

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ПРОДО-
ВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
"ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ"

Кафедра фармакологии и физиологии

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Учебно-методическое пособие

для студентов

инженерно-технологического факультета

по специальностям:

1-49010201 «Технология мяса и мясных продуктов»

1-49010202 «Технология молока и молочных продуктов»

1-49010101 «Технология хранения и переработки зерна»

1-4901012 «Технология хлебопекарного, макаронного, кондитер-
ского производства и пищевых концентратов»

Гродно 2020

УДК 577.1(042.4)
ББК28.072
О-28

Автор: А.М. Хоха

Рецензенты:

Заведующий кафедрой химии УО «ГГАУ», доктор биологических наук, доцент А.Ф. Макаричков

Заведующая кафедрой ботаники и физиологии растений УО «ГГАУ», кандидат сельскохозяйственных наук, доцент Е.И. Дорошкевич

Биологическая химия. Учебно-методическое пособие для студентов ИТФ/ А.М. Хоха – Гродно: ГГАУ, 2020 –420 с.
О-28

УДК 577.1(042.4)
ББК28.072

Биологическая химия. Пособие составлено в соответствии с учебной программой для студентов инженерно-технологического факультета по специальностям 1-49010101 «Технология хранения и переработки зерна», 1-4901012 «Технология хлебопекарного, макаронного, кондитерского производства и пищевых концентратов», 1-49010201 «Технология переработки мяса и мясопродуктов» и 1-49010202 «Технология переработки молока и молочных продуктов». Изложены основные положения статической и динамической биохимии: строение, свойства и функции основных классов биологических соединений, их превращения и роль этих превращений в функционировании клеток, органов и тканей, организма в целом.

Рекомендовано кафедрой фармакологии и физиологии ветеринарного факультета УО «ГГАУ» (протокол №6 от 14.04.2020 года) и учебно-методической комиссией инженерно-технологического факультета УО «ГГАУ» (Протокол №9 от 29.05.2020 года).

© А.М. Хоха, 2020
© УО «ГГАУ», 2020

ВВЕДЕНИЕ.

В пособии кратко изложены основные положения предмета биологическая химия. Наряду с фундаментальными сведениями по ряду вопросов приведены новые данные. Там, где это было уместно, сделан акцент на фактах, представляющих интерес для инженеров технологов. Во многих случаях упоминаемые термины и биологические процессы могут служить отправной точкой для самостоятельного углубленного изучения предмета.

БИОХИМИЯ, КАК НАУКА. ИСТОРИЯ БИОХИМИИ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ.

Биохимия - это наука о химической природе веществ, входящих в состав живых организмов, их превращениях, а также связи этих превращений с деятельностью клеток, органов, тканей и организма в целом.

Она условно подразделяется на три раздела:

Статическая биохимия изучает химический состав живых организмов, строение и функции биологических молекул.

Динамическая – изучает превращения биологических молекул и энергии в организме (обмен веществ).

Функциональная биохимия выявляет связи между строением и превращениями биологических молекул и функционированием клеток, тканей, органов и организма в целом.

В зависимости от изучаемого объекта биохимия подразделяется на множество разделов: витаминология, энзимология, биохимия микроорганизмов, растений, животных, человека, биохимия отдельных клеток или тканей, медицинская биохимия и так далее.

История биохимии

Человечество использовало биохимические процессы в практической деятельности задолго до того, как выяснило их теоретические основы. Среди них хлебопечение, виноделие, из-

готовление чая, сыра и так далее. Растения и простейшие экстракты из них широко применялись в лечении заболеваний.

Становление биохимии, как отдельной науки произошло относительно недавно, но оно базировалось на тысячелетних естественно-научных достижениях величайших умов древности, начиная с античных времен.

Основоположником биологии считается Аристотель (384-322 гг. до н.э.). Труды Гиппократ (ок. 460 — ок. 370 гг. до н.э.) и Галена (129-201 гг. н.э) способствовали становлению медицины, как отдельной области знаний. Авиценна (980-1037) в своей энциклопедической работе «Канон врачебной науки» описал 2600 лекарственных средств, дал способы их приготовления и применения, предпринял попытку классификации.

Парацельс (1493-1541) писал: «Химия — один из столпов, на которые должна опираться врачебная наука. Задача химии вовсе не в том, чтобы делать золото и серебро, а в том, чтобы готовить лекарства».

Ван Гельмонт (1580-1644) – ввел понятие «фермента» - химического реагента, который внутри желудка осуществляет превращения питательных веществ.

18-19 века ознаменовались резким ускорением развития биологии и борьбой с идеалистическими представлениями в ней. Ниже выборочно приведены достижения этого периода.

Лавуазье (1743-1794) – высказал мысль, что дыхание животных есть медленное горение, а траты вещества, которые при этом происходят, восполняются пищеварением. Он доказал, что при горении органических веществ выделяется углекислый газ и вода, соответственно сделал вывод, что они состоят из углерода, водорода и кислорода.

Берцелиус Й. Я. 1779-1848 ввел термины изомер, полимер, аллотропия, вывел формулы уксусной, винной, янтарной кислот.

Либих (1803-1873) – усовершенствовал методы анализа органических соединений, выделил из биологического материала гиппуровую, инозиновую кислоту, креатинин, тирозин.

Уильям Праут в 1827 году ввел деление биологических молекул на белки, жиры и углеводы.

Ф. Вёлер, синтезировав в 1828 году мочевину, нанес смертельный удар по теории витализма. В письме своему учителю Берцелиусу он написал: «Я должен сообщить Вам, что я могу приготовить мочевину, не прибегая для этого к почкам человека, собаки или другого животного». Окончательно теория была развенчана синтезом жиров (М. Бергто, 1854) и углеводов (А.М. Бутлеров, 1861).

Э. Бюхнер (1860-1917) доказал, что живые организмы построены из белков, жиров и углеводов, и, соответственно, они же являются компонентами пищи. Его эксперименты по алкогольному брожению бесклеточными экстрактами дрожжей, удостоенные Нобелевской премии, явились классическим примером опытов *in vitro*.

Величайшим достижением было создание А.М. Бутлеровым теории строения органических соединений, опубликованной в 1861 году.

В 1868-1869 гг. Ф. Мишер открыл нуклеиновые кислоты.

Многие исследования этого периода были вполне биохимическими, но до конца 19-го века термин «биохимия» употреблялся sporadически. Чаще эта наука именовалась медицинской или физиологической химией. Окончательно термин «биохимия» был введен в научную среду в 1903 году Карлом Нейбергом.

С началом двадцатого века начался современный этап в развитии биохимии. Его часто называют генетическим. Ниже представлены лишь некоторые открытия этого периода.

1902 – Э. Фишер – пептидная теория строения белка

1926 – Дж. Самнер – выделил первый фермент – уреазу и доказал, что это белок

1953 – Х. Кребс – цикл трикарбоновых кислот

1953 – Дж. Уотсон, Ф. Крик – строение ДНК (нобелевская премия за 1962 год)

1958 – Ф. Сэнгер – нобелевская премия за расшифровку первичной структуры инсулина

1959 – С. Очоа, А. Корнберг – нобелевская премия за открытие биосинтеза ДНК и РНК

1968 – М. Ниренберг, М. Холли, Г. Корана – нобелевская премия за расшифровку генетического кода.

Ниже - нобелевские премии за ряд выдающихся открытий.

1989 – Р. Хубер, С. Олтмен – открытие рибозимов.

1993 – К. Мулис – изобретение полимеразной цепной реакции (ПЦР).

1997 – П. Бойер, Дж. Уокер – механизм синтеза АТФ

2004 – А. Чехановер и соавт. – открытие убиквитин-опосредованной деградации белка.

2012 – Б. Кобилка – исследования рецепторов GPCR.

2020 – Э. Шарпентье, Дж. Дудна – метод редактирования генома CRISPR-Cas9.

В настоящее время биохимия и выросшие из нее смежные науки, в частности, молекулярная биология, генетическая инженерия, биотехнология переживают период взрывного развития, связанного с использованием вычислительной техники и современных физико-химических методов.

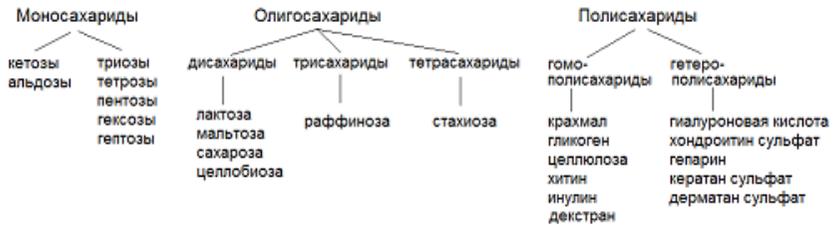
В Республике Беларусь большой вклад в развитие биохимии внес Институт биохимии Национальной Академии наук Беларуси (первый директор – академик Юрий Михайлович Островский), работающий с 1987 года.

СТАТИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ.

УГЛЕВОДЫ -

органические вещества, содержащие карбонильную группу и две или более гидроксильных. Название произошло от слов «углерод» и «вода», поскольку на заре их исследования считалось, что состав всех углеводов соответствует формуле $C_x(H_2O)_y$.

Классификация.



Углеводы, не способные гидролизываться до более простых молекул, называются *моносахаридами*. Моносахариды различаются по длине углеродной цепи. Первые представители – триозы – состоят всего из трех углеродных атомов. Это глицериновый альдегид и диоксиацетон. Наиболее важные представители – пентозы и гексозы. Есть и более длинные молекулы (гептозы, октозы и т.д).

Олигосахариды – полимеры, которые состоят из 2-10 моносахаридов. Короткие олигосахариды, состоящие из двух-трех звеньев, имеют тривиальное название – сахара. Из олигосахаридов наиболее часто встречаются дисахариды: сахароза – тростниковый сахар, лактоза – молочный, мальтоза – солодовый. Из трисахаридов можно упомянуть рафинозу, состоящую из галактозы, глюкозы и фруктозы и содержащуюся в сахарной свекле. Из тетрасахаридов – стахиозу, содержащуюся в семенах, луковичах и корнях некоторых растений.

Полисахариды имеют в своем составе от десяти до десятков тысяч мономерных звеньев. Молекулы, построенные из моносахаридов одного типа, называются гомополисахаридами. Если в структуре чередуются разные мономеры, - гетерополисахаридами. К первым относится крахмал, гликоген, хитин, инулин, декстран и самое распространенное органическое вещество на планете – целлюлоза. Ко вторым – гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты, кератансульфаты, дерматансульфаты, гепарин, гемицеллюлозы, мурамин, пектин, агар и пр.

Функции углеводов.

1. Энергетическая. При расщеплении углеводов выделяется 4,1 ккал энергии на грамм. Это меньше, чем при окислении жиров, но у человека и многих животных они преобладают в рационе и поэтому являются основным источником энергии.

2. Запасающая. Гликоген – резервный углевод у животных, крахмал и инулин – у растений.

3. Структурная. Углеводы – важный компонент межклеточного матрикса. Они участвуют в формировании клеточных стенок, экзоскелета членистоногих.

4. Пластическая. Углеводы входят в состав многих сложных молекул в клетке: нуклеиновых кислот, коферментов, сложных белков (гликопротеинов).

5. Обезвреживающая. Ферментативное присоединение глюконовой кислоты снижает токсичность и облегчает выведение многих ксенобиотиков и продуктов обмена и веществ.

Изомерия моносахаридов

Структурная изомерия.

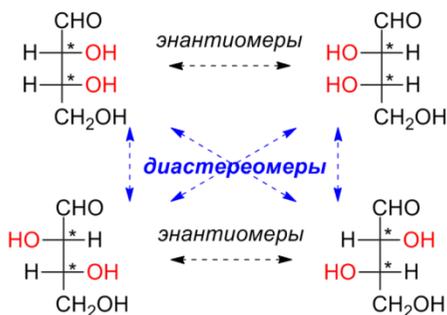
Моносахариды различаются по расположению карбонильной группы. Альдегидоспирты, у которых в открытой форме карбонильная группа расположена у первого углеродного атома, – называются альдозами. При любом другом расположении мо-

лекула будет кетоном, и такие моносахариды носят название - «кетоза».

Стереоизомерия

Стереоизомеры – это вещества, имеющие одинаковую структурную формулу, но различную пространственную конфигурацию атомов.

По критерию симметрии, стереоизомеры делятся на энантиомеры и диастереомеры. Первые – это так называемые зеркальные изомеры, расположение атомов у которых зеркально противоположно. Диастереомеры не являются зеркальным отражением друг друга.



Энантиомеры.

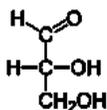
Большинство физических свойств у энантиомеров одинаковые. Они отличаются по способности вращать плоскость поляризованного света. Этот феномен называется оптической активностью, а энантиомеры называют также оптическими изомерами. Направление вращения у энантиомеров всегда противоположное и обозначается символами (+) и (-).

Химические свойства энантиомеров различаются только в том случае если реагент, растворитель или катализатор хиральны. В биологических системах ферменты обладают такими свойствами. Они стереоспецифичны и катализируют превращения лишь одного из энантиомеров.

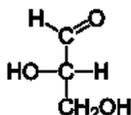
D-, L-номенклатура.

Номенклатура для энантимеров по относительному расположению заместителей была предложена Э. Фишером и носит название D-, L-изомерии.

Все моносахариды (исключая диоксиацетон) имеют в своей структуре асимметричные (хиральные) атомы углерода. Это такие атомы, которые находятся в состоянии sp^3 гибридизации и у которых все четыре заместителя разные. В структурных формулах молекул они обозначаются звездочками. У глицеринового альдегида один хиральный центр, и гидроксильная группа относительно него может располагаться справа или слева. В соответствии с латинскими словами Dexter – правый и Laevus – левый, эти конфигурации получили название D и L.

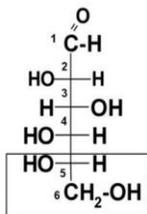


D-глицеральдегид

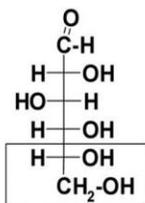


L-глицеральдегид

У моносахаридов с более длинной цепью количество асимметричных атомов увеличивается. Отнесение их к D- или L-ряду осуществляется по расположению гидроксильной группы у последнего центра асимметрии.



L- ГЛЮКОЗА



D- ГЛЮКОЗА

Смеси D- и L-изомеров оптически не активны и называются рацемическими. Следует отметить, что знаки (+) и (-) в формулах моносахаридов, не всегда совпадают с расположением гид-

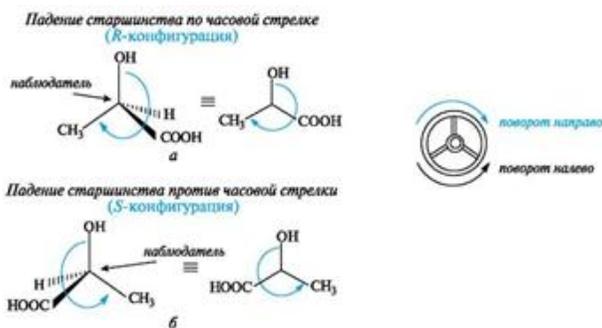
роксильной группы у последнего асимметричного атома. То есть, D-изомеры не всегда правовращающие.

Природные моносахариды в подавляющем большинстве относятся к D-ряду.

R/S номенклатура

В настоящее время имеется возможность определять абсолютную конфигурацию атомов в молекулах. На этом основана R/S (rectus – правый, sinister – левый) номенклатура оптически активных соединений, включая моносахариды.

Формулы Фишера являются проекционными и не отражают реального расположения атомов и групп в пространстве. Если отобразить их абсолютную пространственную конфигурацию, то асимметричный атом углерода расположится в центре тетраэдра, а заместители будут направлены к его вершинам. Далее следует определить старшинство заместителей. Для этого есть специальные правила (Кана, Ингольда, Прелога). После этого молекулу располагают так, чтобы младший заместитель находился за плоскостью изображения и определяют в каком направлении уменьшается старшинство заместителей. Если по часовой стрелке, то конфигурация стереоцентра правая (R), если наоборот, - левая (L). При этом конфигурация указывается для всех асимметричных атомов.



Диастереомеры -

имеют место при наличии нескольких хиральных центров. Число возможных диастереомеров можно вычислить по формуле 2^n , где n – число асимметричных атомов. Для глюкозы это число равно $2^4 = 16$.

К диастереомерам относятся и цис- трансизомеры, поскольку они не являются зеркальным отражением друг друга. Ранее цис-трансизомеры назывались геометрическими, но в настоящее время IUPAC признало этот термин устаревшим. Они отличаются как по физическим, так и химическим свойствам.

Кольчато-цепная таутомерия

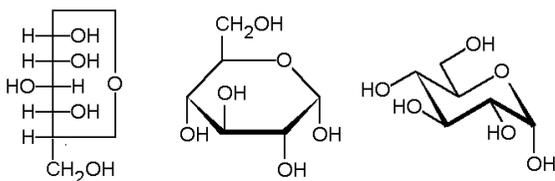
Таутомерия – это обратимая изомерия, при которой изомеры легко переходят друг в друга. Между ними устанавливается равновесие, и вещество содержит оба изомера в определенной пропорции (таутомерное равновесие)

В водных растворах моносахаридов одновременно присутствуют линейные и циклические молекулы, причем последние преобладают. Циклы образуются за счет присоединения спиртовых групп в положении 4 и 5 к карбонильной группе с формированием внутреннего полуацетала. Циклы могут состоять из пяти или шести атомов и называются соответственно фуранозами и пиранозами. Например, шестичленный цикл, образованный из глюкозы будет называться глюкопиранозой, пятичленный – глюкофуранозой.

Циклические формы принято изображать двумя способами. В проекции Фишера рисуется кислородный мостик между вступившими в реакцию атомами углерода. Второй носит имя исследователя – Нормана Хеурза, который предложил более наглядный вариант.

Символ атома углерода в цикле не изображается. Иногда не отображают также атомы водорода. Атомы углерода нумеруются справа, начиная с аномерного. Утолщенной линией обозначается связь, которая находится ближе к наблюдателю. Проекция

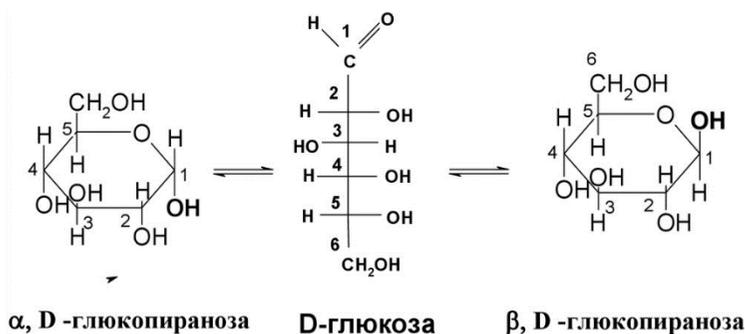
Хеурза удобны, также, тем, что позволяют изображать конформеры.



На рисунке α -D-глюкопираноза в проекциях Фишера и Хеурза.

Аномеры

При образовании цикла в молекуле моносахарида карбонильный углерод превращается в дополнительный хиральный центр. Соответственно, полуацетальный гидроксил может находиться в двух конфигурациях, которые называются α - и β -аномерами.



Упрощая, конфигурацию, в которой аномерный гидроксил находится выше плоскости кольца, считают β конфигурацией, ниже – α . В растворах преобладают β -аномеры, как более энергетически выгодные. При образовании олиго- и полисахаридов ферменты используют лишь один необходимый аномер.

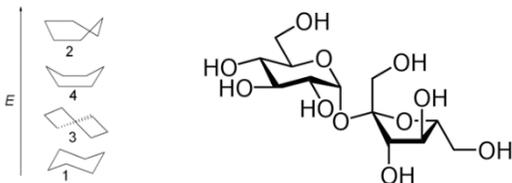
Аномерный гидроксил отличается от спиртовых по химическим свойствам. В частности, он участвует в образовании гликозидных связей.

Первоначально в растворе моносахарида преобладает аномер, в котором молекула находилась до растворения. Об этом свидетельствует определенный угол вращения плоскости поляризованного света. Затем происходит изомеризация с образованием второго аномера. Угол вращения начинает меняться вплоть до наступления таутомерного равновесия. Это явление получило название – мутаротация. По результирующему углу вращения можно вычислить процентное содержание аномеров в растворе. Для глюкопиранозы это 36% α -формы и 64% - β .

Конформационные изомеры

Под конформацией молекулы понимают пространственное расположение атомов в молекуле, обусловленное поворотом вокруг одной или нескольких одинарных сигма-связей. Наиболее устойчивым является расположение с минимальной потенциальной энергией. Stereoизомеры отличающиеся разной конформацией называются конформационными (поворотными) изомерами или конформерами. Переход между ними возможен, но требует энергетических затрат.

Циклические формы моносахаридов могут принимать конформации, характерные для других циклических молекул: кресло, ванна, твист, корона, конверт. Наиболее типична для шестичленных циклических моносахаридов конформация кресло, для пятичленных – конверт.

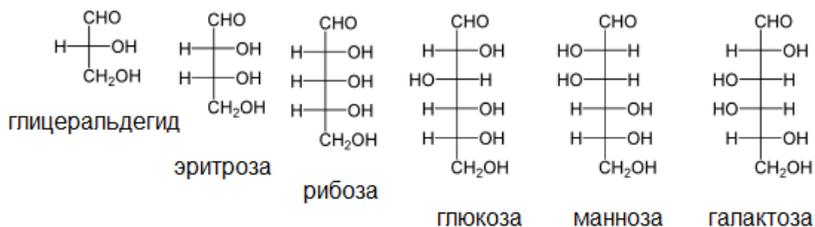


1 - «кресло»; 2- конверт; 3 - «твист»; 4 - «ванна». Справа на рисунке – конформация кресло и конверт у моносахаридов сахарозы (глюкоза и фруктоза).

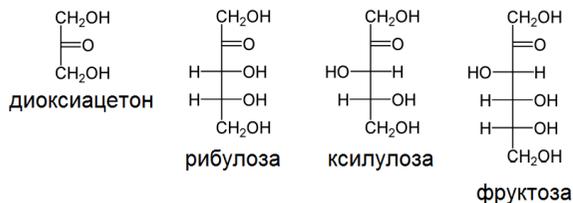
Углеводы: основные представители.

Моносахариды

альдозы:

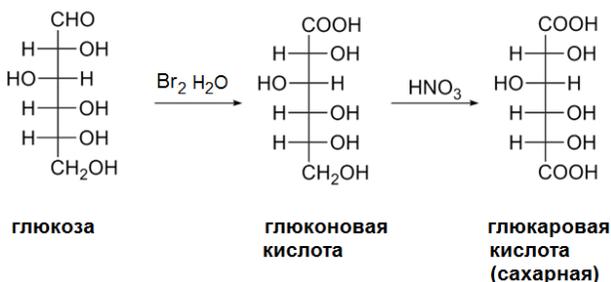


кетозы:

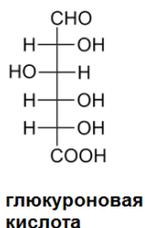


Производные моносахаридов.

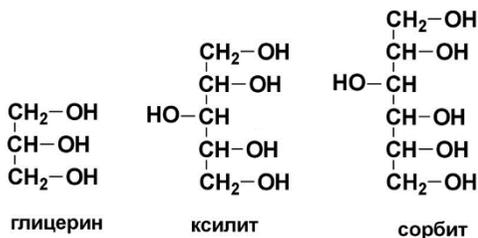
Альдосахара в относительно мягких условиях окисляются с образованием *альдоновых кислот*. В случае глюкозы – это глюконовая кислота. При использовании сильных окислителей окисляется также конечная спиртовая группа, образуя глюкаронные кислоты.



Уроновые кислоты (окисленные по последнему атому) химическим путем получают, защищая от окисления альдегидную группу. В организме синтезируются с участием ферментов. Наиболее часто встречаются глюкуроновая и галактуроновая кислоты. Они входят в состав многих гетерополисахаридов. Глюкуроновая кислота участвует в обезвреживании ксенобиотиков.



При восстановлении альдегидной группы образуются многоатомные спирты. Первым представителем является глицерин. Глюкоза восстанавливается до сорбита, галактоза – до дульцита, манноза – до маннита, ксилоза – до ксилита.



Многоатомные спирты обладают сладким вкусом и используются в пищевой промышленности, как сахарозаменители. Присутствуют в клетках различных растений.

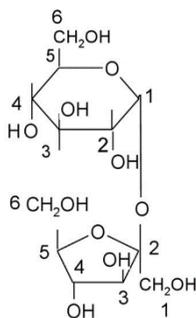
При замещении гидроксильных групп на аминогруппу образуются *аминосахара*. Наиболее важные представители – глюкозамин и галактозамин. Вместе со своими ацелированными производными входят в состав важнейших гетерополисахаридов.

В обмене веществ моносахариды как правило участвуют в виде *фосфорных эфиров*. Этерифицируются гидроксильные группы в первом и конечном положении.

Дисахариды

Сахароза

- тростниковый сахар, в быту – просто сахар. Дисахарид, состоит из α -глюкозы и β -фруктозы, соединенных $\alpha(1-2)$ гликозидными связями (α -D-глюкопиранозил- $\alpha(1-2)$ - β -D-фруктофураноза).



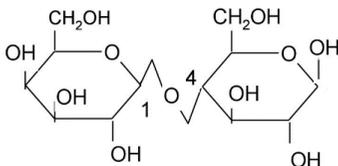
Полуацетальные атомы углерода обоих сахаров вовлечены в гликозидную связь, поэтому сахароза не проявляет восстанавливающих свойств.

Добывается из сахарной свеклы и сахарного тростника, где ее концентрация может достигать 28%. Содержится во многих

фруктах, ягодах. Мировое производство в 2013 году составило 175 млн тонн.

Лактоза -

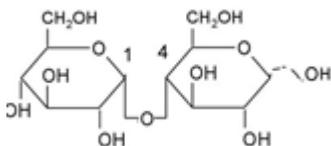
молочный сахар. Дисахарид, построенный из галактозы и глюкозы (β ,D-галактопиранозил- β (1-4)- β ,D-глюкопираноза). Содержится в молоке в количестве до 8%.



Является единственным источником углеводов для детей, находящихся на грудном вскармливании. У взрослых встречается непереносимость из-за исчезновения с возрастом фермента лактазы, расщепляющего лактозу в тонком кишечнике. Широко используется в пищевой, фармацевтической промышленности. Путем изомеризации из лактозы получают лактулозу – не встречающийся в природе дисахарид, состоящий из галактозы и фруктозы. Используется в медицине в качестве осмотического слабительного и пребиотика.

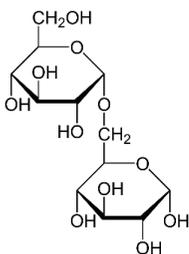
Мальтоза

- солодовый сахар. Дисахарид, образующийся при ферментативном гидролизе крахмала, в частности в прорастающих зернах (солоде). Состоит из двух остатков α -D-глюкозы, соединенных α (1-4) гликозидной связью.



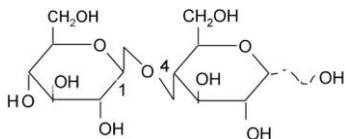
При гидролизе цепей крахмала и гликогена могут образовываться трисахариды (мальтотриоза) и в местах ветвлений ди-

сахариды, соединенные $\alpha(1-6)$ гликозидной связью (изомальтоза – на рисунке ниже).



Целлобиоза

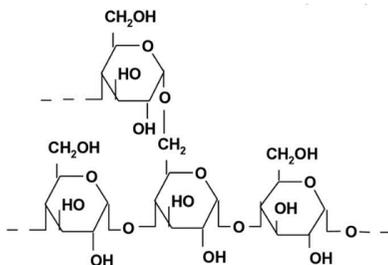
Дисахарид, состоящий из двух остатков β -D-глюкозы, соединенных $\beta(1-4)$ гликозидной связью. Образуется при ферментативном расщеплении целлюлозы ферментом целлюлазой. Особенно интенсивно этот процесс идет в желудках жвачных животных.



Гомополисахариды

Крахмал

Смесь полимеров двух типов – линейного – амилозы (10-20%) и разветвленного – амилопектина (80-90%). Длина полимера и степень ветвления отличается у разных видов. Построен из остатков α -D-глюкозы. В амилозе мономеры соединены $\alpha(1-4)$ гликозидными связями. Ответвления в амилопектине образованы с помощью $\alpha(1-6)$ гликозидных связей.

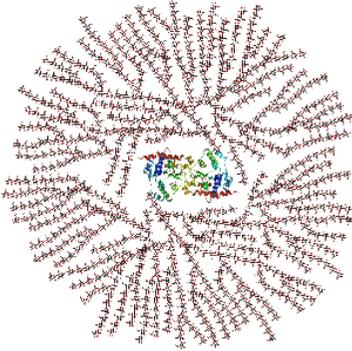


Синтезируется в хлоропластах растений, выполняет запасающую функцию. Накапливается в семенах, плодах и клубнях. Преимущество крахмала перед глюкозой, как формы резервирования глюкозы, помимо компактности, заключается в том, что он не создает высокого осмотического давления внутри клетки.

Широко используется в пищевой промышленности. Нагревание до 200-250 градусов вызывает частичное разрушение крахмала с образованием более коротких фрагментов – декстринов. При нагревании в кислой среде – гидролизуется (осахаривается) до глюкозы и олигосахаридов различной длины (крахмальная патока). При нагревании водных растворов образует гель.

Гликоген

Аналог растительного крахмала в животном организме. Построен аналогично, но состоит только из разветвленных молекул. Причем ветвление у гликогена более выражено по сравнению с амилопектином. Длина линейных фрагментов не превышает 10-12 моносахаридных звеньев. Полисахаридные цепи крепятся к коровому белку – гликогенину. Число мономеров в одной молекуле может достигать 25000. Гликоген никогда не гидролизуется полностью, олигосахаридные звенья служат затравкой для восстановления молекулы после приема пищи.

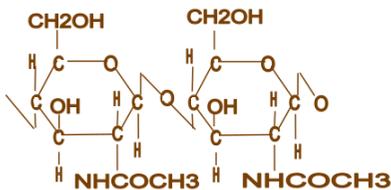


Выполняет резервную функцию. Синтезируется во многих клетках, однако в значительных количествах накапливается только в скелетных мышцах (1-2% массы) и печени (до 5-6%). Учитывая большую массу мышц в организме по сравнению с печенью, суммарные запасы гликогена там больше (примерно 400 г против 100-120 для человека с весом 70 кг). Служит источником глюкозы в промежутках между приемами пищи. Печень расходует гликоген для поддержания уровня глюкозы в крови, остальные ткани – для собственных нужд.

В качестве резервного полисахарида используется также некоторыми грибами и бактериями.

Хитин

Гомополисахарид, основное вещество экзоскелета членистоногих, компонент клеточной стенки грибов. По химическому строению - поли-(N-ацетил-1,4-β-D-глюкопиранозамин).



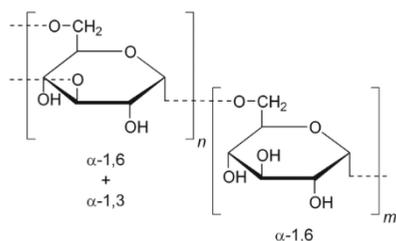
Хитин не переваривается. В желудке человека и животных присутствует хитиназа, однако ей приписывают роль защитного

фактора, так как хитин и продукты его деградации являются сильными аллергенами. В частности, предполагается, что аллергия на домашнюю пыль обусловлена реакцией организма на хитиновую оболочку пылевых клещей.

Является сырьем для получения хитозана – деацетилированного производного. Хитозан используется как добавка в корм животных, для изготовления лекарственных форм, в пищевой промышленности, в качестве БАД.

Декстран

Разветвленный гомополимер α -глюкозы, основная цепь которого образована $\alpha(1-6)$ гликозидными связями, а боковые ответвления формируются за счет $\alpha(1-3)$ связей.

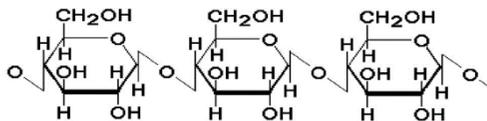


Синтезируется рядом бактерий, наиболее известная из которых *Leuconostoc mesenteroides*. Не переваривается в желудочно-кишечном тракте человека. Широко используется в медицине (полиглюкин) для внутривенных вливаний.

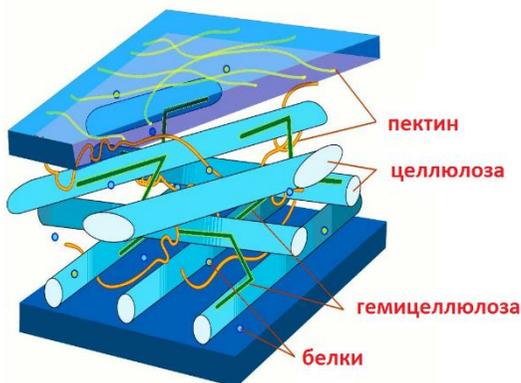
Не путать с декстринами – олигосахаридами, которые образуются при фрагментации молекул крахмала или гликогена под действием ферментов либо при нагревании.

Целлюлоза.

Линейный гомополисахарид, состоящий из остатков β -D-глюкозы, соединенных $\beta(1-4)$ гликозидными связями. Входит в состав клеточных стенок растений. Молекулы целлюлозы имеют длину в 2-25 тысяч гликозидных звеньев.



В клеточных стенках молекулы целлюлозы объединяются с помощью водородных связей и взаимодействий Ван-Дер-Ваальса в линейные агрегаты - микрофибриллы. Последние стабилизируются поперечными сшивками других гликанов (гемицеллюлоз) и образуют трехмерную структуру в гелеобразном матриксе из пектинов.



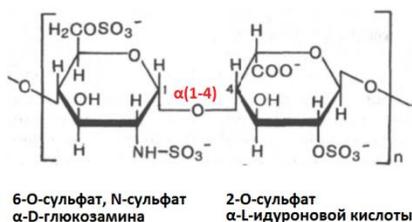
Гетерополисахариды.

Гепарин –

гликозаминогликан, состоящий из повторяющихся димеров сульфатированного глюкозамина и уруновой кислоты, соединенных α (1-4) гликозидными связями. Чаще всего это 6-О-сульфат, N-сульфат- α -D-глюкозамин- α (1-4)-2-О-сульфат- α -L-идуруновой кислоты.

Полисахаридные цепи присоединены к белковому кору, построенному в основном из глицина и серина. Две трети гидро-

кислых групп последнего этерифицировано углеводными цепями.



В связи с большим количеством сульфатных групп обладает самым высоким из биологических молекул отрицательным зарядом. Длина полисахаридных фрагментов сильно варьирует, поэтому молекулярная масса может колебаться от 3 до 40 кДа.

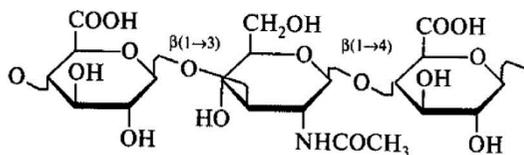
Образуется и накапливается в тучных клетках, откуда секретуруется в сосудистое русло в местах повреждения тканей. Предполагается, что он осуществляет защиту от проникновения в очаг поражения бактерий и чужеродных молекул.

В медицине используется, как антикоагулянт при лечении и профилактике тромбэмболических состояний; для предотвращения свертывания крови *in vitro*. Имеет в составе пентасахаридную последовательность, которой присоединяется к антитромбину III, активируя его. Последний блокирует активацию тромбина и ряда других факторов свертывания. Фракционирование природных гепаринов позволяет получить фракцию с молекулярной массой в 12-16 кДа, обладающую более высокой удельной активностью. Созданы, также полусинтетические низкомолекулярные гепарины

Гиалуроновая кислота.

Основной гетерополисахарид внеклеточного матрикса соединительной ткани. В силу высокой гигроскопичности поддерживает тургор кожи, является основным компонентом биологических смазок. Совместно с другими гликозаминогликанами определяет эластичность хрящей.

Построена из остатков β -D-глюкуроновой кислоты и β -D-N-ацетилглюкозамина, соединенных между собой β (1-4) гликозидными связями. Димеры между собой связаны β (1-3) гликозидными связями. Их количество в одной молекуле может достигать 25000, а молекулярная масса молекулы может превышать 20 млн дальтон.

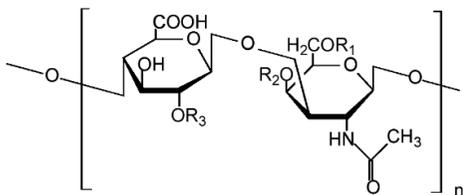


Ряд биологических эффектов гиалуроновой кислоты опосредуется ее рецепторами CD44.

Гиалуроновая кислота быстро обменивается в организме. Примерно треть молекул распадается и ресинтезируется за сутки. Олигосахариды, образующиеся при деградации, обладают собственной биологической активностью.

Хондроитинсульфаты

Вместе с другими гликозаминогликанами входят в состав межклеточного вещества соединительной ткани. Важнейшие компоненты хрящевой ткани, определяющие ее упруго-эластические свойства. Состоят из остатков β -D-глюкуроновой кислоты и N-ацетилгалактозамина, соединенных поочередно β (1-4) и β (1-3) гликозидными связями. N-ацетилгалактозамин может быть сульфатирован в четвертом (хондроитин-4-сульфат), шестом (хондроитин-6-сульфат) или обоих положениях (хондроитин-4,6-сульфат). Иногда сульфатная группа может присутствовать и во втором положении глюкуроновой кислоты.



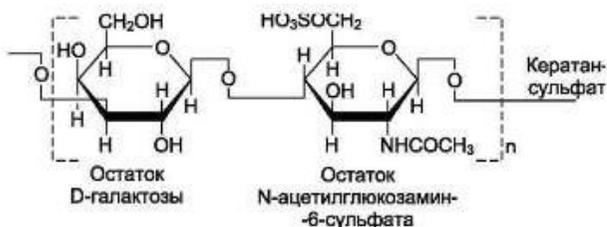
Некоторые остатки глюкуроновой кислоты подвергаются эпимеризации в идуроновую кислоту, и тогда такой гликозаминогликан носит название дерматансульфата.

Цепи хондроитинсульфата в протеогликанах присоединяются к остаткам серина коровых белков.

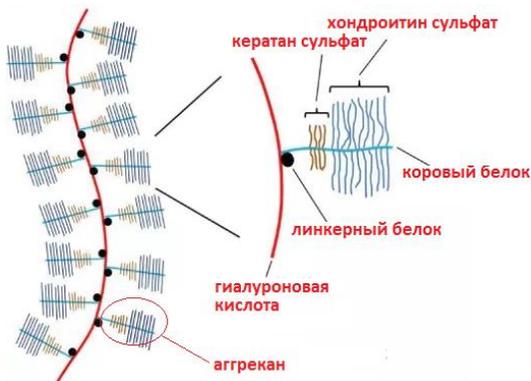
Широко применяется в медицине в качестве хондропротектора.

Кератансульфаты

Содержатся в хрящевой, костной ткани, роговице. Представляют собой полимер, построенный из β -D-галактозы и 6-O-сульфат-N-ацетилгалактозамина, соединенных $\beta(1-4)$ и $\beta(1-3)$ гликозидными связями. Входит в состав агрекана хрящевой ткани и целого ряда других протеогликанов.



Схематичное строение протеогликанов межклеточного матрикса хрящевой ткани:



Молекулы агрекана, состоящие из корового белка с присоединенными к нему полисахаридными цепями хондроитин сульфата и кератан сульфата, с помощью линкерных белков фиксируются на нити гиалуроновой кислоты. Такая структура обладает высокой эластичностью и прочностью одновременно, что позволяет хрящам выполнять функцию амортизатора в сочленениях костей. Например, в межпозвоночных дисках.

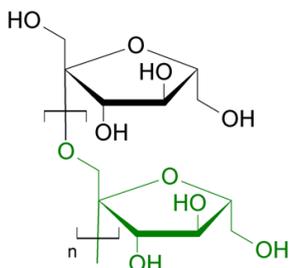
Гемицеллюлозы

Большая группа веществ, входящих в состав клеточных стенок растений: ксиланы, глюкуроноксиланы, арабиноксиланы, глюкоманнаны, ксилоглюканы. Ксиланы – третий по распространенности биополимер на земле (после целлюлозы и лигнина).

Являются гетерополисахаридами, построенными из различных гексоз, пентоз и уроновых кислот. Чаще всего в гемицеллюлозах встречается ксилоза, манноза, глюкоза, галактоза и арабиноза. Мономеры соединены $\beta(1-2)$, $\beta(1-3)$, $\beta(1-4)$, $\beta(1-6)$ гликозидными связями. Имеют аморфную структуру и участвуют в построении клеточных стенок у растений. В отличие от целлюлозы молекулы гемицеллюлоз разветвленные и более короткие. Число мономеров – 500-3000 (у целлюлозы – 7-15 тыс.). Относятся к группе пищевых волокон.

Инулин

Гомополимер, цепочки которого состоят из 30-35 остатков фруктозы. Предполагается, что синтез начинается с молекулы сахарозы, поэтому в структуре всегда есть одна молекула глюкозы. Используется как резервный полисахарид у многих растений. В частности, накапливается в клубнях топинабура, георгина, лопуха, одуванчика.

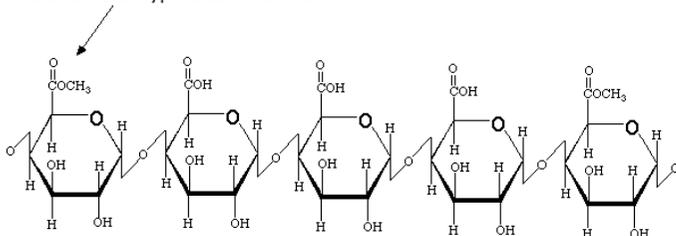


Не переваривается и относится к пищевым волокнам. Используется для получения фруктозы и для изучения фильтрационных способностей почек и почечного кровотока.

Пектины.

Полисахариды образованные, главным образом, галактуроновой кислотой и ее производными.

метоксигалактуроновая кислота



Отличаются видовой специфичностью и могут содержать в своей структуре другие моносахариды. Входят в состав клеточных стенок не одревесневших частей наземных растений, плодов. Вместе с целлюлозой, хитином, гемицеллюлозами и пр. входят в число так называемых пищевых волокон – не перевариваемых полисахаридов.

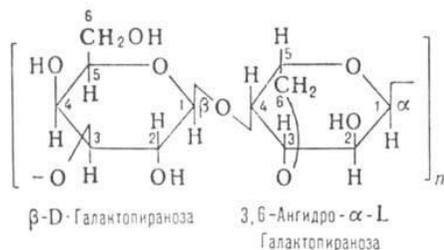
Используются в пищевой промышленности в качестве стабилизаторов и гелеобразователей.

Пептидогликан (муреин)

Компонент клеточной стенки бактерий, представляющий собой неразветвленный гетерополимер, состоящий из чередующихся остатков N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты. Нити полисахарида сшиты между собой пептидными фрагментами. Образуется ячеистая структура, придающая клеточной стенке прочность и устойчивость к осмосу.

Агар (агар-агар)

Полисахарид клеточной стенки некоторых водорослей. Состоит из молекул двух типов: агарозы и агаропектина. Агароза – линейный гетерополисахарид, состоящий из галактозы и ангидрогалактозы.



Агаропектин устроен более сложно и включает различные заместители в молекуле галактозы, включая сульфатные группы.

