и ATP. Это единственный этап в цикле, в ходе которого прямо выделяется энергия.




Репозиторий ВГУ

Окисление (дегидрирование) сукцината катализирует фермент сукцинатдегидрогеназа. Коферментом (акцептором водорода) служит FAD, т.к. изменение свободной энергии в данной реакции недостаточно для восстановления $NAD^+$. Молекула фермента, кроме FAD, содержит атомы железа, связанные с неорганическими сульфидами (Fe-S-белки – $Fe_2S_2$, $Fe_4S_4$). Сукциинатдегидрогеназа является интегральным белком внутренней мембраны митохондрий и непосредственно связана с цепью переноса электронов (сукцинатдегидрогеназный комплекс). Восстановленный кофермент ($FADH_2$) не отделяется от фермента, а два электрона переносятся на атомы $Fe^{3+}$. Сукцинатдегидрогеназная реакция характеризуется абсолютной стереоспецифичностью и отщепляет атомы водорода только в *транс*-положении с образованием фумарата.




Гидратацию фумарата до малата катализирует фермент фумаратгидратаза (фумараза), которая обладает стереоспецифичностью действия. Продуктом реакции является L-малат.

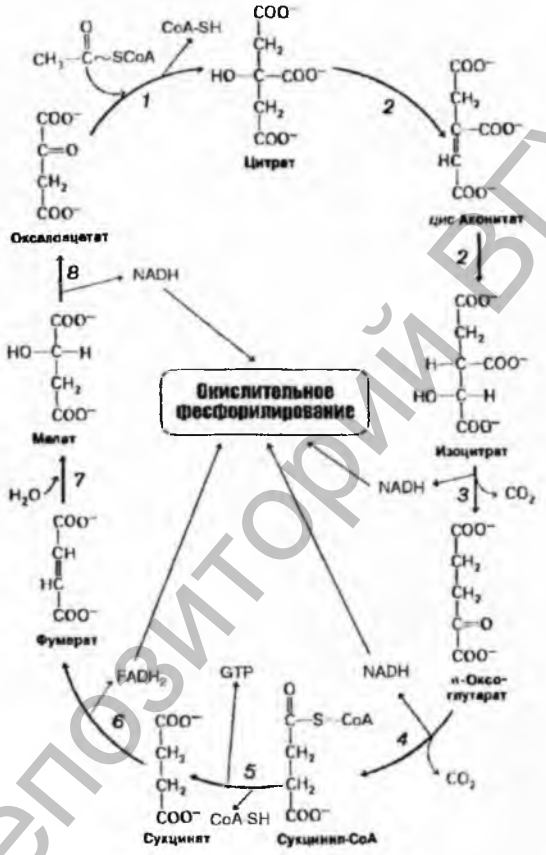
Малатдегидрогеназа катализирует конечную реакцию, окисление L-малата – с образованием оксалоацетата. Оксалоацетат, вступив на первом этапе в реакцию альдольной конденсации с ацетил-CoA, регенерируется на последнем. Далее оксалоацетат снова вступает в реакцию с ацетил-CoA и метаболический путь носит циклический характер.

В ходе одного оборота цикла происходит:

1) включение двух атомов углерода в виде ацетил-CoA и выделение двух атомов углерода в виде двух молекул $CO_2$ в результате окислительного декарбоксилирования изоцитрата и 2-оксоглутарата;

Репозиторий БГУ

2) восстановление трех молекул $NAD^+$ и одной молекулы FAD с образованием 3 NADH и 1 $FADH_2$;




Цикл трикарбоновых кислот

3) образование одной молекулы GTP (ATP) из высокоэнергетической связи сукцинил-CoA (субстратное фосфорилирование);
4) потребление двух молекул воды: одной при гидролизе цитрил-CoA и образовании цитрата, второй – при гидратации фумарата с образованием L-малата.

Репозиторий БГУ

Для течения цикла трикарбоновых кислот, кроме регенерации оксалоацетата, необходимы процессы регенерации $NAD^+$, FAD, GDP и CoASH.

Восстановленные коферменты NADH и $FADH_2$ поступают в дыхательную цепь транспорта электронов, где происходит регенерация окисленных форм $NAD^+$ и FAD. Терминальным акцептором электронов служит кислород. Хотя молекулярный кислород непосредственного участия в цикле Кребса не принимает, однако он функционирует в аэробных условиях, т.к. $NAD^+$ и FAD в митохондриях могут быть регенерированы при переносе электронов на молекулярный кислород.

Регенерация GDP может происходить тремя путями:

1) в нуклеозиддифосфаткиназной реакции: GTP+ADP= GDP+ATP;
2) в реакции, катализируемой фосфоенолпируваткарбоксикиназной: оксалоацетат+GTP = GDP + фосфоенолпируват+ $CO_2$;
3) в реакциях биосинтеза белка.

Регенерация CoASH протекает в сукцинилтиокиназной реакции (5 этап): сукцинил-CoA + GDP + $H_3PO_4$ = CoASH + GTP + сукцинат (субстратное фосфорилирование).

Интенсивное использование оксалоацетата в биосинтетических процессах может привести к его недостаточности и ограничению функционирования цикла трикарбоновых кислот. В этих случаях имеется анаплеротическая (восполняющая) реакция, ведущая к образованию оксалоацетата из пирувата под воздействием пируваткарбоксилазы (см. глюконеогенез).

**Биологическая роль и регуляция цикла трикарбоновых кислот.** Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) в организме животных выполняет амфиболическую роль.

***Катаболическая*** роль заключается в том, что ЦТК на 75% обеспечивает дыхательную цепь восстановленными коферментами (NADH и $FADH_2$) и наряду с окислительным фосфорилированием является основным внутриклеточным механизмом освобождения энергии природных субстратов. Энергетика окисления ацетил-CoA в цикле Кребса и дыхательной цепи составляет 12 ATP. В дыхательной цепи транспорта электронов на уровне окислительного фосфорилирования образуется 11 молекул ATP и 1 молекула GTP(ATP) непосредственно в цикле в результате субстратного фосфорилирования.

3 NADH – 9 ATP (3 x 3)

1 $FADH_2$ – 2 ATP (1 x 2)

***Анаболическая*** роль состоит в том, что метаболиты цикла трикарбоновых кислот включаются во многие процессы биосинтеза. Так, оксалоацетат и малат принимают участие в глюконеогенезе, сукцинил-

Репозиторий БГУ

CoA – в синтезе порфиринов, 2-оксалоацетат и оксалоацетат – в биосинтезе аминокислот, GTP – в биосинтезе белка. Цитрат может выполнять роль переносчика ацетильных групп для биосинтеза жирных кислот.

***Регуляция*** цикла трикарбоновых кислот осуществляется на уровне цитратсинтазной, изоцитратдегидрогеназной и оксоглутаратдегидрогеназной реакций. Скорость функционирования его точно соответствует потребностям клетки в энергии (ATP).

1) Важная регуляторная реакция цикла – синтез цитрата. ATP является аллостерическим ингибитором цитратсинтазы, повышает Km для ацетил-CoA и тем самым снижает сродство цитратсинтазы к ацетил-CoA. С увеличением содержания ATP снижается насыщение фермента ацетил-CoA и в результате уменьшается синтез цитрата.

2) ADP аллостерически стимулирует изоцитратдегидрогеназу, повышая сродство к субстрату, коферменту и кофактору. Существует взаимная кооперативность между связыванием изоцитрата, $NAD^+$ ($NADP^+$), $Mg^{2+}$ и ADP. NADH ингибирует фермент путем прямого вытеснения $NAD^+$.

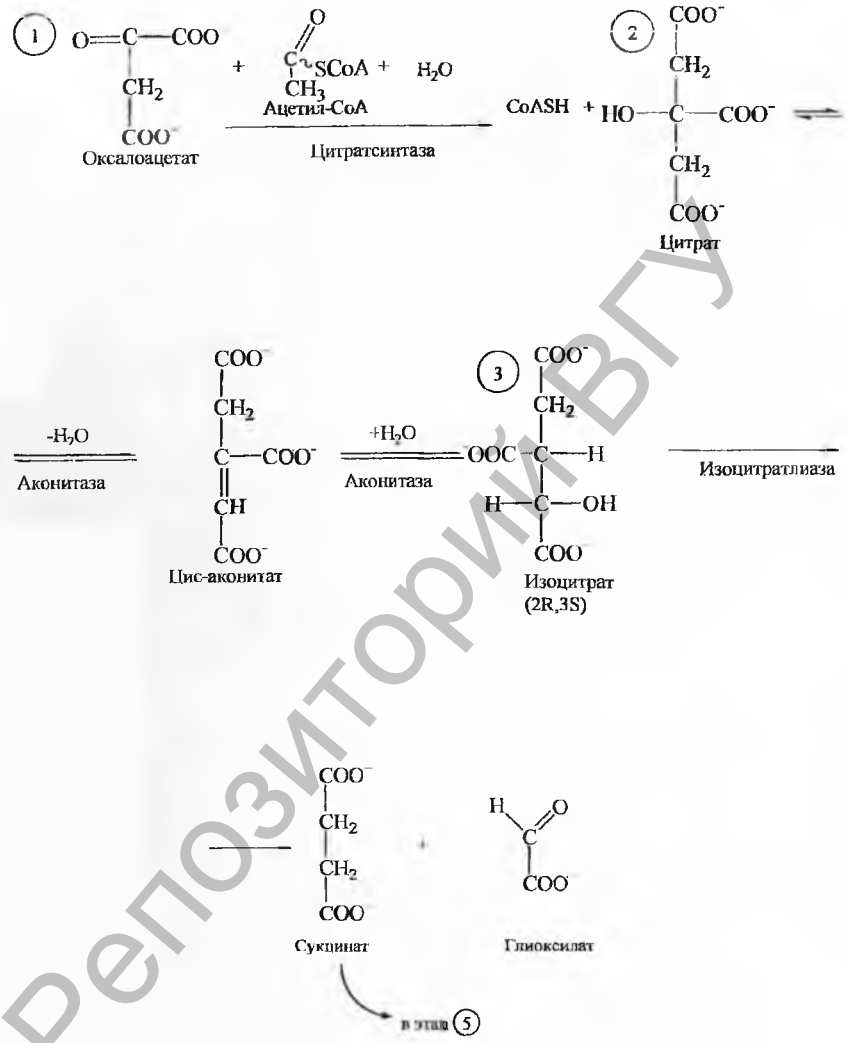
3) Оксоглутаратдегидрогеназа ингибируется продуктами реакции – сукцинил-CoA и NADH.

Высокий энергетический заряд клетки понижает активность цитратсинтазы, изоцитратдегидрогеназы и оксоглутаратдегидрогеназы.

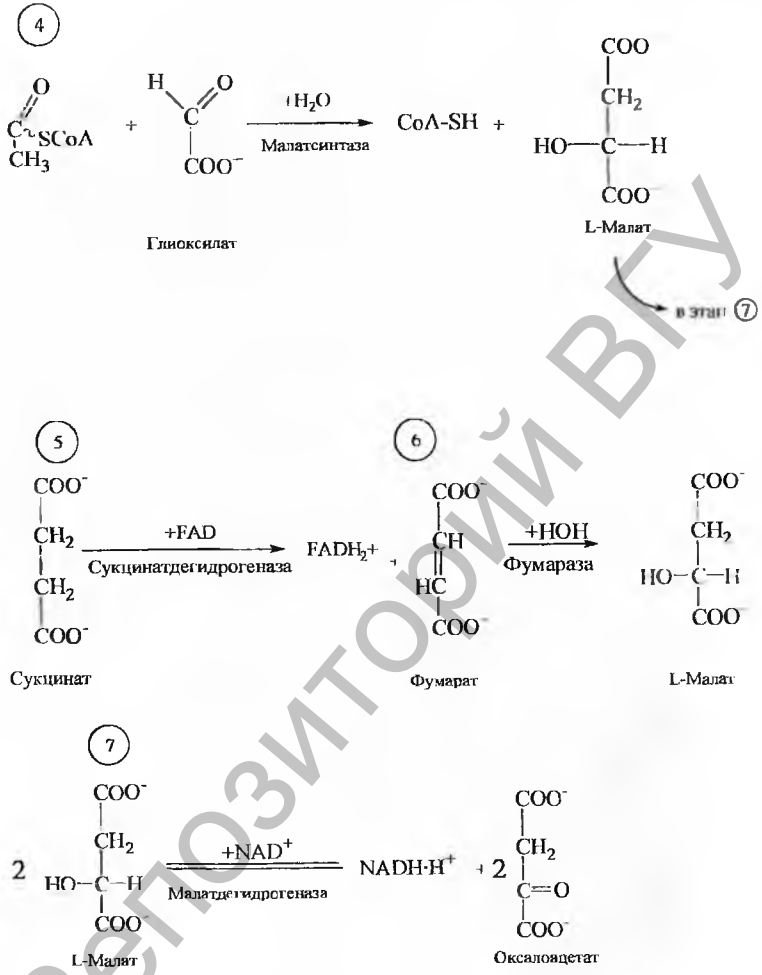
**Глиоксилатный цикл.** Глиоксилатный цикл впервые был предложен в 1957 г. Корнбергом и Кребсом для объяснения роста некоторых микроорганизмов (дрожжей, плесеней, E. coli Pseudomonas) на среде, содержащей единственный источник углерода – уксусную кислоту. В некоторых бактериях и растениях, способных синтезировать два дополнительных фермента – изоцитрат-лиазу и малатсинтазу, они, совместно с некоторыми ферментами цикла трикарбоновых кислот, участвуют в глиоксилатном цикле. Оба цикла могут функционировать одновременно и дополнять друг друга. В семенах масличных растений глиоксилатный цикл осуществляется в отдельных органеллах, названных глиоксосомами, где отсутствует большая часть ферментов цикла трикарбоновых кислот и цитохромная система. В организме животных глиоксилатный цикл не обнаружен.

Первые этапы глиоксилатного цикла до образования изоцитрата протекают одинаково как и в цикле трикарбоновых кислот:

РЕПОЗИТОРИЙ ВГУ




Репозиторий ВГУ




Глиоксилатный цикл является видоизмененным циклом трикарбоновых кислот, в котором изоцитратлиаза заменяет изоцитратдегидрогеназу и оксоглутаратдегидрогеназный комплекс. За один оборот в глиоксилатном цикле используется две молекулы ацетил-СоА: одна при конденсации с оксалоацетатом, а вторая при конденсации с глиоксилатом.

Интегральная роль глиоксилатного цикла заключается в превращении ацетил-СоА в двууглеродный акцептор. В ходе первых трех реакций ацетил-СоА превращается в глиоксилат (двууглеродный акцептор). Малатсинтаза катализирует реакцию альдольной конденсации

Репозиторий ВГУ

глиоксилата с очередной молекулой ацетил-СоА с образованием малата. Таким образом, при наличии ферментов изоцитратлиазы и малатсинтазы две молекулы ацетил-СоА превращаются в малат.

Сукцинат, образовавшийся в изоцитратлиазной реакции, превращается по аналогичным этапам, что и в цикле трикабоновых кислот с образованием малата. Две молекулы малата, образовавшиеся различными механизмами, подвергаются действию малатдегидрогеназы с образованием 2NADH и двух молекул оксалоацетата, одна в результате регенерации, а вторая – в биосинтезе из двух молекул ацетил-СоА. Оксалоацетат может превращаться в аминокислоты и углеводы.

Глиоксилатный цикл не только поставляет интермедиаты для анаболических процессов, но и имеет собственную анаплеротическую реакцию на случай снижения уровня одного из метаболитов – предшественников оксалоацетата.

Важную роль играет глиоксилатный цикл в метаболизме в прорастающих семенах масличных растений. Прорастающее семя потребляет ацетил-СоА, образовавшийся в результате окисления жирных кислот, для биосинтеза органических компонентов клетки. Особое место занимает биосинтез углеводов из жиров. Использование жира проходит параллельно биосинтезу углеводов и к концу прорастания израсходуется почти весь жир, который первоначально составлял основную массу сухих семян.

Восстановленные коферменты (NADH, $FADH_2$) в дыхательной цепи обеспечивают синтез АТР, поддерживая энергетические потребности клетки.

## 9. МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОВ

Углеводы и их производные выполняют исключительно важную роль в процессах жизнедеятельности. Они являются первичными продуктами фотосинтеза и первыми органическими соединениями в кругообороте углерода в природе, служат связующим звеном между минеральными веществами и миром органических соединений. Углеводы являются легко метаболизуемым энергетическим материалом и выполняют самые разнообразные пластические функции.

В комплексе с белками, нуклеиновыми кислотами, липидами углеводы образуют высокомолекулярные соединения, которые составляют основу субклеточных структур и представляют основу живой материи. Углеводный компонент гликопротеинов определяет видовую, тканевую специфичность и групповую специфичность крови.

Полисахариды по функциональным свойствам подразделяются на три вида. Структурные полисахариды придают клеткам, органам и ор-

Репозиторий ВГУ

ганизмам в целом механическую прочность. Высоко гидратированные полисахариды предохраняют клетки и ткани от потери воды. Резервные полисахариды служат энергетическим ресурсом.

Рибоза входит в состав РНК, нуклеозидмонофосфатов, нуклеозиддифосфатов, нуклеозидтрифосфатов, коферментов нуклеотидной природы, дезоксирибоза – составная часть ДНК. В растениях содержится около 80% углеводов, а в организме животных – 1–2%.

В организм животных и человека углеводы поступают в виде полисахаридов (крахмал, гликоген), дисахаридов (сахароза, лактоза, мальтоза) и частично в виде моносахаридов. Для жвачных важную роль в питании играет клетчатка (целлюлоза). В желудочно-кишечном тракте крахмал и гликоген под воздействием ***гликозидаз*** тонкого отдела кишечника и поджелудочной железы (α-амилазы, амило-1,6-гликозидазы и олиго-1,6-гликозидазы) подвергаются гидролизу до мальтозы. Гидролиз мальтозы до двух молекул глюкозы катализирует фермент ***мальтаза.*** Аналогичную функцию выполняют ферменты ***сахараза*** (инвертаза) и ***лактаза,*** катализируя гидролиз сахарозы до глюкозы и фруктозы и лактозы до глюкозы и галактозы.

Новорожденные млекопитающих и дети хорошо переваривают лактозу. У взрослых людей в некоторых популяционных группах имеет место дефицит лактозы, который наследуется как аутосомный рецессивный признак и проявляется в определенном возрасте, чем и обусловлена интолерантность (непереносимость) к молоку.

Свыше 90% всосавшихся моносахаридов попадают в кровеносную систему и стоком крови через воротную вену, прежде всего в печень. Остальное количество моносахаридов поступает по лимфатическим путям в венозную систему. Печень выполняет очень важную функцию в поддержании постоянной концентрации глюкозы в крови. В крови моногастричных животных она колеблется в пределах 3,5–5,5 ммоль/л. У жвачных животных в силу особенностей пищеварения концентрация глюкозы в крови примерно в два раза ниже, а у птицы, наоборот, выше.

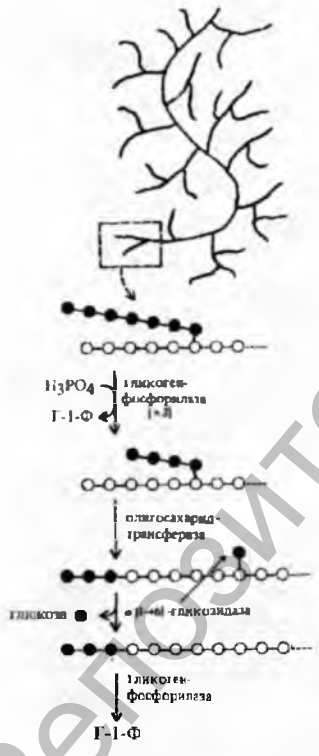
Примерно 60–70% поступивших в организм углеводов, окисляется и на 50–70% обеспечивает суточное потребление энергии; 30–35% – превращается в липиды и 3–5% – используется для биосинтеза гликогена. Гликоген откладывается в основном в печени и мышцах в качестве резервного полисахарида, который по мере метаболической потребности превращается в глюкозо-1-фосфат и глюкозу.

Основным путем метаболизма глюкозы, фруктозы и галактозы является гликолиз. Гликолитический путь обнаружен в цитозоле всех клеток, и он уникален в том смысле, что может функционировать как при полном отсутствии кислорода, так и в аэробных условиях. Он представляет собой универсальный механизм использования углеводов как ана-

Репозиторий ВГУ

эробными, так и аэробными организмами. По фамилиям основных авторов, внесших значительный вклад в разработку этого пути, он получил название – путь Эмдена–Мейергофа–Парнаса. Гликолиз обеспечивает превращение углеводов в пируват. Дальнейшее превращение пирувата зависит от вида организмов и обеспеченности тканей кислородом.

Энергетический обмен живой клетки относится к гетеротрофному типу, который представлен как анаэробным (гликолитическим), так и аэробным вариантами. Если превращение начинается с гликогена, то этот процесс называют ***гликогенолизом***, а если с глюкозы – ***гликолизом***. Реакции этого пути протекают в цитозоле клетки.



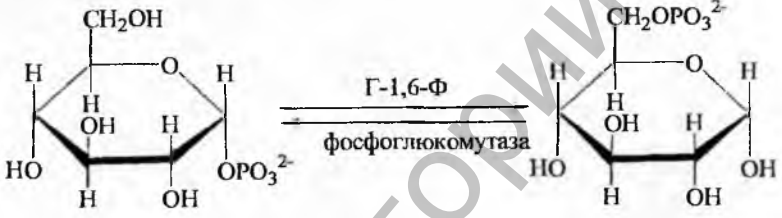

**Гликогенолиз. Гликолиз.** Мобилизация гликогена в тканях осуществляется путем фосфоролиза с участием трех ферментов. Первой реакцией в катаболизме гликогена является реакция, катализируемая ***гликоген-фосфорилазой***. Гликоген-фосфорилаза катализирует последовательный перенос гликозильных остатков с невосстанавливающего конца на ортофосфат. Ортофосфат специфически расщепляет гликозидную связь между С-1 концевого и С-4 соседнего остатка молекулы гликогена с сохранением α-конфигурации и образованием глюкозо-1-фосфата (Г-1-Ф). Эта реакция повторяется до тех пор, пока до точки ветвления не останется четыре остатка глюкозы. На этом участке действие гликоген-фосфорилазы на α-1,4-гликозидные связи приостанавливается. В этот момент другой фермент ***олигосахарид-трансфераза*** переносит триглюкозный фрагмент на соседнее ответвление, разрывая старые и образуя новые α-1,4-гликозидные связи. Остаток глюкозы в точке ветвления отщепляется в результате гидролиза α-1,6-гликозидной связи под действием третьего фермента – ***α-1,4-гликозидазы*** в виде глюкозы. Олигосахарид-трансфераза и α-1,4-гликозидаза представляют одну полипептидную цепь (160 кДа), содержащую два активных центра (трансферазный и α-1,4-гликозидазный). Эти ферменты превращают разветвленную структуру в линейную. Затем свое действие возобновляет гликоген-

Репозиторий ВГУ

фосфорилаза, пока снова не приблизится к новой точке ветвления, после чего снова действуют олигосахарид-трансфераза и α-1,4-гликозидаза. В результате этих реакций гликоген в основном расщепляется на глюкозо-1-фосфат (90%) и в меньшей мере на глюкозу (10%). Количество молекул глюкозы соответствует количеству точек ветвления в молекуле гликогена.

Гликолиз (гликогенолиз) разделяют на две стадии. На подготовительной стадии гексозы фосфорилируются за счет АТР с дальнейшим образованием триозофосфатов. Вторая стадия включает окислительно-восстановительные реакции и механизмы высвобождения и аккумулирования энергии.

Продукт фосфорилазной реакции глюкозо-1-фосфат включается в гликолитический путь после превращения в глюкозо-6-фосфат. Реакцию катализирует фермент ***фосфоглюкомутаза***, которая протекает по следующему уравнению:



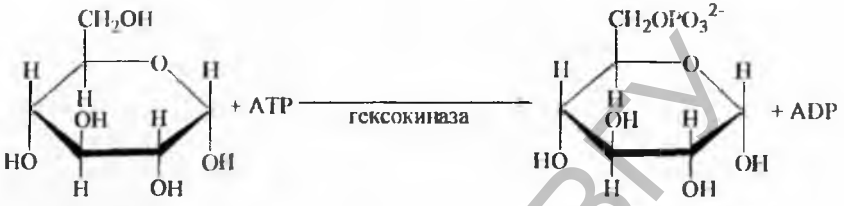

**Глюкозо-1-фосфат** **Глюкозо-6-фосфат**

Фосфоглюкомутаза впервые обнаружена в экстрактах тканей животных и дрожжей, относится к фосфотрансферазам, катализирует реакцию кажущегося внутримолекулярного переноса. Коферментом является глюкозо-1,6-бисфосфат, который образуется из глюкозо-1-фосфата и АТР в реакции, катализируемой фосфоглюкокиназой. Равновесие фосфоглюкомутазной реакции наступает при содержании 5% Г-1-Ф и 95% Г-6-Ф. Для фосфоглюкомутазы характерно субстратное торможение.

Глюкоза поступает в большинство клеток в результате активного транспорта (симпорта). В клетке нейтральная молекула глюкозы активируется путем фосфорилирования за счет АТР, в результате чего превращается в отрицательно заряженную частицу – глюкозо-6-фосфат. Эта реакция катализируется ***гексокиназой***, которая используется в большинстве клеток и способна катализировать фосфорилирование других гексоз, и ***глюкокиназой***, которая фосфорилирует только глюкозу. Глюкокиназа обладает низким сродством к глюкозе ($Km = 2 \cdot 10^{-2}$ моль/л) по сравнению с гексокиназой ($Km = 1 \cdot 10^{5}$ моль/л), содержится только в печени и включается в действие при очень высоких концентрациях глюкозы в крови. Принимая участие в снижении чрезмерно высокого уровня глю-

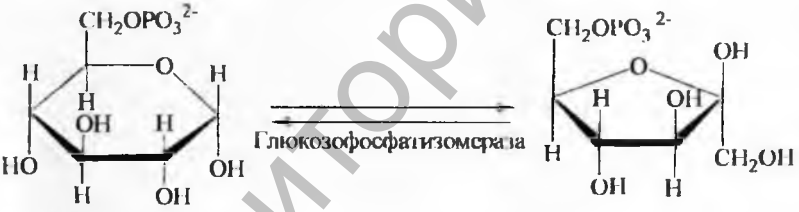
Репозиторий ВГУ

козы в крови, глюкокиназа предотвращает нарушения многих физиологических процессов в организме. У жвачных животных этот фермент отсутствует.




**Глюкоза** **Глюкозо-6-фосфат**

С момента образования глюкозо-6-фосфата гликогенолиз и гликолиз протекают по одним и тем же этапам. Глюкозо-6-фосфат под действием ***глюкозофосфатизомеразы*** превращается во фруктозо-6-фосфат.




**Глюкозо-6-фосфат** **Фруктозо-6-фосфат**

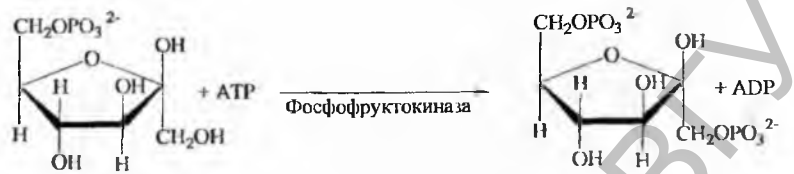
Реакция изомеризации шестичленного пиранозного цикла глюкозо-6-фосфата в пятичленный фуранозный цикл фруктозо-6-фосфата протекает в две ступени с разрывом полуацетальной структуры и образованием ендиола. Глюкозофосфатизомераза представляет собой один из наиболее активных и широко распространенных ферментов в различных органах и тканях. Динамическое равновесие реакции устанавливается очень быстро при содержании в реакционной среде примерно 70% Г-6-Ф и 30% Ф-6-Ф.

У людей недостаточность глюкозофосфатизомеразы вызывает хроническую гемолитическую анемию с повторяющимися гемолитическими кризами. Дефектный фермент имеет повышенное сродство к глюкозо-6-фосфату.

В общем мутазно-изомеразном превращении глюкозо-1-фосфата практически во всех тканях лимитирующим этапом является фосфоглюкомутазная реакция.

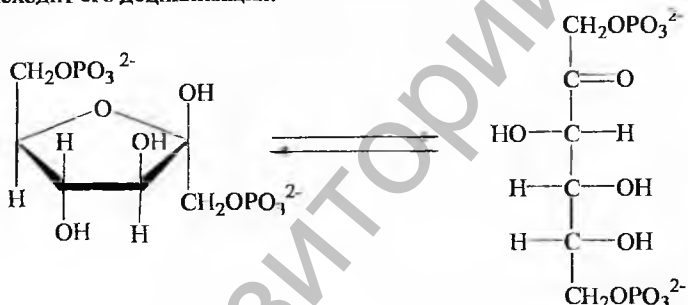
Репозиторий ВГУ

Следующий этап гликолиза – реакция фосфорилирования фруктозо-6-фосфата за счет АТР с образованием фруктозо-1,6-бисфосфата. Образование фруктозо-1,6-бисфосфата является пусковым этапом гликолиза. Реакцию катализирует ***фосфофруктокиназа,*** лимитирующая общую скорость гликолиза, активность которой регулируется многими способами.

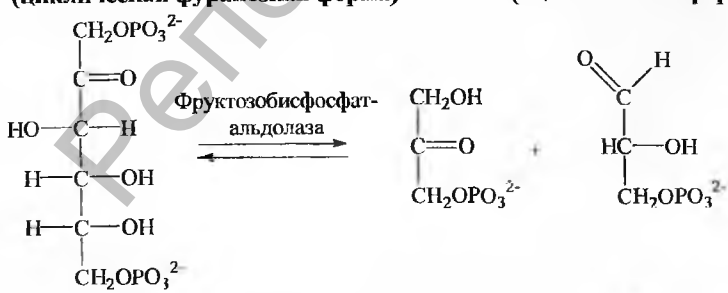



**Фруктозо-6-фосфат** **Фруктозо-1,6-бисфосфат**

Считают, что во время образования фруктозо-1,6-бисфосфата происходит его дециклизация.



**Фруктозо-1,6-бисфосфат (циклическая фуранозная форма)** **Фруктозо-1,6-бисфосфат (ациклическая форма)**




**Фруктозо-1,6-бисфосфат** **Дигидроксиацетонфосфат** **Глицеральдегид-3-фосфат**

Репозиторий ВГУ

Ретроальдольное расщепление фруктозо-1,6-бисфосфата с образованием дигидроксиацетонфосфата и глицеральдегид-3-фосфата катализирует ***фруктозобисфосфат-альдолаза***.

Реакция протекает с разрывом $C_3$–$C_4$ связи и определяет дальнейшее течение гликолиза. Равновесие реакции сильно сдвинуто в сторону образования фруктозо-1,6-бисфосфата.

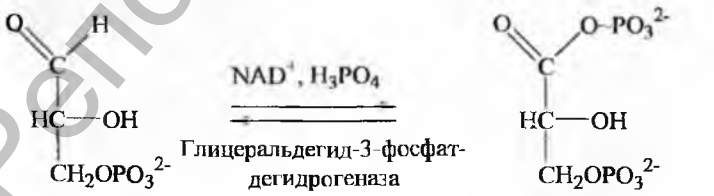
Образовавшиеся триозофосфаты легко изомеризуются под действием ***триозофосфатизомеразы***, самого активного фермента гликолиза.

**Дигидроксиацетонфосфат** **Глицеральдегид-3-фосфат**

Триозофосфатизомераза состоит из двух субъединиц, каждая из которых содержит активный центр. Реакция сильно смещена в сторону образования дигидроксиацетонфосфата и достигает равновесия при содержании 95% дигидроксиацетонфосфата и 5% глицеральдегид-3-фосфата.

Триозофосфатизомеразная реакция завершает подготовительную стадию гликолиза и обеспечивает глицеральдегид-3-фосфатом окислительно-восстановительные реакции второй стадии, где происходит высвобождение энергии и образование макроэргических соединений на уровне субстратного фосфорилирования.

Реакцию окисления глицеральдегид-3-фосфата катализирует *глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа*. Это первая окислительно-восстановительная реакция гликолиза.




**Глицеральдегид-3-фосфат** **1,3-бисфосфоглицерат**

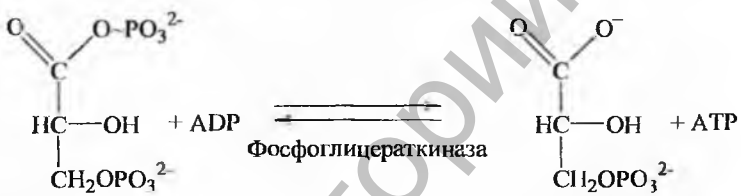
По мере окисления глицеральдегид-3-фосфата триозофосфатизомеразная реакция сдвигается в сторону его образования из дигидроксиацетонфосфата.

Репозиторий ВГУ

Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа представляет собой тетрамер, состоящий из идентичных субъединиц, содержащих в активном центре –SH группу и присоединенную молекулу $NAD^+$ на каждую субъединицу. В механизме реакции важным этапом является образование высокоэнергетической тиоэфирной связи между энзимом и альдегидной группой субстрата. Это, в свою очередь, активирует ацильную группу, расположенную на поверхности фермента. Обладая высокой реакционной способностью, ацил реагирует с неорганическим фосфатом и образует высокоэнергетический ацилфосфат – 1,3-бисфосфоглицерат.

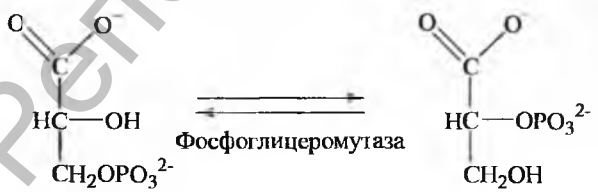
Значение этой реакции состоит в том, что в ходе реакции энергия не рассеивается, а аккумулируется с образованием высокоэнергетического ацилфосфата.

1,3-Бисфосфоглицерат является предшественником АТР. Реакцию переноса фосфорильного остатка с 1,3-бисфосфоглицерата на ADP с образованием АТР и 3-фосфоглицерата катализирует ***фосфоглицераткиназа.***




**1,3-бисфосфоглицерат** **3-фосфоглицерат**

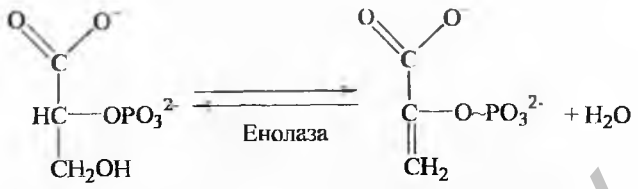
Далее происходит внутримолекулярная перестройка 3-фосфоглицерата в 2-фосфоглицерат. Перенос фосфорильной группы с 3-го атома углерода на второй катализирует ***фосфоглицеромутаза,*** кофермент которой является 2,3-бисфосфоглицерат.




**3-фосфоглицерат** **2-фосфоглицерат**

Образовавшийся 2-фосфоглицерат под действием фермента ***енолазы (фосфопируватгидратазы)*** подвергается реакции дегидратации, в результате которой образуется фосфоенолпируват.

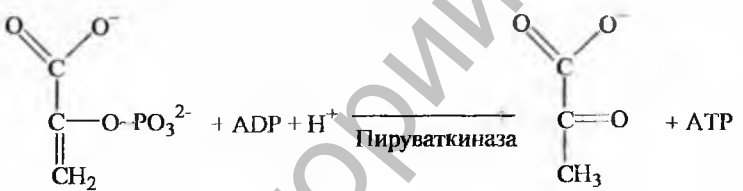
Репозиторий ВГУ




**2-фосфоглицерат** **Фосфоенолпируват**

Реакция дегидратации 2-фосфоглицерата представляет собой внутримолекулярную окислительно-восстановительную реакцию, освободившаяся энергия которой аккумулируется сообразованием макроэргического соединения с высокой энергией переноса фосфорильной группы.

Перенос фосфорильной группы от фосфоенолпирувата на АДР с образованием АТР и пирувата катализирует фермент ***пируваткиназа***.




**Фосфоенолпируват** **Пируват**

Превращение глюкозы до двух молекул пирувата ведет к образованию 4 молекул АТР в результате субстратного фосфорилирования (2 молекулы АТР в фосфоглицераткиназной и 2 молекулы АТР в пируваткиназной реакциях). Две молекулы АТР затрачиваются на фосфорилирование глюкозы и фруктозо-6-фосфата. Энергетический баланс равен 2 молекулам АТР.

Суммарная реакция гликолиза может быть записана следующим образом:

$$\text{Глюкоза} + 2\ \text{ATP} + 4\ \text{ADP} + 3\ \text{Pi} + 2\ \text{NAD}^{+} = 2\ \text{пируват} + 2\ \text{ADP} + 4\ \text{ATP} + 2\ \text{NADH} + \text{H}^{+} + 2\ \text{H}_2\text{O},$$

или в сокращенном виде:

$$\text{Глюкоза} + 2\ \text{Pi} + 2\ \text{ADP} + 2\ \text{NAD}^{+} = 2\ \text{пируват} + 2\ \text{ATP} + 2\ \text{NADH+H} + 2\ \text{H}_2\text{O}.$$

Репозиторий БГУ

В случае использования гликогена АТР используется только для фосфорилирования фруктозо-6-фосфата и суммарный выход АТР составляет 3 молекулы АТР.

***Значение гликолиза*** (гликогенолиза) заключается в том, что он генерирует АТР в результате субстратного фосфорилирования, т.е. выполняет энергетическую роль. С другой стороны, метаболиты гликолиза и гликогенолиза используются в биосинтетических процессах.

Большинство тканей животных зависимо от потребления глюкозы. Особенно высока зависимость мозга и эритроцитов. Основным путем метаболизма глюкозы, фруктозы и галактозы является гликолиз. Гликолитический путь обнаружен в цитозоле всех клеток, и он уникален в том смысле, что может функционировать как при полном отсутствии кислорода, так и в аэробных условиях.

Решающее значение гликолиза в метаболизме заключается в его способности поставлять АТР в отсутствие кислорода путем субстратного фосфорилирования. Благодаря этому скелетные мышцы могут функционировать на достаточно высоком уровне, когда аэробное окисление заторможено, что дает возможность тканям с высокой гликолитической активностью выживать в условиях кислородной недостаточности.

***Регуляция гликолиза*** осуществляется таким образом, чтобы обеспечить эти потребности клетки. Гексокиназная, фосфофруктокиназная и пируваткиназная реакции являются необратимыми. Ферменты, катализирующие эти реакции, выполняют и регуляторную роль.

Фосфофруктокиназа представляет собой наиболее важный регуляторный фермент гликолиза, который ингибируется высоким энергетическим зарядом клетки и стимулируется низким энергетическим зарядом клетки. АТР является аллостерическим эффектором. Высокие концентрации АТР снижают сродство фосфофруктокиназы к фруктозо-6-фосфату. Эффект ингибирования снимается АМР. Активатором фосфофруктокиназы является фруктозо-2,6-бисфосфат.

Цитрат угнетает активность фосфофруктокиназы и усиливает ингибиторное действие АТР.

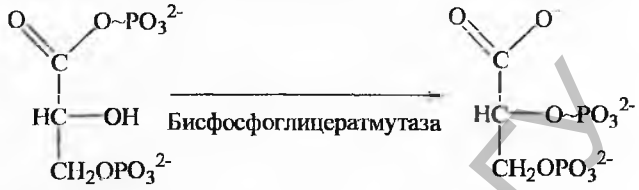
Гексокиназа аллостерически ингибируется глюкозо-6-фосфатом. Ингибирование фосфофруктокиназы высоким энергетическим зарядом клетки и цитратом приводит к повышению фруктозо-6-фосфата, что сопряжено с повышением концентрации глюкозо-6-фосфата и ингибированием гексокиназы.

Пируваткиназная реакция блокируется высоким энергетическим зарядом клетки, т.к. АТР является аллостерическим ингибитором пируваткиназы.

2,3-Бисфосфоглицерат образуется из 1,3-бисфосфоглицерата и является регулятором транспорта кислорода эритроцитами. Если клетки различных тканей содержат следовые количества, то в эритроцитах концентрация 2,3-бисфосфоглицерата равна 4 мМ. Он снижает сродство гемоглобина к кислороду.

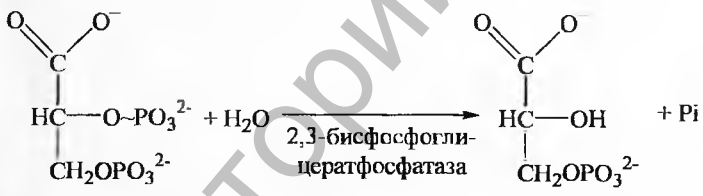
Репозиторий ВГУ

Синтез 2,3-бисфосфоглицерата происходит из 1,3-бисфосфоглицерата и 3-фосфоглицерата при участии бисфосфоглицеромутазы. Фермент одновременно связывает 1,3-бисфосфоглицерат и 3-фосфоглицерат.




**1,3-бисфосфоглицерат** **2,3-бисфосфоглицерат**

В тройном фермент-субстратном комплексе происходит перенос фосфорильной группы от С-1 1,3-бисфосфоглицерата на С-2 3-фосфоглицерата.




**2,3-бисфосфоглицерат** **3-фосфоглицерат**

Гидролиз 2,3-бисфосфоглицерата катализирует специфическая фосфатаза.

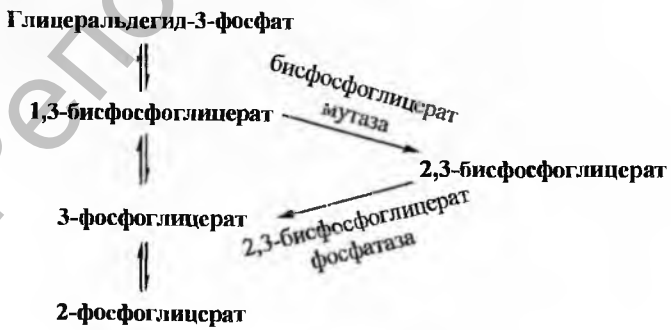
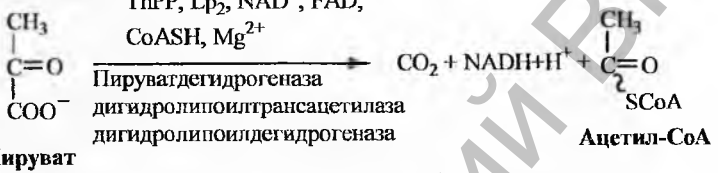



Рис. 9.1. **Схема метаболизма 2,3-бисфосфоглицерата.**

Репозиторий БГУ

**Аэробное окисление глюкозы.** В аэробных условиях регенерация $NAD^+$ происходит в дыхательной цепи транспорта электронов. Пируват в митохондриальном матриксе подвергается окислительному декарбоксилированию с образованием ацетил-СоА под действием пируватдегидрогеназного комплекса, состоящего из трех ферментов и включающего пять коферментов.

Реакция окислительного декарбоксилирования пирувата является связующим звеном между гликолизом и циклом трикарбоновых кислот, так как образовавшийся ацетил-СоА далее окисляется в цикле трикарбоновых кислот.




**Пируват** **Ацетил-СоА**

Образование ацетил-СоА из пирувата происходит в четыре этапа.

На первом этапе пируватдегидрогеназа, коферментом которой является ThPP, катализирует декарбоксилирование пирувата. Благодаря наличию в ThPP очень сильного кислотного центра между атомами азота и серы тиазолового кольца происходит ионизация с образованием карбаниона, который легко присоединяет пируват по карбонильной группе. Положительно заряженный азот в цикле принимает электроны и стабилизирует формирование отрицательного заряда, необходимого для отщепления $CO_2$. После декарбоксилирования происходит протонирование с образованием гидроксиэтилтиаминпирофосфата.

На втором этапе дигидролипоилтрансацетилаза катализирует окисление гидроксиэтил-ThPP с образованием ацетила с одновременным переносом на липоевую кислоту, связанную с ферментом, с образованием ацетиллипоамида (ацетилированная дигидролипоилтрансацетилаза). Дисульфидная группа липоевой кислоты ($LpS_2$) является окислителем, которая восстанавливается в –SH группу.

На третьем этапе CoASH атакует ацетилированную дигидролипоилтрансацетилазу с образованием восстановленной формы дигидролипоилтрансацетилазы и ацетил-СоА.

На четвертом этапе происходит регенерация окисленной формы липоевой кислоты, составного компонента дигидролипоилтрансацетилазы. Реакцию катализирует дигидролипоилдегидрогеназа -- FAD-содержащий флавопротеин. Вначале происходит окисление восстановленной ли-

Репозиторий ВГУ

поевой кислоты дигидролипоилтрансацетилазы, что сопровождается образованием $FADH_2$ дигидролипоилдегидрогеназы. Окислителем в последней реакции выступает $NAD^+$, который окисляет $FADH_2$, а сам восстанавливается.

Пируватдегидрогеназный комплекс находится под строгим регуляторным контролем. Он ингибируется ATP и NADH и активируется ADP.

Образование пирувата в гликолизе, ацетил-CoA в результате действия пируватдегидрогеназного комплекса, окисление ацетил-CoA в цикле трикарбоновых кислот (всего 19 реакций) осуществляют полное разложение глюкозы до $CO_2$. Окисление восстановленных коферментов NADH и $FADH_2$ происходит в дыхательной цепи транспорта электронов с образованием $H_2O$ и ATP в результате окислительного фосфорилирования. Выход метаболической энергии в виде ATP (или его эквивалентных аналогов) происходит на уровне окислительного фосфорилирования 34 ATP, в результате субстратного фосфорилирования в цикле трикарбоновых кислот 2 GTP и в процессе гликолиза 2 ATP.

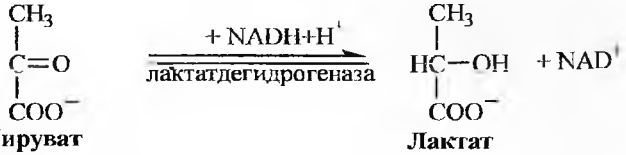
Сердечная мышца, в противоположность другим тканям, приспособлена к аэробному функционированию, имеет сравнительно низкую гликолитическую способность и низкую выживаемость в условиях ишемии.

**Анаэробное окисление глюкозы.** Метаболизм глюкозы в анаэробных и аэробных условиях происходит одинаково до образования пирувата. Решающее значение гликолиза в метаболизме заключается в его способности поставлять ATP в отсутствие кислорода путем субстратного фосфорилирования. Благодаря этому скелетные мышцы могут функционировать на достаточно высоком уровне, когда аэробное окисление заторможено.

Белые волокна скелетных мышц, гладкая мускулатура, желудочно-кишечный тракт, сетчатка глаза и кожа в норме обеспечиваются энергией главным образом гликолитическим путем, продуцируя лактат. В эритроцитах, где отсутствуют цикл Кребса и дыхательная цепь, анаэробные механизмы являются основными источниками метаболической энергии. Кроме того, гликолиз поставляет метаболиты на биосинтетические процессы.

Отсутствие или дефицит кислорода в анаэробных условиях не позволяет окислению NADH, образовавшегося в глицеральдегиддегидрогеназной реакции, а для дальнейшего окисления глицеральдегид-3-фосфата необходим $NAD^+$. Окисление NADH обеспечивает ***лактатдегидрогеназа.*** Реакция протекает по уравнению:

Репозиторий БГМУ




Суммарная реакция превращения глюкозы в лактат имеет следующий вид:

$$\text{Глюкоза} + 2\ \text{ATP} + 4\ \text{ADP} + 3\ \text{Pi} + 2\ \text{NAD}^+ = 2\ \text{лактат} + 2\ \text{ADP} + 4\ \text{ATP} + 2\ \text{NAD}^+ + 2\ \text{H}_2\text{O},$$

или в сокращенном виде:

$$\text{Глюкоза} + 2\ \text{ADP} + 2\ \text{Pi} = 2\ \text{лактат} + 2\ \text{ATP} + 2\ \text{H}_2\text{O}.$$

Окислительно-восстановительный процесс в суммарной реакции отсутствует, так как NADH, образовавшийся при окислении глицеральдегид-3-фосфата, используется в восстановлении пирувата и эти реакции являются сопряженными.

Значение лактатдегидрогеназной реакции состоит в регенерировании $NAD^+$ для глицеральдегиддегидрогеназной реакции. Регенерирование $NAD^+$ путем восстановления пирувата в лактат обеспечивает циклическое окисление глицеральдегид-3-фосфата в анаэробных условиях или при дефиците кислорода. В силу обратимости действия лактатдегидрогеназа находится на перекрестке анаэробного и аэробного окисления углеводов в зависимости от обеспеченности клеток кислородом.

В клетках высших организмов, особенно в интенсивно работающей мышце, лактат накапливается при недостаточности кислорода, где он является тупиковым метаболитом. Сердечная мышца, печень и почки используют лактат, окисляя его, и продуцируют лактат только при гипоксических состояниях.

Смена анаэробных условий аэробными условиями сопровождается окислением лактата в пируват при участии лактатдегидрогеназы:

$$\text{Лактат} + \text{NAD}^+ = \text{пируват} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

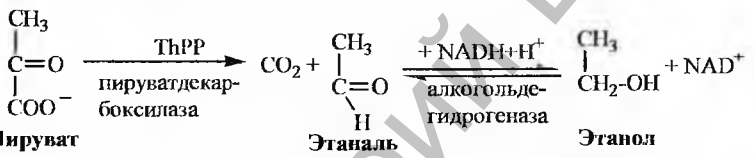
В аэробных условиях пируват под действием пируватдегидрогеназного комплекса превращается в ацетил-CoA, который окисляется в

Репозиторий БГУ

цикле трикарбоновых кислот, а восстановленные коферменты поступают в дыхательную цепь транспорта электронов.

Лактат образуется у многих микроорганизмов в процессе молочнокислого брожения в анаэробных условиях, где он является одним из конечных продуктов метаболизма.

**Спиртовое брожение.** Спиртовое брожение протекает в анаэробных условиях по тем же этапам, что и гликолиз до момента образования пирувата. Далее на пируват действует дрожжевая пируватдекарбоксилаза, коферментом которой является тиаминпирофосфат. В результате реакции образуется $CO_2$ и этаналь, который под действием алкогольдегидрогеназы восстанавливается в этанол. Дрожжевая клетка выбрасывает этанол в окружающую среду.



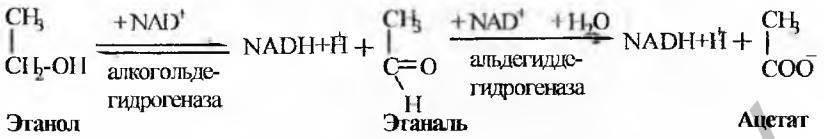

**Пируват** **Этаналь** **Этанол**

В ходе алкогольдегидрогеназной реакции происходит регенерация $NAD^+$, который используется для окисления глицеральдегид-3-фосфата. Эти две реакции сопряжены через кофермент, и превращение глицеральдегид-3-фосфата в этанол носит циклический характер.

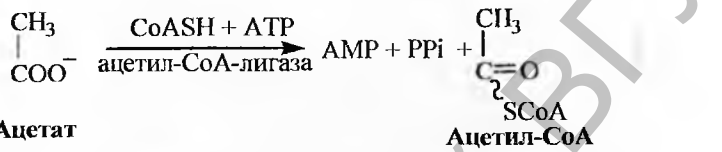
**Метаболизм этанола.** В организм человека в небольших количествах этанол может поступать с ягодами и фруктами, а в значительных – в виде спиртных напитков. В одной бутылке пива (0,5 л, 4% этанола) содержится 20 мл или 16 г этанола. В организме этанол быстро всасывается за счет диффузии и поступает преимущественно в мышцы и мозг, которые составляют 70% общей массы тела. Максимальная концентрация в крови достигает через 60–90 минут. При поступлении 16 г этанола в организм массой тела 70 кг этанол растворится в ткани, массой 49 кг ($70 \cdot 0{,}7$) и в крови концентрация составит 16 г/49 кг=0,33 промилле (7,2 мМ). Летальная концентрация составляет примерно 3,5 промилле (76 мМ).

Метаболизм этанола происходит главным образом в печени и частично в эпителии желудка. Этанол в результате действия фермента алкогольдегидрогеназы окисляется в этаналь (реакция, обратная спиртовому брожению). Дальнейшее окисление этаналя ведет к образованию ацетата, который, в свою очередь, активируется за счет энергии АТР с образованием ацетил-СоА. Ацетил-СоА окисляется в цикле трикарбоновых кислот и дыхательной цепи транспорта электронов.

Репозиторий ВГУ




Этанол Этаналь Ацетат




Ацетат Ацетил-CoA

Кроме вышеприведенного пути в метаболизме этанола принимают участие микросомальная система окисления этанола (система цит. Р450 или «алкогольоксидаза») по уравнению:

$$\text{Этанол} + H_2O + \text{NADPH} + H^+ = \text{этаналь} + \text{NADP}^+ + 2\,H_2O.$$

Далее окисление этаналя протекает аналогично, как и после действия алкогольдегидрогеназы.

Определенную роль в метаболизме этанола может выполнять фермент каталаза.

Энергетическая ценность этанола составляет 29,4 кДж/г (7 ккал/г) или 17 АТР/моль.

**Пентозофосфатный путь метаболизма углеводов.** Пентозофосфатный путь метаболизма углеводов (ПФП) имеет широкое распространение в организме животных, растений и бактерий, выполняет важные метаболические функции. Как окислительный, так и неокислительный пути поставляют пентозофосфаты для биосинтеза биологически важных компонентов клетки. Так, рибозо-5-фосфат и его производные входят в состав AMP, ADP, ATP и их аналогов; коферментов нуклеотидного строения: $NAD^+$, $NADP^+$, FMN, FAD, CoA и нуклеиновых кислот: РНК и ДНК. Неокислительный ПФП является источником эритрозо-4-фосфата, который используется для биосинтеза аминокислот триптофана, фенилаланина и тирозина. Окислительный ПФП, кроме пентозофосфатов, поставляет NADPH для восстановительных биосинтетических вопросов.

Первоначальные предпосылки о существовании ПФП метаболизма углеводов возникли в 30-х годах прошлого столетия, когда О. Варбург и Христиан в 1931 г. впервые обнаружили в эритроцитах и дрожжах фермен-

Репозиторий ВГУ

тативную систему, устойчивую к цианидам. Было установлено, что для этой ферментативной реакции необходим $NADP^+$, который восстанавливался в ходе реакции. Исследования в этом направлении велись до 40-х годов. Изучено декарбоксилирование 6-фосфоглюконата с образованием пентозофосфата (Варбург, Липман, Диккенс, 1935–1939).

В Советском Союзе в это время ПФП изучал В.А. Энгельгардт с сотрудниками, которые предложили гипотезу апотомического, т.е. последовательного, окисления и декарбоксилирования с образованием из гексоз пентоз, тетроз, триоз. Впоследствии эта гипотеза не подтвердилась, механизм этих процессов оказался более сложным.

Успешное изучение метаболического пути Эмбдена–Мейергофа–Парнаса отвлекло внимание исследователей от ПФП и возобновилось только в 50-е годы. В конце 50-х и начале 60-х годов интенсивные исследования ведутся во Львове проф. И.Д. Головацким, в Гродно – акад. Ю.М. Островским, а в 70-х годах изучением этого вопроса занялись в Ленинграде проф. А.И. Колотилова, в Москве акад. С.Е. Северин.

И.Д. Головацкий установил взаимосвязь между содержанием пентоз и фруктозы и указал на наличие в тканях животных неокислительного пути образования пентозофосфатов через транскетолазную реакцию между ГА-3-Ф и Ф-6-Ф.

В 1962 г. Хореккер предложил схему, объединяющую обе группы реакций, которая выглядела в виде цикла, ведущего к замыканию на Г-6-Ф. В таком случае терялся смысл образования пентозофосфатов через дегидрогеназные реакции, а все сводилось к образованию NADPH.

В 1965 г. И.Д. Головацкий предложил схему использования гексозофосфатов по ПФП и пришел к заключению, что 20% гексоз (одна молекула Г-6-Ф) включаются окислительным путем, а 80% – неокислительным путем. Абсолютно одинаковые результаты получил M. Hofer в 1971 г. при изучении метаболизма меченой глюкозы дрожжами.

В 1965 г. A. Bonsignore, E. Grasi, используя высокоочищенные препараты транскетолазы и трансальдолазы, установили, что из двух молекул фруктозо-6-фосфата, в результате одновременной атаки этих ферментов, образуется ксилулоза-5-фосфат и седогептулозо-7-фосфат. В данном случае ПФП начинается с превращения глюкозо-6-фосфата во фруктозо-6-фосфат под действием глюкозофосфатизомеразы – общего фермента гликолиза и ПФП.

Изучая ПФП и обобщая данные литературы J.F. Williams (1971) приходит к выводу, что реакции ПФП не являются циклическими и образование пентозофосфатов идет двумя параллельными путями.

Репозиторий ВГУ

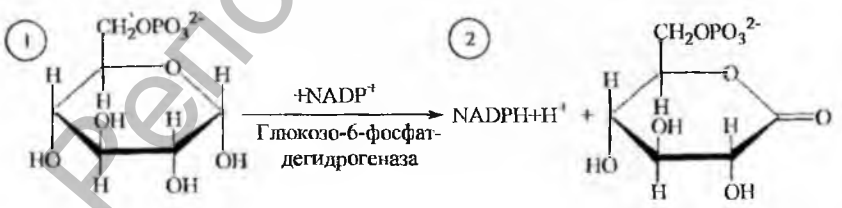
Реакции пентозофосфатного пути подразделяют на две группы (или ветви): окислительные и трансферазные (неокислительные). В последнее время эти ветви считают самостоятельными метаболическими путями.

**Окислительный пентозофосфатный путь.** Окислительный пентозофосфатный путь представляет собой окислительно-декарбоксилирующую систему, состоящую из глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глюконолактоназы и фосфоглюконатдегидрогеназы, обеспечивающую прямое окисление глюкозо-6-фосфата. Пентозофосфатный путь может начинаться с глюкозы или с гликогена по соответствующим этапам гликолиза и гликогенолиза до образования глюкозо-6-фосфата. За глюкозо-6-фосфат конкурируют глюкозофосфатизомераза и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа.

На первом этапе глюкозо-6-фосфат окисляется под действием глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, коферментом которой является $NADP^+$. Продуктами реакции являются 6-фосфоглюконолактон (внутримолекулярный сложный эфир 6-фосфоглюконата) и NADPH.

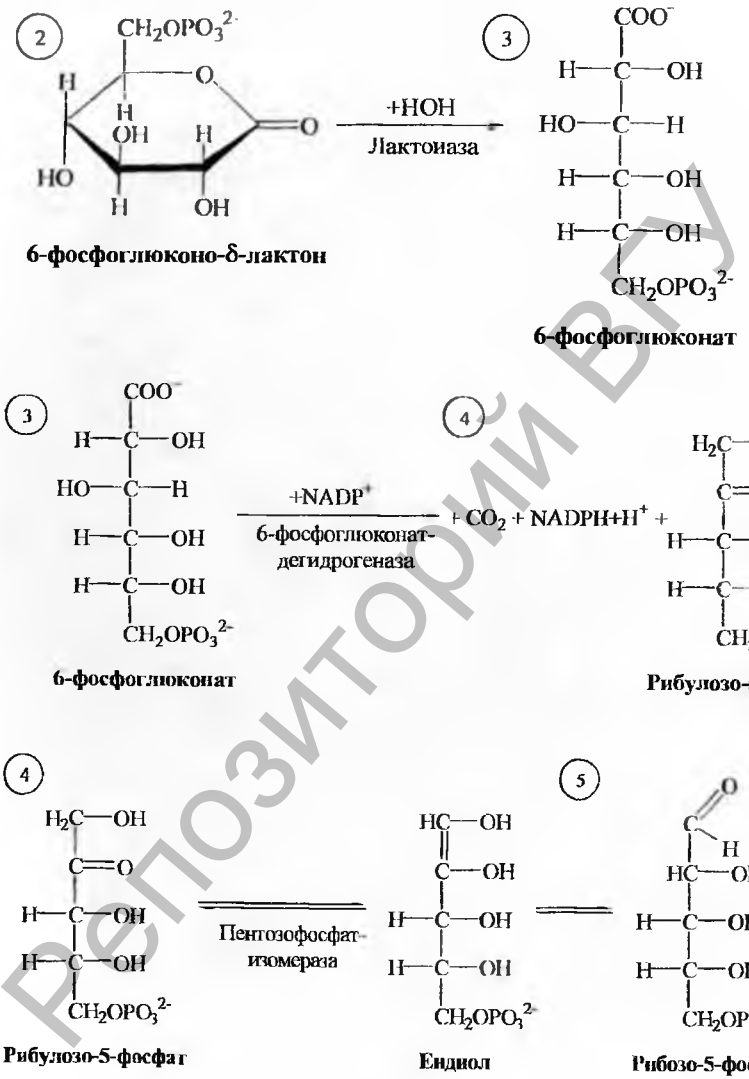
6-Фосфоглюконолактон соединение неустойчивое и может спонтанно подвергаться гидролизу. В организме эту реакцию катализирует фермент глюконолактоназа с образованием 6-фосфоглюконата.

На третьем этапе 6-фосфоглюконатдегидрогеназа (декарбоксилирующая) катализирует декарбоксилирование 6-фосфоглюконата с одновременным окислением гидроксильной группы при С-2 пятиуглеродного фрагмента до кетоновой группы, что сопровождается образованием рибулозо-5-фосфата.




**Глюкозо-6-фосфат** **6-фосфоглюконо-δ-лактон**

Репозиторий БГУ




Превращение рибулоза-5-фосфата в рибозо-5-фосфат происходит при участии фермента пентозофосфат-изомеразы (рибозофосфат-изомеразы).

Репозиторий ВГУ

Суммарно: **Г-6-Ф+ 2NADP$^+$ + $H_2O$ → Р-5-Ф + 2NADPH + $H^+$ + $CO_2$**

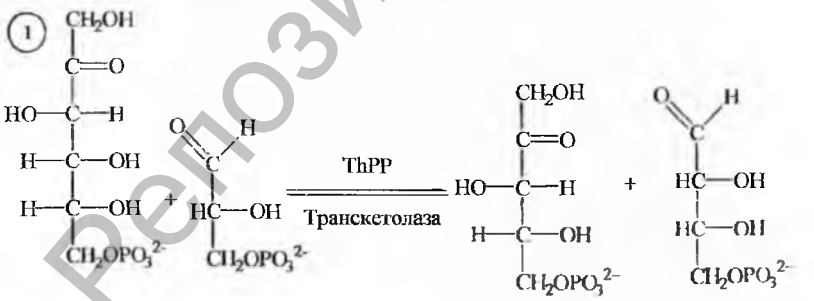
В результате действия окислительно-декарбоксилирующей системы из одной молекулы глюкозо-6-фосфата образуется 1 молекула пентозофосфата, 2 молекулы NADPH и выделяется 1 молекула $CO_2$. Одна молекула NADP$^+$ восстанавливается за счет глюкозо-6-фосфата, а вторая – за счет воды.

**Неокислительный пентозофосфатный путь.** Теоретические расчеты и экспериментальные исследования с применением меченых атомов показали, что в различных органах и тканях только 20% пентозофосфатов образуется окислительным и 80% – неокислительным путем.

Субстратами неокислительного пентозофосфатного пути являются метаболиты гликолиза, фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат, которые при участии ферментов транскетолазы и трансальдолазы превращаются в пентозофосфаты. В состав транскетолазы входят прочно связанный тиаминпирофосфат и магний.

***Транскетолаза*** катализирует разрыв С–С связи рядом с карбонильной группой и перенос С-2-фрагмента в виде «активного гликольальдегида» с кетозы на альдозу. ***Трансальдолаза*** катализирует разрыв С–С связи через один атом от карбонильной группы и перенос С-3-фрагмента в виде «активного дигидроксиацетона» с кетозы на альдозу.

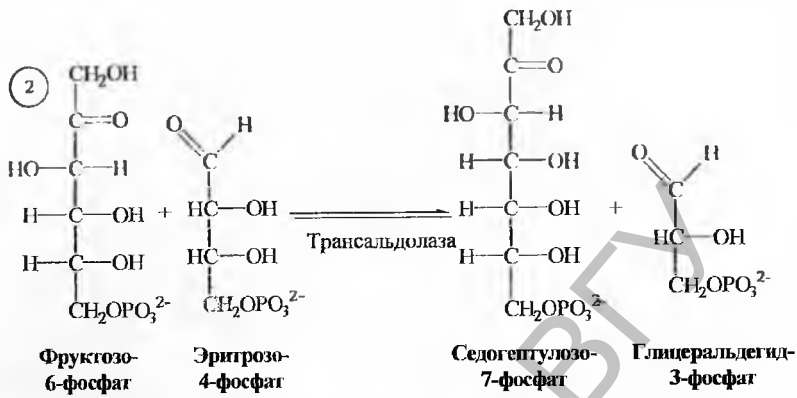
На первом этапе фруктозо-6-фосфат взаимодействует с глицеральдегид-3-фосфатом с образованием ксилулозо-5-фосфата и эритрозо-4-фосфата. Реакцию катализирует фермент ***транскетолаза***.




**Фруктозо-6-фосфат** **Глицеральдегид-3-фосфат** **Ксилулозо-5-фосфат** **Эритрозо-4-фосфат**

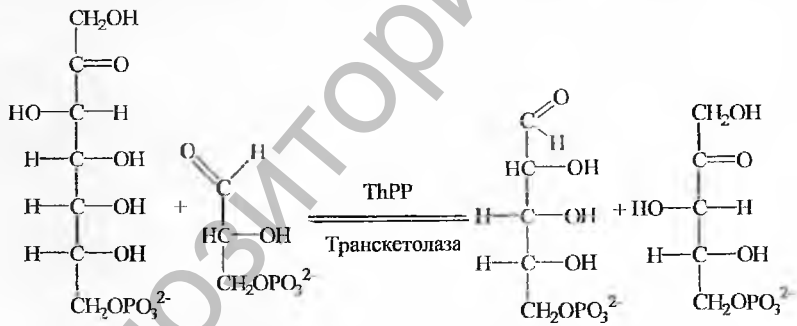
Далее вторая молекула фруктозо-6-фосфата вступает в реакцию с эритрозо-4-фосфатом, которую катализирует фермент ***трансальдолаза***. Продуктами реакции являются седогептулозо-7-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат.

Репозиторий ВГУ

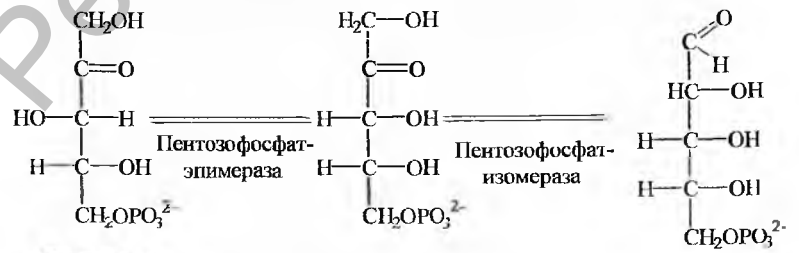



**Фруктозо-6-фосфат** **Эритрозо-4-фосфат** **Седогептулозо-7-фосфат** **Глицеральдегид-3-фосфат**

Продукты трансальдолазной реакции вступают во вторую транскетолазную реакцию, результатом которой является образование двух молекул пентозофосфатов – рибулозо-5-фосфата и рибозо-5-фосфата.




**Седогептулозо-7-фосфат** **Глицеральдегид-3-фосфат** **Рибозо-5-фосфат** **Ксилулозо-5-фосфат**




**Ксилулозо-5-фосфат** **Рибулозо-5-фосфат** **Рибозо-5-фосфат**

Репозиторий ВГУ

Взаимопревращение трех пентозофосфатов обеспечивают ферменты рибозофосфат-изомераза (пентозофосфат-изомераза) и рибулозофосфат-3-эпимераза (пентозофосфат-эпимераза).

Суммарно: **2 Ф-6-Ф + ГА-3-Ф ⇆ 3 Р-5-Ф**

Таким образом, в результате трансферазных (неокислительных) реакций пентозофосфатного пути из двух молекул фруктозо-6-фосфата и одной молекулы глицеральдегид-3-фосфата образуется три молекулы пентозофосфатов, а в конечном итоге три молекулы рибозо-5-фосфата.

**Значение пентозофосфатных путей метаболизма углеводов.** Пентозофосфатные пути, как окислительный, так и неокислительный, поставляют пентозофосфаты, главным образом, рибозо-5-фосфат, для биосинтеза ряда биологически важных компонентов клетки. Так, рибозо-5-фосфат и его производные входят в состав AMP, ADP, ATP и их аналогов; коферментов нуклеотидного строения: $NAD^+$, $NADP^+$, FMN, FAD, CoA; нуклеиновых кислот: РНК и ДНК. Неокислительный пентозофосфатный путь является источником эритрозо-4-фосфата, который используется для биосинтеза аминокислот триптофана, фенилаланина и тирозина.

Окислительный пентозофосфатный путь, кроме того, поставляет восстановительные эквиваленты в виде NADPH для биосинтетических процессов. Клетки жировой ткани, печени, молочной железы, коры надпочечников характеризуются высокой активностью окислительного пентозофосфатного пути, они используют большие количества NADPH в восстановительных процессах биосинтеза жирных кислот и стероидов. В мышечной ткани и эндокринных железах, синтезирующих продукты белковой природы, преобладает неокислительный пентозофосфатный путь, а основным источником NADPH является NADP-зависимая изоцитратдегидрогеназа.

Пентозофосфатный путь и гликолиз – связанные между собой метаболические пути. Глюкозо-6-дегидрогеназа ориентирует метаболизм глюкозо-6-фосфата по окислительному пентозофосфатному пути. Глюкозофосфат-изомераза, катализируя превращение глюкозо-6-фосфата во фруктозо-6-фосфат, является общим ферментом гликолиза и неокислительного пентозофосфатного пути.

В силу обратимости действия транскетолазы и трансальдолазы осуществляется взаимосвязь между гликолизом и неокислительным пентозофосфатным путем на уровне фруктозо-6-фосфата и глицеральдегид-3-фосфата. Рибозофосфат-изомераза, рибулозофосфат-3-эпимераза и глюкозофосфат-изомераза обеспечивают взаимосвязь между окислительным и неокислительным пентозофосфатными путями.

Интенсивность и направленность метаболизма по тому или иному пути определяется потребностью клетки в рибозо-5-фосфате и NADPH.

РЕПОЗИТОРИЙ БГМУ

В случае избытка пентозофосфатов они могут превращаться в гексозофосфаты по схеме: **6 $C_5$ ⇆ 5 $C_6$.**

Скорость окислительного пентозофосфатного пути регулируется концентрацией $NADP^+$. Образование NADPH тесно взаимосвязано с его использованием. Отношение $NADP^+$/NADPH составляет примерно 0,015, в то время как отношение $NAD^+$/NADH равно 700.

Избыток NADPH может поступать в дыхательную цепь через NADH. Реакцию переноса атомов водорода от NADPH на $NAD^+$ катализирует фермент трансдегидрогеназа:

$$NADPH + H^+ + NAD^+ = NADP^+ + NADH + H^+.$$

***Нарушение функционирования ПФП*** метаболизма углеводов может приводить к патологическим явлениям. Так, применение противомалярийного препарата памахина у некоторых больных вызывало развитие острых патологических симптомов (черная моча, желтуха, резкое падение гемоглобина в крови). У отдельных больных наблюдался обширный гемолиз (разрушение эритроцитов), приводивший к летальному исходу. Причиной лекарственной гемолитической анемии оказалась низкая активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах. Пентозофосфатный путь является единственным источником NADPH в эритроцитах. Низкая активность фермента не может обеспечить эритроцит достаточным количеством NADPH, главная роль которого в эритроцитах состоит в восстановлении окисленного глутатиона. Реакцию катализирует глутатионредуктаза, фермент, содержащий селен:

$$G-S-S-G + NADPH + H^+ + FAD \rightarrow 2\ G-SH + NADP^+ + FAD.$$

В глутатионредуктазной реакции FAD выполняет роль промежуточного переносчика электронов от NADPH к окисленному глутатиону. Отношение G–SH / G–S–S–G в норме равно 500.

Восстановленный глутатион выполняет роль сульфгидрильного буфера, поддерживая в восстановленной форме цистеиновые остатки (–SH группы) гемоглобина и других белков эритроцитов, обеспечивает сохранение в ферроформе гемоглобина и нормальную структуру эритроцитов. Принимает участие в детоксикации пероксида водорода и органических пероксидов.

Предполагают, что при отсутствии или недостаточности восстановленного глутатиона лекарственные препараты вызывают изменения поверхности эритроцитов, повышая их способность к гемолизу. Это заболевание наследуется как признак, связанный с полом. У гетерозиготных самок встречаются две популяции эритроцитов. Одна популяция с нормальной активностью фермента, а другая – с низкой глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной активностью. Наиболее распространенная форма недостаточности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (у 11% американцев негритянского происхождения), при которой наблюдается 10-кратное снижение активности фермента в эритроцитах, связана с устойчиво-

Репозиторий БГУ

стью к тропической малярии, т.к. для развития возбудителя (*Plasmodium falciparum)* необходим нормально функционирующий пентозофосфатный путь и восстановленный глутатион. Недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и серповидноклеточность эритроцитов являются механизмами защиты от малярии в регионах ее распространения.

Нарушение способности транскетолазы связывать тиаминпирофосфат при низком для насыщения фермента его содержании может вызвать нервно-психическое расстройство – синдром Вернике–Корсакова. Для этого заболевания характерно нарушение психики, сильное ослабление памяти, дезориентация, парез глазодвигательного нерва, нарушение осанки и походки.

**Глюконеогенез.** Глюконеогенез представляет собой метаболический путь биосинтеза глюкозы из предшественников неуглеводного характера, таких, как лактат, пируват, аминокислоты, глицерол, и промежуточных метаболитов цикла трикарбоновых кислот в организме животных и глиоксилатного цикла в некоторых микроорганизмах и в семенах масличных растений, способных превращать метаболиты в малат. Биосинтез глюкозы играет чрезвычайно важную роль в организме животных и человека, так как большинство тканей зависимо от потребления глюкозы. Особенно высока зависимость мозга и эритроцитов, где глюкоза является основным энергетическим субстратом. Глюконеогенез интенсивно протекает в организме людей, питающихся преимущественно мясом и рыбой, при голодании и в организме жвачных животных. Этот метаболический путь выполняет важную роль в периоды высокой физической нагрузки. Биосинтез глюкозы de novo происходит в основном в печени и почках, однако из-за небольших размеров почек их вклад в синтез глюкозы составляет примерно 1/10 по сравнению с печенью.

В печени главными субстратами глюконеогенеза являются лактат, поступающий из мышечной ткани и эритроцитов, гликогенные аминокислоты и глицерол. В почках, наряду с лактатом и глицеролом, субстратами являются, главным образом, аминокислоты, а из аминокислот – глутамин.

Ранее было отмечено, что ряд тканей, такие, как белые волокна скелетных мышц, гладкая мускулатура, желудочно-кишечный тракт, сетчатка глаза, кожа и эритроциты, в норме обеспечиваются энергией в первую очередь гликолитическим путем, продуцируя лактат.

В интенсивно работающей мышце, при недостаточном обеспечении кислородом, скорость образования пирувата в ходе гликолиза превосходит скорость его окисления в цикле трикарбоновых кислот и дыхательной цепи. Поскольку дыхательная цепь транспорта электронов не может обеспечить регенерирование $NAD^+$, то этот процесс осуществляет лактатдегидрогеназа, восстанавливая пируват в лактат. Однако при этом наблюдается преобладание NADH по отношению к $NAD^+$.

Репозиторий ГГУ

Лактат является тупиком в метаболизме и его дальнейшее превращение связано с окислением в пируват. Лактат и пируват из активно функционирующей мышцы поступают в кровь и кровью переносятся в печень. Лактата поступает значительно больше, чем пирувата в связи с высоким отношением $NADH/NAD^+$ в интенсивно сокращающейся мышце. В цитозоле печени, наоборот, низкое отношение $NADH/NAD^+$ способствует окислению лактата в пируват и дальнейшему биосинтезу глюкозы. Из печени глюкоза поступает в кровь и с кровью в мышцы, где снова включается в гликолиз.

В результате этого печень снабжает глюкозой сокращающиеся мышцы, которые получают АТР в результате анаэробного гликолиза, т.е. превращения глюкозы в лактат, а затем в печени происходит синтез глюкозы из лактата по пути глюконеогенеза. Глюконеогенез интенсивно протекает в восстановительный период, когда ткани снабжаются кислородом. Циклическое превращение глюкозы в лактат в мышцах, а лактата в глюкозу в печени носит название **цикла Кори**.

Таким образом, образование лактата в работающей мышце временно заменяет аэробный метаболизм глюкозы и частично перекладывает метаболическую нагрузку из мышц на печень. Примерно 85% лактата превращается в глюкозу, а 25% окисляется до $H_2O$ и $CO_2$, обеспечивая энергетические затраты биосинтеза.

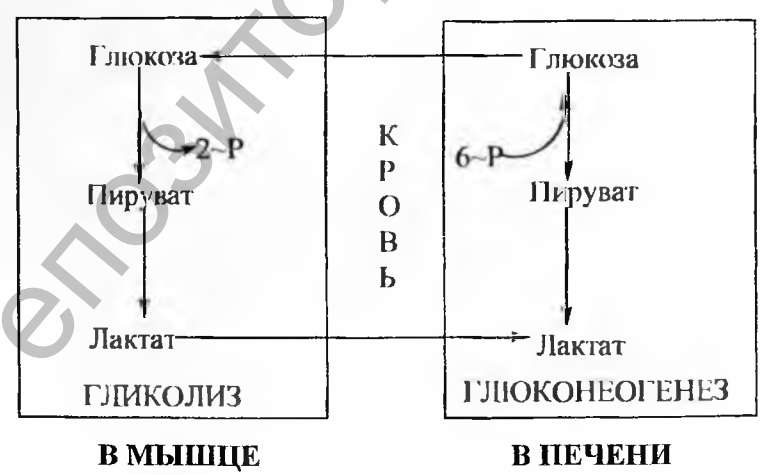



**Рис. 9.2. Цикл Кори.**

Репозиторий ВГУ

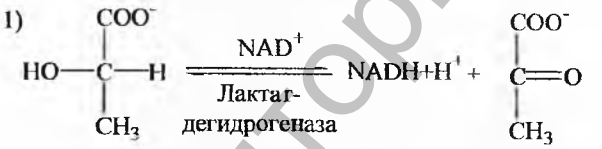
В процессе гликолиза глюкоза превращается в пируват, а при глюконеогенезе, наоборот, из пирувата происходит образование глюкозы.

Однако глюконеогенез не прямое обращение гликолиза. Это связано с тем, что ***гексокиназная, фосфофруктокиназная и пируваткиназная*** реакции гликолиза протекают с высоким изменением свободной энергии, их равновесие сильно смещено в сторону образования конечных продуктов и они практически необратимы. Остальные реакции гликолиза легко обратимы и при биосинтезе глюкозы они могут идти с участием тех же ферментов в противоположном направлении.

Обход гексокиназы и фосфофруктокиназы осуществляют высокоспецифичные фосфоэстеразы – глюкозо-6-фосфатаза и фруктозобисфосфатаза. Обход пируваткиназной реакции (превращение пирувата в фосфоенолпируват) в зависимости от вида клеток может осуществляться несколькими путями.

Включение метаболитов в глюконеогенез происходит на уровне ***пирувата, оксалоацетата и дигидроксиацетонфосфата.***

Превращение лактата в глюкозу протекает в аэробных условиях и начинается с окисления лактата в пируват:




L-Лактат Пируват

В некоторых бактериях превращение пирувата в фосфоенолпируват катализирует фермент ***фосфоенолпируватсинтетаза***:

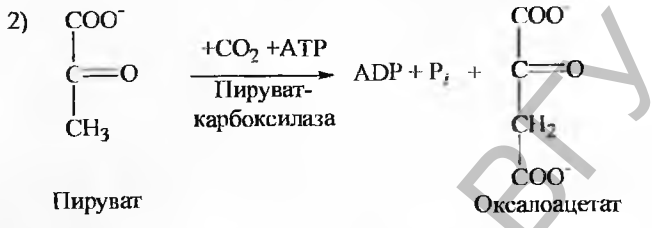
Пируват Фосфоенолпируват

В клетках высших растений и животных образование фосфоенолпирувата из пирувата протекает в митохондриях через оксалоацетат с участием двух ферментов: пируваткарбокилазы и фосфоенолпируваткарбоксикиназы. В данном случае в различных клетках возможны два варианта. Первый – это когда оба фермента находятся в митохондриях.

Репозиторий ВГУ

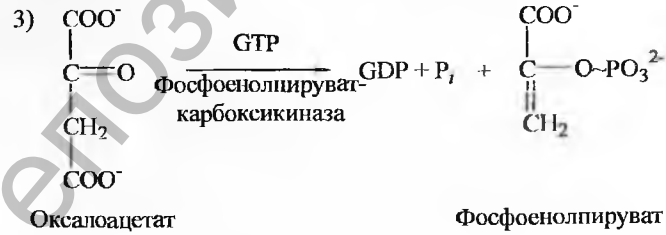
Второй – когда пируваткарбоксилаза находится в митохондриях, а фосфоенолпируваткарбоксикиназа – в цитоплазме.

Митохондриальная мембрана легко проницаема для пирувата и пируваткарбоксилаза катализирует АТР-зависимое и биотинзависимое карбоксилирование пирувата с образованием оксалоацетата:




Пируваткарбоксилаза содержит четыре каталитические субъединицы, содержащие остатки биотина, связанные пептидными связями с ε-аминокислотными остатками лизина, находящимися в активных центрах. Биотин в составе пируваткарбоксилазы функционирует как переносчик активированного $CO_2$. Ацетил-CoA является положительным аллостерическим модулятором пируваткарбоксилазы. Биотин связывается с $CO_2$ только в присутствии ацетил-CoA, связанного с ферментом, а затем происходит карбоксилирование пирувата с образованием оксалоацетата.

На следующем этапе под действием фосфоенолпируваткарбоксикиназы происходит одновременное декарбоксилирование оксалоацетата и фосфорилирование за счет GTP с образованием фосфоенолпирувата:



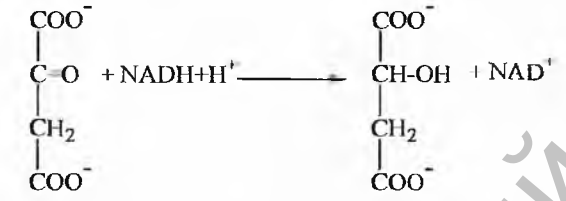

На данной стадии происходит отщепление $CO_2$, который присоединился к пирувату в пируваткарбоксилазной реакции и реакция декарбоксилирования является пусковым моментом фосфорилирования. Благодаря декарбоксилированию становится энергетически возможной реакция фосфорилирования. Образовавшийся фосфоенолпируват легко диффундирует в цитоплазму.

Репозиторий ВГУ

По второму варианту фосфоенолпируваткарбоксикиназа обнаруживается в цитоплазме. Мембрана митохондрий непроницаема для оксалоацетата. Поэтому оксалоацетат под действием митохондриальной малатдегидрогеназы восстанавливается до малата. Малат легко проходит через мембрану в цитоплазму и под действием цитоплазматической малатдегидрогеназы окисляется до оксалоацетата.

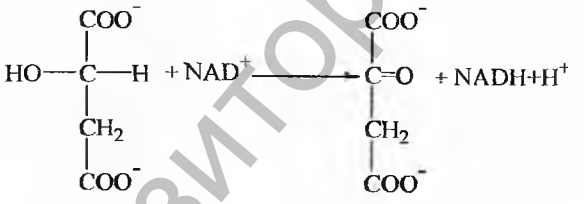
Процесс транспорта оксалоацетата:

в митохондрии:




Оксалоацетат Малат

в цитоплазме:

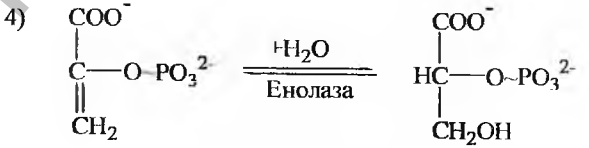



Малат Оксалоацетат

Оксалоацетат под действием цитоплазматической фосфоенолпируват-карбоксикиназы превращается в фосфоенолпируват.

Последующие реакции глюконеогенеза катализируют ферменты, что и при гликолизе.

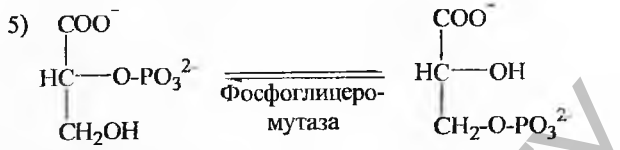
Под действием енолазы фосфоенолпируват превращается в 2-фосфоглицерат:




Фосфоенолпируват 2-Фосфоглицерат

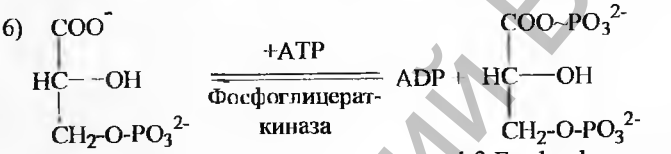
Репозиторий ВГУ

2-Фосфоглицерат подвергается действию фосфоглицеромутазы с образованием 3-фосфоглицерата:



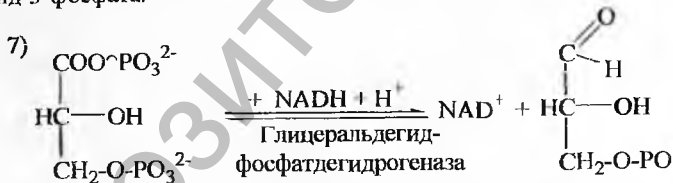

2-Фосфоглицерат 3-Фосфоглицерат

Образование 1,3-бисфосфоглицерата протекает при участии фермента фосфоглицераткиназы за счет энергии АТР:



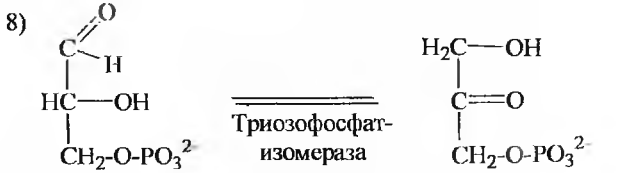

3-Фосфоглицерат 1,3-Бисфосфоглицерат

На следующем этапе глицеральдегидфосфатдегидрогеназа катализирует реакцию восстановления 1,3-бисфосфоглицерата до глицеральдегид-3-фосфата:




1,3-Бисфосфо-
глицерат
Глицеральдегид-
3-фосфат

Высокоактивный фермент триозофосфатизомераза катализирует реакцию изомерного превращения глицеральдегид-3-фосфата в дигидроксиацетонфосфат:

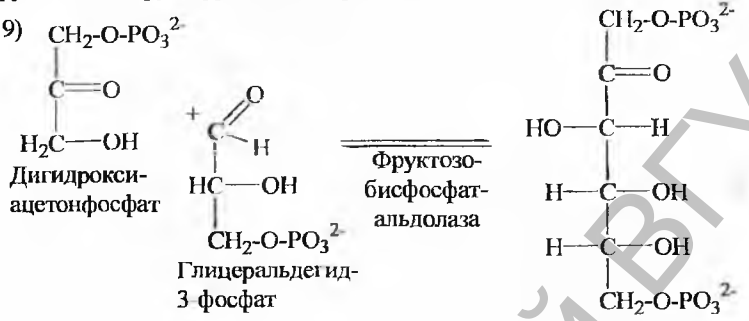



Глицеральдегид-3-фосфат Дигидроксиацетонфосфат

Репозиторий ВГУ

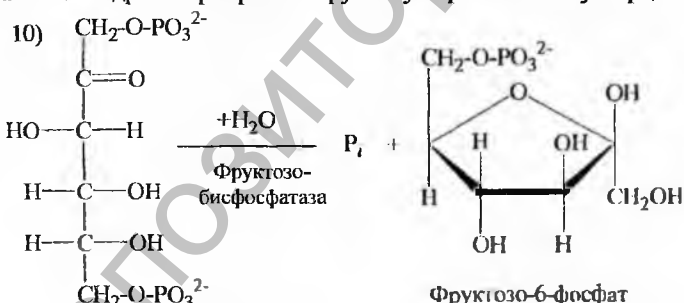
Продукты триозофосфатизомеразной реакции глицеральдегид-3-фосфат и дигидроксиацетонфосфат являются субстратами ретроальдольной конденсации с образованием фруктозо-1,6-бисфосфата, которую катализирует фруктозобисфосфат-альдолаза:

9)




Фосфофруктокиназная реакция является необратимой и в обход ее используется фермент фруктозо-бисфосфатаза, которая осуществляет необратимый гидролиз фосфатной группы у первого атома углерода:

10)

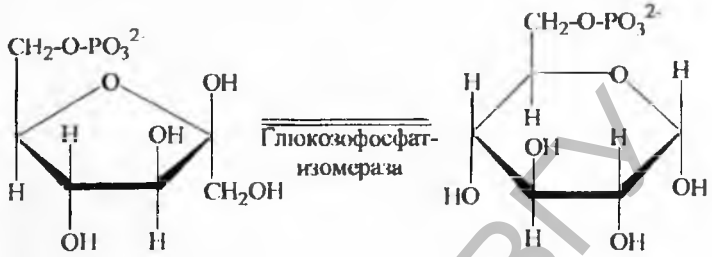



Фруктозо-бисфосфатаза состоит из четырех субъединиц и представляет собой регуляторный фермент. Активность фруктозо-бисфосфатазы сильно подавляется отрицательным модулятором – AMP, фермент же наиболее активен при высоком энергетическом заряде клетки.

На следующем этапе фруктозо-6-фосфат превращается в глюкозо-6-фосфат под действием глюкозофосфатизомеразы, фермента, катализирующего обратимую реакцию и принимающего участие как в глюконеогенезе, так и в гликолизе. Глюкозо-6-фосфат, образующийся в про-

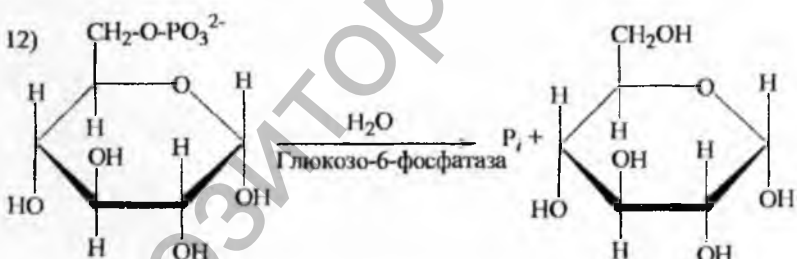
Репозиторий ВГУ

цессе глюконеогенеза, в большинстве клеток может использоваться различными путями, например, как предшественник дисахаридов и полисахаридов.

11) 

Фруктозо-6-фосфат Глюкозо-6-фосфат

В клетках печени, почек и кишечного эпителия позвоночных образуется свободная глюкоза в результате дефосфорилирования глюкозо-6-фосфата. Реакцию катализирует фермент глюкозо-6-фосфатаза:

12) 

Глюкозо-6-фосфат Глюкоза

Глюкозо-6-фосфатаза связана с эндоплазматическим ретикулумом и действует на глюкозо-6-фосфат, локализованный в цитозоле. Глюкозо-6-фосфатазу печени считают мембранным ферментом, локализованным внутри гладкого эндоплазматического ретикулума. Транспорт глюкозо-6-фосфата в эндоплазматический ретикулум и возврат образовавшейся глюкозы в цитоплазму осуществляют специфические переносчики. Из цитоплазмы глюкоза поступает в кровь и разносится по различным органам и тканям. Эту функцию выполняет, главным образом, печень.

Репозиторий ВГУ

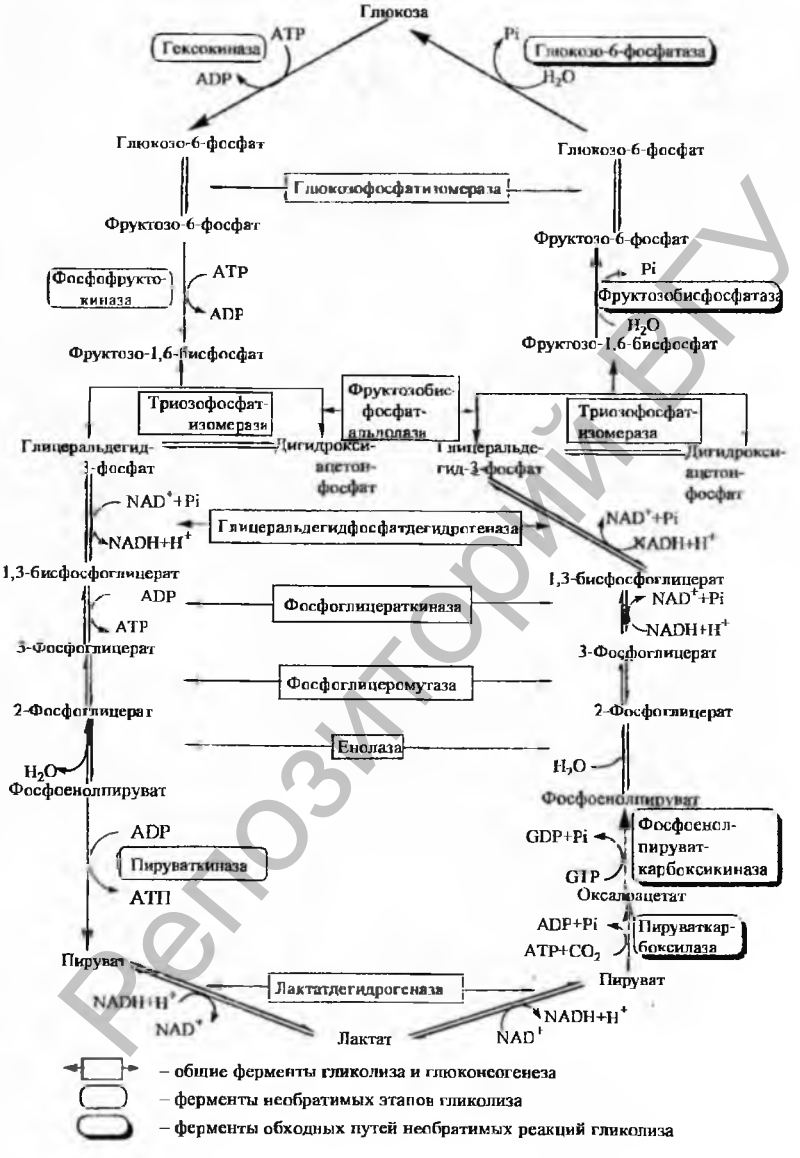



Рис. 9.3. **Схема гликолиза и глюконеогенеза.**

Репозиторий БГУ

В печени человека может синтезироваться до 250 г глюкозы в сутки. Вклад почек в биосинтез глюкозы, из-за небольших размеров, составляет примерно 10% по сравнению с печенью. С незначительной скоростью глюконеогенез протекает в мозгу, в сердечной и скелетной мышцах, что может играть роль в обеспечении этих органов глюкозой в критические моменты. В мозгу и мышцах отсутствует глюкозо-6-фосфатаза, поэтому глюкозо-6-фосфат не может выходить из клеток этих тканей в виде свободной глюкозы, а метаболизируется.

**Суммарно: 2 Пируват + 4 ATP + 2GTP + 2 NADH + $H^+$ + $2H_2O$ =**
**=Глюкоза + 4 ADP + 2 GDP + 6 Pi + 2 $NAD^+$**

На синтез глюкозы из пирувата затрачивается шесть макроэргических фосфатных связей и 2 NADH в качестве восстановителя. Энергетический баланс гликолиза составляет 2 ATP. Для превращения гликолиза в глюконеогенез требуются четыре дополнительные макроэргические фосфатные связи. Аэробное окисление глюкозы в несколько раз перекрывает энергетические затраты на ее синтез в глюконеогенезе, поэтому превращение пирувата (лактата) в глюкозу является термодинамически выгодным.

Глюконеогенез и гликолиз являются взаимосвязанными и строго координируемыми процессами метаболизма. Регуляция осуществляется таким образом, что когда активность одного из путей повышается, то метаболическая активность другого пути понижается, т.е. между этими путями существует обратная зависимость. Благодаря регуляции отдельных ферментов каждого процесса активность этих двух противоположных метаболических путей никогда не достигает высокого уровня одновременно.

Так, например, AMP является положительным модулятором фосфофруктокиназы и отрицательным – фруктозо-бисфосфатазы. Цитрат оказывает на эти ферменты противоположное действие, активируя фруктозобисфосфатазу и ингибируя фосфофруктокиназу. Следовательно, фосфофруктокиназная реакция, лимитирующая скорость гликолиза, активируется при низком энергетическом заряде клетки. Напротив, высокий энергетический заряд клетки и избыток метаболитов цикла трикарбоновых кислот стимулируют фруктозо-бисфосфатазу и глюконеогенез.

ADP ингибирует, а ацетил-CoA активирует пируваткарбоксилазу, тогда как ATP ингибирует, а фруктозо-1,6-бисфосфат стимулирует пируваткиназу. В регуляции глюконеогенеза принимают участие гормоны. Кортизол, глюкагон и адреналин стимулируют глюконеогенез, а инсулин оказывает противоположное действие.

Репозиторий БГУ

**Биосинтез гликогена (гликогенез).** Гликоген животных является гомополимером глюкозы, в котором остатки глюкозы в основных полигликозидных цепях соединены α(1→4)-гликозидными связями, а в точках ветвления – α(1→6)-гликозидными связями. Степень ветвления у гликогена значительно выше по сравнению с амилопектином. Точки ветвления у гликогена располагаются через 8–10 остатков глюкозы. Молекула представлена ветвистой древовидной структурой, содержащей от 2000 до 50000 остатков глюкозы, в которой имеется только один восстанавливающий конец. Высокая степень ветвления гликогена играет важную метаболическую функцию, обеспечивая высокую скорость его биосинтеза и расщепления.

Гликоген является наиболее важным долгосрочным энергетическим резервом и представляет легко мобилизуемую форму глюкозы, доступную для использования организмом в интервалах между приемами пищи и во время высоких физических нагрузок. Содержание энергии в организме человека со средней массой 70 кг в виде гликогена составляет 2500–6700 кДж, тогда как в глюкозе жидкостей тела только около 170 кДж.

В организме гликоген депонируется главным образам в печени и мышцах. У большинства видов животных содержание гликогена в печени составляет около 5%, а в мышцах около 1,5%. У жвачных животных концентрация гликогена в печени не превышает 3%. У лабораторных животных, содержащихся на углеводной диете, его содержание в печени может достичь 10%. Хотя концентрация гликогена в печени выше, чем в мышцах, но в целом его запасы в скелетных мышцах, с учетом их большей массы, превышают запасы гликогена в печени. В организме человека имеется всего около 350 г гликогена, из которого 250 г находится в мышцах и 100 г в печени.

Гликоген откладывается в цитозоле в форме гранул диаметром 10–40 нм. Такие колебания в размерах гранул связаны с неодинаковым размером молекул гликогена. Гранулы наряду с гликогеном содержат ферменты, катализирующие его биосинтез и расщепление.

Биосинтез гликогена может начинаться с глюкозы или глюкозо-6-фосфата. Глюкоза может поступать из кишечника в фазе резорбции (за счет переваривания пищи) или образовавшаяся в процессе глюконеогенеза. Всасывание глюкозы, биосинтез гликогена и его депонирование в клетках тканей являются взаимозависимыми процессами. На пути превращения глюкозы в гликоген существует необратимая реакция:

гликоген → глюкозо-1-фосфат

Поэтому глюкоза превращается в гликоген при участии трех дополнительных ферментов: UDP-глюкозо-пирофосфорилазы, гликоген-синтазы и 1,4→1,6-трансгликозидазы (ветвящий фермент). Включение остатков глюкозы в полимер (гликоген) является эндоэргическим про-

Репозиторий ВГУ

цессом. Активирование глюкозы протекает в три этапа с образованием UDP-глюкозы – активированной формы глюкозы.

Первым этапом гликогенеза является фосфорилирование глюкозы за счет АТР. Реакцию катализируют ферменты гексокиназа и глюкокиназа. При высокой концентрации глюкозы в период переваривания и всасывания углеводов наиболее важную роль выполняет глюкокиназа, которая способствует быстрой мобилизации глюкозы.

На втором этапе образовавшийся глюкозо-6-фосфат в результате фосфорилирования глюкозы или в процессе глюконеогенеза под действием фосфоглюкомутазы превращается в глюкозо-1-фосфат.

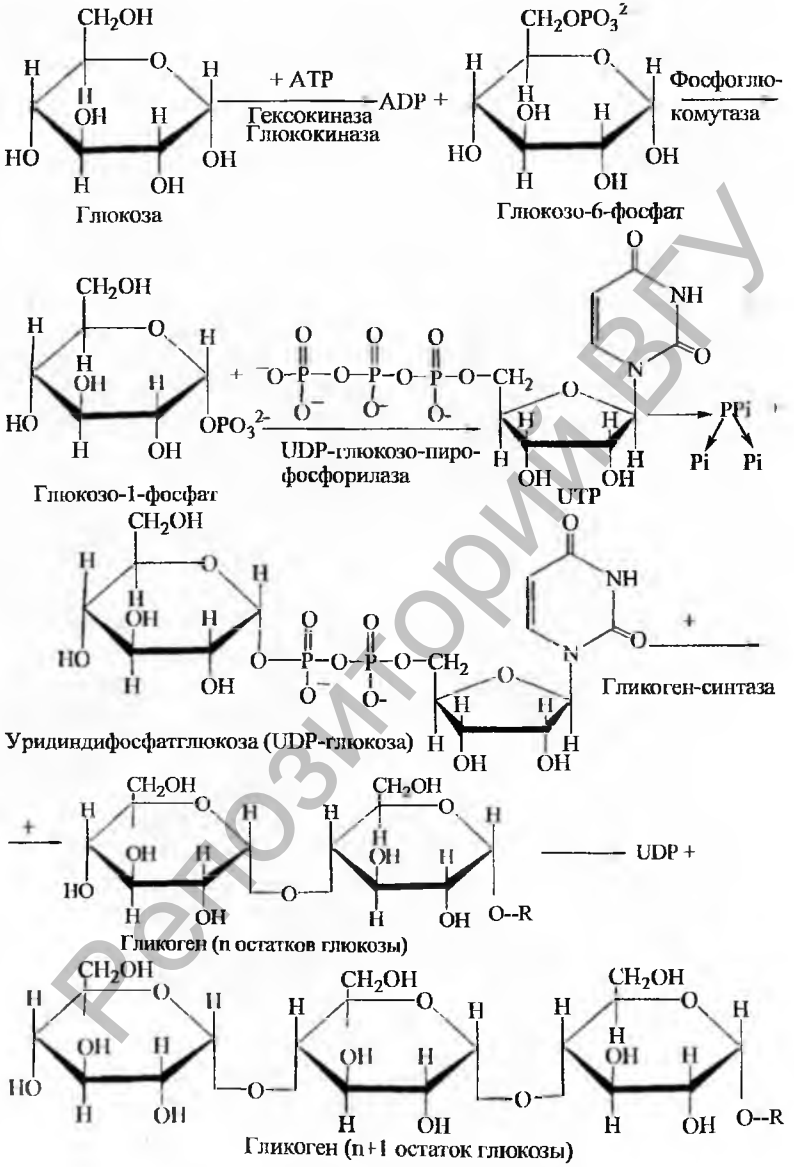
Глюкозо-1-фосфат вступает во взаимодействие UTP с образованием уридиндифосфатглюкозы (UDP-глюкозы). Реакцию катализирует UDP-глюкозо-пирофосфорилаза. Реакция легко обратима, но второй продукт реакции – пирофосфат, образовавшийся из UTP, подвергается действию неорганической пирофосфатазы и гидролизуется в неорганический ортофосфат. Необратимый гидролиз пирофосфата является пусковым механизмом биосинтеза UDP-глюкозы. UDP-глюкоза представляет собой активированную транспортную форму глюкозы. Она выполняет функцию донора глюкозильных остатков в биосинтезе гликогена.