Широко используется в пищевой промышленности в качестве желирующего агента, в микробиологической – для приготовления плотных питательных сред. Агароза нашла широкое применение в практике биохимических исследований: в хроматографии, электрофорезе, иммунологических методах.

ЛИПИДЫ

Этот класс веществ настолько разнообразен, что дать ему определение, основываясь на химическом строении, оказалось

весьма затруднительным. Как правило, это нерастворимые или плохо растворимые в воде вещества, которые экстрагируются из биологического материала органическими растворителями. За неимением лучшего, это их свойство и было положено в основу определения: «Липиды — это биологические молекулы, растворимые в неполярных органических растворителях».

Классификация.

Существует несколько классификаций липидов.

В одной из них липиды делятся на омыляемые и неомыляемые. К неомыляемым липидам относят стероиды и ряд других гидрофобных веществ. Омыляемыми называются липиды, имеющие в составе жирные кислоты. В присутствии щелочи они гидролизуются (омыляются) с образованием солей карбоновых кислот (мыла). Липиды этой группы подразделяются на простые и сложные. Простые представляют собой эфиры спиртов и жирных кислот и состоят из атомов углерода, водорода и кислорода. Сложные дополнительно содержат другие атомы (азот, фосфор и пр.). Сложные липиды подразделяются на глицерофосфолипиды и сфинголипиды, в зависимости от спирта, который лежит в основе их структуры.



Комиссией по биохимической номенклатуре IUPAC-IUB (International Union of Pure and Applied Chemistry — International Union of Biochemistry) разработана международная классифика-

ция. По состоянию на 20 марта 2017 года она выделяет восемь классов липидов: жирные кислоты, глицеролипиды, глицерофосфолипиды, сфинголипиды, стеролы, пренолы, сахаролипиды, поликетиды.

1. Жирные кислоты.

Это карбоновые кислоты с длиной цепи от 4 до 28 атомов углерода с наличием или отсутствием двойных связей.

По длине цепи делятся на короткоцепочечные (пять и менее атомов углерода), со средней длиной цепи (6-12), длинноцепочечные (13-21) и с очень длинной цепью (более 22). Число атомов углерода как правило четное, поскольку они синтезируются из двууглеродных молекул – ацетил-КоА. Нечетное число атомов встречается у растений и микроорганизмов. У жвачных животных такие жирные кислоты образуются в рубце и, соответственно, попадают в липиды молока и тканей.

Жирные кислоты, не имеющие двойных связей, называются насыщенными, с одной – мононенасыщенными (моноеновыми), с несколькими – полиненасыщенными (ПНЖК, полиеновыми). Двойные связи в природных жирных кислотах как правило не сопряженные, то есть разделены метиленовыми мостиками.

Жирные кислоты с двойной (двойными) связями далее девятого атома углерода, считая от карбоксильной группы, не могут быть синтезированы в организме животных, должны поступать с пищей и поэтому называются незаменимыми (эссенциальными). Строго говоря, незаменимыми являются из ω -6 ряда – линолевая кислота, из ω -3 – α -линоленовая. Остальные представители могут быть синтезированы. Однако, мощность этих ферментативных систем у животных в состоянии обеспечить лишь 5% от потребности.

Двойные связи, как правило, находятся в цис-конфигурации. Из животных трансизомеры встречается у жвачных, как продукт микробного метаболизма в рубце.

Цис-конфигурация двойных связей очень важна, так как обуславливает нелинейную форму молекул. Изгибы жирных

кислот в составе фосфолипидов «разрыхляют» мембраны, обеспечивая необходимую текучесть.



Большое количество трансизомеров жирных кислот образуется при дезодорировании масел и гидрогенизации растительных жиров, в частности при производстве маргарина. Трансжиры негативно влияют на здоровье человека, и их содержание в продуктах питания регламентируется во многих странах.

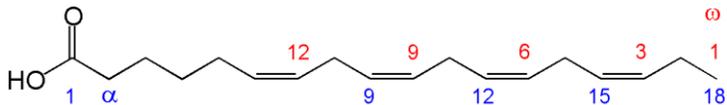
Номенклатура жирных кислот.

Тривиальная номенклатура – исторически сложившаяся – широко используется для обозначения наиболее часто встречающихся жирных кислот. Например, пальмитиновая, олеиновая, арахидоновая.

Систематическая номенклатура, рекомендованная ИЮПАК, следует правилам номенклатуры органических соединений. В названии указывается родоначальная структура, конфигурация и расположение двойных связей, считая от карбоксильной группы.

Номенклатура Lipid Numbers. Вначале указывается число атомов углерода и через двоеточие количество двойных связей. Далее после буквы греческого алфавита (Δ или ω) или в скобках указывается атом или атомы углерода, у которых располагаются эти связи. Если счет ведется от карбоксильной группы, указываются все атомы углерода, у которых начинаются двойные связи. Например, α -линоленовая кислота - 18:3 Δ 9,12,15. Если атомы углерода считаются от конечной метильной группы, то после значка ω указывается лишь номер атома, у которого расположена первая (с конца) двойная связь. α -линоленовая кислота в этом

случае будет обозначена как C18:3 ω 3, а арахидоновая - C20:4 ω 6. Расположение других двойных связей не указывается, поскольку автоматически предполагается, что они следуют одна за другой через метиленовый мостик.



Эта номенклатура позволяет разделить полиненасыщенные жирные кислоты на две группы: ω 3 и ω 6. Ее достоинство в относительной простоте и легкости запоминания, а также в том, что деление на ω 3 и ω 6 несет биологическую целесообразность. Жирные кислоты в пределах групп имеют общие пути биосинтеза и использования в животном организме. Недостаток – в том, что она пригодна для обозначения наиболее известных и часто встречающихся жирных кислот.

Мононенасыщенные жирные кислоты, которые синтезируются у животных, например, олеиновая и пальмитоолеиновая, по этой номенклатуре называются ω 9 и ω 7 жирными кислотами.

Разнообразие жирных кислот.

В таблице представлены жирные кислоты, имеющие наибольшее значение для животных.

Название	Номенклатура Lipid Numbers	
Пальмитиновая	16:0	16:0
Стеариновая	18:0	18:0
Пальмитоолеиновая	16:1(9)	16:1 ω 7
Олеиновая	18:1(9)	18:1 ω 9
Линолевая	18:2(9,12)	18:2 ω 6
α -линоленовая	18:3(9,12,15)	18:3 ω 3
γ -линоленовая	18:3(6,9,12)	18:3 ω 6
Арахидоновая	20:4(5,8,11,14)	20:4 ω 6

Эйкозапентаеновая	20:5(5,8,11,14,17)	20:5 ω 3
Докозагексаеновая	22:6(4,7,10,13,16,19)	22:6 ω 3

ω 6 и ω 3 - жирные кислоты.

Являются субстратами для синтеза эйкозаноидов. Причем, из каждой разновидности образуются различные эйкозаноиды, действие которых на физиологические и биохимические процессы часто противоположно. Кроме того, ω 6 жирные кислоты могут подавлять образование эйкозаноидов из ω -3 жирных кислот. Поэтому считается, что в пище между ними должна соблюдаться определенная пропорция. Соотношение ω 3/ ω 6 должно составлять 1:2 - 1:4. В то же время, при обычном рационе питания оно составляет 1:20 и даже 1:30. Причина заключается в том, что ω -6 жирные кислоты более доступны, так как в большом количестве содержатся в растительных маслах. В то же время, для получения ω -3 необходимо употреблять в пищу морепродукты. Больше всего их содержится в жире холодноводных (арктических и антарктических) рыб. Исключением является α -линоленовая кислота, которой много в некоторых растительных маслах, например, в льняном.

ω 9 – жирные кислоты.

Наибольшее значение имеют олеиновая и эруковая жирные кислоты. Олеиновая – основная жирная кислота оливкового масла - не является незаменимой и может синтезироваться в клетках животных.

Эруковая кислота (22:1) в больших количествах содержится в масле капустных – рапсе, горчице, сурепке. В ряде исследований на животных было показано, что она вызывает жировую дистрофию миокарда, печени, мышц. И, хотя, исследования на людях не подтвердили опасения, во многих странах введены законодательные ограничения на содержание эруковой кислоты в рационе питания, и проводятся работы по выведению низкоэруковых (2-5%) сортов рапса.

Анандамид – компонент эндоканнабиноидной системы, оказывает действие через СВ1 и СВ2 каннабиноидные рецепторы. Вовлечен в работу иммунной системы, регуляцию пищевого поведения, участвует в формировании различных мотиваций, чувства удовольствия. Содержится в шоколаде.

Эйкозаноиды – сигнальные молекулы, образующиеся при окислении полиненасыщенных жирных кислот. Их спектр и биологическая активность очень широки. Основные группы эйкозаноидов – простагландины, тромбоксаны, лейкотриены, липоксины, резолвины, эоксины. Каждая из этих групп включает несколько представителей.

Они участвуют в таких физиологических и патофизиологических процессах, как воспаление, лихорадка, аллергия.

2. Глицеролипиды.

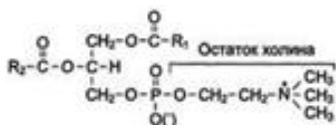
Это эфиры глицерола и жирных кислот. В зависимости от количества присоединенных жирных кислот глицеролипиды делятся на моноглицериды (моноацилглицеролы), диглицериды (диацилглицеролы) и триглицериды (триацилглицеролы). Эта группа липидов, хотя и участвует в формировании мембран, в большей степени играет резервную роль. У животных в жирнокислотном спектре преобладают насыщенные и мононенасыщенные жирные кислоты – пальмитиновая, олеиновая. В растительных жирах много полиненасыщенных жирных кислот. Они имеют жидкую консистенцию и называются маслами.

3. Глицерофосфолипиды.

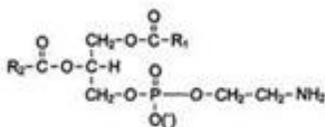
Представляют собой диацилглицеролы, у которых в третьем положении глицерина присоединен фосфат и вслед за ним еще одна полярная группа: холин, этаноламин, серин, инозитол. В первом положении фосфолипидов как правило находится насыщенная жирная кислота, во втором – полиненасыщенная.

Молекула с двумя жирными кислотами в первой и второй позиции и фосфатной группой – в третьей называется фосфатидной кислотой. Ее радикал – фосфатидил, и от него образуются названия фосфолипидов. Фосфатидная кислота – промежу-

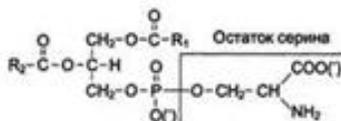
точный продукт в биосинтезе разных классов липидов. Кроме того, она обладает собственной биологической активностью, регулируя подвижность мембран, функционирование липид-управляемых ионных каналов, рекрутируя в мембраны цитозольные белки.



Фосфатидилхолин



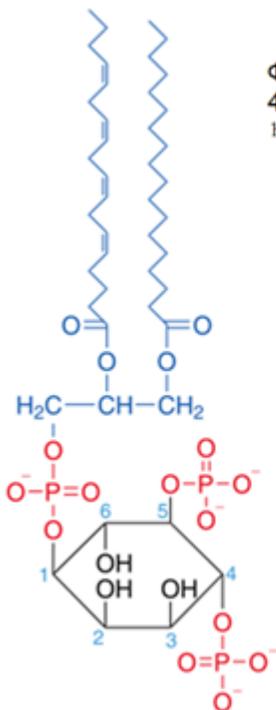
Фосфатидилэтаноламин



Фосфатидилсерин

Глицерофосфолипиды – основной компонент клеточных мембран. Наиболее распространен фосфатидилхолин (лецитин). Благодаря своей амфифильности они формируют липидный бислой. Жирнокислотный состав фосфолипидов – важный фактор, определяющий текучесть мембран. Полиненасыщенные жирные кислоты во втором положении фосфолипидов выступают субстратами в синтезе эйкозаноидов и эндоканнабиноидов.

Фосфоинозитиды (фосфатидилинозитолы) – компоненты мембран и участники сигнальных каскадов многих биологически активных соединений. Инозитол в их составе может быть фосфорилирован в третьем, четвертом и пятом положениях. Наиболее важны фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат и фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат.



Фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат

https://en.wikipedia.org/wiki/Phosphatidylinositol_4,5-bisphosphate

Под действием фосфолипазы C из фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата образуются сразу два вторичных мессенджера: инозитол-1,4,5-трифосфат и диацилглицерол.

При отщеплении от фосфолипидов одного остатка жирной кислоты (под действием фосфолипазы A2) образуются биологически активные соединения под названием лизофосфолипиды.

4. Сфинголипиды.

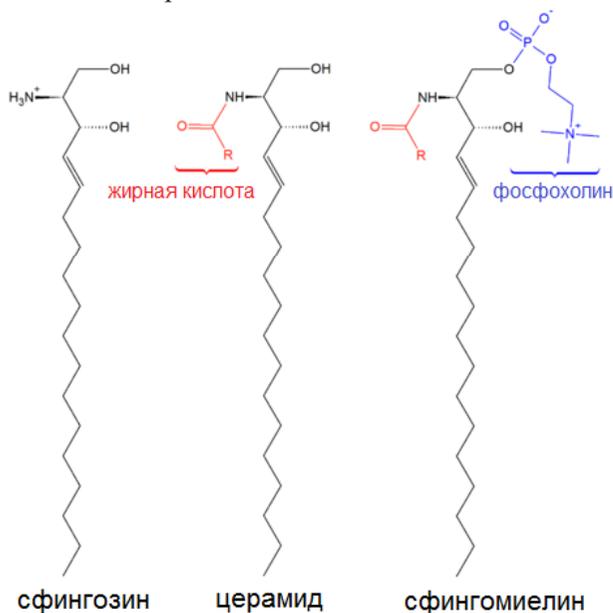
Построены по тому же принципу, что и глицеролипиды, но на основе 18-ти углеродного непредельного аминок спирта – сфингозина. Он синтезируется из серина и пальмитоил-КоА. Жирная кислота присоединяется к аминогруппе, а водород гидроксильной группы в первом положении может быть замещен другими радикалами, например, фосфохолином, фосфоэтаноламином или остатками сахаров.

Сфинголипиды – важнейшие компоненты плазматических мембран клеток. В наибольшем количестве и разнообразии они содержатся в нервной ткани. Принимают участие в таких процессах как апоптоз, пролиферация, дифференцировка, старение клеток, воспаление, аутофагия.

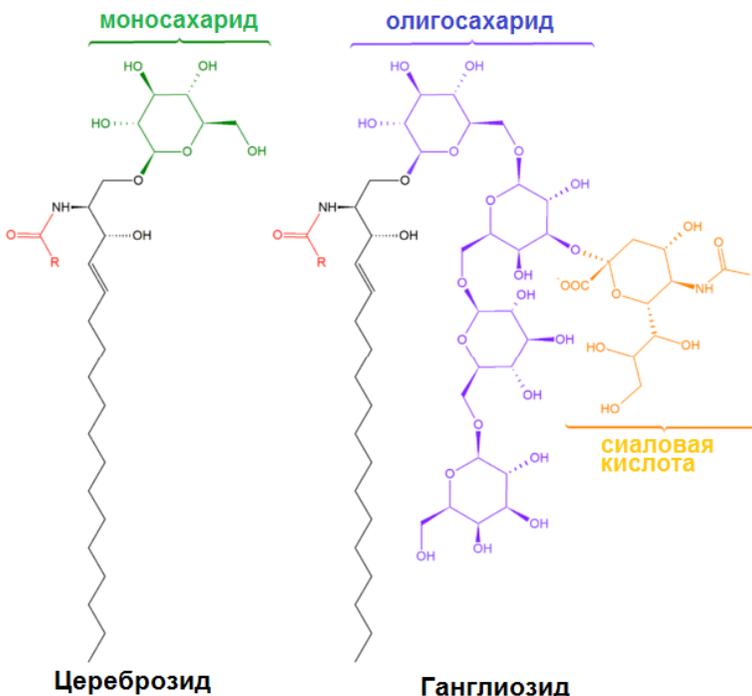
Сфинголипиды делятся на:

- *церамиды* (сфингозин + жирная кислота);
- *сфингомиелины* (сфингозин + жирная кислота + фосфохолин или фосфоэтаноламин)
- *гликосфинголипиды* (сфингозин + жирная кислота + один или несколько гликозидных остатков, присоединенных в первом положении β-гликозидной связью).

Гликосфинголипиды делятся на цереброзиды и ганглиозиды. У цереброзидов в первом положении присоединен остаток глюкозы или галактозы. У ганглиозидов – минимум три остатка, один из которых сиаловая кислота.



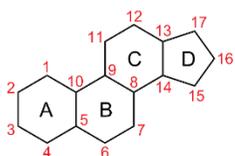
https://en.wikipedia.org/wiki/Sphingolipid#Functions_of_mammalian_sphingolipids



https://en.wikipedia.org/wiki/Sphingolipid#Functions_of_mammalian_sphingolipids

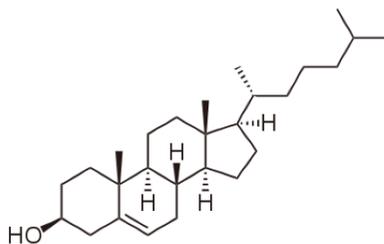
5. Стероиды.

Стероиды – это производные стерана (синонимы – гонан, циклопентанпергидрофенантрен) – циклического углеводорода, состоящего из четырех конденсированных колец, трех циклогексановых и одного циклопентанового. Стероиды - это подгруппа стероидов, имеющих гидроксильную группу в третьем положении. Они продуцируются животными, растениями, грибами и некоторыми бактериями. Наиболее известен – холестерол. Он участвует в образовании липидного бислоя мембран, играя важную роль в поддержании необходимой текучести и является предшественником большого количества биологически активных веществ: стероидных гормонов, витаминов Д, желчных кислот.



стеран

(гонан,
циклопентанпергидрофенантрен)

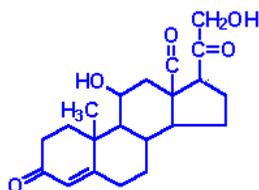


холестерол

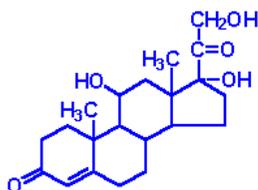
Фитостеролов известно порядка двухсот. Из них можно упомянуть кампестрол, β -ситостерол, брассикастерол. Из микостеролов важнейший - эргостерол – компонент клеточных мембран грибов.

В эту группу липидов входят также стероидные гормоны, желчные кислоты и витамины Д.

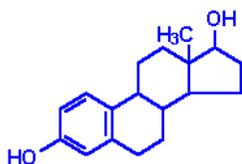
Стероидные гормоны по числу атомов углерода делятся на С18-стероиды (эстрогены), С19 – стероиды (андрогены) и С21-стероиды (глюко- и минералокортикоиды, прогестогены).



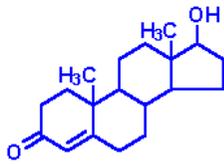
Альдостерон
(минералокортикоид)



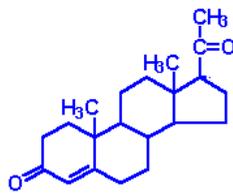
Кортизол
(глюкокортикоид)



Эстрадиол
(эстроген)



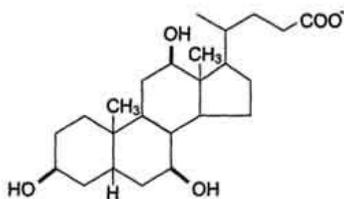
Тестостерон
(андроген)



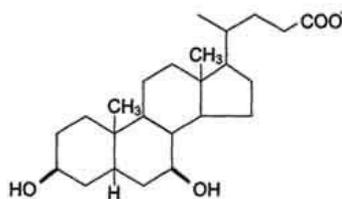
Прогестерон
(прогестоген)

Желчные кислоты - важнейший компонент желчи, участвующий в эмульгировании жиров в кишечнике. В 17-ом положении они имеют пятиуглеродную боковую цепь с карбоксильной группой на конце. Это придает им амфифильные свойства, обуславливающие поверхностно-активные свойства. Желчные кислоты делятся на первичные (холевая, хенодезоксихолевая), синтезируемые в печени из холестерина, и вторичные, образующиеся за счет модификации бактериями в кишечнике (дезоксихолевая, литохолевая, урсодезоксихолевая). Из последних наибольшее значение имеет дезоксихолевая кислота.

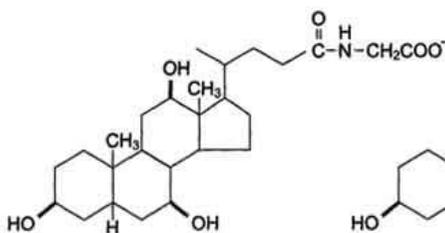
Поверхностно-активные свойства желчных кислот увеличиваются за счет конъюгации с глицином и таурином (таурохолевая, гликодезоксихолевая и так далее). В медицинской литературе такие соединения называются парными желчными кислотами.



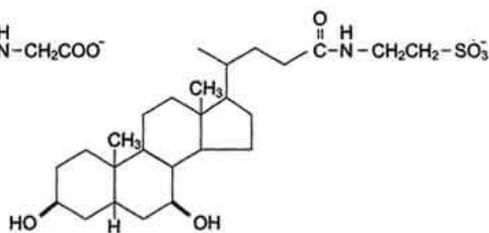
Холевая кислота



Хенодезоксихолевая кислота

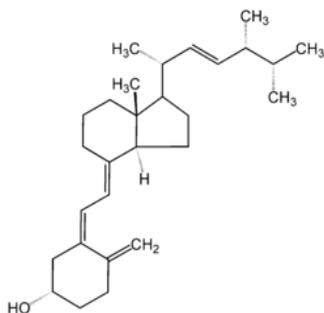


Гликохолевая кислота

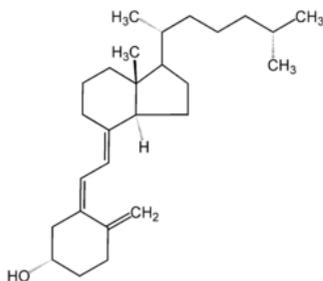


Таурохенодезоксихолевая кислота

Витамины группы D относятся к секостероидам – стероидам с разорванным кольцом.



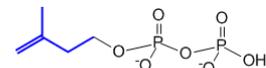
Эргокальциферол
(витамин D2)



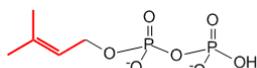
Холекальциферол
(витамин D3)

6. Пренолы.

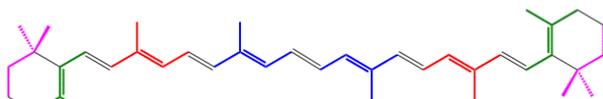
Самая обширная группа липидов, одних изопреноидов (синоним – терпеноиды) насчитывается более тридцати тысяч. Синтезируется из двух взаимопревращающихся изомеров – диметилаллилпирофосфата и изопентенилпирофосфата.



изопентенилпирофосфат



диметилаллилпирофосфат



β -каротин

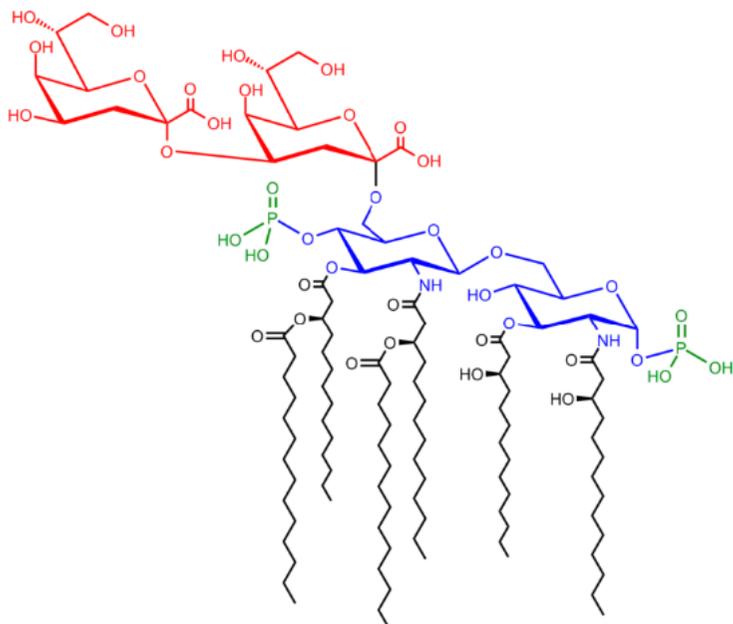
Эти два вещества образуются из ацетил-КоА в ходе мевалонатного метаболического пути, функционирующего у всех эукариот, некоторых бактерий и архей. Из них синтезируются ретиноиды (включая витамин А), витамины Е и К, долихолы, убихиноны и все стероиды.

У растений к этой группе относится огромное число вторичных метаболитов, например, ароматические молекулы.

7. Сахаролипиды.

Термин введен вместо ранее употреблявшегося названия гликолипиды, поскольку углеводные производные есть во всех

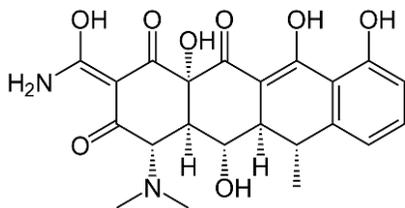
восьми группах липидов. Сюда относятся лишь соединения, в которых ацильные радикалы присоединены напрямую к сахарам. На рисунке – липид А – компонент мембраны грамотрицательных бактерий.



<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Kdo2-lipidA.png>

8. Поликетиды.

Вторичные метаболиты растений, беспозвоночных, грибов и бактерий. Среди них антибиотики (макролиды, тетрациклины), микотоксины (афлатоксины), цитохалазины, флавоноиды и пр.



ДОКСИЦИКЛИН

Функции липидов.

Энергетическая. При расщеплении 1 г жира выделяется 9 килокалорий энергии, что почти в 2 раза больше, чем при расщеплении 1 г углеводов или белков.

Резервная. Триацилглицеролы подкожного жира являются основным энергетическим резервом организма при голодании. Запасание жира выгоднее, чем углеводов, по двум причинам. Во-первых, они менее окислены, и, соответственно, дают больший выход энергии. Во-вторых, в отличие от гидрофильных молекул, жиры депонируются без гидратной воды.

Эндогенная вода, образующаяся у некоторых животных при окислении жира, важна для выживания в засушливых местах обитания.

Терморегуляционная. Подкожный жир выполняет функцию теплоизоляции.

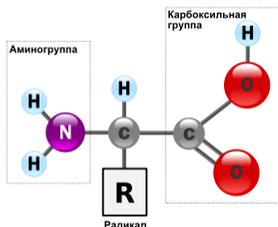
Структурная. Липидный бислой мембран образован фосфолипидами и холестерином.

Регуляторная. К липидам относятся жирорастворимые витамины (А, Д, Е, К), гормоны (стероиды, эйкозаноиды). Фосфатидилинозитол - источник двух вторичных мессенджеров – диацилглицерола и инозитолтрифосфата, опосредующих действие многих гормонов и нейромедиаторов на клеточный метаболизм. Лизофосфолипиды с помощью специфических рецепторов регулируют процессы дифференцировки, пролиферации, адгезии, подвижности клеток.

Защитная функция. Подкожная жировая клетчатка обеспечивает защиту внутренних органов от повреждений. Жировая капсула защищает и фиксирует почки, предотвращая их опускание. Жировые подушки на пятках делают возможным прямохождение.

АМИНОКИСЛОТЫ

Аминокислоты — органические соединения, имеющие амино- и карбоксильные группы и боковой радикал, отличающий их друг от друга.



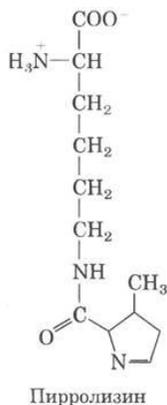
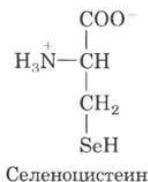
Номенклатура.

Общеупотребительны тривиальные названия. Иногда они содержат отсылку к источнику, из которого аминокислота была выделена. Например, аспарагин был выделен из спаржи (*Asparagus*). В некоторых случаях название отражает свойства аминокислоты. Например, название глицин происходит от *glycys* — сладкий.

Для сокращенного обозначения применяются трехбуквенные коды, представляющие собой в основном три первых буквы полного наименования: валин — вал, аланин — ала, глицин — гли. Есть исключения: изолейцин — иле. Существует и однобуквенные названия, но они употребляются в основном в специальной литературе: лейцин — L, тирозин — Y (вторая буква в слове *tYrosine*), лизин — K (буква в алфавите рядом с L).

Разнообразие аминокислот.

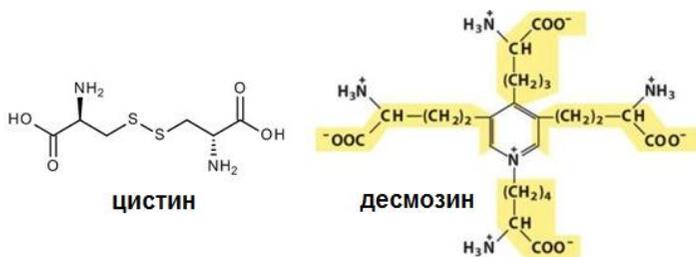
В живых организмах обнаружено порядка пятисот различных аминокислот, но только двадцать две из них являются протеиногенными, то есть участвуют в построении белка. Помимо «канонических» двадцати сюда относятся селеноцистеин и пирролизин, которые кодируются специфическим образом терминирующими кодонами и включаются в белок на стадии трансляции.



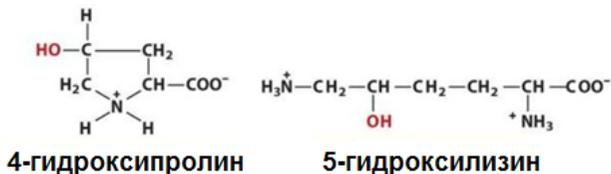
В отличие от пирролизина, который встречается только у бактерий и архей, селеноцистеин - компонент многих белков эукариот: глутатионпероксидаз, тиоредоксинредуктаз, дейодиназ.

В ходе процессинга белков образуется ряд нестандартных аминокислот, которые могут быть выделены после гидролиза. Например, тетрамер лизина – десмозин, соединяющий в молекуле эластина четыре разных полипептидных цепи.

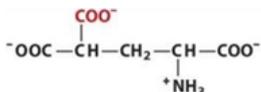
Третичная структура белка стабилизируется дисульфидными мостиками, образованными остатками цистеина. При мягком гидролизе они остаются в виде димера – цистина.



При созревании коллагена гидроксилируются пролин и лизин.



С участием витамина К в ряде белков карбоксилируются остатки глутамата.

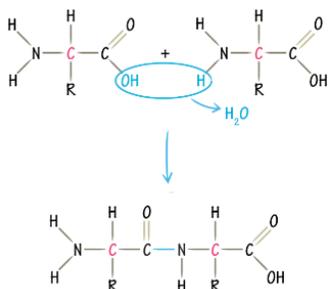


γ-карбоксиглутамат

Важным способом изменения активности белков является их фосфорилирование с участием специальных ферментов – протеинкиназ. Модификации подвергаются остатки гидроксиаминокислот, при этом образуются фосфосерин и фосфотреонин.

Непротеиногенные аминокислоты играют важную роль в обмене веществ. Например, орнитин, цитруллин – промежуточные продукты цикла мочевины; гомосерин и гомоцистеин образуются в ходе метаболизма цистеина и метионина, и так далее.

Аминокислоты, соединяясь друг с другом, образуют пептиды и белки. Порядок их следования закодирован в генах. Аминокислоты соединяются с помощью пептидной связи. Это разновидность амидной связи, которая образуется при взаимодействии α-аминогруппы одной аминокислоты с α-карбоксильной группой другой.



Для образования пептидной связи расходуется энергия макроэргических соединений. Происходит это преимущественно в ходе трансляции на рибосомах. Короткие пептиды, например, глутатион, могут синтезироваться энзиматически.

Расщепление пептидной связи осуществляют гидролитические ферменты – протеазы или пептидазы.

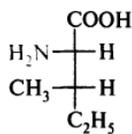
Изомерия аминокислот.

Сtereoизомерия.

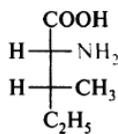
Большинство α -аминокислот имеет один асимметричный атом углерода – во втором (или α) положении цепи. Соответственно, аминогруппа может иметь D- или L-конфигурацию. У животных в построении белков участвуют исключительно L-изомеры. В некоторых пептидах и белках встречаются D-аминокислоты, но они образуются в ходе посттрансляционных модификаций.

D-аспартат в дентине эмали образуется в результате спонтанной рацемизации L-формы. Этот процесс идет с постоянной скоростью и по концентрации D-аспартата можно определить возраст останков.

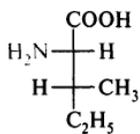
Глицин не содержит хиральных атомов и, соответственно, изомеров, так как его радикал представлен одним атомом водорода. У треонина и валина – два хиральных центра, которые обуславливают существование четырех стереоизомеров. В биосинтезе белка участвует лишь один. В случае изолейцина, - имеющий заместители в L-конфигурации у α - и β -атомов углерода. В случае треонина – L- у α -атома, D- у β -атома углерода. α -L-аминокислота, имеющая «неправильное» расположение заместителя у β -атома, и ее энантиомер в названии имеют приставку «алло».



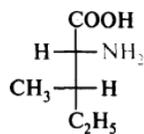
L-изолейцин



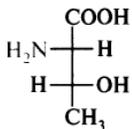
D-изолейцин



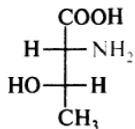
L-алло-изолейцин



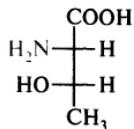
D-алло-изолейцин



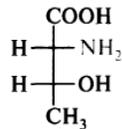
L-треонин



D-треонин



L-алло-треонин



D-алло-треонин

Изомерия положения аминогруппы.

Аминогруппа у протеиногенных аминокислот располагается у α -углеродного атома. Встречаются и другие конфигурации. Например, в состав пантотеновой кислоты входит β -аланин. γ -аминоасляная кислота является нейромедиатором, а ε -аминогруппа есть у лизина.

Классификация аминокислот

По строению бокового радикала:

Алифатические: глицин, аланин, валин, изолейцин, лейцин

Гидроксиаминокислоты: серин, треонин

Моноаминодикарбоновые: аспартат, глутамат

Амиды моноаминодикарбоновых: аспарагин, глутамин

Диаминомонокарбоновые: лизин, аргинин

Серосодержащие: цистеин, метионин

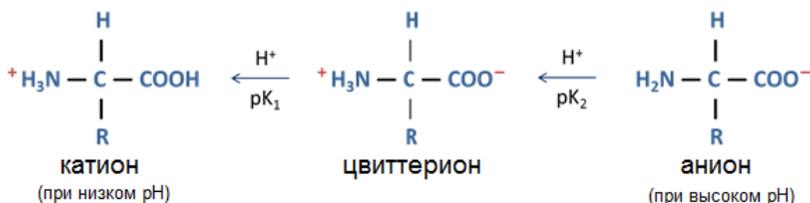
Селенсодержащие: селеноцистеин

Ароматические: фенилаланин, гистидин, тирозин, триптофан

Иминокислоты: пролин

По полярности и ионогенности бокового радикала

При физиологических рН свободные аминокислоты существуют в виде биполярных ионов - цвиттерионов (нем. - zwitter - гермафродит). Карбоксильная группа диссоциирована и несет отрицательный заряд, аминогруппа протонирована и заряжена положительно.



В молекулах белков эти две группы участвуют в образовании пептидных связей. Полярность и заряд связанных (в составе полипептидных цепей) аминокислот определяется свойствами радикалов.

Полярным является радикал, который имеет полярные связи (С-О, С-N, О-Н, S-H). Часть из них может приобретать положительный либо отрицательный заряд. При нейтральном рН протонированы и заряжены положительно аминогруппа лизина, гуанидиновая группировка аргинина и имидазол гистидина. Отрицательно – диссоциированные при рН 7 карбоксильные группы аспартата и глутамата.

Серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин и глутамин имеют полярные, но неионогенные радикалы.

Неполярные и, соответственно, гидрофобные радикалы имеют алифатические аминокислоты, фенилаланин, триптофан и метионин.

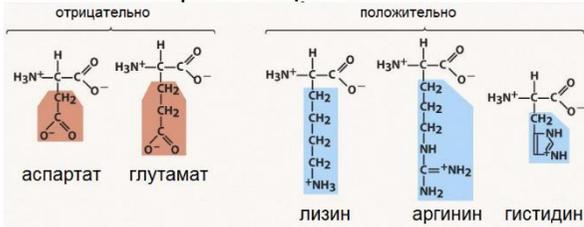
Неполярные



Полярные незаряженные



Полярные заряженные



© 2005 Pearson Prentice Hall, Inc.

По способности организма синтезировать из предшественников

аминокислоты делятся на заменимые и незаменимые.

Незаменимые не синтезируются в организме или синтезируются в недостаточных количествах и должны поступать с пищей: валин, изолейцин, лейцин, треонин, метионин, лизин, фенилаланин, триптофан, гистидин.

Заменимые – все остальные, включая селеноцистеин, - синтезируются из других интермедиатов обмена веществ.

Деление аминокислот на заменимые и незаменимые условно. Например, цистеин относится к заменимым аминокислотам,

но сера для его биосинтеза берется из незаменимого метионина. В случае дефицита последнего цистеин станет незаменимым. Аналогичная ситуация с тирозином. При дефиците фенилаланина в рационе, а, также, при нарушении его гидроксирования, например, при фенилкетонурии, тирозин перейдет в разряд незаменимых.

Выяснено, что аргинин является незаменимым лишь для недоношенных младенцев, поэтому он исключен из числа незаменимых и иногда включается в группу «условно незаменимых аминокислот». Раньше по аналогичной причине туда же относили гистидин, однако в настоящее время считается, что синтез de novo в организме человека не осуществляется.

Потребность в аргинине у человека покрывается за счет эндогенного синтеза. Энтероциты образуют цитруллин из глутамата и глутамина, а клетки проксимальных канальцев почек превращают его в аргинин и возвращают в кровоток. Это основной, но не единственный путь обеспечения аргинином организма.

По характеру продуктов катаболизма аминокислоты делят на три группы:

Глюкогенные аминокислоты - те, из которых можно синтезировать глюкозу. В ходе катаболизма они превращаются в пироват, оксалоацетат, fumarат, сукцинил-КоА и α -кетоглутарат, которые являются субстратами для глюконеогенеза. К глюкогенным аминокислотам относятся: глицин, аланин, валин, пролин, серин, треонин, цистеин, метионин, аспарат, аспарагин, глутамат, глутамин, аргинин, гистидин.

Кетогенные аминокислоты – те, из которых нельзя синтезировать глюкозу, поскольку они распадаются до ацетил-КоА и ацетоацетил-КоА: лейцин, лизин.

Глюко-кетогенные аминокислоты в ходе катаболизма дают метаболиты обоих типов: изолейцин, фенилаланин, тирозин, триптофан.

Свойства и биологическая роль отдельных аминокислот.

Глицин.

Единственная из двадцати аминокислот, которая не имеет асимметричных атомов и соответственно оптических изомеров. Имеет сладковатый вкус, - отсюда название от греческого *glucys* — сладкий. Входит в состав белков, используется для синтеза порфиринов и пуриновых оснований, в нервной системе является тормозным нейромедиатором. Применяется в медицине в качестве ноотропного лекарственного средства. Снижает психоэмоциональное напряжение, повышает умственную работоспособность.

Аланин -

Участвует в работе глюкозо-аланинового цикла и является одним из важнейших субстратов глюконеогенеза в печени. β -аланин входит в состав пантотеновой кислоты и дипептидов карнозина и ансерина, на которые в мышцах приходится до 20% буферной емкости.

Валин, лейцин, изолейцин

Имеют разветвленные углеводородные боковые цепи, обладающие гидрофобными свойствами. Играют важную роль в гидрофобных взаимодействиях, стабилизирующих третичную структуру белка. Входят в состав участков, доменов белковых молекул, контактирующих с гидрофобными поверхностями, в частности с мембранами.

Значительная часть метаболизируется в скелетных и сердечной мышцах, что обуславливает их широкое использование в бодибилдинге.

При врожденном дефекте дегидрогеназы разветвленных α -кетокислот - фермента, катализирующего одну из начальных реакций катаболизма всех трех ВСАА, развивается заболевание – моча с запахом кленового сиропа.

Цистеин

В молекуле белка может образовывать дисульфидные мостики, стабилизируя третичную структуру. Обладает антиоксидантным действием самостоятельно и в составе глутатиона.

Метионин

— незаменимая серосодержащая аминокислота. В составе кофермента - S-аденозилметионина - является донором метильных групп в более, чем сорока реакциях.

В реакции транссульфурирования превращает серин в цистеин.

S-метилметионин (метилметионинсульфий, витамин U) – витаминоподобное вещество, обладающее противоязвенным действием. Служит источником метильных групп, обладает наравне с метионином и S-аденозилметионином сильным липотропным действием (повышает уровень холина, лецитина, снижает – холестерина).

Серин -

синтезируется из интермедиата гликолиза – 3-фосфоглицерата. Участвует в формировании активного центра многих ферментов: так называемых сериновых протеаз, эстераз, наиболее значимой из которых является холинэстераза. Действие фосфорорганических ядов связано с блокированием гидроксильных групп в активном центре фермента.

Фосфорилирование белков, как способ регуляции их активности, во многих случаях также осуществляется по остаткам серина.

При декарбоксилировании образуется этаноламин.

Треонин –

незаменимая аминокислота, частый объект фосфорилирования в составе белка.

Аспарагиновая кислота (аспартат) -

Участвует в синтезе пиримидиновых и пуриновых нуклеотидов, источник одной из аминогрупп в мочеvine, играет важную роль в реакциях трансаминирования, является нейротрансмиттером.

D-аспартат – входит в состав некоторых биологически активных пептидов, белков клеточной стенки бактерий.

Глутаминовая кислота (глутамат) -

отрицательно заряженная аминокислота, составляющая до 25% всех аминокислот в организме. Активный участник процессов трансаминирования и трансдезаминирования. Участвует в процессах обезвреживания аммиака, биосинтезе пуриновых нуклеотидов, поддержании кислотно-основного равновесия, входит в состав глутатиона.

Глутамат и продукт его декарбоксилирования – гамма-аминомасляная кислота являются нейромедиаторами.

Глутамат натрия является носителем пятого вкуса – умами и широко используется в пищевой промышленности.

Аспарагин и глутамин –

амиды аспарагиновой и глутаминовой кислот соответственно. Участвуют в транспорте и обезвреживании аммиака. Глутамин – источник атома азота в пуриновом ядре и аминогруппы в гуанине.

Лизин -

аминокислота с выраженными основными свойствами. ε-аминогруппа участвует в образовании оснований Шиффа, водородных связей и солевых мостиков, стабилизирующих третичную структуру белка. ε-аминогруппа в молекулах гистонов – объект ковалентной модификации гистонов. Способность образовывать основания Шиффа играет важную роль в катализе и функционировании ряда белков. Например, ретиналь в родопсине присоединен к ε-аминогруппе лизина в составе белка. Поперечные сшивки в структуре коллагена также производятся с помощью этой аминокислоты.