На следующем этапе фермент гликогенсинтаза катализирует перенос глюкозильного остатка от UDP-глюкозы к растущей цепи на гидроксильную группу у 4-го атома углерода нередуцирующего конца гликогена, образуя α(1→4)-гликозидную связь. В этой реакции элонгации UDP в UDP-глюкозе замещается концевой невосстанавливающей гидроксильной группой растущей молекулы гликогена. Для биосинтеза гликогена необходима затравка – α(1→4)-полиглюкозидная цепь, содержащая не менее четырех остатков глюкозы. Однако гликогенсинтаза более активна при использовании затравок с более длинной полиглюкозидной цепью.

В тканях высших животных гликогенсинтаза проявляет наиболее высокую активность, когда донором глюкозильных групп является UDP-глюкоза. Активность фермента падает до 50% при использовании UDP-глюкозы, в то время как у низших организмов предпочтительным субстратом для гликогенсинтазы служит UDP-глюкоза.

В точках ветвления характерна α(1→6)-гликозидная связь, которая обеспечивает ветвистое строение молекулы гликогена. С этой целью имеется специальный фермент ветвления – 1,4→1,6-трансгликозидаза, обладающий высокой специфичностью. Когда растущая цепь достигает более 11 глюкозных остатков, фермент 1,4→1,6-трансгликозидаза катализирует перенос концевого олигосахарида, состоящего из 7–8 глюкозных остатков на гидроксильную группу у 6-го атома углерода той же или другой цепи молекулы гликогена ближе к внутренней части молекулы с образованием α(1→6)-гликозидной связи в точке ветвления. Затем снова включается гликогенсинтаза и процесс повторяется.

Репозиторий ВГУ




Регенерация UTP происходит в результате фосфорилирования за счет ATP. Реакцию катализирует нуклеозид-дифосфокиназа:

Репозиторий ВГУ

$$UDP + ATP \rightarrow UTP + ADP.$$

Новая точка ветвления обычно отдалена от предыдущей не менее чем на четыре остатка глюкозы. Ветвление гликогена повышает его растворимость и скорость биосинтеза и расщепления.

Гликоген является высокоэффективной формой запасания глюкозы. Фосфорилирование молекулы глюкозы и образование гликозидной связи в молекуле гликогена требует затрат 2 АТР. Аэробное окисление 9 молекул глюкозо-1-фосфата и одной молекулы глюкозы дает около 370 АТР, а на включение 10 молекул глюкозы в молекулу гликогена затрачивается 20 АТР. Эффективность запасания гликогена составляет около 95%.

**Регуляция биосинтеза и расщепления гликогена.** Биосинтез и мобилизация гликогена протекают по различным путям. Разделение этих процессов в клетке обеспечивает их строгую регуляцию и гибкость, как в энергетическом, так и в регуляторном плане. Метаболическая активность биосинтеза и расщепление гликогена имеют обратную зависимость.

В регуляции биосинтеза гликогена главную роль играет фермент гликогенсинтаза, а в расщеплении – фосфорилаза. При высокой активности гликогенсинтазы оказывается практически ингибированной фосфорилаза, и наоборот.

Метаболизм гликогена находится под гормонально-метаболическим контролем, где ключевая роль принадлежит гормонам инсулину, глюкагону, адреналину и норадреналину.

Инсулин – гормон белковой природы, секретируемый β-клетками поджелудочной железы. Глюкагон является полипептидным гормоном, секретируемый α-клетками поджелудочной железы. Основной органмишень глюкагона – печень. Катехоламины адреналин и норадреналин секретируются мозговым слоем надпочечников и окончаниями симпатических нервов.

Инсулин повышает скорость синтеза и ингибирует расщепление гликогена в печени и мышцах. Эффекты действия глюкагона, адреналина и норадреналина являются противоположными эффекту инсулина, они стимулируют мобилизацию гликогена.

Действие глюкагона и адреналина опосредуется циклическим AMP (cAMP). Открытие cAMP Эрлом Сазерландом сыграло исключительную роль в расшифровке регуляторных механизмов метаболизма.

Глюкагон и адреналин связываются с рецепторами на цитоплазматических мембранах и активируют фермент аденилатциклазу. Аденилатциклаза катализирует образование cAMP из АТР. Повышение концентрации cAMP в клетке сопровождается аллостерическим активированием протсинкиназы.

Репозиторий ВГУ

cAMP-зависимая протеинкиназа фосфорилирует киназу гликогенсинтазы и фосфорилазы, что лежит в основе координации в биосинтезе и мобилизации гликогена. Киназа катализирует фосфорилирование этих ферментов. В результате фосфорилирования активная глигогенсинтаза, форма ***a*** превращается в неактивную форму ***b***. Фосфорилирование же неактивной фосфорилазы формы ***b*** сопровождается ее превращением в активную форму ***a***.

Изменение активности фосфорилированных форм ферментов может быть осуществлено путем дефосфорилирования под действием фосфатазы. Дефосфорилирование неактивной гликогенсинтазы ***b*** превращает в активную форму ***a***. Активная форма фосфорилазы ***a*** в процессе дефосфорилирования переходит в неактивную форму ***b***. Таким образом, фосфорилирование и дефосфорилирование оказывают противоположно направленное действие на активность гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы.

## 10. МЕТАБОЛИЗМ ЛИПИДОВ

Метаболизм липидов очень важный процесс для высших растений и животных, которые способны запасать значительные количества триацилглицеролов (нейтральных жиров) в качестве энергетических резервов. У животных, находящихся в состоянии покоя, половина необходимой энергии поставляется за счет окисления жирных кислот, составной части липидов.

В организме человека массой в 70 кг энергетические ресурсы в норме приблизительно составляют 565200 кДж в виде триацилглицеролов, 105000 кДж в виде мобилизуемого белка, 2500–6700 кДж в виде гликогена и 170 кДж в виде глюкозы. На триацилглицеролы из общей массы тела приходится 11 кг. Эквивалентная замена по энергии жира на гликоген увеличила бы общую массу тела на 55 кг. Суточная потребность энергии составляет от 6700 кДж в состоянии покоя до 25000 кДж в зависимости от степени активности. Следовательно, энергетического запаса достаточно для обеспечения потребностей организма при голодании в течение 30 - 90 суток. Запас углеводов истощается за первые сутки.

Животные многих различных филогенетических уровней (олени карибу, антарктические и арктические киты) накапливают жир перед длительными миграциями, а во время миграций окисляют его. У животных, пребывающих в спячке, голодающих животных и у перелетных птиц жир является практически единственным источником энергии.

Высокой способностью в использовании липидов мышцами обладают птицы, хорошо адаптированные к быстрому и длительному по-

Репозиторий ВГУ

лету. Некоторые небольшие птички делают перелеты с Новой Англии в Вест-Индию, пролетая над водой без остановки 2400 км со скоростью 40 км/ч на протяжении 60 ч. Золотистая ржанка делает перелеты с Алеутских островов на Гавайские расстоянием около 4000 км над океаном без кормежки в пути. Утки могут много часов подряд лететь со скоростью около 70 км/ч. Необычайно высокая работоспособность летательной мускулатуры наблюдается у крошечного колибри, крылья которого делают 80–100 взмахов в секунду, он совершает перелеты через Мексиканский залив – более 800 км безостановочного полета.

Перелетные птицы перед вылетом становятся тучными. Отложение жира происходит в огромных количествах, достигая 50% общего веса тела. У краснозобого колибри за сутки откладывается около 0,15 г жира на 1 г массы тела. У человека со средней массой 70 кг это соответствовало бы увеличению массы на 10,5 кг в сутки. У перелетных птиц жир депонируется под кожей, в брюшной полости, в мышцах и в печени.

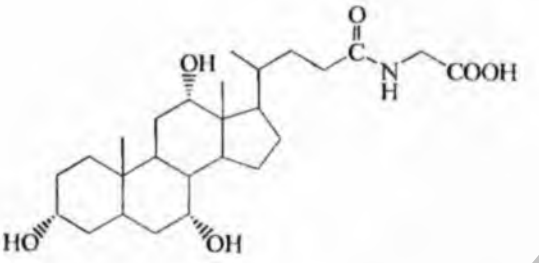
Приведенные данные указывают, что жир является высокоэффективным запасным источником энергии. В жирах запасается в 6 раз больше энергии, чем в гликогене, так как они не содержат воды и углерод находится в более восстановленном состоянии.

Жир является хорошим источником не только энергии, но и метаболической воды. При окислении 1 г жира потребляется 2,019 л кислорода, освобождается 38 кДж энергии и образуется 1,071 г воды, а при окислении 1 г углеводов потребляется 0,828 л кислорода, освобождается 17 кДж энергии и образуется 0,556 г воды. Обитатели пустынь способны выживать сравнительно долгое время за счет эндогенной воды без потребления экзогенной воды. Верблюд запасает в своем горбу значительные количества жира и хотя окисление этого жира не может полностью обеспечить организм водой, но дает больше шансов на выживание в условиях пустыни, чем при окислении углеводов.

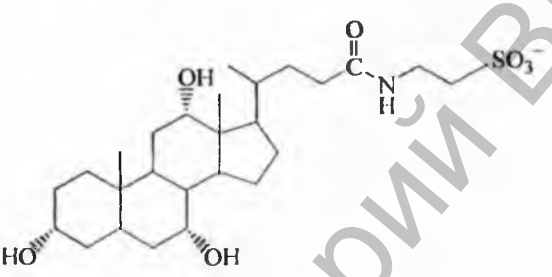
**Переваривание липидов.** Липиды пищи в желудочно-кишечном тракте подвергаются гидролизу под воздействием ферментов липаз, относящихся к классу гидролаз, подклассу эстераз и подподклассу карбоксиэстераз. Пока нет единого мнения в отношении локализации липаз. Имеются указания на наличие липазы в слюне, в желудочном соке новорожденных и молоке, которые могут проявлять свое действие в желудке, расщепляя жир молока, который находится в виде эмульсии.

Основной гидролиз липидов происходит в двенадцатиперстной кишке, куда поступает липаза с пищеварительным соком поджелудочной железы и желчные кислоты с желчью.

Репозиторий БГУ




Гликохолевая кислота

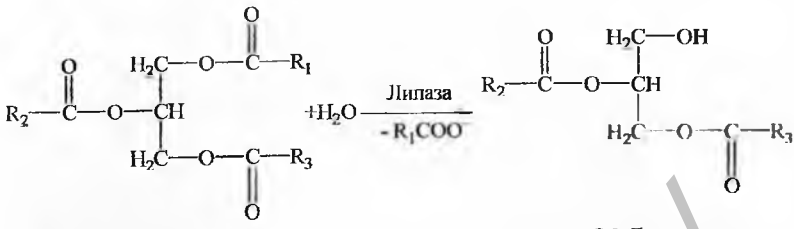



Таурохолевая кислота

В цитоплазме клеток печени происходит синтез холевой и хенодезоксихолевой кислот и образование их конъюгатов с аминокислотами глицином и таурином. Образование этих соединений проходит в два этапа: на первом образуются CoAS-эфиры желчных кислот, а затем следует присоединение глицина или таурина с образованием соответствующих парных желчных кислот, таких, как гликохолевой, таурохолевой и т.д. Эти конъюгаты являются более сильными кислотами и в желчи находятся в виде солей натрия и калия.

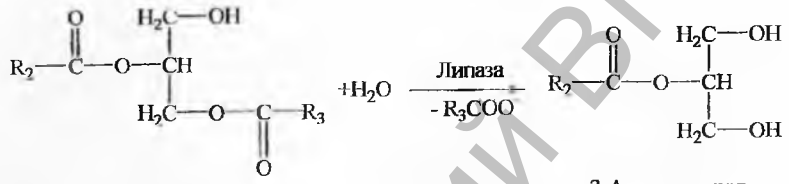
Действие липаз осуществляется на водно-липидной поверхности мицелл. Основные функции солей желчных кислот состоят в эмульгировании жиров, солюбилизации липидов и в образовании мицелл в кишечнике. Желчные кислоты как амфифильные соединения, ориентируясь на границе жир – вода, погружаются гидрофобной частью молекулы в каплю жира, а гидрофильной в воду. Это приводит к эмульгированию жиров и увеличению суммарной поверхности жировых капель. На поверхности мицелл сорбируется липаза, которая осуществляет гидролиз липидов. В триацилглицеролах вначале происходит гидролиз сложноэфирных связей в 1-м и 3-м положениях, а затем во 2-м положении:

Репозиторий ВГУ



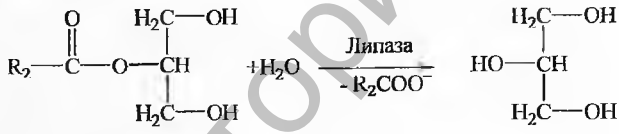

Триацилглицерол

2,3-Диацилглицерол




2,3-Диацилглицерол

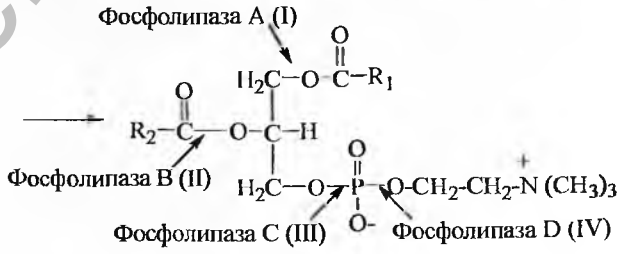
2-Ацилглицерол




2-Ацилглицерол

Глицерол

**Гидролиз фосфоацилглицеролов** катализируют специфические ферменты – фосфолипазы четырех типов, расщепляющих сложноэфирные связи между гидроксильными группами глицерола и жирными кислотами в 1-м и 2-м положениях, фосфоэфирные связи в 3-м положении и фосфоэфирные связи между аминоспиртами и фосфорной кислотой (фосфолипазы A, B, C и D или по-другому фосфолипазы I, II, III, IV).




Фосфатидилхолин

Репозиторий ВГУ

Фосфолипазы содержатся в яде пчел, многих членистоногих, змей и других рептилий. Фосфолипазы ядов змей катализируют гидролиз сложноэфирной связи во 2-м положении с образованием лизофосфолипидов, вызывающих гемолиз эритроцитов. В отличие от ферментов яда рептилий и членистоногих фосфолипазы поджелудочной железы и тканевые фосфолипазы синтезируются в виде проферментов и активируются трипсином.

Основными продуктами гидролиза липидов являются жирные кислоты, 2-моноацилглицеролы, глицерол, неорганический фосфат и аминоспирты. Жирные кислоты и 2-моноацилглицеролы в виде мицелл с желчными кислотами поступают в клетки слизистой тонкого отдела кишечника. Примерно 75% липидов всасывается в виде 2-моноацилглицеролов. В незначительных количествах могут всасываться жиры, не подвергаясь гидролизу. Глицерол хорошо растворяется в воде и легко всасывается слизистой. После всасывания в клетках кишечника происходит ресинтез липидов с образованием специфических липидов, характерных для данного вида, что обусловлено специфичностью ацил-СоА-синтетаз.

Транспорт липидов в плазме крови происходит с участием мельчайших глобулярных частиц липопротеинов четырех типов, где роль солюбилизатора играют белки. В липопротеинах молекулы фосфоацилглицеролов расположены радиально гидрофильной частью к поверхности, а гидрофобной – к центру. Аналогичным образом расположены и молекулы белков. Центр глобулы занимают триацилглицеролы и холестерол. Плотность липопротеинов прямо пропорциональна содержанию белков и обратно пропорциональна содержанию липидов.

Образование хиломикронов происходит в клетках слизистой кишечника, липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) – в клетках слизистой кишечника и печени, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) – в плазме крови и липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) – в гепатоцитах и плазме крови. Хиломикроны и ЛПОНП обеспечивают транспорт триацилглицеролов из кишечника к тканям. В мышечной и жировой тканях они расщепляются липазой липопротеинов. ЛПНП поставляют холестерол в различные ткани. ЛПВП удаляют избыточный холестерол из тканей в печень. ЛПНП снабжают мембраны холестеролом, а ЛПВП извлекают его из клеточных мембран.

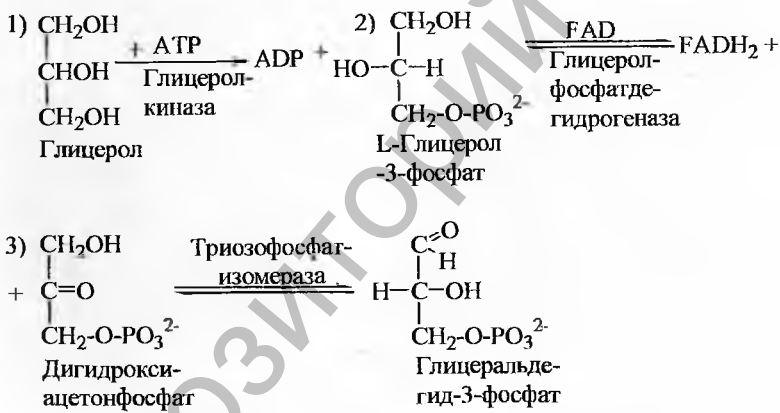
**Липолиз.** Первым и решающим этапом в использовании запасов липидов в организме как источников энергии является их гидролиз с участием специфических тканевых липаз. Гормоны адреналин, норадреналин, глюкагон и адренокортикотропин принимают участие в регуляции липолиза. Гормоны стимулируют аденилатциклазу жировых клеток, которая катализирует образование с-АМР из АТР. с-АМР, являясь посредником между гормонами и ферментами, стимулирует переход неактивной формы протеинкиназы в фосфорилированную активную

Репозиторий БГМУ

форму. Протеинкиназа, в свою очередь, путем фосфорилирования активирует липазу. Таким путем гормоны стимулируют липолиз. Инсулин оказывает ингибирующее действие на липолиз.

В результате липолиза жир расщепляется на глицерол и жирные кислоты. Скорость липолиза регулируется в строгом соответствии со скоростью утилизации свободных жирных кислот, поэтому в клетках не происходит их накопления и других продуктов гидролиза. Глицерол и жирные кислоты метаболизируются своими путями.

**Метаболизм глицерола.** Нейтральная молекула глицерола является метаболически инертной. Метаболизм глицерола начинается с его активирования за счет АТР и превращения в отрицательно заряженную частицу. Реакцию фосфорилирования глицерола катализирует глицеролкиназа с образованием L-глицерол-3-фосфата.




На следующем этапе глицеролфосфатдегидрогеназа катализирует реакцию окисления L-глицерол-3-фосфата с образованием NADH и дигидроксиацетонфосфата.

Триозофосфатизомераза катализирует изомерное превращение дигидроксиацетонфосфата в глицеральдегид-3-фосфат.

Глицеральдегид-3-фосфат может далее метаболизироваться по пути гликолиза до пирувата. Пируват в аэробных условиях под действием пируватдегидрогеназного комплекса превращается в ацетил-CoA, который в цикле трикарбоновых кислот и дыхательной цепи окисляется до $CO_2$ и $H_2O$ с освобождением энергии.

***Энергетика окисления глицерола.*** При окислении глицерола до момента образования ацетил-CoA происходит восстановление одной

Репозиторий БГУ

молекулы FAD в глицеролфосфатдегидрогеназной реакции и двух молекул $NAD^+$ в глицеральдегиддегидрогеназной реакции в результате действия пируватдегидрогеназного комплекса. На уровне субстратного фосфорилирования образуется две молекулы ATP в фосфоглицераткиназной и пируваткиназной реакциях. Окисление ацетил-CoA в цикле трикарбоновых кислот сопровождается образованием трех молекул NADH, одной молекулы $FADH_2$ и молекулы GTP. Пять молекул NADH, окисляясь в дыхательной цепи транспорта электронов, поставляют 15 ATP, 2 $FADH_2$ – 4ATP. С учетом GTP в результате окисления молекулы глицерола образуется 22 ATP, а на его активирование использована одна молекула ATP. Энергетический баланс окисления глицерола составляет 21 молекулу ATP.

В случае высокого энергетического заряда клетки глицеральдегид-3-фосфат и дигидроксиацетонфосфат могут вовлекаться в глюконеогенез. Таким образом, глицерол может быть одним из источников биосинтеза углеводов в организме.

**Катаболизм карбоновых (жирных) кислот.** Тот факт, что в состав липидов входят карбоновые кислоты с четным числом атомов углерода, давало основание предполагать, что разрушение и синтез жирных кислот в организме идет путем отщепления или присоединения двууглеродных фрагментов. Доказательством правильности такого предположения были эксперименты, проведенные Ф. Кнопом в 1904 г. по скармливанию животным кислот, меченных фенилом у ω-углеродного (концевого) атома. Им было установлено, что если кислота была с четным числом атомов углерода, то с мочой выделялась фенилуксусная кислота, а если с нечетным числом атомов углерода, то в моче появлялась бензойная кислота. Для объяснения своих опытов Ф. Кноп выдвинул предположение, что постепенное расщепление кислот происходит путем окисления β-углеродного атома. Эта теория получила название β-окисления. Теория β-окисления Кнопа примерно через полстолетия полностью подтверждена с применением современных методов и получила дальнейшее развитие.

В результате липолиза в цитоплазме появляются карбоновые кислоты, окисление которых происходит в митохондриях.

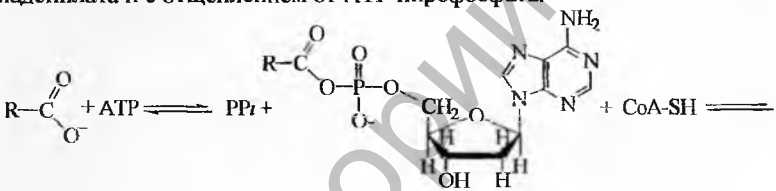
**Стадии окисления жирных кислот.** Процесс окисления жирных кислот включает четыре основные стадии:

1. Активирование кислоты с образованием ацил-CoA.
2. Транспорт ацил-CoA с цитоплазмы в митохондрии.
3. β-Окисление ацил-CoA с образованием ацетил-CoA, $FADH_2$ и NADH.
4. Окисление ацетил-CoA в цикле трикарбоновых кислот и восстановленных коферментов (NADH, $FADH_2$) в дыхательной цепи транспорта электронов.

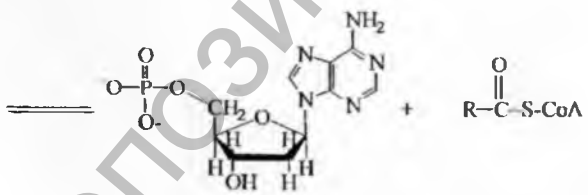
Репозиторий ВГУ

**Активирование карбоновых кислот.** Активирование карбоновых кислот происходит в митохондриональной мембране и катализируется ацил-СоА-синтетазами (тиокиназами жирных кислот). В природе существуют три ацил-СоА-синтетазы, различающиеся субстратной специфичностью. Первая проявляет специфичность к ацетату и пропионату ($C_2 - C_3$), вторая – к кислотам со средней длиной углеродной цепи ($C_4 - C_{12}$), третья специфична к кислотам с большой длиной цепи ($C_{14} - C_{22}$). Вторая и третья ацил-СоА-синтетазы действуют как на предельные, так и непредельные кислоты.

Реакция активирования кислоты, катализируемая ацил-СоА-синтетазой, протекает в митохондриальной мембране. Образование высокоэнергетической тиоэфирной связи между карбоксильной группой кислоты и сульфгидрильной группой СоА происходит за счет энергии АТР. Активирование протекает в два этапа. На первом этапе карбоновая кислота реагирует с АТР с образованием смешанного ангидрида – ациладенилата и с отщеплением от АТР пирофосфата.



Карбоновая кислота Ациладенилат



AMP Ацил-СоА

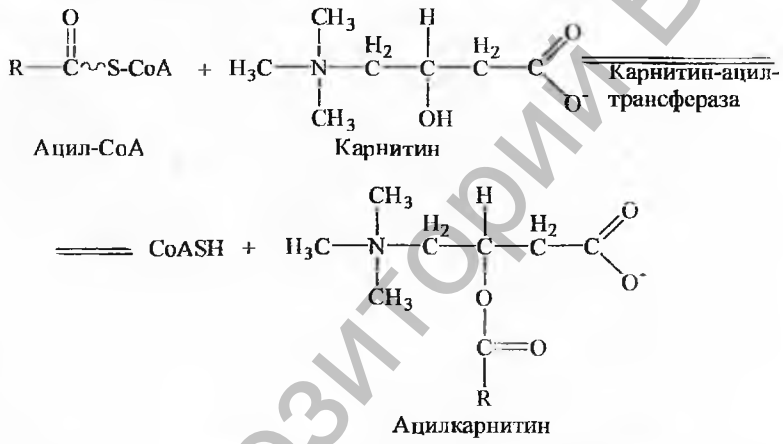
На втором этапе СоА-SH атакует своей сульфгидрильной группой ациладенилат, связанный с ферментом, с образованием ацил-СоА и AMP.

Фермент пирофосфатаза катализирует гидролиз пирофосфата. В результате реакция активирования становится необратимой, так как на образование одной макроэргической связи в молекуле ацил-СоА затрачивается две макроэргические связи АТР. Таким образом, свободные карбоновые кислоты превращаются в активированные высокоэнергетические тиоэфиры СоА.

Репозиторий ВГУ

**Транспорт ацил-СоА в митохондрии.** Активирование карбоновых кислот происходит на наружной митохондриальной мембране, а окисление – в митохондриальном матриксе. Молекулы активированных кислот с длинной углеродной цепью способны проходить через наружную митохондриальную мембрану, но не могут проникать сквозь внутреннюю мембрану митохондрий. Для этого имеется специальный карнитиновый механизм транспорта. Переносчиком ацильной группы служит карнитин. В этом процессе участвуют фермент карнитин-ацилтрансфераза и транспортный белок ацилкарнитин-транслоказа, локализованные на внутренней митохондриальной мембране.

В межмембранном пространстве карнитин-ацилтрансфераза катализирует образование ацилкарнитина:




Ацил-СоА Карнитин Ацилкарнитин

Затем ацилкарнитин-транслоказа способствует переносу ацилкарнитина через внутреннюю мембрану в матрикс. Под действием карнитин-ацилтрансферазы на мембране со стороны матрикса и внутримитохондриального CoA-SH происходит трансацетилирование с образованием ацил-СоА и свободного карнитина. Транслоказа обеспечивает возвращение свободного карнитина в межмембранное пространство. Процесс транспорта ацил-СоА в митохондрии является циклическим. Наличие такого механизма транспорта ацилов через мембрану обеспечивает раздельное использование внемитохондриального и внутримитохондриального CoA-SH.

**β-Окисление ацил-SCoA.** Процесс β-окисления ацил-СоА происходит по нисходящей спирали, включая четыре этапа:

1. FAD – зависимое дегидрирование с участием фермента ацил-SCoA-дегидрогеназы, ведущее к образованию α,β-непредельного ацил-SCoA (еноил-SCoA) и $FADH_2$.

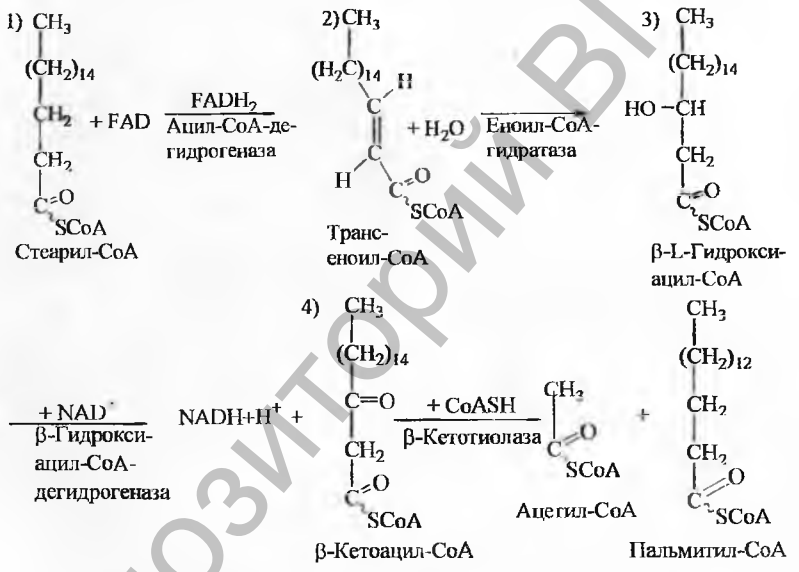
РЕПОЗИТОРИЙ ВГУ

2. Гидратация еноил-SCoA под действием фермента еноил-SCoA-гидратазы с образованием β-гидроксацил-SCoA.

3. $NAD^+$ – зависимое дегидрирование β-гидроксацил-SCoA под действием фермента β-гидроксацил-SCoA-дегидрогеназы, сопровождающееся образованием β-оксоацил-SCoA и NADH.

4. Тиолитическое расщепление (тиолиз), катализируемое β-тиолазой с образованием ацетил-SCoA и ацил-SCoA, укороченного на два атома углерода.

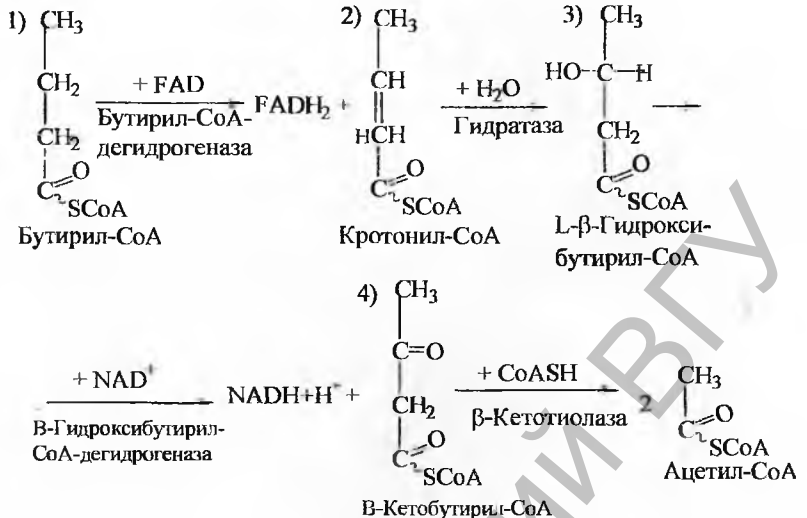
Рассмотрим процесс β-окисления на примере окисления стеарил-CoA:




Дальнейшее повторение витка спирали β-окисления (четырех последовательных реакций) ведет к очередному образованию ацетил-CoSA и укорачиванию углеродной цепи окисляемого ацил-SCoA на два атома углерода. В конечном итоге ацил-SCoA расщепляется до ацетил-SCoA. Полное расщепление стеарил-CoA требует повторения восьми витков.

В каждом витке окисления происходит образование по одной молекуле ацетил-CoA, NADH и $FADH_2$ и использование молекулы воды. Восьмой виток отличается тем, что в результате последней тиолазной реакции образуется две молекулы ацетил-CoA. В этой связи приведены полностью четыре этапа первого и последних витков спирали β-окисления.

Репозиторий ВГУ




Все восемь витков спирали β-окисления стеарил-CoA представлены на схеме (рис. 10.1).

Стехиометрия β-окисления стеарил-CoA:

Стеарил-CoA + 8 FAD + 8 $NAD^+$ + 8 CoASH + 8 $H_2O$ = 9 ацетил-CoA + +8 $FADH_2$ + 8 NADH+ $8H^+$.

Восстановление коферментов происходит на 25% за счет стеарил-CoA, на 25% за счет CoASH и на 50% за счет $H_2O$.

Ацетил-CoA окисляется в цикле трикарбоновых кислот. В результате окисления 9 молекул ацетил-CoA в цикле трикарбоновых кислот образуется 27 NADH и 9 $FADH_2$, 9 молекул GTP (ATP) и 18 молекул $CO_2$.

В итоге в дыхательную цепь транспорта электронов поступает 35 NADH и 17 $FADH_2$ и в процессе окислительного фосфорилирования образуется 139 молекул ATP [(35x3) + (17x2)] = 139. При полном окислении стеарил-CoA с учетом 9 молекул GTP (ATP), образовавшихся на уровне субстратного фосфорилирования в цикле трикарбоновых кислот, синтезируется 148 молекул ATP.

Репозиторий ВГУ

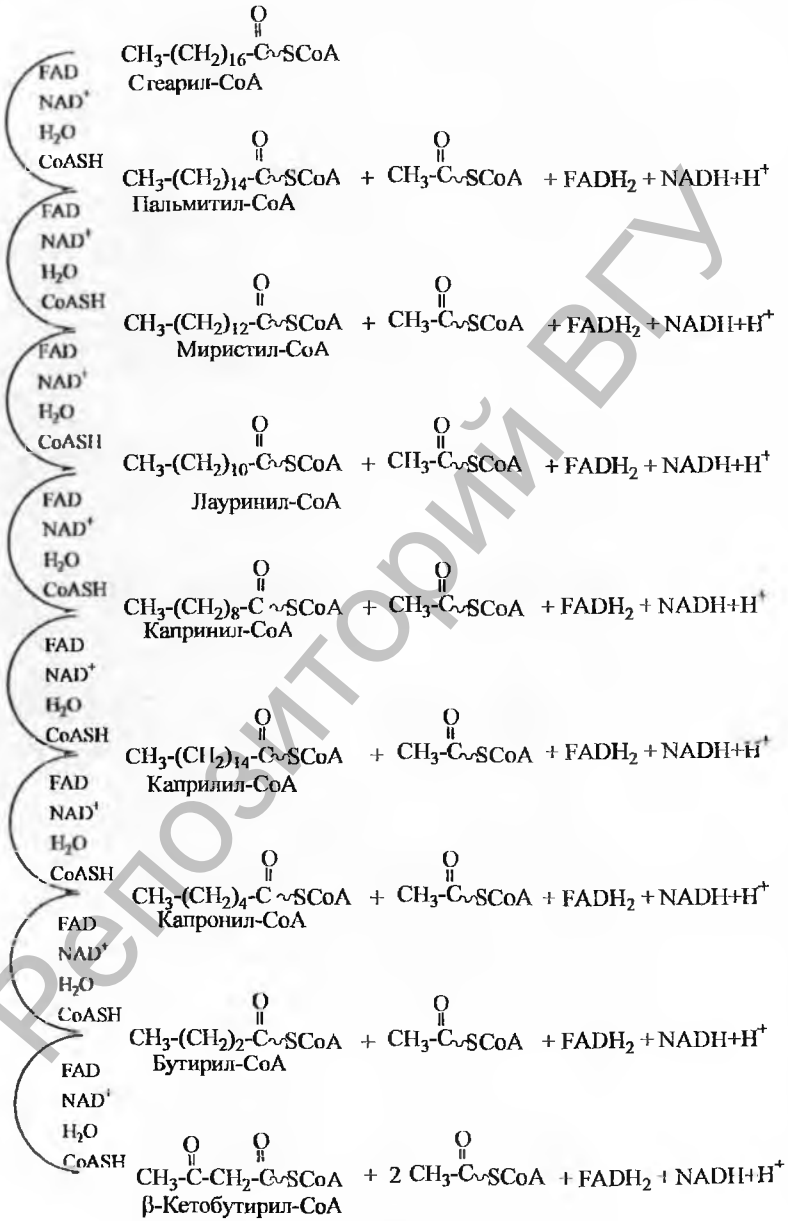



Рис. 10.1. **Схема β-окисления жирных кислот.**

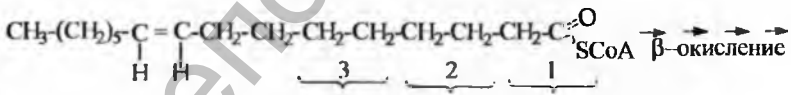
Репозиторий ВГУ

На активирование стеариновой кислоты затрачены две макроэргические связи, и энергетический баланс ее окисления составляет 146 АТР.

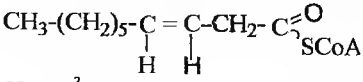
Сравнивая итог окисления стеариновой кислоты (С-18) с окислением трех молекул глюкозы (С-18), в результате которого образуется только 38 х 3 =114 молекул АТР, следует отметить более высокий выход АТР в расчете на атом углерода, связанный со степенью восстановления атомов углерода в молекулах жирных кислот (– $CH_2$ –) по сравнению со степенью восстановления атомов углерода в молекулах углеводов (= CHOH). Окисление жирных кислот сопровождается большим выделением энергии по сравнению с углеводами, так как они имеют более высокую степень восстановленности.

Эффективность запасания энергии при окислении жирных кислот можно рассчитать исходя из количества образовавшихся молекул АТР и свободной энергии окисления кислоты до $CO_2$ и $H_2O$, определяемой калориметрическим путем. Так, например, при окислении пальмитата образуется 129 молекул АТР, стандартная свободная энергия гидролиза которых составляет –3935 кДж. Стандартная свободная энергия окисления палмитата равна –9796 кДж. Эффективность накопления энергии в АТР при окислении жирных кислот составляет 40%.

**Особенности окисления непредельных кислот.** Окисление непредельных кислот протекает по тем же стадиям, что и предельных. Активирование и транспорт через внутреннюю митохондриальную мембрану происходит таким же образом, как и предельных кислот (стеариата, пальмитата и др.). Для β-окисления непредельных кислот с двойными связями в цис-положении необходимы два дополнительных фермента – цис-транс-изомераза и эпимераза. Особенности β-окисления непредельных кислот удобнее рассмотреть вначале на пальмитолеил-СоА, содержащей одну двойную связь в 9-положении ($\Delta^9$).




Пальмитолеил-СоА (цис-$\Delta^9$-еноил-СоА)



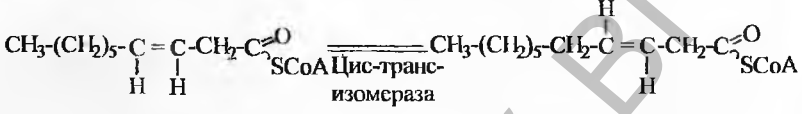

Цис-$\Delta^3$-еноил-СоА

β-Окисление пальмитолеил-СоА (цис-$\Delta^9$-еноил-СоА) проходит по тем же этапам, катализируемым теми же ферментами, что и окисление предельных кислот. Таким образом осуществляется три витка β-спирали

Репозиторий ВГУ

с образованием трех молекул ацетил-CoA, трех молекул NADH и $FADH_2$ и цис-$\Delta^3$-еноил-CoA, укороченного на шесть атомов углерода.

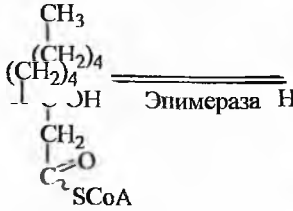
Цис-$\Delta^3$-еноил-CoA, который образовался на третьем витке спирали, не может быть субстратом для FAD-зависимой ацил-CoA-дегидрогеназы, так как двойная связь в С-3, С-4 (β,γ)-положении не позволяет образование двойной связи в С-2, С-3 (α,β)-положении. Для гидратазы необходима двойная связь в С-2, С-3 (α,β)-положении. С этой целью фермент цис-транс-изомераза катализирует двойную изомеризацию и изменяет положение и геометрию двойной связи:




Цис-Δ3-еноил-CoA Транс-Δ2-еноил-CoA

Дальнейшая деградация транс-$\Delta^2$-еноил-CoA происходит путем обычного β-окисления.

В случае окисления линоленовой кислоты, содержащей 18 атомов углерода и цис-двойные связи в 9 и 12 положениях, три первых витка спирали β-окисления приведут к образованию непредельной кислоты с 12 атомами углерода и цис-двойными связями в 3 и 6 положениях. Это соединение также не может быть субстратом ни для FAD-зависимой дегидрогеназы, ни для гидратазы в ходе β-окисления. Цис-транс-изомераза катализирует двойную изомеризацию по третьему атому углерода, изменяя положение и геометрию двойной связи. После этого процесс β-окисления возобновляется и еще через два витка образуется непредельная кислота с двойной связью в С-2, С-3 (α,β)-связью, гидратация которой ведет к образованию D-β-гидрокси-ацил-CoA. NAD-зависимая дегидрогеназа не может окислять D-β-гидрокси-ацил-CoA. Поэтому второй дополнительный фермент – эпимераза катализирует превращение D-формы в L-форму:




D-β-Гидрокси-
ацил-CoA

L-β-Гидрокси-
ацил-CoA

Репозиторий ВГУ

После реакции эпимеризации β-окисление протекает обычным путем с образованием NADH, $FADH_2$ и ацетил-CoA.

**Окисление жирных кислот с нечетным числом атомов углерода.** Жирные кислоты с нечетным числом атомов углерода в природе встречаются редко и катаболизм их протекает по тем же стадиям, что и с четным числом атомов углерода. Они активируются с образованием ацил-CoA за счет энергии ATP, транспортируются в митохондрии с участием карнитинового челночного механизма и затем подвергаются β-окислению. На предпоследнем витке спирали β-окисления происходит образование ацил-CoA с пятью атомами углерода (валерианил-CoA), а на последнем витке β-окисления в результате тиолазной реакции валерианил-CoA расщепляется на ацетил-CoA и пропионил-CoA. Кроме того, пропионил-CoA образуется в ходе катаболизма аминокислот метионина, треонина и изолейцина.

Метаболизм пропионил-CoA связан с превращением его в сукцинил-CoA в результате следующих процессов:

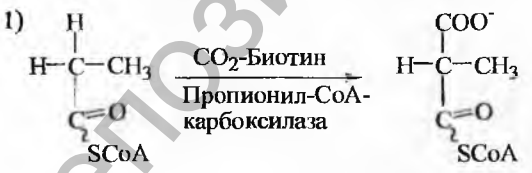
1) биотин-зависимого карбоксилирования;

2) эпимеризации;

3) витамин $B_{12}$-зависимой перегруппировки.

Сукцинил-CoA является тем соединением («пунктом входа»), в виде которого происходит включение пропионил-CoA в цикл трикарбоновых кислот.

На первом этапе происходит карбоксилирование пропионил-CoA за счет энергии ATP с образованием D-метилмалонил-CoA. Реакцию катализирует фермент пропионил-CoA карбоксилаза:

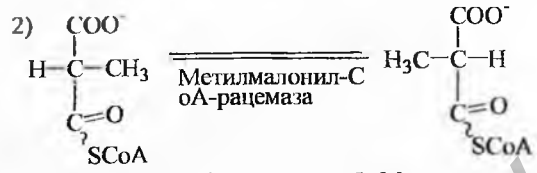



Пропионил-CoA D-Метилмалонил-CoA

Механизм катализа пропионил-CoA-карбоксилазной реакции сходен с механизмом пируват-карбоксилазной и ацетил-CoA-карбоксилазной реакций.

На втором этапе происходит рацемизация D-метилмалонил-CoA в L-метилмалонил-CoA. Реакцию катализирует фермент метилмалонил-CoA-рацемаза:

Репозиторий БГМУ




D-Метилмалонил-СоА L-Метилмалонил-СоА

Третий этап характеризуется внутримолекулярной перегруппировкой L-метилмалонил-СоА с образованием сукцинил-СоА. Эту необычную реакцию изомеризации катализирует кофермент $B_{12}$ (5'-дезоксиаденозилкобаламин)-зависимая метилмалонил-СоА-мутаза:

L-Метилмалонил-СоА Сукцинил-СоА

Образование сукцинил-СоА из L-метилмалонил-СоА происходит в результате миграции группы CO SCoA от второго атома углерода к третьему в обмен на атом водорода. Далее сукцинил-СоА как метаболит цикла трикарбоновых кислот принимает участие в субстратном фосфорилировании с образованием GTP и сукцината. Сукцинат, после превращения в оксалоацетат, может включаться в глюконеогенез. Таким образом, из пропионил-СоА синтезируется глюкоза. Этот процесс играет очень важную роль в организме жвачных животных. В результате сбраживания углеводов в преджелудках, наряду с другими кислотами, происходит образование пропионовой кислоты, которая после всасывания превращается в сукцинил-СоА.

**Метаболизм кетоновых тел.** К кетоновым телам относят β-кетобутират, β-D-гидроксибутират и ацетон. Термин «кетоновые тела» неудачный с нескольких точек зрения, и особенно с химической, так как β-D-гидроксибутират не содержит кетогруппы.

Впервые кетоновые тела обнаружены в 1883–1884 гг. в моче больных сахарным диабетом. По этой причине утвердилось ложное мнение, что кетоновые тела являются бесполезными недоокисленными продуктами метаболизма жиров и накапливаются в крови только в случаях патологии.

В 30-е годы прошлого столетия было установлено, что кетоновые тела могут подвергаться окислению в отдельных органах и тканях.

Репозиторий ВГУ

В этой связи возникло предположение, что β-кетобутират и β-D-гидроксибутират являются удобной формой утилизации жира в этих тканях. Однако, вопрос о метаболической роли кетоновых тел оказался на втором месте из-за огромного интереса к исследованию регуляции метаболизма и роли жирных кислот плазмы крови при голодании, концентрация которых увеличивается, усиливается их расщепление и они выполняют роль основного энергетического топлива при голодании.

В обзоре, опубликованном в 1968 г., Гревилле и Тубс писали: «Совершенно не ясно, какую пользу извлекает организм животного из кетогенеза при голодании – можно ли считать, что печень добывает для остальных тканей «манну небесную» или просто оставляет им отбросы?»

В последующие годы постепенно накапливались результаты исследований о роли кетоновых тел в поддержании энергетического гомеостаза в организме. Было установлено, что они являются важным «респираторным» топливом для мышц и мозга и действуют как часть регуляторного механизма с обратной связью, предотвращая чрезмерную мобилизацию жирных кислот из жировой ткани.

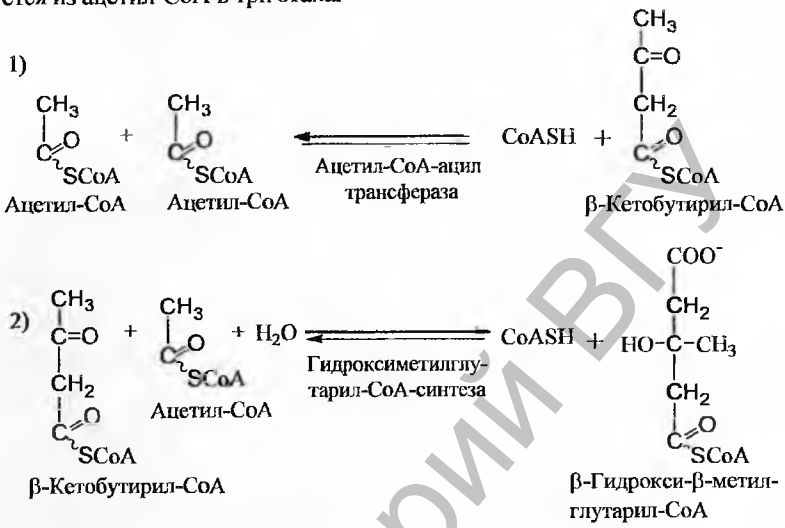
Ацетил-СоА, образовавшийся при β-окислении жирных кислот, окисляется в цикле трикарбоновых кислот при соответствующей сбалансированности метаболизма жиров и углеводов. Крылатая фраза «Жиры горят в пламени углеводов» имеет молекулярную основу. Окисление ацетил-СоА в цикле трикарбоновых кислот определяется наличием оксалоацетата. При недостатке углеводов или при нарушении их использования концентрация оксалоацетата снижается. В случае голодания или диабета оксалоацетат расходуется на биосинтез глюкозы. В таких условиях, и особенно когда преобладает расщепление жиров, метаболизм ацетил-СоА отклоняется в сторону биосинтеза β-кетобутирата и β-D-гидроксибутирата.

Печень многих позвоночных животных и человека способна избыток ацетил-СоА превращать в β-кетобутират и β-D-гидроксибутират. Раньше считали, что β-кетобутират и β-D-гидроксибутират являются недоокисленными продуктами жирных кислот. Ошибочность этих представлений стала очевидной после того, как было показано, что промежуточными метаболитами окисления жирных кислот являются производные СоА. Кроме того, β-гидроксибутирил-СоА, образующийся в печени при β-окислении жирных кислот, имеет L-конфигурацию, в то время как β-гидроксибутират представляет собой D-изомер.

**Кетогенез.** По современным представлениям кетоновые тела являются продуктами, главным образом, специфического биосинтетического гидроксиметилглутарил-СоА цикла (цикл Линена), который про-

Репозиторий ВГУ

текает в печени в митохондриальном матриксе. β-Кетобутират образуется из ацетил-СоА в три этапа.



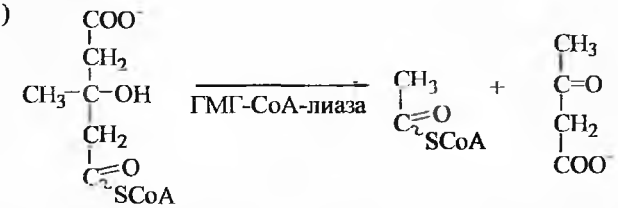

На первом этапе из двух молекул ацетил-СоА при участии фермента ацетил-СоА-трансферазы (β-кетотиолазы) происходит образование β-кетобутирил-СоА. Эта реакция термодинамически не выгодна и ее равновесие сдвинуто в сторону расщепления β-кетобутирил-СоА и представляет собою обращение тиолазной реакции β-окисления жирных кислот. Поэтому образование β-кетобутирил-СоА происходит только при высокой концентрации ацетил-СоА. Концентрация поддерживается на очень низком уровне по причине высокой скорости вовлечения его в реакцию конденсации с очередной молекулой ацетил-СоА с образованием β-гидрокси-β-метилглутарил-СоА. Неблагоприятное равновесие в образовании β-кетобутирил-СоА компенсируется равновесием этой реакции, обусловленной гидролизом тиэфирной связи при образовании β-гидрокси-β-метилглутарил-СоА. Реакцию катализирует высокоактивный фермент – гидроксиметилглутарил-СоА-синтаза.

По своей химической природе эта реакция аналогична образованию цитрата в результате конденсации оксалоацетата и ацетил-СоА под действием цитратсинтазы в цикле трикарбоновых кислот.

Образовавшийся β-гидрокси-β-метилглутарил-СоА расщепляет фермент гидроксиметилглутарил-СоА-лиаза (ГМГ-лиаза) на ацетил-СоА и β-кетобутират.

Репозиторий ВГУ

3)



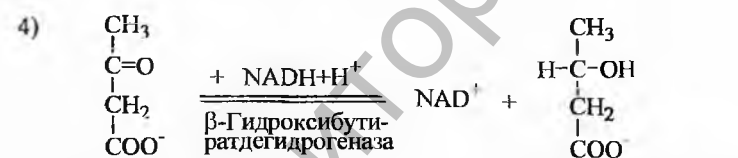
β-Гидрокси-β-метилглутарил-CoA (ГМГ-CoA) ГМГ-CoA-лиаза Ацетил-CoA β-Кетобутират

Суммарная реакция биосинтеза β-кетобутирата в цикле Линена может быть представлена в следующем виде:

$$2 \text{ ацетил-CoA} + H_2O \longrightarrow \beta\text{-кетобутират} + 2\ CoA\text{-}SH + H^+$$

В митохондриальном матриксе печени имеется высокоактивная β-гидроксибутиратдегидрогеназа, катализирующая реакцию восстановления β-кетобутирата до D-β-гидроксибутирата. Фермент специфичен к D-стереоизомеру и не действует на CoA-производные.

4)



β-Кетобутират β-Гидроксибутиратдегидрогеназа β-D-Гидроксибутират

Отношение β-D-гидроксибутирата к β-кетобутирату определяется отношением [NADH]/[$NAD^+$] в митохондриях печени. Реакцию восстановления β-кетобутирата до D-β-гидроксибутирата следует рассматривать как способ частичного предотвращения ацидоза.

В 1959 г. Стерн и Мюллер предложили более простой механизм образования β-кетобутирата путем прямого отщепления CoA-SH от β-кетобутирил-CoA:

$$\beta\text{-Кетобутирил-CoA} \xrightarrow{\text{Деацилаза}} \beta\text{-Кетобутират} + CoA\text{-}SH$$

Образование β-кетобутирата путем прямого деацилирования происходит в незначительных масштабах, т.к. Km фермента деацилазы для β-кетобутирил-CoA высокая, а концентрация его в печени очень низкая.

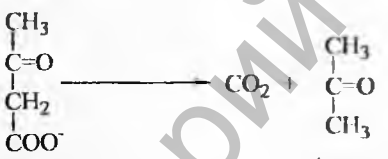
Репозиторий ВГУ

Активность деацилазы в печени составляет менее 20% максимальной скорости кетогенеза.

В некоторых тканях (сердечная мышца, почки), несмотря на отсутствие цикла Линена, кетоновые тела образуются при поступлении в эти ткани в высоких концентрациях предшественников ацетил-СоА и в частности бутирата. Внепеченочный кетогенез объясняют повышенной внутриклеточной концентрацией ацетил-СоА, в результате чего происходит образование β-кетобутирата в ходе реакций, катализируемых ферментами в обратном направлении утилизации.