Лизин – одна из лимитирующих аминокислот в кормах, приготовленных из зерновых культур. Это обуславливает его применение в сельском хозяйстве в качестве пищевой добавки.

Аргинин

Основные свойства обусловлены гуанидиновой группировкой в δ -положении. Большое количество аргинина в протаминах и гистонах обуславливает их положительный заряд и высокое сродство к фосфатным группам в составе ДНК.

Ключевой интермедиат орнитинового цикла синтеза мочевины. Является субстратом в синтезе оксида азота – сигнальной молекулы, играющей важную роль в регуляции сосудистого тонуса

Исходный субстрат для синтеза полиаминов – путресцина, спермина и спермидина.

Пролин -

является иминокислотой, поскольку азот находится в ней в составе вторичной аминогруппы. Это обуславливает ряд особенностей образуемой им пептидной связи. Во-первых, она не участвует в формировании водородных связей, ввиду отсутствия протона, связанного с атомом азота. Во-вторых, способствует изгибу пептидной цепи в месте ее расположения, участвуя в формировании вторичной структуры белка. Остатки пролина и оксипролина – основа трехспиральной структуры коллагена.

Заменим, синтезируется из глутамата.

Гистидин –

ранее считался условно заменимой аминокислотой, и что в экзогенном поступлении нуждаются только младенцы. В настоящее время установлено, что у человека и животных эндогенный синтез гистидина не происходит.

Частый компонент активных центров ферментов. Имидазольное кольцо при физиологических рН может переходить из

протонированной в непротонированную форму, что обуславливает его роль в кислотно-основном катализе.

При декарбоксилировании образуется гистамин – биологически активное вещество с широким спектром действия

Фенилаланин.

Фенильный радикал обуславливает его гидрофобность и роль в гидрофобных и стэкинг-взаимодействиях, обеспечивающих фолдинг и стабилизирующих третичную структуру белков.

Концентрация фенилаланина в клетке регулируется за счет гидроксирования и превращения в тирозин. При наследственной патологии этого процесса развивается заболевание – фенилкетонурия.

Дипептид аспартил-фенилаланин известен, как аспартам, - широко применяющийся в пищевой промышленности подсластитель.

Тирозин –

Гидроксильная группа тирозина – частый локус постраскрипционной модификации белков, в частности фосфорилирования.

Тирозин - субстрат в синтезе таких гормонов и нейромедиаторов, как адреналин, норадреналин, ДОФА, дофамин, тироксин и трийодтиронин.

Триптофан

Индольное кольцо обладает гидрофобными свойствами и участвует в стэкинг-взаимодействиях. Служит субстратом для синтеза серотонина, мелатонина и витамина РР. Применяется в медицине для лечения нервно-психических заболеваний и в сельском хозяйстве для обогащения кормов животных.

БЕЛКИ

Белки (протеины) — макромолекулы, построенные из аминокислот, в состав которых входит одна или несколько полипептидных цепей. Последовательность аминокислот закодирована в участке ДНК, называемом геном. Последовательность нуклеотидов в гене копируется на матричную РНК, которая служит матрицей для синтеза данного белка с участием рибосом. Белки выполняют в живых организмах намного больше функций, чем другие классы органических соединений.

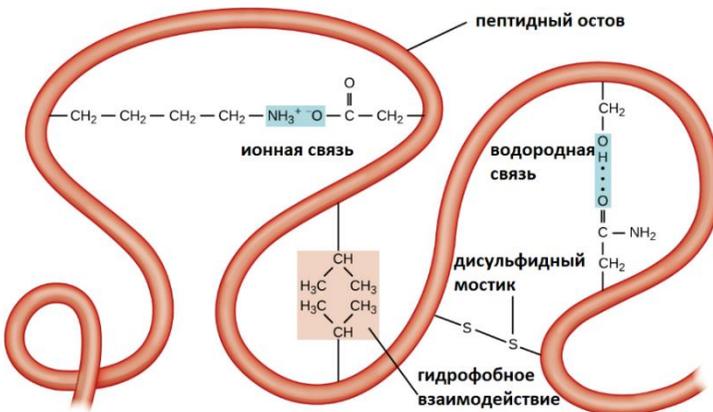
Строение белков.

Короткие цепочки из аминокислот называют пептидами, олигопептидами или полипептидами в зависимости от длины. Белком обычно называют полипептид длиной более 20-30 (иногда более 40 и даже 50) аминокислот при условии, что он имеет устойчивую трехмерную структуру.

Химические связи, участвующие в формировании структуры белка.

Ковалентные связи

Это пептидная связь и дисульфидные мостики. Свойства и механизм образования этих связей разбирались в разделе, посвященном аминокислотам.



<https://www.khanacademy.org/science/biology/macromolecules/proteins-and-amino-acids/a/orders-of-protein-structure>

Водородные связи

Водородная связь возникает между атомом водорода, заряженным положительно, и каким-либо электроотрицательным атомом, например, азотом, серой или кислородом.

Ионные связи.

Это химическая связь, обусловленная электростатическим притяжением катионов и анионов. В молекуле белка — это положительно заряженные группы аргинина, лизина и гистидина и отрицательно заряженные остатки аспартата и глутамата.

Гидрофобные взаимодействия.

Возникают в водной среде между гидрофобными радикалами аминокислот в составе белка. Неполлярные группы атомов нарушают 3D-структуру молекул воды, сформированную за счет водородных связей. Поскольку образование водородных связей с гидрофобными радикалами невозможно, молекулы воды переориентируются тангенциально, образуя вокруг них своего рода каркас. Объединение гидрофобных структур в кластеры с минимальной площадью контакта с водой становится для системы термодинамически выгодным. Кластеры, сформированные за счет выталкивающей силы воды, стабилизируются силами Ван-дер-Ваальса.

Силы Ван-дер-Ваальса.

Это взаимодействия между постоянными либо наведенными диполями. Возникают при сближении атомов и действуют до расстояния Ван-дер-Ваальсова контакта (3-4 ангстрема), когда притяжение уравнивается отталкиванием вследствие перекрытия электронных облаков. Относятся к слабым взаимодействиям. В силу многочисленности наряду с водородными силами играют важнейшую роль в стабилизации пространственной структуры белка и комплементарных взаимодействиях.

Уровни структурной организации белка.

Каждый белок имеет уникальную пространственную структуру. Она лабильна, реагирует на окружение и изменяется в процессе функционирования. Трехмерные структуры, которые при этом возникают и переходят друг в друга, называются конформациями, а переход между ними – конформационным сдвигом. Конформация функционально активного белка называется нативной.

Трехмерная структура образуется за счет строго определенной укладки полипептидной цепи в пространстве. При этом в белковой глобуле наряду с неупорядоченными фрагментами присутствуют характерные структурные элементы. Традиционно они описываются в виде четырех уровней организации белковой молекулы.

Первичная структура — последовательность аминокислот в полипептидной цепи. Индивидуальна для каждого белка, закодирована в ДНК, стабилизирована пептидными связями. Считается, что в наборе аминокислот и их последовательности содержится достаточная информация для формирования его нативной трехмерной структуры.

Аминокислоты в составе полипептидной цепи называются аминокислотными остатками. Они образуют пептидный остов – повторяющуюся последовательность (-NH-CH-CO-) -, от которой чередуясь в обе стороны «отходят» радикалы аминокислот.

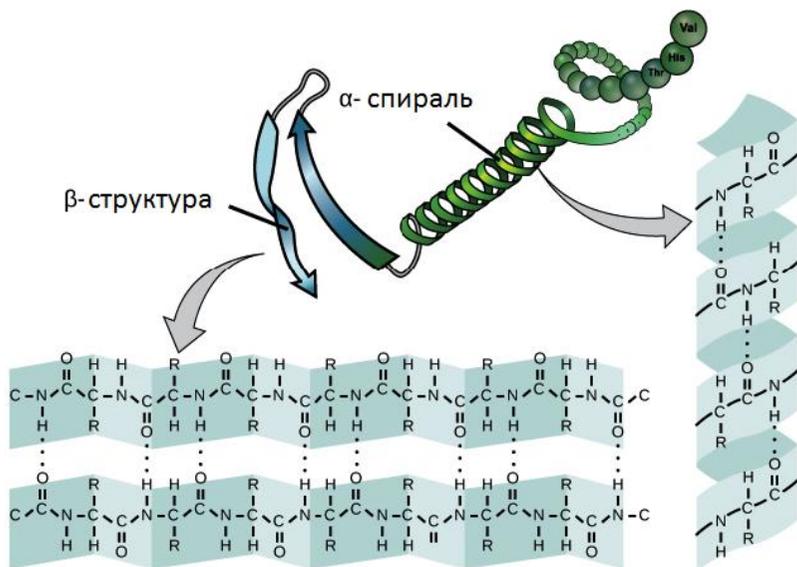
Консервативные мотивы – устойчивые фрагменты первичной структуры, встречающиеся у многих белков. В ходе эволюции они изменяются незначительно. Сопоставляя структуру таких мотивов у разных видов, можно выяснить степень филогенетического родства между ними. В случае нового белка изучение консервативных мотивов позволяет сделать предположение о его функции.

Вторичная структура.

Отдельные участки полипептидной цепи в составе белковой глобулы могут иметь регулярную структуру, стабилизирован-

ную водородными связями: α -спирали, β -структуры (слои) и повороты.

α -спираль - чаще правозакрученная с 3,6 аминокислотными остатками на виток. Водородные связи образуются между атомами пептидных групп соседних витков и направлены вдоль оси спирали. Аминокислоты с заряженными или объемными радикалами препятствуют образованию спирали. Пролин в полипептидной цепи вызывает ее изгиб.



<https://www.khanacademy.org/science/biology/macromolecules/proteins-and-amino-acids/a/orders-of-protein-structure>

β -Структуры образуются при сближении линейных участков одной или нескольких полипептидных цепей. Стабилизируются водородными связями между атомами пептидного остова. В отличие от α -спирали, водородные связи расположены перпендикулярно оси образования.

Если линейные участки в β -структуре направлены в одну сторону, она называется параллельной, если в разные – антипараллельной. Поскольку атомы в пептидном остова расположены

зигзагообразно, несколько цепей, расположенных рядом, образуют структуру типа сложенного гармошкой листа бумаги. По этой причине β -структуры называют также β -слоями или β складчатыми слоями.

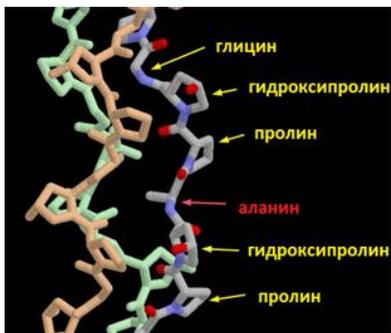
В β -слоях преобладают глицин и аланин, поскольку аминокислоты с объемными и заряженными радикалами препятствуют образованию водородных связей между атомами пептидных остовов.

Многие фибриллярные белки построены с преобладанием элементов вторичной структуры.

α -кератин – белок волос, шерсти, перьев – представляет собой правозакрученную α -спираль. Его полипептидные цепи спирализуются и суперспирализуются, образуя фибриллы, которые переплетаясь формируют волос или волокно шерсти. В составе молекул α -кератина много остатков цистеина, которые скрепляют цепи между собой дисульфидными мостиками.

Коллаген.

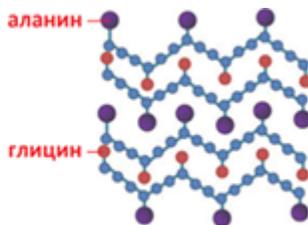
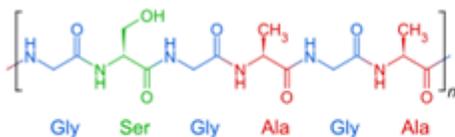
Белок межклеточного вещества костной ткани, хрящей, сухожилий, кожи. За счет большого количества остатков пролина и гидроксипролина, формирующих изгиб цепи в месте своего расположения, молекула представляет собой левозакрученную спираль с очень малым шагом. Роль водородных связей в ее формировании мала, поскольку вторичный азот пролина после образования пептидной связи лишается единственного атома водорода.



<https://alevelbioloev.co.uk/notes/structure-of-collagen/>

Фиброин –

белок паутины и шелка. Его эластичность и прочность обусловлена тем, что его полипептидные цепи организованы в антипараллельные складчатые слои. Он состоит из аминокислот, имеющих минимальный размер радикала: аланин, глицин, серин, что способствует максимальному сближению цепей и формированию водородных связей.

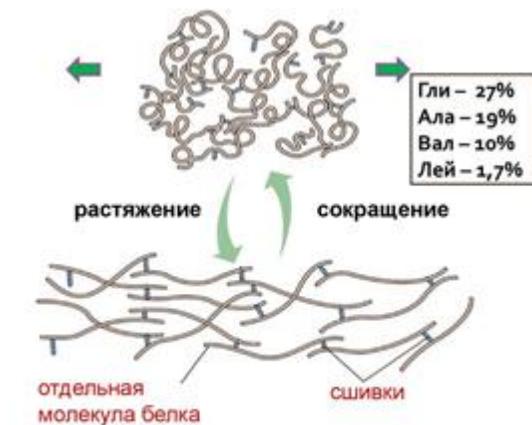


<https://en.wikipedia.org/wiki/Fibroin>

Эластин – пример белка, не обладающего устойчивой вторичной или третичной структурой.

Эластин - белок межклеточного вещества соединительной ткани. Обеспечивает эластичность тканей, особенно подверженных растяжению и сжатию: кровеносные сосуды, легкие, полые органы, связки, кожа. Это свойство обусловлено его характерной надмолекулярной структурой. Полипептидные цепи эластина объединяются в сетчатую структуру с помощью остатков лизина, сшивающих С-концы нескольких нитей. Эти перекресты после гидролиза можно выделить в виде отдельных структур – десмозинов. Они обеспечивают прочность ткани на разрыв. По-

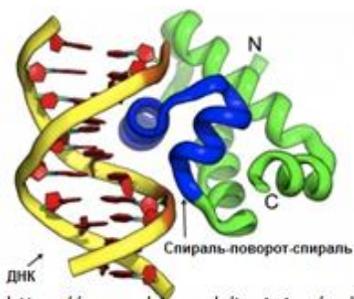
мимо этого, в эластине много гидрофобных аминокислот, которые способствуют сжатию цепей и восстановлению исходной формы ткани.



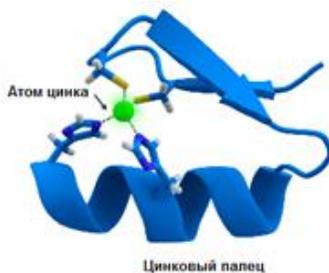
https://doctor2018.jumedicine.com/wp-content/uploads/sites/9/2019/05/BioM08_Fibrous_proteins_2018-2019.pdf

Супервторичная структура белка

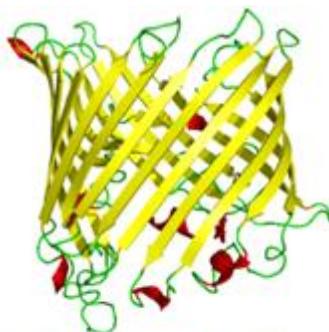
предполагает наличие *структурных мотивов* - устойчивых сочетаний элементов вторичной структуры. Обычно это несколько цепей, спиралей или листов, определенным образом организованных в пространстве, соединенных неупорядоченными фрагментами цепи, петлями, поворотами. Одинаковые структурные мотивы могут быть у самых разных белков, но, как правило, имеющих общую функциональную особенность. Например, для связи с ДНК предназначены мотивы «спираль-поворот-спираль» и «цинковый палец».



<https://www.ebi.ac.uk/training/online/course/biomacromolecular-structures-introduction-ebi-reso/proteins/structural-motifs>

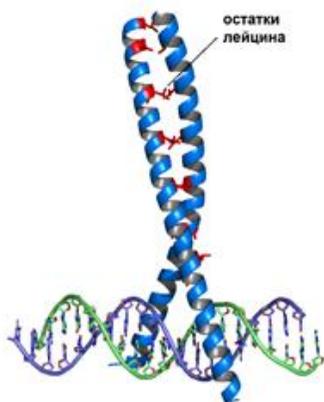


Структурные мотивы могут быть как очень простыми, так и очень сложными. Например, β -шпилька – это всего лишь резкий поворот цепи на 180 градусов с участием трех, максимум четырех аминокислот. В то же время, «бочонки», формирующие трансмембранные поры, образованы причудливым переплетением множества β -листов.



https://en.wikipedia.org/wiki/Beta_barrel

Для соединения нескольких субъединиц или белков в один комплекс используется мотив «лейциновая застежка»:



Лейциновая застежка

https://favpng.com/png_view/zipper-leucine-zipper-structural-motif-dna-binding-domain-protein-png/PLVDfmSf

В спиральях, принадлежащих двум разным белкам (гистонам), с внутренней стороны через виток располагаются остатки лейцина. За счет гидрофобных взаимодействий спирали притягиваются друг к другу, объединяя белки.

Третичная структура.

Это трехмерная структура белка, состоящего из одной полипептидной цепи. Она формируется и стабилизируется за счет ковалентных (дисульфидных мостиков), водородных, ионных и гидрофобных связей между радикалами аминокислот. В ней присутствуют неупорядоченные фрагменты цепи, элементы вторичной структуры, домены.

Третичная структура в значительной степени определяется набором и последовательностью аминокислот в белке. У простых белков она формируется самопроизвольно по ходу биосинтеза, у сложных - с участием специализированных белков – шаперонов и шаперонинов.

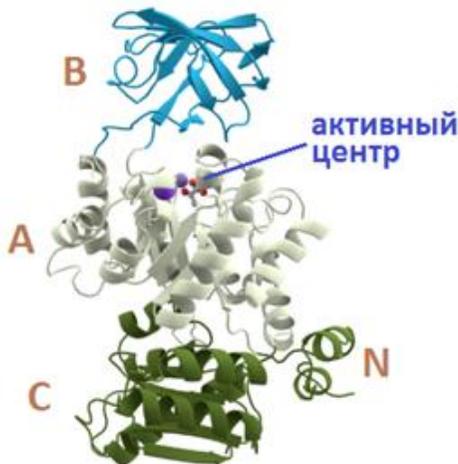
В образовании третичной структуры важнейшую роль играют гидрофобные взаимодействия. Укладка полипептидной цепи происходит таким образом, что в растворимых белках на

периферии располагаются гидрофильные радикалы аминокислот. Белки, функционирующие в гидрофобном окружении, например, мембранные, наоборот «прячут» их внутри глобулы. Третичная структура, как правило, это наиболее устойчивая конфигурация цепи с минимальной свободной энергией.

Домены -

часть белковой молекулы, имеющая собственную глобулярную структуру и выполняющая определенную функцию. Возникают, эволюционируют и могут функционировать самостоятельно. Фолдинг часто происходит независимо от остальной молекулы. Имеют устойчивую структуру, повторяющуюся у многих белков. В ходе эволюции домены выступают в качестве строительных блоков, из которых komponуются новые белки. В эксперименте могут быть изолированы с сохранением функции и использованы в конструировании химерных молекул.

Домены в мультидоменных белках функционируют координированно.



https://en.wikipedia.org/wiki/Pyruvate_kinase

На рисунке – доменная структура пируваткиназы. А – каталитический домен с активным центром, В – нуклеотидсвязывающий домен, С – регуляторный.

Отличие домена от структурного мотива.

Структурные мотивы – относительно небольшие образования, не всегда имеющие собственную функцию. Это прежде всего структурный элемент, часть общей трехмерной структуры белка. Домен – это изолированное структурно-функциональное образование. В его составе могут быть структурные мотивы. Наличие собственной функции – обязательный атрибут доменов.

Четвертичная структура белка

Объединение нескольких полипептидных цепей со сформированной третичной структурой в единый комплекс. Белки, имеющие четвертичную структуру (состоящие из нескольких субъединиц), называются олигомерными. Мономеры, входящий в состав комплекса, называются протомерами или субъединицами. В зависимости от числа субъединиц название комплекса формируется из латинских числительных и окончания «мер» - димер, тетрамер и т.д. Чаще всего в олигомерных белках бывает до восьми субъединиц. Протомеры могут быть одинаковыми и разными. В первом случае употребляют приставку «гомо», во втором – «гетеро». Например, триозофосфатизомераза – гомодимер, гемоглобин - гетеротетрамер.

Белки способны образовывать надмолекулярные комплексы, состоящие из десятков и сотен индивидуальных молекул. К ним относятся протеасомы, сплайсосомы, мультиферментные комплексы, катализирующие два и более последовательных превращений в каком-либо метаболическом пути: пируватдегидрогеназный комплекс, синтетаза жирных кислот, цепь переноса электронов. Одним из крупнейших нуклеопротеиновых комплексов является рибосома.

Объединение субъединиц и белков в комплексы происходит за счет нековалентного белок-белкового взаимодействия.

Денатурация белка – полная или частичная утрата нативной вторичной, и (или) третичной, и (или) четвертичной структуры белка, приведшая к потере биологической активности. При денатурации происходит разрыв слабых связей, стабилизирую-

щих нативную структуру молекулы. Пептидные связи не разрушаются.

Денатурация проявляется прежде всего потерей биологической активности. Может снижаться растворимость белка, происходит агрегация молекул и выпадение осадка вследствие экспонирования гидрофобных групп.

Факторы, вызывающие денатурацию, делятся на механические, физические и химические. Обычное встряхивание раствора может негативно сказаться на активности белка. Из *физических факторов* наибольшее значение имеет температура. Ее повышение вызывает денатурацию вследствие разрыва водородных связей.

Химические факторы.

Кислоты и щелочи, смещая рН среды, вызывают изменение распределения зарядов в молекуле белка. Исчезают одни и появляются другие ионные взаимодействия, приводящие к потере нативной конформации.

Тяжелые металлы могут реагировать со свободными тиоловыми группами либо замещать другие металлы в молекуле белка.

Хаотропные вещества (мочевина, гуанидин хлорид, детергенты) разрушают водородные связи между молекулами воды, уменьшая таким образом гидрофобные взаимодействия, играющие важнейшую роль в стабилизации 3D-структуры белка.

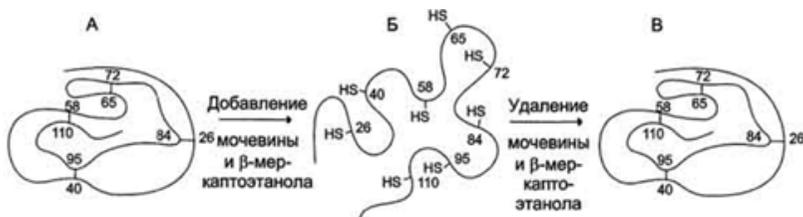
Вещества, разрушающие дисульфидные мостики (β -меркаптоэтанол, дитиотреитол).

Вещества, вызывающие химическую модификацию аминокислотных радикалов.

Ренатурация.

В некоторых случаях, при быстром удалении денатурирующего агента возможно восстановление активной конформа-

ции белка. Чаще всего это возможно в случае небольших белков, например, рибонуклеазы.



Биохимия: учебник для вузов/ под ред. Е.С.Северина - 5-е изд., - 2009. - 768 с

Классификация белков.

По форме молекулы белки делятся на фибриллярные (кератин, коллаген) и глобулярные (большинство клеточных белков). Они же отличаются *по растворимости*. Фибриллярные, в отличие от глобулярных, не растворяются в воде.

По составу белки бывают простыми и сложными. Сложные, помимо аминокислот, содержат небелковую часть. Ранее простые белки назывались протеинами, сложные – протеидами. В настоящее время этот термин не употребляется. Если небелковая часть прочно связана, а во многих случаях это ковалентная связь, она называется *простетической группой*. По характеру простетической группы белки делятся на следующие группы.

Гликопротеины в качестве простетической группы содержат моно- или олигосахариды, присоединенные к амидной группе аспарагина или гидроксигруппе серина, треонина либо гидроксигруппе лизина. Доля углеводного компонента не превышает 40%. Гликопротеинами являются антитела, белки главного комплекса гистосовместимости, некоторые гормоны. Часто гликозилируются белки, предназначенные на экспорт.

Интенсивно гликозилированные белки, в состав которых входят гликозаминогликаны (гетерополисахариды), называются протеогликанами. Доля углеводного компонента в них намного выше, чем у гликопротеинов. Вместе с фибриллярными белками они формируют межклеточное вещество. В разделе, посвящен-

ном углеводам, приведена схема строения агрегата – протеогликана хрящевой ткани.

Липопротеины и протеолипиды. К первым относятся белково-липидные комплексы плазмы крови, предназначенные для транспортировки липидов: хиломикроны, липопротеины высокой, промежуточной, низкой, очень низкой плотности.

Протеолипидами называются белки с ковалентно присоединенными молекулами липидов. Чаще всего это остатки пальмитиновой и миристиновой кислот, которые служат своеобразным якорем, удерживающим белки на поверхности мембран. Однако, роль липидного компонента может быть и другой. Например, гормон грелин приобретает биологическую активность только после октаноилирования.

Нуклеопротеины – это любые комплексы белков и нуклеиновых кислот. Это и вирусы, и рибосомы, и хроматин.

Металлопротеины содержат ионы металлов, которые могут выполнять, как структурную роль, так и непосредственно участвовать в реализации биологической активности. Например, каждая субъединица алкогольдегидрогеназы содержит два атома цинка. Один структурный, второй находится в активном центре. Больше примеров можно найти в разделе, посвященном ферментам.

Фосфопротеины. Содержат фосфатные группы, присоединенные по остаткам серина, треонина и тирозина. Фосфорилирование и дефосфорилирование белков с участием специфических ферментов – один из основных способов регуляции их активности.

В некоторых белках, например в казеине, фосфатные группы играют структурную роль.

Хромопротеины - цветные белки, имеют окрашенную простетическую группу. Гемопротеины содержат гем, например, - гемоглобин, цитохромы. Флавопротеины окрашены в желтый цвет за счет ФАД и ФМН - коферментов витамина В2.

Функции белков.

Каталитическая. Подавляющее большинство химических превращений в клетке осуществляется с участием белков - ферментов.

Сигнальная. Большая часть гормонов имеет белково-пептидную природу.

Рецепторная. Белки-рецепторы опосредуют реакцию клеток, как на сигнальные молекулы (гормоны, нейромедиаторы), так и на физико-химические факторы окружающей среды.

Транспортная. Гемоглобин осуществляет перенос кислорода в крови. Трансферрин – транспортная форма железа. Существует большое число белков – транспортеров, переносящих ионы и молекулы через мембраны клеток.

Структурная. Коллаген, эластин, протеогликаны – белки межклеточного вещества, определяющие физические свойства ткани. Актин, тубулин образуют цитоскелет.

Моторная (двигательная). Актин и миозин реализуют мышечное сокращение. Динеины и кинезины осуществляют транспорт клеточных «грузов» (например, различных везикул) по поверхности микротрубочек, разводят хромосомы в ходе митоза.

Регуляторная. Белковые факторы участвуют в регуляции репликации, транскрипции, трансляции, клеточного цикла, дифференцировки. Осуществляют регуляцию активности других белков за счет белок-белковых взаимодействий (например, G-белки сигнальных каскадов).

Защитная. Белки иммунной системы (иммуноглобулины, комплемент) нейтрализуют чужеродные объекты. Белки системы свертывания крови защищают от потери крови. Кератин – белок волос, шерсти, перьев. Лизоцим – природный антибиотик слюны и слезы.

Резервная. Белки семян растений и яйцеклеток животных.

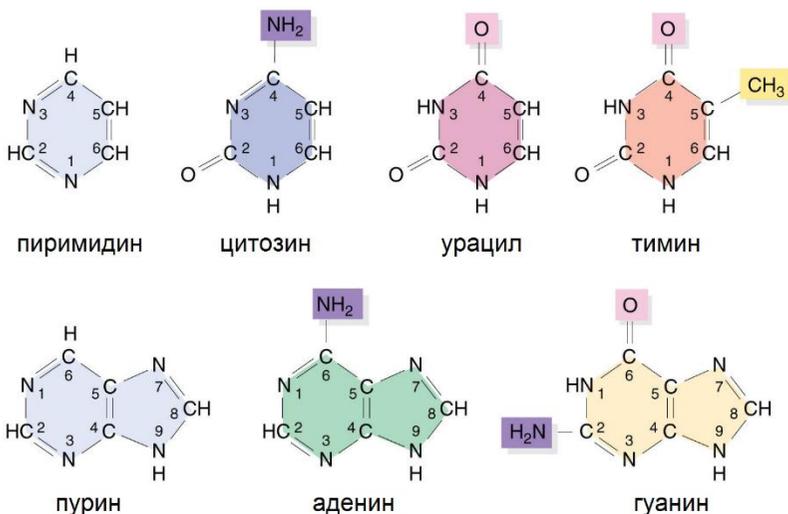
НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ.

Нуклеиновые кислоты – это биополимеры различной длины, построенные из нуклеотидов. Нуклеиновые кислоты бывают двух типов: рибонуклеиновые кислоты (РНК) и дезоксирибонуклеиновые кислоты (ДНК). Соответственно, нуклеотиды, входящие в их состав, называют рибонуклеотидами и дезоксирибонуклеотидами.

Нуклеотиды

Нуклеотид состоит из азотистого основания, пентозы и минимум одной фосфатной группы.

Азотистые основания делятся на пуриновые (производные пурина) – аденин, гуанин - и пиримидиновые (производные пиримидина) – урацил, тимин, цитозин.



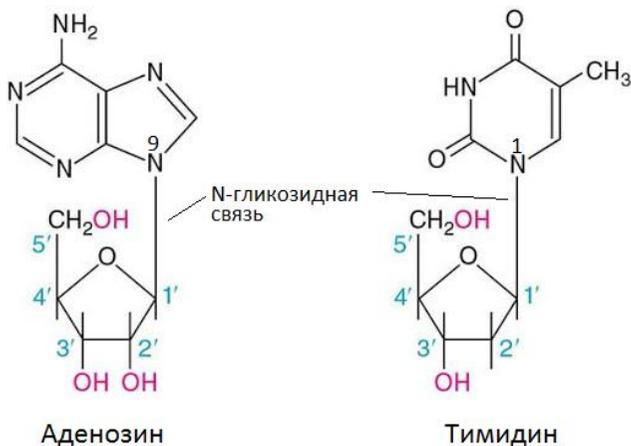
https://www.mun.ca/biology/scarr/iGen3_02-08.html

В состав РНК входят цитозин, урацил, аденин и гуанин. В ДНК вместо урацила - тимин.

Присоединение пентозы к азотистому основанию дает новый класс соединений – нуклеозиды. В состав рибонуклеозидов

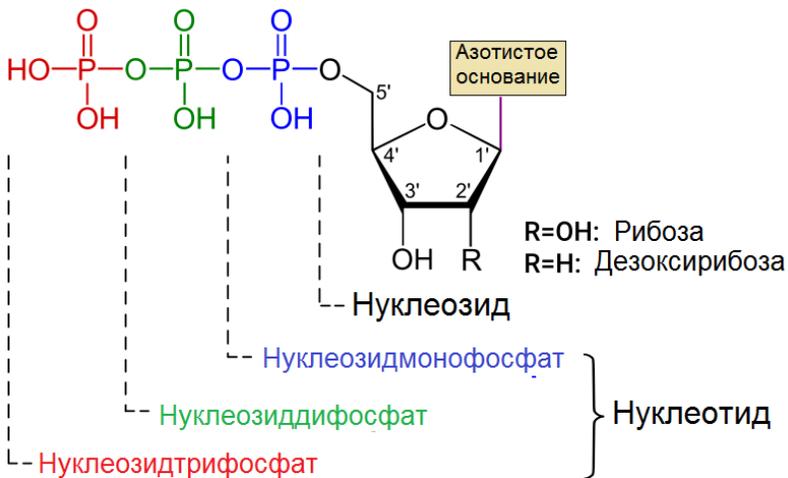
входит β -D-рибоза, дезоксирибонуклеозидов – β -D-2'-дезоксирибоза. Пентозы присоединяются N-гликозидной связью к азоту в первом положении пиримидинового кольца и девятому – пуринового. Со стороны пентоз в образовании связи участвует первый атом углерода.

Атомы углерода в пентозах нумеруются цифрами со штрихом, чтобы не путать с нумерацией атомов в азотистых основаниях. При этом у пентоз цифры размещаются вне кольца.



К рибонуклеозидам относятся аденозин, гуанозин, уридин, цитидин; к дезоксирибонуклеозидам – дезоксиаденозин, дезоксигуанозин, дезоксицитидин и тимидин. В случае тимидина приставка «дезокси-» может употребляться, но часто опускается, так как заведомо понятно, что тимин входит в состав ДНК с дезоксирибозой.

Присоединение фосфатной группы во втором, третьем или пятом положении рибозы превращает нуклеозид в нуклеотид. Название формируется путем добавления к наименованию нуклеозида числа фосфатных групп с указанием их месторасположения: аденозин-3'-монофосфат, уридин-5'-трифосфат и так далее. Если в названии цифра не указывается, по умолчанию предполагается, что речь идет о нуклеозид-5'-фосфатах.



<https://www.differencebetween.com/difference-between-nucleotide-and-vs-nucleoside/>

Для обозначения нуклеотидов используются одно- и трехбуквенные сокращения. Кратко номенклатура нуклеотидов обобщена в таблице.

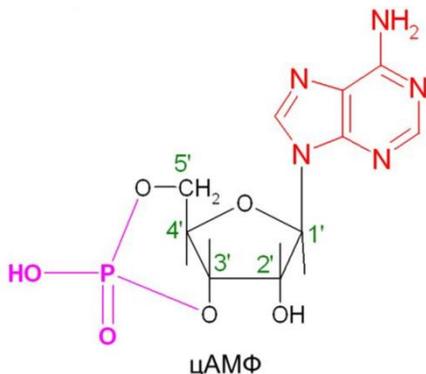
Азотистое основание	Нуклеозид	Нуклеотид	Трёхбуквенное обозначение	Однобуквенный код
Аденин	Аденозин	Аденозинмонофосфат	АМФ	А
Гуанин	Гуанозин	Гуанозинмонофосфат	ГМФ	Г
Цитозин	Цитидин	Цитидинмонофосфат	ЦМФ	С
Урацил	Уридин	Уридинмонофосфат	УМФ	U
Тимин	Тими-	Тимидинмоно-	ТМФ	Т

	дин	фосфат		
--	-----	--------	--	--

В случае дезоксирибонуклеотидов впереди трехбуквенного сокращения добавляется буква «д» - дАМФ, дГДФ, дЦТФ. Однбуквенные сокращения используются для обозначения нуклеотидных остатков в нуклеиновых кислотах и одинаковы для ДНК и РНК.

Циклические нуклеотиды

Это нуклеозидмонофосфаты аденина и гуанина, в которых фосфатная группа замкнута между третьим и пятым атомами углерода рибозы.

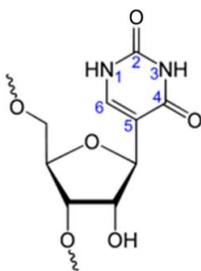


Оба нуклеотида – циклический АМФ (цАМФ) и циклический ГМФ (цГМФ) являются вторичными мессенджерами и опосредуют действие гормонов и нейромедиаторов на клеточный метаболизм. Подробнее о них пойдет речь в разделе «Биохимия гормонов».

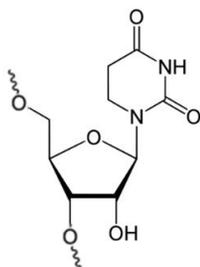
Минорные нуклеотиды.

Помимо стандартных нуклеотидов в составе нуклеиновых кислот присутствует десятки минорных. Они образуются в результате модификации азотистых оснований уже после синтеза полинуклеотидов.

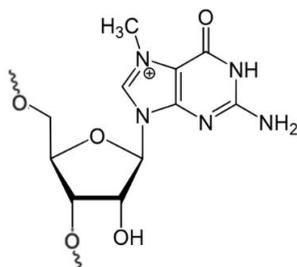
В ДНК чаще всего встречается 5-метилцитозин, в РНК – псевдоуридин, дигидроуридин, инозин, 7-метилгуанозин.



псевдоуридин



дигидроуридин



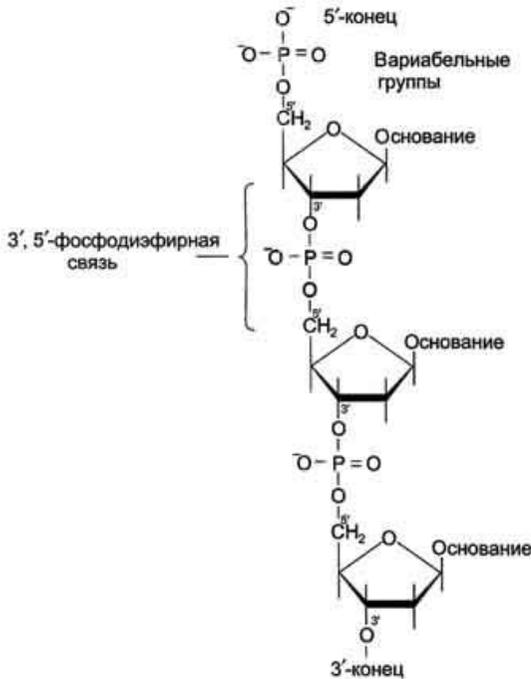
7-метилгуанозин

Функции нуклеотидов.

- Нуклеотиды – мономеры, из которых построены нуклеиновые кислоты.
- Помимо этого, в форме нуклеотидов в клетке запасается и расходуется энергия. Универсальным аккумулятором является АТФ, но и остальные нуклеозидтрифосфаты выступают в роли макроэргов. УТФ используется в синтезе гликогена, ЦТФ — в синтезе фосфолипидов, ГТФ расходуется в ходе биосинтеза белка и при передаче гормонального сигнала (G-белок).
- Нуклеотиды входят в состав ряда важнейших коферментов: НАД, НАДФ, ФАД, КоА, фосфоаденозинфосфосульфата (ФАФС), S-аденозилметионина. Кроме того, они сами могут быть коферментами.
- Циклические нуклеотиды являются посредниками в реализации эффектов гормонов и нейромедиаторов.
- Во многих метаболических путях нуклеотиды выступают в роли аллостерических регуляторов.

Рибонуклеиновые кислоты (РНК).

РНК – одноцепочечный полинуклеотид. Нуклеотиды соединены между собой фосфодиэфирными связями. Фосфатная группа образует мостик между соседними остатками рибозы. На одном конце молекулы свободная ОН-группа (3'-конец), на другом – фосфатная в пятом положении рибозы (5'-конец).

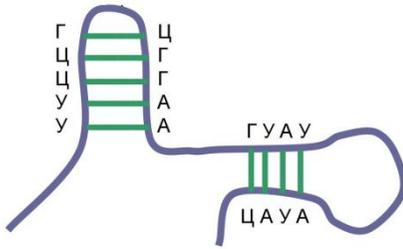


РНК участвует в синтезе белка, регуляции экспрессии генов. У РНК-содержащих вирусов она осуществляет хранение генетической информации.

Первичная структура РНК – это последовательность нуклеотидов. Она закодирована в ДНК. После этапа копирования происходит созревание РНК, в ходе которого она существенно изменяется. Модифицируются нуклеотиды, происходит вырезание отдельных фрагментов и добавление других.

Вторичная структура.

Комплементарные нуклеотиды в цепи РНК, находящиеся друг от друга на расстоянии, способны образовывать между собой водородные связи. При этом молекула приобретает двухцепочечные участки (шпильки) и петли. Эти участки могут спирализоваться.



Третичная структура РНК

Молекулы РНК способны сворачиваться, образуя стабилизированную трехмерную структуру. Ведущую роль в ее образовании играют водородные связи и ионы двухвалентных металлов, в частности магния, образующие «мостики» между фосфатными группами. На рисунке – третичная структура транспортной РНК.



https://www.researchgate.net/figure/tRNA-structure-a-tRNAs-are-represented-as-cloverleaf-structures-in-two-dimensions-b_fig1_335155516

Основные типы РНК

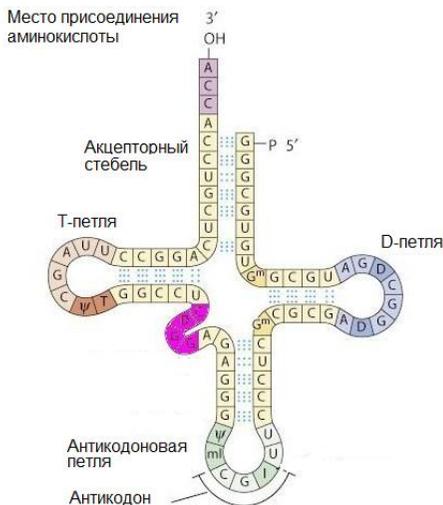
Все РНК клетки делятся на две группы: кодирующие и не-кодирующие, причем первые – мРНК - составляют всего 3%. К некодирующим относятся транспортные, рибосомные и малые РНК. Последний термин выходит из употребления, так как обнаружены некодирующие РНК очень большой длины.

Транспортные РНК (тРНК)

Это небольшие молекулы, состоящие из 73-93 нуклеотидов. Их функция не ограничивается доставкой аминокислот к месту синтеза белка. Они являются физическими посредниками между мРНК и полипептидной цепью, обеспечивая строгое соответствие последовательности нуклеотидов и аминокислот.

Количество тРНК в клетке больше числа аминокислот и колеблется в диапазоне 31-41 у разных видов.

Плоское изображение вторичной структуры тРНК напоминает клеверный лист. В нем четыре петли. Одна из них – антикодонная – содержит триплет нуклеотидов (антикодон), комплементарный триплету мРНК, кодирующему соответствующую аминокислоту (кодону). Важнейшей частью тРНК является акцепторный стебель – двухцепочечный участок, на 3'-конце которого имеется одинаковая для всех тРНК нуклеотидная последовательность – ЦЦА. Это место присоединения аминокислоты.



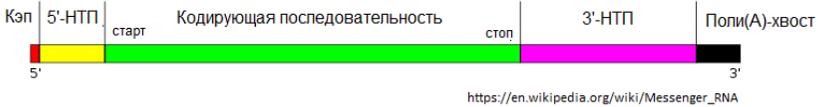
<https://www.quora.com/What-is-the-structure-and-function-of-tRNA>

В тРНК много модифицированных нуклеотидов, в составе которых: псевдоуридин, дигидроуридин, инозин, метилированные нуклеозиды.

Матричные РНК (мРНК, информационные РНК, иРНК).

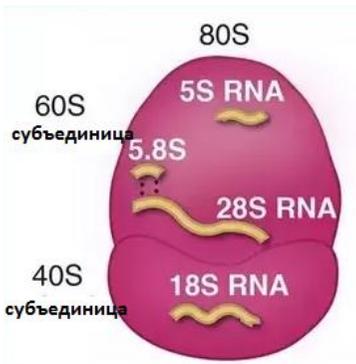
Содержат информацию о последовательности аминокислот в одном полипептиде. Синтезируются в ядре в виде предшественников. Как и кодируемые ими полипептиды имеют разную длину, поэтому совокупность пре-мРНК в ядре называется *гетерогенной ядерной РНК*. Подвергаются многочисленным посттранскрипционным модификациям, после которых превращаются в готовые для трансляции матрицы и экспортируются в цитоплазму.