Кроме того, источником β-кетобутирата может быть метаболизм таких аминокислот, как лейцин, фенилаланин и тирозин, особенно при избыточном потреблении белка.

β-Кетобутират при высокой концентрации может спонтанно декарбоксилироваться до ацетона:



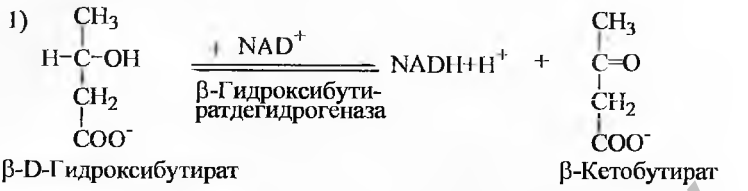

β-Кетобутират Ацетон

**Катаболизм β-D-гидроксибутирата и β-кетобутирата.** Основным органом, где происходит кетогенез, является печень. β-D-Гидроксибутират и β-кетобутират из митохондрий печени поступают в кровь. Кровью переносятся к периферическим тканям, где они используются в качестве респираторного топлива и являются важными источниками энергии. Так, сердечная мышца и корковый слой почек предпочтительно используют β-кетобутират, а не глюкозу. В нормальных условиях мозг использует глюкозу, однако при голодании и диабете он легко адаптируется к β-кетобутирату. У лиц с ожирением при длительном голодании (5–6 недель) 75% энергетических затрат мозга восполняется за счет окисления β-D-гидроксибутирата и β-кетобутирата.

При голодании содержание глюкозы снижается на 20–30%, а концентрация жирных кислот и кетоновых тел увеличивается соответственно в 5 и 10 раз, это указывает, что кетоновые тела более эффективно конкурируют с глюкозой, чем жирные кислоты.

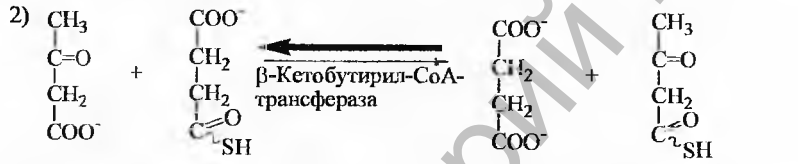
Использование β-D-гидроксибутирата начинается с его окисления до β-кетобутирата под действием фермента β-гидроксибутиратдегидрогеназы:

Репозиторий ВГУ




β-D-Гидроксибутират β-Кетобутират

Утилизация β-кетобутирата происходит с участием двух ферментативных систем. Активность тиокиназы в мозге очень низка. Поэтому активирование β-кетобутирата происходит не в результате АТР-зависимой тиокиназной реакции с CoASH, а вследствие ацилтиоэфирного обмена с участием сукцинил-SCoA. Реакцию катализирует специфическая CoA-трансфераза:




β-Кетобутират Сукцинил-CoA Сукцинат β-Кетобутирил-CoA

В трансферазной реакции равновесие смещено влево, а в кетотиолазной – вправо. Сопряжение этих двух процессов обеспечивает преодоление неблагоприятного положения равновесия трансферазной реакции.

β-Кетобутирил-CoA Ацетил-CoA

Ацетил-CoA включается в цикл трикарбоновых кислот, а восстановленные коферменты в дыхательную цепь транспорта электронов. Конечными продуктами окисления являются $CO_2$, $H_2O$ и энергия, которая аккумулируется в АТР.

***Энергетический баланс окисления β-кетобутирата и β-D-гидроксибутирата.*** β-Кетобутират превращается до 2 молекул ацетил-CoA, которые окисляясь в цикле трикарбоновых кислот и в дыхательной цепи транспорта электронов дают по 12 АТР каждая. Итак, 24 мо-

Репозиторий БГУ

лекулы АТР образуется. На активирование β-кетобутирата одна макроэргическая связь затрачивается в виде сукцинил-СоА. Энергетический баланс окисления β-кетобутирата составляет 23 молекулы АТР.

Окисление β-D-гидроксибутирата до β-кетобутирата сопровождается образованием NADH, а далее β-кетобутират превращается до 2 молекул ацетил-СоА. Как и в первом случае, в результате их окисления и окислительного фосфорилирования образуется 24 молекулы АТР. Дополнительная молекула NADH поставляет 3 молекулы АТР. При окислении β-D-гидроксибутирата образуется 27 молекул АТР, одна макроэргическая связь затрачивается. Энергетический баланс составляет 26 молекул АТР.

β-Кетобутират и D-β-гидроксибутират представляют собой водорастворимую транспортную форму жирных кислот. Возникает вопрос: почему жирные кислоты должны превращаться в кетоновые тела, а затем окисляться в мышцах? Жирные кислоты могут окисляться непосредственно в мышцах. Ответ на этот вопрос следует искать, во-первых, в токсичности высоких концентраций жирных кислот в крови, и, во-вторых, в том, что жирные кислоты не могут использоваться тканью мозга.

Кетоновые тела обладают антилиполитическим действием, в чем и проявляется их регуляторная роль. Функционирует регуляторный механизм обратной связи, который предотвращает избыточное накопление в плазме крови жирных кислот, что очень важно в виду их токсичности. Кетоновые тела могут оказывать прямое ингибирование липолиза в жировой ткани и непрямое ингибирование через стимуляции секреции инсулина поджелудочной железой.

Кетогенез интенсивно протекает у жвачных животных и людей, больных сахарным диабетом. При нарушении соотношения между биосинтезом и утилизацией кетоновых тел в организме происходит их накопление (кетоз). Различают физиологический кетоз при содержании кетоновых тел в крови около 2 ммоль/л и патологический кетоз при содержании 20–30 ммоль/л кетоновых тел. Появление кетоновых тел в моче называется кетонурией. Выделение кетоновых тел с мочой происходит в виде солей натрия и калия, что ведет к нарушению электролитного равновесия в организме.

**Биосинтез липидов**. Для биосинтеза триацилглицеролов необходимы глицерол и жирные кислоты. Эти составные компоненты легко образуются из углеводов.

**Биосинтез жирных кислот**. Биосинтез жирных кислот, в общем, происходит по той же схеме, что и окисление, но в противоположном направлении. Однако, метаболический путь биосинтеза жирных кислот представляет собой новую совокупность ферментативных реакций и не

Репозиторий ВГУ

является обращением их окисления. Между биосинтезом и окислением жирных кислот имеется ряд особенностей, различающих эти процессы.

Особенности биосинтеза жирных кислот по сравнению с их окислением состоят в следующем:

1. Основным отличием биосинтеза является то, что он осуществляется в трех различных частях клетки: ***в цитоплазме, эндоплазматическом ретикулуме*** и ***митохондриях***. В цитоплазме происходит биосинтез предельных кислот до пальмитата ($C_{16}$). В митохондриях осуществляется дальнейшее наращивание цепи. В ретикулуме предельные кислоты превращаются в непредельные и происходит удлинение углеродной цепи. Окисление же жирных кислот протекает в митохондриальном матриксе.

2. Промежуточные метаболиты биосинтеза жирных кислот активированы ацилпереносящим белком – АПБ-SH, а при окислении – CoA-SH.

3. Ферменты синтеза жирных кислот у высших организмов объединены в мультиферментный комплекс, называемый синтетазой жирных кислот. Ферменты окисления не склонны к ассоциации.

4. Элонгация (рост цепи) жирных кислот происходит путем последовательного присоединения двухуглеродных фрагментов, происходящих из ацетил-СоА. Активированным донором двухуглеродных компонентов на стадии элонгации служит малонил-АПБ. Реакция элонгации запускается декарбоксилированием малонил-АПБ.

5. В процессе биосинтеза роль восстановителя выполняет NADPH.

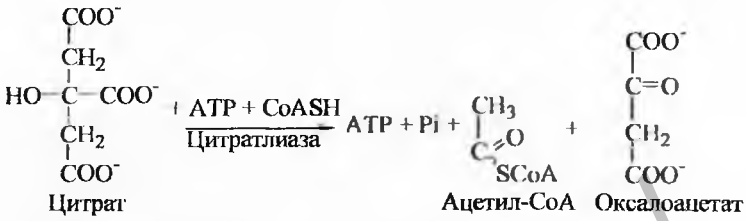
6. Элонгация под действием комплекса синтетазы жирных кислот происходит до образования пальмитата (С–16). Дальнейшая элонгация и введение двойных связей осуществляется другими ферментативными системами.

Роль исходного метаболита в биосинтезе жирных кислот выполняет ацетил-СоА, главным источником которого, наряду с β-окислением, является гликолиз. В ходе гликолиза образуется пируват. Пируват под действием пируватдегидрогеназного комплекса в результате окислительного декарбоксилирования превращается в ацетил-СоА.

Образование ацетил-СоА происходит в митохондриях, а биосинтез высокомолекулярных кислот – в цитозоле. Митохондриальная мембрана малопроницаема для свободной диффузии ацетил-СоА. По этой причине требуется транспорт ацетил-СоА из митохондрий в цитозоль. Транспорт ацетил-СоА из митохондрий в цитоплазму осуществляют две транспортные системы:

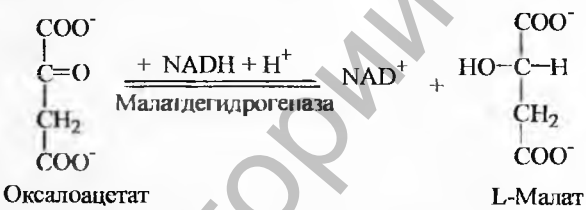
1. Цитрат, образовавшийся в митохондриях в цитратсинтазной реакции, диффундирует из митохондрий в цитоплазму, где под действием фермента цитратлиазы расщепляется до ацетил-СоА и оксалоацетата:

Репозиторий БГУ

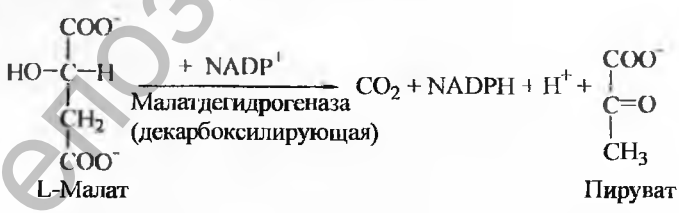



Оксалоацетат затем должен быть возвращен в митохондрии. Внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для оксалоацетата. По этой причине в цитоплазме используются две реакции, осуществляющие обход этого препятствия.

Вначале малатдегидрогеназа катализирует реакцию восстановления оксалоацетата до малата:

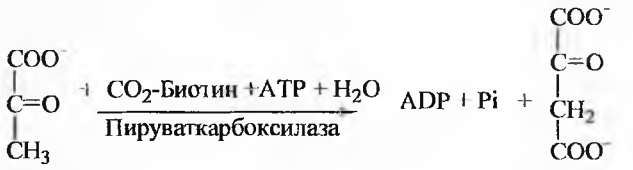



Затем $NADP^+$-зависимая малатдегидрогеназа (декарбоксилирующая) катализирует декарбоксилирование малата и восстановление $NADP^+$ с образованием пирувата и NADPH:




Образовавшийся в цитоплазме пируват легко диффундирует в митохондрии, где под действием пируваткарбоксилазы превращается в оксалоацетат:

Репозиторий ВГУ




Пируват Оксалоацетат

Суммируя три вышеприведенные реакции, получаем уравнение:

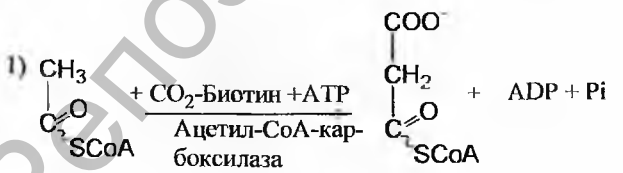
$$NADP^+ + NADH + H^+ + ATP + H_2O \longrightarrow NADPH + H^+ + NAD^+ + ADP + Pi$$

Следовательно, на каждую перенесенную из митохондрий в цитоплазму молекулу ацетил-СоА, образуется одна молекула NADPH.

2. Ацил-карнитиновая транспортная система в этом процессе выполняет вспомогательную роль.

Биосинтез высокомолекулярных карбоновых кислот состоит из ***подготовительной стадии*** и ***основной***. Подготовительная стадия включает три реакции, а основная стадия представлена в виде возрастающей спирали элонгации, каждый виток которой включает четыре этапа.

Решающим этапом в подготовительной стадии является образование малонил-SCoA, выполняющего роль активированного донора двухуглеродных фрагментов. Образование малонил-СоА происходит в результате карбоксилирования ацетил-СоА. АТР-зависимую реакцию карбоксилирования катализирует ферментативная система, называемая ацетил-СоА-карбоксилазой, простетической группой которой является биотин, ковалентно связанный с ε-аминогруппой остатка лизина белка-фермента.




Ацетил-SCoA Малонил-SCoA

Ацетил-СоА–карбоксилазная реакция является необратимой и протекает в два этапа. Вначале за счет энергии АТР происходит образование промежуточного продукта карбоксибиотина, связанного с ферментом:

$$Биотин\text{-}фермент + ATP + CO_2 = CO_2\sim Биотин\ фермент + ADP + Pi$$

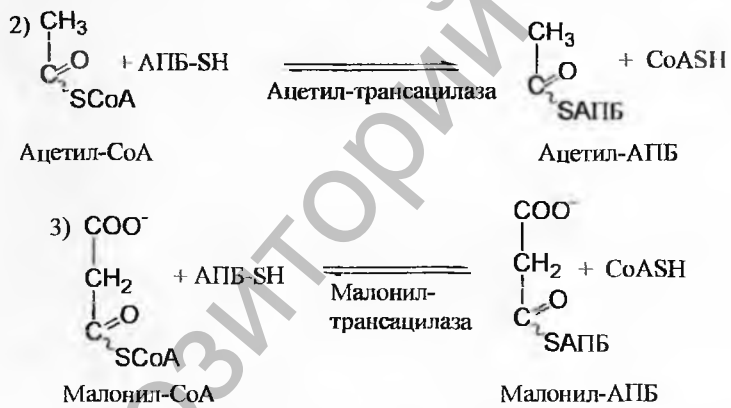
Репозиторий ВГУ

Затем активированная $CO_2$-группа переносится на ацетил-СоА с образованием малонил-СоА:

$CO_2$~Биотин-фермент+Ацетил-СоА = Малонил-СоА + Биотин-фермент

В результате реакции карбоксилирования углерод метильной группы ($-CH_3$) ацетил-СоА активируется путем превращения в более реакционноспособную метиленовую группу ($-CH_2-$). Все молекулы ацетил-СоА, принимающие участие в биосинтезе, за исключением одной, таким образом превращаются в малонил-СоА.

В процессе элонгации принимают участие производные HS-АПБ, поэтому происходит замещение СоА-SH на HS-АПБ в ходе двух отдельных реакций трансацилирования. Во второй реакции из ацетил-СоА образуется ацетил-АПБ, а в третьей из малонил-СоА – малонил-АПБ.




Стадия элонгации протекает по типу возрастающей спирали, каждый виток которой включает четыре этапа:

1. Конденсация ацил-АПБ (n С) с малонил-АПБ и образованием 3-оксоацил-АПБ.

2. Восстановление 3-оксоацил-АПБ за счет NADPH и образованием D-3-гидроксиацил-АПБ.

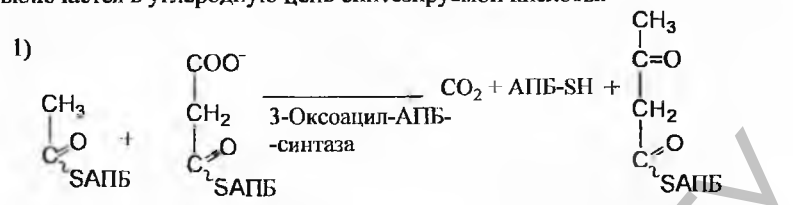
3. Дегидратация D-3-гидроксиацил-АПБ с образованием транс-$\Delta^2$-еноил-АПБ.

4. Восстановление транс-$\Delta^2$-еноил-АПБ NADPH с образованием ацил-АПБ с увеличением растущей цепи на два атома углерода (n+2 С).

На первом этапе происходит конденсация ацетил-СоА с малонил-СоА. Пусковым механизмом реакции является декарбоксилирование

Репозиторий БГУ

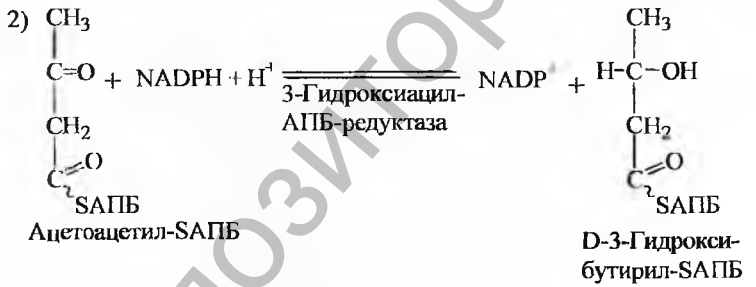
малонил-СоА. Поэтому углерод карбоксильной группы никогда не включается в углеродную цепь синтезируемой кислоты.



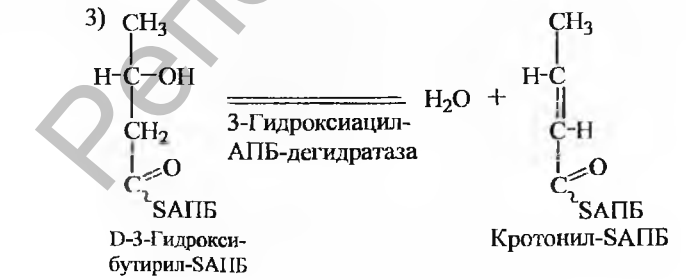

Ацетил-SАПБ Малонил-SАПБ Ацетоацетил-SАПБ

Вместо карбоксильной группы происходит присоединение ацетильного остатка от ацетил-АПБ и освобождение АПБ-SH. В результате реакции образуется ацетоацетил-SАПБ. Единственная молекула ацетил-SАПБ, необходимая для синтеза жирной кислоты, служит затравкой (или инициатором) биосинтеза.

Роль следующих трех этапов заключается в восстановлении оксогруппы (= C = O) у 3-го атома углерода в метиленовую группу (–$CH_2$–), что сопровождается превращением оксокислоты в предельную кислоту.

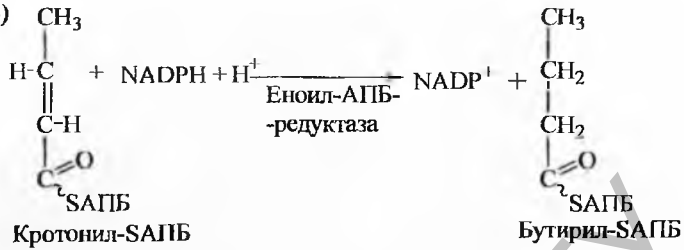



Ацетоацетил-SАПБ D-3-Гидрокси-бутирил-SАПБ




D-3-Гидрокси-бутирил-SАПБ Кротонил-SАПБ

Репозиторий ВГУ

4) 

Кротонил-SАПБ Бутирил-SАПБ

Образование бутирил-АПБ завершает первый из семи витков спирали, в каждом из которых двухуглеродный фрагмент малонил-АПБ соединяется с ацильным остатком ацил-АПБ растущей цепи жирной кислоты. При этом отщепляется молекула АПБ-SH и карбоксильная группа малонил-АПБ.

На втором витке биосинтеза бутирил-АПБ вступает в реакцию конденсации со вторым малонильным фрагментом ($C_2$) с образованием $C_6$-3-оксоацил-АПБ. Повторение четырех реакций второго витка спирали приведет к образованию капронил-АПБ.

Седьмой виток спирали заканчивается образованием пальмитил-АПБ, который не может служить субстратом в 3-оксоацил-АПБ-синтазной реакции, и происходит гидролиз пальмитил-АПБ с образованием АПБ-SH и свободного пальмитата.

Суммарно этот процесс можно представить в следующем виде:

$$\text{Ацетил-АПБ} + 7\ \text{Малонил-АПБ} + 14\ NADPH + 14H^+ + H_2O =$$
$$= \text{Пальмитат} + 8\ \text{АПБ-SH} + 7\ CO_2 + 14\ NADP^+$$

Пальмитат активируется тиокиназой и превращается в пальмитил-SCoA.

Для биосинтеза пальмитата требуется 14 NADPH и перенос восьми молекул ацетил-СоА в цитоплазму. В результате транспорта 8 молекул ацетил-СоА с участием цитрата и малатдегидрогеназной системы образуется 8 молекул NADPH, а 6 молекул NADPH поставляет окислительный пентозофосфатный путь.

***Дальнейшая элонгация и десатурация жирных кислот.*** Конечный продукт цитоплазматической синтетазной системы – пальмитил-СоА может удлинять углеродную цепь в процессе элонгации системами эндоплазматического ретикулума (системами микросом), а также системами митохондрий. Карнитиновая транспортная система доставляет пальмитил-СоА в митохондрии, где ферментные системы β-окисления могут катализировать обратный процесс – синтез кислот с более длинной углеродной цепью. Двухуглеродные фрагменты присоединяются к

Репозиторий БГУ

карбоксильному концу. Единственным отличительным этапом является превращение группы – CH = CH – в группу – $CH_2$ – $CH_2$ –, который катализирует NADPH-зависимая дегидрогеназа, а не $FADH_2$-зависимая дегидрогеназа.

Ферментные системы эндоплазматического ретикулума (микросомные системы) катализируют ***реакции десатурации*** (введение двойных связей) в CoA-производные высокомолекулярных кислот, т.е. превращение предельных кислот в непредельные. Десатуразная мультиферментная система катализирует отщепление атомов водорода от длинноцепочных предельных ацилов с образованием непредельных. В реакции принимает участие $O_2$ как акцептор водорода, NADPH или NADH, цитохром $b_5$ цитохром $b_5$-редуктаза и оксигеназа. Например, превращение стеарил-CoA в олеоил-CoA:

$$\text{Стеарил-CoA} + \text{NADPH} + H^+ + O_2 \longrightarrow \text{Олеил-CoA} + NADP^+ + 2\,H_2O.$$

В результате сочетаний реакций элонгации и десатурации могут быть синтезированы различные непредельные кислоты.

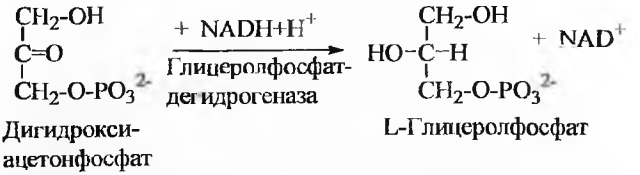
В организме млекопитающих десатуразная система не способна превращать олеиновую кислоту в линолевую и линоленовую, поэтому линолевая и линоленовая кислоты являются незаменимыми компонентами пищи, из которых синтезируются другие непредельные кислоты. Линолевая кислота необходима млекопитающим, так как она является предшественником арахидоновой кислоты, которая, в свою очередь, принимает участие в синтезе простогландинов и лейкотриенов.

**Биосинтез триацилглицеролов (нейтральных жиров).** Нейтральные жиры выполняют роль запасных резервов, интенсивно синтезируются в жировой ткани и печени млекопитающих, а также в растениях и особенно масличных культур. Избыток углерода в диете, богатой липидами или углеводами, эффективно вовлекается в этот процесс.

Для синтеза триацилглицеролов необходимы CoA-производные жирных кислот и L-глицеролфосфат. Главным источником L-глицеролфосфата служит дигидроксиацетонфосфат, образующийся из фруктозо-1,6-фосфата в фруктозобисфосфат-альдолазной реакции гликолиза.

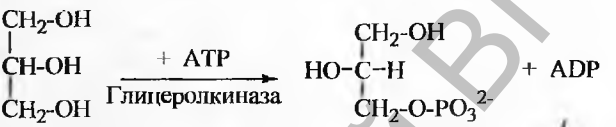
Реакцию восстановления дигидроксиацетонфосфата с образованием L-глицеролфосфата катализирует цитоплазматическая NADH-зависимая глицеролфосфатдегидрогеназа:

Репозиторий ВГУ



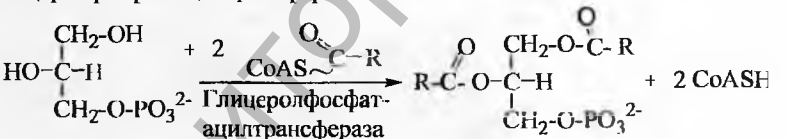

Дигидрокси-ацетонфосфат — L-Глицеролфосфат

L-Глицеролфосфат может образовываться из глицерола в процессе фосфорилирования, однако этот механизм играет менее значительную роль. Реакцию катализирует глицеролкиназа:




Глицерол — L-Глицеролфосфат

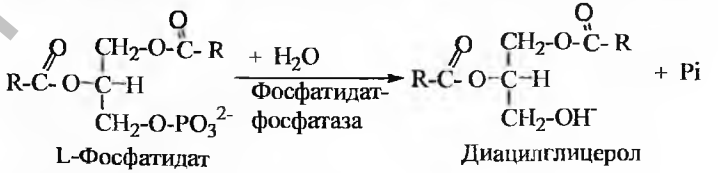
Первый этап в биосинтезе триацилглицеролов у животных и растений состоит в ацилировании свободных карбоксильных групп L-глицеролфосфата двумя молекулами ацил-SCoA. Процесс катализирует глицеролфосфат-ацилтрансфераза:




L-Глицеролфосфат — L-Фосфатидат

Фосфатидные кислоты в клетках присутствуют в следовых количествах, однако они являются важными промежуточными метаболитами в биосинтезе триацилглицеролов и фосфоацилглицеролов. После образования фосфатидата пути биосинтеза триацилглицеролов и фосфоацилглицеролов раздваиваются.

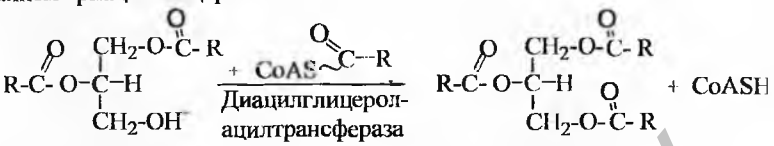
При синтезе триацилглицеролов фосфатидат подвергается гидролизу:




L-Фосфатидат — Диацилглицерол

Репозиторий ВГУ

Диацилглицерол ацилируется третьим остатком ацил-SCoA с образованием триацилглицерола:




Диацилглицерол Триацилглицерол

После биосинтеза нейтральные жиры (триацилглицеролы) откладываются в цитоплазме в виде жировых капель.

В клетках кишечного эпителия высших животных интенсивно протекает биосинтез триацилглицеролов с другими механизмами ацилирования. Моноацилглицеролы, образующиеся в кишечнике при гидролизе жиров пищи, могут ацилироваться, минуя стадию фосфатидной кислоты.

**Биосинтез фосфоацилглицеролов (фосфолипидов).** Фосфоацилглицеролы являются компонентами мембран и входят в состав липопротеинов, выполняющих транспортную функцию. Промежуточным продуктом биосинтеза фосфолипидов является фосфатидная кислота. Существует несколько разветвленных метаболических путей биосинтеза фосфоацилглицеролов, что указывает на их важную роль в функционировании клетки. Различают основной и резервный пути биосинтеза фосфоацилглицеролов.

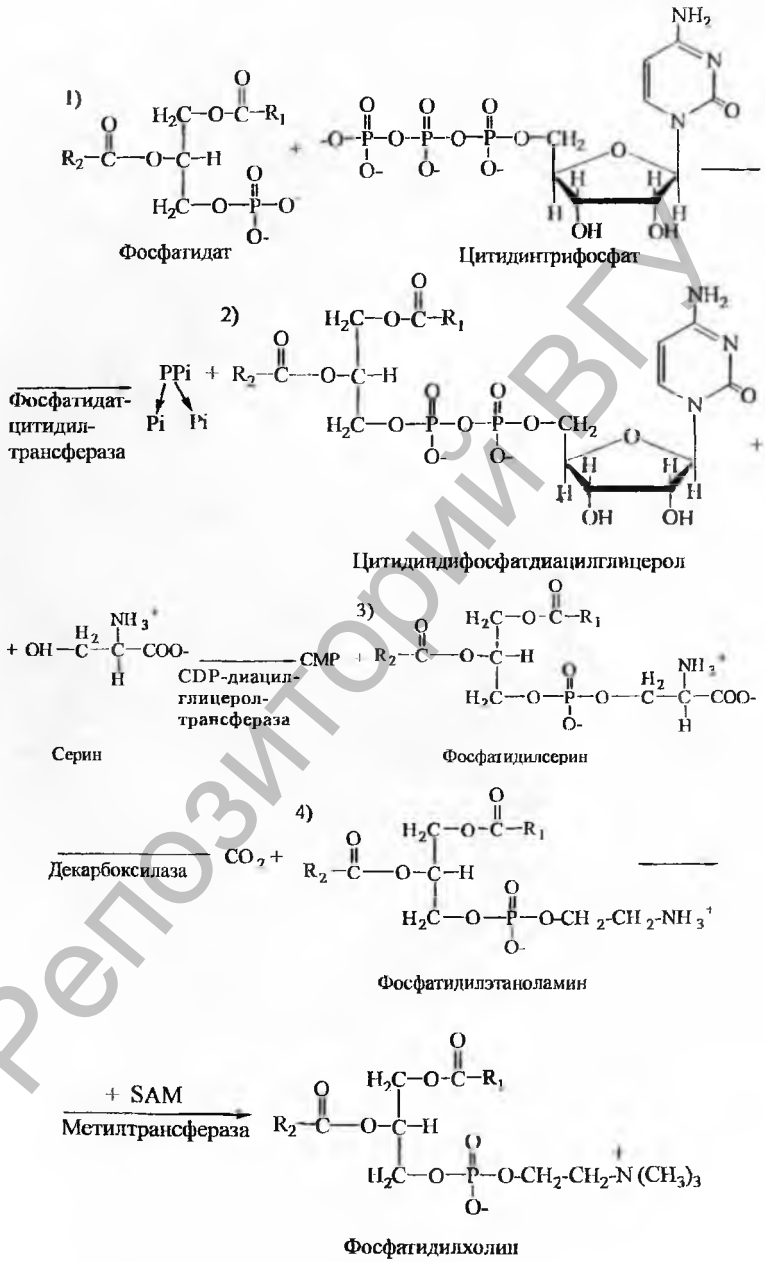
Центральную роль в процессе биосинтеза фосфоацилглицеролов, наряду с фосфатидной кислотой, играет образование активированных промежуточных метаболитов.

Основной путь биосинтеза начинается с образования цитидиндифосфатдиацилглицеролов (CDP-диацилглицеролов), а резервный с активирования аминоспиртов с образованием CDP-холина, CDP-этаноламина, CDP-серина.

Реакцию синтеза CDP-диацилглицерола из фосфатидата и CTP катализирует фермент фосфатидат-цитидилтрансфераза. Обратимая реакция смещается в сторону образования CDP-диацилглицерола благодаря гидролизу пирофосфата. Затем полярный аминоспирт, например, спиртоаминокислота серин вступает в реакцию с активированным фосфатидиловым остатком с образованием фосфатидилсерина.

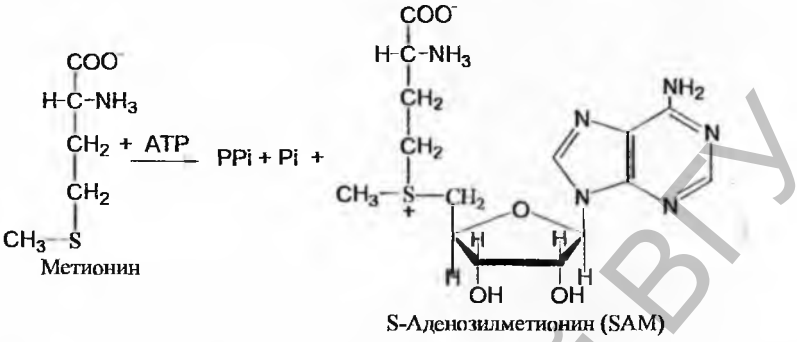
Декарбоксилирование фосфатидилсерина под действием декарбоксилазы, коферментом которой является пиридоксальфосфат, сопровождается образованием фосфатидилэтаноламина. Реакция декарбоксилирования фосфатидилсерина протекает в несколько этапов. На промежуточном этапе пиридоксальфосфат декарбоксилазы взаимодействует с α-аминогруппой остатка серина с образованием шиффова основания, а затем происходит декарбоксилирование.

Репозиторий ВГУ



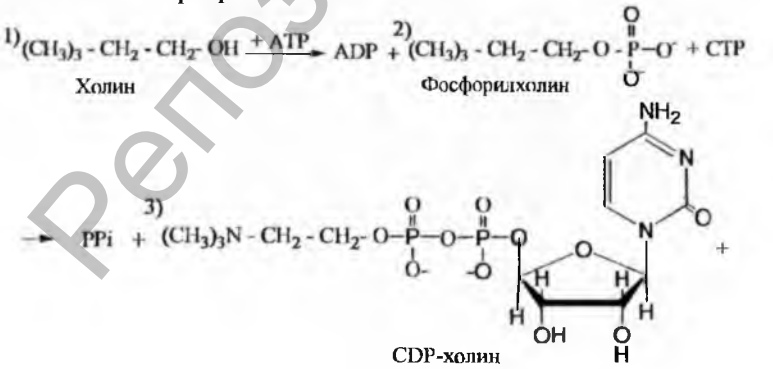

Репозиторий ВГУ

В ходе реакций метилирования по атому азота аминогруппы фосфатидилэтаноламина происходит образование фосфатидилхолина.

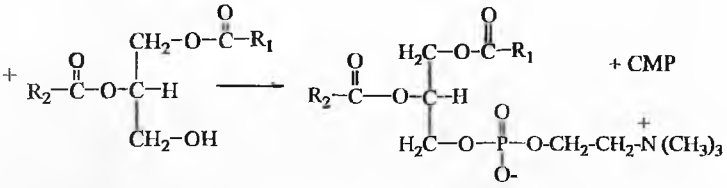



Донором метильных групп в реакциях метилирования выступает S-аденозилметионин (SAM), который синтезируется в результате переноса аденозильной группы на атом серы аминокислоты метионина.

Резервный путь биосинтеза фосфоацилглицеролов (биосинтез из готовых остатков) отличается тем, что вначале происходит активирование аминоспиртов путем фосфорилирования за счет ATP с образованием фосфорилхолина, фосфорилэтаноламина и фосфорилсерина. Фосфорилированные аминоспирты затем реагируют с CTP, в результате чего происходит образование CDP-серина, CDP-этаноламина и CDP-холина. Активированные аминоспирты с остатком фосфата переносятся на диацилглицерол. В результате синтезируются фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин и фосфатидилхолин.

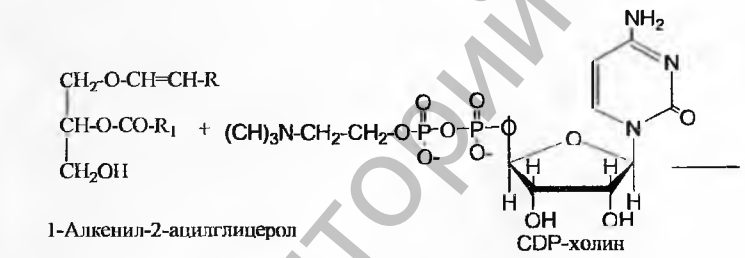



Репозиторий ВГУ

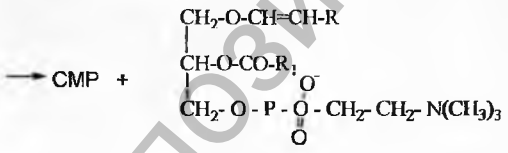


Диацилглицерол Фосфатидилхолин

Плазмалогены фосфатидальхолин и фосфатидальэтаноламин синтезируются также из готовых продуктов в результате реакций между 1-алкенил-2-моноацилглицеролом и CDP-холином и CDP-этаноламином соответственно. Реакции переноса фосфорилхолина с CDP-холина и фосфорилэтаноламина с CDP-этаноламина аналогичны соответствующим реакциям образования фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина.



1-Алкенил-2-ацилглицерол CDP-холин



Фосфатидальхолин

**Биосинтез холестерола.** Структура холестерола была определена в 1930-х годах. Это открытие поставило множество вопросов. Один из них: как может эта сложная молекула синтезироваться из простых молекул?

Толчком для детального исследования процесса синтеза холестерола стало открытие R. Shoenheimer и D. Rittenberg изотопной техники исследования метаболических путей. В 1941 г. Rittenberg и K. Bloch показали, что меченный дейтерием ацетат является предшественником холестерола у мышей и крыс. В последующем, E. Tatum и K. Bloch доказали, что углеродный скелет эргостерола Neurospora crassa был полностью получен из ацета-

Репозиторий ГГМУ

та. В 1949 г. J. Bonner и B. Arreguin установили, что три молекулы ацетата могут сформировать одну пятиуглеродную молекулу **изопрена**.

Это перекликалось с мнением R. Robinson, что холестерол является продуктом циклизации сквалена – полимера с 30 атомами углерода. В 1952 г. K. Bloch и R. Langdon показали, что сквален может превращаться в холестерол. Так была предложена схема биосинтеза холестерола.

Оставалось решить две ключевые проблемы: какова структура изопреноидного промежуточного продукта и как сквален циклизируется в форму холестерола. В 1953 г. R.B. Woodward и Bloch предложили схему циклизации сквалена, признанную позднее истинной. В 1956 г. K. Folkers открыл изопреновый предшественник – мевалоновую кислоту. Открытие мевалоной кислоты закрыло «белое пятно» в процессе изучения синтеза холестерола. С этих пор последовательность и стереохимические особенности синтеза холестерола были изучены полностью.

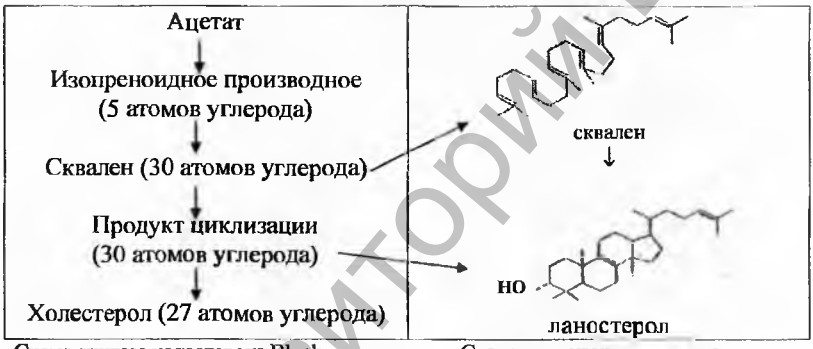



Схема синтеза холестерола Bloch

Схема циклизации сквалена
Bloch & Woodward

Рис. 10.2. **Схема биосинтеза холестерола.**

Последовательность синтеза холестерола начинается с конденсации в цитозоле двух молекул ацетил-CoA в реакции, катализируемой тиолазой. Следующий этап требует фермента β-гидрокси-β-метилглутарил-CoA (ГМГ-CoA) синтазы. Этот фермент катализирует конденсацию третьей молекулы ацетил-CoA с β-кетобутирил-CoA с получением ГМГ-CoA. Затем ГМГ-CoA восстанавливается до мевалоната ферментом ГМГ-CoA редуктазой. Активность этого фермента является определяющей в биосинтезе холестерола.

ГМГ-CoA является важным промежуточным продуктом для биосинтеза как холестерола, так и кетоновых тел. Биосинтез холестерола катализируется ферментами в цитозоле и ферментами, связанными с

Репозиторий ВГУ

цитоплазматическим ретикулумом. Синтез же кетоновых тел пространственно ограничен матриксом митохондрий. Поэтому тиолаза и ГМГ-СоА синтаза находятся как в митохондриях, так и в цитозоле печени крыс. В противоположность синтазе ГМГ-СоА лиаза, которая расщепляет ГМГ-СоА до кетоновых тел, находится только в митохондриях. ГМГ-СоА редуктаза связана с эндоплазматическим ретикулумом.

Тиолаза и ГМГ-СоА синтаза проявляют некоторые регуляторные свойства в печени крыс (диета с высоким содержанием холестерола вызывает уменьшение активности этих ферментов в цитозоле, но не в митохондриях). Регуляция синтеза холестерола связана с реакцией, катализируемой ГМГ-СоА редуктазой. ГМГ-СоА редуктаза находится на цитоплазматическом ретикулуме, имеет молекулярный вес 97092 и состоит из 887 аминокислотных остатков в единственной полипептидной цепи. Структура фермента была исследована M. Brown и J. Goldstein. Фермент имеет две области. N-концевая область имеет молекулярную массу 35000 и содержит 7 гидрофобных сегментов, которые, как полагают, пронизывают мембрану. С-концевая область имеет молекулярную массу 62000, содержит каталитический участок и, как полагают, располагается в цитозоле.

Активность редуктазы регулируется тремя различными механизмами. Первый контрольный пункт находится на уровне экспрессии генов. Количество продуцируемой м-РНК регулируется содержанием в организме холестерола. В случае избытка холестерола количество м-РНК для ГМГ-СоА редуктазы снижается, следовательно, снижается образование фермента. Снижение холестерола увеличивает синтез м-РНК редуктазы.

Второй регуляторный механизм связан со скоростью деградации ГМГ-СоА редуктазы. Количество фермента в клетке зависит как от скорости его синтеза, так и от скорости распада. Было показано, что время полужизни ГМГ-СоА редуктазы составляет 2–4 часа, что примерно в 10 раз меньше, чем у большинства ферментов эндоплазматического ретикулума. Другими словами, ГМГ-СоА редуктаза быстро разлагается в клетке. Скорость деградации ГМГ-СоА редуктазы регулируется количеством холестерола. Поэтому если холестерол в избытке, скорость ГМГ-СоА редуктазы в 2 раза выше, чем в случае недостатка холестерола. Действие холестерола на деградацию фермента опосредуется мембранным доменом фермента. Доказательством этой теории служит тот факт, что мутантный фермент без мембранного домена может синтезировать мевалоновую кислоту даже вне эндоплазматической сети, период его полураспада в пять раз выше нормального, а количество холестерола не влияет на его период полураспада.

Репозиторий ВГУ

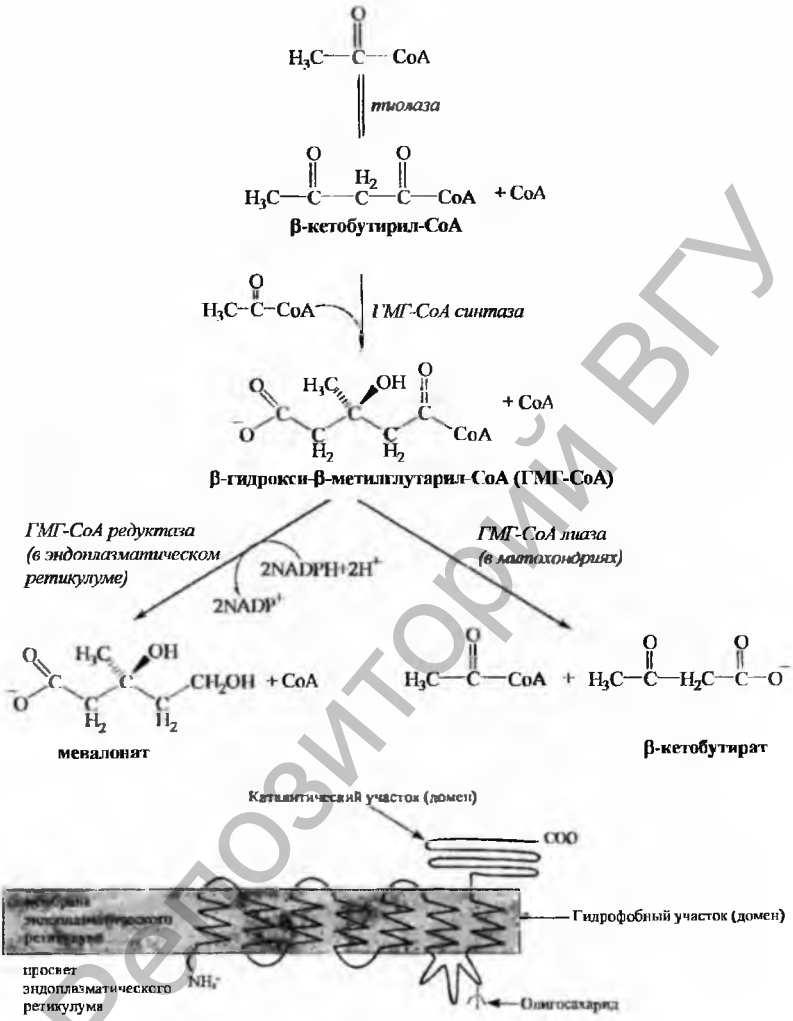



**Рис. 10.3. Схема строения ГМГ-CoA-редуктазы.**

Третий регуляторный механизм – фосфорилирование-дефосфорилирование редуктазы, которое приводит к инактивации/активации фермента. *Киназа киназы ГМГ-CoA редуктазы* катализирует фосфорилирование и активацию *киназы ГМГ-CoA редуктазы*.

Репозиторий ВГУ

Эта киназа фосфорилирует ГМГ-СоА редуктазу, что приводит к инактивации редуктазы. Обе киназы cAMP независимы. Обратный процесс контролируют фосфатазы. Эти киназы и фосфатазы опосредуют кратковременные изменения активности ГМГ-СоА редуктазы.

Рис. 10.4. **Схема регуляции ГМГ-СоА-редуктазы путем фосфорилирования-дефосфорилирования.**

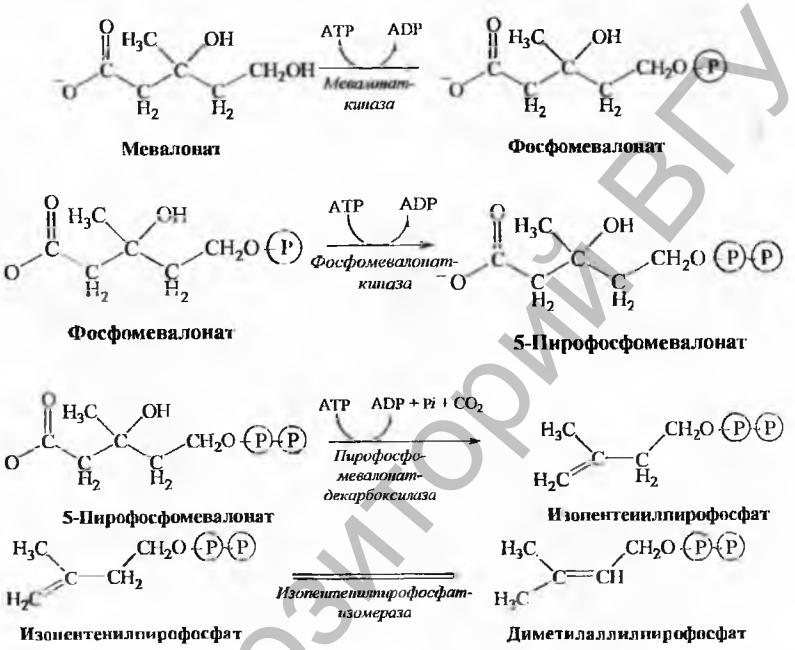
Биосинтез холестерола контролируется также липопротеинами низкой плотности (ЛПНП) плазмы.

Установлена связь между высоким содержанием холестерола плазмы и кардиоваскулярными заболеваниями (большинством заболеваний сердца, инфарктом, инсультом). Наибольшая часть холестерола синтезируется в печени, поэтому производился поиск лекарственного средства, которое специфически уменьшило бы биосинтез холестерола. Было бы логично, чтобы такое лекарство инактивировало ГМГ-СоА редуктазу, так как этот фермент катализирует ключевой регуляторный этап метаболического пути. Были выделены метаболиты грибков, являющиеся конкурентными ингибиторами ГМГ-СоА редуктазы. Одним из наиболее активных веществ является ловастатин.

На следующем участке метаболического пути мевалоновая кислота превращается в сквален, который циклизируется в ланостерол. Первым этапом этого участка метаболизма является синтез пятиуглеродного изопреноидного промежуточного продукта – изопентенилпирофосфата. Синтез включает четыре фермента. В результате действия мевалонат киназы и фосфомевалонат киназы образуется 5-пирофосфомевалонат. Третий фермент пирофосфомевалонатдекарбоксилаза катализирует де-

Репозиторий ВГУ

карбоксилирование и удаление гидроксильной группы у $C_3$. Декарбоксилаза, вероятно, действует путем фосфорилирования гидроксильной группы у $C_3$ АТР, за чем следует *транс*-элиминирование карбоксильной группы и фосфата с получением **изопентенилпирофосфата**. Этот промежуточный продукт может ферментативно изомеризоваться в **3,3-диметилаллилпирофосфат.**



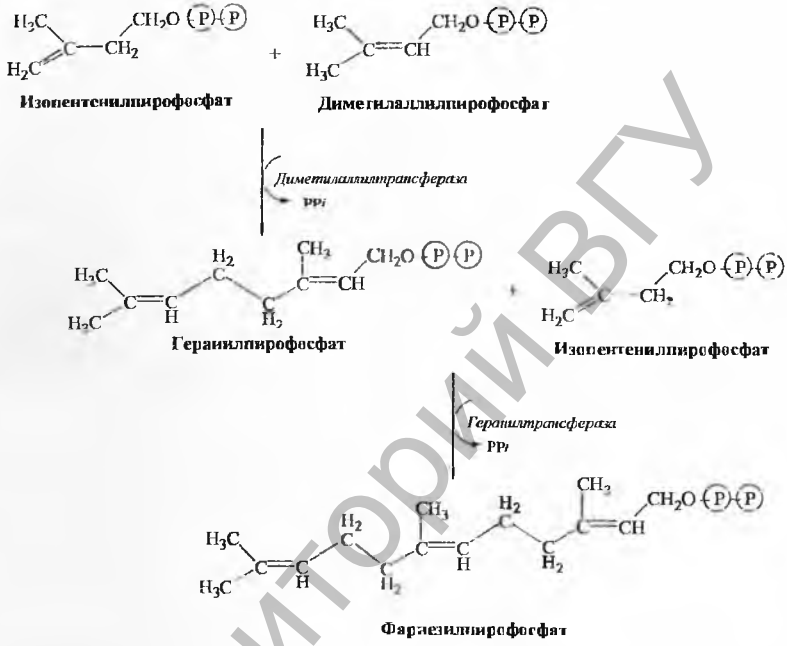

Эти два пятиуглеродных изопреноидных пирофосфата реагируют между собой с образованием десятиуглеродного продукта **геранилпирофосфата.** В последствии при реакции геранилпирофосфата с молекулой изопентенилпирофосфата образуется пятнадцатиуглеродный продукт **фариезилпирофосфат**.

Две молекулы фарнезилпирофосфата реагируют между собой и образуют пресквален пирофосфат, который затем превращается в сквален с отщеплением PPi.

Ферменты, превращающие мевалонат в фарнезилпирофосфат, вероятно, расположены в цитозоле, в то время как фарнезил трансфераза (сквален синтаза) тесно связана с эндоплазматическим ретикулумом. Несмотря на то, что мембранносвязанные ферменты сложно растворить, этот фермент был получен из дрожжей. В полимерной форме и в присутствии

Репозиторий ВГУ

NADPH фарнезилтрансфераза превращает две молекулы фарнезилпирофосфата в сквален. При диссоциации в неполимерную форму фарнезилтрансфераза катализирует только образование пресквиленпирофосфата.



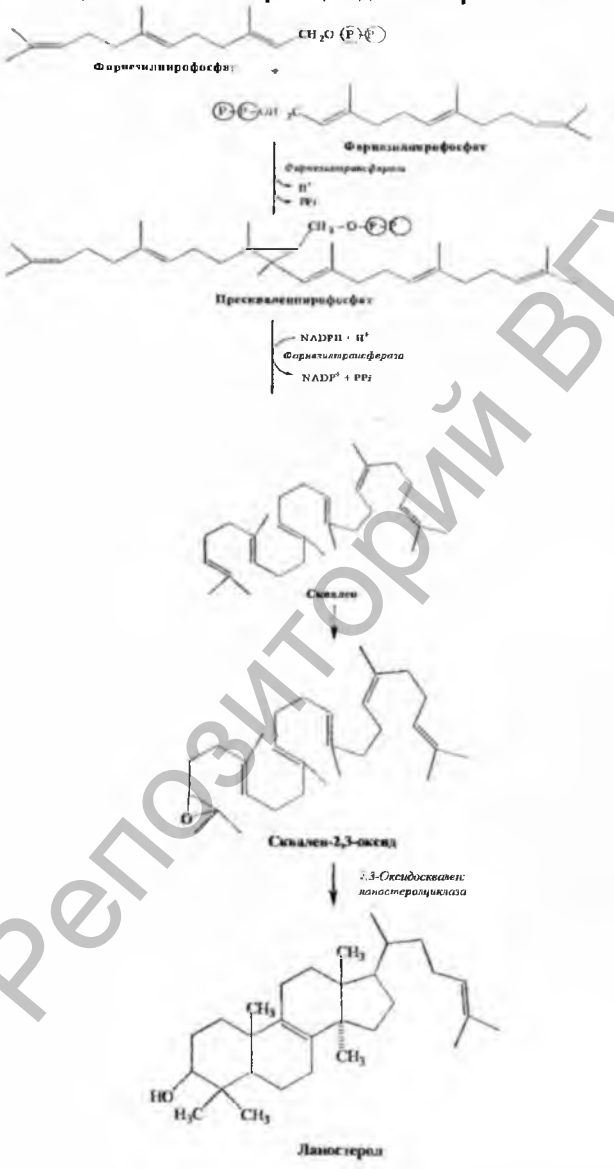

Для биосинтеза ланостерола происходят еще две реакции. В первой из сквалена образуется сквален-2,3-оксид с помощью фермента скваленмонооксигеназы (фермент связан с эндоплазматическим ретикулумом). Эта реакция требует $O_2$, NADPH, FAD, фосфолипидов и цитозольных белков.

Сквален является симметричной молекулой, поэтому образование сквален-оксида может начинаться с любого из концов молекулы. Оксид превращается в ланостерол другим ферментом, связанным с эндоплазматическим ретикулумом, – 2,3-оксидосквален-ланостерол-циклазой. Реакция может осуществляться посредством согласованной последовательности 1,2-*транс*-изомеризаций, образования гидрид- ионов протонированного промежуточного продукта с образованием ланостерола в конце последовательности реакций.

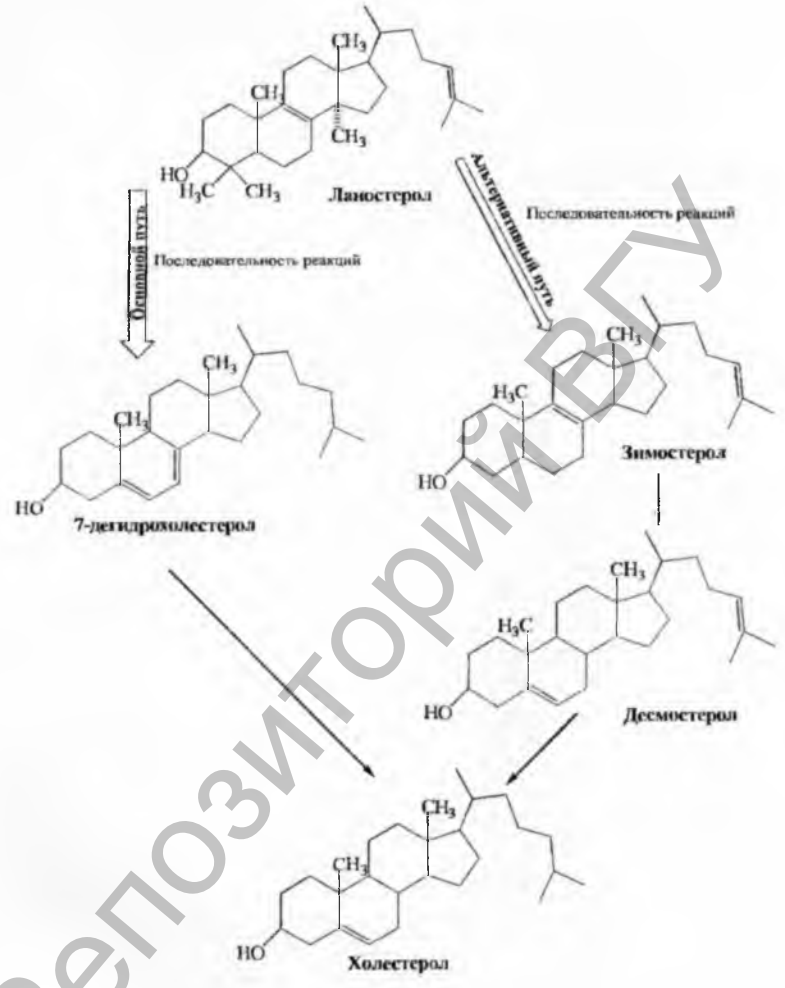
Последний этап биосинтеза холестерола включает последовательность из около 20 реакций, которая начинается с ланостерола. У млеко-

Репозиторий ВГУ

питающих основной путь состоит из последовательности реакций восстановления по двойной связи и реакций деметилирования.




Репозиторий ВГУ




Последовательность реакций включает окисление и удаление 14α-метильной группы, за чем следует окисление и удаление двух метильных групп в позиции 4 в стероле. В заключительной реакции происходит восстановление $\Delta^7$ двойной связи в 7-дегидрохолестероле.

Альтернативный путь синтеза холестерола из ланостерола включает сначала три реакции деметилирования с образованием зимостерола, затем изомеризацию $\Delta^8$ двойной связи в $\Delta^5$ положение с образованием

Репозиторий ВГУ

десмостерола. Заключительная реакция этого пути состоит в восстановлении $\Delta^{24}$ двойной связи.

Ферменты реакций превращения ланостерола в холестерол связаны с эндоплазматическим ретикулумом. Обнаружены также два цитозольных протеина, которые стимулируют некоторые реакции превращения сквалена в холестерол, происходящие на мембране. Как эти растворимые протеины участвуют в процессе синтеза холестерола, остается предметом дальнейшего изучения.

## 11. ОБМЕН БЕЛКОВ

Обмен белков лежит в осиове биохимических процессов, обеспечивающих жизнедеятельность живых организмов. В живой природе вся совокупность химических реакций направлена на воспроизведение себе подобных, в основе которых лежит биосинтез белка. В организме человека массой 70 кг содержится примерно 10 кг белка, большая часть которого локализована в мышцах.

Любой живой организм для нормального роста и развития нуждается в источнике аминокислот. Большинство микробов и фотосинтезирующие растения эту потребность обеспечивают за счет биосинтетических процессов. При наличии источников углерода, неорганического азота, энергии и других неорганических соединений эти организмы способны синтезировать не только все аминокислоты, но и все органические соединения, необходимые для данного организма.

Организмы животных, и в особенности человека, в этом отношении не столь универсальны. Для них главными источниками аминокислот являются экзогенные белки, как растительного, так и животного происхождения.

Биологическая ценность белков пищи определяется их аминокислотным составом. Белки, содержащие в своем составе все незаменимые аминокислоты (треонин, метионин, валин, лейцин, изолейцин, фенилаланин, триптофан, лизин, аргинин и гистидин), являются полноценными. Белки, в составе которых отсутствует одна или несколько незаменимых аминокислот, относят к неполноценным белкам. Аминокислоты аргинин и гистидин незаменимы только для детского организма. Птицы не способны синтезировать аргинин и ограниченно синтезируют глицин.

Белки животного происхождения (мяса, молока, яиц и т.д.), кроме коллагена и желатина, содержат все незаменимые аминокислоты и являются полноценными. Растительные белки, такие, как, глиадин пшеницы, легумин гороха, зеин кукурузы, гордеин овса, легумелин бобов сои, не могут обеспечить нормальный рост и развитие крыс в силу недостаточности или отсутствия определенных незаменимых аминокис-

Репозиторий ВГУ

лот. Так, например, в белке кукурузы – зеине очень мало триптофана и лизина, а в белке пшеницы глиадине – лизина.

Человек должен получать в сутки не менее 30 г белка. Минимальная суточная потребность для мужчин составляет 37 г, для женщин – 29, а рекомендуемая соответственно 55 и 45 г. В развитых странах фактическое потребление белка составляет 92 г мужчинами и 75 г женщинами. Потребность в белке возрастает в период беременности и лактации. Последствия недостаточности белкового питания многообразны. Недостаток в течение длительного времени в пище полноценных белков приводит к трагичному заболеванию квашиоркор. Для восполнения аминокислот происходит гидролиз тканевых белков, что сопровождается нарушением развития и функций всех жизненных органов и кончается смертью в раннем возрасте. Проблема белкового питания широко распространена, но особо остро стоит в развивающихся странах.

**Протеолиз.** Эндогенные белки и большинство пептидов не способны проходит через клеточные мембраны тонкого отдела кишечника. Аминокислоты свободно проходят через них. Поэтому белки для включения в процессы метаболизма должны подвергаться полному ферментативному гидролизу до аминокислот.

Многие микроорганизмы синтезируют и выделяют в окружающую среду пептидазы, осуществляющие гидролиз пептидов и белков до аминокислот, которые, проходя клеточные мембраны, вовлекаются в различные процессы метаболизма.

Наиболее полно и детально протеолиз изучен в желудочно-кишечном тракте позвоночных животных и человека. Гидролиз белков начинается под действием желудочного сока. Желудочный сок содержит свободную соляную кислоту (≈ 0,1 моль/л), которую синтезируют обкладочные клетки стенок желудка. Протоны соляной кислоты из цитоплазмы обкладочных клеток в просвет желудка транспортируются $H^+/K^+$-АТР-азой. Убыль протонов в обкладочных клетках восполняется за счет диссоциации угольной кислоты, а избыток основного гидрокарбоната ($HCO_3^-$) в межклеточном пространстве обменивается на хлорид-ионы ($Cl^-$) из крови, которые вместо него поступают в кровь.

Соляная кислота оказывает губительное действие на микроорганизмы, вызывает денатурацию белка. Денатурированный белок легче гидролизуется. Кроме того способствует превращению неактивных форм пептидаз – пепсиногенов в активные формы – пепсины. Пепсиногены в кислой среде (1–2 pH) аутокаталитически отщепляют блокирующие пептиды, формируются активные центры и превращаются в пепсины. Пепсины представляют собой группу эндопептидаз, которые несколько различаются специфичностью. Они с помощью двух аспартильных остатков в активном центре расщепляют пептидные связи бел-

Репозиторий ГГМУ

ков, предпочтительно образованные фенилаланином и лейцином. В желудке процесс протеолиза белков продолжается 1–3 часа.

В двенадцатиперстную кишку поступает секрет поджелудочной железы, содержащий трипсиногеи, химотрипсиногеи и проэластазу. Из этих зимогенов ключевую роль играет трипсиногеи. В кишечнике энтеропептидаза, локализованная в мембранах кишечного эпителия двенадцатиперстной кишки, отщепляет от трипсиногена N-концевой гексапептид, вследствие чего происходит перестройка функциональных групп и образование активного центра. Таким образом, трипсиногеи превращается в трипсин. Трипсин расщепляет следующую молекулу трипсиногена и происходит аутокаталитическая активация. Проферменты химотрипсина, эластазы и пептидаз активируются трипсином.

**Рис. 11.1. Схема действия пептидаз.**

Репозиторий ВГ

Трипсин, химотрипсин и эластаза являются эндопептидазами и осуществляют гидролиз пептидных связей, расположенных внутри пептидных цепей. Трипсин расщепляет пептидные связи, образованные основными аминокислотами аргинином и лизином, химотрипсин осуществляет гидролиз пептидных связей неполярных аминокислот тирозина, триптофана, фенилаланина и лейцина, а эластаза – преимущественно связи алифатических аминокислот глицина, аланина, валина и изолейцина. Гидролиз пептидных связей всеми ферментами осуществляется по карбонильным группам остатков указанных аминокислот.

Карбоксипептидазы поджелудочной железы катализируют расщепление пептидов небольшого размера с С-конца и аминопептидазы тонкого отдела кишечника – с N-конца. Оба фермента являются экзопептидазами. В секрете тонкого кишечника содержится фермент дипептидаза, расщепляющий дипептиды до аминокислот.

В результате комбинированного действия указанных ферментов происходит гидролиз белков пищи до аминокислот, в результате чего уничтожается видовая специфичность белков. Аминокислоты способны всасываться в тонком кишечнике. Транспорт аминокислот каждой группы в клетки эпителия происходит с помощью группоспецифических транспортных систем, совместно с транспортом $Na^+$, т.е. по механизму сопряженного переноса (вторичный активный транспорт (симпорт) или путем $Na^+$-независимой облегченной диффузии. Из эпителиальных клеток аминокислоты поступают в кровь и доставляются всем тканям. Поступив в клетки тканей, в результате также активного транспорта, часть аминокислот принимает участие в различных биосинтетических процессах, а избыток аминокислот используется в энергетических целях.

**Катаболизм аминокислот.** Катаболизм аминокислот у млекопитающих происходит в основном в печени, частично в почках и относительно мало активны в этом отношении скелетные мышцы. Для окисления двадцати различных аминокислот существует двадцать различных путей, которые приводят к небольшому числу метаболитов, поступающих в цикл трикарбоновых кислот. Но перед этим аминокислота должна потерять аминогруппу в процессе дезаминирования.

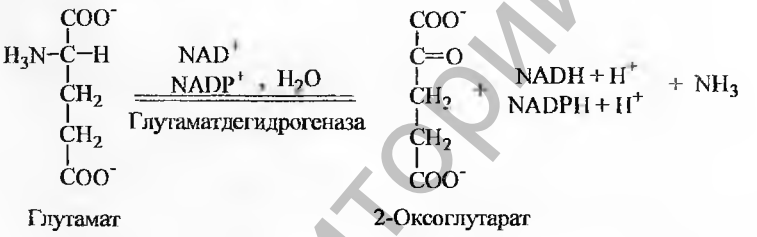
В природе существует четыре вида дезаминирования: окислительное, восстановительное, гидролитическое и внутримолекулярное. Наиболее важную роль играет окислительное дезаминирование. Существует FMN-зависимая оксидаза, которая катализирует дезаминирование L-аминокислот, и FAD-зависимая оксидаза, действующая на D-аминокислоты.

Реакция протекает в два этапа. Вначале происходит восстановление коферментов флавопротеинов, а аминокислота превращается в иминокислоту. Далее происходит гидролиз иминокислоты с образованием 2-оксокислоты и выделением аммиака.

Репозиторий БГУ

Восстановленные флавопротеины могут непосредственно реагировать с кислородом с образованием пероксида водорода. Фермент каталаза обезвреживает пероксид водорода, разлагая его на воду и кислород.

Большинство оксидаз аминокислот проявляют низкую активность, но в природе широко распространена высокоактивная оксидаза глутамата – глутаматдегидрогеназа, которая в качестве кофермента может использовать как $NAD^+$, так и $NADP^+$. В ходе реакции глутамат превращается в 2-оксоглутарат:



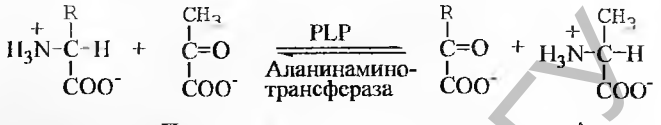

Окислительное дезаминирование глутамата также протекает в два этапа. Следует отметить, что помимо роли, которую играет глутаматдегидрогеназная реакция в метаболизме аминокислот, она может быть источником NADPH в биосинтетических процессах.

**Трансаминирование и трансдезаминирование.** В организме животных наряду с активной глутаматдегидрогеназой имеются высокоактивные аминотрансферазы, которые катализируют перенос аминогруппы с аминокислоты на 2-оксокислоту. Аминокислота при этом превращается в 2-оксокислоту, а из исходной оксокислоты образуется аминокислота. Реакцию катализирует аминотрансфераза, коферментом которой является пиридоксальфосфат. Активной группировкой пиридоксальфосфата является альдегидная группа, которая в свободном ферменте связана с ε-аминогруппой остатка лизина полипептидной цепи апофермента. Поэтому на первом этапе реакции происходит освобождение аминогруппы лизина, а затем $NH_2$-группа аминокислоты-субстрата временно связывается с альдегидной группой пиридоксаль-

Репозиторий ГомГМУ

фосфата, который превращается в пиридоксаминофосфат. Пиридоксаминофосфат передает аминогруппу на 2-оксокислоту.

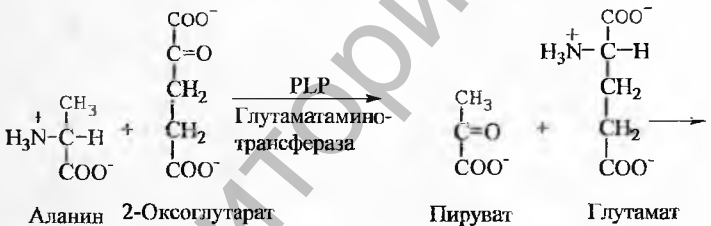
Наиболее важными из аминотрансфераз являются глутаматаминотрансфераза, аланин-аминотрансфераза и аспартат-аминотрансфераза.



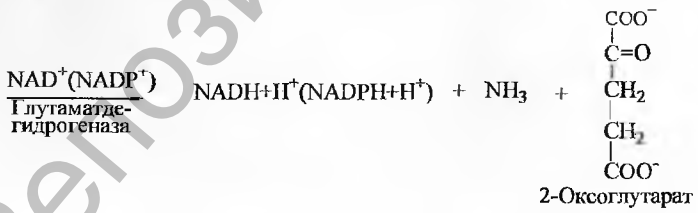

Аминокислота Пируват 2-Оксокислота Аланин

Реакция трансаминирования очень часто является первой реакцией в процессе деградации аминокислоты или последней реакцией синтеза аминокислоты.

Большинство аминотрансфераз предпочитают 2-оксоглутарат в качестве оксокислоты-акцептора с образованием глутамата, и наоборот.




Аланин 2-Оксоглутарат Пируват Глутамат




2-Оксоглутарат

Поэтому аминотрансферазные реакции в большинстве случаев сопряжены с глутаматдегидрогеназной реакцией, обеспечивая процесс трансдезаминирования, в котором принимают участие глутаматаминотрансфераза и глутаматдегидрогеназа.

В процессе трансдезаминирования происходит дезаминирование аминокислоты не прямым путем. Вначале глутаматаминотрансфераза катализирут перенос аминогруппы на 2-оксоглутарат с образованием 2-оксокислоты и глутамата. Глутамат подвергается действию глутамат-

Репозиторий ВГУ

дегидрогеназы, в результате чего освобождается аммиак и 2-оксоглутарат. 2-Оксоглутарат снова может принимать на себя аминогруппы с аминокислот в реакции трансаминирования и сбрасывать их в глутаматдегидрогеназной реакции. Таким образом, независимо от первого этапа трансаминирования конечным акцептором аминогрупп большинства аминокислот является 2-оксоглутарат, который превращается в глутамат и процесс трансдезаминирования носит циклический характер. Конечными продуктами трансдезаминирования являются безазотистые остатки аминокислот и $NH_3$.

**Метаболизм безазотистых компонентов аминокислот.** В результате дезаминирования аминокислоты превращаются в различные кислоты, которые далее могут окисляться до $CO_2$ и $H_2O$ с высвобождением энергии, пройдя магистральные пути метаболизма – цикл трикарбоновых кислот и дыхательную цепь транспорта электронов. Поэтому стратегия дальнейшей деградации аминокислот направлена на образование главных метаболитов, которые окисляются в цикле трикарбоновых кислот или превращаются в глюкозу (рис. 11.2).

Включение остатков аминокислот в цикл трикарбоновых кислот может быть полным или частичным после определенных предварительных превращений. Двадцать различных по строению безазотистых остатков аминокислот превращаются в семь метаболитов деградации: пируват, оксалоацетат, ацетил-СоА, 2-оксобутирил-СоА, 2-оксоглутарат, сукцинил-СоА и фумарат. Пять из семи метаболитов: ацетил-СоА, оксалоацетат, 2-оксоглутарат, сукцинил-СоА и фумарат являются непосредственными метаболитами цикла трикарбоновых кислот, его «входными воротами». Так, например, из аспартата и глутамата в процессе дезаминирования образуются метаболиты – оксалоацетат и 2-оксоглутарат. Аминокислоты аргинин, гистидин, глутамин, пролин вначале превращаются в глутамат, а затем в 2-оксоглутарат.

Изолейцин, метионин и треонин вначале превращаются в пропионил-СоА, а затем через метилмалонил-СоА в сукцинил-СоА. Валин превращается в сукцинил-СоА через метилмалонил-СоА.

Фумарат служит «пунктом входа» половины атомов углерода фенилаланина и тирозина.

Из аланина, серина и цистеина образуется пируват. Глицин вначале превращается в серин в результате присоединения гидроксиметильной группы, а затем превращается в пируват. Из треонина пируват образуется через аминоацетон. Пируват может включаться в цикл трикарбоновых кислот через ацетил-СоА и оксалоацетат. Так, пируват под действием пируватдегидрогеназного комплекса превращается в ацетил-СоА, а пируваткарбоксилаза катализирует карбоксилирование пирувата до оксалоацетата.

Репозиторий ВГУ

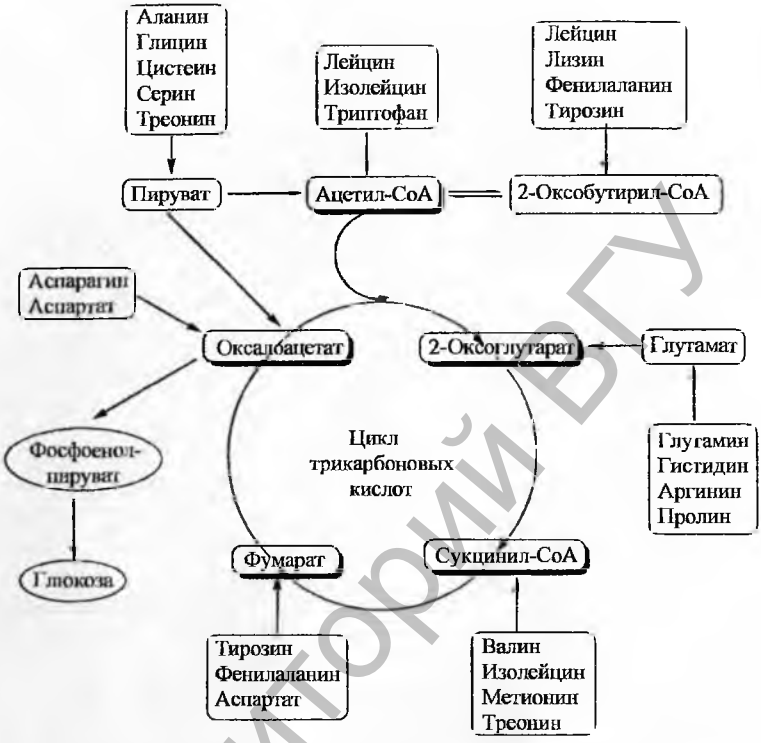



Рис. 11.2. **Пути введения безазотистых компонентов аминокислот в цикл трикарбоновых кислот и глюконеогенез.**

Восстановленные коферменты NADH и $FADH_2$ из цикла трикарбоновых кислот поступают в дыхательную цепь транспорта электронов, где окисляются до $H_2O$, с высвобождением энергии, которая аккумулируется в ATP (GTP). Конечными продуктами окисления аминокислот являются $CO_2$, $H_2O$, $NH_3$ и энергия.

В зависимости от состояния организма определенная часть аминокислот у млекопитающих, после дезаминирования, может включаться в глюконеогенез с образованием глюкозы. В зависимости от способности к глюконеогенезу аминокислоты подразделяют на: глюкогенные; глюкогенные и кетогенные; кетогенные.

Репозиторий ВГУ

| Глюкогенные | | Глюкогенные и кетогенные | Кетогенные |
|---|---|---|---|
| Аланин | Глицин | Изолейцин | Лейцин |
| Аргинин | Гистидин | Тирозин | — |
| Аспартат | Метионин | Лизин | — |
| Аспарагин | Пролин | Триптофан | — |
| Цистеин | Серин | Фенилаланин | — |
| Глутамат | Треонин | — | — |
| Глутамин | Валин | — | — |

Глюкогенными являются четырнадцать аминокислот, из которых в процессе метаболизма образуются пируват, 2-оксоглутарат, сукцинил-CoA, фумарат и оксалоацетат. Пируват и указанные метаболиты цикла трикарбоновых кислот через оксалоацетат могут превращаться в фосфоенолпируват, а затем – в глюкозу.

Глюкогенными и кетогенными являются пять аминокислот, из которых могут образовываться как предшественники глюкозы, так и ацетил-CoA и 3-оксобутирил-CoA – предшественники 3-оксобутирата и D-3-гидроксибутирата (кетоновых тел).

Исключительно кетогенной аминокислотой является лейцин, который способен непосредственно превращаться в ацетил-CoA или 3-оксобутирил-CoA.

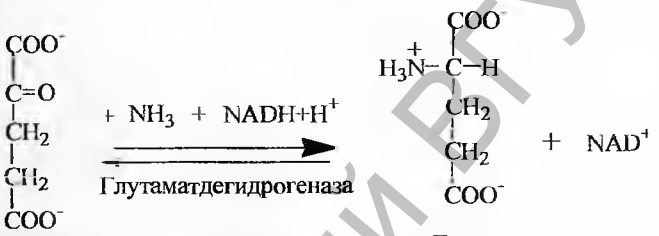
Следует отметить, что у млекопитающих не происходит синтез глюкозы из ацетил-CoA и 3-оксобутирил-CoA. У растений и многих микроорганизмов все аминокислоты могут принимать участие в синтезе глюкозы посредством реакций цикла трикарбоновых кислот и глиоксилатного цикла.

**Токсичность аммиака и пути его обезвреживания и выведения.** Большинство живых организмов обладают способностью реутилизировать часть аммиака путем реакций восстановительного аминирования. Неиспользованный аммиак должен обезвреживаться и выводиться из организма, т.к. в высоких концентрациях он очень токсичен. Одной из причин высокой токсичности аммиака является то, что накопление его в организме приводит к усиленному восстановительному аминированию. Так, например, аминирование 2-оксоглутарата в митохондриях приводит к образованию глутамата.

Равновесие этой реакции сильно смещено вправо. Аналогично протекает реакция восстановительного аминирования оксалоацетата. В нормальных условиях это ведет к синтезу соответствующих аминокислот. Но чрезмерная интенсивность восстановительного аминирования 2-оксоглутарата и оксалоацетата при высокой концентрации аммиака выводит их из цикла трикарбоновых кислот. По этой причине огра-

Репозиторий ВГУ

ничено окисление ацетил-СоА. Цикл трикарбоновых кислот не обеспечивает дыхательную цепь восстановленными коферментами. Кроме того, NADH, образовавшийся в других метаболических путях, используется в реакциях восстановительного аминирования и не поступает в дыхательную цепь транспорта электронов. Таким образом, избыток аммиака подавляет тканевое дыхание, нарушает энергетику клетки и вызывает избыточное образование кетоновых тел из ацетил-СоА в печени, в чем и проявляется его токсическое действие.




2-Оксоглутарат Глутамат

В зависимости от конечных продуктов выделения аммиака животные делятся на три группы:

– аммониотелические животные – личинки амфибий и многие животные, обитающие в воде, выделяют аммиак в виде $NH_4^+$;

– урикотелические животные – наземные легочные моллюски, насекомые, наземные рептилии и птицы выделяют аммиак в виде мочевой кислоты;

– уреотелические животные – большинство наземных животных, выделяющих аминный азот в виде мочевины.

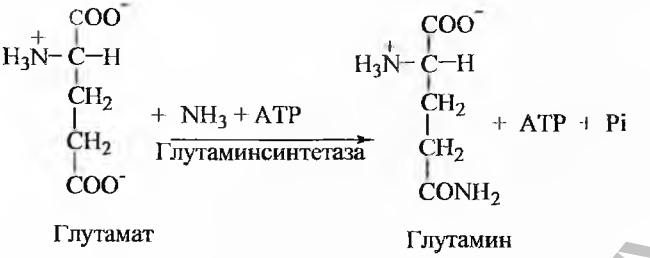
Амфибии занимают промежуточное положение. Головастик, обитающий в воде, выделяет $NH_4^+$, а взрослая лягушка – мочевину.

В организме животных существуют следующие пути обезвреживания аммиака: синтез аммонийных солей, синтез амидов моноаминодикарбоновых кислот и биосинтез мочевины.

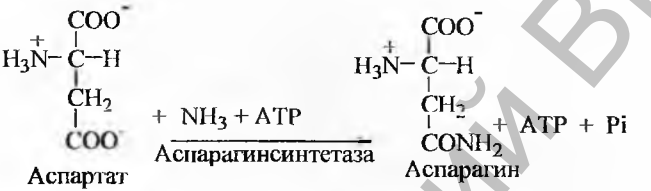
***Синтез аммонийных солей*** протекает только в почках и занимает незначительное место в процессе детоксикации аммиака, однако, при ацидозах этот процесс играет важную роль защитного средства в поддержании изогидрии (постоянства pH).

***Биосинтез амидов*** дикарбоновых кислот представляет механизм детоксикации аммиака в местах его образования (мозг, почки, мышцы, печень и др.). В этом процессе принимают участие, главным образом, глютамат и аспартат:

Репозиторий ВГУ




Глутамат Глутамин




Аспартат Аспарагин

Акцептором аммиака могут быть не только свободные глютамат и аспартат, но и белки, в состав которых входят эти аминокислоты. Все это обеспечивает быстрое обезвреживание аммиака на месте его образования.

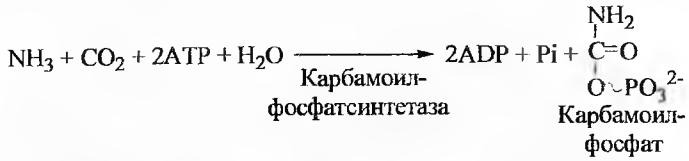
Глютамин и аспарагин поступают в печень, где под действием ферментов глютаминазы и аспарагиназы происходит их гидролиз до глютамата и аспартата и аммиака, который используется для биосинтеза мочевины.

***Биосинтез мочевины.*** Основной путь обезвреживания аммиака у всех млекопитающих (уреотелических животных) – биосинтез мочевины в печени. М.В. Ненцкий, С.С. Салазкин и другие в лаборатории И.П. Павлова установили, что синтез мочевины происходит в печени из $NH_3$, $CO_2$ и $H_2O$.

В 1932 г. Г. Кребс и К. Гейзеляйт постулировали циклическую метаболическую последовательность реакций биосинтеза мочевины – орнитиновый цикл биосинтеза мочевины (или цикл мочевины), состоящий из одной подготовительной реакции и четырех основных этапов непосредственно цикла. Каждый этап катализирует отдельный фермент.

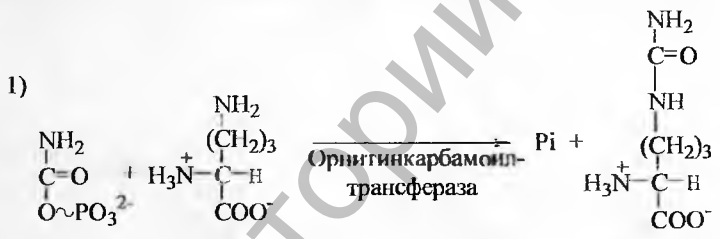
Подготовительная реакция биосинтеза мочевины (карбамида) состоит в образовании карбомоилфосфата, которую катализирует фермент карбамоилфосфатсинтетаза:

Репозиторий ВГУ



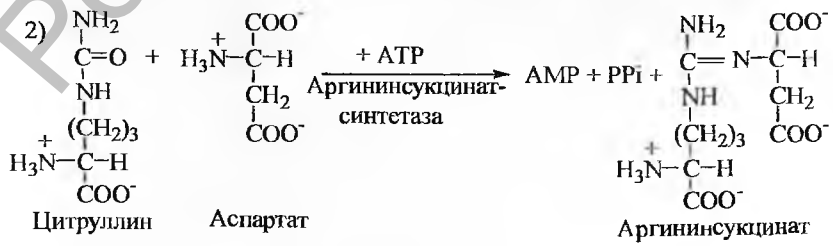

В этой реакции роль аллостерического активатора выполняет N-ацетилглутамат. Реакция практически необратима, т.к. для образования одной молекулы высокоэнергетического карбамоилфосфата расходуется две молекулы АТР. Следует отметить, что карбамоилфосфат, наряду с участием в биосинтезе мочевины, – активный участник биосинтеза пиридиновых нуклеотидов.

На первом этапе цикла карбамоилфосфат реагирует с орнитином. В ходе реакции освобождается неорганический фосфат и образуется цитруллин. Реакцию катализирует орнитинкарбамоилтрансфераза:



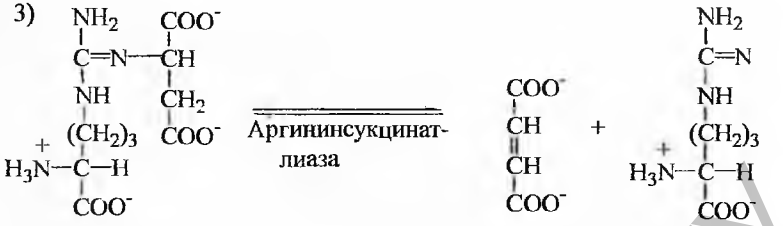

Орнитин и цитруллин представляют собой основные α-аминокислоты, обнаруженные в большинстве организмов, но не входящие в состав клеточных белков. Второй этап начинается реакцией конденсации цитруллина с аспартатом за счет энергии АТР с образованием аргининсукцината. Реакцию катализирует фермент аргининсукцинатсинтетаза.

На следующем этапе аргининсукцинатлиаза катализирует обратимую реакцию расщепления аргининсукцината на фумарат и аргинин.




Репозиторий ВГМУ

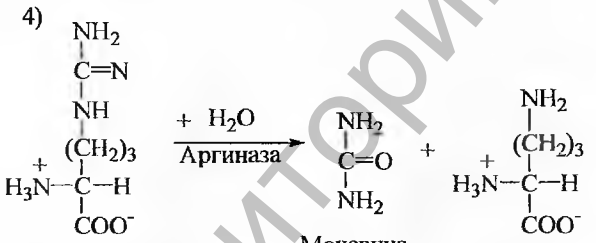
3)




Аргининсукцинат Фумарат Аргинин

Последовательность реакций биосинтеза аргинина протекает в большинстве клеток. Уреотелические животные в печени содержат фермент аргиназу, которая катализирует реакцию необратимого гидролиза аргинина с образованием мочевины (карбамида) и одновременной регенерацией орнитина:

4)




Аргинин Мочевина (карбамид) Орнитин

Орнитин далее снова вступает в реакцию с карбомоилфосфатом и на этом путь замыкается и носит циклический характер (рис. 11.3).

Непосредственными источниками азота в этом процессе являются аммиак и аспартат, оба они могут быть образованы из глутамата.

Суммарное уравнение цикла биосинтеза мочевины выглядит следующим образом:

$$NH_3 + CO_2 + 2\,H_2O + 3ATP + Аспартат \rightarrow Мочевина + 2ADP + 2\,Pi + + AMP + PPi + Фумарат.$$

Пирофосфат быстро гидролизуется, и, таким образом, для биосинтеза одной молекулы мочевины затрачивается четыре макроэргические фосфатные связи.

Фумарат гидратируется в L-малат. Под действием малатдегидрогеназы L-малат окисляется с образованием оксалоацетата и NADH.

Репозиторий ВГУ

NADH окисляется в дыхательной цепи и в процессе окислительного фосфорилирования возмещает затраты АТР, необходимые для биосинтеза мочевины.

Рис. 11.3. **Орнитиновый цикл биосинтеза мочевины.**

Оксалооцетат в реакциях трансаминирования может превращаться в аспартат и принимать участие в биосинтезе мочевины. Кроме того, он может вступать в цитратсинтазную реакцию цикла трикарбоновых кислот или превращаться в глюкозу.

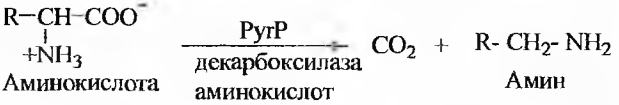
Рис. 11.4. **Взаимосвязь орнитинового цикла биосинтеза мочевины, цикла трикарбоновых кислот и трансаминирования оксалоацетата.**

Таким образом, орнитиновый цикл биосинтеза мочевины, цикл трикарбоновых кислот и трансаминирование оксалоацетата связаны между собой через фумарат и аспартат (рис. 11.4).

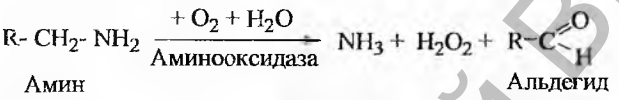
**Метаболизм отдельных аминокислот.** Наряду с общими путями метаболизма аминокислот существуют специфические пути метаболизма отдельных аминокислот, ведущие к образованию метаболически активных соединений.

Репозиторий ВГУ

Во всех видах организмов происходит пиридоксальзависимое декарбоксилирование α-аминокислот с образованием биогенных аминов:



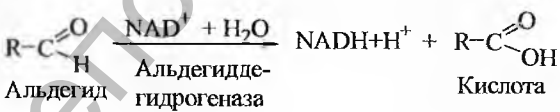

Биогенные амины обладают высокой биологической активностью. Многие из них играют роль медиаторов. По необходимости в организме происходит их обезвреживание путем окислительного дезаминирования под действием аминооксидаз:




В митохондриях содержится FAD-зависимая аминооксидаза, а в цитоплазме – пиридоксальфосфат (PyrP)-зависимая аминооксидаза. В крови эти ферменты содержатся в незначительных количествах. FAD-зависимая аминооксидаза действует на первичные, вторичные и третичные амины, а PyrP-зависимая аминооксидаза (содержащая $Cu^{2+}$) окисляет моно- и диамины, включая гистамин. Поэтому FAD-зависимую аминооксидазу иногда называют моноаминооксидазой, а пиридоксальфосфатзависимую – диаминооксидазой.

Моноаминооксидаза весьма важный фермент для нормального метаболизма мозга.

Продукты дезаминирования аминов – альдегиды окисляются до карбоновых кислот:



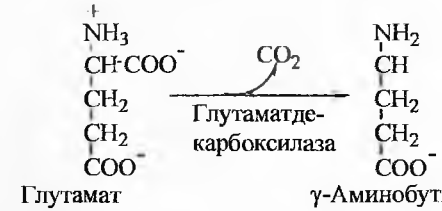

Метаболизм карбоновых кислот происходит по известным метаболическим путям.

В организме млекопитающих некоторые амины, образующиеся при декарбоксилировании аминокислот, выполняют важные биологические функции.

В клетках мозга из глутамата образуется γ-аминобутират. Оба соединения относят к нейромедиаторам, влияющим на передачу электрических потенциалов в синапсах нейрон-нейронных и нейромышечных

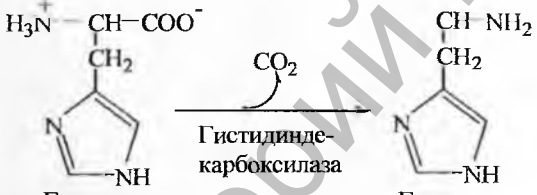
Репозиторий ВГУ

контактов. Глутамат активирует, γ-аминобутират ингибирует передачу нервных импульсов.




Глутамат γ-Аминобутират

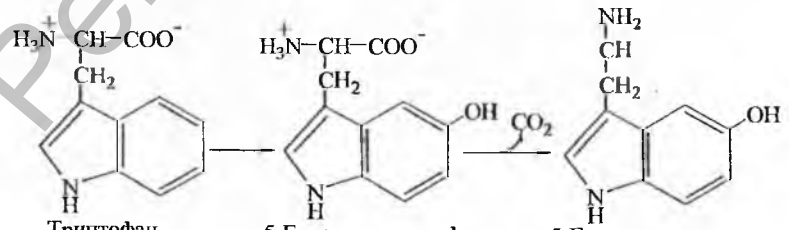
Декарбоксилирование гистидина сопровождается образованием гистамина:




Гистидин Гистамин

Гистамин образуется во всех органах и тканях, много его содержится в легких и в коже. Особенно интенсивно происходит выделение гистамина из тучных клеток соединительной ткани в ответ на присутствие аллергена, вызывая аллергическую реакцию. Большое количество гистамина образуется в слизистой желудка, где он стимулирует секрецию пепсина и соляной кислоты.

Триптофан вначале подвергается гидроксилированию с образованием 5-гидрокситриптофана, который, в свою очередь, декарбоксилируется:



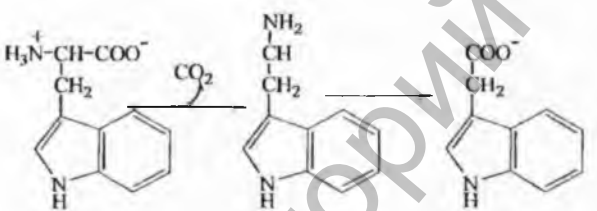

Триптофан 5-Гидрокситриптофан 5-Гидрокситриптамин (серотонин)

Репозиторий ВГУ

В процессе декарбоксилирования из 5-гидрокситриптофана образуется 5-гидрокситриптамин, или серотонин, обладающий мощным вазопрессорным действием. Около 90 % серотонина содержится в энтерохромаффинных клетках кишечника человека, остальная часть – в тучных клетках кожи, селезенке, печени, почках, легких. Много серотонина в тромбоцитах крови и в центральной нервной системе, интенсивно образуется он в сером веществе головного мозга и в гипоталамусе. Нарушения метаболизма серотонина в головном мозге обнаружены у больных шизофренией.

Следует отметить, что в организме животных и человека из триптофана образуется никотинамид, поэтому триптофан частично может восполнять недостаток никотинамида в пище.

В растениях триптофан через триптамин (или индолилпируват) может превращаться в индолилуксусную кислоту (гетероауксин) – гормон роста.




Триптофан Триптамин Индолилацетат (гетероауксин)

К биогенным аминам относится группа катехоламинов – медиаторов и гормонов (фенилэтиламин, фенилэтаноламин, дигидроксифенилаланин (ДОФА), дофамин, норадреналин и адреналин), образующихся из фенилаланина и тирозина.

Норадреналин и адреналин синтезируются в хромаффинных клетках мозгового вещества надпочечников, выполняя гормональную функцию, в аденоэргических синапсах головного мозга и в окончаниях симпатических нервов вегетативной нервной системы (рис. 11.5).

Инактивация адреналина и норадреналина происходит путем дезаминирования и метилирования.

В меланоцитах, специализированных клетках, происходит синтез пигмента меланина (от греч. melan – черный), придающего цвет коже, глазам и волосам. Биосинтез меланина протекает до образования ДОФА по тем же этапам, что и при биосинтезе адреналина, несмотря на то, что фермент тирозингидроксилаза в меланоцитах другого типа, но результат реакции одинаков:

Репозиторий ВГУ

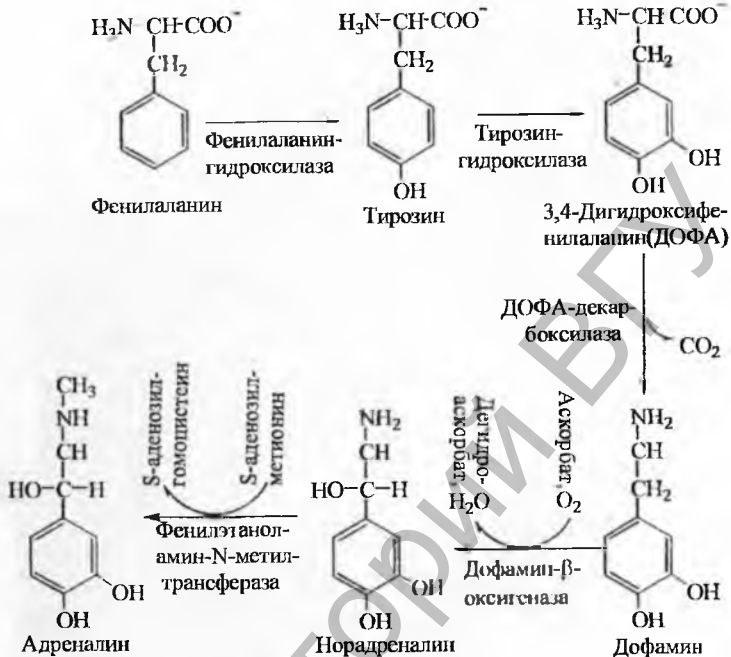
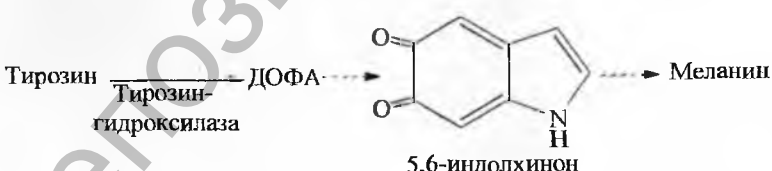



**Рис. 11.5. Схема биосинтеза норадреналина и адреналина.**




Меланин, пигмент кожи, волос, перьев, сетчатки глаз и других органов различных животных, представляет собой полимер малоизвестного строения.

Ультрафиолетовое облучение усиливает биосинтез меланиновых пигментов в коже людей. Значительные количества этих пигментов содержатся в злокачественных опухолях кожи – меланомах.

Альбинизм – это генетически обусловленная неспособность синтезировать тирозингидроксилазу в меланоцитах и соответственно меланин. Этот синдром наблюдается в различных формах. Альбинизм может

Репозиторий БГУ

быть полным (полное отсутствие пигмента) или неполным (пигмент отсутствует только в определенных областях). Мутации, блокирующие биосинтез меланина, широко распространены у животных.

В клетках жирового тела насекомых в процессе синтеза меланинов происходит обезвреживание токсичных фенолов.

Нарушение метаболизма фенилаланина и тирозина может приводить к тяжелым патологическим состояниям.

***Фенилкетонурия*** характеризуется врожденным нарушением метаболизма фенилаланина, обусловленным отсутствием или недостаточностью фермента фенилаланингидроксилазы. Фенилаланин не может превращаться в тирозин и накапливается во всех жидкостях организма. Происходит интенсивное трансаминирование фенилаланина с образованием фенилпирувата. В крови повышено содержание фенилпирувата, фениллактата и фенилацетата. Основным токсическим метаболитом считают фенилпируват, который ингибирует пируватдегидрогеназу в клетках мозга. Ингибирование превращения пирувата в ацетил-СоА нарушает нормальный метаболизм, развитие и функции мозга. Эти нарушения приводят к резко выраженному замедлению умственного развития детей. Частота возникновения фенилкетонурии составляет около 1 случая на 20000 новорожденных. Болезнь наследуется как аутосомный рецессивный признак. Лечение фенилкетонурии сводится к диете с низким содержанием фенилаланина, чтобы его поступление в организм не превышало потребности организма.

***Алкаптонурия*** – наследственное нарушение метаболизма фенилаланина и тирозина, обусловленное отсутствием фермента гомогентизат-оксидазы. Гомогентизат накапливается в организме и выводится с мочой. Моча на воздухе темнеет в результате окисления гомогентизата и полимеризации в меланиноподобный темный пигмент алкаптон.

А. Гэррод в 1902 г. установил, что алкаптонурия наследуется как единичный рецессивный менделевский признак.

**Биосинтез белков.** В живых организмах белки находятся в динамическом состоянии, т.е. они постоянно синтезируются и подвергаются гидролизу с дальнейшим превращением, т.е. они постоянно обновляются. Скорость обновления белков различных органов и тканей неодинакова. Так, белки организма позвоночных животных обновляются в целом в течение 135–155 суток. При этом белки печени, поджелудочной железы, стенки кишки и плазмы крови обновляются в течение 10 суток, мышечной ткани – 30, коллагена – 300 суток. В организме за 1 сек разрушается около 3 000 000 эритроцитов, а один эритроцит содержит около 280 000 000 молекул белка гемоглобина. Ежесуточно в организме

Репозиторий ВГУ

синтезируется в среднем 1,3 г белка на кг массы. Синтез молекулы белка протекает с большой скоростью – 2–5 сек.

Белоксинтезирующая система включает:

- набор 20 протеиногенных аминокислот;
- минимум 20 разных т-РНК, обладающих двойной специфичностью, с одной стороны, к определенной аминокислоте, а с другой – к определенному ферменту аминоацил-т-РНК-синтетазе;
- набор минимум 20 различных ферментов – аминоацил-т-РНК- синтетаз, обладающих двойной специфичностью – к определенной аминокислоте и к одной т-РНК;
- рибосомы (полисомы) с присоединенными к ним и-РНК (м-РНК);
- и-РНК(м-РНК), несущая информацию о структуре молекулы белка;
- различные белковые факторы – факторы инициации (IF-1, IF-2, IF-3), фактор элонгации –EF-G и другие;
- ATP, GTP;
- ионы $Mg^{2+}$.

Вся программа биохимических процессов записана в ДНК, молекулярном хранилище генетической информации. ДНК содержит гены, которые кодируют определенные белки. Каждый ген обладает уникальной дезоксирибонуклеотидной последовательностью. Геном млекопитающих содержит не менее 50000 индивидуальных генов, на которые приходится менее 20% суммарной ДНК генома.

**Транскрипция.** Для того, чтобы хранящаяся в ДНК информация могла быть использована, ее необходимо сначала переписать (транскрибировать) в последовательность РНК. Поток этой информации изображен схемой **ДНК – РНК – белок** (рис. 11.6), на которой представлен перевод генетического «языка» нуклеотидных последовательностей в последовательность аминокислот.

Рис. 11.6. **Схема потока генетической информации.**

Репозиторий ВГУ

Схема **ДНК – РНК** обозначает биосинтез РНК, последовательность нуклеотидов в молекулах которых комплементарна определенному участку (гену) одной цепи молекулы двухцепочной ДНК, и этот процесс называют транскрипцией. Процесс транскрипции – это перенос информации гена с ДНК на РНК. В ряде случаев в результате транскрипции образуются гя-РНК, которые в дальнейшем подвергаются модификации с образованием любого из классов РНК.

Молекулы РНК представлены одной цепочкой, и только некоторые вирусы имеют геном в виде двухцепочной РНК. Поэтому РНК не подчиняется правилу комлементарности. Все виды РНК синтезируется в ядре при помощи ферментов РНК-полимераз.

В клетках эукариот содержится три различных типа ДНК-зависимых РНК-полимераз, а в клетке E. coli – один. РНК-полимераза I катализирует биосинтез предшественников трех различных р-РНК, РНК-полимераза II катализирует биосинтез предшественников м-РНК, а РНК-полимераза III – т-РНК.

ДНК-зависимая РНК-полимераза, выделенная из E. coli, представляет гетеропентомер и состоит из четырех различных субъединиц в соотношении $\alpha_2\beta\beta\sigma$. В состав фермента входит прочносвязанный цинк. Субъединицы выполняют строго определенные функции. Например, β-субъединица принимает участие в образовании фосфодиэфирных связей, роль σ-субъединицы состоит в узнавании стартового сигнала и правильного расположения всего пентамера перед началом транскрипции.

Участок ДНК, отвечающий за первоначальное связывание РНК-полимеразы, называется промотором и содержит примерно 30–60 пар нуклеотидов.

Для биосинтеза РНК необходимы следующие компоненты:

1) матрица ДНК (предпочтительно двухцепочечная, однако возможна транскрипция и с одноцепочечной ДНК),
2) рибонуклеозидтрифосфаты (NTP) – ATP, GTP, CTP, UTP,
3) ионы $Mg^{2+}$.