мРНК на 5'-конце имеет *кэп* (сар, англ. –шапочка) - остаток 7-метилгуанозина, присоединенный 5'-5'-трифосфатным мостиком к основной цепи. На 3'-конце – *поли(А)* – *хвост* - последовательность из примерно 250 адениловых нуклеотидов. Кодирующая последовательность содержит информацию, которую считывает рибосома. С двух сторон от нее располагаются нетранслируемые последовательности (НТП), которые предназначены для регуляции считывания мРНК.



Рибосомальные РНК (рРНК)

Составляют примерно 80% всей РНК клетки. Совместно с белками формируют рибосому. У эукариот пять разновидностей рРНК: 5S, 5,8S, 28S и 18S (S - коэффициент седиментации). Распределение их по субъединицам показано на рисунке.



Последовательность нуклеотидов в рРНК разных видов варьирует, однако третичная структура аналогична и позволяет связываться с примерно 70 белками и формировать субъединицы рибосомы.

18S РНК малой субъединицы является рибозимом. Совместно с белками она формирует пептидилтрансферазный центр и катализирует образование пептидной связи.

Малые РНК.

Это большая группа (сотни тысяч, а возможно и миллионы) некодирующих РНК как правило с длиной цепи менее 200 нуклеотидов. Они участвуют в репликации, сплайсинге, регуляции экспрессии генов на всех его этапах. Эти РНК являются объектом пристального изучения в настоящее время. Функция большинства из них неизвестна. Ниже приведены наиболее важные представители.

Малые ядерные и малые ядрышковые РНК участвуют в сплайсинге, регуляции транскрипции и функционировании теломер.

Микро-РНК (18-25 нуклеотидов) – регулируют трансляцию. Они комплементарно связываются с матричной РНК в нетранслируемом участке и нарушают считывание.

Малые интерферирующие РНК (20-25 нуклеотидов) – связываются с мРНК и стимулируют ее расщепление.

Антисмысловые РНК. Это транскрипт гена, синтезированный с другой цепи ДНК. Он комплементарен основному и регулирует его образование. Причем, может как увеличивать, так и уменьшать считывание. Длина их может превышать 200 нуклеотидов.

Антисмысловые РНК нашли широкое применение в лабораторной методике под названием «нокаут гена». Присоединение комплементарного полинуклеотида к ДНК или считываемой с нее мРНК позволяет заблокировать экспрессию определенного гена, то есть «выключить» его.

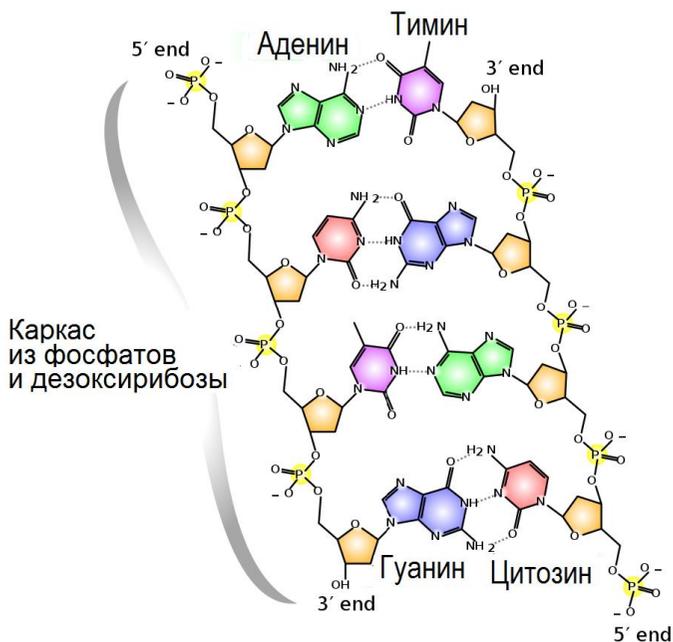
Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) -

носитель генетической информации. Как правило линейная двухцепочечная, но бывает и кольцевой (например, в митохондриях и у прокариот), и одноцепочечной (например, у вирусов).

Двухцепочечная структура обеспечивает дублирование информации, что минимизирует вероятность ее потери. Построена из дезоксирибонуклеотидов. У эукариот находится преимущественно в ядре в виде комплекса с белками (хроматина). Присутствует в небольших количествах в митохондриях и хлоропластах. Более 98% ДНК является некодирующей, то есть не несет информации о строении полипептидов или РНК.

Первичная структура ДНК - порядок чередования дезоксирибонуклеозидмонофосфатов в полинуклеотидной цепи. Принцип построения одной цепи такой же, как и у РНК. Нуклеотиды

соединяются за счет фосфатного мостика, соединяющего 3'- и 5'-атомы соседних дезоксирибоз.



https://en.wikipedia.org/wiki/Nucleobase#/media/File:DNA_chemical_structure.svg

Вторичная структура ДНК.

Представлена в виде спирали, образованной двумя антипараллельными (направленными в разные стороны) полинуклеотидными цепями. Модель предложена Ф. Криком и Дж. Уотсоном в 1953 году.

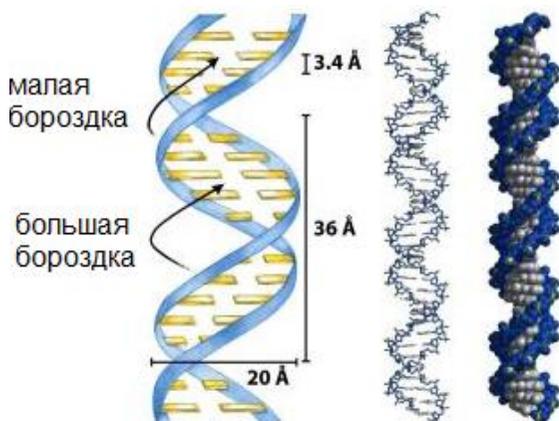
Цепи ДНК связаны водородными связями, которые формируются между азотистыми основаниями. Две связи между аденином и тимином и три между гуанином и цитозином. Пары нуклеотидов, образующие водородные связи, называются комплементарными.

Азотистые основания образуют стопку с небольшим смещением, которая стабилизирует молекулу за счет гидрофобных (стэкинг) взаимодействий.

При повышении температуры, сдвиге рН водородные связи рвутся и цепи расходятся. Этот процесс называется плавлением ДНК. После удаления возмущающего фактора структура восстанавливается.

Этот феномен лежит в основе метода *гибридизации* нуклеиновых кислот. Одноцепочечные ДНК (ДНК + РНК или РНК) помещаются в одну пробирку. Объединение происходит на тех участках, где цепи комплементарны. Это позволяет определить степень гомологичности исходных молекул и выделить двухцепочечные фрагменты.

В спирали две бороздки – малая и большая. Последняя более широкая и глубокая дает больший доступ к азотистым основаниям. В ней часто располагаются белки, распознающие специфические последовательности нуклеотидов.



<https://www.studyblue.com/notes/note/n/9-structure-of-dna-and-rna/deck/9927978>

Участки ДНК, с которых считывается мРНК, называются смысловыми. Те же участки параллельной цепи – антисмысловыми. В одной цепи могут чередоваться те и другие. На анти-

смысловых участках также может образовываться РНК (антисмысловые). Функции их малоизучены, предполагается, что они играют регуляторную роль.

Третичная структура.

Это дальнейшее скручивание спирали ДНК совместно с ядерными белками.

В клетках человека суммарная длина молекул ДНК составляет около двух метров. В ходе деления клетки происходит процесс удвоения ДНК и распределения ее между материнской и дочерней клетками. Это возможно осуществить только в результате процесса под названием *компактизация ДНК*.

ДНК в ядре связана с белками, и этот нуклеопротеиновый комплекс называется *хроматином*. ДНК в нем всегда находится в той или иной степени компактизации. Основу составляют нуклеопротеиновые частицы под названием *нуклеосомы*. В них участок ДНК «накручен» на белковый кор (сердцевину), состоящую из двойного набора четырех гистонов: Н2А, Н2В, Н3 и Н4. Пятый линкерный гистон – Н1 фиксирует ДНК на входе и выходе из нуклеосомы.



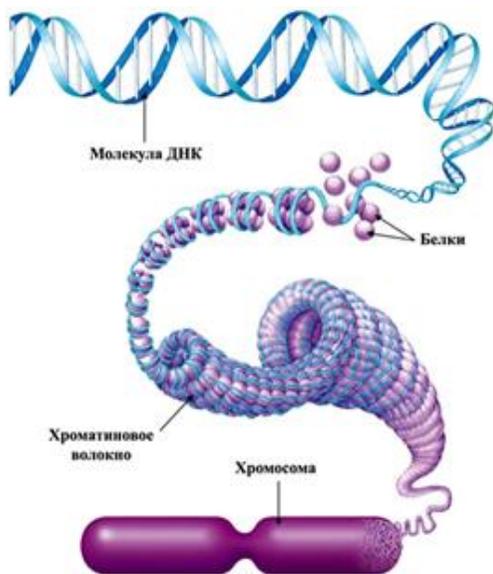
<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nucleosome.jpg>

ДНК в таком состоянии напоминает нитку с бусинами. На ней активно идут процессы транскрипции. Под микроскопом

такой хроматин видится менее плотным и называется эу- или интерхроматином. Менее активный участки подвергаются более плотной упаковке - образуются фибриллы диаметром 30 нм. Визуально эти участки более плотные и называются гетерохроматином.

Помимо гистонов в формировании хроматина участвует большое число негистоновых белков. Это ферменты и регуляторные белки, участвующие в различных генетических процессах.

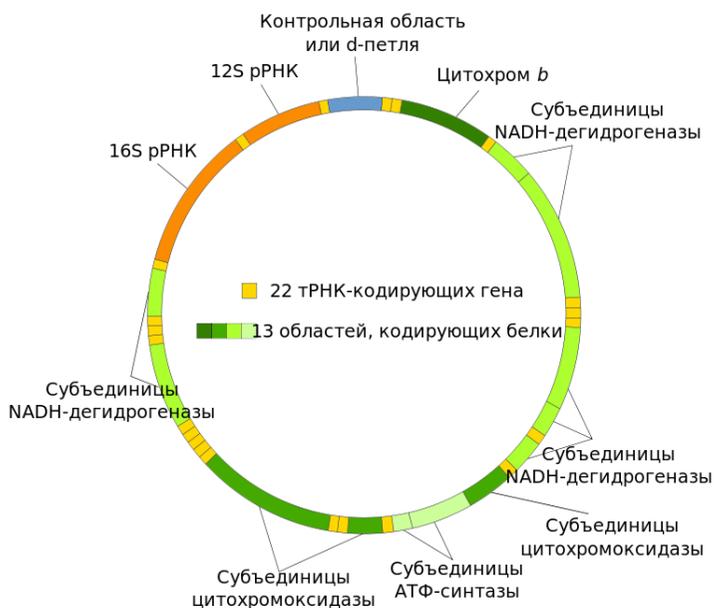
Перед делением клетки ДНК подвергается дальнейшей компактизации. Фибриллы 30 нм образуют гигантские петли, которые фиксируются белками каркаса (скэффолда). Формируются хромонемы диаметром 100-300 нм. Дальнейшее уплотнение приводит к образованию хроматид – половинок хромосом, соединенных центромерами.



<https://forexdengi.com/threads/126550-что-такое-теломеры>

Генетическая система митохондрий

ДНК митохондрий человека имеет кольцевую форму, содержит 16569 пар оснований и кодирует 13 белков. Митохондрии располагают собственной системой экспрессии генов, которая напоминает бактериальную. Репликация осуществляется особой формой ДНК-полимеразы, рибосомы имеют меньший размер, имеются особенности генетического кода, систем репарации и так далее. Согласно эндосимбиотической теории эти органеллы появились в цитоплазме в результате захвата бактерии далекими предками эукариот. Большинство генов со временем мигрировало в ядро клетки. В митохондриях остался синтез компонентов цепи переноса электронов, АТФ-синтазы, рибосомных и транспортных РНК.



<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=5293534>

ДНК митохондрий наследуется по женской линии. Митохондрии сперматозоидов в своем большинстве не проникают в яйцеклетку, а те, которым это удается, метятся убиквитином и уничтожаются. Получается, что митохондриальные гены совре-

менных женщин произошли от общей прародительницы. В литературе ее называют митохондриальной Евой или Счастливой Матерью (Lucky mother). По расчетам ученых она жила около 150 000 лет назад. У мужчин аналогичного предка можно вычислить по Y-хромосоме. Y-хромосомный Адам жил примерно в тот же период.

Мутации в митохондриальной ДНК являются причиной ряда заболеваний у человека. Разработан способ коррекции генома, получивший название «Ребенок от трех родителей» (three-parent baby). В одном из вариантов его исполнения ядро яйцеклетки матери пересаживается в цитоплазму яйцеклетки женщины - донора и оплодотворяется спермой отца. Дефектная митохондриальная ДНК матери не попадает ребенку. Метод реализован на практике, но его применение сдерживают этические нормы.

ВИТАМИНЫ -

это низкомолекулярные органические соединения, поступающие с пищей и обеспечивающие нормальное протекание биохимических и физиологических процессов.

Название было предложено Казимиром Функом для экстракта из рисовых отрубей, излечивающего бери-бери. Химический анализ показал, что активное вещество содержит аминогруппу, поэтому исследователь предложил назвать его «vitamine» - витамином, от слов «vita» (лат. - жизнь) и «amine» (англ. – амин). Впоследствии оказалось, что другие витамины не являются аминами, и встал вопрос о переименовании всей группы. Поскольку название уже прижилось и стало общеупотребительным, ограничились удалением с конца слова «vitamine» буквы «е».

Во многих случаях витаминной активностью обладает не одно, а группа подобных по строению веществ, называемых *витамерами*. Так, в группу витамина Е входит четыре токоферола и четыре токотриенола, а у витамина А три витамера: ретинол, ретиналь и ретиноевая кислота.

Механизм действия витаминов.

В большинстве случаев витамины оказывают действие на обмен веществ в составе белков. Это могут быть рецепторы, регулирующие экспрессию генов или другие клеточные процессы, либо ферменты. В состав ферментов витамин может входить в неизменном виде, либо в форме кофермента.

Критерии отнесения веществ к витаминам

достаточно размыты. В пище есть и другие незаменимые вещества, которые нужны организму. Например, минеральные вещества, незаменимые аминокислоты и полиненасыщенные жирные кислоты. Есть целый ряд веществ, синтез которых не всегда покрывает потребности организма, например, образование карнитина в детском возрасте. Но они к витаминам не относятся. В то же время, витамин Д, который может синтезироваться в организме взрослого человека в достаточном количестве, а по механизму действия скорее является гормоном, в группу включен.

Наиболее общими критериями являются следующие:

- эндогенный синтез отсутствует или недостаточен, что обуславливает необходимость поступления с пищей;
- при дефиците развивается болезненное состояние;
- вещество не окисляется в организме с образованием энергии и не используется для построения клеточных структур.

Вещество может быть витамином для одних организмов и образовываться в достаточном количестве у других. Например, аскорбиновую кислоту не может синтезировать лишь человек, некоторые приматы и грызуны.

В настоящее время для человека витаминами признаны 13 веществ – четыре жирорастворимых (А, Д, Е, К) и девять водорастворимых (В1, В2, В3, В5, В6, В7, В9, В12, С).

Отличия водо- и жирорастворимых витаминов.

Помимо растворимости эти группы имеют другие более важные отличия.

1. Жирорастворимые витамины могут накапливаться в организме, например, А и Д. Избыток водорастворимых, как правило, быстро выводится. Исключение – витамин В12, который может депонироваться в печени. Соответственно, возникновение дефицита витамина более характерно для водорастворимых витаминов, и поступать в организм они должны с большей регулярностью.

2. Для жирорастворимых витаминов, в частности для ретиноевой кислоты и витамина Д, характерен гормоноподобный механизм действия, реализующийся через внутриклеточные рецепторы. Водорастворимые – как правило преобразуются в коферменты.

Провитамины.

Это предшественники витаминов. Они могут поступать с пищей, как β-каротин – провитамин А, и преобразовываться в витамин в организме или иметь эндогенное происхождение, как, например, предшественник витамина Д – 7-дегидрохолестерин.

Антивитамины.

Это вещества, подавляющие биологическую активность витаминов. По механизму действия их можно разделить на две группы. К первой относятся вещества, которые могут разрушать витамин или прочно связывать его. Так, в сырой рыбе присутствует фермент тиаминидаза, разрушающий витамин В1, а во многих высших растениях – аскорбатоксидаза, окисляющая витамин С. В этой же группе, но с другим механизмом действия, – белок яйца авидин. Он образует с биотином комплекс с константой диссоциации порядка 10^{-15} М. Это одна из самых прочных нековалентных связей в живой природе. Поэтому длительное употребление сырых яиц может вызвать витаминную недостаточность.

Вторая группа представляет собой структурные аналоги витаминов. Так, замена аминогруппы в молекуле тиамина на гид-

роксильную превращает его в окситиамин – антивитамин, конкурирующий с витамином на этапах всасывания и биотрансформации. Он превращается в антикофермент, соединяется с апо-белками, образуя ферменты, не способные катализировать реакции. В результате, на фоне достаточной обеспеченности организма тиамином, наблюдается быстрое развитие симптомов его недостаточности.

Антивитамины второго типа широко используются в медицине в качестве противомикробных средств, для лечения опухолевых, сердечно-сосудистых заболеваний.

Витаминоподобные вещества.

В перечне буквенных названий витаминов имеются пробелы. Они обусловлены тем, что ряд веществ был исключен. В отношении некоторых из них применяется термин «витаминоподобные вещества, подчеркивающий их важную роль в обмене веществ. Среди них: холин (ранее витамин В4), инозит (В8), оротовая кислота (В13), пангамовая кислота (В15), рутин (Р), карнитин (Вт), полиненасыщенные жирные кислоты (F), липоевая кислота (N), S-метилметионин (U) и пр.

Обеспеченность организма витаминами.

Гиповитаминоз – болезненное состояние, обусловленное недостаточным поступлением или сниженной биологической активностью витамина. При избыточном поступлении витамина возможно состояние *гипервитаминоза*. Термин «авитаминоз» используется для обозначения глубокого гиповитаминоза, поскольку полное отсутствие витамина в организме не совместимо с жизнью и теоретически не достижимо.

Причины гиповитаминозов.

1. Недостаточное поступление с пищей:
 - несбалансированный рацион или экзотические диеты;
 - неправильное приготовление пищи и хранение продуктов питания;

- уменьшение объема потребляемой пищи (например, при анорексии).

2. Нарушение всасывания витаминов:

- заболевания желудочно-кишечного тракта;

- нарушение переваривания липидов;

- отсутствие достаточного количества липидов в рационе (для жирорастворимых витаминов).

3. Увеличение потребности организма:

- беременность и лактация;

- восстановление после заболеваний;

- тяжелый физический или умственный труд;

- вредные условия работы;

- неблагоприятные климатические условия.

4. Нарушение биосинтеза витаминов микрофлорой желудочно-кишечного тракта:

- дисбактериоз вследствие инфекционного заболевания либо антибиотикотерапии.

Причины гипервитаминозов.

Как правило, причина в бесконтрольном чрезмерном употреблении витаминных препаратов. Передозировка из-за приема пищи, богатой каким-либо витамином, относится к разряду казуистики. Например, отравление витамином А возможно при употреблении в пищу печени белого медведя или хаски.

Чувствительность витаминов к факторам окружающей среды.

В- высокая, С- средняя, Н – низкая.

Вита-мин	К све-ту	К окис-лению	К вос-станов-лению	К на-грева-нию	К ио-нам ме-таллов	К влаж-ности	Оптимальная рН
К₃	С	Н	С	С	В	С	Нейтральная, слабощелочная
В₁	Н	С	В	В	С	С	Слабокислая

B₂	В	Н	С		С	Н	Нейтральная
B₃				Н		Н	Нейтральная
B₅				С		Н	Нейтральная
B₆	Н			Н	С	Н	Кислая
B₉	С	С	С	Н	Н	Н	Нейтральная
B₁₂	С		С	Н	Н		Нейтральная
С	Н	В	Н	В	В	С	Нейтральная, кислая
D₃	В	В		С	С	С	Нейтральная, слабощелочная
Е	Н	Н		С	Н	Н	Нейтральная

Витаминация продуктов, витамины в биодобавках.

Имеются научно установленные нормы и верхние пределы поступления витаминов в организм человека. В соответствии с ними регламентируется состав лекарств и биологически активных добавок к пище (БАД). Препараты с терапевтическими дозами регистрируются как лекарственные средства, профилактические дозы разрешено включать в БАД, состав которых контролируется менее строго. Помимо этого, в разных странах разрабатываются и осуществляются программы витаминизации продуктов питания с целью предотвращения наиболее типичных для данной популяции гиповитаминозов.

На протяжении многих лет изучения витаминов неоднократно предпринимались попытки использовать их у здоровых людей для предотвращения различных заболеваний. Как правило они оказывались неудачными даже в тех случаях, когда прослеживалась патогенетическая связь патологии с дефицитом конкретного витамина. Большие дозы аскорбиновой кислоты не снижают риск заболеть простудными заболеваниями, дополнительный прием витамина Е не только не защищает от рака и сердечно-сосудистых заболеваний, но даже увеличивает смертность у здоровых людей, а добавки с β-каротином опасны для курильщиков. Большое метаисследование 2018 года продемонстриро-

вало, что витамин Д и кальций не снижают риска переломов у пожилых людей.

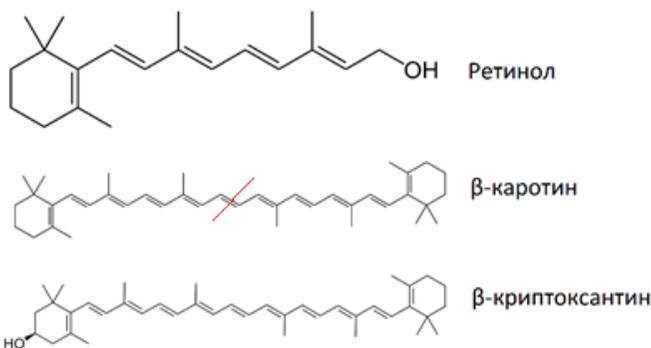
Оптимальным способом обеспечения организма витаминами является сбалансированное питание.

Витамин А

Объединяет группу соединений: ретинол, ретиналь и ретиновую кислоту. В основе структуры - β -иононовое кольцо, к которому присоединены две изопреновые группировки с гидроксильной, карбонильной или карбоксильной группой на конце. Все двойные связи за исключением 11-цис-ретиналя, участвующего в фотохимическом акте зрения, находятся в транс конфигурации.

Каротиноиды, в частности, α -, β - и γ -каротины являются провитаминами. У α - и γ -каротинов – одно β -иононовое кольцо и из них получается одна молекула ретинола. При расщеплении β -каротина 15-15'-монооксигеназой образуются две молекулы витамина. Еще один каротиноид – β -криптоксантин является провитамином только для человека.

У плотоядных животных низка или отсутствует активность 15-15'-монооксигеназы и каротиноиды не являются для них провитаминами.



В пище витамин А присутствует главным образом в виде ретинол пальмитата. В желудочно-кишечном тракте витамин гидролизуется и всасывается в тонком кишечнике. Для усвоения необходимо, чтобы пища содержала достаточное количество липидов, поскольку все этапы поступления в организм и распределения у них происходят совместно: всасывание в виде мицелл, ресинтез ретинол пальмитата в энтероцитах, выведение в кровь в составе хиломикронов.

В крови витамин циркулирует в комплексе с двумя белками: ретинолсвязывающим белком и транстиретином. Последний является одновременно переносчиком тироксина, откуда и происходит его название (*transports thyroxine and retinol*).

Различные формы витамина могут взаимопревращаться с участием ретинол- и ретиналь дегидрогеназ. При этом окисление спиртовой формы в альдегидную обратимо, а образование ретиновой кислоты – нет.

Биохимические функции.

Антиоксидантная. Благодаря наличию сопряженных двойных связей, все формы витамина А могут взаимодействовать со свободными радикалами, инактивируя их.

Участие в фотохимическом акте зрения.

В сетчатке глаза имеется два типа светочувствительных клеток – палочки и колбочки. Первые отвечают за черно-белое зрение, вторые – за цветное. Зрительный пигмент палочек называется родопсином. Он состоит из белковой части – опсина и не белковой - 11-цис ретиналя. Аналогично устроен йодопсин – пигмент колбочек. Оба белка относятся к А-классу рецепторов, сопряженных с G-белками (GPCR).

Поглощение фотона приводит к изомеризации 11-цис ретиналя в составе родопсина в «полностью-транс-ретиналь» (all trans retinal). Это индуцирует конформационные перестройки в белковой части молекулы и активирует связанный с ней G-белок – трансдуцин. Последний с участием гуанилатциклазного сиг-

нального каскада вызывает гиперполяризацию мембраны клетки и усиливает импульсацию в зрительный центр головного мозга.

Транс ретиналь отсоединяется от опсина и превращается в 11-цис-ретинол по следующей схеме:

Транс-ретиналь → транс-ретинол → цис-ретинол → 11-цис-ретиналь;

Первое превращение происходит в сетчатке, остальные в печени. 11-цис-ретиналь образует родопсин только со вновь синтезированным опсином.

Генные эффекты.

Ретиновая кислота действует на генном уровне. В комплексе со специфическими рецепторами (RAR и RAX) она связывается с чувствительными элементами ДНК и регулирует транскрипцию ряда генов. Среди них гомеозисные гены, контролирующие процессы роста и дифференцировки клеток, программы формирования органов и тканей.

Гиповитаминоз.

Может быть обусловлен дефицитом витамина в пище, а также, нарушением переваривания липидов. Неблагоприятным фактором является дефицит цинка, поскольку он является кофактором ретинолдегидрогеназ. Нарушение обмена ретинола при действии этанола наблюдается у лиц, страдающих хроническим алкоголизмом, и является одной из причин алкогольного синдрома плода.

Первым проявлением гиповитаминоза А является нарушение темновой адаптации - «куриная слепота».

Генными эффектами ретиновой кислоты объясняется нарушение роста и дифференцировки эпителиальных тканей: кожи, слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, дыхательных путей, мочеполовой системы. Наиболее показательны проявления гиповитаминоза в слезных каналах. Ороговение и

слущивание эпителия (гиперкератоз) приводит к их закупорке и нарушению поступления слезы в глаз. Сухость роговицы (ксерофтальмия) приводит к ее инфицированию, размягчению (кератомалация), образованию бельма.

Ранее считалось, что нарушения сперматогенеза и развития эмбриона при гиповитаминозе А обусловлено дефицитом ретинола, поскольку введение ретиноевой кислоты недостаточно эффективно их устраняло. Однако, впоследствии оказалось, что ретинол просто лучше проникает через гематотестикулярный и гематоплацентарный барьер, а ретиноевая кислота образуется и действует *in situ*.

Источники, суточная потребность.

Больше всего витамина в печени рыб, птиц и млекопитающих. В печени белого медведя, акул и некоторых морских животных содержание настолько велико, что употребление ее в пищу может вызвать острое отравление. Каротиноидов много в моркови, тыкве, перце, других окрашенных овощах и фруктах.

Каротиноиды усваиваются хуже ретинола, главным образом из-за плохой растворимости. Так, витаминная активность β -каротина в два раза ниже активности ретинола, если он растворен в масле, и в 12 раз, если он находится в составе пищи.

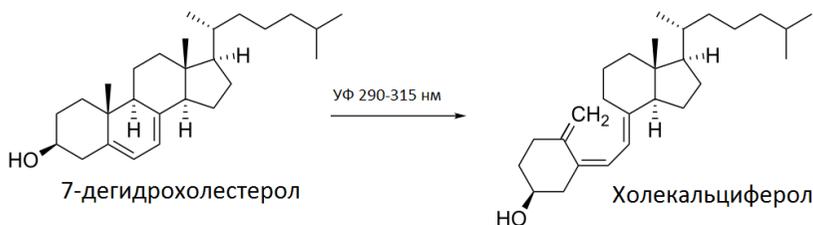
Суточная потребность в ретиноле - 700-900 мкг в сутки.

Введение больших доз витамина вызывает острое и хроническое отравление (гипервитаминоз). У беременных возможен тератогенный эффект. Поступление каротиноидов, даже в больших количествах, такого действия не оказывает.

Витамин D (кальциферол).

Группа секостероидов (стероидов с разорванным кольцом), наиболее важными из которых являются холекальциферол (витамин D₃) и эргокальциферол (витамин D₂).

Оба витамина могут поступать с пищей и всасываются совместно с липидами. Холекальциферол в эпидермисе кожи синтезируется из провитамина - 7-дегидрохолестерина. Процесс происходит спонтанно под действием ультрафиолета с длиной волны 290-315 нм. При интенсивной инсоляции витамин подвергается фотолизу с образованием неактивных соединений, что исключает возможность гипervитаминоза.



Сам витамин D не обладает биологической активностью. Предварительно он должен дважды гидроксироваться: в печени с образованием кальцидиола (25-гидроксихолекальциферол) и, затем, в почках – с образованием биологически активного кальцитриола (1,25-дигидроксихолекальциферол).

Активность 25-гидроксилазы в печени высока и уровень кальцидиола в крови растет пропорционально поступлению витамина. Поэтому измерение его концентрации - общепринятый способ оценки обеспеченности организма витамином D.

В крови все формы витамина D, включая кальцидиол и кальцитриол, циркулируют в комплексе с витамином D-связывающим белком (DBP, D-Binding Protein). В несвязанном состоянии находится всего 5% кальцитриола, и именно эта фракция является биологически активной.

Биохимические функции.

Кальцитриол реагирует с ядерным рецептором VDR (Vitamin D Receptor). Он присутствует не только в клетках и тканях, имеющих отношение к гомеостазу кальция (тонкий кишечник, паращитовидная железа, почки, костная ткань), но и в мышцах, нервной ткани, клетках крови, половых органах, печени, легких,

щитовидной железе. Уровень этого белка контролируется и лимитирует биологическую активность витамина.

Далее, витамин в составе с VDR образует гетеродимер с рецептором ретиноидов (RXR). Образующийся комплекс функционирует как транскрипционный фактор, регулирующий экспрессию более пятидесяти генов. Среди них белки, участвующие во всасывании кальция в желудочно-кишечном тракте (TRPV6, кальбиндин), метаболизме самого витамина, формировании внеклеточного матрикса; а также, онкогены, пептидные гормоны и пр.

Основной эффект витамина Д - увеличение всасывания кальция в кишечнике достигается за счет усиления биосинтеза транспортных белков. Регулируя биосинтез белков костного матрикса, кальцитриол способствует формированию и поддержанию структуры костной ткани. При дефиците кальция витамин мобилизует его из костей и увеличивает реабсорбцию в почках.

Паратгормон – основной регулятор кальциевого обмена - усиливает биосинтез кальцитриола. В свою очередь, последний контролирует функцию паращитовидных желез по принципу отрицательной обратной связи.

Помимо этого, витамин участвует в процессах роста и дифференцировки клеток, иммунных реакциях, воспалении, функционировании нейромышечного аппарата.

Гиповитаминоз.

Порядка миллиарда людей в мире недостаточно обеспечены витамином Д. Во-первых, поступление его с пищей даже при сбалансированном рационе недостаточно. Во-вторых, большая часть населения планеты страдает от недостаточной инсоляции. Наиболее уязвимыми группами населения являются дети и пожилые люди.

У детей основным симптомом недостаточности является рахит. Он проявляется различными деформациями скелета, вы-

званными нарушением роста костей и их минерализации. У взрослых отмечается остеопороз – размягчение костей и остеопороз – системное поражение скелета, обусловленное преобладанием процессов деградации костной ткани над ее образованием. При остеопорозе изменяется структура костей, снижается их масса и прочность, что приводит к увеличению частоты переломов.

Пониженный уровень витамина в крови коррелирует с частотой сердечно-сосудистых, аутоиммунных заболеваний, рака. Предпринимались и предпринимаются попытки предотвратить развитие этой патологии путем введения дополнительных доз витамина Д. Однако, проведенные в последние годы метаисследования не смогли подтвердить эффективность данной стратегии даже в отношении остеопороза.

Гипервитаминоз.

Возможен при приеме высоких доз витамина. Отмечается гиперкальциемия, отложение солей кальция в мягких тканях, нарушение функции почек, неврологические симптомы, задержка умственного развития у детей

Источники и потребность.

Из-за различного географического положения и ряда других факторов, влияющих на обеспеченность витамином Д, нормы потребления в разных странах отличаются. Для стран ЕС адекватным потреблением считается 5 мкг в сутки для взрослых и 10 мкг для детей и лиц старше 60-65 лет.

Нахождение на солнце с обнаженными конечностями в течение пяти минут дважды в неделю для взрослых достаточно для обеспечения организма витамином Д. Солнцезащитный крем с УФ-фильтром SPF 15 (sun protection factor) снижает биосинтез холекальциферола на 98%. Оконное стекло не пропускает ультрафиолет.

Считается, что обеспечить потребность в витамине только за счет питания невозможно. Больше всего витамина в жирных сортах рыбы, рыбьем жире, желтке, сливочном масле, сыре.

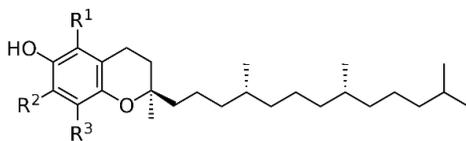
Витамин Е.

Понятие объединяет группу из восьми жирорастворимых соединений: четырех токоферолов и четырех токотриенолов, обладающих сходной биологической активностью. Термин «токоферол» происходит от греческих слов «такос» - потомство, деторождение, и «феро» - несу. Окончание «ол» указывает на наличие спиртовой группы. Такое название витамин получил на основании опытов на крысах, где было показано, что дефицитная по витамину диета приводит к бесплодию.

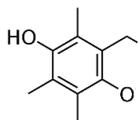
Химическое строение.

Все восемь витаминов содержат в структуре хромановое кольцо с заместителями и алифатический радикал из 16 атомов углерода. Помимо гидроксильной группы, присутствующей у всех соединений, в R-положениях кольца (см рисунок) располагаются от одной до трех метильных групп. Наибольшей биологической активностью обладает α -токоферол, имеющий три метильных заместителя. Токотриенолы отличаются от токоферолов наличием трех двойных связей в боковом радикале.

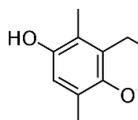
В молекуле токоферолов три асимметричных атома углерода, обуславливающих существование восьми стереоизомеров. У природного витамина все центры имеют R-конфигурацию, поэтому его называют RRR- α -токоферол. Синтетический токоферол содержит рацемическую смесь всех возможных изомеров и обладает, в связи с этим, меньшей биологической активностью.



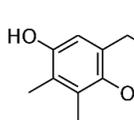
Токоферолы, общая формула



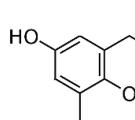
α -токоферол



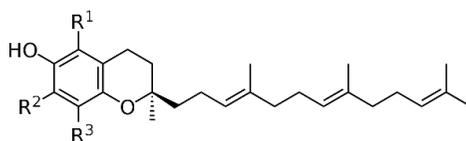
β -токоферол



γ -токоферол



δ -токоферол



Токотриенолы, общая формула

Метаболизм.

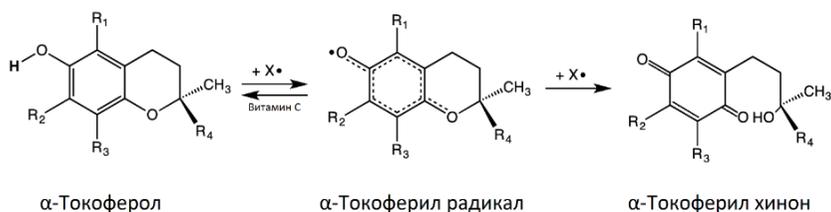
Витамин Е всасывается в тонком кишечнике совместно с липидами путем пассивной диффузии. В составе хиломикрон распространяется по кровеносному руслу. При гидролизе жиров с участием липопротеинлипазы высвобождается и диффундирует в окружающие ткани. В печени RRR- α -токоферол связывается с α -токоферол переносящим белком (α -ТТФ, α -tocopherol transfer protein) и включается в состав липопротеинов очень низкой плотности. Все остальные изомеры деградируют и выводятся. Далее витамин перераспределяется между различными фракциями липопротеинов крови с наибольшей концентрацией (55-65%) в липопротеинах низкой плотности.

Биохимическое действие.

Витамин Е является важнейшим антиоксидантом, защищая липиды мембран от перекисного окисления. Связь между атомами водорода и кислорода в гидроксильной группе токоферола на 10% слабее, чем у других фенолов. Это обуславливает спо-

способность витамина отдавать атом водорода липопероксильным и другим радикалам, инактивируя их.

Сам токоферол превращается при этом в токоферил-радикал, который может быть восстановлен до исходной молекулы с участием, например, аскорбиновой кислоты или убихинола. В другом варианте токоферил-радикал может прореагировать с еще одним свободным радикалом, необратимо превращаясь в токоферил хинон или ряд других нерадикальных производных. Благодаря способности инактивировать два радикала витамин Е относится к антиоксидантам, предотвращающим ветвление цепи, и способным останавливать цепную реакцию перекисного окисления липидов.



Гиповитаминоз.

Дефицит витамина чаще является следствием нарушения всасывания липидов, чем недостаточным содержанием в пище. Основные проявления обусловлены повреждением мембран нервных клеток и нарушением проводимости: атаксия, периферическая нейропатия.

Гипервитаминоз.

Возможен при длительном приеме доз в десятки раз превышающих суточную потребность. Усвоение лимитируется концентрацией токоферол переносающего белка и способностью печени выводить избыток витамина с желчью.

Витамин в биодобавках.

Антиоксидантные свойства витамина послужили поводом к широкому применению его во всем мире для профилактики и лечения заболеваний, где перекисное окисление липидов фигурировало, как фактор патогенеза. Среди них рак, катаракта, сердечно-сосудистые заболевания, патология беременности, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и другие. К сожалению, обширные метаисследования продемонстрировали полную несостоятельность этого подхода, а в некоторых случаях зафиксировали даже наносимый вред.

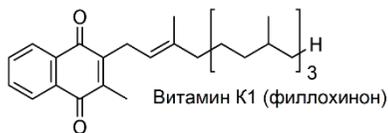
Источники и суточная потребность.

Наиболее богатый источник - растительные масла, рекордсменом среди которых является масло зародышей пшеницы. В животных продуктах витамина Е мало. Рекомендуемое суточное потребление для взрослых – 15-20 мг.

Витамин К

Получил название от слова «Коагуляция» - свертывание (крови). Включает два витамера – витамин К1 - филлохинон, впервые выделенный из люцерны, и К2 – менахинон, - из гниющей рыбной муки.

В основе обоих соединений – 2-метил-1,4-нафтохинон, замещенный в третьем положении остатком фитола (витамин К1) или углеводородной цепью из 4-13 остатков изопрена (витамин К2). Как и у других жирорастворимых витаминов эта часть молекулы предназначена для фиксации в мембране клеток.



Филлохинон синтезируется растениями и является акцептором электронов в фотосистеме 1. Соответственно, содержится преимущественно в зеленых частях растений. Животные и бактерии способны превращать его в менахинон. У животных всегда образуется производное с четырьмя изопреновыми остатками. Бактерии, как правило, удлиняют боковую цепь до 7, 11 и даже 13 остатков. Они используют витамин К₂ в качестве переносчика электронов в реакциях анаэробного дыхания.

У животных витаминную активность проявляют все перечисленные выше соединения, но используются они в совершенно других целях - для посттрансляционной модификации белков.

Синтетический 2-метил-1,4-нафтохинон (менадион, витамин К₃) также обладает витаминной активностью и используется в качестве недорогого заменителя природных соединений. В связи с обнаружением побочных эффектов в США запрещен и используется лишь в кормах для животных. В СНГ применяется под названием викасол.

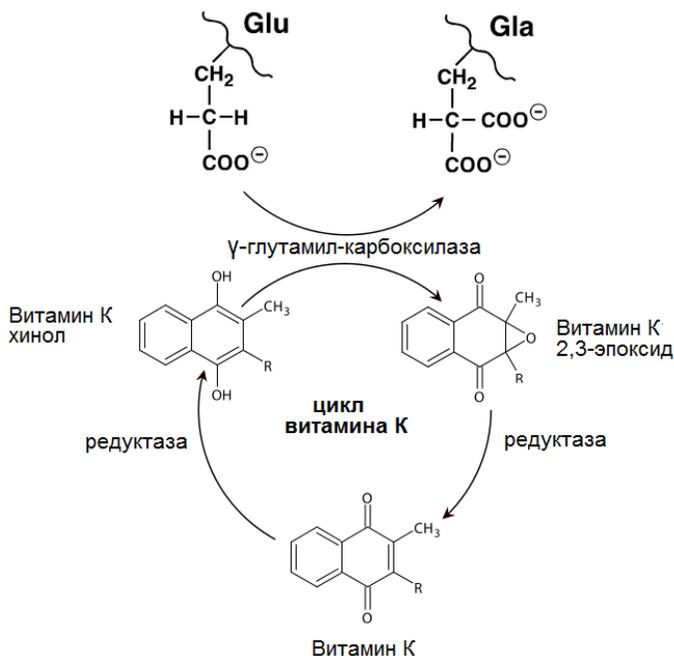
Биохимическое действие.

В клетках животных витамин К участвует в карбоксилировании остатков глютаминовой кислоты в ряде белков. Трехбуквенное название карбоксиглутамата – Gla, поэтому такие белки получили название Gla-белков. Введение второй карбоксильной группы в глутамат позволяет связывать ионы кальция, что критически важно для их функции.

В настоящее время известно 17 Gla-белков.

В системе свертывания крови это - факторы II, VII, IX, X, белки C, S, Z. В костной ткани – белки, участвующие в минерализации и формировании структуры костей, - остеокальцин, Gla-белок матрикса. Кроме того, к Gla-белкам относится транстиретин – белок, переносящий ретинол и тироксин, ряд белков, участвующих в клеточной пролиферации и дифференцировке. Функции некоторых белков не известны.

Образование Gla-радикалов осуществляется ферментом – гамма-глутамил карбоксилазой. Для карбоксилирования используется восстановленная до хинона форма витамина К, которая в ходе реакции окисляется до витамин-К-эпоксида. Восстановление эпоксида замыкает последовательность превращений, известную как цикл витамина К.



В медицинской практике широко используются антивитамины К для лечения и профилактики тромбэмболических осложнений. Природный антивитамины – дикумарин (дикумарол), синтетический – варфарин. Механизм их действия заключается в ингибировании витамин К-эпоксидредуктазы.

Гиповитаминоз.

Несмотря на то, что витамин в достаточном количестве содержится в пище и синтезируется в желудочно-кишечном трак-

те, случаи гиповитаминоза наблюдаются. Из растительной пищи филлохинон усваивается плохо, так как прочно связан с мембранами тилакоидов в хлоропластах. Так, например, из шпината всасывается лишь 5% витамина К1, и лишь при добавлении масла процент увеличивается до 13. Другую опасность представляют антибиотики широкого спектра действия, которые могут снижать образование витамина К2 в кишечнике на три четверти. Особому риску подвержены новорожденные из-за отсутствия микрофлоры в желудочно-кишечном тракте. Кроме этого, гиповитаминоз возможен при лечении авитаминами, болезнях печени и кишечника.

В клинической картине гиповитаминоза - петехии, кровоизлияния, кровотечения, окостенение хрящей, деформации костей, кальцификация сосудов.

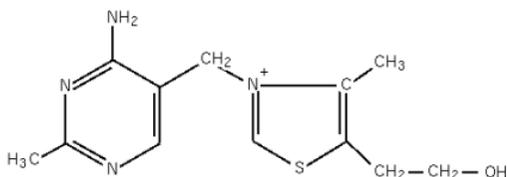
Источники, суточное потребление.

Зелень, капуста, яйца, молочные продукты, мясо. Потребность - 90-120 мкг в сутки.

Витамин В1 (тиамин).

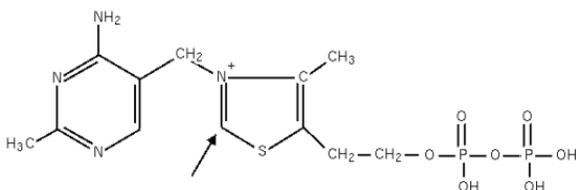
Общая характеристика.

Состоит из пиридинового и тиазолового колец с различными заместителями, соединенных метиленовым мостиком.



Открыт первым из витаминов в 1897 году Христианом Эйкманом (Нобелевская премия совместно с Ф. Хопкинсом за 1929 год). Выделен в виде экстракта Казимиром Функом в 1911 г.

Синтезируется бактериями, растениями, грибами и некоторыми простейшими в форме тиаминмонофосфата. Всасывание у человека и животных происходит в тонком кишечнике в форме свободного тиамина. При низких концентрациях перенос через мембрану осуществляется специфической транспортной системой, при высоких – пассивно по градиенту концентрации. В клетках фосфорилируется тиаминпирофосфокиназой с образованием коферментной формы – тиаминдифосфата (ТДФ, тиаминпирофосфат, ТПФ).



Тиаминмонофосфат и тиаминтрифосфат также образуются и обладают собственным спектром биологической активности.

В организме человека имеется примерно двухнедельный запас витамина. Из органов и тканей его больше всего в мышцах – 50% всего количества. В крови витамин на 90% сосредоточен внутри эритроцитов.

Биохимические функции.

Тиаминдифосфат участвует в работе следующих ферментативных систем.

1. Пируватдегидрогеназный комплекс, осуществляющий окислительное декарбоксилирование пирувата до ацетил-КоА.
2. α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс, образующий сукцинил-КоА из α -кетоглутарата в цикле Кребса.
3. Пируватдекарбоксилаза микроорганизмов, осуществляющих спиртовое брожение. Превращает пируват в ацетальдегид, который далее восстанавливается алкогольдегидрогеназой до этанола.

4. Дегидрогеназный комплекс α -кетокислот с разветвленной цепью, образующихся после дезаминирования валина, лейцина и изолейцина.

5. Транскетолаза – один из ферментов неокислительной ветви пентозофосфатного пути превращения углеводов.

В ходе катализа субстрат ковалентно присоединяется к второму атому тиазола (на рисунке показан стрелкой).

Гиповитаминоз.

При недостатке тиамин поражается нервная, сердечно-сосудистая и пищеварительная система. Патогенетическими факторами является ухудшение энергетического статуса клеток, накопление недоокисленных продуктов обмена веществ, нарушения синтеза нейромедиаторов и пр.

Глубокий гиповитаминоз В1 известен в юго-восточной Азии с 17-го века, как заболевание «Бери-бери», которое развивалось вследствие питания полированным рисом. Преимущественное поражение нервной системы описывалось, как «сухая» форма, сердечно-сосудистой с отеками – как «влажная».

В настоящее время глубокий гиповитаминоз наблюдается преимущественно у лиц, страдающих хроническим алкоголизмом. При этом, важную роль в патогенезе играет способность этанола специфически вмешиваться в метаболизм тиамин. Спирт уменьшает всасывание, увеличивает выведение витамина с мочой, снижает активность тиаминпирофосфокиназы и образование коферментной формы. Основным проявлением гиповитаминоза у этого круга лиц является поражение нервной системы, в частности, синдром Вернике-Корсакова.

Антивитамины.

В эксперименте глубокий гиповитаминоз В1 может быть вызван введением антивитаминов - окситиамина, пиритиамина. В рыбе, морепродуктах и некоторых растениях содержится тиаминаза – фермент, разрушающий витамин.

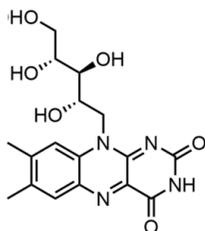
Источники, суточная потребность.

Суточная норма от 1,0 - 1,2 мг. Больше всего содержится в зернобобовых, свинине, печени, дрожжах. Частично потребность покрывается микробным синтезом в толстом кишечнике. Жвачные за счет этого процесса полностью обеспечивают себя витамином.

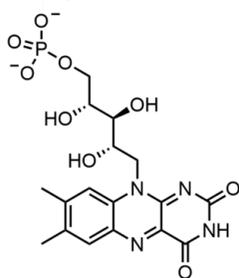
Витамин В2 (рибофлавин)

Общая характеристика.

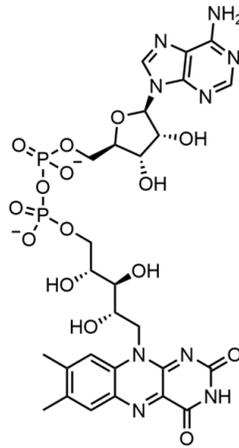
Производное изоаллоксазина и спирта рибитола. Получил свое название от двух слов – рибитол и flavous (лат. - желтый). Растворы имеют желтый цвет, что обуславливает использование витамина в пищевой промышленности в качестве красителя (E101). Всасывается в тонком кишечнике в форме свободного рибофлавина с участием белков переносчиков. В клетках превращается в коферментные формы: ФМН (флавинмоноклеотид) и ФАД (флавинадениндинуклеотид).



Рибофлавин

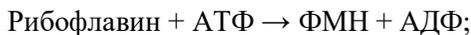


ФМН

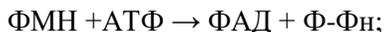


ФАД

ФМН, представляя из себя рибофлавин-5-фосфат, образуется при действии рибофлавинкиназы:



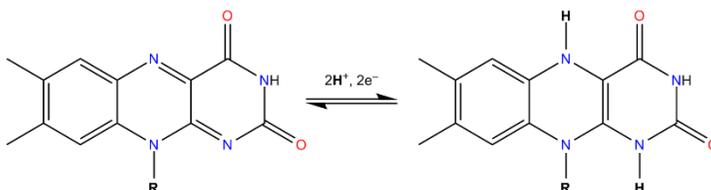
ФАД синтезируется ФАД-синтазой, которая присоединяет к ФМН остаток аденозинмонофосфата.



В крови и тканях витамин находится преимущественно в форме ФАД.

Биохимические функции.

Изоаллоксазиновое кольцо ФАД и ФМН способно присоединять два протона и два электрона в окислительно-восстановительных реакциях, образуя восстановленные формы коферментов: ФМНН₂ и ФАДН₂.



В большинстве случаев коферменты прочно, иногда ковалентно ассоциированы с апобелками, выступая в роли простетических групп. ФАД является более сильным окислителем, чем НАД, и используется в энергетически сложных превращениях, например, в дегидрировании С-С связей с образованием алкенов.

Важнейшие реакции, протекающие с участием флавиновых коферментов.

1. Перенос электронов в электронтранспортной цепи. В состав НАДН-дегидрогеназы входит ФМН, во втором комплексе – ФАД.

2. Окислительное декарбоксилирование в составе пируват-дегидрогеназного, α-кетоглутаратдегидрогеназного комплексов и дегидрогеназы разветвленных кетокислот.

3. Сукцинатдегидрогеназная реакция в цикле Кребса

4. Ацил-КоА-дегидрогеназная в реакциях β -окисления жирных кислот

5. Окислительное дезаминирование моноаминов, например, серотонина, норадреналина, дофамина, в составе моноаминоксидазы.

Гиповитаминоз.

В странах третьего мира охватывает до половины населения. В развитых странах наблюдается редко в том числе из-за витаминизации продуктов питания. Характеризуется стоматитом с поражением языка (глоссит), конъюнктивитом, специфическим дерматитом в области носогубного треугольника: хейлит, ангулярный стоматит, дерматит носогубной складки. По клинической картине напоминает пеллагру, но без периферических проявлений («pellagra sine pellagra" (лат.) - пеллагра без пеллагры).

Источники, суточная потребность.

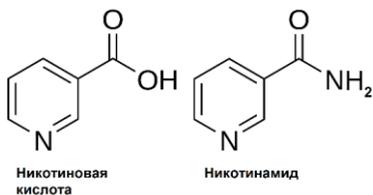
Присутствует во всех клетках, но лишь немногие продукты содержат его в высокой концентрации. Среди наиболее богатых источников – печень, почки, дрожжи, яйца, миндаль, грибы, творог. Суточная потребность 1,7-2,2 мг.

Витамин В3 (ниацин (NIconinic ACid vitamIN), никотиновая кислота, никотинамид).

Устаревшее название - витамин PP (Preventing Pellagra (англ, – предотвращающий пеллагру).

Общая характеристика.

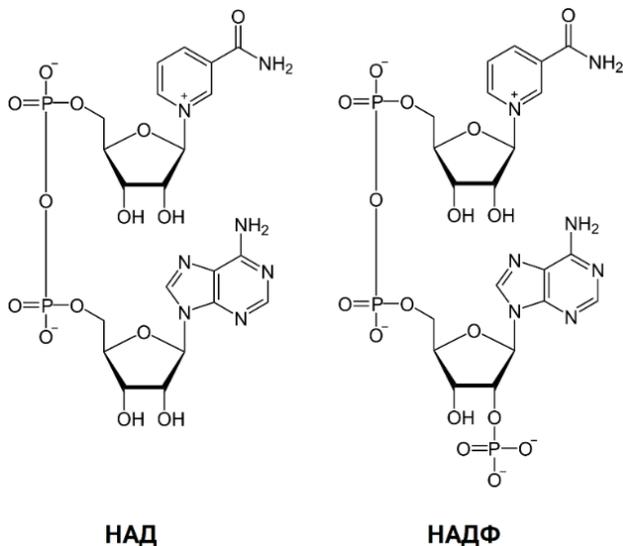
Производное пиридина. Открыт американским врачом Голдбергером в 1926 году. В понятие входят два витамина, обладающие равной витаминной активностью, – никотиновая кислота и никотинамид.



Потребность частично покрывается синтезом в печени из триптофана и микробным синтезом в толстом кишечнике. В сырых продуктах содержится главным образом в виде коферментов: никотинамидадениннуклеотида (НАД) и никотинамидадениннуклеотидфосфата (НАДФ), которые гидролизуются до никотинамида или никотиновой кислоты при термообработке, либо в ходе переваривания в желудочно-кишечном тракте. Витамин всасывается в желудке и тонком кишечнике.

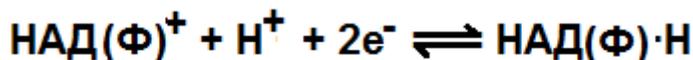
Биохимические функции.

В клетках ниацин образует никотинамидные (пиридиновые) коферменты: НАД и НАДФ.

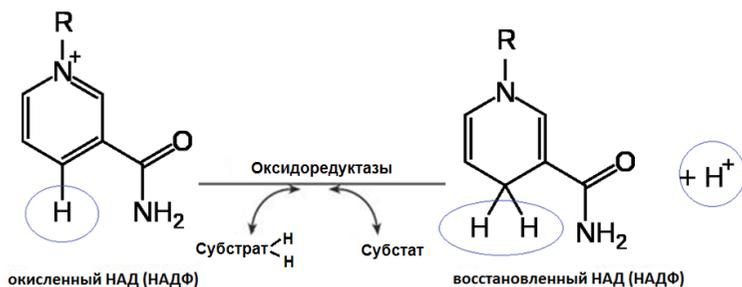


Синтез осуществляется присоединением рибозо-5-фосфата, а, затем, остатка АМФ из АТФ. НАДФ образуется путем фосфорилирования НАД.

Пиридиновое кольцо НАД и НАДФ способно восстанавливаться. Модификация обратима, и коферменты могут существовать в окисленной и восстановленной форме. Это обуславливает их участие в ферментативных реакциях отнятия или присоединения водорода.



В дегидрогеназных реакциях от субстрата отнимается два атома водорода, но к пиридиновому кольцу присоединяется лишь один. Из второго атома к положительно заряженному азоту гетероцикла присоединяется электрон, а протон высвобождается в раствор. Поэтому восстановленный НАД обозначают либо, как НАДН, либо, как НАДН + H⁺. Это равноценные формы записи.



НАД в клетке находится в преимущественно окисленной форме, НАДФ – в восстановленной. Это объясняется их ролью в метаболизме. НАД главным образом участвует в катаболических процессах, НАДФ – в анаболических.

Известно порядка тысячи ферментов, использующих никотинамидные коферменты.

Наиболее важные НАД-зависимые процессы:

1. НАДН-дегидрогеназная реакция, являющаяся источником электронов для создания протонного градиента и синтеза АТФ в клетке.
2. Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназная реакция гликолиза.
3. Изоцитратдегидрогеназа, малатдегидрогеназа цикла Кребса.
4. Мультиферментные комплексы окислительного декарбоксилирования α -кетокислот.
5. Гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа в β -окислении жирных кислот.

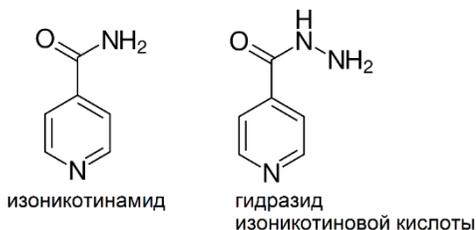
Важнейшие биохимические процессы, протекающие с участием НАДФ.

1. Биосинтез жирных кислот.
2. Биосинтез стероидов.
3. Темновые реакции фотосинтеза.
4. Реакции антиоксидантной защиты.

Гиповитаминоз.

Глубокий гиповитаминоз проявляется заболеванием пеллагра. Клиническая картина характеризуется синдромом «трех Д» - дерматит, диарея, деменция.

Антивитами́н – изоникотинамид. На его основе создан высокоэффективный противотуберкулезный препарат: гидразид изоникотиновой кислоты (ГИНК, тубазид).



Источники, суточная потребность.

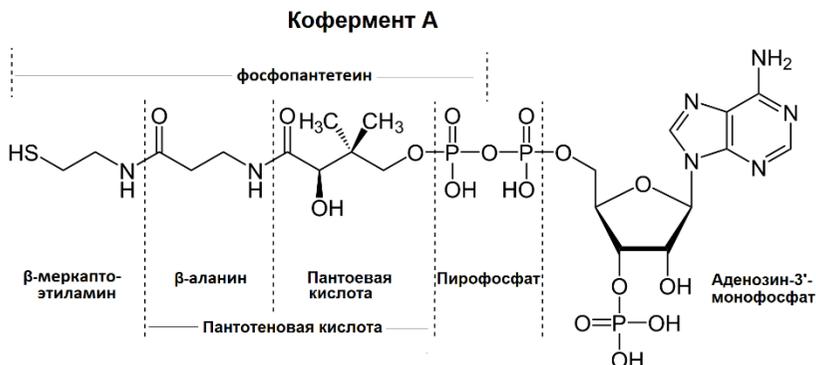
Больше всего ниацина в животных продуктах: мясе, печени, отдельных сортах рыб. Биодоступность витамина злаков может быть низкой и зависит от способа кулинарной обработки пищевого сырья. Суточная потребность – 20-25 мг.

Витамин B5 (пантотеновая кислота).

По химическому строению это амид пантоевой кислоты и β-аланина. Название происходит от греческого слова Panthoten – «всюду, вездесущий». Присутствует во всех клетках и, соответственно, во всех продуктах, главным образом в виде кофермента. При переваривании гидролизуется до пантотеновой кислоты и в таком виде всасывается с участием специфической Na-зависимой транспортной системы.

Спиртовое производное витамина – пантенол – более стабильно и часто используется в поливитаминных препаратах и косметических средствах (например, в шампунях Procter&Gamble под торговой маркой Пантин).

Биологическое действие опосредовано коферментной формой – коферментом А. Синтез осуществляется в пять стадий и включает несколько этапов фосфорилирования, присоединение аденозинмонофосфата и цистеина. Последний после декарбоксилации формирует свободную SH-группу кофермента, которая в ходе катализа образует макроэргическую тиоэфирную связь с остатками кислот.



Биохимические функции.

Кофермент участвует в переносе ацильных групп. Наиболее важные производные: ацетил-КоА, ацил-КоА, малонил-КоА, сукцинил-КоА, β-гидрокси-β-метилглутарил-КоА, ацетоацетил-КоА.

Наиболее важные процессы.

1. Окислительное декарбоксилирование пирувата, α-кетоглутарата и разветвленных α-кетокислот, образующихся при дезаминировании валина, лейцина и изолейцина.

2. β-окисление жирных кислот

3. Биосинтез стероидов

4. Биосинтез ацетилхолина

5. Биосинтез кетоновых тел

6. В виде 4-фосфопантетеина витамин входит в состав ацилпереносящего белка – одного из компонентов синтетазы жирных кислот.

Гиповитаминоз.

Крайне редок ввиду широкого распространения витамина и синтеза микрофлорой кишечника. Симптоматика включает проявления гипознергетического состояния, вызванные наруше-

ниями магистральных путей обмена веществ (апатия, утомляемость, потеря аппетита). Неврологические проявления обусловлены нарушением синтеза ацетилхолина.

Источники, суточная потребность.

Больше всего пантотеновой кислоты в печени, почках, дрожжах, желтке яиц, семенах подсолнечника, злаках. Рекомендуемое суточное потребление – 5 мг. Жвачные полностью обеспечивают себя витамином за счет микробного синтеза.

Витамин В6 (пиридоксин).

Общая характеристика.

Группа производных пиридина, способных превращаться друг в друга в ходе реализации своей биологической активности. К ним относятся пиридоксин, пиридоксаль, пиридоксамин. Их фосфатные производные выполняют роль коферментов: пиридоксальфосфат (ПАЛФ) и пиридоксаминфосфат. Они участвуют в протекании более ста ферментативных реакций в обмене аминокислот, углеводов, липидов.



Витамин всасывается в тонком кишечнике путем пассивной диффузии. Фосфаты предварительно гидролизуются мембранной щелочной фосфатазой.

Биохимические функции.

В обмене аминокислот.

1. ПАЛФ – кофермент декарбоксилаз, участвующих в образовании биогенных аминов: серотонина, адреналина, норадреналина, γ-аминомасляной кислоты, гистамина.

2. Кофермент синтазы γ -аминолевулиновой кислоты, катализирующей образование ключевого интермедиата в синтезе порфиринов: гемов, хлорофиллов, кобаламинов:

3. Кофермент трансминаз.

4. Участвует в обмене метионина, цистеина, селенометионина.

5. Необходим для превращения триптофана в никотиновую кислоту. Дефицит витамина В6 может усугублять проявления гиповитаминоза РР.

В обмене углеводов.

1. Кофермент гликогенфосфоорилазы – фермента, расщепляющего гликоген.

В обмене липидов.

1. участвует в конденсации серина с пальмитоил-КоА в ходе синтеза сфингозина и церамидов.

Гиповитаминоз.

Проявляется в виде себорейного дерматита, сидеробластной анемии (из-за нарушения синтеза гема), неврологических симптомов (вследствие нарушения синтеза сфинголипидов).

Развивается при неправильном питании, лечении изониазидом (антивитамин), дисбактериозах. Витамин заметно разрушается при термической обработке пищи, в ходе технологических процессов (производство сухого молока). Поскольку в зернах витамин содержится в зародыше и алейроновом слое, то в значительной мере теряется при изготовлении высокосортной муки.

Источники, суточная потребность.

Больше всего витамина в орехах (фисташки, грецкий орех, фундук), некоторых видах рыб (лосось, скумбрия, тунец), бобовых (фасоль, соя), зерновых (целые зерна, отруби и мука грубого помола). Синтезируется микрофлорой кишечника.

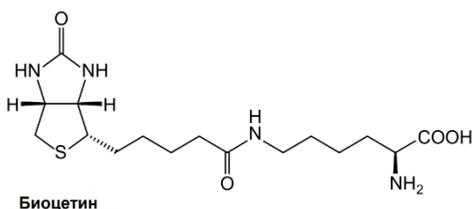
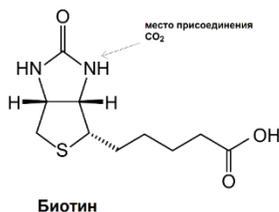
Суточная потребность - 2-2,2 мг.

Витамин В7 (биотин).

Устаревшее название – витамин Н.

Общая характеристика.

Основу молекулы составляет тетрагидротиофеновое кольцо, к которому присоединен остаток мочевины и валериановой кислоты. Последняя образует амидные связи с лизином в составе апоферментов, ковалентно присоединяя витамин к белку. Образование комплекса происходит под действием специфической синтетазы. Протеолиз биотинсодержащих белков в ходе переваривания и внутри клеток высвобождает комплекс витамина с лизином, имеющий название биоцетин.



Гидролиз биоцетина осуществляет фермент биотинидаза, необходимый как для всасывания витамина в желудочно-кишечном тракте, так и рециркуляции его внутри организма. Врожденные энзимопатии синтетазы и биотинидазы могут быть причиной гиповитаминоза.

Биохимические функции.

Участвует в переносе карбоксильной группы в составе следующих ферментов.

1. Ацетил-КоА-карбоксилаза (синтез жирных кислот).
2. Пируваткарбоксилаза (глюконеогенез).

3. Пропионил-КоА-карбоксилаза (метаболизм изолейцина, валина, пропионата, жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов).

4. Метилкротонил-КоА-карбоксилаза (катаболизм лейцина).

Гиповитаминоз.

Редок, в связи с тем, что витамин в достаточном количестве содержится в продуктах питания, синтезируется микрофлорой кишечника и потребность организма в нем невелика.

Возможен при неправильном питании, дисбактериозах, увеличении потребности (лактация), употреблении в пищу большого количества сырых яиц на протяжении длительного времени. В последнем случае гиповитаминоз развивается из-за наличия в белке яйца – авидина, - белка, специфически связывающего биотин.

Первыми признаками недостаточности биотина является покраснение кожи вокруг рта, истончение и выпадение волос, ломкость ногтей. При углублении дефицита развивается себорейный дерматит, анемия и неврологическая симптоматика.

Лабораторное применение.

Взаимодействие биотина с авидином или его микробным аналогом – стрептавидином, - относится к одному из самых сильных в биологии, приближаясь по прочности к ковалентной связи. эффект используется в иммунологических и молекулярно-биологических лабораторных техниках для выделения белков и других молекул, количественного их определения, изучения локализации в клетке.

Источники и суточная потребность.

Больше всего витамина в печени, почках, яйцах, дрожжах. Потребность – 25-30 мг в сутки.

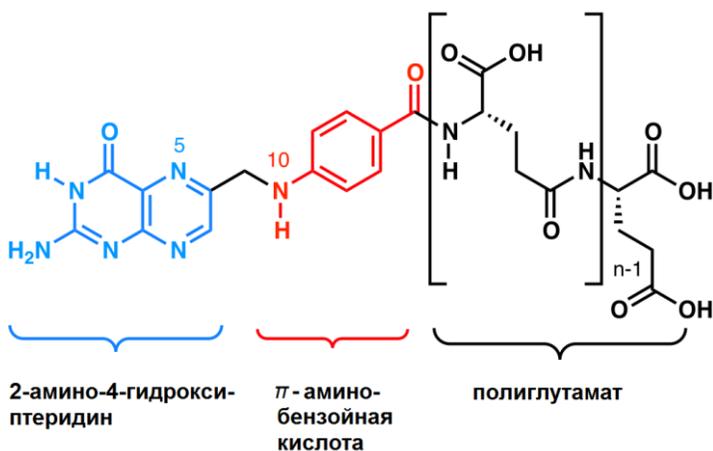
Витамин В9 (фолиевая кислота).

Устаревшее название – витамин Вс.

Общая характеристика.

Название произошло от латинского слова *folium* (лист), поскольку впервые витамин был выделен из листьев шпината. Биологической активностью обладает как сама фолиевая кислота, так и ее производные, образующиеся в клетке в ходе биотрансформации витамина. Их групповое название – фолаты.

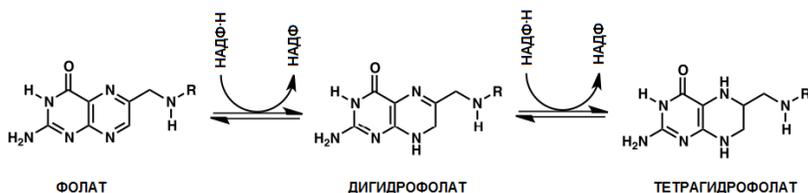
По химическому строению фолиевая кислота представляет собой 2-амино-4-гидроксиптеридин, соединенный метиленовым мостиком с парааминобензойной кислотой, которая в свою очередь образует амид с одним или несколькими (до девяти) остатками глютаминовой кислоты.



Азот в пятом положении птеридинового кольца и в десятом – парааминобензойного являются местом присоединения одноуглеродных фрагментов. Основными производными являются 5-метилтетрагидрофолат (метил-ТГФ), 5- и 10-формилтетрагидрофолат (5-формил-ТГФ, 10-формил-ТГФ), 5-10-метилтетрагидрофолат (метилен-ТГФ).

Фолаты пищи гидролизуются в желудочно-кишечном тракте до свободной фолиевой кислоты, которая всасывается в тон-

ком кишечнике как с помощью активного транспорта, так и за счет простой диффузии. В энтероцитах с участием фермента дигидрофолатредуктазы и НАДФ.Н через стадию дигидрофолата (ДГФ) образуется коферментная форма витамина – тетрагидрофолат (ТГФ).

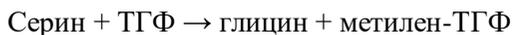


Далее он метилируется и в форме метил-ТГФ поступает в системный кровоток.

Биохимические функции.

Витамин осуществляет перенос одноуглеродных фрагментов в реакциях биосинтеза нуклеотидов, обмене серина и метионина.

В синтезе пуриновых нуклеотидов имеется две стадии, где участвуют метилен-ТГФ и формил-ТГФ. Метилен-ТГФ также необходим в тимидилатсинтазной реакции превращения дУМФ в дТМФ. Метил-ТГФ – источник метильных групп в биосинтезе метионина. Ключевую роль в образовании этих метаболитов играет превращение серина в глицин, катализируемое серингидроксиметилтрансферазой:



Образующийся метилен-ТГФ далее может превратиться в формил-ТГФ под действием метилен-ТГФ-дегидрогеназы (МТГФД) или в метил-ТГФ с участием метилен-ТГФ-редуктазы (МТГФР).

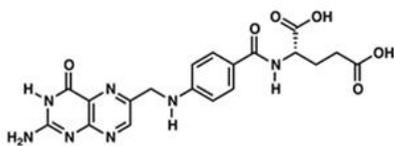
Гиповитаминоз.

Поскольку при дефиците фолиевой кислоты нарушается синтез нуклеотидов, необходимых прежде всего для удвоения ДНК, больше всего страдают быстроделящиеся клетки: крови, слизистых оболочек, плода.

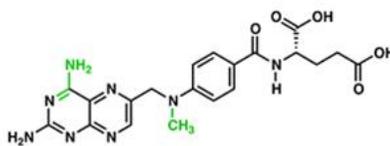
Нарушение деления и дифференцировки предшественников эритроцитов в костном мозге приводит к образованию больших незрелых клеток, называемых мегалобластами. Они функционально не активны и разрушаются, не выходя в системный кровоток. Количество эритроцитов в крови падает. Это нарушение получило название мегалобластной анемии.

Дефицит фолиевой кислоты у беременных женщин может приводить к внутриутробным порокам развития, среди которых преобладают дефекты нервной трубки и пороки сердца. Дополнительная витаминизация этой группы населения приводит к 30-50% снижению частоты возникновения патологии.

Еще одним видом быстроделящихся клеток являются опухолевые. Поэтому антивитамины фолиевой кислоты широко используются в терапии рака. В частности, метотрексат, который ингибирует превращение ДГФ в ТГФ.



Фолиевая кислота



Метотрексат

Источники, суточная потребность.

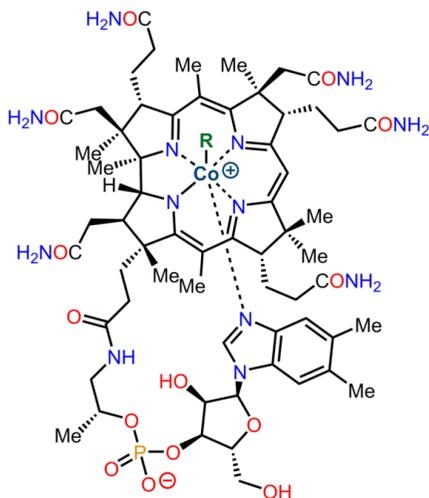
Больше всего фолатов в печени, орехах, цитрусовых, дрожжах, брокколи, листьях шпината, салата. Синтезируются микроорганизмами желудочно-кишечного тракта. Рекомендуемое суточное потребление – 200-400 мкг.

Витамин В12 (кобаламин).

Включает сам кобаламин, гидроксикобаламин (витамин В12а) и коферментные формы – метилкобаламин и 5'-дезоксаденозилкобаламин. В качестве лекарственного средства и добавки в пищу используется цианкобаламин, который в клетке легко преобразуется в активные формы витамина. Его применение обусловлено тем, что он легче кристаллизуется и более устойчив к окислению.

Общая характеристика.

В основе химической структуры витамина лежит корриновое кольцо, удерживающее четырьмя координационными связями атом кобальта. Пятой связью кобальт присоединен к нуклеотидной части молекулы. Шестой – к активным группировкам: гидроксо-, циано-, метильной или 5'-дезоксаденозильной группе.



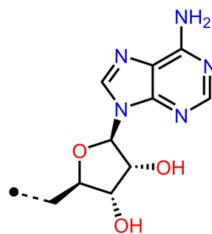
R - группа:

ОН - гидроксикобаламин

CN - цианкобаламин

Me - метилкобаламин

Ado - 5'-дезоксаденозил-
кобаламин



Ado - 5'-дезоксаденозил-
кобаламин

Синтезируется некоторыми бактериями и археями в форме гидроксикобаламина. На одной из стадий промышленной очистки гидроксильная группа заменяется на цианогруппу.

С пищей поступает белковосвязанный витамин. В желудке белковая часть денатурирует под действием соляной кислоты и гидролизуется пепсином. Высвободившийся витамин образует комплекс с R-белком слюны, который предотвращает разрушение витамина в кислой среде. Parietalные клетки желудка образуют еще один белок – внутренний фактор Касла, с которым витамин соединяется в 12-перстной кишке, после того, как R-белок разрушится протеазами сока поджелудочной железы. Комплекс витамина (внешний фактор Касла) с внутренним фактором распознается рецепторами конечного отдела подвздошной кишки и подвергается эндоцитозу. В крови циркулирует в связи с транспортным белком – транскобаламином. В клетки транспортируется способом рецепторного эндоцитоза.

Наибольшее количество витамина содержится в печени – около 50% всего запаса. С желчью кобаламин выводится в просвет кишечника, но практически полностью реабсорбируется в ходе энтерогапатической циркуляции. С калом удаляется лишь около 1% витамина, поступившего в просвет желудочно-кишечного тракта.

Бактерии толстого кишечника синтезируют витамин B12, однако в отсутствие внутреннего фактора Касла он не всасывается.

Биохимические функции.

Витамин B12 участвует лишь в двух реакциях.

1. Изомеризация метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА. Это превращение играет важную роль в катаболизме жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов, пропионовокислом брожении у бактерий и утилизации пропионата, всасывающегося в толстом кишечнике. В качестве кофермента выступает 5'-дезоксаденозилкобаламин.

2. Метилирование гомоцистеина до метионина в метионин-синтазной реакции. Витамин B12 в составе фермента переносит

метильную группу (превращаясь в ходе реакции в метилкобаламин) с метил-ТГФ на гомоцистеин.

Гиповитаминоз.

При сбалансированном питании витамин В12 поступает с пищей в достаточном количестве. Кроме того, это единственный водорастворимый витамин, который накапливается в организме. Его запас может составлять 2-5 мг, что достаточно для удовлетворения потребности на протяжении 3-5 лет. Дефицит возможен у вегетарианцев, поскольку растительная пища не содержит витамина В12, и при заболеваниях желудочно-кишечного тракта.

Угнетение превращения гомоцистеина в метионин при гиповитаминозе приводит к накоплению метил-ТГФ в ущерб остальным производным фолиевой кислоты, необходимым для биосинтеза нуклеотидов. В результате в картине гиповитаминоза В12 наблюдается мегалобластическая анемия, характерная для дефицита витамина В9.

Снижение уровня метионина тормозит процессы метилирования и, соответственно, биосинтез нейромедиаторов: адреналина, ацетилхолина. Метилирование, также, один из основных способов инактивации биогенных аминов. Накопление метилмалоновой кислоты из-за угнетения метилмалонилмутазы в сочетании с нарушением биосинтеза холина и, соответственно, фосфолипидов приводит к дестабилизации структуры миелина. Все это является причиной неврологической симптоматики при гиповитаминозе В12.

Источники и суточная потребность.

Печень, мясо, рыба, молоко и кисломолочные продукты. Из желтка витамин плохо усваивается – всего около 9%. Рекомендуемое суточное потребление 2,4-4 мкг.

Жвачные не нуждаются в поступлении кобаламина с пищей, поскольку бактерии рубца синтезируют его в достаточном

количестве. Другие растительноядные животные получают витамин за счет копрофагии.

Витамин С (аскорбиновая кислота)

Биологической активностью обладает L-энантиомер аскорбиновой кислоты и продукт ее окисления – дегидроаскорбиновая кислота.

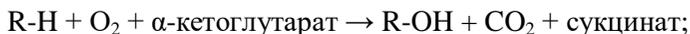


У растений и большинства животных аскорбиновая кислота синтезируется из глюкозы. У человека, некоторых приматов, грызунов (морская свинка, капибара), некоторых летучих мышей и у всех костистых рыб эта способность утрачена. У человека, в частности, мутировал ген L-гулонолактонооксидазы – последнего фермента в цепи биосинтеза витамина.

Всасывается в тонком кишечнике путем активного транспорта – симпорта с ионами натрия. При высоких концентрациях проникает в энтероциты за счет пассивной диффузии.

Биохимические функции.

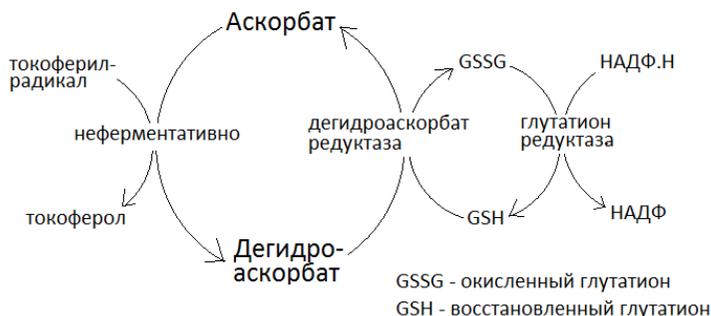
Является кофактором гидроксилаз, использующих кислород и α-кетоглутарат в качестве субстратов.



В ходе реакции белковосвязанный Fe^{2+} окисляется до Fe^{3+} . Аскорбиновая кислота выступает источником электронов для восстановления железа в исходную форму. Наиболее известными примерами являются гидроксилазы пролина и лизина, участвующие в созревании коллагена, дофамин-β-гидроксилаза, два фермента в синтезе карнитина.

Антиоксидантное действие аскорбиновой кислоты обусловлено ее способностью отдавать электроны кислородным радикалам, инактивируя их, и восстанавливать токоферил-радикал – окисленную форму витамина Е - до токоферола.

Образуемая в ходе этих процессов дегидроаскорбиновая кислота восстанавливается с участием НАДФ.Н и глутатиона.



Аскорбиновая кислота облегчает всасывание железа в желудочно-кишечном тракте. Она превращает ионы Fe^{3+} в Fe^{2+} , что необходимо для работы транспортера двухвалентных катионов в мембране энтероцита.

Гиповитаминоз.

Легкие формы проявляются общим недомоганием, бледностью кожных покровов, потускнением волос. Нарушение созревания коллагена приводит к ломкости капилляров, что проявляется кровоточивостью десен, появлением синяков, нарушением заживления ран.

Выраженный гиповитаминоз носит название цинги. При этом наблюдается геморрагическая сыпь, кровотечения из десен, расшатывание и выпадение зубов, гипохромная анемия, снижение иммунитета.

Источники и суточная потребность.

Больше всего аскорбиновой кислоты в шиповнике, облепихе, крапиве и черной смородине. В практическом плане для пополнения запасов витамина большее значение имеют свежие овощи, фрукты и зелень.

Рекомендуемое потребление взрослыми составляет 90 мг в сутки.

В 1970 году дважды лауреат Нобелевской премии Лайнус Поллинг опубликовал теоретическую работу в которой доказывал пользу высоких доз аскорбиновой кислоты в профилактике простудных заболеваний. Далее он распространил свою гипотезу на сердечно-сосудистые болезни и опухоли. Многочисленные исследования, проведенные позднее, не смогли подтвердить эту идею. Тем не менее работы в этом направлении продолжаются до сих пор.

ФЕРМЕНТЫ.

Редкие превращения в клетке протекают самопроизвольно. В подавляющем большинстве случаев они ускоряются специализированными белками - ферментами. Для обозначения этих биологических катализаторов используются два термина, являющиеся синонимами.

Термин «фермент» произошел от латинского слова «fermentatio», что означает брожение. Он использовался для обозначения химической активности живых клеток. Так, Луи Пастер считал, что только живые дрожжевые клетки обладают «жизненной силой», необходимой для превращения сахара в спирт и называл ее ферментом. Термин «энзим» (греч. «в дрожжах») введенный в 1877 году немецким физиологом Вильгельмом Кюне, использовался для обозначения «неорганизованных» ферментов, таких как пепсин желудочного сока. В 1897 году Эдуард Бюхнер опубликовал работу, в которой продемонстрировал, что ферментативная активность сохраняется в разрушенных дрожжевых клетках. За это открытие в 1907 году он был

удостоен нобелевской премии, а два термина стали использоваться для обозначения одного и того же явления. В русскоязычной литературе чаще используется термин - фермент, в англоязычной – энзим.

Химическая природа ферментов долгое время была предметом дискуссий, конец которым положил в 1926 году Джеймс Самнер. Он выделил уреазу в кристаллическом виде и доказал, что это белок.

В 1989 году Томас Чек и Сидни Олтмен получили нобелевскую премию за открытие каталитических свойств РНК. Такие молекулы были названы «рибозимами». Хорошим примером является рибосомная РНК, которая катализирует образование пептидных связей в ходе биосинтеза белка.

Раздел биохимии, изучающий ферменты, называется энзимологией.

Сходство ферментов и неорганических катализаторов.

1. Ферменты не расходуются в процессе катализа и не входят в состав конечных продуктов.
2. Снижают энергию активации реакции.
3. Ускоряют как прямую, так и обратную реакцию, способствуя быстрейшему достижению равновесия. Не сдвигают равновесие реакции в одну из сторон.
4. Не могут возбудить реакции, протекание которых невозможно по термодинамическим законам.

Отличия.

1. Ферменты осуществляют катализ при низкой температуре и давлении, нейтральном или близком к нему рН.
2. Они намного эффективней.
3. Для них характерна высокая специфичность.
4. Активность регулируется с помощью многочисленных механизмов.

Разнообразие ферментов.

Видовой состав живых организмов широк. Химические процессы, протекающие в них, разнообразны и могут сильно отличаться у разных видов. Соответственно, набор ферментов у них будет различаться. Даже катализирующие одно и то же превращение ферменты могут иметь разное строение у разных видов.

Имеется и органная специфичность. Различные органы, ткани одного организма имеют свои особенности метаболизма. Следовательно, и набор ферментов в них не одинаков.

Биохимические процессы в клетке компартментализованы. Гликолиз, синтез жирных кислот, пентозофосфатный цикл протекают в цитоплазме. Окислительное декарбоксилирование пирувата, β -окисление жирных кислот, цикл Кребса – в митохондриях. Процессы хранения, воспроизведения генетической информации – в ядре. И так далее. Набор ферментов в разных отделах клетки отличается.

В настоящее время известно более пяти тысяч ферментов.

Классификация ферментов.

Тривиальная – использует исторически сложившиеся названия, например, пепсин.

Рациональная – содержит сведения о превращаемом веществе с добавлением окончания «аза», например, уреаза, липаза; или о типе реакции (лактатдегидрогеназа).

Систематическая или международная – принята в 1961 году. В названии указывается тип реакции, название субстрата, кофермента, преобразуемая группировка. Например, лактат:НАД оксидоредуктаза

Все ферменты разделены на семь классов по типу катализируемой реакции:

1. Оксидоредуктазы;

2. Трансферазы;
3. Гидролазы;
4. Лиазы;
5. Изомеразы;
6. Лигазы;
7. Транслоказы.

Каждый класс делится на подклассы, в которых указывается преобразуемая группировка. Подклассы делятся на подподклассы, где прописаны дополнительные участники реакции, например, коферменты. Внутри подподклассов ферменты располагаются по алфавиту. Таким образом, каждый фермент помимо буквенного наименования имеет цифровое, складывающееся из четырех цифр, обозначающих класс, подкласс, подподкласс и порядковый номер в группе.

Например, шифр алкогольдегидрогеназы – КФ 1.1.1.1. (КФ – классификация ферментов). Это указывает, что фермент относится к классу оксидоредуктаз (1), модифицируемая группировка – СН-ОН (1), кофермент – НАД (1), в группе - первая по алфавиту (1).

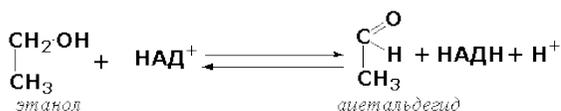
Цифровые обозначения ферментов используются преимущественно в научной литературе. Тривиальные и рациональные названия используются наряду с систематическими.

Характеристика отдельных классов.

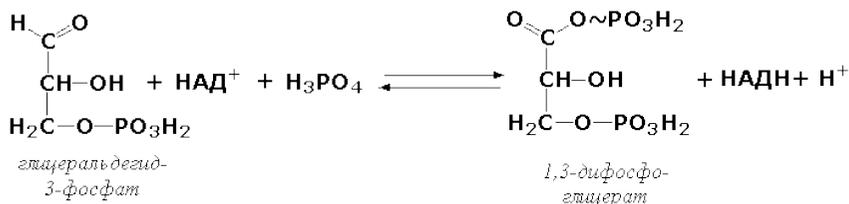
Оксидоредуктазы.

Катализируют окислительно-восстановительные превращения. В классе двадцать два подкласса. Среди них:

КФ 1.1. – оксидоредуктазы, действующие на СН-ОН группу (алкогольдегидрогеназа);



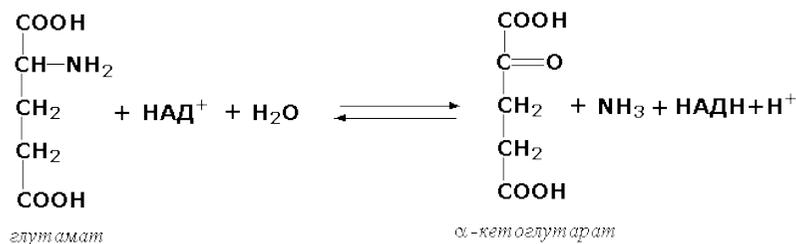
КФ 1.2. оксидоредуктазы, действующие на альдегидную или кетонную группу. Пример: фермент гликолиза - глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа:



КФ 1.3. оксидоредуктазы, действующие на группу СН-СН. Пример: фермент цикла Кребса – сукцинатдегидрогеназа:



КФ 1.4. оксидоредуктазы, действующие на СН-NH₂ группу. При действии этих ферментов из аминов получаются альдегиды или кетоны, из аминокислот – кетокислоты. Пример – глутаматдегидрогеназа, катализирующая окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты.