Реакция инициации и элонгации РНК протекает согласно следующему уравнению:

$$(\text{РНК})_{\text{n остатков}} + \text{NTP} \rightarrow (\text{РНК})_{\text{n+1 остатков}} + \text{PP}_{\text{i}}.$$

Для РНК-полимераз не требуется затравка, они не влияют на ДНК матрицу и не обладают нуклеазной активностью. Синтез цепи РНК может начинаться de novo, однако для того, чтобы м-РНК несла смысловую нагрузку, ее синтез должен начинаться в строго определенном месте начала гена. Для узнавания РНК-полимеразой начала последовательности нуклеотидов, кодирующих ген, ДНК имеет в своем составе промоторные участки, которые узнаются РНК-полимеразой. Это так назы-

Репозиторий ВГУ

ваемый ТАТА-бокс – короткий участок ДНК обогащенный А и Т и имеющий типичную последовательность: ...ТАТАААА... . Синтез РНК происходит в направлении 5′–3′ (соответственно в 3′–5′ направлении кодирующей цепи ДНК). Полимеризация происходит без затравки. ДНК-зависимая РНК-полимераза ориентирует расположение первого нуклеозидтрифосфата (GTP или ATP). 3′-ОН-группа первого нуклеозидтрифосфата вступает в реакцию конденсации со следующим нуклеозидтрифосфатом. Ориентированный динуклеотид своей 3′-ОН-группой вступает в реакцию конденсации со следующим нуклеозидтрифосфатом и таким образом процесс продолжается до сигнала терминации. В начале роста цепи (на 5′ конце) остаются три фосфатных участка. В начале цепи могут быть только остатки пуриновых нуклеотидов pppA или pppG. Достигнув сайта терминации, транскрипт отщепляется и транскрипция заканчивается.

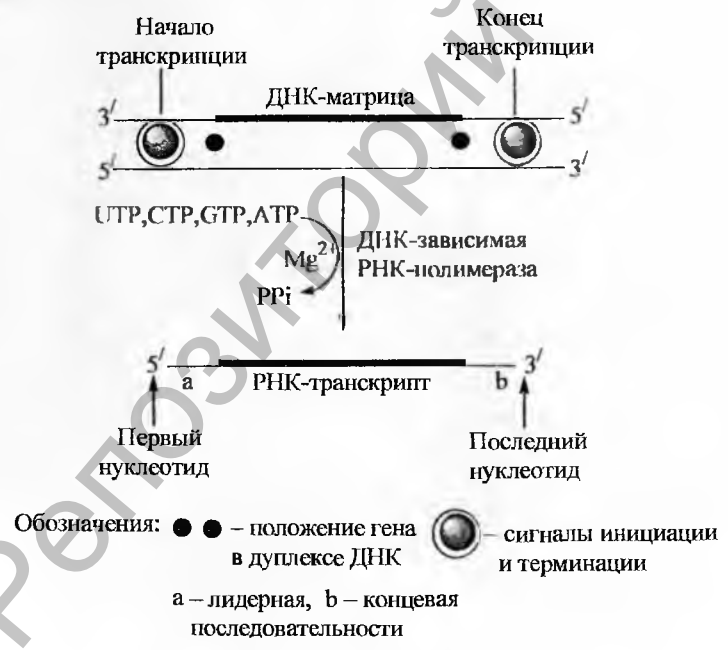



Рис. 11.7. **Схема траискрипции.**

Зрелая транскрибированная РНК содержит полную информацию смыслового участка гена, короткую лидерную и концевую нуклеотид-

Репозиторий БГМУ

ные последовательности. Скорость транскрипции нуклеотидной цепи в E. coli составляет 50 нуклеотидов в секунду.

Яд гриба бледной поганки α-аманитин (циклический пептид) является мощным ингибитором РНК-полимераз. α-Аманитин особенно прочно связывается с РНК-полимеразой II ($K = 10^{-8}$ М) и блокирует биосинтез предшественников м-РНК. РНК-полимераза III ингибируется более высокими концентрациями α-аманитина ($K = 10^{-6}$), а РНК-полимераза I не чувствительна к этому яду. α-Аманитин, связываясь с ферментами, блокирует стадию элонгации биосинтеза РНК.

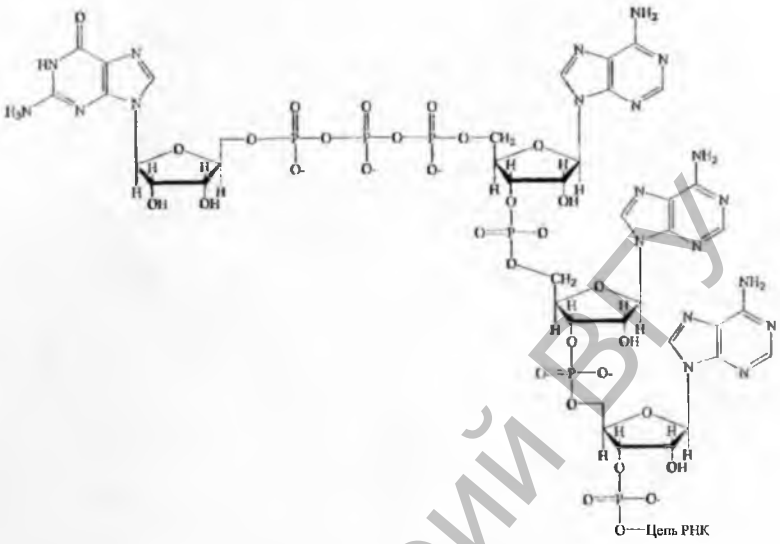
**Посттранскрипционные изменения (модификация) РНК.** Первоначальные транскрипты РНК представляют собой биологически не активные предшественники, которые превращаются в функционально активные молекулы РНК в ходе созревания (процессинга).

**Фрагментация длинноцепочечных предшественников.** Предшественники т-РНК и р-РНК с более длинными цепями под действием ферментов нуклеаз расщепляются до конечных размеров. При этом из одних предшественников т-РНК образуется одна молекула т-РНК, а другие предшественники фрагментируются с образованием двух или трех различных т-РНК. В таких случаях два или три гена этих т-РНК расположены последовательно в ДНК и транскрибируются с образованием одного транскрипта РНК. В E. coli все три р-РНК (5S, 16S, 23S) и одну т-РНК вырезает рибонуклеаза III из одного первичного транскрипта РНК, расщепляя определенные связи.

***Кэпирование.*** Вслед за началом транскрипции м-РНК происходит модификация 5′ конца. Это так называемый процесс кэпирования РНК. Кэпированию подвергаются только ***транскрипты РНК-полимеразы II.*** Первым этапом кэпирования под действием фермента ***гуанилилтрасферазы*** к 5′-концу растущей цепи м-РНК присоединяется молекула ГМФ. Происходит отщепление молекулы неорганического фосфата, а три фосфорных остатка связывают 5′ остаток гидроксильной группы в остатке гуанозина с 5′ остатком первого остатка нуклеотида цепи (т.е. A или G). В результате остаток нуклеотида кэп-группы оказывается в обратной ориентации по отношению к остальным остаткам нуклеотидов цепи.

Вторым этапом кэпирования происходит метилирование. Метилирование происходит в несколько этапов. Первым этапом происходит метилирование по $N_7$ остатка гуанозина кэп группы. Катализируется первая стадия ферментом ***гуанил-7-метилтрансферазой***, переносящим метильную группу с S-аденозилметионина на $N_7$ остатка гуанозина кэп группы.

Репозиторий ВГУ




Процесс метилирования останавливается на этой стадии у одноклеточных эукариот, а такой кэп называют кэп 0 типа. Вторым этапом происходит метилирование по 2′-ОН группе рибозы 5′-концевого нуклеотида цепи РНК (А или G), а не остатка гуанозина кэп группы. Реакцию катализирует фермент ***2′-О-метилтрансфераза***. Получившаяся структура носит название кэпа 1-го типа.

Если происходит метилирование второго с конца остатка нуклеозида по 2′-ОН группе рибозы цепи РНК, уже содержащей кэп 1 порядка, то образуется кэп второго порядка, который составляет всего около 10% от всей м-РНК.

м-РНК не может существовать в цитоплазме в свободном состоянии, поэтому РНК образует комплекс с белками, участвующими в процессах кэпирования, полиаденилирования и сплайсинга.

***Присоединение нуклеотидов*** к концам некоторых РНК представляет один из типов процессинга. Так, например, тринуклеотид ССА присоединяется к 3'-концам молекул т-РНК. У эукариот после транскрипции 5'-конец молекулы м-РНК модифицируется путем присоединения кэп-структуры (колпачка), который представляет собой 7'-метил-GTP. Такая модификация блокирует 5'-конец молекулы м-РНК, защищая РНК от гидролиза 5'-экзонуклеазами, и обеспечивает упорядоченное связывание м-РНК с рибосомами на начальных стадиях биосинтеза белков.

***Полиаденилирование*** происходит после окончания трансляции или после специфического расщепления первичного транскрипта. Фермент ***poly(A)-полимераза*** присоединяет к 3′-концу транскрипта

Репозиторий ВГУ

100–200 остатков адениловой кислоты (AMP) после отщепления 3′-концевых некодирующих сайтов. Поли-А «хвост» молекулы м-РНК выполняет следующие функции:

- способствует экспорту зрелых м-РНК из ядра в цитоплазму,
- влияет на стабильность м-РНК в цитоплазме,
- служит в качестве сигнала для рибосомы.

***Сплайсинг.*** Особенностью генов эукариот является их мозаичная, так называемая экзон-интронная, структура. Это значит, что участок ДНК, кодирующий определенный белок, состоит из смысловых участков (экзонов) и участков, не несущих информации для синтеза данного белка (интронов). Интроны могут быть смысловым участком для другого гена.

**Классический опыт доказательства экзон-интронной структуры генов эукариот:**
при гибридизации РНК с участком ДНК, кодирующим данный ген, в результате комплементарного взаимодействия образуется гибрид РНК-ДНК, причем некоторые участки ДНК, не представленные в РНК,выступают из гибрида в виде петель.

Сплайсинг – один из видов процессинга м-РНК, открытый в 1977 г., представляет совокупность реакций удаления из будущей м-РНК интронов и сшивание оставшихся смысловых участков. При транскрипции копируется весь «разорванный» ген с образованием первоначального транскрипта РНК. Затем узко специфичные ферменты эндонуклеазы по строго определенным фосфодиэфирным связям «вырезают» некодирующие участки – интроны (I), а кодирующие сегменты – экзоны (Э) под действием фермента лигазы «сшиваются» по 5'- и 3'-концам точно в такой же последовательности, в какой они располагались в исходном транскрипте (рис. 11.8).

Вначале происходит разрыв фосфодиэфирной связи на 5′ конце интрона с образованием «точки ветвления», затем - на 3′ конце с одновременным сшиванием экзонов и удалением интрона в виде петли, или лассо, или lariat.

Репозиторий ВГУ

**Рис. 11.8. Схема сплайсинга м-РНК.**

Остатки нуклеотидов в молекуле РНК, так же как и в молекуле ДНК, имеют тенденцию к комплементарному взаимодействию. Пары A···U и G···C в молекуле РНК образуются так же, однако эти взаимодействия происходят не между двумя комплементарными цепочками, а внутри одной цепочки между комплементарными участками, в то же время соседние участки могут состоять из некомплементарной последовательности. Эти участки могут выпячиваться из двойной структуры в виде петель или шпилек. м-РНК прокариотов представляют собой полные копии генов, из которых ничего не «вырезано», нет кэпов и poly(A)-фрагментов.

***Модификация оснований и остатков рибозы*** представляет тип процессинга. У эукариот одна 2'-OH группа примерно на сто остатков рибозы в р-РНК ферментативно метилируется за счет S-аденозилметионина. У бактерий в р-РНК метилируются основания. Так, у дрожжевой аланиновой т-РНК содержится девять необычных нуклеотидов, таких, как инозин, псевдоуридин, дигидроуридин, риботимидин и метилированные производные гуанозина и инозина.

**Трансляция.** Схема **РНК → Белок** выражает биоситез полипептидных цепей, аминокислотная последовательность (первичная структура) которых определяется последовательностью м-РНК при участии т-РНК и р-РНК. Этот процесс называют трансляцией. Трансляция (от англ. translation – перевод *с языка на язык)* – процесс биосинтеза белка на основе м-РНК.

Репозиторий ВГУ

Транскрипция и трансляция протекают при участии многочисленных белков, выполняющих как ряд каталитических, так и специфических некаталитических функций.

Наряду с транскрипцией и трансляцией при потоке генетической информации и ее переработке являются репликация, репарация, рекомбинация и транспозиция ДНК.

Репликация ДНК – биосинтез копии ДНК, предшествующей делению клеток (ДНК ⟶ ДНК).

Репарация ДНК – удаление и повторный синтез коротких фрагментов ДНК, получивших повреждения под действием химических или физических факторов.

Рекомбинация ДНК – обмен сегментами генетического материала между различными молекулами ДНК.

Транспозиция ДНК – перемещение гена из одного положения в другое положение той же или другой хромосомы.

В клетках, инфицированных вирусами, содержащими хромосомную РНК, происходит обратная транскрипция и репликация РНК.

Обратная транскрипция – биосинтез ДНК комплементарной молекуле РНК (РНК ⟶ ДНК).

Репликация РНК – биосинтез копии хромосомной вирусной РНК, предшествующей образованию новых вирусных частиц (РНК ⟶ РНК).

***Генетический код и его характеристика.*** В 1961 г. французские биохимики Ф. Жакоб и Ж. Моно (лауреаты Нобелевской премии 1965 г.) впервые указали, что передача генетической информации от ДНК происходит с помощью м-РНК. Последующие работы М. Ниренберга, Х.Г. Кораны и Р.У. Холли (лауреаты Нобелевской премии 1968 г.) подтвердили гипотезу об участии м-РНК в передаче наследственной информации от ДНК. Они установили триплетную природу кода, т.е. каждая аминокислота программируется в м-РНК тремя нуклеотидами, называемыми кодонами, и установили, что код м-РНК «читается» путем комплементарного узнавания кодона антикодоновым триплетом т-РНК.

Основными чертами генетического кода являются: триплетность, универсальность, вырожденность и неперекрываемость.

***Триплетность*** – каждая аминокислота кодируется тремя нуклеотидами. В триплетном генетическом коде потенциально существует $4^3 = 64$ кодона. Среди этих 64 триплетов выделяют три типа кодонов:

1) кодон инициации – AUG,

2) смысловые кодоны (61) – кодируют последовательность включения аминокислот в синтезируемую полипептидную цепь,

3) кодоны терминации (3) – UAA, UAG, UGA.

Репозиторий ВГУ

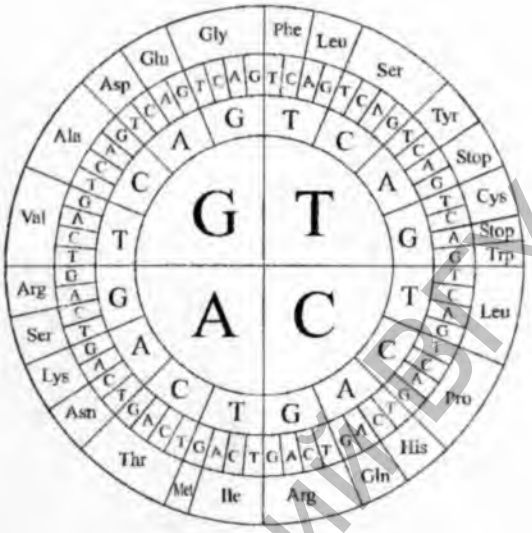
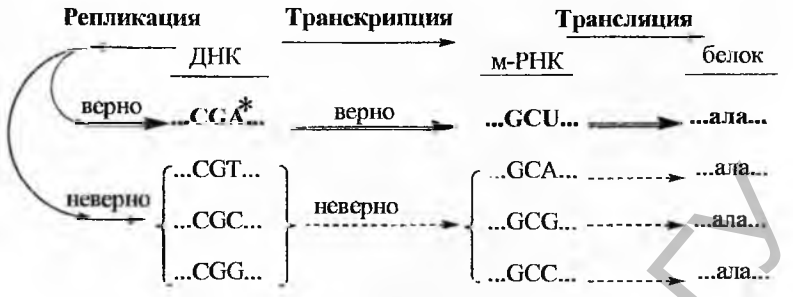



Рис. 11.9. **Генетический код.**

***Универсальность.*** Во всех организмах – эукариотов, прокариотов и вирусах используются одни и те же значения для всех кодонов, т.е. генетический код остается неизменным на протяжении примерно трех миллиардов лет. Однако у митохондрий код имеет отклонения от классического генетического кода и это ставит вопрос об их происхождении.

***Вырожденность*** генетического кода. Наличие 64 кодонов для 20 аминокислот позволяет кодироваться не одним триплетом. Только триптофан и метионин кодируются одним триплетом. Остальные 18 аминокислот из 20 кодируются несколькими (2, 3, 4 и 6) кодонами и это свойство называется вырожденностью кода. Следует отметить неравномерность вырожденности кода. Например, код для лейцина и серина вырожден шестикратно, а для многих аминокислот (глутаминовой кислоты, гистидина, тирозина и др.) код вырожден двукратно. Во всех случаях двукратной, трехкратной и четырехкратной вырожденности кода она касается только положения третьего нуклеотида. Следует отметить, что при двукратной вырожденности замена третьего нуклеотида, содержащего пуриновое основание, происходит на пуриновое (аденин на гуанин, и наоборот), а пиримидиновое – на пиримидиновое. Это дает предположение, что первоначально код был дуплетным, а впоследствии эволюции стал триплетным.

Репозиторий ВГУ




* Исходный триплет.

Рис. 11.10. **Вырожденность генетического кода.**

Вырожденность кода играет важную роль для живых организмов. Благодаря вырожденности кода некоторые ошибки при репликации или транскрипции ДНК не вызывают искажения генетической информации и не нарушают экспрессии. Например, кодон GCU при транскрипции CGA в ДНК кодирует аминокислоту аланин. Если бы аланин кодировался только одним этим кодоном, то любое изменение последовательности CGA в ДНК при репликации или транскрипции приводило бы к его замене. Однако вследствие четырехкратной вырожденности, имеющей место для третьего нуклеотида, ни одна из ошибок не приведет к искажению генетической информации и только ошибки, затрагивающие первые два нуклеотида кодона, приведут к изменению его значения. На рис. 11.10 схематично изображено, что замена третьего компонента не влияет на трансляцию.

Вырожденность генетического кода делает геном более стабильным и менее подверженным мутациям. В случае вырожденного кода мутантный белок часто оказывается не только функционально полноценным, но иногда более полезным по сравнению с первоначальным. Таким образом, вырожденность генетического кода может способствовать совершенствованию генома живых организмов, из которых в процессе эволюции происходит отбор наиболее жизнеспособных.

***Неперекрываемость*** генетического кода установлена путем определения последовательности аминокислот в мутантах. Сущность неперекрываемости кода заключается в том, что каждый триплет кодирует только одну аминокислоту и последовательность кодонов читается со строго определенной точки или, как говорят, в определенной рамке. Сдвиг рамки приводит к бессмыслице. К примеру, возьмем сокращенные названия нуклеотидов и коферментов нуклеотидного строения –

Репозиторий ВГУ

AMP, GMP, UMP, FMN, FAD, NAD, CoA, которые в значительной мере напоминают триплеты генетического кода. Если сдвинуть рамку чтения, то теряется всякий смысл.

В хромосоме бактериального вируса φX174, содержащей 5375 нуклеотидов, кодируется синтез девяти различных белков. Генетические и физические исследования показали, что такое количество нуклеотидов содержат недостаточно информации для кодирования всех девяти белков. Впоследствии было установлено, что в четырех отдельных участках одна и та же цепь ДНК может кодировать разные белки. Это возможно в результате транскрипции и трансляции в разных рамках считывания. Гены двух разных белков расположены в одном и том же участке ДНК и некоторые из соседних генов используют кодоны инициации, перекрывающиеся с кодонами терминации предшествующего гена. Перекрывание кодонов инициации и терминации обнаружено в E. coli и в ДНК митохондрий. Перекрывание и чтение кодонов в разных рамках представляет собой способ концентрации генетической информации в ДНК, и предполагают, что он имеет более общее значение.

***Рибосомы.*** Биосинтез белка происходит в цитоплазме и осуществляется рибосомами. Рибосомы состоят из двух субъединиц, состоящих из р-РНК и многих белков. Рибосомы и их субъединицы классифицируют по коэффициентам седиментации. Так, рибосомы прокариот имеют коэффициент седиментации 70 единиц Сведберга (70S), а коэффициенты седиментации ее малой и большой субъединиц составляют 30S и 50S.

Коэффициент седиментации рибосомы эукариот равен 80S, а субъединиц – 40S и 60S. Малая 40S субъединица состоит из одной молекулы 18S-р-РНК и 30–40 молекул белков. Большая субъединица содержит три типа р-РНК (5S, 5,8S и 28S) и 40–50 белков. Соотношение р-РНК и белков у 80S рибосом эукариот равно 1:1, а у 70S прокариот – 2:1.

Рибосомы прокариот имеют аналогичную структуру, но они несколько мельче. Рибосомы митохондрий и хлоропластов близки к рибосомам прокариот.

Рис. 11.11. **Структура рибосом.**

Репозиторий БГУ

В клетке прокариот количество рибосом достигает 10 000–15 000, а в клетках эукариот – от 100 000 до 1 000 000 и более. В клетках, интенсивно синтезируемых белки, рибосомы соединяясь м-РНК образуют полирибосомы (полисомы), в результате чего одна молекула м-РНК может транслироваться одновременно несколькими рибосомами. Рибосома способна синтезировать одну полипептидную цепь, а полисома – несколько полипептидных цепей.

В процессе трансляции (биосинтеза белка) рибосомы выполняют ряд специфических функций.

1. Связывание, удерживание и ориентация компонентов белоксинтезирующей системы. м-РНК и различные аминоацил-т-РНК встречаются на рибосомах, где происходит сборка полипептидной цепи.

2. При образовании пептидной связи рибосомы выполняют роль энергетической подстанции, катализируя гидролиз GTP.

3. Рибосомы осуществляют механическое перемещение м-РНК и тРНК, т.е. выполняют роль транслокатора.

***Трансляция генов,*** или непосредственный биосинтез белков, протекает по следующим стадиям:

1. Активирование и отбор аминокислот (ATP – зависимая стадия).
2. Инициация синтеза полипептидной цепи (GTP–зависимая стадия).
3. Элонгация полипептидной цепи (GTP–зависимая стадия).
4. Терминация синтеза полипептидной цепи.
5. Процессинг (созревание), или посттрансляционная модификация, белков.

***Активирование и отбор аминокислот.*** Во всех типах клеток первой стадией трансляции является ATP-зависимое превращение аминокислот в аминоацил – т-РНК. Реакции протекают в два этапа, которые катализируют ферменты аминоацил-т-РНК-синтетазы, которые проявляют высокую специфичность к аминокислоте и соответствующей ей т-РНК.

На первом этапе на повышение реакционной способности атома углерода карбонильной группы (= C = O) затрачивается ATP с образованием промежуточного смешанного ангидрида аминоацил-AMP (активированной аминокислоты) и пирофосфата. Пирофосфатаза расщепляет пирофосфат на две молекулы неорганического фосфата, в результате чего этот этап является необратимым.

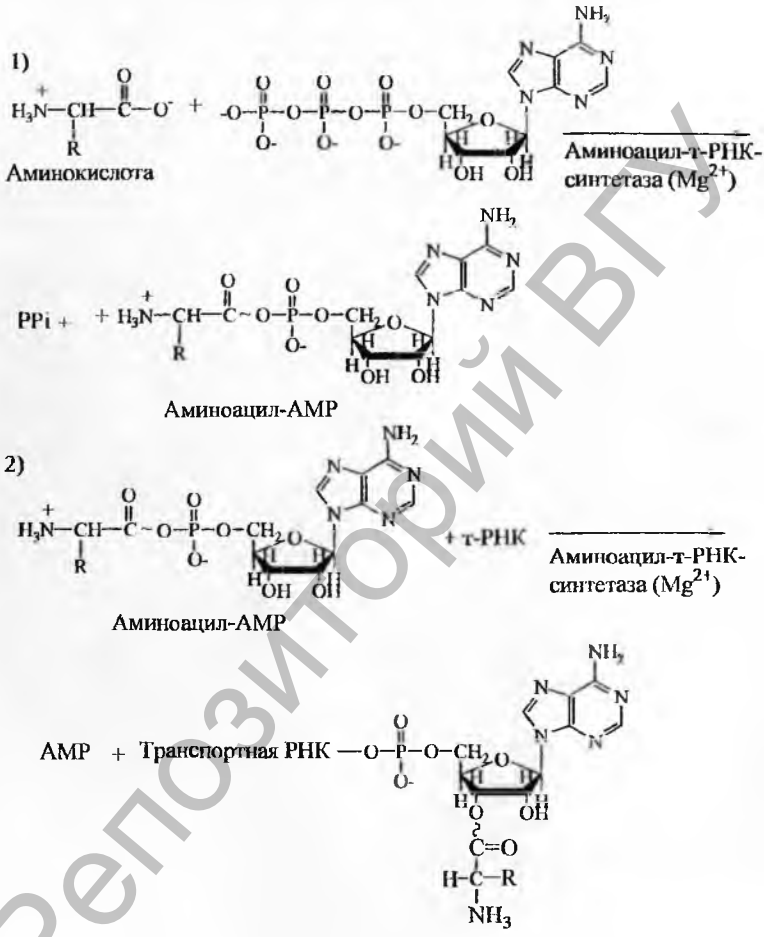
На втором этапе концевая 3'-OH группа т-РНК атакует атом углерода карбонильной группы, замещая остаток AMP с образованием аминоацил-т-РНК. Аминоацил-т-РНК представляет собой сложный эфир, в котором сохраняется повышенная реакционная способность карбонильной группы (= C =O) аминоацильного остатка, необходимая для образования амидной (пептидной) связи в молекуле белка.

В результате этих реакций достигаются две цели:

– происходит активирование аминокислотного остатка, т.е. повышение его реакционной способности в образовании пептидной связи;

Репозиторий ВГУ

– осуществляется отбор аминокислот, т.к. аминокислота соединяется со строго определенной специфической т-РНК.




***Инициация трансляции.*** В этой стадии принимают участие м-РНК, инициирующая аминоацил-т-РНК (формилметионин-т-РНК у прокариотов и метионил-т-РНК у эукариотов), малая и большая субъединицы рибосом, факторы инициации IF-1, IF-2, IF-3, ионы магния и GTP. Инициация протекает в несколько этапов (рис. 11.12).

Репозиторий ВГУ

На первом этапе два белковых фактора инициации IF-1 и IF-3 присоединяются к 30S-субъединице. Затем белковый фактор IF-2 образует комплекс с GTP, что обеспечивает ассоциацию 30S-субъединицы с м-РНК, связывание формилметиониновой т-РНК и образование 30S-комплекса инициации.

Роль формилметионина впервые было открыто, когда было обнаружено в организме E. coli наличие двух т-РНК для метионина: инициаторная т-РНК$^{fmet}$ и т-РНК$^{met}$, которая вводит метионин внутри полипептидной цепи и фермента формилтрансферазы, катализирующего образование комплекса fmet-т-РНК$^{fmet}$. Фермент аминоацил-т-РНК–синтетаза присоединяет метионин к обоим разновидностям т-РНК. Хотя нуклеотидные последовательности т-РНК$^{fmet}$ и т-РНК$^{met}$ различны, но они обе содержат один и тот же антикодон UAC, т.е. они способны связываться с одним и тем же кодоном AUG.

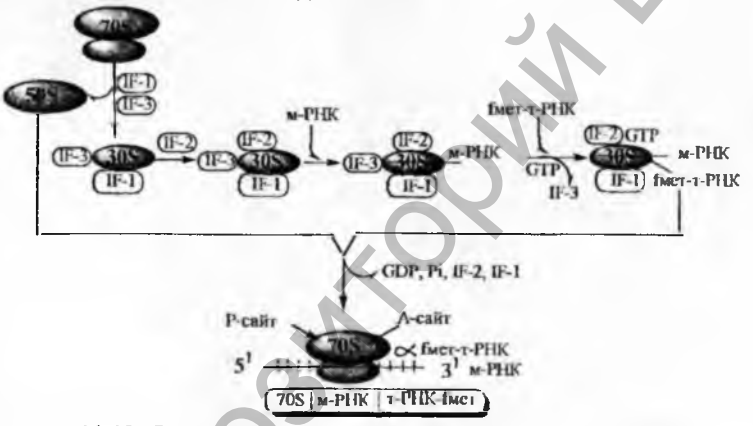



Рис. 11.12. **Схема инициации биосинтеза белка у прокариот.**

Антикодон UAC комплекса fmet-т-РНК$^{fmet}$ связывается с кодоном AUG, только если последний расположен в начале кодирующей последовательности м-РНК. Если кодон AUG расположен внутри полинуклеотидной цепи м-РНК, то соединяется с неформилированной met-т-РНК$^{met}$. Поэтому кодон AUG м-РНК называют генетическим сигналом инициации, а комплекс формилметионил – т-РНК (метионил – т-РНК у эукариотов) – инициатором.

Фактор IF-3 обеспечивает связывание м-РНК с 30S-субъединицей и присоединение инициирующей т-РНК к соответствующему кодону инициации AUG.

Инициирующая формилметионил – т-РНК (метионил – т-РНК) взаимодействует с комплексом IF-2 – GTP. Затем 50S-субъединица связывается с инициаторным 30S-комплексом, образуя инициаторный 70S-

Репозиторий ВГУ

комплекс. На третьем и четвертом этапах происходит освобождение факторов инициации и гидролиз связанного GTP до GDP и Pi.

В работающей рибосоме находятся два участка (центра, сайта) связывания т-РНК:

– аминоацильный (**A**) сайт, имеющий сродство к аминоацил-т-РНК,

– пептидильный (**P**) сайт, имеющий сродство к пептидил-т-РНК.

В результате образования 70S-комплекса инициации формилметионил-т-РНК связывается с Р-сайтом. В конце инициации инициирующая fmet-т-РНК$^{fmet}$ у прокариотов (met-т-РНК$^{met}$ у эукариотов) находится на Р-сайте собранной рибосомы и соединена водородными связями с инициирующим кодоном м-РНК (AUG=UAC). Аминоацильный участок в это время не занят.

***Элонгация.*** Процесс элонгации связан с аминоацильным и пептидильным центрами. Наращивание полипептидной цепи происходит с N-конца к С-концу, начиная от инициаторного комплекса, в результате повторения цикла, состоящего из трех этапов:

1) транспорт аминоацил-т-РНК на аминоацильный участок рибосомы и его правильное расположение в А-сайте (узнавание кодона),

2) образование пептидной связи,

3) транслокация.

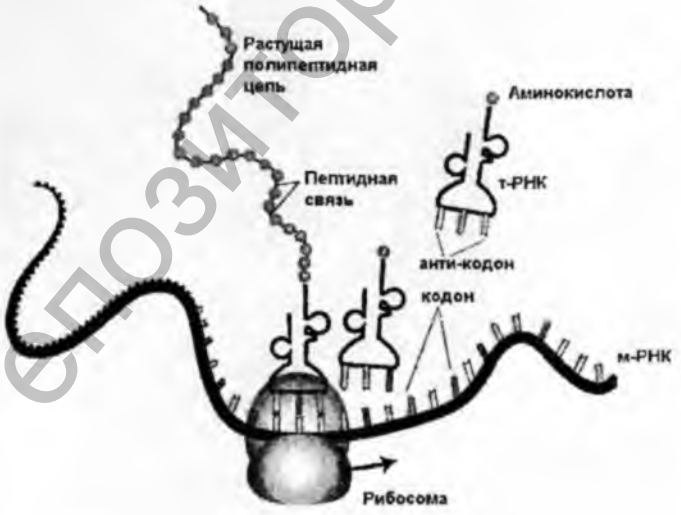



Рис. 11.13. **Схема элонгации полипептидной цепи.**

***Транспорт аминоацил-т-РНК.*** Цикл элонгации начинается с транспорта аминоацил-т-РНК на свободный А-участок рибосомы. Комплементарная аминоацил-т-РНК доставляется белковым фактором элон-

Репозиторий ВГУ

гации EF-Tu и после соответствующего расположения между кодоном м-РНК и антикодоном аминоацил-т-РНК замыкаются водородные связи. Происходит гидролиз GTP, связанного с EF-Tu. Образование нового комплекса EF-Tu – GTP происходит с участием второго фактора элонгации EF-Ts, и этот процесс носит циклический характер и ускоряется за счет энергии гидролиза GTP.

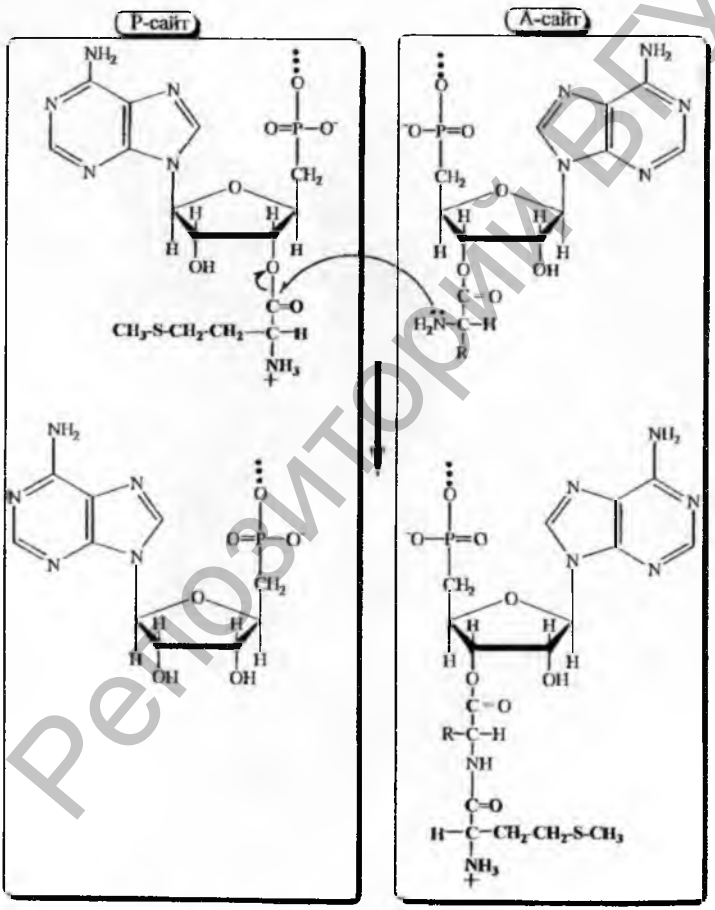



Рис. 11.14. **Образование первой пептидной связи.**

Репозиторий ВГУ

***Образование пептидной связи.*** Когда два активированных аминокислотных остатка – формилметионил (метионил)-тРНК и аминоацил-т-РНК расположены рядом на Р- и А-сайтах (рис. 11.14), под действием фермента пептидилтрансферазы в Р-центре протекает реакция транспептидирования. Этот процесс сопровождается нуклеофильной атакой со стороны атома азота аминогруппы второго аминокислотного остатка аминоацил-т-РНК, расположенного в А-сайте, атома углерода карбоксильной группы формилметионил (метионил)-тРНК. Остаток формилметионина (метионина) переносится на свободную аминогруппу аминоацил-т-РНК, и образуется первая пептидная (амидная) связь за счет энергии макроэргической связи аминоацил-т-РНК в аминоацильном центре.

***Транлокация.*** Синтезированный дипептид или полипептид силами гидрофобного взаимодействия связаны с Р-центром и с т-РНК, которая, в свою очередь, связана с кодоном м-РНК в А-центре. Пептидил-т-РНК не имеет сродства к А-центру, и при участии фактора элонгации EF-G за счет энергии GTP (фактор EF-G считают GTP-азой) происходит перемещение пептидил-т-РНК из А-сайта в Р-сайт и передвижение м-РНК относительно рибосомы. При этом происходит отделение т-РНК$^{fmet}$ (т-РНК$^{met}$) от Р-участка. Совокупность этих процессов называется транслокацией.

В результате транслокации в А-участок рибосомы приходит следующий новый кодон м-РНК и к нему присоединяется новая аминоацил-т-РНК в соответствии антикодоном. Между дипептидом Р-сайта и аминоацильным остатком в А-сайте происходит пептидилтрансферазная реакция с образованием второй пептидной связи и биосинтезом трипептида. Затем происходит транслокация трипептида в Р-центр, а в А-центр приходит следующий кодон м-РНК. Этот процесс повторяется в соответствии с информацией следующих кодонов, пока не поступит сигнал о терминации элонгации.

***Терминация элонгации,*** т.е. обрыв синтеза полипептидной цепи происходит по сигналам терминации, которыми являются один из трех триплетов: UAA, UAG и UGA (нонсенс-кодоны). Терминирующие кодоны не имеют для себя аминоацил-т-РНК, поступив в А-центр вместе с факторами терминации FR-1 и FR-2, индуцируют пептидилэстеразную активность рибосомных белков, отщепляющих синтезированный полипептид. Комплекс трансляции диссоциирует на составные компоненты.

В цитоплазме клеток прокариот под действием пептидилдеформилазы происходит отщепление формильной группы от N-конца формилметионина. Часто как у прокариот, так и эукариот происходит отщепление концевого метионина под действием фермента аминопептидазы.

Энергетические затраты на биосинтез пептидной связи составляют 4 макроэргические связи: две макроэргические связи АТР затрачиваются на активирование аминокислоты с образованием аминоацил-т-РНК и 2 молекулы GTP во время элонгации. Для синтеза первой пеп-

Репозиторий ВГУ

тидной связи расходуется 5 макроэргических связей, т.к. для инициации затрачивается дополнительно молекула GTP.

***Процессинг (созревание), посттрансляционная модификация белков.*** Превращение синтезируемой пептидной цепи в функционально активный белок (созревание) происходит в результате многостадийного процесса, который начинается сразу после трансляции и протекает в просвете эндоплазматического ретикулума (ЭР). Полипептидная цепь, растущая в процессе трансляции, на основе взаимодействия радикалов аминокислотных остатков в результате сложного многоступенчатого процесса принимает вторичную и третичную структуру. У олигомерных белков четвертичная структура формируется в процессе взаимодействия субъединиц.

Структурную организацию белка обеспечивают специальные белки – шапероны, которые связываются с еще растущей пептидной цепочкой в процессе трансляции. Шапероны обладают сродством к гидрофобным радикалам полипептидной цепи и взаимодействуя препятствуют агрегации вновь синтезированного белка с другими белками и тем самым создают условия для организации соответствующей вторичной и третичной структуры белковой молекулы.

Шапероны являются белками теплового шока, относятся к трем группам – hsp-60, hsp-70 и hsp-90, синтез их резко возрастает при повышении температуры и других формах стресса. Они защищают белки клетки от денатурации.

Шапероны hsp-70 взаимодействуют с растущим пептидом в начале трансляции, контролируют образование соответствующей структуры и обеспечивают транспорт белка в митохондрии. Шапероны hsp-60 охватывают синтезированный полипептид в виде формы, обеспечивая образование определенной конформации белковой молекулы.

Кроме того, в зависимости от белка, могут происходить различные посттрансляционные реакции:

– специфическое расщепление полипептидных цепей с превращением полипептида-предшественника в конечный продукт (продукты). Вначале соответствующая пептидаза отщепляет с N-конца сигнальный пептид. Далее превращение проколлагена в коллаген, препроинсулина – в проинсулин, а проинсулина – в инсулин. Трансляция м-РНК вируса полиомы дает очень длинную полипептидную цепь, которая гидролизируется с образованием нескольких белков;

– ассоциация мономеров с образованием олигомеров;

– присоединение кофакторов, коферментов, простетических групп. К ферментам ковалентно присоединяется липоевая кислота, FMN, FAD, гем, гликозильные группы и др.;

– образование дисульфидных связей путем окисления боковых цепей остатков цистеина;

Репозиторий ВГУ

– химическая модификация радикалов аминокислот. В настоящее время известно более 150 химических модификаций аминокислотных остатков в молекулах белков. Химической модификацией является фосфорилирование, гидроксилирование, карбоксилирование, ацилирование, йодирование и другие.

Посттрансляционная модификация белков в большинстве случаев сопровождается изменением структуры и, главным образом, их функциональной активности.

***Регуляция биосинтеза белков.*** Живая клетка способна контролировать количество и скорость биосинтеза белков. Некоторые белки синтезируются только при возникновении определенных условий. Размер хромосомной ДНК E. coli достаточен для кодирования 3 000 белков, однако одновременно синтезируется около 1 000 белков. В 46 хромосомах человек число закодированных белков значительно больше, но не все эти белки постоянно синтезируются. Для выяснения механизмов контроля биосинтеза белков Ф. Жакоб и Ж. Моно (1961) предложили теорию ***индукции – репрессии активности генов,*** и их идеи были подтверждены последующими генетическими и биохимическими исследованиями.

Основная идея теории индукции генов базировалась на наблюдениях за E. coli. При выращивании E. coli на лактозе клетка содержала несколько тысяч молекул фермента β-галактозидазы, катализирующей гидролиз лактозы до галактозы и глюкозы. Если же выращивать E. coli на других источниках углерода (глюкоза, глицерол), то количество молекул этого фермента в клетке не превышает 10. Следовательно, лактоза индуцирует биосинтез β-галактозидазы. Исходя из этого ***лактоза*** является ***индуктором,*** а ***β-галактозидаза индуцируемым ферментом***. Одновременно и согласованно с биосинтезом β-галактозидазы синтезируются галактозид-пермеаза и тиогалактозид-трансацетилаза. Галактозид-пермеаза осуществляет транспорт лактозы внутрь клетки.

Была постулирована модель ***оперона,*** объясняющая регуляцию биосинтеза белка (рис. 11.15). Генетические элементы этой модели включают регуляторный ген (R), ген-оператор, структурные гены (X, Y, Z) и промоторный участок (P) для связывания РНК-полимеразы.

Рис. 11.15. **Карта лактозного оперона его регуляторного гена.**

Репозиторий БГУ

Оператор **О** и промотор **Р** расположены рядом в молекуле ДНК. Регуляторный ген (**R**) не обязательно должен примыкать к оперону, который он контролирует.

Ф. Жакоб, Ж. Моно и другие исследователи установили, что экспрессия структурного гена (гена, кодирующего синтез белка) контролируется путем экспрессии ***регуляторного гена.*** Регуляторный ген определяет синтез белка-репрессора, который связывается с геном-оператором (рис. 11.16А) Связывание репрессора с геном-оператором препятствует связыванию РНК-полимеразы с промотором и тем самым препятствует транскрипции структурных генов (X, Y и Z), и следовательно, трансляции. Таким образом, оперон не экспрессируется.

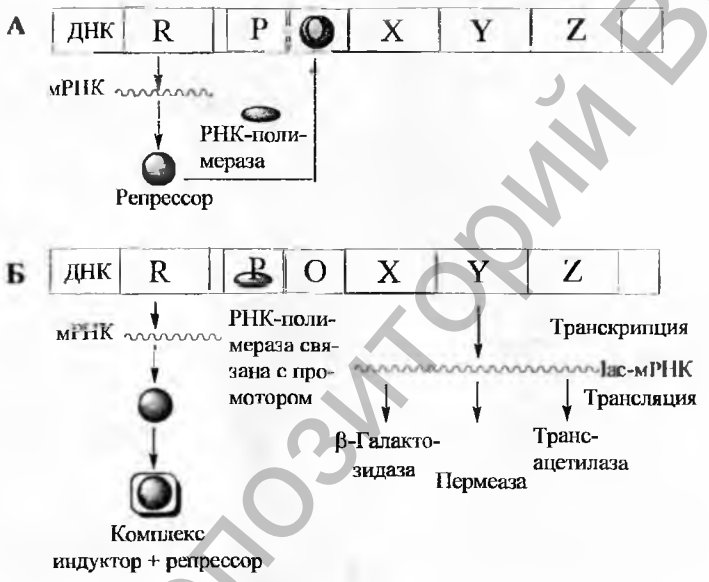



**Рис. 11.16. Схема репрессированного (А) и индуцированного (Б) лактозного оперона.**

В присутствии индуктора происходит инактивация репрессора в результате образования индуктор-репрессорного комплекса (рис. 11.16Б). Таким образом, блокируется действие репрессора и устраняется влияние регуляторного гена на структурный ген, т.е. снимается ингибирование биосинтеза белка. Происходит экспрессия структурного гена, транскрипция, а затем трансляция.

Репозиторий ВГУ

Особенности такого механизма состоят в том, что регуляция биосинтеза белка происходит путем регуляции биосинтеза мРНК, т.е. под контролем находится процесс транскрипции, а контроль трансляции – лишь следствие. Контроль осуществляется благодаря взаимопревращению неактивного в активное состояние белка-репрессора под действием индуктора.

Биологическое значение индукции – репрессии как системы контроля состоит в том, что позволяет организму адаптироваться к изменениям внешней среды. Клетке нет необходимости синтезировать белки-ферменты для метаболизма тех питательных веществ, которые не поступают из окружающей среды. Такой механизм контроля существует не только у бактерий, но и у высших животных со своими особенностями.

Контроль транскрипции генов путем индукции – репрессии представляет собой основной механизм, посредством которого клетки могут регулировать биохимические процессы. Второй механизм регуляции активности белков – это их посттрансляционная модификация.

## 12. МЕТАБОЛИЗМ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Нуклеиновые кислоты могут поступать в организм с пищей в виде нуклеопротеинов. В желудке под действием пепсина и соляной кислоты происходит частичное, а в кишечнике под действием трипсина полное освобождение нуклеиновых кислот от белков. В тонком отделе кишечника под действием ферментов рибонуклеазы (РНК-азы) и дезоксирибонуклеазы (ДНК-азы) кишечного сока и поджелудочной железы происходит гидролиз нуклеиновых кислот в основном до нуклеозидмонофосфатов. Кишечные фосфатазы катализируют гидролиз нуклеозидмонофосфатов до нуклеозидов и неорганического фосфата. Стенкой кишечника могут всасываться нуклеотиды и нуклеозиды, которые в тканях могут быть использованы в биосинтезе нуклеиновых кислот или превращаться до конечных продуктов метаболизма.

**Биосинтез нуклеотидов.** Поступление нуклеиновых кислот и азотистых оснований с пищей для млекопитающих совсем не обязательно, т.к. почти все организмы способны синтезировать пиримидиновые и пуриновые основания из простых соединений.

Существуют два пути биосинтеза: один – для пиримидинов, а другой – для пуринов. Первым продуктом нуклеотидной природы пиримидинового пути является уридин-5′-монофосфат (UMP), а пуринового пути – инозин-5′-монофосфат, которые затем служат предшественниками соответственно пиримидиновых и пуриновых нуклеотидов (рис. 12.1).

Репозиторий ВГУ

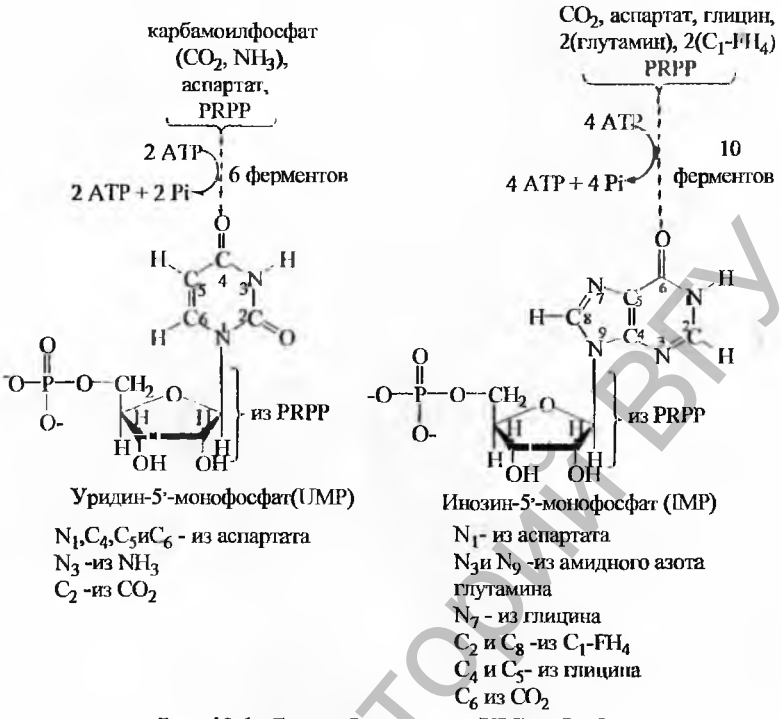
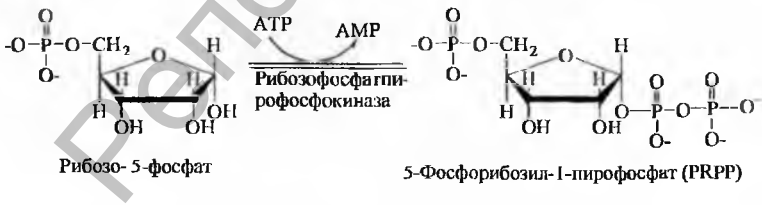



Рис. 12.1. **Схема биосинтеза UMP и IMP.**

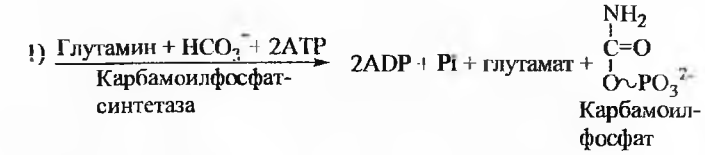
В обоих случаях донором рибозофосфатного компонента нуклеотидов является 5-фосфорибозил-1-пирофосфат (PRPP), который образуется из рибозо-5-фосфата:



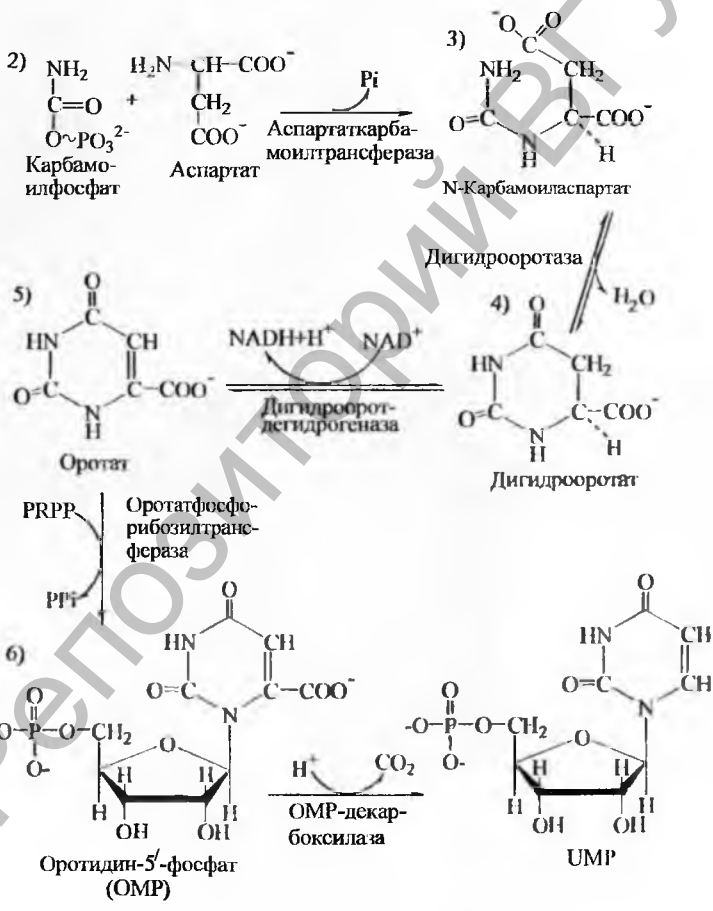

Оба пути ведут к биосинтезу нуклеотида, но в каждом образуется свое основание – урацил в UMP и гипоксантин (6-оксопурин) в IMP.

***Пиримидиновый путь***. Пиримидиновые основания синтезируются из карбамоилфосфата и аспартата. Биосинтез карбамоилфосфата представляет собой подготовительный этап, как и при биосинтезе мочевины.

Репозиторий ВГУ




Решающим этапом биосинтеза пиримидинов является образование N-карбамоиласпартата из аспартата и карбамоилфосфата.




Реакцию катализирует ***аспартаттранскарбамоилаза***, которая представляет собой сложный фермент и состоит из двух больших ката-

Репозиторий ВГУ

литических и трех малых регуляторных субъединиц. Каталитическая субъединица состоит из трех полипептидных цепей (триммер), а регуляторная – из двух (димер). Регуляторные субъединицы имеют специфические аллостерические участки связывания CTP и ATP.

Рис. 12.2. **Схема строения аспартаттранскарбамоилазы.**

Дегидратация карбамоиласпартата сопровождается его циклизацией и происходит образование пиримидинового кольца в виде дигидрооротата, дегидрирование которого ведет к образованию оротата. Замещение пирофосфата в PRPP на азотистое основание происходит с обращением α-конфигурации на β-конфигурацию. К оротату присоединяется рибозофосфатный остаток 5-фосфорибозил-1-пирофосфата с образованием нуклеотида (оротидилата). Гидролиз пирофосфата поддерживает энергетику течения этой реакции. При декарбоксилировании оротидилата образуется уридилат (UMP).