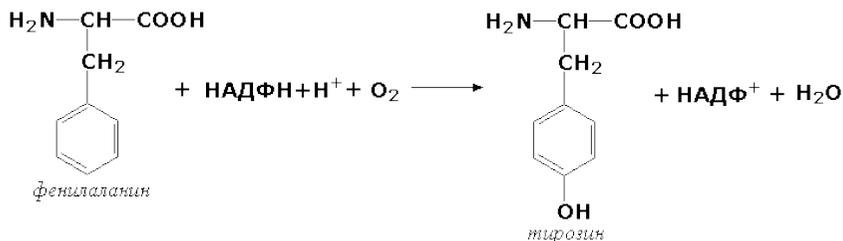


Рабочее название оксидоредуктаз, приведенных выше, - дегидрогеназы. Они дегидрируют субстрат без участия кислорода. Рабочее название ферментов, присоединяющих водород, - редуктазы.

К оксидоредуктазам относятся также ферменты, окисляющие субстраты с участием кислорода. При этом он может включаться в молекулу продукта (гидроксилазы или монооксигеназы)

или нет (оксидазы). Peroксидазы используют в качестве акцептора электронов перекись водорода.

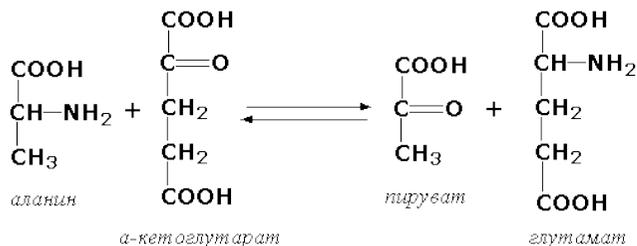
Пример, - КФ 1.14.16.1 - фенилаланин-4-монооксигеназа.



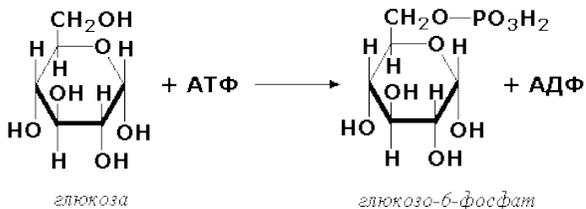
Трансферазы.

Осуществляют перенос функциональных групп от одного соединения к другому. Делятся по типу переносимой группы: ацил-, amino-, фосфо-, метилтрансферазы и пр. Название образуется следующим образом: донор группы: переносимая группа-трансфераза. Рабочее название фосфотрансфераз – киназы.

Пример: КФ 2.6.1.2. Аланинаминотрансфераза (L-аланин:2-оксoglутарат-аминотрансфераза):



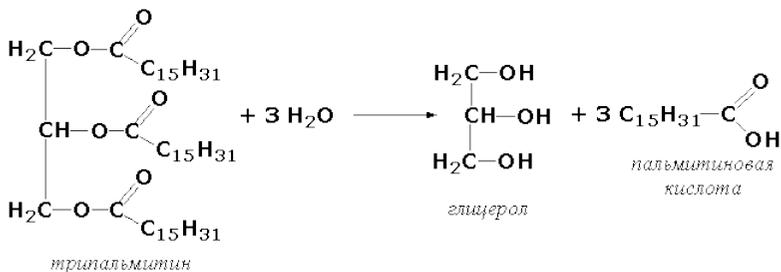
Или КФ 2.7.1.1. Гексокиназа (АТФ:D-гексоза-6-фосфотрансфераза)



Гидролазы.

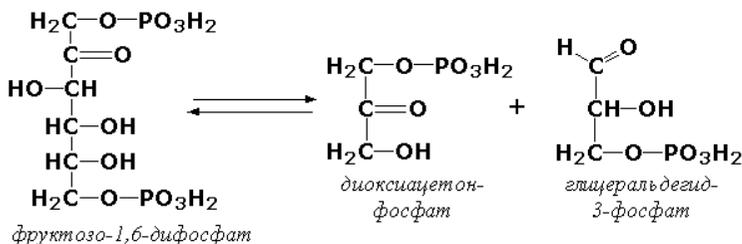
Катализируют реакции гидролиза, то есть расщепления ковалентной связи с участием воды. Название включает наименование субстрата и слово «гидролаза», например, пептидгидролаза. Приемлемо добавление только суффикса «аза», например, пептидаза. К гидролазам относятся все пищеварительные ферменты.

КФ 3.1.1.3 Липаза



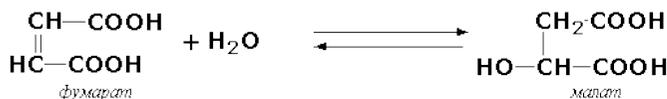
Лиазы.

Осуществляют негидролитический разрыв ковалентных связей и (или) обратимое отщепление групп внутри молекулы. В названии указывается субстрат, отсоединяемая группа и слово «лиаза». Например, КФ 4.1.1.15. - L-глутамат-1-карбокси-лиаза (глутаматдекарбоксилаза). Или КФ 4.1.2.13. фруктозо-1,6-дифосфат-D-глицеральдегид-3-фосфат-лиаза (альдолаза)



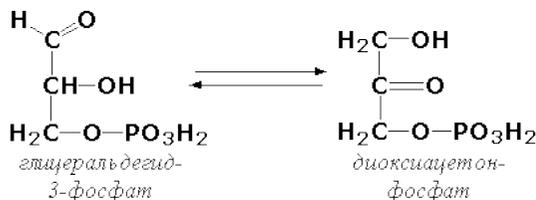
Следует обратить внимание, что сюда входят реакции с отщеплением воды и образованием двойной связи или, наоборот, присоединение воды по двойной связи. Рабочее название этих ферментов – дегидратазы и гидратазы. Если реакция обратима, название может формироваться по обратной реакции.

Например, фермент цикла Кребса фумараза (фумаратгидратаза) имеет международное название – КФ 4.2.1.2 L-малат-гидро-лиаза

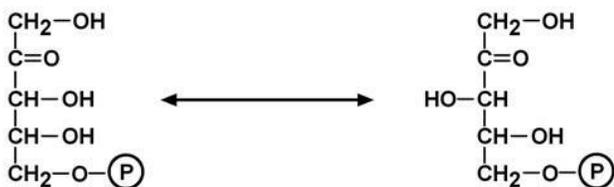


Изомеразы.

Осуществляют взаимопревращения изомеров. Это может быть перемещение групп в пределах молекулы. Рабочее название таких внутримолекулярных трансфераз – мутазы. Например, фосфоглюкомутаза катализирует обратимый перенос фосфатной группы из шестого положения глюкозы в первое. Внутримолекулярные оксидоредуктазы взаимопреращают альдегиды и кетоны, переносят двойные связи. Пример, фермент гликолиза – триозофосфатизомераза.



Рацемазы взаимопревращают стереоизомеры, если у молекулы один асимметричный атом углерода, например, D- и L-изомеры аминокислот. Эпимеразы изменяют конфигурацию у одного из асимметричных атомов. Пример - превращение рибулозо-5-фосфата в ксилулозо-5-фосфат в пентозофосфатном пути превращения углеводов.

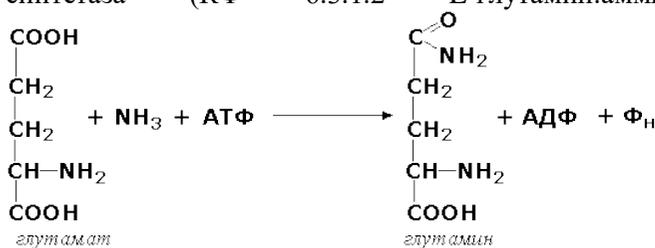


Рибулозо-5-фосфат

Ксилулозо-5-фосфат

Лигазы (синтетазы).

Осуществляют синтез сложных веществ из более простых. Если используется энергия АТФ, то к названиям участвующих молекул прибавляется слово «синтетаза». Например, глутамин-синтетаза (КФ 6.3.1.2 L-глутамин:аммиак-γ-лигаза):



Если в качестве источника энергии выступает другое вещество, употребляется термин «синтаза». Так, первый фермент цикла Кребса, использующий энергию тиоэфирной связи ацетил-КоА, называется цитратсинтаза.

Транслоказы.

Катализируют сопряженные с другими процессами реакции переноса ионов и молекул через мембраны или разделение их внутри мембраны.

Это новый класс, появившийся в августе 2018 года согласно решению международного союза по биохимии и молекулярной биологии. Его появление обусловлено тем, что ни один из существовавших классов не описывает работу ряда мембранных белков. Так, гидролиз АТФ, который осуществляют различные мембранные АТФ-азы, не является главным результатом их деятельности – сопряженного переноса молекул и атомов через мембрану. Соответственно, отнесение их к гидролазам является не корректным. Другим примером может быть АТФ-синтаза, осуществляющая синтез АТФ за счет переноса протонов из межмембранного пространства митохондрий в матрикс. Всего в новом классе семь подклассов.

Свойства ферментов.

Высокая эффективность.

Ферменты работают с очень низкими концентрациями субстратов. Константа связывания для некоторых из них достигает 10^{-10} М.

Ферменты ускоряют реакции в миллионы и миллиарды раз. Один из эффектных примеров – оротидин-5'-фосфат декарбоксилаза, которая за миллисекунды производит химическое превращение, которое в ее отсутствие заняло бы миллионы лет.

Число превращений субстрата одной молекулой фермента за единицу времени называется молярной активностью или *числом оборотов фермента*. Рекордсменом является каталаза, расщепляющая в секунду порядка 40 миллионов молекул перекиси водорода. Такие ферменты, активность которых лимитируется лишь скоростью диффузии субстрата к активному центру, называются *каталитически совершенными*. К ним также относятся триозофосфатизомераза, карбоангидраза, ацетилхолинэстераза и ряд других

Ферментативные процессы характеризуются высокой точностью превращений. ДНК-полимераза в ходе синтеза ДНК допускает одну ошибку на сто миллионов реакций.

Специфичность ферментов.

Термин специфичность в данном случае обозначает избирательность.

Субстратная специфичность.

Это способность фермента катализировать превращение ограниченного круга субстратов. Чем их меньше, тем выше специфичность. Лучшим субстратом будет тот, который сильнее взаимодействует с молекулой фермента. Интенсивность взаимодействия описывается константой связывания или обратной ей константой диссоциации комплекса. Обе характеризуют соотношение свободного и связанного с ферментом субстрата. Чем ниже константа диссоциации, тем сильнее взаимодействие и предпочтительней субстрат.

Некоторые ферменты катализируют превращение одного единственного субстрата. Например, уреaza расщепляет исключительно молекулу мочевины, а лактаза – только молочный сахар. Такая специфичность называется абсолютной.

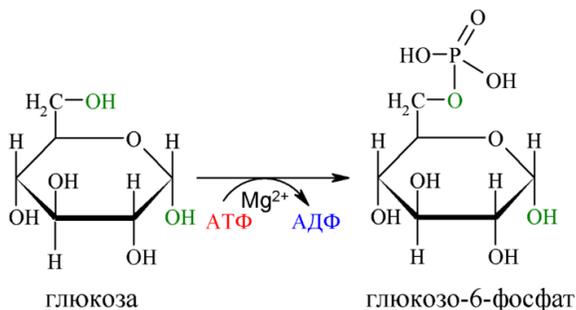
Ряд ферментов обладает относительной или групповой специфичностью, катализируя превращение близких по структуре молекул. Они могут иметь одинаковые функциональные группы, как в случае с алкогольдегидрогеназой, которая окисляет спирты с различной длиной и структурой цепи, или одинаковые химические связи. Пищеварительные ферменты, например, расщепляют пептидные связи в молекулах самых разных белков.

Стереоспецифичность.

Способность ферментов различать стереоизомеры молекул называется стереоспецифичностью.

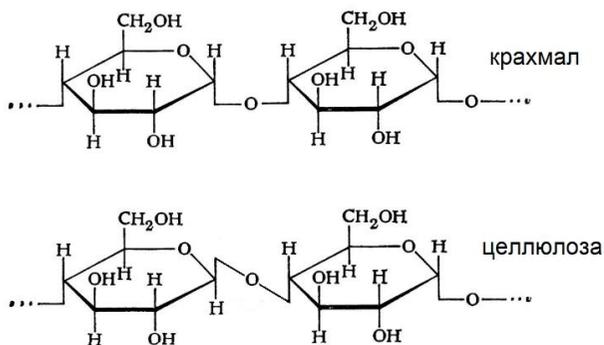
D- и L-изомеры.

Природные аминокислоты относятся преимущественно к L-ряду, а сахара – к D. Ферменты, осуществляющие их превращения, эффективно различают конфигурацию.



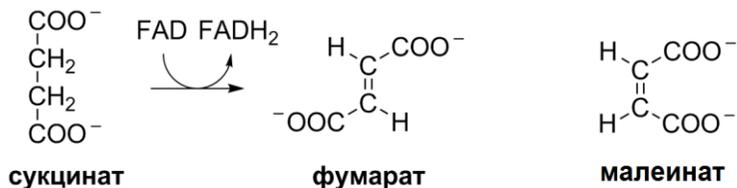
α- и β-аномеры.

Амилаза – фермент, расщепляющий α(1-4)- гликозидные связи крахмала, абсолютно неэффективен в отношении β(1-4)-гликозидных связей целлюлозы.



Цис- транс- изомеры.

Фумараза – фермент цикла Кребса – катализирует превращение фумаровой кислоты и не реагирует с ее цис-изомером – малеиновой кислотой.



Ряд ферментов в ходе эволюции утратили каталитическую активность и играют важную роль в сигнальных каскадах, опосредующих действие биологически активных веществ. Они получили название *псевдоферментов*.

Способность к регуляции.

Молекулы ферментов, как и других белков, обладают лабильностью, то есть способностью реагировать на изменение параметров окружающей среды перестройкой своей трехмерной структуры. Изменение температуры, pH, ионного состава среды, присоединение или отщепление ионов, атомов, молекул приводит к разрыву одних слабых связей в белке и образованию других. Это может привести к увеличению или снижению его биологической активности.

В клетках имеется множество веществ и молекулярных механизмов, с помощью которых они адаптируют активность ферментов к своим потребностям.

Строение ферментов.

Ферменты, как правило, являются глобулярными белками, обладающими третичной или четвертичной структурой. Они могут быть разной величины: от 62 аминокислотных остатков у таутомеразы оксалокротоната до 2500 у синтетазы жирных кислот. Ферменты, состоящие из одной субъединицы, называют *мономерными*, из нескольких – *олигомерными*. Объединение нескольких ферментов, катализирующих последовательные превращения субстратов в метаболической цепи, называется *мультиферментным комплексом*. Такая структура позволяет увеличить скорость процесса и сэкономить ресурсы, поскольку в ходе превращений не происходит выделение промежуточных продуктов в окружающую среду. Примером может быть упомянутая выше синтетаза жирных кислот.

Кофакторы и коферменты.

Некоторые ферменты состоят исключительно из аминокислот, их называют *простыми*. В *сложных* ферментах

присутствуют небелковые компоненты - кофакторы. Это могут быть органические и неорганические молекулы или атомы. Некоторые из них нужны для стабилизации структуры фермента, они могут располагаться в любой части молекулы. Кофакторы, которые присутствуют в активном центре и принимают участие в катализе, называются *коферментами*.

Ряд кофакторов и коферментов прочно связаны с белком, иногда даже ковалентно, как липоевая кислота в пируватдегидрогеназном комплексе или биотин в пируваткарбоксилазе. Чтобы подчеркнуть этот факт, их называют *простетическими группами*.

Иногда, кофермент легко диссоциирует, как НАД, например, освобождаясь после реакции. Фактически он выполняет роль второго субстрата.

В отсутствие кофермента белковая часть называется *апоферментом*. Термин «*холофермент*» употребляют, когда нужно подчеркнуть, что фермент «в сборе», то есть в его составе есть кофермент. Иными словами, холофермент = апофермент + кофермент.

Чаще всего коферментами являются витамины или их производные: ТДФ, ФАД и ФМН, НАД и НАДФ, КоА и 4-фосфопантетеин, ПАЛФ, ТГФ, метил- и 5'-дезоксаденозилкобаламин. Помимо этого, в роли коферментов могут выступать нуклеотиды, например, АТФ; геммы (каталаза, цитохромы, гуанилатциклаза, NO-синтаза и пр.); фосфоаденозилфосфосульфат – донор сульфатных групп; S-аденозилметионин – донор метильных групп; глутатион и др. Следует отметить, что ионы металлов, даже если они принимают участие в катализе, коферментами не считаются.

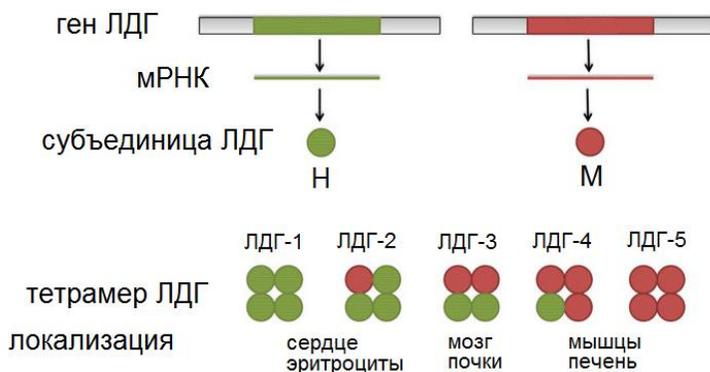
Один и тот же кофермент может принимать участие в работе многих ферментов. Например, НАД – кофермент более чем в тысяче реакций.

Изоферменты.

Существуют множественные формы ферментов, катализирующие одинаковую реакцию, но отличающиеся по строению, кинетическим и регуляторным параметрам. Иногда, отличия формируются за счет модификации белковой молекулы после синтеза. В таком случае говорят об истинно множественных формах. Если множественные формы кодируются разными генами и имеют отличную первичную структуру, их называют изоферментами (изоэнзимами, изозимами).

Изоферменты катализируют одну и ту же реакцию в разных метаболических условиях, в этом их биологическая целесообразность. Например, глюкокиназа печени предназначена для элиминации из крови больших количеств глюкозы, поступающих из кишечника после приема пищи. Изофермент в других тканях (гексокиназа) катализирует ту же реакцию, но лишь для субстратного обеспечения собственных клеток. Глюкокиназа, в отличие от гексокиназы, имеет высокую K_m , что позволяет работать при высоких концентрациях глюкозы, и не ингибируется продуктом реакции.

Хорошим примером, иллюстрирующим формирование изоферментного спектра, является лактатдегидрогеназа. Это тетрамер, построенный из двух типов субъединиц: сердечной - H (от англ. – heart) и мышечной – M (от англ. - muscle). Комбинацией субъединиц образуются пять вариантов фермента: ЛДГ1-ЛДГ5. Каждый из них характерен для определенного органа или ткани.



Определение изоферментного спектра имеет большое значение для диагностики заболеваний. При поражении какого-либо органа в результате гибели клеток в кровь поступает их содержимое. Измерение активности органоспецифичных изоферментов позволяет сделать предположение о локализации патологии. Например, если в крови повышен уровень ЛДГ5, то с большой вероятностью имеет место заболевание печени.

Различия в концентрации субстратов, кофакторов имеют место не только в разных органах и тканях, но и в разных клеточных компартментах. Например, соотношение НАД/НАД.Н в десятки раз отличается в митохондриях и цитоплазме. Это обуславливает существование цитоплазматических и митохондриальных изоформ малатдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы, глицерол-3-фосфатдегидрогеназы и пр.

Проферменты.

Очень многие белки в клетке синтезируются в виде неактивных предшественников, и ферменты – не исключение. После синтеза на рибосоме они далеко не всегда обладают необходимой структурой и активностью. Такие неактивные молекулы называют проферментами. Процесс созревания (процессинг) включает ограниченный протеолиз, химическую модификацию радикалов аминокислот. В качестве примера можно привести протеазы желудочно-кишечного тракта. Они синтезируются в клетках желудка и поджелудочной железы в виде неактивных

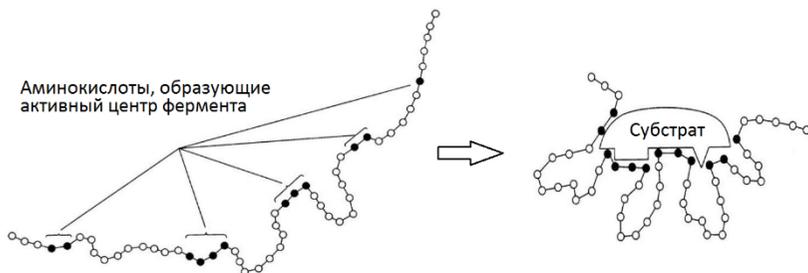
проферментов (пепсиноген, трипсиноген, химотрипсиноген, прокарбокисептидазы, проэластаза, проколлагеназа). Созревание происходит уже в просвете пищеварительной трубки и включает отщепление пептидных фрагментов, после чего происходит изменение трехмерной структуры молекулы и формирование активного центра.

В случае пищеварительных ферментов биологический смысл синтеза ферментов в виде проферментов состоит в том, чтобы защитить образующие их клетки и выстилающие протоки желез от переваривания. В других случаях избыточный пептидный фрагмент (сигнальный пептид) может участвовать в транспорте фермента в какой-либо из клеточных компартментов или на экспорт. Кроме того, процессинг предоставляет дополнительные возможности в регуляции количества активного белка. Чем больше стадий в созревании, тем большее количество регуляторных механизмов может быть применено.

Структура ферментов.

Активный центр.

С субстратом взаимодействует небольшой участок молекулы фермента, называемый активным центром. Он формируется при сворачивания белковой глобулы из аминокислот, часто удаленных друг от друга в полипептидной цепи. Собранные в одном месте, они обеспечивают необходимую комплементарность активного центра, субстрата или субстратов и (в случае их наличия) кофермента. При этом обеспечивается, как стерическое соответствие, так и соответствие по гидрофобным и электростатическим параметрам. Это позволяет различать очень близкие по строению молекулы и осуществлять катализ.



В активном центре выделяют *участок связывания (якорный)* и *каталитический участок*. Первый обеспечивает выбор субстрата, то есть определяет субстратную специфичность, второй отвечает за хемо- и региоселективность и осуществляет катализ.

Аллостерический центр.

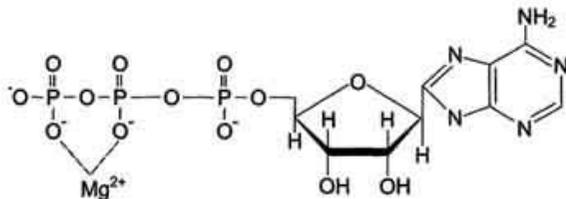
У части ферментов имеется один или несколько участков связывания регуляторов – ингибиторов или активаторов. Они называются аллостерическими центрами, а ферменты их имеющие – аллостерическими ферментами. Эти центры формируются аналогично активному и могут располагаться с ним на одной субъединице или на разных. Связывание регулятора приводит к конформационным перестройкам в молекуле фермента, включая активный центр, и, соответственно к изменению его активности.

Аллостерические ферменты располагаются в ключевых местах метаболических путей: в начале, в местах разветвлений.

Роль металлов в функционировании ферментов.

Металлы, как стабилизаторы субстрата.

Некоторые субстраты образуют комплексы с ионами металлов. АТФ, например, участвует в реакциях в виде комплекса магнием. Последний уменьшает отрицательный заряд фосфатных групп и облегчает образование фермент-субстратного комплекса.

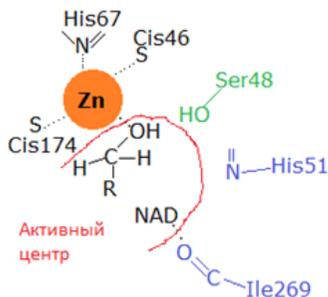


Металлы, как стабилизаторы активного центра.

У некоторых ферментов катионы металлов (реже неметаллов) участвуют в формировании активного центра и катализе. Такие ферменты носят название металлоферментов или металлоэнзимов. Примеры приведены в таблице:

Ион	Примеры ферментов
Магний	Глюкозо-6-фосфатаза, гексокиназа
Марганец	Аргиназа
Железо	Каталаза
Никель	Уреаза
Медь	Цитохромоксидаза
Цинк	Алкогольдегидрогеназа
Молибден	Нитратредуктаза
Селен	Глутатионпероксидаза

На рисунке атом цинка в активном центре алкогольдегидрогеназы



<https://study.com/academy/less/on/alcohol-dehydrogenase-mechanism-pathway.html>

Металлы, как стабилизаторы третичной и четвертичной структуры фермента.

В алкогольдегидрогеназе в каждой из двух субъединиц по два иона цинка. Один из них, как сказано выше, участвует в катализе. Второй необходим для стабилизации третичной структуры.

Металлы – участники окислительно-восстановительных реакций.

Ионы металлов с переменной валентностью могут участвовать в переносе электронов. Многочисленные примеры можно обнаружить в цепи тканевого дыхания, где в переносе участвуют ионы железа и меди.

Металлы, как регуляторы активности ферментов.

Внутри клетки концентрация ионов кальция примерно в семь тысяч раз меньше, чем снаружи. Даже незначительный ее сдвиг приводит к изменению активности многих ферментов. Ионы кальция действуют как непосредственно, так и через кальций-связывающий белок - кальмодулин.

Механизм действия ферментов.

Модели связывания субстрата.

Для объяснения специфичности взаимодействия субстрата и активного центра в 1894 году Эмиль Фишер предложил гипотезу, получившую название «Ключ и замок». Согласно ней, субстрат по своим параметрам должен строго соответствовать активному центру и только в этом случае «ключ провернется и замок откроется», то есть произойдет реакция.

В 1958 году Дэниэл Кошланд усовершенствовал эти представления. Его теория «Индукцированного соответствия» является общепринятой в настоящее время. Активный центр приобретает конфигурацию, необходимую для катализа, только после

взаимодействия с субстратом. Для пояснения этого феномена используется аналогия «Руки и перчатки». Субстрат (рука) придает окончательную форму активному центру – перчатке, которая до того была практически бесформенной.

Механизм катализа.

В присутствии фермента ход реакции видоизменяется. В отличие от некатализируемых реакций, где субстрат превращается непосредственно в продукт, она протекает по «обходному» пути с образованием промежуточных соединений с ферментом. Это позволяет снизить активационный барьер и ускорить процесс.



Где E – фермент, S – субстрат, P – продукт, ES – комплекс фермент-субстрат, ES* – комплекс фермент-субстрат в переходном состоянии, EP – комплекс фермент-продукт.

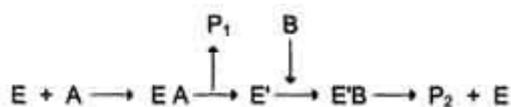
Фактически это серия превращений, каждое из которых протекает как отдельная реакция со своими кинетическими параметрами. Ситуация усложняется в случае наличия нескольких субстратов и кофакторов. Поэтому изучение хода ферментативных реакций представляет собой сложную научную задачу.

Двухсубстратные реакции.

Многие реакции протекают с участием двух и более субстратов. В случае легко диссоциирующего кофермента его также можно рассматривать в качестве второго субстрата. Реакция может протекать по механизму двойного замещения («пинг-понг») или последовательному.

Механизм «Пинг-понг».

Получил название по аналогии с теннисным шариком. Присоединяется первый субстрат (на рисунке – А) – отделяется первый продукт (P₁). Модифицированный первым субстратом фермент (E') присоединяет второй субстрат (В), высвобождает второй продукт (P₂). Фермент возвращается в исходное состояние.



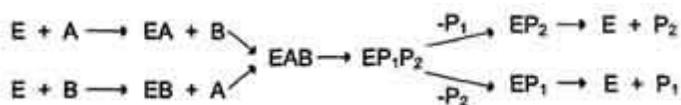
По такому механизму происходит трансаминирование. Оно подробно описано в соответствующем разделе.

Последовательный механизм.

Может быть упорядоченным, когда субстраты присоединяются «по очереди» и только затем образуются продукты.

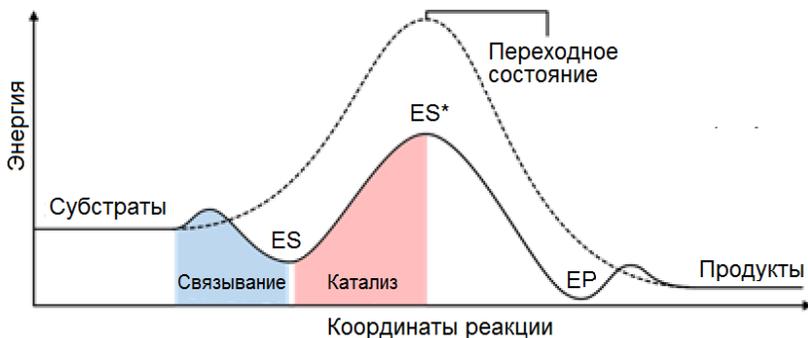


Либо неупорядоченным, в котором присоединение субстратов и высвобождение продуктов происходит в произвольном порядке:



Термодинамика.

Энергия активации - это дополнительная энергия, которую надо сообщить системе, чтобы произошла реакция. В отсутствие катализатора этого можно достичь, например, нагреванием, что увеличивает кинетическую энергию реагентов. Фермент использует другую стратегию - снижает энергию активации, соответственно большее количество молекул могут достичь переходного состояния.



<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=38914684>

Сначала происходит связывание субстрата в активном центре фермента. Этот процесс обратим, не требует больших затрат энергии, а образующийся комплекс ES не способен непосредственно превратиться в продукт. Далее в активном центре происходят процессы, позволяющие стабилизировать фермент-субстратный комплекс в переходном состоянии ES^* . Это состояние характеризуется энергией, достаточной для прохождения реакции. Далее происходит химическое превращение, образуется низкоэнергетический комплекс фермент-продукт EP, из которого высвобождается продукт реакции.

Суммарно изменение свободной энергии системы одинаково для спонтанной и ферментативной реакции. В тех случаях, когда преобразование термодинамически неблагоприятно, фермент может осуществить сопряжение его с благоприятной реакцией, например, с гидролизом АТФ.

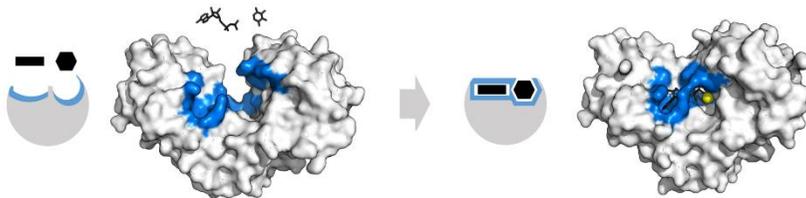
Процессы, проходящие в активном центре.

1. Формирование индуцированного соответствия.

Первоначальное слабое взаимодействие субстрата с активным центром приводит к конформационным перестройкам в молекуле фермента, в результате которых оптимизируется взаимное расположение заряженных групп, гидрофобных и гидрофильных участков, химических связей, подвергающихся атаке. Происходит сближение, ориентация и деформация субстрата

(субстратов) с ослаблением одних связей и усилением других. Формируется состояние фермент-субстратного комплекса с наибольшей энергией и вероятностью образования продукта (продуктов) – переходное.

На рисунке - конформационные изменения в молекуле гексокиназы после связывания субстрата. Синим цветом обозначен связывающий участок, черным – субстраты, желтым – кофактор.



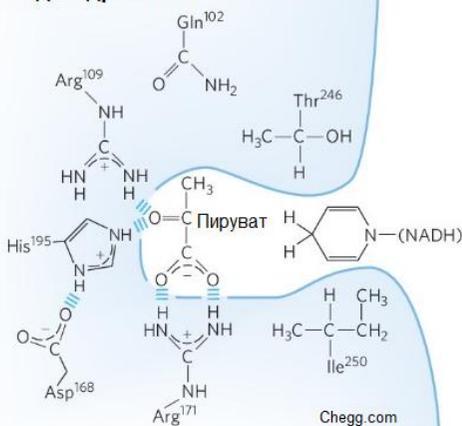
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=45801557>

2. *Стабилизация переходного состояния* достигается с помощью различных стратегий.

Например, в случае кислотно-основного катализа происходит перенос протонов или электронов между группами активного центра и субстрата. В ходе ковалентного катализа образуется ковалентная связь между субстратом и активным центром. В обоих случаях реакция протекает через новое промежуточное состояние, характеризующееся более низкой энергией активации.

На рисунке ниже показано формирование индуцированного соответствия на примере пирувата и активного центра лактатдегидрогеназы. Стабилизация переходного состояния достигается сильной поляризацией карбонильной группы пирувата.

Лактатдегидрогеназа



Ферментативная кинетика.

Скорость реакции.

Определяется по убыли субстрата или количеству образующегося продукта в единицу времени. Измеряется в международных единицах (микромоль вещества, преобразуемого в минуту) и каталах в системе СИ (моль в секунду). 1 катал равен $6 \cdot 10^7$ МЕ.

Поскольку катал это очень большая величина, на практике используют дробные значения. Например, 1 МЕ = 16,67 нанокаталов.

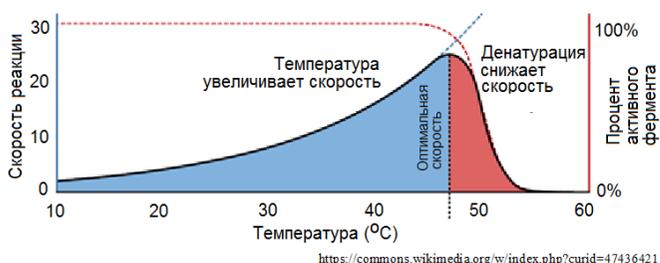
Вместо термина «скорость реакции» часто используют термин - «активность фермента». Это, практически, синонимы.

Факторы, влияющие на скорость реакции.

Температура.

Кривая зависимости скорости от температуры имеет колоколообразную форму. До какого-то момента скорость возрастает, достигает максимума, и, затем, быстро снижается до

нуля. Такая форма графика обусловлена наложением друг на друга двух независимых процессов. С одной стороны, при нагревании увеличивается кинетическая энергия реагентов, и растет скорость превращения. Процесс подчиняется правилу Вант Гоффа, в соответствии с которым при повышении температуры на 10 градусов скорость реакции увеличивается примерно в 2 раза. С другой, - увеличение температуры приводит к нарастающей денатурации фермента и полному ингибированию по достижении критической для него температуры.



Температурный оптимум у большинства ферментов находится в диапазоне 40-50 градусов, однако, бывают и очень термостабильные белки. Например, Таг-полимераза, выделенная из бактерий, живущих в горячих источниках, не теряет активности даже при 95 градусах. Ее обнаружение позволило совершить технологический прорыв в молекулярной биологии, в частности в методе полимеразной цепной реакции (ПЦР).

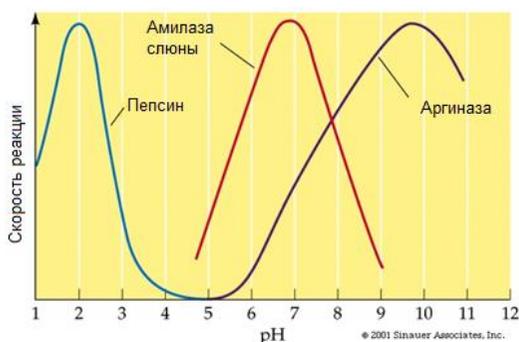
При низких температурах ферментативные процессы сильно замедляются вплоть до полной остановки. На этом основано хранение биологического материала в условиях глубокого замораживания, например, в жидком азоте при -273 градусах Цельсия.

pH

Для каждого фермента имеется pH, при котором его активность максимальна. Чаще всего оптимум лежит в области нейтральных значений, что соответствует параметрам pH в

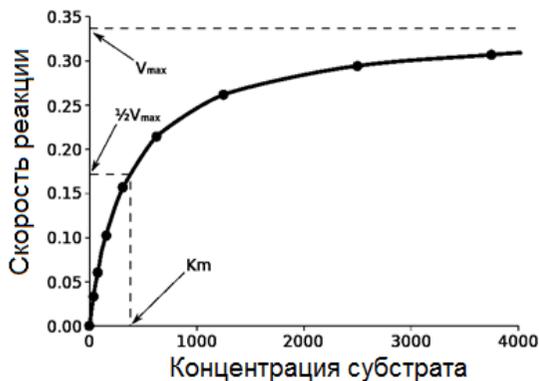
тканях. При отклонении от этого значения активность ферментов прогрессивно снижается. Причина в том, что рН влияет на степень диссоциации заряженных групп в радикалах аминокислот. При этом в молекуле белка разрушаются одни слабые связи и формируются другие. Изменяется конформация молекулы, что приводит к потере биологической активности.

Некоторые ферменты имеют оптимум рН в кислой или щелочной области. Например, пепсин, функционирующий в кислой среде желудка, проявляет максимальную активность при рН 1,5 - 2. В ряде случаев оптимум не удастся объяснить условиями функционирования фермента. Так, у аргиназы он около 10. Возможно, такие ферменты функционируют *in vivo* не в оптимальных условиях, либо в клетке имеются локальные зоны высокого рН.



Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата.

Скорость реакции растет при увеличении концентрации субстрата. На начальном этапе эта зависимость практически линейная. Однако, вскоре прямая пропорциональность исчезает. Добавление субстрата сопровождается все меньшим увеличением скорости. Кривая графика становится полой, стремясь к горизонтальному уровню, но не достигая его.



Такой вид графика обусловлен тем, что в среде содержится ограниченное количество молекул фермента, и при добавлении субстрата происходит постепенное насыщение активных центров. Наступает момент, когда они все заняты, и увеличение концентрации субстрата не приводит к заметному увеличению скорости.

Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата в односубстратной системе была описана Л. Михаэлис и М. Ментен в 1913 году. Уравнение, связывающее основные кинетические параметры системы, носит их имена:

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

Где, v – скорость реакции; V_{\max} – максимальная скорость реакции, к которой стремится система; $[S]$ – концентрация субстрата, K_m – константа Михаэлиса.

V_{\max} и K_m – два важнейших параметра, характеризующих каталитическую эффективность фермента. V_{\max} определяет производительность фермента, - с какой скоростью он способен работать в условиях насыщения субстратом. Значение K_m характеризует сродство фермента к субстрату.

Из графика видно, что K_m – это концентрация субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной. Чем меньше это значение, тем эффективней фермент. Тем выше его способность производить продукт при минимальных концентрациях субстрата.

Еще одной важной константой является каталитическая - K_{cat} , которую называют также *числом оборотов фермента*. Она равна количеству превращений субстрата, осуществляемых одним активным центром за секунду.

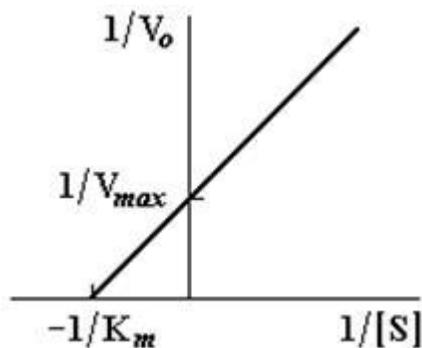
Для сравнения эффективности разных ферментов или одного фермента но с разными субстратами, удобно использовать *константу специфичности* – K_{cat}/K_m . Она отражает и скорость превращения и сродство фермента к субстрату. Ее теоретический максимум это - диффузионный предел, равный 10^8 - 10^9 $M^{-1}\cdotсек^{-1}$. При подобных значениях K_{cat}/K_m превращения субстрата происходят быстрее, чем его диффузия к активному центру. Ферменты, обладающими такими параметрами, называются *кинетически совершенными*. К ним относятся каталаза, фумараза, триозофосфатизомераза, карбоангидраза и некоторые другие.

Кинетические константы некоторых ферментов.

Фермент	K_m, M	$K_{cat} (сек^{-1})$	$K_{cat}/K_m, M^{-1}\cdotсек^{-1}$
Химотрипсин	$1,5 \times 10^{-2}$	0,14	9,3
Пепсин	$3,0 \times 10^{-4}$	0,5	$1,7 \times 10^3$
Рибонуклеаза	$7,9 \times 10^{-3}$	$7,9 \times 10^2$	$1,0 \times 10^5$
Карбоангидраза	$2,6 \times 10^{-2}$	$4,0 \times 10^5$	$1,5 \times 10^7$
Фумараза	$5,0 \times 10^{-6}$	$8,0 \times 10^2$	$1,6 \times 10^8$

Кинетические константы определяются по графикам, построенным на основании экспериментальных данных. Очевидно, что в координатах Михаэлиса-Ментен трудно определить значение V_{max} , поскольку кривая стремится к максимуму, но не достигает его. Эта проблема решается линеаризацией графика. Один из вариантов построения в

двойных обратных координатах носит название авторов, его предложивших, – график Лайнуивера-Берка. Измерить отрезки, отсекаемые на оси абсцисс и ординат, равные $-1/K_m$ и $1/V_{max}$, не составляет труда.



Кинетика Михаэлиса-Ментен справедлива для простейших односубстратных реакций. При наличии множественных форм фермента, нескольких субстратов, нескольких активных центров, у аллостерических ферментов она намного сложнее.

Регуляция активности ферментов.

Способность к регуляции – важнейшая особенность ферментов, позволяющая клеткам, органам и тканям адаптироваться к изменяющимся условиям среды.

Факторы, регулирующие активность ферментов.

1. Изменение количества молекул фермента.

Это может происходить за счет изменения скорости их биосинтеза или деградации. Механизм действия многих гормонов включает регуляцию биосинтеза ферментов. Например, в конце беременности под действием пролактина в молочной железе индуцируется образование лактозосинтазы –

фермента, синтезирующего лактозу. По окончании периода грудного вскармливания индукция прекращается.

2. Изменение концентрации субстратов, продуктов, кофакторов, физических параметров среды (рН, температура).

Недостаток субстрата может лимитировать метаболический путь. Например, дефицит оксалоацетата, возникающий вследствие активации глюконеогенеза, тормозит цитратсинтазную реакцию цикла Кребса и перенаправляет ацетил-КоА на образование кетоновых тел.

Важнейшую роль в регуляции метаболизма играет доступность коферментов. Дефицит окисленного НАД, возникающий в мышце при недостаточном снабжении клеток кислородом, тормозит окисление пирувата в пируватдегидрогеназной реакции и стимулирует его восстановление до лактата.

3. Изменение каталитических свойств ферментов.

Аллостерическая регуляция.

Аллостерические центры ферментов взаимодействуют с различными молекулами, в результате чего конформация белка и активного центра изменяется, каталитическая способность увеличивается, либо снижается. Регуляторами часто выступают промежуточные продукты метаболического пути, в котором задействован фермент, либо молекулы, отражающие энергетический статус клетки или обеспеченность ее субстратами. Так, например, активность ключевого фермента гликолиза – фосфофруктокиназы, подавляется цитратом и АТФ, а стимулируется АДФ. Этот механизм предназначен для регуляции скорости гликолиза в условиях различной обеспеченности клетки энергией.

Белок-белковые взаимодействия.

Этот механизм можно проиллюстрировать на примере рецепторов GPCR, опосредующих действие гормонов и

нейромедиаторов на клеточный метаболизм. Связывание гормона с рецептором приводит к изменению конформации этих трансмембранных белков. Поскольку с цитоплазматической стороны к ним присоединен G-белок, он реагирует диссоциацией на α - и $\beta\gamma$ -субъединицы. α -субъединица далее вступает в контакт с ферментом, образующим вторичный мессенджер, например аденилатциклазой, и изменяет ее активность

Ковалентная модификация.

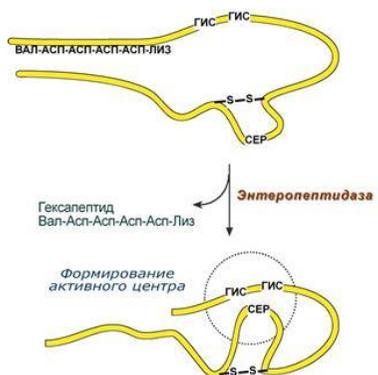
Наиболее универсальна регуляция активности ферментов фосфорилированием-дефосфорилированием. Присоединение либо отщепление фосфатной группы способно «включить» либо «выключить» фермент. Этот механизм, в частности, используется для реципрокной регуляции синтеза и распада гликогена.



<https://biokhimija.ru/uglevody/reguljacija-obmena-glikogena.html>

Ограниченный протеолиз.

Многие ферменты синтезируются в виде неактивных предшественников – проферментов. Их созревание включает процесс ограниченного протеолиза. На рисунке – схема процессинга трипсиногена. Отщепление неактивного гексапептида происходит в просвете ЖКТ с участием фермента энтеропептидазы. После этого фермент приобретает активную конформацию.



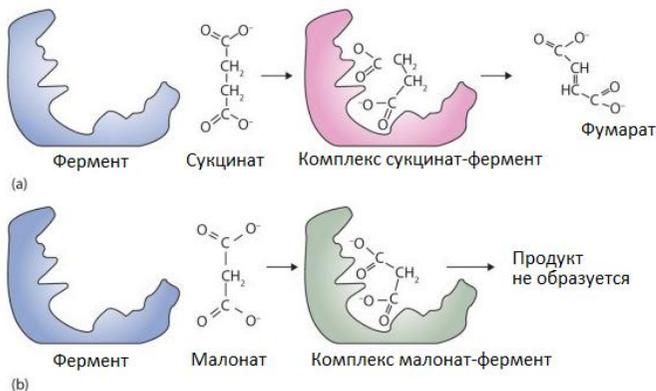
<https://biokhimija.ru/obmen-belkov/v-ki-shechnike.html>

Ингибирование.

Это снижение активности фермента под действием какого-либо фактора. Ингибирование может быть обратимым, если после удаления ингибитора активность фермента восстанавливается, или необратимым. Обратимое ингибирование по своему механизму делится на конкурентное, неконкурентное и бесконкурентное. Необратимое бывает специфическим и неспецифическим.

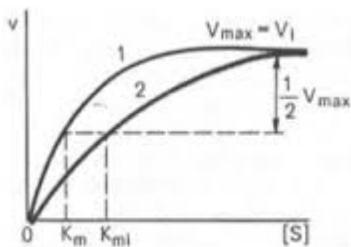
Конкурентное ингибирование.

Имеет место если ингибитор похож по химическому строению на субстрат и конкурирует с ним за связывание в активном центре. Классическим примером является ингибирование сукцинатдегидрогеназы малоновой кислотой.



<https://caenogenesis.livejournal.com/98401.html>

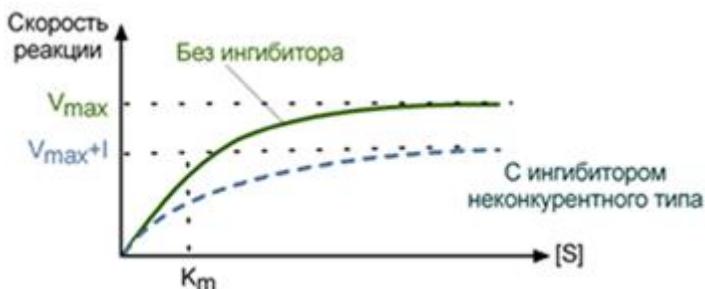
Конкурентный ингибитор снижает сродство фермента к настоящему субстрату. Соответственно, на графике Михаэлиса-Ментен мы увидим более пологую кривую. Значение K_m увеличится, так как необходима большая концентрация субстрата, чтобы достичь $\frac{1}{2} V_{max}$. При дальнейшем росте концентрации субстрата ингибирование преодолевается, и фермент достигает максимальной скорости.



Неконкурентное ингибирование.

Ингибитор связывается не в активном центре, а, например, в аллостерическом. Соответственно, конкуренции с субстратом не будет. На графике кривая скорости с ингибитором расположится ниже исходной. Сродство фермента к субстрату не изменяется, поэтому K_m остается прежним. Максимальная

скорость реакции уменьшается, так как ингибитор ее снижает при любых концентрациях субстрата.

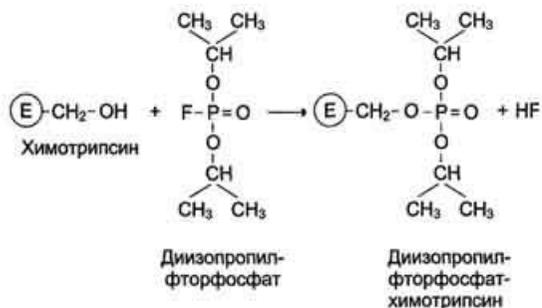


Бесконкурентное ингибирование.

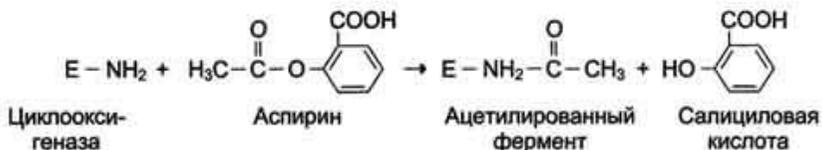
Некоторые ингибиторы не способны взаимодействовать со свободным ферментом и оказывают влияние только на фермент-субстратный комплекс. Их действие максимально при высоких концентрациях субстрата. Такой тип ингибирования достаточно редок. При нем снижается и K_m и V_{max} реакции.

Специфическое необратимое ингибирование.

Этот тип ингибирования предполагает специфичность взаимодействия ингибитора с одним или несколькими ферментами. Примером может служить диизоприпилфторфосфат – ингибитор сериновых протеаз. Эта группа ферментов имеет серин в активном центре, непосредственно участвующий в гидролизе пептидной связи. К сериновым протеазам относятся некоторые пищеварительные ферменты (трипсин, химотрипсин, эластаза) и большая группа белковых факторов свертывания крови. Диизопропилфторфосфат специфически и необратимо ингибирует их, образуя ковалентную связь с серином в активном центре.

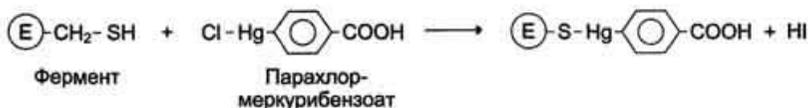
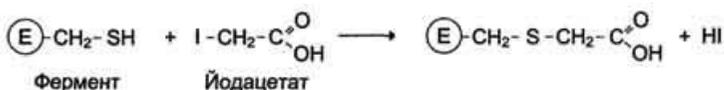


Другим примером может служить ацетилсалициловая кислота (аспирин). Она оказывает противовоспалительное действие за счет ингибирования циклооксигеназы, - фермента, участвующего в синтезе простагландинов из арахидоновой кислоты. Ингибирование осуществляется вследствие ацетилирования концевой аминогруппы пептидной цепи фермента.



Необратимое неспецифическое ингибирование.

Парахлормеркурибензоат, йодацетат реагируют с любой сульфгидрильной группой белка, снижая его активность. Соответственно, их действие неспецифично.



Ингибиторы играют важную роль в регуляции метаболизма. В большинстве случаев это обычные участники биохимических реакций. Например, конечные продукты какого-либо метаболического пути могут являться ингибиторами его начальных реакций. Этот феномен широко распространен и носит название *регуляции по принципу обратной связи*.

Ингибиторы ферментов широко применяются в научных исследованиях. С их помощью была расшифрована последовательность реакций гликолиза, изучена структура и механизм функционирования цепи переноса электронов.

Ингибиторы нашли широкое применение в медицине в качестве лекарств. Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента – каптоприл, эналаприл и пр. используются для лечения артериальной гипертензии. Ингибиторы ксантиоксидазы – аллопуринол, фебуксостат лечат подагру. Симвастатин, аторвастатин и целый ряд аналогичных препаратов под общим названием «статины» тормозят синтез холестерина за счет ингибирования ключевого фермента – 3-гидрокси-3-метил-глутарил-КоА-синтетазы и используются в терапии атеросклероза.

Перечень таких лекарственных средств очень велик.

Энзимопатии.

Это большая группа болезненных состояний, которые развиваются в результате снижения или отсутствия активности какого-либо фермента. Чаще всего это врожденная патология, возникающая вследствие дефектности гена или нарушения его экспрессии. В качестве примера можно привести фенилкетонурию – наследственное заболевание, при котором в печени отсутствует активность фенилаланин-4-гидроксилазы – фермента, синтезирующего тирозин из фенилаланина. При этом накапливаются токсические продукты – фенилмолочная, фенилпириовиноградная, фенилуксусная кислоты, приводящие к тяжелому поражению центральной нервной системы.

ДИНАМИЧЕСКАЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ.

Общая характеристика обмена веществ и энергии.

Клетка представляет собой открытую систему, которая обменивается с окружающей средой потоками вещества, энергии и информации. Совокупность процессов превращения веществ и энергии в организме называется обменом веществ и энергии. Он делится на три этапа:

- 1) переваривание и всасывание питательных веществ;
- 2) промежуточный обмен или метаболизм - совокупность химических превращений веществ, протекающих в живом организме с момента их всасывания;
- 3) выведение конечных продуктов обмена.

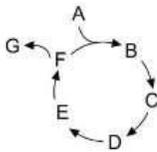
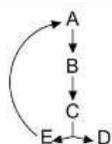
Организация метаболизма.

Субстрат – вещество, вступающее в реакцию. *Продукт* – вещество, образующееся в ходе реакции. Одно и то же вещество может выступать в качестве субстрата и продукта в различных реакциях. Последнее вещество в цепи превращений называется *конечным продуктом*. *Промежуточные продукты* метаболического пути называются *метаболитами* или его *интермедиатами*.

Последовательность превращений какого-либо вещества называется *метаболическим путем*. Метаболические пути могут иметь линейную, разветвленную, циклическую и спиральную форму.

В метаболическом пути может быть много реакций, например, в аэробном гликолизе – десять. Все они катализируются белками - ферментами. Каждая из них имеет свои особенности протекания и регуляции. Скорость всего пути ограничивается самой медленной стадией, которая называется *лимитирующей*. Ферменты, катализирующие такую реакцию носят название *ключевых*. Например, ключевым ферментом гликолиза является

фосфофруктокиназа, а превращение фруктозо-6-фосфата во фруктозо-1,6-дифосфат является лимитирующей стадией.

Схема	Название	Пример
$A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow D \rightarrow E$	Линейный	Гликолиз
$A \rightarrow B \rightarrow C \begin{cases} \rightarrow D \rightarrow E \\ \rightarrow F \rightarrow G \end{cases}$	Разветвлённый	Синтез нуклеотидов
	Циклический	Цикл трикарбоновых кислот Синтез мочевины
	Спиральный	β -окисление жирных кислот

Этапы метаболизма.

В метаболизме условно выделяют два разнонаправленных процесса: катаболизм (диссимиляция, энергетический обмен) – распад сложных веществ до более простых и анаболизм (ассимиляция, пластический обмен) – синтез сложных веществ из более простых. Примером катаболического пути может быть расщепление глюкозы в реакциях гликолиза или жирных кислот в ходе β -окисления. Синтез белка, нуклеиновых кислот – пример анаболического процесса.

Разделение носит условный характер, так как в ходе катаболизма могут образовываться исходные вещества для биосинтетических процессов. Например, промежуточный продукт гликолиза – фосфодиоксиацетон необходим для синтеза липидов, а 3-фосфоглицерат служит исходным субстратом для синтеза серина, глицина и цистеина.

Метаболические пути, играющие роль как в катаболических, так и анаболических превращениях, называются амфиболическими. Характерным примером является цикл Кребса. Многие из промежуточных продуктов этого терминального пути окисления рекрутируются в различные анаболические процессы. Сукцинил-КоА исходный продукт для биосинтеза порфиринов, оксалоацетат, α -кетоглутарат – аминокислот. Оксалоацетат – промежуточное звено в биосинтезе глюкозы.

Катаболические пути – источник энергии, которая в дальнейшем используется для протекания анаболических реакций и поддержания жизнедеятельности организма в целом.

Стадии катаболизма.

1. Подготовительная, в ходе которой белки расщепляются до аминокислот, углеводы до глюкозы, а жиры – до глицерина и жирных кислот. Механизм этих реакций – гидролитический, энергии выделяется мало – не более одного процента, и она рассеивается в виде тепла.

Следует отметить, что подготовительная стадия катаболизма напоминает первую стадию обмена веществ. И там и там происходит расщепление белков, жиров и углеводов до более простых молекул. Однако, это подобие кажущееся, поскольку в случае катаболизма, это внутриклеточный процесс и касается он не питательных веществ, а молекул внутри клетки. Например, углеводом, расщепляющимся до глюкозы, может быть гликоген. Запасные жиры в клетках расходуются при голодании или физической нагрузке. Белки при голодании могут расходоваться для биосинтеза глюкозы. Кроме того, любая молекула, органоид или клетка в организме имеет свою продолжительность жизни, по

истечении которой она разрушается, а ее составные части реутилизируются.

2. Стадия образования общего продукта – ацетил-КоА.

Глюкоза расщепляется до пирувата в ходе процесса под названием «гликолиз». Жирные кислоты превращаются в ацетил-КоА в ходе «β-окисления». Глицерин окисляется до промежуточного продукта гликолиза. Катаболизм аминокислот индивидуален для каждой из этих молекул. Упрощенно, часть из них превратится в пируват, часть в ацетил-КоА, часть пополнит интермедиаты цикла Кребса. Окислительное декарбоксилирование пирувата, которое, ориентируясь по схеме, можно ошибочно отнести ко второй стадии, на самом деле является общим путем в окислении углеводов, жиров (глицерина) и аминокислот и, поэтому, относится к терминальному окислению.

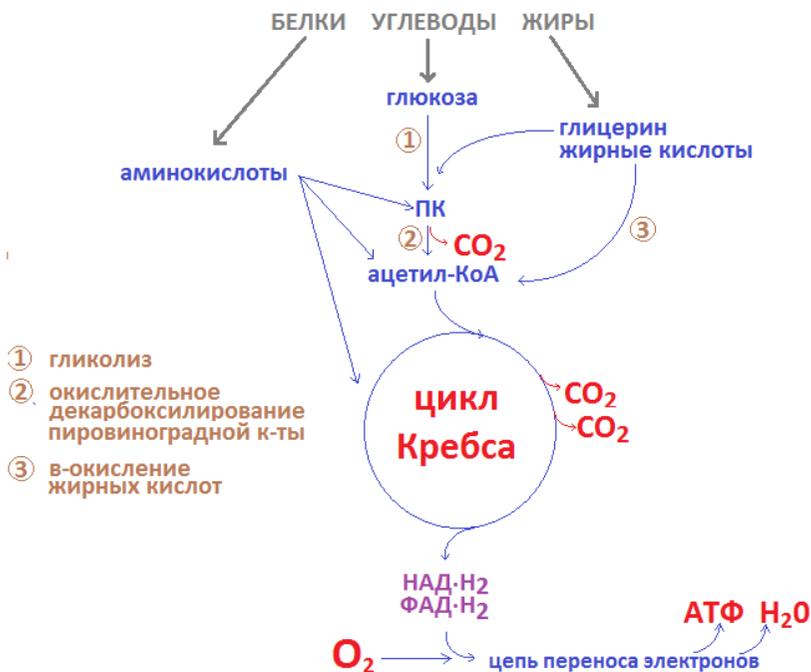
В ходе второй стадии катаболизма выделяется около 30% энергии.

3. Терминальное окисление, в ходе которого образуются конечные продукты обмена – углекислый газ и вода, накапливается и запасается в виде химических связей молекул основная часть энергии.

В терминальное окисление входят три основных процесса, протекающие в митохондриях:

- Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты;
- Цикл трикарбоновых кислот (Кребса)
- Цепь тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования.

В цикле Кребса атомы углерода ацетил-КоА окисляются до углекислого газа.



Энергия, выделяющаяся в ходе второй и третьей стадий катаболизма, аккумулируется в основном в виде восстановленных никотинамидных и флавиновых коферментов (НАД·Н и ФАД·Н₂). В цепи переноса электронов эти молекулы окисляются с образованием АТФ и второго конечного продукта обмена веществ – воды.

В третьей стадии выделяется наибольшее количество энергии - около 70%. Эффективность запасаения энергии, образующейся в ходе катаболизма, составляет около 56%. В основном это происходит в форме АТФ.

Регуляция обмена веществ.

Имеется несколько уровней регуляции обмена веществ. Первый реализуется на уровне клеточного метаболизма. Активность ферментов регулируется доступностью субстратов и кофакторов, pH среды. Может регулироваться количество молекул фермента, вследствие изменения скорости синтеза или деградации, и его функциональная активность, зависящая от химической модификации белка, присутствия активаторов или ингибиторов.

У животных и человека имеются еще два уровня регуляции – эндокринный и нервный. Первый реализуется за счет гормонов – специальных молекул, образуемых железами внутренней секреции, отдельными специализированными клетками либо их группами. Второй – за счет нейромедиаторов - веществ, выделяемых нервными окончаниями. Оба типа эффекторов оказывают свое действие на уровне регуляции ферментативных реакций в клетках-мишенях.

Наиболее частой мишенью для регуляторных воздействий являются ключевые ферменты.

ОБМЕН УГЛЕВОДОВ

Переваривание углеводов.

Перевариваемые углеводы поступают в организм в основном в виде полисахаридов (крахмал), дисахаридов (лактоза, сахароза), свободной глюкозы и фруктозы.

Ротовая полость.

Переваривание начинается в ротовой полости под действием α -амилазы, вырабатываемой преимущественно околоушными слюнными железами. α -амилаза относится к эндогликозидазам и беспорядочно гидролизует $\alpha(1-4)$ гликозидные связи внутри молекулы. При этом образуются декстрины различных размеров. В активном центре α -амилазы расположен ион кальция. Кроме того, она редкий пример белка, активируемого анионами, в данном случае – ионом хлора.

Желудок.

α -амилаза инактивируется кислым содержимым желудка, однако внутри сглатываемых пищевых комочков она может сохранять активность до часа. В результате ее доля в переваривании крахмала достигает 30-40%. Других амилалитических ферментов в желудке нет.

12-перстная кишка.

В нее открывается проток поджелудочной железы, по которому в полость кишки поступает слабощелочной секрет, содержащий высокую концентрацию α -амилазы. Она идентична по свойствам амилазе слюны, но учитывая происхождение, ее называют панкреатической амилазой (pancreas, лат. - поджелудочная железа). Гидрокарбонаты секрета нейтрализуют поступающие из желудка кислые порции его содержимого, создавая для α -амилазы оптимальный pH. Расщепление $\alpha(1-6)$ гликозидных связей осуществляют два дополнительных фермента: амило-1,6-гликозидаза и олиго-1,6-гликозидаза. В результате действия этих трех ферментов крахмал превращается в мальтозу практически до выхода в тощую кишку. Моно- и дисахариды следуют через эти отделы ЖКТ транзитом.

Тонкий кишечник.

Здесь перевариваются ди- и трисахариды, образовавшиеся в 12-перстной кишке и поступившие с пищей. Пищеварение в тонком кишечнике носит название пристеночного, поскольку осуществляется ферментами, локализованными на мембранах энтероцитов.

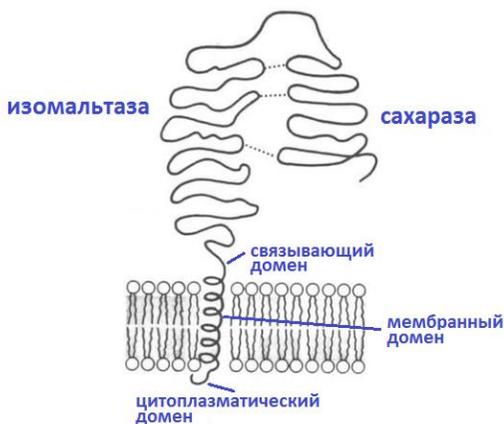
Стенка кишки имеет складки, они покрыты множеством выростов - ворсинок. На один квадратный миллиметр поверхности приходится до сорока ворсинок. Эпителиальные клетки на ворсинках покрыты микроворсинками. Из-за характерного вида под микроскопом эта структура получила название щеточной каемки. Такая организация стенки кишки позволяет увеличить площадь поверхности, которая у человека достигает величины в

200 квадратных метров, ускорить переваривание и всасывание нутриентов.

На мембране микроворсинок расположены четыре основных гликозидазы.

Сахарозо-изомальтазный комплекс (сахараза) гидролизует $\alpha(1-2)$ -, $\alpha(1-4)$ -, $\alpha(1-6)$ -гликозидные связи и расщепляет сахарозу, мальтозу, мальтотриозу и изомальтозу. Это единственный фермент в кишечнике расщепляющий сахарозу. Кроме того, на этот комплекс приходится 80% мальтазной активности кишечных гликозидаз.

Фермент имеет доменную структуру, причем сахаразная и изомальтазная активность локализованы в отдельных доменах.



β -гликозидазный комплекс (лактаза) расщепляет лактозу на глюкозу и галактозу. Активность этого фермента снижается с возрастом, достигая у взрослых лишь 10% от первоначальных значений. Это является наиболее частой причиной непереносимости молока.

Гликоамилазный комплекс является экзогликозидазой, которая отщепляет концевые остатки с нередуцирующего конца олигосахаридов и обладает мальтазной активностью.

Трегалаза. Гидролизует $\alpha(1-1)$ -гликозидную связь в молекуле трегалозы. Этот дисахарид содержится в грибах.

Пищевые волокна.

Существенную часть пищи составляют неперевариваемые углеводы. Другое название – клетчатка, пищевые волокна. Они делятся на растворимые (мягкие) и нерастворимые (грубые) волокна. Растворимые образуют в кишечнике гель (пектины, камеди, декстраны, слизи, некоторые фракции гемицеллюлозы), нерастворимые (целлюлоза, лигнин, некоторые гемицеллюлозы) проходят кишечник транзитом, сорбируя различные вещества.

Пищевые волокна частично перевариваются микроорганизмами в толстом кишечнике. Так целлюлоза расщепляется на 30-40%, гемицеллюлоза - на 60-84%, пектиновые вещества - на 35%. В основном продукты расщепления используются микроорганизмами для собственных нужд и лишь 1% достается клеткам макроорганизма. Тем не менее, пищевые волокна выполняют в кишечнике другие важные функции.

1. За счет высокой гидрофильности пищевые волокна формируют консистенцию и объем каловых масс, нормализуют стул.

2. Воздействуя на механорецепторы кишечной стенки, стимулируют перистальтику кишечника, регулируют продвижение содержимого.

3. Нормализуют моторную функцию желчевыводящих путей.

4. Усиливают секрецию ферментов.

5. Выполняют роль естественных энтеросорбентов, связывая и выводя билирубин, желчные кислоты, экзо- и эндотоксины, тяжелые металлы.

6. Служат субстратом и источником питания для микрофлоры кишечника, которая синтезирует полезные для организма человека вещества: витамины В1, В2, В6, РР, фолиевую кислоту; незаменимые аминокислоты.

Пищевые волокна считаются в настоящее время необходимым компонентом пищи.

Всасывание моносахаридов.

Активный транспорт.

Глюкоза и галактоза из просвета кишечника попадает в энтероцит по механизму активного транспорта совместно с ионами натрия. Осуществляют этот процесс натрий-глюкозный котранспортер SGLT1 (англ. sodium-dependent glucose cotransporter). Транспорт осуществляется в том числе против градиента концентрации глюкозы, что позволяет максимально полно удалить ее из просвета кишки.

Механизм транспорта включает два взаимосвязанных процесса. Na,K-АТФаза, использует энергию гидролиза одной молекулы АТФ для переноса трех ионов натрия наружу и двух ионов калия внутрь клетки. Образовавшийся градиент концентрации ионов натрия используется белком-транспортером для переноса внутрь сахара. Такой тип активного транспорта называется вторичным, в отличие от первичного, где энергия расходуется непосредственно на сам перенос. На белке имеется два центра связывания, один для глюкозы, второй - для иона натрия, причем первым связывается ион металла. Далее происходит конформационная перестройка молекулы переносчика и оба соединения освобождаются внутри клетки. Совместный активный перенос двух молекул называется симпорт.

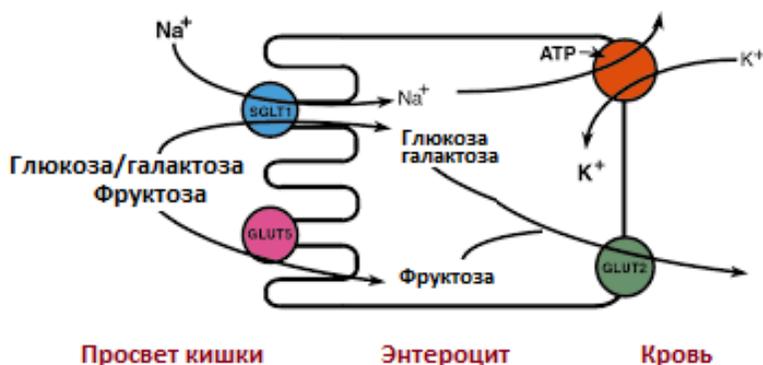
Переносчики SGLT1 и SGLT2 участвуют, также, в реабсорбции глюкозы в почечных канальцах.

Облегченная диффузия.

В отличие от глюкозы и галактозы, всасывание фруктозы происходит по механизму облегченной диффузии. Движущей силой переноса является градиент концентрации вещества, энергия АТФ при этом не расходуется. Транспорт по градиенту концентрации в обоих направлениях осуществляют белки GLUT (англ. glucose transporter). Глюкозный транспортер при связыва-

нии моносахарида претерпевает конформационное изменение, в результате которого сахар переносится через мембрану и освобождается внутри или снаружи клетки. В настоящее время известно 13 различных транспортеров этого типа, отличающихся специфичностью и тканевой локализацией. Перенос фруктозы внутрь энтероцита выполняет GLUT5, транспорт глюкозы, галактозы и фруктозы из клеток слизистой кишечника в просвет кровеносных сосудов осуществляет GLUT2.

Схема всасывания моносахаридов



Глюкозные транспортеры этого типа далее осуществляют перенос глюкозы из крови в клетки. В нервной ткани эту функцию выполняет GLUT1 и GLUT3, в печени – GLUT2, в жировой и мышечной – инсулинзависимый GLUT4. В отсутствие инсулина транспортер удаляется с поверхности мембраны в цитоплазматические везикулы, и транспорт глюкозы прекращается.

Промежуточный обмен углеводов включает следующие процессы:

1. Аэробный и анаэробный гликолиз – расщепление глюкозы до пирувата, либо лактата.
2. Взаимопревращения моносахаридов.
3. Глюконеогенез – синтез глюкозы из неуглеводных источников.
4. Пентозофосфатный цикл

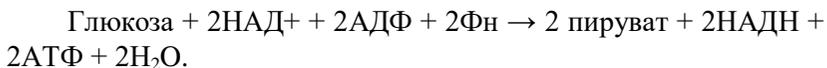
5. Гликогенолиз – распад гликогена
 6. Гликогенез – синтез гликогена.



Гликолиз

Гликолиз (путь Эмбдена — Мейергофа — Парнаса) – универсальный путь окисления глюкозы. В аэробных условиях протекает в десять стадий с образованием двух молекул пировиноградной кислоты (аэробный гликолиз). При недостаточном снабжении ткани кислородом (например, в работающей мышце) добавляется одиннадцатая реакция, и процесс заканчивается образованием двух молекул молочной кислоты. В этом случае путь носит название анаэробного гликолиза.

Суммарное уравнение аэробного гликолиза:



Из него следует, что помимо пирувата в ходе гликолитического окисления глюкозы образуется две молекулы восстановленного НАД и две молекулы АТФ.

Суммарное уравнение анаэробного гликолиза:



Несмотря на то, что итогом является образование всего двух молекул АТФ, биологическая значимость процесса состоит в том, что он позволяет накапливать энергию в отсутствие кислорода и без митохондриальной цепи переноса электронов.

Молочная кислота является метаболическим тупиком и единственный путь ее утилизации состоит в превращении обратно в пировиноградную кислоту. Эта реакция протекает в органах и тканях, лучше снабжающихся кислородом, в основном – в печени, куда молочная кислота доставляется с током крови.

Первые пять реакций гликолиза составляют подготовительный этап, в ходе которого энергия не накапливается. Последующие пять реакций сопряжены с образованием энергоемких молекул.

Все реакции протекают в цитоплазме.

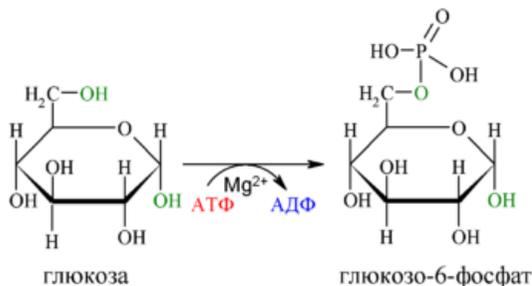
Подготовительный этап

Реакция 1: фосфорилирование глюкозы.

В первой реакции глюкоза фосфорилируется в шестом положении с образованием глюкозо-6-фосфата. Источником фосфатной группы и энергии, необходимой для протекания этой реакции, является АТФ.

Реакция необратима и катализируется ферментом гексокиназой. Требуется наличие ионов магния, частично нейтрализующего отрицательный заряд фосфатных групп АТФ в активном центре фермента. Помимо глюкозы, гексокиназа может фосфорилировать фруктозу и маннозу.

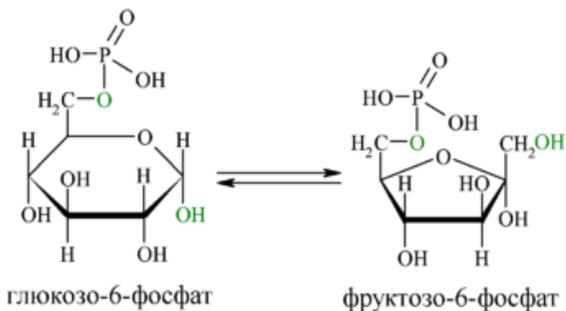
В печени реакцию катализирует изофермент, имеющий отдельное название – глюкокиназа. Она отличается кинетическими и регуляторными свойствами, что связано с особой ролью печени в регуляции гликемии.



В клеточной мембране располагаются белки - транспортеры глюкозы, которые позволяют ей перемещаться в обе стороны по градиенту концентрации. Фосфорилирование глюкозы позволяет удержать ее внутри клетки («ловушка для глюкозы»), поскольку переносчики не транспортируют глюкозо-6-фосфат.

Реакция 2: изомеризация глюкозо-6-фосфата

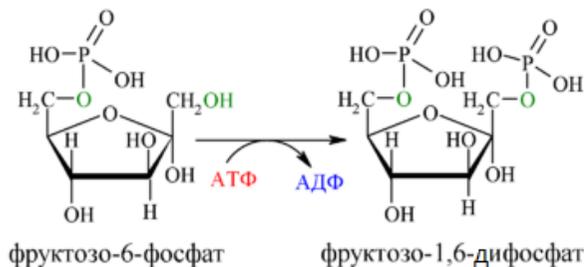
Изомеризацию глюкозо-6-фосфата во фруктозо-6-фосфат осуществляет фермент – фосфогексоизомеразы.



Реакция обратима и подготавливает молекулу к дальнейшим преобразованиям. Перемещение карбонильной группы во второе положение необходимо для последующего расщепления молекулы на две триозы. Образовавшаяся гидроксильная группа в первом положении фосфорилируется в ходе следующей реакции.

Реакция 3: фосфорилирование фруктозо-6-фосфата

Превращение катализируется фосфофруктокиназой. В ходе его расходуется вторая молекула АТФ. Реакция образования фруктозо-1,6-дифосфата необратима и является ключевой в гликолизе.

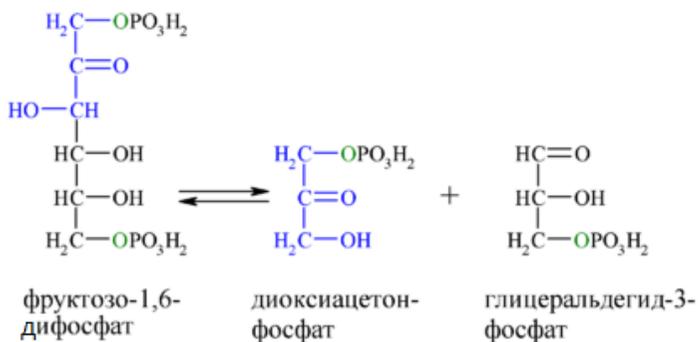


Фермент имеет несколько аллостерических центров регуляции, позволяющих адаптировать скорость гликолитического расщепления к меняющимся условиям клеточного метаболизма.

Реакция 4: расщепление фруктозо-1,6-дифосфата

Альдолаза расщепляет фруктозо-1,6-дифосфат на две триозы:

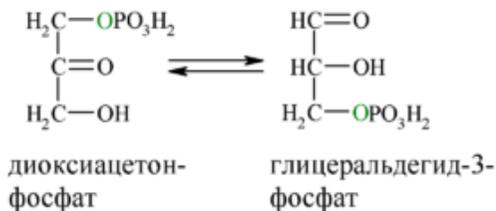
глицеральдегид-3-фосфат и диоксиацетонфосфат (фосфодиоксиацетон).



Реакция обратима. По механизму она представляет собой альдольную конденсацию.

Реакция 5: изомеризация триозофосфатов

Образовавшиеся триозофосфаты с легкостью изомеризуются друг в друга в ходе обратимой реакции, катализируемой триозофосфатизомеразой



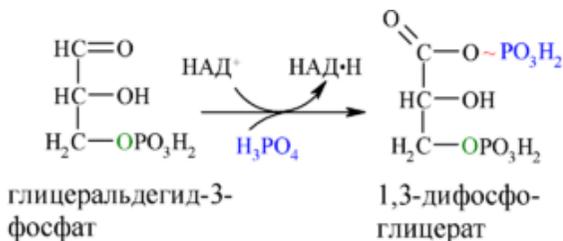
Равновесие сминуто в сторону диоксиацетонфосфата. Доля глицеральдегид-3-фосфата составляет всего 5%, однако именно он участвует в дальнейших превращениях. По мере его использования диоксиацетонфосфат изомеризуется, поддерживая концентрацию глицеральдегид-3-фосфата. В конечном итоге окислению подвергнутся оба триозофосфата, поэтому при расчете эффективности гликолиза энергетические бонусы, полученные от окисления глицеральдегид-3-фосфата, следует не забывать умножать на два.

Этап 2, сопряженный с накоплением энергии.

Во второй половине гликолитического пути две реакции сопровождаются биосинтезом АТФ, и в ходе одной образуется восстановленный НАД.

Реакция 6: окисление глицеральдегид-3-фосфата

Карбонильная группа глицеральдегид-3-фосфата окисляется в карбоксильную и фосфорилируется. Реакцию катализирует глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа.

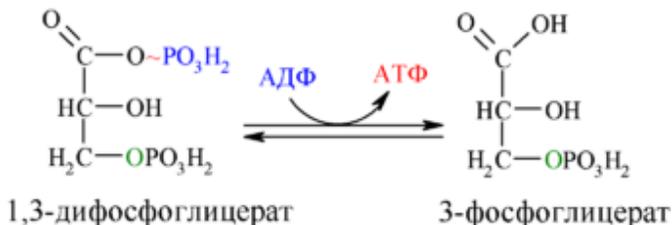


Для фосфорилирования используется неорганический фосфат, а не АТФ, как в начальных реакциях гликолиза. Часть энергии окисления альдегидной группы идет на образование ацилфосфатной макроэргической связи. Кроме того, в ходе реакции образуется молекула восстановленного НАД, которая в цепи тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования теоретически может дать три молекулы АТФ.

В условиях относительного недостатка кислорода образующийся в этой реакции НАДН используется для восстановления пирувата в лактат в последней одиннадцатой реакции анаэробного гликолиза. Это позволяет генерировать окисленный НАД, без которого гликолиз неизбежно застыл бы на этой стадии.

Реакция 7: перенос фосфатной группы с 1,3-дифосфоглицерата на АДФ

Фермент фосфоглицераткиназа разрывает макроэргическую связь, освобождая 3-фосфоглицерат, и использует фосфат и выделившуюся при гидролизе энергию для синтеза АТФ.



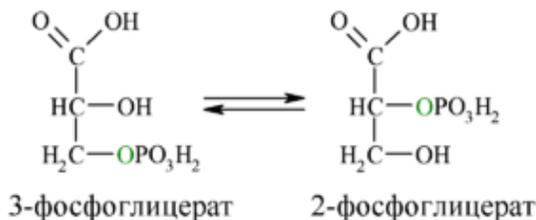
Синтез АТФ за счет переноса фосфата с какого-либо субстрата на АДФ называется субстратным фосфорилированием, в

отличие от окислительного, которое протекает в митохондриях. Фосфоглицераткиназная реакция - один из трех примеров субстратного фосфорилирования, с которыми мы познакомимся.

Реакция обратима и используется в обратном направлении в ходе глюконеогенеза.

Реакция 8: превращение 3-фосфоглицерата в 2-фосфоглицерат

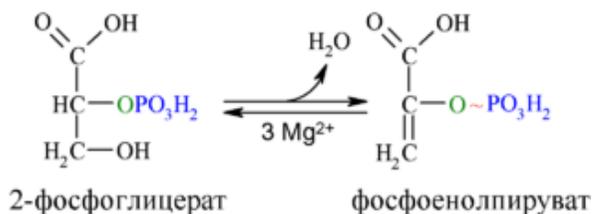
Мутазы – разновидность изомераз, которые переносят группы атомов в пределах одной молекулы. Фермент фосфоглицератмутаза переносит фосфатную группу из третьего положения 3-фосфоглицерата во второе, образуя 2-фосфоглицерат.



Реакция обратима и требует присутствия ионов магния.

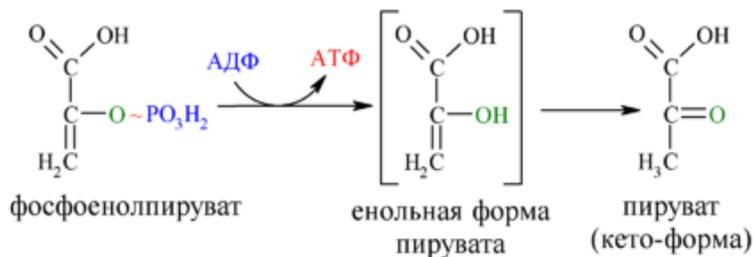
Реакция 9: дегидратация 2-фосфоглицерата

Енолаза катализирует обратимую дегидратацию 2-фосфоглицерата с образованием второго в гликолизе макроэргического соединения - фосфоенолпирувата.



Реакция 10: перенос фосфата с фосфоенолпирувата на АДФ

Пируваткиназная реакция – второй пример субстратного фосфорилирования. В ходе этой реакции фосфатная группа фосфоенолпирувата переносится на АДФ. Образуются АТФ и пируват.



Реакция необратима и нуждается в ионах калия и магния. В ходе ее образуется промежуточная енольная форма пирувата, которая спонтанно изомеризуется в кето-форму.

Транспорт НАДН в митохондриях.

В глицеральдегид-3-фосфатной реакции требуется постоянный приток окисленного НАД. Для этого образовавшийся в ходе реакции НАДН должен окислиться в цепи переноса электронов в митохондриях. Поскольку мембрана митохондрий не проницаема для никотинамидных коферментов, существуют специальные челночные механизмы, позволяющие обойти это затруднение.

Глицерофосфатный челнок.

Основан на превращениях фосфодиоксиацетона и глицерол-3-фосфата в глицерол-3-фосфатдегидрогеназной реакции.

В цитоплазме НАДН реагирует с фосфодиоксиацетоном. Образовавшийся глицерол-3-фосфат переносится через мембрану и под действием митохондриального изофермента окисляется. Фосфодиоксиацетон возвращается в цитоплазму. В этом механизме часть энергии НАДН теряется, так как коферментом

митохондриальной глицерол-3-фосфатдегидрогеназы является ФАД.



Малат-аспартатный челнок.

В основе лежит малатдегидрогеназная реакция, катализируемая цитоплазматическим и митохондриальным изоферментами.

В цитоплазме оксалоацетат с участием НАДН восстанавливается до малата. Последний проникает через мембрану и в обратной реакции высвобождает НАДН внутри митохондрий.

Сложность заключается в том, что возврат оксалоацетата напрямую не возможен. Для обхода используется реакция трансаминирования. Оксалоацетат в митохондриях превращается в аспартат, проникает через мембрану и вновь трансаминируется в цитоплазме.

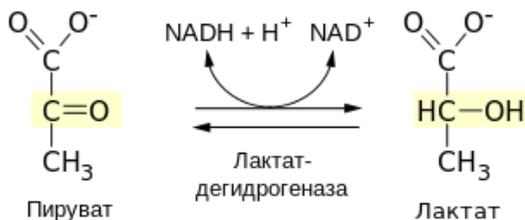
Для глутамата и α -кетоглутарата, которые принимают участие в этом процессе, мембрана проницаема.

Анаэробный гликолиз

При нормальном кислородном режиме пируват подвергается дальнейшим превращениям в реакциях окислительного декарбоксилирования и цикла Кребса. Окисленный НАД эффективно регенерируется в цепи тканевого дыхания, что поддерживает ход глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназной реакции. В условиях относительного анаэробноза окисление НАДН в митохондриях прекращается. Для того, чтобы гликолиз не остановился, восстановленный НАД направляется на восстановление пирувата до молочной кислоты. Этой дополнительной одиннадцатой реакцией, анаэробный гликолиз отличается от аэробного. Она позволяет получить окисленный НАД для глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназной реакции в условиях дефицита кислорода.

Реакция 11: восстановление пирувата в лактат.

Фермент катализирует обратимое превращение в соответствии со схемой



В условиях клетки направление реакции зависит от соотношения НАД/НАДН и концентрации субстратов. Кроме того, фермент существует в пяти изоформах, имеющих различные кинетические свойства, и метаболизм пирувата зависит от изоферментного спектра ткани.