Нуклеозидмоно-, нуклеозидди- и нуклеозидтрифосфаты взаимопревращаются под действием ферментов. Нуклеозидмонофосфаты под действием специфических ***нуклеозидмонофосфаткиназ*** фосфорилируются до нуклеозиддифосфатов за счет ATP, например:

$$UMP + ATP \xrightleftharpoons[\text{UMP-киназа}]{} UDP + ADP$$

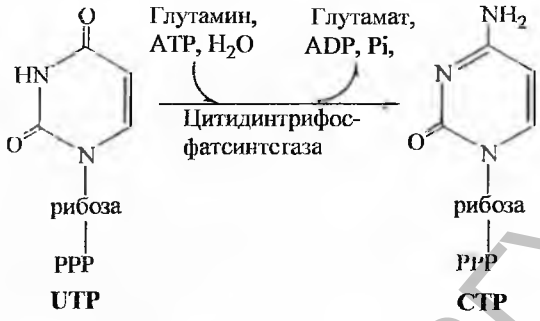
Нуклеозиддифосфаты и нуклеозидтрифосфаты превращаются друг в друга под действием нуклеотидкиназы, фермента с широкой специфичностью:

$$UDP + ADP \xrightleftharpoons[\text{Нуклеотид-киназа}]{} UTP + AMP$$

$$UDP + ATP \xrightleftharpoons[\text{Нуклеотид-киназа}]{} UTP + ADP$$

Цитидинтрифосфат (CTP) синтезируется путем аминирования UTP. Донором аминогруппы у млекопитающих является глутамин, а у E. coli – аммиак.

Репозиторий БГУ




Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов регулируется путем ингибирования по принципу обратной связи.

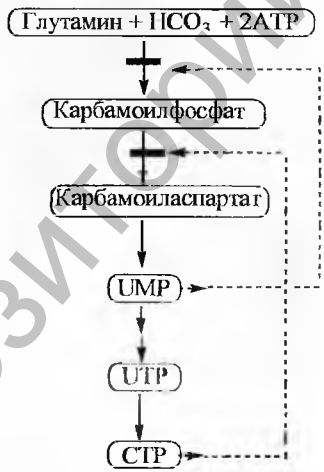



**Рис. 12.3. Регуляция биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов.**

UMP ингибирует фермент карбамоилфосфатсинтетазу, а CTP – аспартаткарбамоилтрансферазу.

***Пуриновый путь*** более сложный по сравнению с пиримидиновым, и он включает 10 ферментативных реакций. Первым и решающим этапом биосинтеза пуриновых нуклеотидов является образование 5-фосфорибозил-1-амина (фосфорибозиламина) из PRPP и глутамина:

Репозиторий ВГУ

5-Фосфорибозил-1-пирофосфат (PRPP)

5-Фосфорибозил-1-амин

Энергетику и необратимость данной реакции обеспечивает гидролиз пирофосфата.

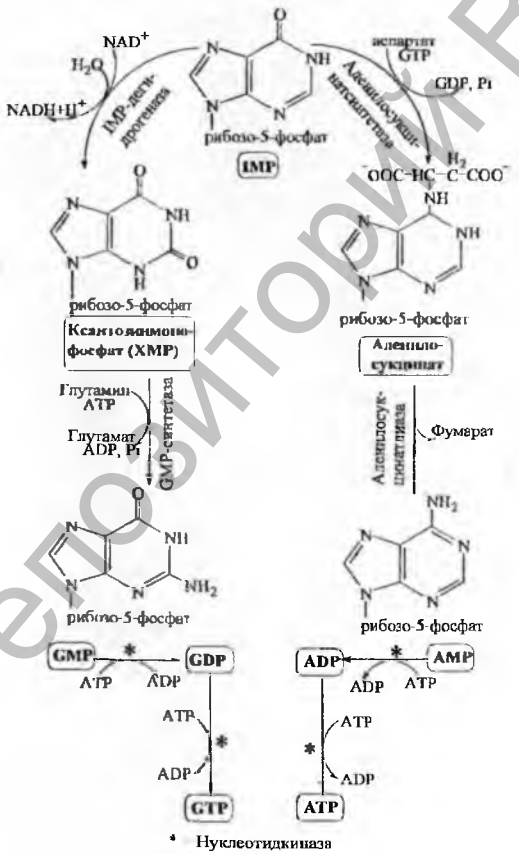



Рис. 12.4. **Схема биосинтеза пуриновых нуклеотидов.**

Репозиторий ВГУ

Особенность биосинтеза состоит в том, что сборка пуринового цикла происходит на рибозофосфате с образованием инозинмонофосфата (IMP), из которого образуются AMP и GMP. Дальнейшее фосфорилирование AMP и GMP ведет к образованию нуклеозидмонофосфатов и нуклеозидтрифосфатов (рис. 12.4).

Регуляция биосинтеза пуриновых нуклеотидов осуществляется на нескольких этапах ингибированием по принципу обратной связи. IMP, AMP и GMP ингибируют ферменты 5-фосфорибозил-1-пирофосфат-синтетазу и глутамин-фосфорибозилпирофосфат-амидотрансферазу (рис. 12.5).

За точкой разветвления путей биосинтеза AMP и GMP, т.е. после образования IMP, AMP ингибирует фермент аденилосукцинатсинтетазу, а GMP — IMP-дегидрогеназу.

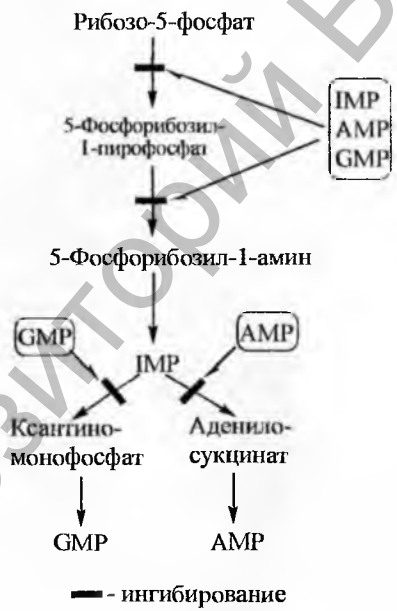



Рис. 12.5. **Регуляция биосинтеза пуриновых нуклеотидов.**

Следует отметить, что биосинтез AMP и GMP происходит сбалансированно, благодаря взаимосвязи на уровне таких субстратов, как ATP и GTP. GTP принимает участие в биосинтезе AMP, а ATP — в биосинтезе GMP. Такая перекрестная взаимосвязь обеспечивает необходимое соотношение биосинтеза пуриновых нуклеотидов.

Репозиторий ВГУ

***Биосинтез dATP, dGTP, dCTP и dTTP.*** В процессе биосинтеза ДНК участвуют дезоксирибонуклеозидтрифосфаты, которые образуются из соответствующих рибонуклеозидфосфатов. В восстановлении остатка рибозы принимают участие ферменты рибонуклеотидредуктаза, тиоредоксинредуктаза и белок тиоредоксин.

Тиоредоксин – небольшой белок с одной внутрицепочной дисульфидной связью (TR-$S_2$). Тиоредоксинредуктаза катализирует NADPH-зависимое восстановление окисленного тиоредоксина (TR-$S_2$) с образованием восстановленного тиоредоксина (TR-$(SH)_2$). Рибонуклеотидредуктаза катализирует восстановление остатка рибозы в 2-дезоксирибозу за счет TR-$(SH)_2$. В природе существуют две рибонуклеотидредуктазы. Фермент из тканей млекопитающих содержит негеминовое железо и субстратами для его являются нуклеозиддифосфаты. В организме E. coli рибонуклеотидредуктаза представляет собой $B_{12}$-зависимый фермент, и ее субстратами являются нуклеозидтрифосфаты. Оба фермента в качестве доноров электронов используют TR-$(SH)_2$ .

**Рис. 12.6. Схема биосинтеза дезоксинуклеозидтрифосфатов.**

В процессе реакции происходит восстановление рибонуклеозиддифосфатов до дезоксирибонуклеозиддифосфатов (рис. 12.6). Три из них – dADP, dGDP и dCDP под действием нуклеотидкиназы фосфорилируются до dATP, dGTP и dCTP.

dUDP служит предшественником dTTP, но урацил должен превратиться в тимин (рис. 12.7). Вначале dUDP дефосфорилируется до dUMP. Затем под действием фермента тимидилатсинтетазы происходит метилирование пиримидинового цикла в пятом положении. $N^5,N^9$-метилентетрагидрофолат является донором группы $-CH_3$ и донором электронов в реакции метилирования.

РЕПОЗИТОРИЙ ВГУ

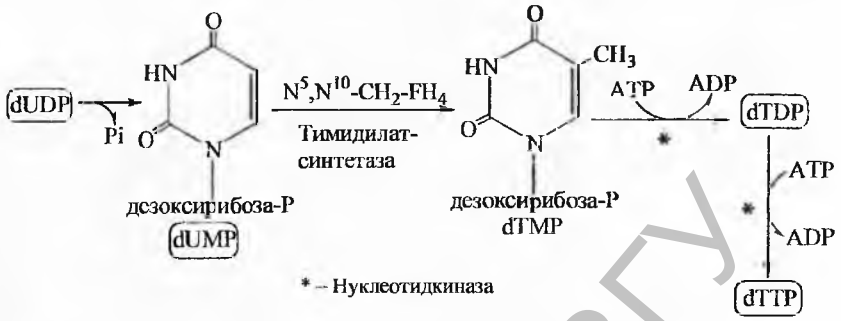
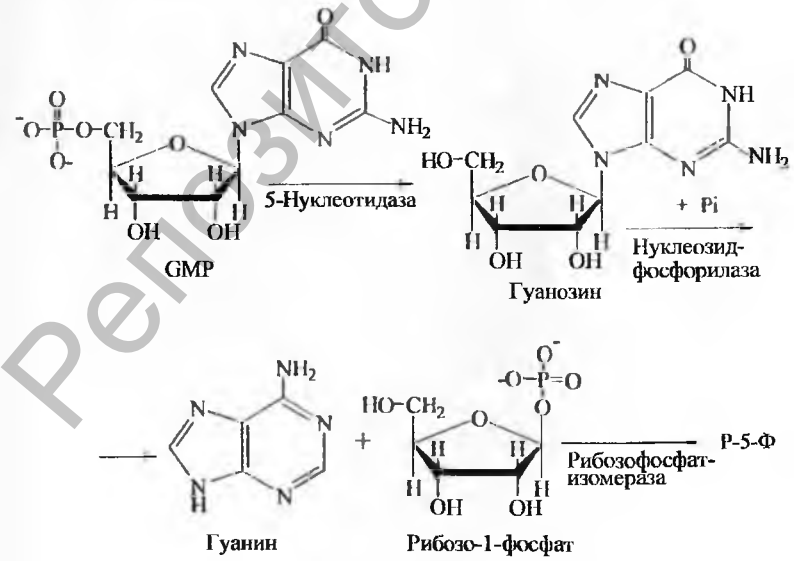


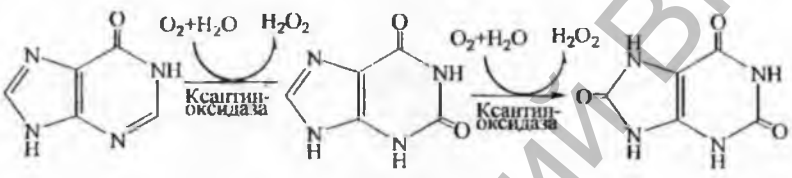

**Рис. 12.7. Биосинтез dTTP.**

**Катаболизм нуклеотидов.** В организме метаболизм нуклеиновых кислот сопровождается постоянным их биосинтезом и деградацией. Экзонуклеазы и эндонуклеазы осуществляют гидролиз ДНК и РНК до нуклеотидов. Специфические фосфатазы (нуклеотидазы) отщепляют от нуклеотидов неорганический фосфат с образованием нуклеозидов. Фосфорилаза катализирует расщепление нуклеозидов с образованием оснований и рибозо-1-фосфата.




Репозиторий ВГУ

Катаболизм AMP может протекать аналогично GMP с образованием аденина. Аденин и гуанин в процессе гидролитического дезаминирования превращаются в гипоксантин и ксантин соответственно. Расщепление AMP может идти несколько иным путем. AMP под действием аденилатдезаминазы дезаминируется до IMP. Последующие реакции протекают обычным путем с образованием гипоксантина, который далее под действием фермента ксантиноксидазы окисляется до ксантина, а ксантин до мочевой кислоты. Ксантиноксидаза представляет собой флавопротеин, содержащий молибден и железо. В качестве окислителя использует молекулярный кислород или пероксид водорода.




Гипоксантин Ксантин Мочевая кислота

Мочевая кислота является конечным продуктом метаболизма пуриновых оснований у большинства приматов, в том числе и человека, свиней, птиц, некоторых рептилий и большинства насекомых.

У наземных рептилий, птиц и насекомых мочевая кислота не только продукт катаболизма пуринов, но и продукт биосинтеза и выведения аминогрупп α-аминокислот. Эти животные синтезируют из аминного азота пурины и затем их окисляют до мочевой кислоты.

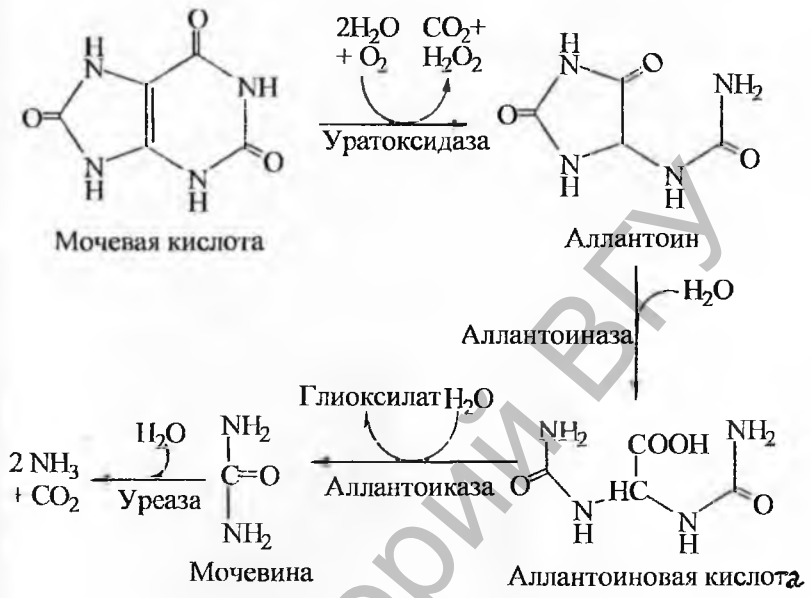
У пауков главной экскреторной формой пуринов служит гуанин.

**Уриколиз.** У многих животных мочевая кислота превращается до аллантоина и других конечных экскреторных продуктов. Этот процесс называют уриколизом.

У млекопитающих, моллюсков и рептилий конечным продуктом катаболизма пуринов является аллантоин. У амфибий и рыб и во многих микроорганизмах аллантоин далее превращается в аллантоиновую кислоту и мочевину, а у многих беспозвоночных конечным продуктом является аммиак, который диффундирует в водную среду.

Потеря уриколиза в процессе эволюции стала причиной возникновения подагры. Подагра наследственное заболевание, связанное с избыточным содержанием мочевой кислоты в крови. В результате происходит накопление и кристаллизация солей мочевой кислоты в синовиальной жидкости вокруг суставов, что вызывает сильную боль.

Репозиторий ВГУ




**Катаболизм пиримидиновых оснований.** Катаболизм пиримидиновых оснований, образующихся из нуклеотидов, протекает по одному из нескольких путей, в зависимости от вида организма. Один из основных путей в организме млекопитающих животных и человека включает восстановление урацила и тимина с образованием гидрированных гетероциклов. Метаболизм цитозина происходит тем же путем после дезаминирования и образования урацила (рис. 12.8).

Образующийся аммиак обезвреживается и выводится с мочой. В процессе трансаминирования из β-гидроксибутирата образуется полуальдегид метилмалоната, который превращается в метилмалонил-СоА. Метилмалонил-СоА превращается в метаболит цикла трикарбоновых кислот – сукцинил-СоА.

Репозиторий ВГУ

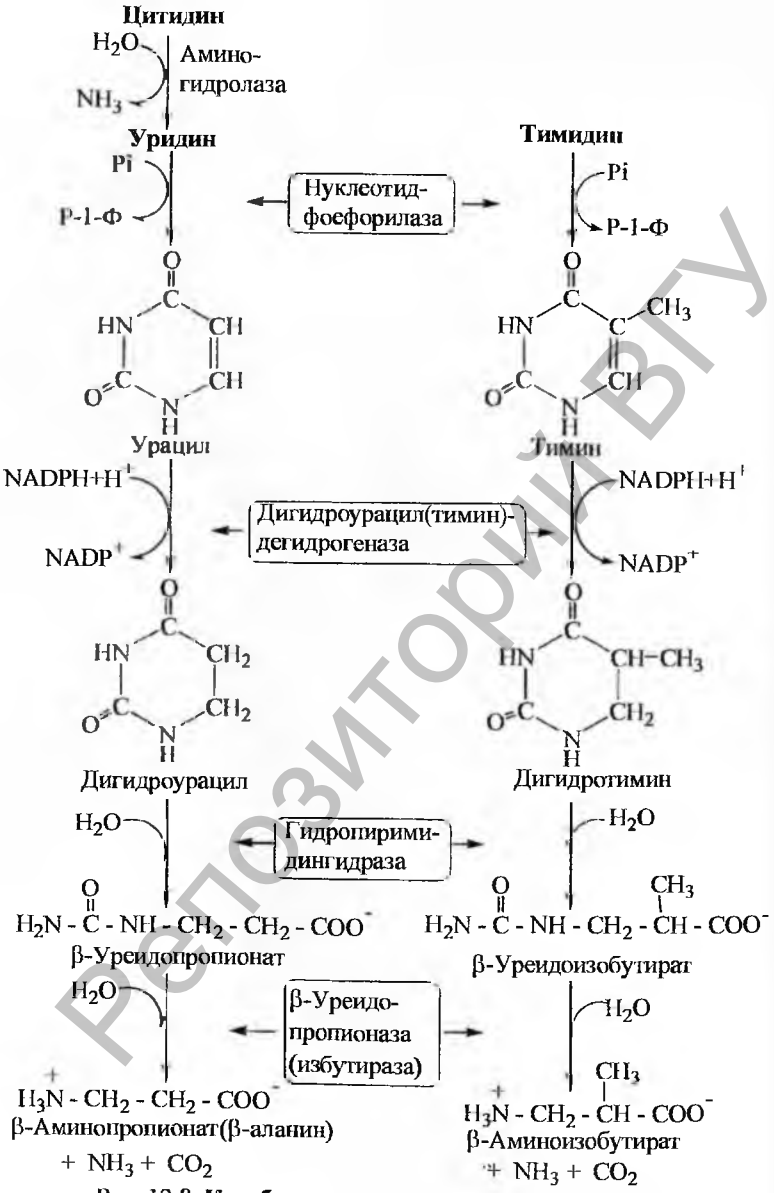



Рис. 12.8. **Катаболизм пиримидиновых оснований.**

Репозиторий ВГУ

# 13. ИНТЕГРАЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА

Живой организм по своей природе представляет динамичную систему в силу огромного количества взаимосвязанных и взаимозависимых реакций. Метаболические процессы поддерживаются в неравновесном состоянии за счет постоянного обмена веществом и энергией между живыми организмами и окружающей средой.

В предыдущих главах, из методических соображений и облегчения изучения и усвоения материала, мы рассматривали отдельно биоэнергетику, обмен углеводов, липидов, белков, нуклеиновых кислот и частично касались взаимосвязи между отдельными метаболическими путями. В действительности в отдельных клетках, тканях и органах, а также в организме в целом, мы имеем дело с единым интегрированным во времени и пространстве обменом веществ и энергии, характеризующимся многочисленными неразрывными и взаимосвязанными катаболическими и анаболическими процессами.

В результате образования общих метаболитов создаются предпосылки для взаимосвязи и взаиморегуляции и возможности переключения одного метаболического пути на другой, и наоборот.

Интеграция метаболизма осуществляется как на уровне общих промежуточных ***метаболитов – ключевых метаболитов*** и предшественников нескольких метаболических путей, таких, как глюкозо-6-фосфат, пируват, ацетил-СоА, а также на основе энергетической зависимости. Энергия, освобождающаяся при окислении одних соединений, используется для биосинтеза других.

**Взаимосвязь различных путей метаболизма углеводов.** В организме животных и человека существует тесная взаимосвязь между различными путями метаболизма углеводов – анаэробным и аэробным окислением; гликолизом и циклом трикарбоновых кислот; гликолизом и пентозофосфатным путем метаболизма углеводов; окислительным и неокислительным пентозофосфатными путями.

В 1861 году Л. Пастер установил, что на воздухе клетки дрожжей потребляют в 7 раз меньше глюкозы, чем в анаэробных условиях, т.е. ингибирование гликолиза дыханием. В результате эффекта Пастера метаболизм углеводов переключается на более экономичный путь метаболизма – аэробное окисление. Пастеровский эффект связан с ингибированием фосфофруктокиназы цитратом и АТР.

В 1862 г. О. Варбург показал, что в аэробных условиях опухолевые клетки превращают больше глюкозы в лактат по сравнению с нормальными клетками.

Г. Крэбтри в 1929 г. обнаружил, что глюкоза снижает потребление кислорода интенсивно дышащими раковыми тканями. Эффект Крэбтри, по своей сути, является противоположным эффекту Пастера.

Репозиторий ВГУ

Замедлять скорость дыхания после добавления глюкозы способны не только клетки опухолевых тканей, но и клетки сетчатки и лейкоциты. Механизм эффекта Крэбтри объясняют конкурентными взаимоотношениями между гликолизом и митохондриями за АДР и фосфат неорганический.

Наличие эффектов Пастера, Варбурга и Крэбтри указывает на тесную взаимосвязь и взаиморегуляцию анаэробного и аэробного метаболизма углеводов.

Интеграция различных путей метаболизма углеводов четко просматривается на уровне метаболима ***глюкозо-6-фосфата***, который находится на пересечении нескольких метаболических путей. За глюкозо-6-фосфат могут конкурировать ферменты ***глюкозофосфатизомераза, глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа, фосфоглюкомутаза и глюкозо-6-фосфатаза,*** направляя метаболизм по анаэробному или аэробному окислению, окислительному пентозофосфатному пути или на биосинтез гликогена.

Взаимосвязь между окислительно-декарбоксилирующей системой и системой трансферазных реакций пентозофосфатного пути метаболизма углеводов осуществляется ферментами рибозофосфатизомеразой и рибулозофосфат-3-эпимеразой.

**Взаимосвязь между обменом углеводов и липидов.** ***Биосинтез липидов из углеводов.*** С давних времен известно, что при откорме животных кормами, содержащими преимущественно углеводы (крахмал, клетчатку) в их организме откладываются значительные количества жира. Это свидетельствует о возможности биосинтеза жиров из углеводов. Аналогичное явление не является редкостью и в организме людей. Известно, что у людей, которые употребляют много углеводов, увеличивается отложение жиров. Поэтому лицам, склонным к полноте, рекомендуется ограничение употребления продуктов с высоким содержанием углеводов.

Механизм биосинтеза жиров из углеводов изучен довольно детально. L-Глицеролфосфат, необходимый для биосинтеза триацилглицеролов (нейтральных жиров) и фосфоацилглицеролов (фосфатидов), образуется при восстановлении дигидрокисацетонфосфата, который является продуктом расщепления фруктозо-1,6-бисфосфата в процессе фруктозобисфосфат-альдолазной реакции.

Биосинтез высокомолекулярных карбоновых (жирных) кислот происходит из ацетил-СоА, который может образовываться в результате окислительного декарбоксилирования пирувата под действием пируватдегидрогеназного комплекса. Пируват является центральным промежуточным продуктом обмена углеводов.

Транспорт ацетил-СоА из митохондрий в цитоплазму тесно связан с обменом углеводов. Перенос ацетил-СоА из митохондрий в цитоплазму происходит в основном в виде цитрата. Цитрат, как известно, образуется в реакции конденсации ацетил-СоА с оксалоацетатом, катализи-

Репозиторий ВГУ

руемой цитратсинтазой. Оксалоацетат представляет собой продукт карбоксилирования пирувата.

Кроме того, окислительный пентозофосфатный путь метаболизма углеводов является одним из источников восстановительных эквивалентов при биосинтезе кислот. Так, например, для биосинтеза пальмитата требуется 14 молекул NADPH, шесть из которых поставляет окислительный пентозофосфатный путь метаболизма углеводов, а восемь молекул NADPH образуется в процессе переноса 8 молекул ацетил-СоА в цитоплазму с участием цитрата и малатдегидрогеназной системы.

Перенос атомов водорода из разных субстратов сопровождается образованием кетокислот (предшественников глюконеогенеза) без участия атмосферного кислорода, кетокислоты в процессе декарбоксилирования выделяют $CO_2$. Таким образом, образование и выделение $CO_2$ при биосинтезе жиров из углеводов происходит при меньших количествах $O_2$, потому что водород восстановленных коферментов идет не в дыхательную цепь, а на восстановительные биосинтетические процессы.

В связи с этим дыхательный коэффициент при биосинтезе жиров из углеводов будет повышенный и при интенсивном жироотложении он может равен 1,5 и даже 2.

Дыхательный коэффициент рассчитывают по нижеприведенной формуле, и он может быть использован как показатель относительного использования организмом углеводов, жиров и белков, т.к. при полном окислении углеводов RQ равен 1, жиров – 0,71, белков – 0,80, а при смешанном питании – около 0.86.

$$RQ = \frac{\text{Число молей образовавшегося } CO_2}{\text{Число молей поглощенного } O_2}$$

***Биосинтез углеводов из жиров*** в организме животных ограничен, так как у них нет ферментов, способных превращать жирные кислоты в метаболиты глюконеогенеза и только глицерол, как компонент жиров, может использоваться для биосинтеза углеводов. Возможность образования углеводов из жиров подтверждается особенностями метаболизма у животных, впадающих в зимнюю спячку. У этих животных осенью откладывается в организме много жира, который постепенно используется для поддержания жизненных функций организма во время спячки. Отмечено, что в это время происходит биосинтез гликогена из жиров. Если животное поднять на несколько часов бодрствования, то за этот период очень быстро и почти полностью используется гликоген в мышцах и печени. После вторичной спячки в организме вновь появляется гликоген. Это свидетельствует о превращении жиров в углеводы.

Репозиторий БГМУ

Одним из показателей биосинтеза углеводов из жиров является снижение дыхательного коэффициента у животных во время зимней спячки.

Растения и некоторые бактерии, благодаря наличию глиоксилатного цикла, способны использовать ацетил-СоА для биосинтеза углеводов. В результате одного оборота глиоксилатного цикла образуется две молекулы оксалоацетата, одна из которых поддерживает цикличность процесса, а вторая молекула оксалоацетата может быть субстратом глюконеогенеза. Особенно интенсивно процесс биосинтеза углеводов из жиров происходит во время прорастания семян масличных культур.

**Взаимосвязь между обменом углеводов и нуклеиновых кислот.** Пентозофосфатный путь метаболизма углеводов поставляет рибозо-5-фосфат для биосинтеза 5-фосфорибозил-1-пирофосфата, который является донором рибозофосфатного остатка в биосинтезе нуклеотидов и нуклеиновых кислот.

Деградация нуклеиновых кислот и нуклеотидов сопровождается образованием рибозо-1-фосфата. Рибозо-1-фосфат изомеризуется в рибозо-5-фосфат, который, в свою очередь, может превращаться в гексозы.

Взаимосвязь между обменом нуклеиновых кислот и белков состоит в том, что аминокислоты служат субстратами в биосинтезе нуклеиновых оснований. Так, пиримидиновый цикл синтезируется из аспартата и карбамоилфосфата, а пуриновый – из аспартата, глутамина и глицина. Кроме того, нуклеиновые кислоты – непосредственные участники биосинтеза белков.

**Взаимосвязь между обменом углеводов и белков.** ***Биосинтез углеводов из белков.*** Давно известно, что кормление животных белками, особенно после голодания, обеспечивает их нормальное существование и в этих условиях происходит синтез гликогена в печени и в мышцах. При экспериментальном аллоксановом диабете резко нарушается использование углеводов. Кормление таких животных белком или аминокислотами сопровождается усилением гипергликемии и глюкозурии. Такая закономерность наблюдается у людей, больных сахарным диабетом. Эти наблюдения являются свидетельством биосинтеза углеводов из белков, а вернее – из аминокислот. Биосинтез углеводов из белков иногда (особенно при сахарном диабете) может достигать 75–80% от общего количества использованных белков.

Определенная часть аминокислот у млекопитающих, после дезаминирования, в зависимости от состояния организма, может включаться в глюконеогенез с образованием глюкозы. В зависимости от способности к глюконеогенезу аминокислоты подразделяют на: глюкогенные; глюкогенные и кетогенные; кетогенные.

Глюкогенными являются четырнадцать аминокислот, из которых в процессе метаболизма образуются ***пируват, 2-оксоглутарат, сукци-***

Репозиторий ВГУ

***нил-СоА, фумарат и оксалоацетат.*** Пируват и указанные метаболиты цикла трикарбоновых кислот через оксалоацетат могут превращаться в фосфоенолпируват, а затем – в глюкозу. К гликогенным аминокислотам относятся аланин, аргинин, аспартат, аспарагин, цистеин, серин, глутамат, глутамин, глицин, гистидин, метионин, пролин, треонин, валин.

Гликогенными и кетогенными являются пять аминокислот: изолейцин, тирозин, лизин, триптофан и фенилаланин. Из этих аминокислот могут образовываться как предшественники глюкозы, так и ацетил-СоА и 3-оксобутирил-СоА – предшественники кетоновых тел – 3-оксобутирата и D-3-гидроксибутирата.

У растений и многих микроорганизмов все аминокислоты могут принимать участие в синтезе глюкозы посредством реакций цикла трикарбоновых кислот и глиоксилатного цикла.

***Биосинтез белков(аминокислот) из углеводов.*** Углеводы являются основным источником образования в организме оксокислот: пирувата, оксалоацетата и 2-оксоглутарата.

В процессе восстановительного аминирования или трансаминирования из пирувата будет образовываться аминокислота аланин; пируват является предшественником валина* и лейцина*.

Оксалоацетат – предшественник аспартата, а аспартат – аспарагина, метионина*, треонина* и лизина*. Треонин в свою очередь является предшественником изолейцина*.

2-Оксоглутарат в процессе восстановительного аминирования или трансаминирования превращается в глутамат, а глутамат – в глутамин, пролин и аргинин*.

Из фосфоенолпирувата и эритрозо-4-фосфата синтезируются аминокислоты фенилаланин*, тирозин* и триптофан*. Рибозо-5-фосфат выполняет роль предшественника при биосинтезе гистидина*.

Аминокислота серин синтезируется из промежуточного метаболита гликолиза – 3-фосфоглицерата.

Углеводы являются не только источником оксокислот, но и атомов водорода, в виде восстановленных коферментов, в процессах биосинтеза аминокислот.

Следует отметить, что в организме высших животных и людей биосинтез аминокислот (в том числе и белков) из углеводов происходит в ограниченных количествах и не имеет существенного биологического значения.

**Взаимосвязь между обменом белков и липидов.** ***Биосинтез жиров из белков.*** Многочисленные наблюдения показывают, что содержание животных на белковой или преимущественно на белковой

---

* Аминокислоты, которые не синтезируются в организме высших животных и человека.



Репозиторий БГУ

диете не вызывает нарушений в обмене веществ. Отмечено, что в этих условиях довольно активно протекает биосинтез жиров и его отложение в организме.

Для биосинтеза жиров (триацилглицеролов) необходимы два компонента: жирные кислоты и глицеролфосфат.

Исходным метаболитом в биосинтезе жирных кислот является ацетил-СоА. Аминокислоты аланин, цистеин, глицин, серин и треонин после дезаминирования превращаются в ацетил-СоА через пируват. Безазотистые остатки лейцина, изолейцина, лизина, фенилаланина, тирозина и триптофана другими путями превращаются в ацетил-СоА. Таким образом, больше половины аминокислот (11 из 20) могут быть источником ацетил-СоА для биосинтеза жирных кислот. Кроме того, существуют и другие пути образования ацетил-СоА из аминокислот.

Прямых путей биосинтеза глицеролфосфата из аминокислот, по всей вероятности, не существует. Но большинство аминокислот, после дезаминирования, вовлекаются в глюконеогенез, в процессе которого легко образуются глицеральдегид-3-фосфат и дигидроксиацетонфосфат. Последний восстанавливается до глицеролфосфата. С другой стороны, глюкоза или гликоген, синтезированные в процессе глюконеогенеза и гликогенеза, метаболизируясь гликолитическим путем, поставляют необходимые триозофосфаты для биосинтеза липидов.

Приведенные выше данные свидетельствуют о тесной интеграции метаболизма углеводов, липидов, белков, нуклеиновых кислот и различных путей метаболизма. Главную роль в этой взаимосвязи выполняет цикл трикабоновых кислот.

**Взаимосвязь между обменом органических и неорганических веществ.** Обмен органических соединений в организме неразрывно связан с обменом минеральных веществ, в частности, с обменом воды и солей. Все биохимические процессы в организме протекают в водной среде. Вода является той дисперсной средой, которая обуславливает физико-химические и химические процессы метаболизма. Много реакций обмена – гидролиза, гидратации, дегидратации и другие связаны с водой. Большая часть $CO_2$, что выделяется из организма, образуется за счет кислорода воды. Восстановление коферментов в цикле трикарбоновых кислот, окислительном пентозофосфатном пути и в процессе β-окисления жирных кислот на 50% происходит за счет воды. С другой стороны, вода конечный продукт окисления углеводов, липидов, белков.

В различных разделах отмечалась роль других различных минеральных соединений. Так, например, фосфаты являются активными участниками метаболизма углеводов, фосфоацилглицеролов, нуклеиновых кислот; принимают участие в образовании макроэргических соединений (АТР и его аналогов), регуляции активности ферментов.

Репозиторий БГМУ

Большое количество ферментов проявляют свою активность только при наличии неорганических кофакторов. Например, тромбин катализирует превращение фибриногена в фибрин при наличии $Ca^{2+}$. Фермент аргиназа осуществляет гидролиз аргинина с образованием мочевины и орнитина при наличии $Co^{2+}$. В многочисленных ферментативных реакциях роль кофактора выполняет $Mg^{2+}$ (пируватдегидрогеназный, оксоглутаратдегидрогеназный комплексы, биосинтез белка и др.).

Таких примеров можно привести очень много и все они свидетельствуют о тесной взаимосвязи в организме обмена органических и неорганических соединений и что все биохимические процессы в организме составляют единое целое.

## 14. ГОРМОНЫ

Гормоны – вещества органической природы, синтезирующиеся специализированными клетками, поступающие в кровь в малых количествах и оказывающие регулирующее действие на обмен веществ и энергии, физиологические функции.

Термин «гормоны» (от греч. hormao – возбуждаю, побуждаю) был введен в 1905 году У. Бейлисом и Э. Старлингом, изучавшими в то время ранее открытый (в 1902 году) ими же гормон секретин, стимулирующий выработку секрета поджелудочной железы и выработку желчи.

Гормоны оказывают интегрирующее действие на совокупность процессов метаболизма живого организма. Наиболее общим определением их роли является роль посредников между ЦНС и внутренними органами, способствующих реализации регуляторной функции ЦНС.

Классическое определение подразумевало действие гормона на клетки, расположенные в организме на значительном расстоянии от клеток-продуцентов. Однако с течением времени новая получаемая научная информация все более смазывала это представление, появилось понятие паракринии (действия гормонов на соседние клетки по отношению к клеткам-продуцентам) и понятие аутокринии (действие гормона на саму клетку-продуцент). Инсулиноподобный фактор роста (IGF-I*), например, имеет способность проявлять все виды действия на клетки-мишени: классический эндокринный, паракринный и аутокринный.

Гормоны присутствуют в плазме в очень малых концентрациях в пределах $10^{-7}$М – $10^{-10}$ М, поэтому для реализации их действия на клетки-мишени необходимы очень чувствительные рецепторы, способные специфично связывать гормон.

Большинство гормонов после высвобождения в кровь из эндокринной железы связываются со специфическим белком-переносчиком в

Репозиторий ВГУ

плазме, который способствует защите гормона в кровяном русле и его эффективной доставке в периферические ткани к клеткам-мишеням.

Специфические белки-переносчики существуют для каждого класса гормонов. Белки-переносчики пептидных гормонов защищают их от протеолитического разрушения в плазме, белки-переносчики гидрофобных стероидных и тиреоидных гормонов позволяют создавать в плазме концентрацию этих гормонов, в несколько раз превышающую их растворимость в воде, белки-переносчики низкомолекулярных гормонов аминокислотного происхождения предотвращают их фильтрацию в клубочковом аппарате почек и значительно увеличивают их период полужизни в плазме.

Для обеспечения действия гормонов на периферические клетки-мишени последние должны обладать двумя характеристиками:

1. Гормон должен иметь специфический высокоафинный рецептор, соответствующий гормону.
2. Рецептор должен быть сопряжен с механизмом регулирования метаболизма клетки.

Рецепторы к гидрофильным гормонам пептидной природы располагаются на внешней стороне мембраны клеток. Активация этих рецепторов гормонами (первичными посредниками) приводит к внутриклеточной продукции вторичного посредника (вторичного мессенджера), например, cAMP, который инициирует внутриклеточные процессы.

Стероидные и тиреоидные гормоны гидрофобны, поэтому они могут растворяться в липидах клеточных мембран и проходить внутрь клетки, где связываются с внутриклеточными рецепторами. Образовавшийся комплекс рецептор-гормон транспортируется в ядро, где регулирует продукцию РНК специфичных белков.

***Рецепторы к пептидным гормонам.*** Исключая только рецептор к тиреоидным гормонам, рецепторы к гормонам – производным аминокислот и пептидным гормонам расположены в плазматической мембране. Структура рецепторов различна: некоторые рецепторы состоят из простой полипептидной цепочки на одной стороне мембраны, связывающей внешний домен и внутренний домен рецептора (мембранной частью).

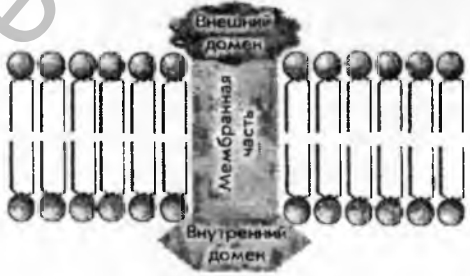



Рис. 14.1. **Рецептор, состоящий из простой полипептидной цепочки.**

Репозиторий ВГУ

Другой вариант строения рецептора состоит в наличии одной полипептидной цепи, которая, зигзагообразно извиваясь, пронизывает толщу мембраны, образуя множественные внутренние (внутриклеточные), трансмембранные и внешние (внеклеточные) участки (домены).

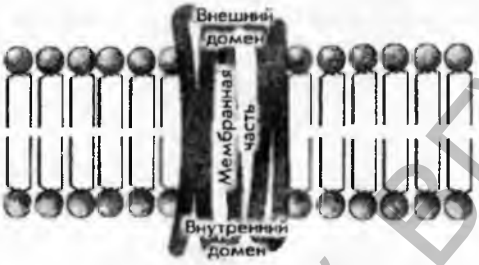



Рис. 14.2. **Рецептор, состоящий из зигзагообразно извитой полипептидной цепи.**

Другие рецепторы состоят из множества полипептидов, например, в состав инсулинового рецептора входят 4 полипептидные цепочки, связанные дисульфидными связями. Две α-субъединицы расположены на внешней стороне мембраны и непосредственно связываются с инсулином, а две β-субъединицы пронизывают мембрану.

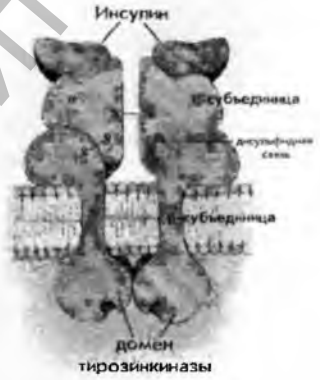



Рис. 14.3. **Инсулиновый рецептор, состоящий из четырех субъединиц, связанных дисульфидными связями.**

Вслед за связыванием гормона с рецептором сигнал передается внутрь клетки, где вторичные посредники и фосфорилированные белки обеспечивают соответствующий метаболический ответ. К основным

Репозиторий БГУ

вторичным мессенджерам относятся cAMP, $Ca^{2+}$, инозитолтрифосфат ($IP_3$*) и диацилглицерол (ДАГ, DAG*).

Белки фосфорилируются по серину и треонину при помощи cAMP-зависимой протеинкиназы и DAG-активируемой протеинкиназы С. Кроме того, связанные с мембраной и внутриклеточные тирозинкиназы фосфорилируют остатки тирозина ферментов и регуляторных белков. Сигнал гормона у большинства рецепторов передается внутриклеточно путем связывания комплексов рецептор-лиганд с расположенными в мембране GDP--GTP-связывающими белками, называемыми G-белками. Механизм взаимодействия G-белков и аденилатциклазной системы описывает следующий рисунок.

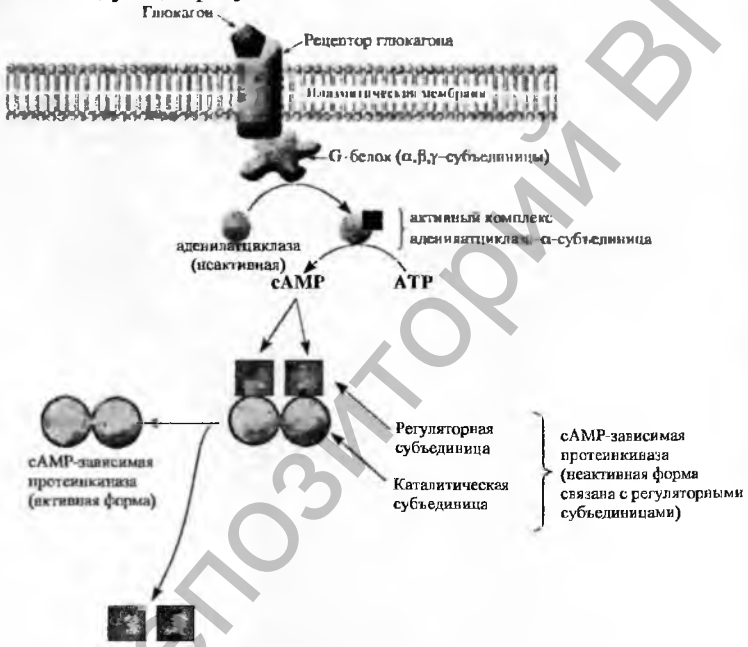



**Рис.14.4. Аденилатциклазный механизм реализации гормонального сигнала.**

Когда G-белки связываются с рецепторами, происходит взаимодействие и изменение в системе GDP–GTP – субъединица G-белка. Образованный комплекс $G_a$–GTP взаимодействует с аденилатциклазой и активирует этот фермент. Активация аденилатциклазы приводит к образованию вторичного внутриклеточного посредника cAMP и активированию с-AMP-зависимой протеинкиназы А (PKA*), которая обладает способностью регуляторно фосфорилировать большое число ферментов.

Репозиторий ВГУ

Вторая группа пептидных гормонов индуцирует образование двух вторичных посредников: DAG и $IP_3$. При этом механизме вслед за связыванием гормона с рецептором происходит взаимодействие со стимулирующим G-белком и его активация, что, в свою очередь, приводит к активации мембранной фосфолипазы С-γ (PLC-γ*). PLC-γ гидролизирует фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат ($PIP_2$*) с образованием двух посредников: $IP_3$, растворимого в цитозоле, и DAG, остающегося в мембране. $IP_3$ в цитозоле связывается с участками эндоплазматического ретикулума, открывает кальциевые каналы ($Ca^{2+}$-каналы), что приводит к повышению концентрации $Ca^{2+}$ в цитозоле, это вызывает активирование множества ферментов, в основном путем активации их кальмодулиновых субъединиц. DAG имеет две роли: 1) он связывается с протеинкиназой С (PKC*) и активирует ее, а также 2) он открывает $Ca^{2+}$-каналы в плазматической мембране, усиливая действие $IP_3$. Протеинкиназа С, как и протеинкиназа А, фосфорилирует сериновые и треониновые остатки многих ферментов, изменяя тем самым их активность.

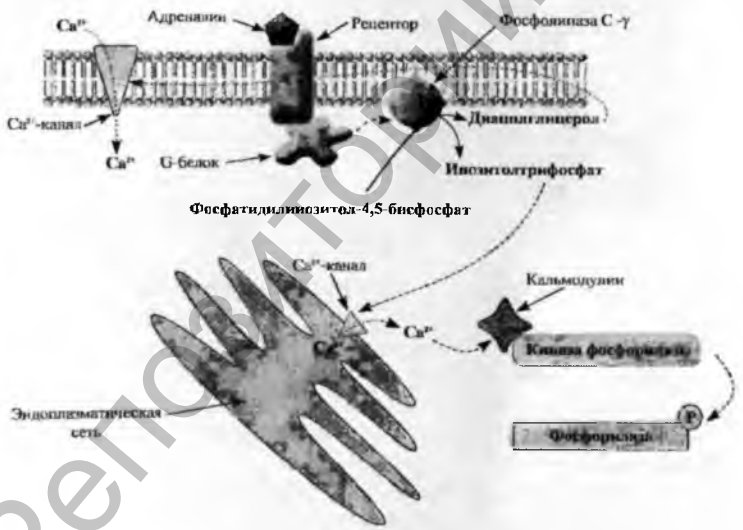



Рис. 14.5. **Фосфотидилинозитольный механизм реализации гормонального сигнала.**

Только один тип рецепторов, а именно – рецепторы к натрийуретическим факторам (напр., предсердному натрийуретическому фактору ANF*), связан непосредственно с продукцией cGMP. Вслед за связыванием гормона с рецептором к натрийуретическому фактору происходит активация продукции cGMP внутриклеточным участком рецептора. Об-

Репозиторий БГМУ

разовавшийся cGMP активирует протеинкиназу G, которая фосфорилирует ферменты, изменяя их активность, что реализуется в биологическом эффекте ферментов.

Система регуляции обмена веществ многоуровневая и имеет механизмы саморегуляции по типу положительной и отрицательной обратной связи.

В иерархии регуляторных систем организма высшая роль отводится ЦНС. Внешние и внутренние сигналы вызывают активность определенных отделов головного мозга. Импульсы из этих отделов передаются в гипоталамус, вырабатывающий так называемые рилизинг-гормоны: либерины и статины – вещества пептидной природы, соответственно активирующие и тормозящие выработку гормонов гипофизом. Система гипоталамус-гипофиз является ключевой в реализации нейрогуморальной регуляции обмена веществ и энергии.

Рис. 14.6. **Анатомическое строение системы гипоталамус-гипофиз.**

Гипофиз секретирует в кровь гормоны вазопрессин и окситоцин и вырабатывает тропные гормоны, которые, в свою очередь, активируют выработку периферическими эндокринными железами собственно гормонов – веществ различной природы, непосредственно действующих на клетки-мишени.

Гормоны, вырабатываемые эндокринными железами, по механизму отрицательной обратной связи угнетают выработку тропных гормонов гипофизом. Изменение концентрации метаболитов клеток-мишеней оказывает влияние на выработку гормонов, действующих либо на эндокринные железы, либо на гипоталамус.

***Классификация гормонов.*** Существует несколько вариантов классификации гормонов. Одна из классификаций учитывает химическое строение гормонов и выделяет следующие группы гормонов:

Репозиторий ВГУ

| Гормоны пептидного строения | Гормоны стероидного строения | Производные аминокислот |
|---|---|---|
| Адренокортикотропный гормон (кортикотропин, АКТГ, *ACTH**) | Альдостерон | Адреналин |
| Антидиуретический гормон (АДГ, *ADH**) | Кальцитриол | Норадреналин |
| Глюкагон | Кортизол | Тироксин ($T_4$) |
| Гормон роста (соматотропин, СТГ, *GH**) | Прогестерон | Трийодтиронин ($T_3$) |
| Инсулин | Тестостерон | |
| Кальцитонин | Эстрадиол | |
| Лактогенный гормон (пролактин, ЛТГ) | | |
| Лютеинизирующий гормон (лютропин, ЛГ, *LH**) | | |
| Меланоцитстимулирующий гормон (МСГ) | | |
| Окситоцин | | |
| Паратироидный гормон (паратгормон, ПТГ) | | |
| Тиротропный гормон (тиротропин, ТТГ, *TSH**) | | |
| Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ, *FSH**) | | |
| Хорионический гонадотропин (ХГ) | | |

***Гормоны гипоталамуса.*** Гипоталамус является ключевым органом интеграции между ЦНС и эндокринной системой. Он вырабатывает вазопрессин, окситоцин и релизинг-гормоны (от англ. release – высвобождать): либерины и статины. Либерины активируют синтез соответствующих тропных гормонов гипофиза, статины обладают противоположным действием.

Репозиторий ВГУ

| Релизинг-гормоны гипоталамуса (либерины и статины) | |
|---|---|
| Вещество/структура | Количество аминокислотных остатков |
| Кортикотропин-релизинг гормон (кортиколиберин) | 41 |
| SER - GLU - GLU - PRO - PRO - ILE - SER - LEU - ASP - LEU - THR - PHE - HIS - LEU - LEU - ARG - GLU - VAL - LEU - GLU - MET - ALA - ARG - ALA - GLU - GLN - LEU - ALA - GLN - GLN - ALA - HIS - SER - ASN - ARG - LYS - LEU - MET - GLU - ILE - ILENH$_2$ | |
| Соматотропин-релизинг гормон (соматолиберин) | 44 |
| TYR - ALA - ASP - ALA - ILE - PHE - THR - ASN - SER - TYR - ARG - LYS - VAL - LEU - GLY - GLU - LEU - SER - ALA - ARG - LYS - LEU - LEU - GLN - ASP - ILE - MET - SER - ARG - GLU - GLN - GLY - GLU - SER - ASN - GLN - GLU - ARG - GLY - ALA - ARG - ALA - ARG - LEUNH$_2$ | |
| Гонадотропин-релизинг гормон (гонадолиберин) | 10 |
| pyroGLU - HIS - TRP - SER - TYR - GLY - LEU - ARG - PRO - GLYNH2 | |
| Соматостатин | 14 |
| ALA - GLY - CYS - LYS - ASN - PHE - PHE - TRP - LYS - THR - PHE - THR - SER - SER - CYS | |
| Тиротропин-релизинг гормон (тиролиберин) | 3 |
| pyroGLU - HIS - PRONH$_2$ | |
| Меланолиберин | 6 |
| H-CYS-TYR-ILE-GLN-ASN-CYS-OH | |
| Меланостатин | 3 или 5 |
| pyroGLU-LEU-GLYNH$_2$<br>pyroGLU-HIS-PHE-ARG-GLYNH$_2$ | |

Гормоны гипоталамуса вырабатываются под действием нервных импульсов, обладают высокой активностью и коротким периодом полураспада. Тиролиберин крысы имеет период полураспада 4 минуты.

***Гормоны гипофиза.*** Гипофиз имеет переднюю, заднюю и промежуточную доли, которые отличаются по строению и функциям.

Передняя доля гипофиза ответственна за выработку тропных гормонов, имеющих полипептидную или белковую природу. Клетками-мишенями для них являются клетки периферических эндокринных желез, ответственных за выработку определенного гормона.

Задняя доля гипофиза выделяет в кровь окситоцин и вазопрессин, которые синтезируются в гипоталамусе.

***Гормоны периферических эндокринных желез.*** Периферические эндокринные железы выделяют гормоны различной природы: пептидной, стероидной и др. Эндокринные железы выделяют гормоны под действием сигнала соответствующих тропных гормонов гипофиза.

РЕПОЗИТОРИЙ БГМУ

**Гормоны пептидной природы.** ***Гормон роста*** – вещество пептидной природы, состоящее из примерно 200 остатков аминокислот. Активация выработки гормона роста происходит под действием соматотропного гормона гипоталамуса, соматостатин обладает ингибирующим действием на выработку гормона роста. Главным эффектом гормона роста является активация им выработки инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1*) в тканях. Практически все периферические ткани обладают способностью синтеза инсулиноподобного фактора роста-1, однако основным источником IGF-1 является печень. Считают, что печеночный IGF-1 обладает способностью интегрального регулирования роста периферических тканей, он также активирует выработку соматостатина, угнетающего выработку гормона роста.

Действие гормона роста заключается в активации глюконеогенеза, повышении поглощения аминокислот клетками, активации липолиза и повышения синтеза белков.

***Пролактин*** синтезируется ацидофильными клетками аденогипофиза. Пролактин - единственный гормон, содержание которого контролируется механизмом отрицательной обратной связи пролактин-ингибирующим гормоном, причем контроль производится непосредственно по содержанию гормона. В настоящее время известно, что в роли пролактин-ингибирующего гормона выступает дофамин. Биологическая роль пролактина состоит в активации выработки молока, однако в норме лактация возможна только после предварительного воздействия на ткань молочной железы эстрогенов.

***Человеческий плацентарный лактоген*** продуцируется плацентой на поздних сроках беременности. Этот гормон продуцируется в очень больших количествах (около 1 г/сут), это наибольшая суточная секреция среди всех известных гормонов. Он участвует в обеспечении лактации у млекопитающих.

***Гонадотропины*** являются гликопротеинами, наиболее сложными среди пептидных гормонов. К семейству гонадотропинов относятся фолликулостимулирующий гормон (ФСГ, FSH*), лютеинизирующий гормон (ЛГ, LH*) и хорионический гонадотропин (ХГ, CG*). Каждый гормон из семейства гонадотропинов является гетеродимером, состоящим из двух субъединиц (***a*** и ***b***), причем субъединица ***a*** является общей для всех гормонов семейства. Молекулярная масса гонадотропинов составляет около 25000 Да. Все гормоны передают сигнал внутрь клетки через систему рецептор–G-белок–аденилатциклазный механизм. Клетками-мишенями для гонадотропинов являются клетки семенников и яичников, ответственные за продукцию половых гормонов: эстрогенов, прогестерона и дигидротестостерона. У мужских особей лютеинизирующий гормон связывается с клетками Лейдига и активирует секрецию тестостерона, а фолликулостимулирующий гормон связывается с

Репозиторий ВГУ

клетками Сертолли и активирует выработку тестостерона и дигидротестостерона. У самок лютеинизирующий гормон связывается с клетками теки и активирует выработку эстрадиола, а фолликулостимулирующий гормон стимулирует синтез эстрогенов клетками гранулезы. Человеческий хориогонический гонадотропин вырабатывается в плаценте, его уровень также значительно увеличивается после имплантации, и является наиболее ранним признаком беременности. На определении ХГ в крови и моче основаны наиболее распространенные тест-полоски для раннего определения беременности.

***Тиротропин*** имеет гликопротеиновую структуру. Тиротропин связывается с рецепторами базальной мембраны тиреоидных фолликулов. В механизм внутриклеточной передачи сигнала входят G-белок, аденилатциклазный механизм, протеинкиназа А. Биологический эффект тиротропина заключается в усилении выработки тиреоцитами тироксина ($T_4$) и трийодтиронина ($T_3$). Длительная стимуляция рецепторов вызывает также увеличение синтеза основного предшественника тиреоидных гормонов – тиреоглобулина.

***Адренокортикотропный гормон*** (АКТГ, кортикотропин) вырабатывается базофильными клетками передней доли гипофиза, имеет полипептидное строение. Молекула АКТГ имеет 39 аминокислотных остатков у всех видов животных.

H-SER-TYR-SER-MET-GLU-HIS-PHE-ARG-TRP-GLY-LYS-PRO-VAL-GLY-LYS-LYS-ARG-ARG-PRO-VAL-LYS-VAL-TYR-PRO-ASP-ALA-GLY-GLU-ASP-GLN-SER-ALA-GLU-ALA-PHE-PRO-LEU-GLU-PHE-OH

Биологический эффект заключается в стимуляции синтеза и секреции гормонов коры надпочечников, мобилизации жира, стимуляции меланоцитов.

***Семейство про-опиомеланокортина.*** Ген про-опиомеланокортина (ПОМК, POMC*), экспрессированый в передней и промежуточной долях гипофиза, кодирует 285-аминокислотный предшественник, который при различном процессинге может дать до 8 различных пептидов: АКТГ, α-, β- и γ-меланоцитстимулирующие гормоны, β- и γ-липотропины, α-, β-, γ-эндорфины, кортикотропин-подобный пептид промежуточной доли.

***Вазопрессин и окситоцин.*** Вазопрессин (антидиуретический гормон, АДГ) и окситоцин вырабатываются в гипоталамусе особыми нейронами, связываются с особыми белками (нейрофизинами I, II и III), функция которых состоит в нековалентном связывании гормонов и транспортировке гормонов в связанном состоянии в секреторные гранулы гипофиза, откуда и выделяются в кровь после диссоциации комплекса нейрофизин-гормон.

Репозиторий БГМУ

Химическая структура окситоцина и вазопрессина сходна. Оба гормона являются нонапептидами, отличающимися между собой аминокислотами в третьем и восьмом положении от N-конца.

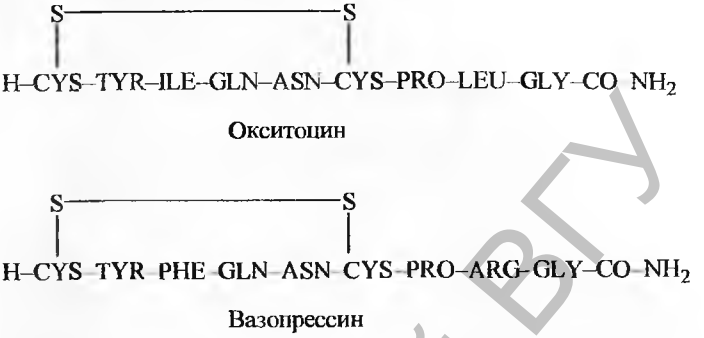



**Рис. 14.7. Строение окситоцина и вазопрессина.**

Биологическое действие окситоцина у млекопитающих заключается в стимуляции сокращения гладкой мускулатуры матки при родах и сокращения гладких мышечных волокон вокруг альвеол, вызывающее секрецию молока.

Вазопрессин, как и следует из его названия, стимулирует сокращение гладкой мускулатуры сосудов, что вызывает повышение артериального давления. Вазопрессин также оказывает мощное антидиуретическое действие, вызывая реабсорбцию воды из почечных канальцев, контролируя водный баланс организма. При недостаточности вазопрессина развивается заболевание несахарный диабет, характеризующееся выделением большого количества мочи.

***Натрийуретические гормоны*** вызывают увеличение экскреции натрия с мочой и оказывают обратное действие вазопрессину. В настоящее время известно 3 натрийуретических гормона. Предсердный натрийуретический пептид (ANP*) секретируется сердечной мышцей при повышении объема внеклеточной жидкости. Активный предсердный натрийуретический пептид содержит 28 аминокислотных остатков, содержащих 17 аминокислотное кольцо, сформированное внутрицепочечной дисульфидной связью. Вторая форма натрийуретического пептида была выделена из мозга свиней (BNP*), у человека она не обнаружена в мозгу, но обнаружена в сердечной мышце и крови. Третья форма натрийуретических пептидов (CNP*) выделяется из мозга человека, но не из сердечной мышцы.

Биологический эффект натрийуретических гормонов помимо повышения выделения натрия с мочой путем увеличения клубочковой

Репозиторий ВГУ

фильтрации заключается в расслаблении мезангиальных клеток клубочков и увеличении фильтрационной поверхности. Натрийуретические гормоны также усиливают секрецию натрия клетками канальцевого эпителия, снижают кровяное давление, ингибируют секрецию вазопрессина и снижают сократимость гладкомышечных клеток. Реализация внутриклеточной передачи сигнала происходит по гуанилатциклазному механизму.

***Ренин-ангиотензиновая система*** ответственна за регуляцию кровяного давления. Пусковым моментом активации ренин-ангиотензиновой системы является падение давления, в ответ на то, что клетки юкстагломерулярного аппарата почек выделяют ренин. Функция ренина состоит в отщеплении 10-аминокислотного фрагмента от N-конца ангиотензиногена. Отщепленный 10-аминокислотный пептид называется ангиотензин-I, подвергается действию ангиотензин-превращающего фермента (АПФ, ACE*), который отщепляет 2-аминокислотный фрагмент с С-конца с образованием ангиотензина-II (гипертензин, или ангиотонин). Он является наиболее мощным природным вазоконстриктором, действующим в основном на артериолы. В результате действия ангиотензина-II повышается как систолическое, так и диастолическое давление. Одним из биологических эффектов ангиотензина II является усиление синтеза и секреции альдостерона корой надпочечников.

***Паратиреоидный гормон (паратиреоидин, парат-гормон, PTH*)*** – гормон пептидной природы с молекулярной массой 9500 синтезируется главными клетками паращитовидных желез, чувствительных к уровню $Ca^{2+}$ плазмы. Синтез паратиреоидного гормона является нерегулируемым, однако процесс его расщепления протеолитическими ферментами поддается регуляции. При повышении содержания в плазме $Ca^{2+}$ происходит активация протеолиза паратиреодного гормона, в результате чего его секреция снижается. При недостатке $Ca^{2+}$ в плазме происходит снижение протеолитического расщепления паратиреоидного гормона и его секреция увеличивается.

Биологический эффект паратиреоидного гормона заключается в повышении содержания $Ca^{2+}$ в плазме, что реализуется следующими путями:

– повышением резорбции костей остеокластами, что освобождает $Ca^{2+}$ и фосфаты из костей;

– снижением выведения $Ca^{2+}$ почками за счет повышения реабсорбции его канальцевым эпителием;

– повышением выведения фосфатов за счет снижения их реабсорбции;

– стимуляцией выработки печенью, почками и кишечником кальцитриола, ответственного за увеличение абсорбции кальция кишечником.

Репозиторий ВГУ

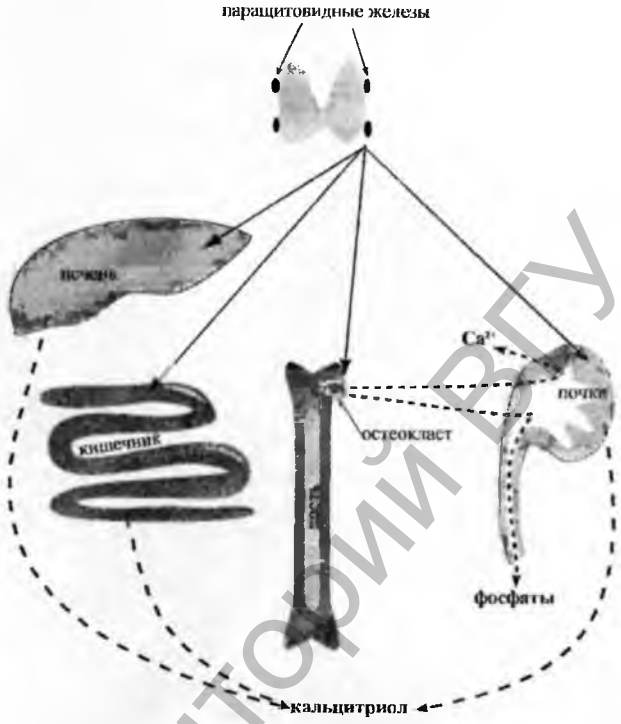



Рис. 14.7. **Биологический эффект паратиреоидного гормона.**

***Кальцитонин*** является пептидным гормоном, состоящим из 32 аминокислотных остатков, секретируется С-клетками щитовидной железы. Кальцитонин увеличивает секрецию паратиреоидного гормона и снижает выработку остеопорина – белка, продуцируемого остеокластами, ответственного за прикрепление остеокласта к кости. Таким образом, кальцитонин повышает уровень $Ca^{2+}$ в крови путем повышения секреции паратиреоидного гормона и снижает реабсорбцию кости, действуя непосредственно на остеокласты.

***Инсулин*** – гормон поджелудочной железы белковой природы. Он является членом семейства функционально похожих молекул, включающего инсулиноподобный фактор роста–1, - 2 и релаксин.

Биосинтез инсулина происходит в β-клетках островков Лангерганса поджелудочной железы. Впервые факт того, что некий антидиабетический гормон синтезируется в поджелудочной железе, предположил

Репозиторий ВГУ

Shafer в 1916 году. Первичная структура инсулина была установлена Sanger в 1954 году.

Молекула инсулина содержит 21 аминокислотный остаток и состоит из двух полипептидных цепей: А-цепи и В-цепи, связанных двумя дисульфидными связями, кроме того, одна дисульфидная связь имеется в А-цепи и связывает 6 и 11 аминокислотные остатки. А-цепь содержит 21-аминокислотный остаток, В-цепь содержит 30 аминокислотных остатков.

Биосинтез инсулина проходит несколько этапов. Первым белковым предшественником инсулина является препроинсулин, содержащий 110 аминокислотных остатков у крысы, 108 – у человека. Препроинсулин представляет собой молекулу проинсулина (84 аминокислотных остатка) с присоединенной сигнальной последовательностью из 24 аминокислотных остатков. Сигнальная последовательность, вероятно, играет важную роль в правильном процессинге гормона. Препроинсулин имеет достаточно гидрофобных боковых цепей, которые фиксируют препроинсулин к стенке шероховатого эндоплазматического ретикулума и обеспечивают правильное складывание молекулы. Сигнальная последовательность препроинсулина отщепляется в просвете шероховатого эндоплазматического ретикулума ферментом сигнальной пептидазой с образованием проинсулина.

В молекуле проинсулина важную роль в образовании дисульфидных связей играет связывающая последовательность (С-пептид), которая обеспечивает пространственное размежевание В-30 и А1-аминокислотных остатков. После складывания и образования дисульфидных связей молекула проинсулина транспортируется в аппарат Гольджи, где происходит протеолиз проинсулина с образованием инсулина, упаковка инсулина в секреторные гранулы. Протеолиз инсулина начинается в аппарате Гольджи и заканчивается в секрсторных гранулах. Продукты протеолиза секретируются в эквимолярных количествах. вместе с ними секретируется около 3% проинсулина.

Секреция инсулина β-клетками, а также транскрипция гена инсулина, трансляция mRNA и ее стабильность в цитоплазме регулируются уровнем глюкозы плазмы. Повышенное потребление β-клетками глюкозы плазмы приводит к активации метаболизма и повышению соотношения ATP/ADP. Это, в свою очередь, приводит к ингибированию ATP-чувствительных $K^+$-каналов. Происходит деполяризация, приток $Ca^{2+}$ и секреция инсулина.

Инсулин, секретируемый β-клетками поджелудочной железы, через систему портальной вены попадает в печень, где активирует глубокие метаболические изменения.

Репозиторий БГМУ

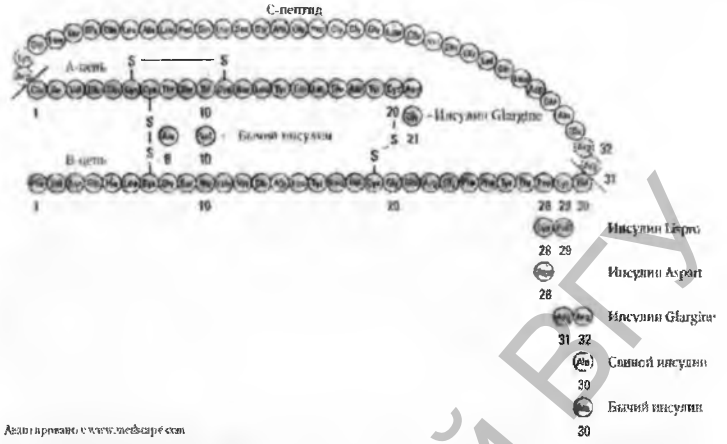



Рис. 14.9. **Первичная структура молекулы проинсулина человека и различия структуры различных инсулинов.**

В мембране клеток содержатся два основанных типа переносчиков глюкозы внутрь клетки, обеспечивающих субстратом энергетические потребности клеток, это $Na^+$-зависимые переносчики и $Na^+$-независимые переносчики. $Na^+$-зависимые переносчики не регулируются инсулином, они содержатся на поверхностях клеток, ориентированных в просвет кишечника и проксимального отдела почечных канальцев и совмещают перенос глюкозы против градиента концентрации из просвета кишечника или почечного канальца в клетку с переносом ионов $Na^+$ по градиенту концентрации. Поскольку $Na^+$ движется по градиенту концентраций, то высвобождаемая энергия используется для переноса глюкозы против градиента концентрации. Градиент концентрации $Na^+$ создается $Na^+/K^+$-АТР-азой ионного канала.

$Na^+$-независимые переносчики глюкозы, содержат несколько изоформ и обеспечивают перенос глюкозы в клетку по градиенту концентрации. Выявлено 7 типов переносчиков глюкозы: Glut-1–7, однако наибольшее значение для инсулинзависимых тканей, таких, как скелетная мускулатура, жировая ткань и сердечная мышца, имеет Glut-4 и немного меньшее Glut-1. Эти переносчики глюкозы активируют поступление глюкозы в клетки из внеклеточного пространства и, тем самым, снижают концентрацию глюкозы в крови. Поступившая в клетку глюкоза быстро подвергается фосфорилированию до глюкозо-6-фосфата, который метаболизируется. Так поддерживается низкая внутриклеточная концентрация глюкозы.

Поступление глюкозы в клетку определяется деятельностью переносчиков глюкозы, потому что глюкоза, как и любое другое гидро-

Репозиторий ВГУ

фильное вещество, не может самостоятельно, без помощи переносчиков (каналов), проникать в клетку.

Инсулин усиливает захват глюкозы клетками путем увеличения в их плазме количества транспотеров глюкозы и с помощью их перемещения из внутриклеточных пространств на мембрану клетки. Увеличение количества переносчиков глюкозы происходит уже через 30 секунд стимуляции инсулином. С истощением сигнала инсулина происходит уменьшение количества переносчиков глюкозы на поверхности клетки. Инсулин вызывает не только быстрое появление дополнительного количества переносчиков на поверхности клетки, но также влияет на экспрессию генов Glut-4 в скелетных мышцах, определяя базальный уровень переносчиков на мембране.

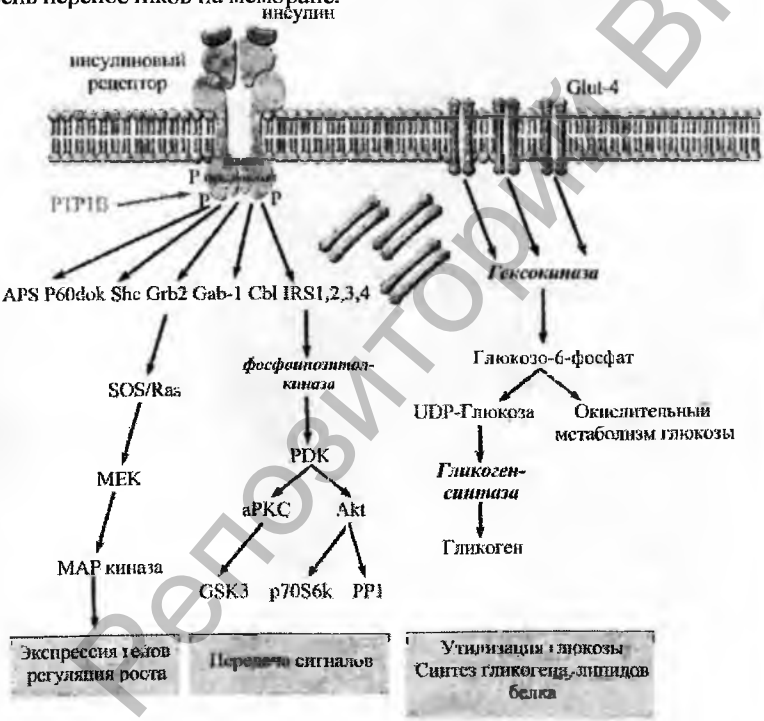



Рис. 14.10. **Эффект активации инсулинового рецептора.**

Кристаллическая структура инсулина была изучена Dorothy Hodgkin в 1969 году. Было установлено, что в формировании кристаллической структуры важную роль играют ионы цинка, формирующие с 6 молекулами инсулина так называемый 2-Zn инсулин гексамер, со-

Репозиторий ВГУ

стоящий из 3 структур инсулина-димера, диссоциирующего в свою очередь до молекул инсулина-мономера.

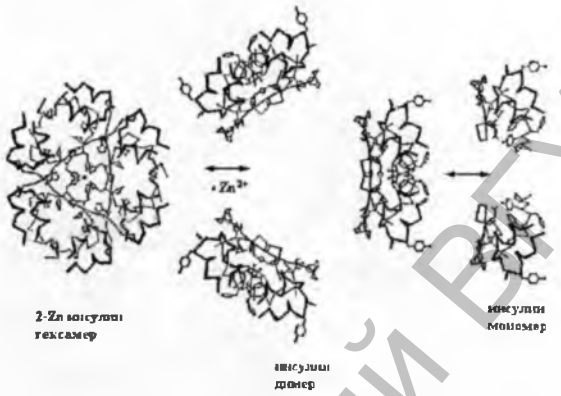



Рис. 14.11. **Диссоциация кристаллической структуры инсулина.**

Биологический эффект инсулина заключается в повышении мембранного транспорта глюкозы, аминокислот и некоторых ионов, повышении синтеза гликогена и липидов, угнетении гликогенолиза и глюконеогенеза, стимуляции синтеза ДНК, РНК и белков.

***Глюкагон*** – пептидный гормон, состоящий из 29 аминокислотных остатков, синтезируется α-клетками островков Лангерганса поджелудочной железы. Синтезируется из белкового предшественника проглюкагона, имеющего большую молекулярную массу. Период полураспада глюкагона в крови около 5 минут.

Структура глюкагона:

$NH_2$-HIS-SER-GLN-GLY-THR-PHE-THR-SER-ASP-TYR-SER-LYS-TYR-LEU-ASP-SER-ARG-ARG-ALA-GLN-ASP-PHE-VAL-GLN-TRP-LEU-MET-ASN-THR-COOH

Выделяясь поджелудочной железой, глюкагон поступает в кровоток воротной вены и первый орган, который он встречает на пути, и является его основной мишенью – печень.

После связывания глюкагона со специфическим рецептором на внешней стороне мембраны клетки происходит активация аденилатциклазы и повышение внутриклеточного содержания cAMP. Это приводит в конечном итоге к активации гликогенфосфорилазы печени и инактивации гликогенсинтазы. Происходит активация расщепления гликогена. Таким образом, действие глюкагона практически идентично действию адреналина (см. ниже).

Репозиторий ВГУ

Биологическое действие глюкагона реализуется через механизм G-белок – аденилатциклаза – cAMP и является противоположным действию инсулина. Глюкагон ускоряет распад гликогена, ингибирует его синтез в печени, увеличивает концентрацию глюкозы в крови, усиливает глюконеогенез.

***Соматостатин*** – циклический пептидный гормон, состоящий из 14 аминокислотных остатков, синтезируется в δ-клетках островков Лангерганса поджелудочной железы и идентичен соматостатину, синтезируемому гипоталамусом.

Биологическое действие соматостатина заключается в ингибировании выработки гормона роста. В поджелудочной железе соматостатин является паракринным ингибитором выработки других ее гормонов.

***Панкреатический полипептид*** – пептидный гормон, состоящий из 36 аминокислотных остатков с амидным С-концом, синтезируется α-клетками островков Лангерганса поджелудочной железы. Биологическое действие см. ниже.

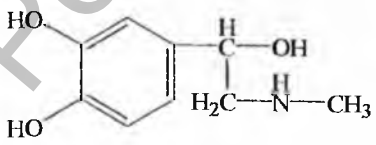
***Гастроинтестинальные гормоны и пептиды.*** Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) секретирует более 30 гормонов, пептидных нейротрансмиттеров и факторов роста. Этот факт позволяет считать ЖКТ самой большой «эндокринной железой». В таблице ниже приведены некоторые гормоны ЖКТ и их основной биологический эффект.

| Гормон | Место секреции | Биологический эффект |
|---|---|---|
| Глюкагоноподобный пептид 1(GLP-1*) | Энтероэндокринные L-клетки преимущественно в подвздошной и толстой кишке | Усиливает глюкозозависимую секрецию инсулина, ингибирует секрецию глюкагона, замедляет опорожнение желудка |
| Глюкозозависимый инсулинотропный полипептид (желудочный ингибиторный полипептид, GIP*) | Энтероэндокринные клетки двенадцатиперстной кишки и проксимального отдела тощей кишки | Ингибирует секрецию желудочного сока, усиливает секрецию инсулина |
| Гастрин | Антральный отдел желудка, двенадцатиперстная кишка | Усиливает выработку желудочного сока и пепсина |
| Холецистокинин (ССК*) | Двенадцатиперстная, тощая кишка | Стимулирует сокращение желчного пузыря и выделение желчи, усиливает секрецию пищеварительных ферментов поджелудочной железой |

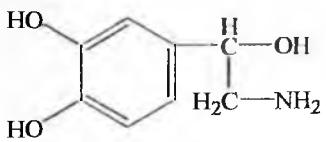
Репозиторий ВГУ

| | | |
|---|---|---|
| Секретин | Двенадцатиперстная, тощая кишка | Усиливает секрецию бикарбонатов поджелудочной железой |
| Вазоактивный интестинальный полипептид (VIP*) | Поджелудочная железа | Расслабляет гладкую мускулатуру, усиливает секрецию бикарбонатов поджелудочной железой |
| Мотилин | Тонкий кишечник | Координирует сократительную активность отделов ЖКТ |
| Панкреатический полипептид (PP*) | Поджелудочная железа | Ингибирует секрецию бикарбонатов и белков поджелудочной железой |
| Энкефалины | Желудок, двенадцатиперстная кишка, желчный пузырь | Действует подобно опиатам |
| Субстанция Р | Весь ЖКТ | Регулирует функцию ЦНС при боли (ноцицепцию), участвует в обеспечении рвотного рефлекса, стимулирует секрецию слюны, имеет антидепрессантные свойства |
| Бомбезинподобный иммунореактивный пептид | Желудок, двенадцатиперстная кишка | Стимулирует выброс гастрина и холецистокинина |

**Гормоны – производные аминокислот.** ***Адреналин и норадреналин*** – гормоны аминокислотной природы напоминают по строению аминокислоту тирозин, от которой они отличаются наличием дополнительных ОН-групп, отсутствием карбоксильной группы и конфигурацией цепи у β-углеродного атома.




Адреналин




Норадреналин

Репозиторий ВГУ

**Рис. 14.12. Структура адреиалина и норадреналина.**

Адреналин, в ответ на различные стимулы, например, низкий уровень глюкозы в крови или секрецию гормонов гипоталамуса, выделяется в кровь из мозгового слоя надпочечников. Кровь переносит адреналин к органам-мишеням, среди которых первую роль играют мышцы. Под действием адреналина мышечная ткань усиливает потребление гексоз (в первую очередь глюкозы), что улучшает обеспечение сокращающихся мышц энергией.

Биохимический механизм действия адреналина представляет собой цепь взаимосвязанных реакций, ключевым звеном которых является cAMP.

После связывания адреналина со специфическим рецептором на внешней стороне мембраны, происходит увеличение активности фермента аденилатциклазы, что, в свою очередь, увеличивает содержание cAMP внутри клетки.

Повышение содержания cAMP приводит к двум эффектам:

1) увеличение скорости гликолиза и 2) снижение скорости гликогенеза. Эти эффекты осуществляются посредством активации фермента cAMP-зависимой протеинкиназы. Ее активация происходит после связывания cAMP с неактивной олигомерной формой cAMP-зависимой протеинкиназы и ее диссоциацией на активные мономерные формы. Активная cAMP-зависимая протеинкиназа катализирует ATP-зависимое фосфорилирование протеинкиназы – киназы синтазофосфорилазы, которая действует на два фермента – гликогенсинтазу и гликогенфосфорилазу. Фосфорилированная гликогенсинтаза – неактивная форма фермента, а фосфорилированная гликогенфосфорилаза – активная форма. Таким образом, происходит активация расщепления гликогена и тормозится его биосинтез.

После прекращения выделения адреналина происходит снижение его концентрации в крови. Это ведет к прекращению стимуляции аденилатциклазы. Фермент фосфодиэстераза расщепляет cAMP в клетке. Снижение концентрации cAMP сопровождается ассоциацией в неактивные комплексы cAMP-зависимой протеинкиназы. Прекращается фосфорилирование гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы и оба фермента оказываются нефосфорилированными. Нефосфорилированная

Репозиторий БГУ

гликогенсинтаза – активная форма обеспечивает синтез гликогена, а нефосфорилированная гликогенфосфорилаза – неактивная форма не может обеспечить распад гликогена. Происходит накопление гликогена клетками.

Адреналин регулирует синтез других гормонов. Он ингибирует выделение инсулина и стимулирует выделение глюкагона.

Биологический эффект адреналина и норадреналина заключается в повышении артериального давления, сужении сосудов. Адреналин повышает уровень глюкозы в крови, усиливая распад гликогена в печени. Происходит увеличение содержания гексозофосфатов в мышцах и увеличение ненасыщенных жирных кислот в плазме крови. Гликемический эффект норадреналина значительно ниже и составляет 5% гликемического эффекта адреналина.

Адреналин и норадреналин быстро метаболизируются и выводятся из организма с мочой главным образом в виде 3-метокси-4-оксиминдальной кислоты.

Рис. 14.13. **Метаболизм катехоламинов.**

***Тироксин ($T_4$) и трийодтиронин ($T_3$).*** Тиреоглобулин вырабатывается шероховатым эндоплазматическим ретикулумом, имеет молекулярную массу 660000, содержит гликозидные остатки и более 100 остатков тирозина, которые могут быть йодированы и использованы для синтеза $T_3$ и $T_4$. Тироглобулин выделяется в просвет тиреоидного фолликула.

Репозиторий БГУ

Рис. 14.14. **Строение фолликула щитовидной железы.**

Тиреоциты (клетки щитовидной железы) концентрируют йод ($I^-$) при помощи $Na^+/K^+$ насоса, откуда $I^-$ транспортируется в просвет фолликула. Затем происходит окисление $I^-$ до $I^+$, катализируемое ферментом тиропероксидазой и реакция протекает с остатками тирозина в составе тиреоглобулина. В результате этих реакций тиреоглобулин содержит остатки монойодтирозила и дийодтирозила. $T_3$ и $T_4$ образуются при сочетании остатков монойодтирозила и дийодтирозила.

Йодированный тиреоглобулин захватывается тиреоцитами и расщепляется в лизосомах протеазами с образованием аминокислот, $T_3$ и $T_4$. В дальнейшем происходит секреция $T_3$ и $T_4$ в кровеносное русло. Тиреоидные гормоны являются гидрофобными веществами, поэтому для транспортировки к периферическим тканям используется особый белок плазмы – тироксин-связывающий глобулин.

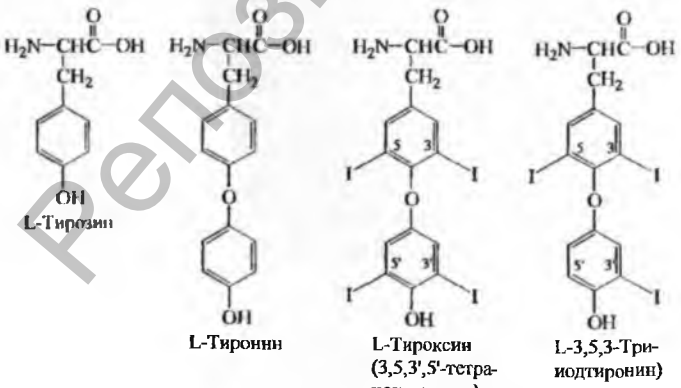



Рис. 14.15. **Строение тиреоидных гормонов и их предшественников.**

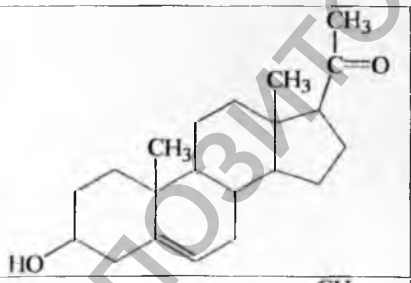
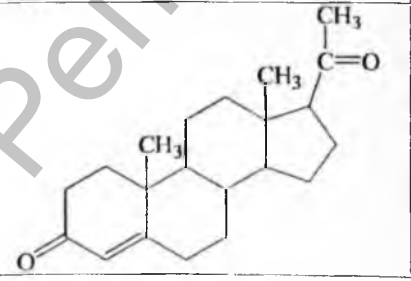
Репозиторий ВГУ

Тиреоидные гормоны связываются с цитозольными рецепторами подобно стероидным гормонам.

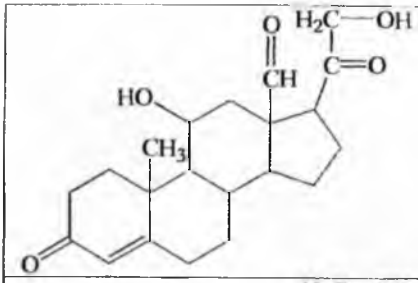
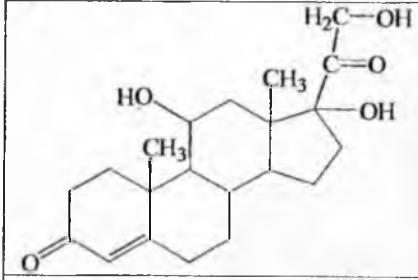
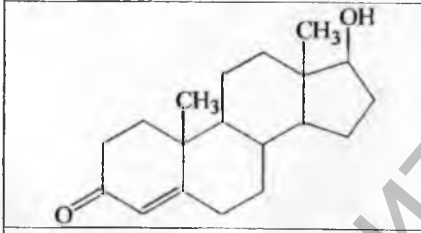
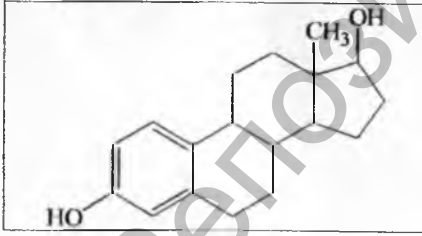
У взрослых биологический эффект тиреоидных гормонов заключается в регуляции скорости основного обмена, повышении синтеза белков, влияют тиреоидные гормоны также на обмен углеводов, липидов, водно-электролитный баланс, деятельность ЦНС, гемопоэз, деятельность сердечно-сосудистой системы. Для эмбрионов тиреоидные гормоны важны для нормального развития, недостаток последних приводит к кретинизму, заключающемуся в множественных врожденных пороках и умственной отсталости.

Недостаток тиреоидных гормонов у взрослых вызывает развитие микседемы (слизистого отека), заторможенность процессов высшей нервной деятельности, снижение температуры тела.

**Стероидные гормоны.** Большинство стероидных гормонов являются производными холестерола и имеют сходную структуру, базирующуюся на циклопентанпергидрофенантрене. Холестерол имеет 27 атомов углерода и обозначается $C_{27}$. В процессе его превращения в стероидные гормоны происходит уменьшение количества атомов углерода с образованием $C_{18}$, $C_{19}$ и $C_{21}$ стероидных гормонов. $C_{21}$-стероиды известны как прегнаны, $C_{19}$-стероиды – как андростаны, $C_{18}$-стероиды – как эстраны.

| | |
|---|---|
|  | Прегненолон. Образуется непосредственно из холестерола, является предшественником стероидных гормонов |
|  | Прогестерон – гормон желтого тела, вызывает изменения, характерные для лютеиновой фазы менструального цикла, является дифференцирующим фактором для молочных желез |

Репозиторий БГМУ

| | |
|---|---|
|  | Альдостерон – главный минералокортикоид, образуется из прогестерона в клубочковом слое коры надпочечников, повышает артериальное давление, объем циркулирующей жидкости, повышает реабсорбцию натрия |
|  | Кортизол – основной глюкокортикоидный гормон человека, синтезируется из прогестерона в пучковой зоне коры надпочечников, участвует в стрессорных реакциях, влияет на иммунную систему, обмен углеводов |
|  | Тестостерон – мужской половой гормон, образуется из прогестерона, синтезируется в семенниках, определяет развитие вторичных половых признаков у мужчин |
|  | Эстрадиол – главный женский половой гормон, вырабатывается в яичниках, определяет развитие вторичных половых признаков у женщин |

Все стероидные гормоны свободно проникают через плазматическую мембрану в клетку и связываются с внутриклеточными специфическими рецепторами. Комплекс гормон-рецептор проникает в ядро клетки, где связывается со специфическими нуклеотидными последовательностями. Эти нуклеотидные последовательности называются элементами гормонального ответа (HRE*). Взаимодействие комплекса гормон-рецептор с HRE приводит к изменению транскрипции определенных генов.

Репозиторий ВГУ

Стероидные гормоны синтезируются в специализированных клетках под регуляторным действием специфического пептидного гормона. Так, лютеинизирующий гормон усиливает выработку прогестерона и тестостерона, адренокортикотропный гормон – кортизола, фолликулостимулирующий гормон – эстрадиола, ангиотензин II/III – альдостерона.

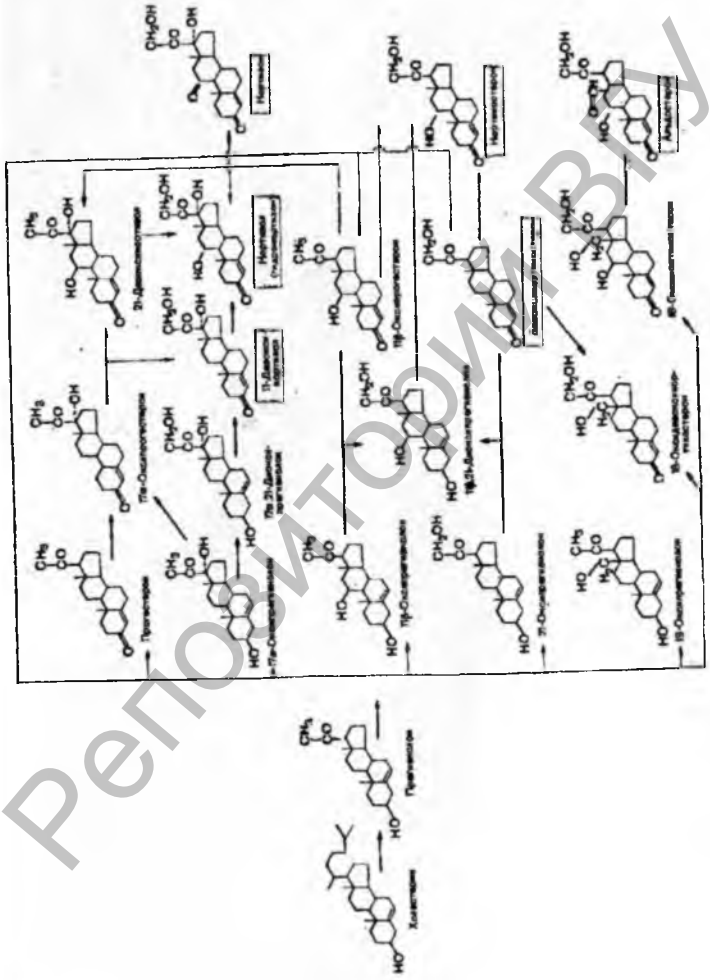


Рис. 14.16. **Биосинтез стероидных гормонов (Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин, 1990).**

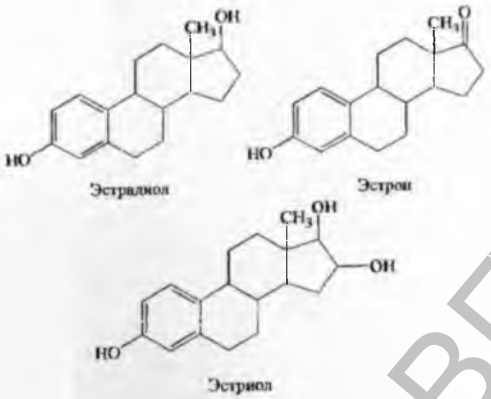
Репозиторий ВГУ

***Половые гормоны*** синтезируются в яичниках, коре надпочечников и тестикулах из одного предшественника – холестерола под влиянием ферментных систем, идентичных во всех трех эндокринных железах. Наиболее общей функцией половых гормонов является стимуляция метаболических процессов, определяющих половую дифференцировку организма, развитие вторичных половых признаков, либидо, обеспечение возможности зачатия, процесса беременности, родов, и, в результате всего вышеперечисленного, обеспечение полового размножения.

Значительное усиление синтеза половых гормонов наступает после наступления половой зрелости. Различия биосинтеза стероидных гормонов в различных тканях обусловлены преобладанием ферментных систем в этих тканях. В яичниках идет синтез до конечного продукта – эстрадиола. В тестикулах энзимной системы Р450 ароматазы содержится гораздо меньше, чем в яичниках, поэтому синтез останавливается на стадии андрогенов (тестостерона и андростендиона) – предшественников эстрадиола. В коре надпочечников энзимные системы Р450 С21-гидроксилаза и Р450 С11β-гидроксилаза содержатся в значительно больших концентрациях, чем в половых железах, и синтез на этапе 17-гидроксипрогестерона переключается на образование гормонов коры надпочечников: кортизола, альдостерона, дезоксикортикостерона.

***Женские половые гормоны*** – совокупность веществ, среди которых можно выделить две группы: эстрогены (от греч. oistros – страстное влечение) и прогестины. Эстрогены были впервые обнаружены в моче беременных в 1927 году. Первым выделен в чистом виде был эстрон в 1929 году А. Бутенандтом и Э. Дойзи. К группе эстрогенов относятся 3 основных вещества: эстрон, эстрадиол и эстриол. Синтезируются эстрогены в яичниках, а также в надпочечниках и плаценте во время беременности. Синтез эстрогенов и прогестерона носит циклический характер вне беременности, определяя изменения организма женщины в рамках менструального цикла. В первой фазе полового цикла в основном синтезируются эстрогены, во второй – прогестерон. Реакции их синтеза подчиняются регуляторным воздействиям гипофиза. Предшественником их является холестерол, который подвергается реакциям гидроксилирования, окисления и отщепления боковой цепи с образованием прегненолона. Завершается синтез эстрогенов реакцией ароматизации первого кольца, катализируемой ферментным комплексом микросом – ароматазой. Предполагается, что процесс ароматизации включает минимум три оксидазные реакции, зависящие от цитохрома Р-450.

Репозиторий БГМУ




При беременности в организме женщины появляется новый «эндокринный орган» – комплекс плацента–плод. Плацента получает от организма матери холестерол, который превращается в прегненолон и прогестерон.

Регуляция синтеза эстрогенов осуществляется в основном гонадотропными гормонами гипофиза (ФСГ и ЛГ), которые опосредованно через систему рецептор-аденилатциклаза-cAMP регулируют синтез гормонов. В настоящее время принята двухклеточная теория синтеза. В тека клетках яичников происходит в основном синтез андрогенов: андростендиона и тестостерона. Синтез эстрогенов из предшественников происходит в клетках гранулезы под влиянием Р450 ароматазы.

В адипоцитах жировых клеток есть система Р450 ароматазы, поэтому эти клетки способны к синтезу эстрадиола, причем в этом процессе не участвуют гонадотропины. В коже, волосяных фолликулах и жировой ткани содержится фермент 5α-редуктаза, обеспечивающий превращение тестостерона в дигидротестостерон.

Биологическое действие эстрогенов:

на репродуктивные ткани:

- пролиферация клеток слизистой оболочки влагалища,
- пролиферация эндометрия,
- гипертрофия миокарда,
- секреция слизи в цервикальном канале,
- рост протоков молочных желез;

на нерепродуктивные ткани:

- стимуляция роста и развития костно-мышечной системы,
- уменьшение сукреции сальных желез,
- задержка воды и натрия,

Репозиторий ВГУ

- снижение уровня липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и повышение содержания липопротеинов высокой плотности (ЛПВП),
- повышение содержания глобулинов, связывающих половые стероиды,
- распределение жировой ткани по женскому типу.

Прогестерон является первым гормонально активным стероидом, образующимся в процессе синтеза стероидных гормонов. Синтез прогестерона увеличивается в клетках гранулезы фолликулов после овуляции. Прогестерон выполняет в организме женщины ряд специфических функций, имеющих целью подготовить условия для развития оплодотворенной яйцеклетки.

Биологическое действие прогестерона:

на репродуктивные ткани:

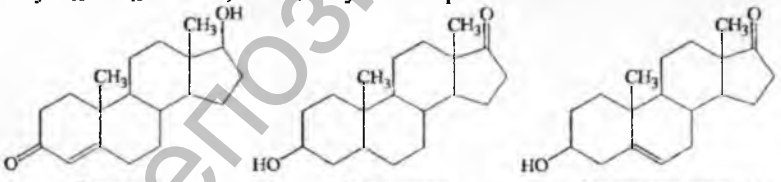
- регрессия эпителия влагалища,
- уменьшение слизи в цервикальном канале,
- антипролиферативное действие на эндометрий,
- секреторные изменения эндометрия,
- усиление митотической активности эпителия молочных желез;

на нерепродуктивные ткани:

- повышение базальной температуры,
- натрийдиуретический эффект.

***Мужские половые гормоны.*** В 1931 году А. Бутенандт выделил из мочи мужчин кристаллический гормон – андростерон. Позже из мочи мужчин был выделен еще один гормон – дегидроэпиандростерон. Позже из ткани семенников (тестикул) был выделен более активный гормон, названный тестостероном.

Андрогены, в отличие от эстрогенов, имеют две метильные группы у $C_{10}$ и $C_{13}$ атомов, кольцо А у них неароматическое




Биосинтез андрогенов осуществляется главным образом в семенниках и частично в яичниках и надпочечниках.

Регуляция биосинтеза андрогенов осуществляется гонадотропными гормонами (ФСГ и ЛГ).

Биологическая роль андрогенов в мужском организме в основном связана с дифференцировкой и функционированием репродуктивной системы. Уже в эмбриональном периоде андрогены оказывают существенное влияние на дифференцировку мужских половых желез. Во

Репозиторий ВГУ

взрослом организме андрогены определяют развитие вторичных половых признаков, сперматогенез. Андрогены обладают анаболическим эффектом, действующим в основном на мышцы, реализующимся в повышении синтеза белка, причем этот анаболический эффект реализуется в присутствии соматотропина.

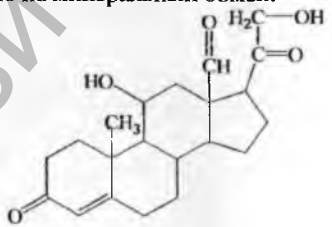
Распад андрогенов происходит в основном в печени по пути образования 17-кетостероидов.

***Глюкокортикоиды*** оказывают различное действие на обмен веществ в различных тканях. В мышечной, лимфатической, соединительной и жировой ткани проявляют катаболическое действие и вызывают снижение проницаемости клеточных мембран, торможение поглощения глюкозы и аминокислот. В печени глюкокортикоиды оказывают противоположное действие. Глюкокортикоиды обладают гипергликемическим действием, они снижают синтез гликогена в мышцах, тормозят окисление глюкозы в тканях, усиливают распад жиров.

В ткани печени глюкокортикоиды индуцируют синтез некоторых белков-ферментов: триптофанпирролазы, тирозинтрансаминазы, серин- и треониндегидратаз и др., способствуя синтезу mRNA.

***Минералокортикоиды*** (дезоксикортикостерон и альдостерон) регулируют обмен натрия, калия, хлора и воды. Они вызывают задержку ионов натрия и хлора и усиливают выделение ионов калия с мочой.

Альдостерон содержит альдегидную группу у $C_{13}$ атома, что и обусловило его название. Он является наиболее активным минералокортикоидом из всей группы и в 50–100 раз превосходит дезоксикортикостерон по воздействию на минеральный обмен.




Альдостерон

Период полураспада гормонов коркового вещества надпочечников составляет 70–90 мин. Кортикостероиды могут подвергаться восстановлению за счет разрыва двойных связей (присоединение атомов водорода) или окислению с отщеплением боковой цепи у $C_{17}$ атома. В обоих случаях происходит потеря биологической активности.

Конечные продукты обмена гормонов коркового вещества надпочечников называются 17-кетостероидами, которые выводятся с мочой.

Репозиторий ВГУ

## ЛИТЕРАТУРА


- Белобородов В.Л., Зурабян С.Э., Лузин А.П., Тюкавкина Н.А. Органическая химия. Кн. 1: Основной курс / Под ред. Н.А. Тюкавкиной. – М.: Дрофа, 2003. – 640 с.
- Белясова Н.А. Биохимия и молекулярная биология. – Мн.: Книжный дом, 2004. – 415 с.
- Биохимия: Учебное пособие / Под ред. Н.Ю. Коневаловой. – Витебск: ВГМУ, 2005. – 675 с.
- Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами / Под ред. Е.С. Северина, А.Я. Николаева. – 2-е изд. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 448 с.
- Бохински Р. Современные воззрения в биохимии: пер. с англ. – М.: Мир, 1987. – 544 с.
- Гидранович В.И., Гидранович Л.Г. Пути регенерации НАД$^+$ в эндокринных железах // Веснік ВДУ, 1998, № 3 (9). – С. 93–97.
- Гидранович В.И., Ахтанина М.Э. Селен и аскорбиновая кислота в регуляции NAD(NADP)-зависимых дегидрогеназ метаболизма углеводов // Ученые записки УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2002, т. 1. – С. 194–208.
- Гидранович В.И., Шамович И.Ю., Гидранович А.В., Шамович Д.И. Метаболизм углеводов в организме ушастой совы (Asio otus) в онтогенезе // Ученые записки УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2004, т. 3. – С. 259–275.
- Гидранович В.И., Смагина Е.С. Вопросы биохимии и молекулярной биологии в школьном курсе биологии // Біялогія: праблемы выкладання, 2005, т. 2. – С. 3–11.
- Диксон М. и Уэбб Э. Ферменты: пер. с англ. – М.: Мир, 1966. – 816 с.
- Кнорре Д.Г. Биоорганическая химия. – М.: «Высшая школа», 1998. – 479 с.
- Кнорре Д.Г. Биологическая химия. – 3-е изд. – М.: «Высшая школа», 2000. – 479 с.
- Комов В.П., Шведова В.Н. Биохимия. – М.: Дрофа, 2004. – 639 с.
- Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия: пер. с нем. – М.: Мир, 2000. – 469 с.: ил.
- Ленинджер А. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функции клетки: пер. с англ. – М.: Мир, 1976. – 958 с.
- Логинова Н.В. Бионеорганическая химия. – Мн.: БГУ, 2000. – 127 с.
- Номенклатура ферментов: пер. с англ. – М., 1992. – 321 с.
- Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. – М.: Просвещение, 1987. – 816 с.
- Осочук С.С. Методические указания для изучения биохимии нуклеиновых кислот и матричных синтезов. – Витебск, 1999. – 51 с.


Репозиторий ВГУ

- Скулачев В.П. Биоэнергетика. Мембранные преобразователи энергии. – М.: «Высшая школа», 1989. – 271 с.
- Страйер Л. Биохимия: пер. с англ. – М.: Мир, 1984. – Т. 1 – 232 с. Т. 2. – 312 с. Т. 3. – 400 с.: ил.
- Тюкавкина Н.А., Бауков Ю.И. Биоорганическая химия. – М.: Дрофа, 2005. – 542 с.
- Филиппович Ю.Б. Основы биохимии. – 4-е изд. – М., СПб.: Агар; Флинта; Лань, 1999. – 512 с.
- Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы. – М.: Мир, 1986. – 374 с.
- Хадорн Э., Венер Р. Общая зоология: пер. с нем. – М.: Мир, 1989. – 528 с.
- Чечеткин А.В., Головацкий И.Д., Калиман П.А., Воронянский В.И. Биохимия животных. – М.: Высшая школа, 1982. – 512 с.
- Чиркин А.А. Курс лекций по биологической химии. – Витебск, 2002. – 312 с.
- Goodman M., Morehouse P. Organic molecules in action. – Science Publishers, New York-London-Paris. – 1993. – 336 p.
- Zubay G. Biochemistry. – Wm.: C. Brown Publishers. – 2001. – 1024 p.
- http://www.indstate.edu/thcme/mwking/home.html
- http://www.biology.arizona.edu/biochemistry/biochemistry.html
- http://www.worthpublishers.com/lehninger3d/index.html
- http://www.aw-bc.com/mathews/
- http://bcs.whfreeman.com/biochem5/default.asp?s=&n=&i=&v=&o=&ns=0&uid=0&rau=0
- http://images.clinicaltools.com/
- http://www.cellsalive.com/


Репозиторий ВГУ