Лактатдегидрогеназа представляет собой тетрамер, состоящий из субъединиц двух типов: М (от англ. muscle) и Н (от англ. heart). Изоферменты ЛДГ-1 (Н₄) и ЛДГ-2 (Н₃М₁) имеют низкое сродство к пирувату и проигрывают в конкуренции за субстрат с

Регуляция гликолиза

Регуляция на уровне гексокиназы.

Гексокиназа и глюкокиназа (изофермент печени) отличаются по двум параметрам: по K_m для глюкозы (сродство к субстрату) и по способности ингибироваться продуктом реакции. K_m гексокиназы мышечной ткани равна 0,1 мМ и при концентрации глюкозы в крови 3,3-6 мМ работает в условиях полного насыщения субстратом, с максимальной скоростью направляя его в гликолиз. Этот изофермент чувствителен к уровню глюкозо-6-фосфата и ингибируется при увеличении его концентрации. Происходит это обычно при торможении гликолиза на уровне ключевого фермента - фосфофруктокиназы. Глюкоза перестает фосфорилироваться и свободно покидает клетку. Данный механизм адаптирует скорость вовлечения глюкозы в гликолиз к потребностям миоцитов.

K_m глюкокиназы печени составляет 10 мМ. Это позволяет ей эффективно откликаться на повышенные уровни глюкозы, которые после приема пищи могут достигать в крови значений 8 мМ и более. Кроме того, глюкокиназа не ингибируется глюкозо-6-фосфатом и скорость реакции растет пропорционально концентрации глюкозы, независимо от потребности в энергии самих гепатоцитов. Продукты перенаправляются в анаболические пути биосинтеза гликогена и липидов.

При гипогликемии активность глюкокиназы пропорционально падает, гликолиз в печени тормозится, что позволяет сберечь глюкозу для других органов и тканей.

Регуляция на уровне фосфофруктокиназы.

Поскольку окисление глюкозы преследует в первую очередь энергетические задачи, логично предположить, что обеспеченность клетки энергией будет влиять на скорость гликолиза. И действительно, эффективным ингибитором фосфофруктокиназы является АТФ. АДФ и особенно АМФ уменьшают ингибирующее действие АТФ.

Способностью снижать активность фосфофруктокиназы обладает также цитрат - первый интермедиат цикла Кребса. Увеличение его концентрации может свидетельствовать о торможении цикла вследствие достаточной обеспеченности клетки энергией, либо о переходе на окисление альтернативных субстратов - жирных кислот, аминокислот. И в том и в другом случае гликолиз следует притормозить, и эту роль эффективно исполняет цитрат.

Еще одним аллостерическим ингибитором фосфофруктокиназы, опосредующим действие гормонов, является фруктозо-2,6-дифосфат. Это вещество образуется из фруктозо-6-фосфата, и его уровень обеспечивает реципрокную (разнонаправленную) регуляцию скорости гликолиза и глюконеогенеза. Увеличение его концентрации под действием инсулина повышает сродство фосфофруктокиназы к субстрату – фруктозо-6-фосфату - и уменьшает ингибирующее действие АТФ и цитрата. Одновременно снижается активность фруктозо-1,6-дифосфатазы и тормозится глюконеогенез. Глюкагон действует на уровень фруктозо-2,6-дифосфата противоположным образом, тормозя гликолиз и активируя глюконеогенез.

Регуляция на уровне пируваткиназы.

Активность фермента подавляется высокими концентрациями АТФ, ацетил-КоА и высшими жирными кислотами, то есть соединениями, накопление которых свидетельствует о достаточной обеспеченности клетки энергией.

Значение гликолиза.

Гликолиз является этапом катаболизма глюкозы. Его конечный продукт – пируват - преобразуется в ацетил-КоА и далее окисляется в реакциях цикла Кребса, обеспечивая клетку энергией. Для нервной ткани и клеток почечных канальцев глюкоза - приоритетный энергетический субстрат. Для эритроцитов, лишенных митохондрий и, соответственно, всех реакций терминального окисления, анаэробный гликолиз – единственный способ синтеза АТФ. В жировой ткани и печени гликолиз - источ-

ник субстратов для синтеза липидов. Ацетил-КоА идет на образование жирных кислот, а фосфодиоксиацетон преобразуется в глицерол-3-фосфат. Некоторые промежуточные продукты гликолиза используются в анаболических реакциях. 3-фосфоглицерат - предшественник заменимых аминокислот: серина, глицина, цистеина. Фруктозо-6-фосфат и 3-фосфоглицериновый альдегид в неокислительной ветви пентозофосфатного пути могут образовать пентозофосфаты.

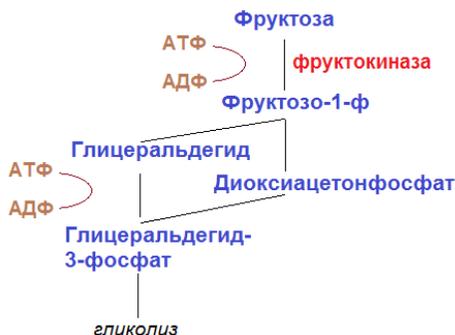
Семь из десяти реакций гликолиза функционируют в обратном направлении в глюконеогенезе.

Взаимопревращения сахаров.

Помимо глюкозы в кишечнике всасывается фруктоза и галактоза. Они встраиваются в метаболизм глюкозы различными путями. Этот процесс начинается в энтероцитах и заканчивается в печени.

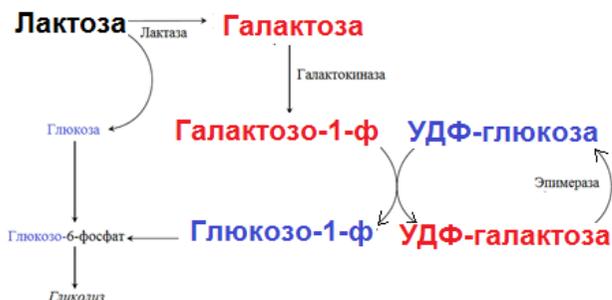
Фруктоза.

Фруктоза может фосфорилироваться гексокиназой до фруктозо-6-фосфата, однако, сродство фермента к этому субстрату невелико. Главным образом, фруктоза фосфорилируется ферментом фруктокиназой в первом положении. Далее, фруктозо-1-фосфат расщепляется до фосфодиоксиацетона и глицеральдегида. Последний превращается в глицеральдегид-3-фосфат, и оба вступают во вторую стадию гликолиза.



Галактоза.

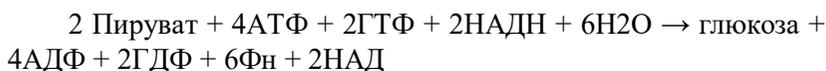
Фосфорилируется галактокиназой с образованием галактозо-1-фосфата. Последний превращается в УДФ-галактозу, которая, затем, эпитеризуется в УДФ-глюкозу. УДФ-глюкоза может использоваться непосредственно в синтезе гликогена, гетерополисахаридов либо расщепиться до глюкозо-1-фосфата.



Глюконеогенез

Глюконеогенез – синтез глюкозы из неуглеводных источников - служит для поддержания уровня глюкозы в крови при истощении запасов гликогена. Основными субстратами являются пируват, лактат, глицерин, а также углеродные скелеты гликогенных аминокислот. Является частью цикла Кори и глюкозо-аланинового цикла. Протекает преимущественно в печени и лишь в небольшой степени в слизистой кишечника и корковом веществе почек.

Суммарное уравнение глюконеогенеза:



Большинство реакций глюконеогенеза – обратимые реакции гликолиза, идущие в обратном направлении. Соответственно, эти два процесса не могут протекать одновременно. Переключение с окисления глюкозы на ее синтез осуществляется с помощью регуляторных механизмов. Для трех необратимых ре-

акций используются обходные пути. Эти реакции являются основными точками приложения регуляторных сигналов.

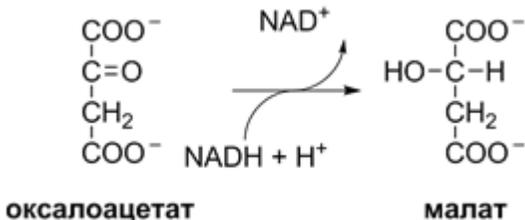


Гликолитические этапы протекают в цитоплазме клетки. Один фермент – пируваткарбоксилаза – митохондриальный, и один – глюкозо-6-фосфатаза – локализован в эндоплазматическом ретикулуме.

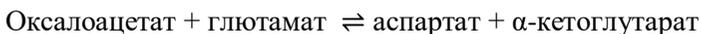
Обход пируваткиназной реакции.

Осуществляется в два этапа. Сначала пируват карбоксируется до оксалоацетата, затем последний превращается в фосфоенолпируват.

Для прохождения первого этапа пируват, образующийся в ходе гликолиза в цитоплазме, транспортируется в митохондрии. Это осуществляется специальным белком переносчиком. Далее пируваткарбоксилаза – биотин-зависимый фермент – карбоксирует его с затратой энергии АТФ.



Либо трансаминироваться в аспартат:



Митохондриальная мембрана проницаема для обоих продуктов. В цитоплазме протекают обратные превращения и оксалоацетат становится доступен для второй реакции глюконеогенеза.



Малатный механизм предпочтителен, поскольку позволяет вывести в цитозоль молекулу восстановленного НАД, который

необходим для протекания в обратном направлении глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназной реакции.

Пируваткарбоксилаза является ключевым ферментом глюконеогенеза. Она активируется ацетил-КоА и в его отсутствие практически не работает. Напомним, что этот же субстрат ингибирует пируватдегидрогеназный комплекс. Таким образом, увеличение концентрации ацетил-КоА, которое происходит при окислении жирных кислот, позволяет перенаправить пируват на биосинтез глюкозы.

Обход фосфофруктокиназной реакции.

Осуществляется за счет гидролитического отщепления фосфата в первом положении фруктозо-1,6-дифосфата



Реакция, катализируется фруктозо-1,6-дифосфатазой, необратима и требует присутствия ионов магния.

Обход гексокиназной реакции

Отщепление фосфатной группы осуществляет микросомальная гидролаза - глюкозо-6-фосфатаза



Фермент присутствует главным образом в печени, а также, в небольших количествах в слизистой кишечника и клетках почек. В других тканях его нет, и по этой причине глюконеогенез в них невозможен. Дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата могло бы привести к утечке глюкозы из клеток.

Энергетика глюконеогенеза.

АТФ расходуется в пируваткарбоксилазной и фосфолицераткиназной реакциях. В фосфоенолпируваткарбоксикиназной реакции затрачивается ГТФ. В глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназной - окисляется молекула НАДН. Учитывая, что для синтеза глюкозы необходимо провести через эти

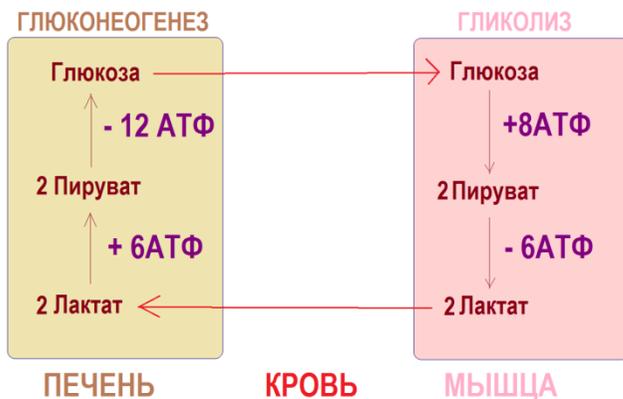
этапы две молекулы пирувата, затраты составят 12 АТФ (4АТФ, 2ГТФ, 2НАДН).

Цикл Кори

В мышцах при интенсивной работе либо в клетках, где мало митохондрий, например, в эритроцитах, глюкоза окисляется до лактата. Накопление молочной кислоты наряду с микроразрывами в ткани является причиной боли в мышцах после нагрузки.

Поскольку соотношение НАДН/НАД в условиях относительного анаэробноза велико, обратное превращение в пируват и окисление его по аэробному пути невозможно. Лактат с током крови транспортируется в печень, где протекают реакции глюконеогенеза. Образовавшаяся глюкоза поступает в кровоток и может быть вновь использована миоцитами. Этот цикл получил название по имени первооткрывательницы – лауреата Нобелевской премии чешской ученой Терезы Кори.

Схема цикла Кори



Как видно из схемы, в энергетическом плане цикл затратен, однако его функционирование позволяет мышцам функционировать в анаэробном режиме, а организму в стрессовых ситуациях реализовать программу «борьба или бегство».

Пентозофосфатный цикл (пентозофосфатный путь, ПФП, пентозофосфатный шунт, гексозомонофосфатный шунт).

Это альтернативный путь окисления глюкозы, целью которого является биосинтез пентоз и (или) наработка восстановленного НАДФ. Пентозы необходимы для синтеза нуклеиновых кислот и ряда важнейших коферментов (НАД, ФАД, КоА). НАДФН – для биосинтетических реакций, например, для синтеза жирных кислот, холестерина. Это определяет высокую значимость ПФП для метаболизма клетки.

ПФП тесно связан с гликолизом. Он начинается с его интермедиата - глюкозо-6-фосфата и заканчивается промежуточными продуктами того же пути - фруктозо-6-фосфатом и глицеральдегид-3-фосфатом. Последние, используя обратимые реакции гликолиза, могут превратиться в исходный субстрат – глюкозо-6-фосфат. По этой причине ПФП часто называют циклом.

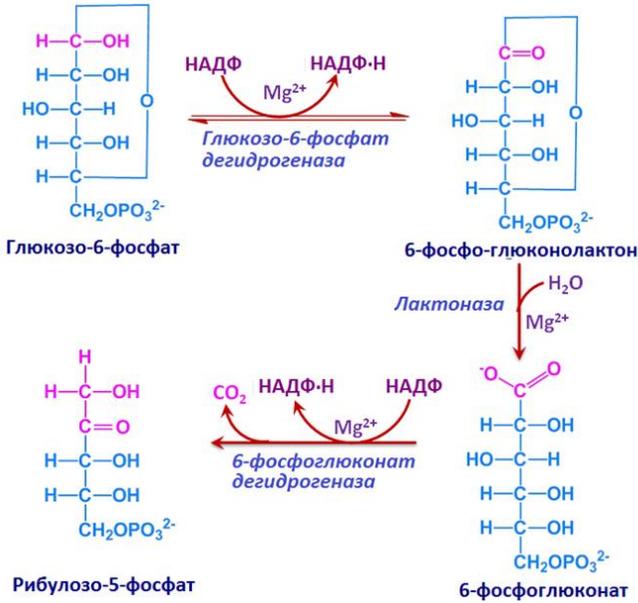
ПФП интенсивно функционирует в тканях, где высока потребность в НАДФН. Там, где идет биосинтез жирных кислот (жировая ткань, лактирующая молочная железа), стероидов (семенники, надпочечники), обезвреживание кислородных радикалов и ксенобиотиков (эритроциты, печень).

Суммарное уравнение ПФП:



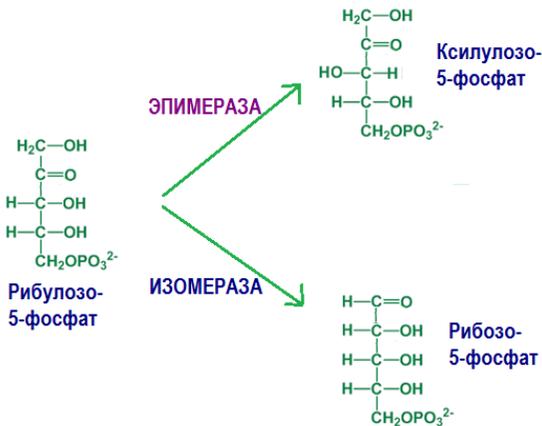
В цикле ПФП две половинки (ветви): окислительная и неокислительная. В ходе первой глюкозо-6-фосфат окисляется до рибулозо-5-фосфата. При этом образуется две молекулы НАДФН. В ходе неокислительных превращений осуществляется обратимый перенос двух- и трехуглеродных фрагментов с образованием различных фосфорилированных моносахаридов, включая рибозо-5-фосфат.

Окислительная ветвь ПФП

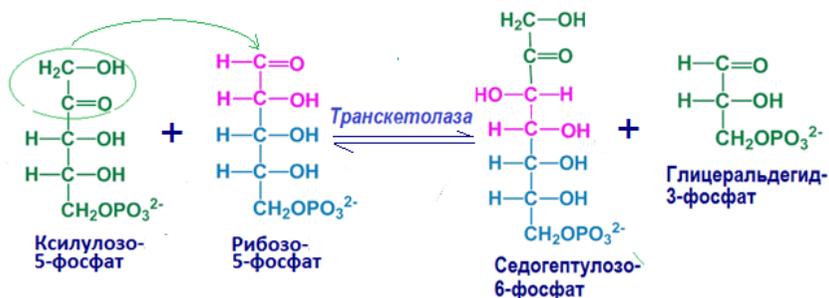


Неокислительная ветвь

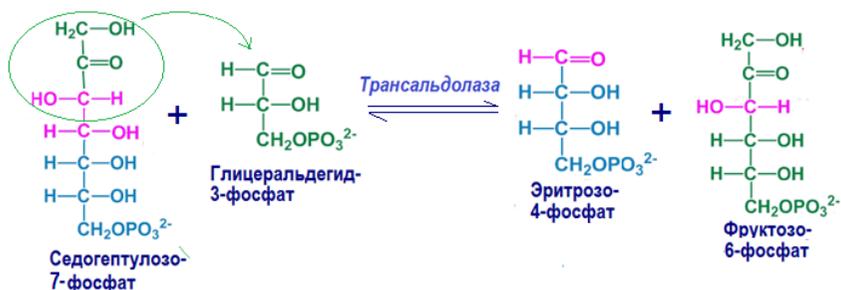
1. Изо- и эпимеризация рибулозо-5-фосфата



2. Первая транскетолазная реакция. Коферментом транскетолазы является ТДФ.



3. Трансальдозная реакция



4. Вторая транскетолазная реакция



Ветви ПФП могут функционировать независимо друг от друга. Неокислительная ветвь представляет собой обратимые превращения. Если необходимым продуктом являются пентозофосфаты, она может генерировать их из промежуточных продуктов гликолиза – фруктозо-6-фосфата и глицеральдегид-3-фосфата. Если необходима наработка НАДФН, включается весь цикл, но пентозофосфаты после неокислительных превращений возвращаются в гликолиз.

Направление использования глюкозо-6-фосфата определяется концентрацией окисленного НАДФ. Он является аллостерическим активатором первого фермента цикла – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Если НАДФН не востребован в биосинтетических процессах, глюкозо-6-фосфат превращается по гликолитическому пути.

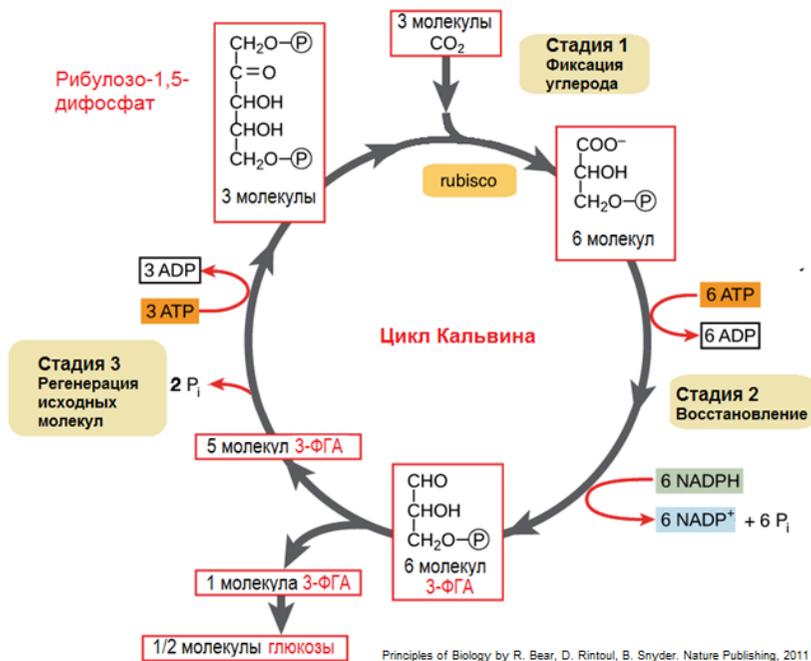
ПФП является основным источником восстановленного НАДФ в клетке. Два других – это цитоплазматическая НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназа и малик фермент.

У растений реакции пентозофосфатного пути составляют основу темновых реакций фотосинтеза.

Цикл Кальвина.

Это основной метаболический путь фиксации углерода в живой природе. Его называют, также, восстановительным пентозофосфатным циклом, поскольку основу составляют реакции неокислительной ветви ПФП.

Цикл Кальвина состоит из трех стадий: фиксации углерода (карбоксилирования), восстановления и регенерации исходных молекул.



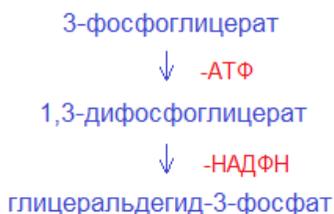
Фиксация углерода.

Первой и ключевой реакцией цикла является карбоксилирование рибулозо-1,5-дифосфата с образованием нестабильного промежуточного продукта, распадающегося на две молекулы 3-фосфоглицерата. Эту реакцию катализирует самый важный и самый распространенный фермент на земле – рибулозодифосфаткарбоксилаза/оксигеназа - RuBisCO (Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase).

Восстановление.

С участием ферментов - фосфоглицераткиназы и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы 3-фосфоглицерат превращается в глицеральдегид-3-фосфат. Эти реакции известны нам из гликолиза. Они обратимы и для того, чтобы они пошли в обратном направлении в гликолизе необходимо затратить АТФ и

НАДН. В цикле Кальвина вместо НАДН требуется НАДФН. Эти молекулы образуются в световых реакциях фотосинтеза.



Следует помнить, что гликолиз и цикл Кальвина пространственно разделены. Первый идет в цитозоле, второй в хлоропластах. Поэтому одни и те же реакции в этих компартментах могут без проблем протекать в противоположных направлениях.

Образовавшийся глицеральдегид-3-фосфат фактически является конечным продуктом цикла Кальвина. Частично он может быть использован для синтеза глюкозы в реакциях глюконеогенеза, частично для регенерации исходных молекул цикла.

Регенерация исходных молекул.

Для этого используются реакции неокислительной ветви ПФП. Если взглянуть на схему цикла, то легко проследить цепь обратных превращений, приводящих к образованию рибулозо-5-фосфата из фруктозо-6-фосфата и глицеральдегид-3-фосфата.

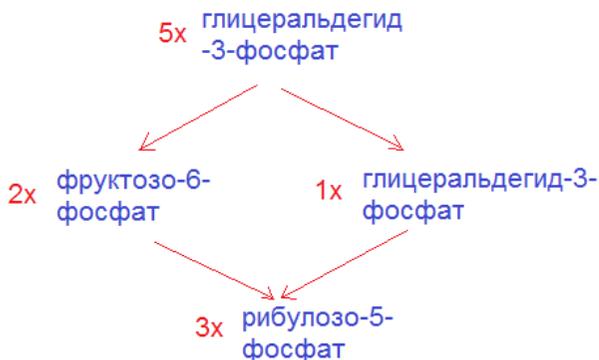
Глицеральдегид-3-фосфат мы уже имеем. Что касается фруктозо-6-фосфата, то его легко получить из того же глицеральдегид-3-фосфата в реакциях глюконеогенеза:



Последней реакцией третьего этапа является фосфорилирование рибулозо-5-фосфата с помощью фосфорифулокиназы. При этом расходуется АТФ и регенерируется первый участник цикла – рибулозо-1,5-дифосфат.

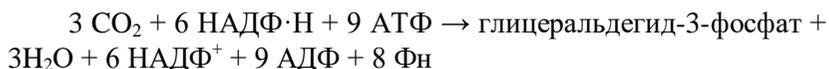
Стехиометрия цикла.

Для того, чтобы оценить стехиометрию цикла Кальвина удобно оперировать несколькими его оборотами, как это сделано на схеме. За три оборота цикла Кальвина образуется шесть молекул глицеральдегид-3-фосфата. Пять из них уйдут на регенерацию трех молекул рибулозо-1,5-дифосфата,



Одна может быть использована для биосинтеза глюкозы.

Общий баланс цикла можно записать следующим образом:



Синтез и распад гликогена (гликогеногенез, гликогенолиз).

Гликогеногенез (гликогенез).

Гликоген у животных и крахмал у растений являются запасными полисахаридами. У животных он образуется в основном в печени и мышцах. Назначение его в этих двух органах

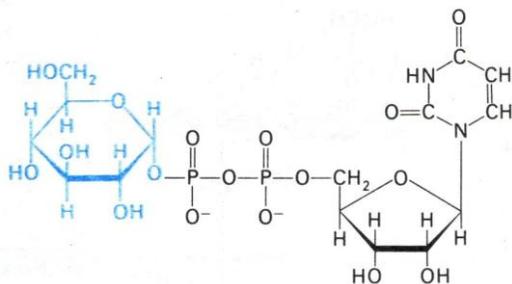
разное. Печень использует гликоген для поддержания уровня глюкозы в крови в промежутках между приемами пищи. Мышцы – как источник глюкозы для обеспечения собственных энергетических нужд. В мышцах отсутствует глюкозо-6-фосфатаза и образование свободной глюкозы, которая могла бы покинуть клетки, невозможно.

Гликоген синтезируется в постабсорбтивную фазу пищеварения, т.е. спустя 1-2 часа после приема пищи.

В первой реакции глюкозо-6-фосфат обратимо изомеризуется в глюкозо-1-фосфат. Катализирует процесс фермент – фосфоглюкомутаза.



Далее глюкозо-1-фосфат взаимодействует с УТФ с образованием уридиндифосфатглюкозы (УДФ-глюкозы). Превращение осуществляет глюкозо-1-фосфатуридилтрансфераза (УДФГ-пирофосфорилаза). Второй продукт реакции - пирофосфат немедленно гидролизуетс пиррофосфатазой, что обеспечивает необратимость процесса.

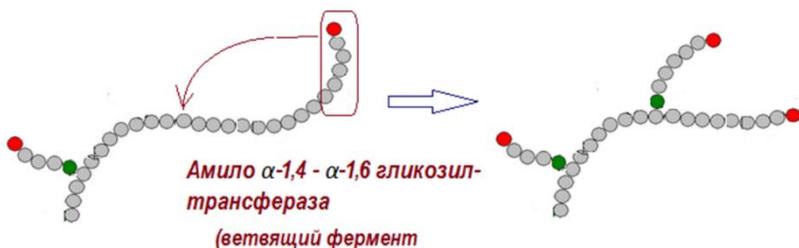


**Уридиндифосфатглюкоза
(UDP-глюкоза)**

Присоединение глюкозы к нередуцирующему концу цепи гликогена осуществляется ферментом гликогенсинтазой. При этом освобождается уридиндифосфат.

Таким образом, на присоединение одного остатка глюкозы к полисахаридной цепи клетка расходует одну молекулу АТФ (на образование глюкозо-6-фосфата) и одну УТФ (на образование УДФ-глюкозы).

Гликогенсинтаза образует только $\alpha(1-4)$ гликозидные связи. Для образования $\alpha(1-6)$ гликозидных связей используется «ветвящий фермент» или амило- $\alpha(1,4)$ - $\alpha(1,6)$ -гликозилтрансфераза. Она переносит олигосахаридный фрагмент длиной в 6-7 остатков с нередуцирующего конца на гидроксильную группу в шестом положении. При этом длина цепи, с которой берется фрагмент, должна быть не меньше 11 остатков.



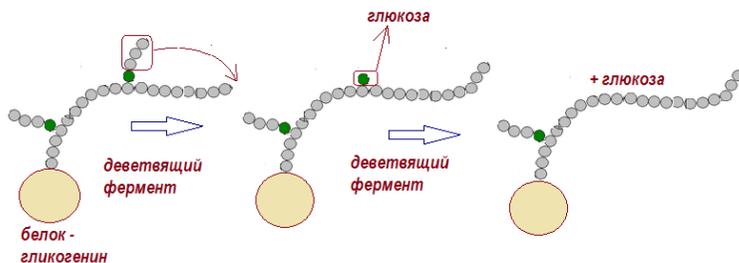
Образование гликогена с помощью гликогенсинтазы невозможно с нуля, для этого нужна затравка – олигосахаридная цепь длиной не менее 8 остатков глюкозы. Ее синтез осуществляет коровый (cove, англ. – сердцевина) белок гликогена – гликогенин. Проявляя ферментативную активность, он присоединяет первый остаток глюкозы к гидроксильной группе тирозина в 194 положении собственной полипептидной цепи. Далее он удлиняет затравку до необходимого размера. В качестве субстрата, как и гликогенсинтаза, гликогенин использует УДФ-глюкозу.

Так образуются новые молекулы гликогена. При расщеплении уже существующих, распад никогда не идет до конца. С гликогенином остается связанным олигосахаридный фрагмент, который используется в качестве затравки при возобновлении гликогеногенеза.

Гликогенолиз

Осуществляется ферментом гликогенфосфоорилазой, которая отщепляет по одному остатку глюкозы с конца молекулы. Для атаки $\alpha(1-4)$ гликозидной связи фермент использует неорганический фосфат. Поэтому процесс называется фосфолиз, и продуктом является не свободная глюкоза, а глюкозо-1-фосфат.

Гликогенфосфоорилаза останавливается, когда до ближайшей точки ветвления остается 4 глюкозных остатка. Дальнейшее превращение осуществляет «деветящий фермент», который сначала переносит три остатка из четырех на конец цепи и, далее, ликвидирует точку ветвления, разрывая $\alpha(1-6)$ гликозидную связь и освобождая глюкозо-1-фосфат.



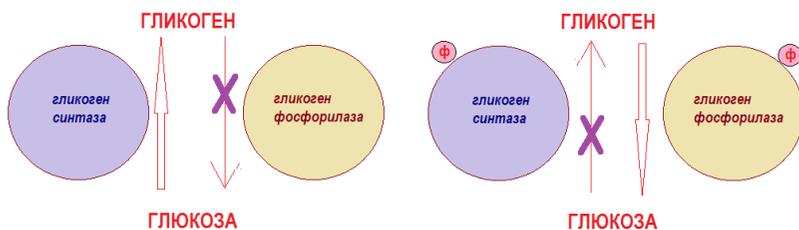
Глюкозо-1-фосфат, образующийся при гликогенолизе, изомеризуется в глюкозо-6-фосфат под действием фосфоглюкомутазы. В случае если процесс происходит в печени, глюкозо-6-фосфат далее гидролизуется глюкозо-6-фосфатазой до свободной глюкозы, которая переносится в кровь с помощью глюкозного транспортера GLUT-2. В мышцах глюкозо-6-фосфат используется для собственных нужд.

Оба процесса – гликогенолиз и гликогеногенез не могут идти одновременно. Их регуляция осуществляется реципрочно.

Регуляция.

Одним из регуляторов является концентрация глюкозо-6-фосфата. При ее увеличении активируется гликогенсинтаза.

Однако, основную регуляторную роль играют гормоны, изменяющие активность гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы путем ковалентной модификации. В печени это происходит под действием инсулина, глюкагона и адреналина. Оба фермента могут быть в фосфорилированном либо дефосфорилированном состоянии, причем это сказывается на активности каждого из них противоположным образом.



Фосфорилированная гликогенсинтаза не активна. Ее активация осуществляется за счет дефосфорилирования. С гликогенфосфорилазой - обратная ситуация.

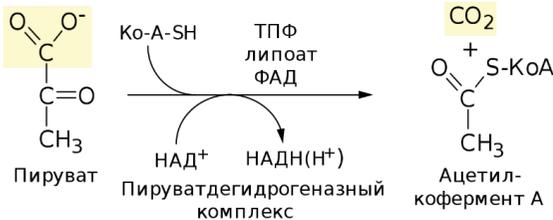
Действие адреналина и глюкагона опосредовано системой цАМФ. Инсулин использует инозитолтрифосфатный путь.

ТЕРМИНАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ

Окислительное декарбоксилирование пирувата

Пируват образуется в цитозоле и транспортируется с помощью белка-переносчика внутрь митохондрий, где происходит его окисление. В ходе многостадийной реакции он декарбоксилируется, дегидрируется и образовавшийся ацетил присоединяется к коферменту А.

Суммарно превращение можно записать следующим образом:



Строение пируватдегидрогеназного комплекса.

Реакцию катализирует мультиферментный пируватдегидрогеназный комплекс. Он локализуется в матриксе митохондрий, в его составе три фермента, два вспомогательных белка. В своей работе он использует пять коферментов, четыре из которых витаминные: ТДФ, НАД, ФАД, КоА и липоевую кислоту. Все три фермента представлены в комплексе множеством копий:

Фермент в составе ПДГ	Сокращенное название	Количество копий	Кофермент
Пируватдегидрогеназа	E1	30	ТДФ
Дигидролипоилтрансацилаза	E2	60	КоА, липоевая кислота
Дигидролипоилдегидрогеназа	E3	12	ФАД, НАД

E2 располагаются внутри комплекса, формируя кор, остальные два фермента расположены по периферии.

E1 – гетеротетрамер, состоящий из субъединиц двух типов. ТДФ связан с активным центром очень прочно и является протетической группой.

E2 имеет три домена. На N-конце располагается липоильный домен, в котором концевой лизин соединен с липоевой кислотой. Образующаяся «рука» длиной около 5 нанометров служит для перемещения субстрата между активными центрами ферментов, входящих в состав комплекса. Второй домен служит для связи с ферментами E2 и E3, третий – собственно каталитический ацилтрансферазный. Липоевая кислота имеет две тиольные группы, может окисляться с образованием дисульфидной связи, соответственно может служить переносчиком атомов водорода и ацильных групп. Вторым коферментом является – КоА, также имеющий тиольную группу, на которую и переносится в результате реакции ацетил. Тиоэфирная связь имеет высокую энергию гидролиза, поэтому все ацил-КоА являются макроэргическими соединениями.

В активном центре E3 находится прочно связанный ФАД. Второй кофермент – НАД – удерживается не прочно и после восстановления покидает активный центр.

Пируватдегидрогеназный комплекс объединяет гликолиз и цикл Кребса в единый катаболический путь. Это очень крупный белковый комплекс. Его размер достигает 50 нм, что в пять раз больше рибосомы. Катализируемая им реакция необратима.

Помимо трех перечисленных выше ферментов в состав комплекса входят два регуляторных белка – протеинкиназа и протеинфосфатаза, регулирующих активность E1 обратимым фосфорилированием.

Аналогичную структуру и механизм действия имеют еще два комплекса: α -кетоглутаратдегидрогеназный и дегидрогеназа разветвленных α -кетокислот. Первый функционирует в цикле

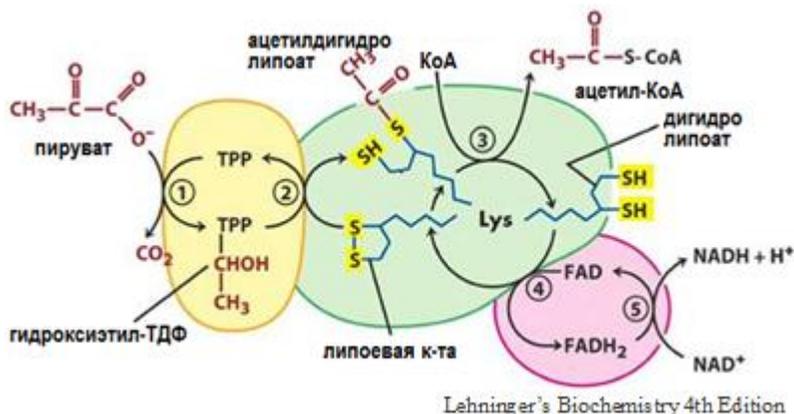
Кребса, второй участвует в катаболизме валина, лейцина и изолейцина.

Механизм реакции

1. Пируват ковалентно присоединяется ко второму атому углерода тиазолового кольца тиамина в активном центре E1 и, затем, декарбоксилируется с образованием гидроксиэтил-ТДФ.

2. В активном центре E2 гидроксиэтил дегидрируется до ацетила. S-S- связь в липоевой кислоте восстанавливается до двух тиольных групп, к одной из них присоединяется ацетил, который далее передается на второй кофермент – КоА. Ацетил-КоА покидает активный центр E2.

3. Восстановленный липоат дегидрируется в активном центре E3, образуя ФАДН₂. Там же протоны передаются на второй кофермент – НАД. НАДН покидает активный центр E3.



Организация нескольких ферментативных процессов в одном мультиферментном комплексе повышает скорость и эффективность процесса. Промежуточные продукты переносятся между активными центрами, не выделяясь в окружающую среду.

Регуляция.

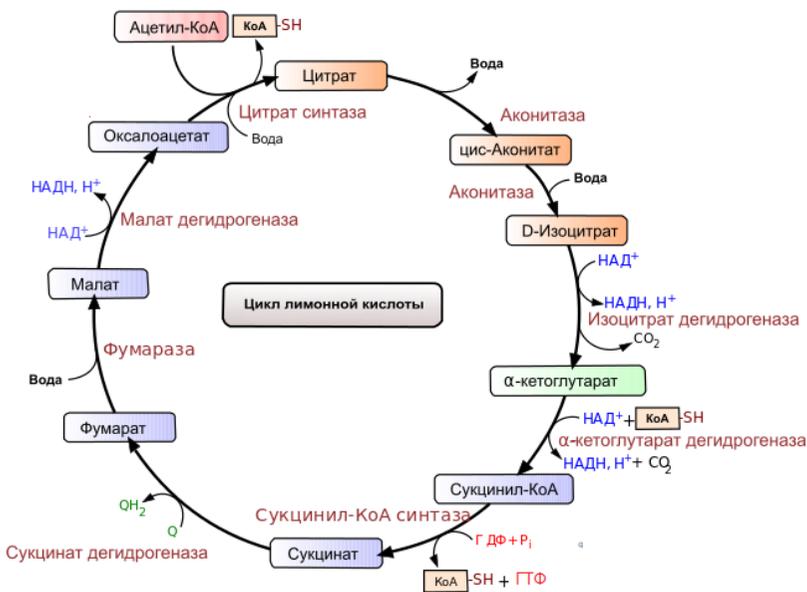
Активность комплекса аллостерически подавляется АТФ и продуктами реакции – НАДН и ацетил-КоА. Ингибирование усиливается в присутствии длинноцепочечных жирных кислот. АМФ, окисленный НАД и КоА, напротив, являются активаторами. Такой механизм позволяет включать и выключать комплекс для коррекции энергетического статуса и согласовывать альтернативные пути образования ацетил-КоА.

Активность E1, которая лимитирует скорость всего комплекса, дополнительно регулируется ковалентной модификацией. Протеинкиназа фосфорилирует E1 и снижает скорость катализа, протеинфосфатаза убирает фосфатную группу и восстанавливает активность пируватдегидрогеназы и, соответственно, всего комплекса. Оба регуляторных белка также подвержены аллостерической регуляции, что позволяет точно адаптировать скорость декарбоксилирования пирувата к метаболическим потребностям клетки.

Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК, цикл Кребса, цитратный цикл, цикл лимонной кислоты)

Цикл назван именем немецкого биохимика – Ханса Кребса, который получил за открытие и исследование этого метаболического пути Нобелевскую премию в 1953 году.

Это центральный метаболический путь, организованный в виде цикла, в ходе которого ацетил-КоА окисляется до CO_2 , образуются богатые энергией соединения: восстановленные НАД и ФАД и одна молекула ГТФ. Помимо ацетил-КоА, образующегося из разных источников, в цикле Кребса окисляются углеродные скелеты аминокислот, которые включаются в него на различных стадиях процесса. Изолейцин, валин, треонин, метионин превращаются в сукцинил-КоА, фенилаланин и тирозин дают фумарат, аспартат и аспарагин при трансаминировании образуют ЩУК, а глутамат, глутамин, пролин, гистидин, аргинин – α -кетоглутаровую кислоту.



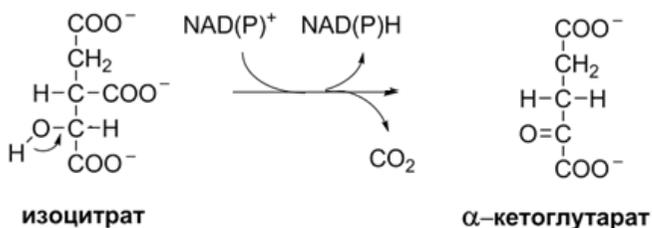
Помимо ключевой роли в катаболизме, ЦТК является важным источником соединений, использующихся в анаболических целях. Сукцинил-КоА используется в синтезе гема и порфиринов. Оксалоацетат – промежуточный продукт глюконеогенеза, а в ходе трансаминирования превращается в аспарат. α-кетоглутарат используется для синтеза ряда заменимых аминокислот.

Метаболические пути, играющие роль как в катаболических, так и анаболических процессах, называются амфиболическими. Цикл Кребса – самый наглядный пример амфиболизма.

Стадия 1: образование цитрата

Ацетил-КоА конденсируется с оксалоацетатом с образованием цитрата. Реакция представляет собой альдольную конденсацию, присоединение идет по второму атому углерода оксалоацетата.

группы изоцитрата до карбонильной в α -кетоглутарате сопровождается восстановлением НАД.

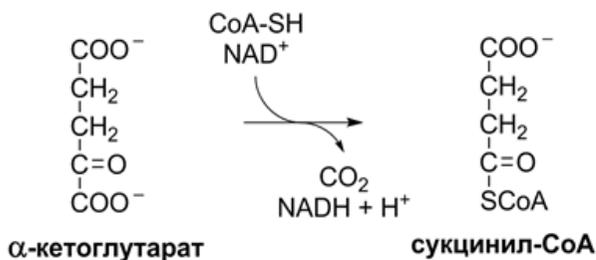


Реакция ускоряется изоцитратдегидрогеназой, требует присутствия ионов магния, стабилизирующих субстрат в ходе катализа.

В цитоплазме клетки присутствует НАДФ-зависимый изофермент, являющийся одним из трех основных источников восстановленного НАДФ в клетке.

Стадия 4: окислительное декарбоксилирование α -кетоглутарата

Реакция почти идентична пируватдегидрогеназной, кроме того, что в качестве E1 здесь выступает α -кетоглутаратдегидрогеназа, и, соответственно, вместо ацетил-КоА, продуктом является сукцинил-КоА.

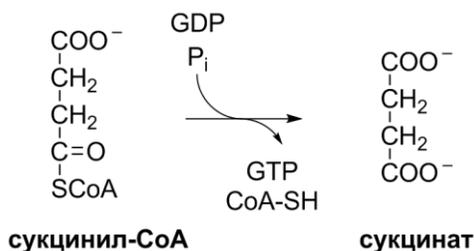


E2 α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса гомологичны E2 пируватдегидрогеназного, а E3 – вообще идентичны. В ходе этой реакции происходит второе декарбоксилирование и образование CO_2 , а также восстанавливается НАД.

Стадия 5: превращение сукцинил-КоА в сукцинат

Катализируется сукцинил-КоА-синтетазой (сукцинилтиокиназой).

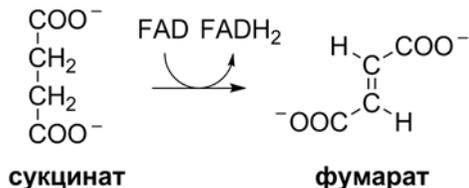
Сукцинил-КоА, как и ацетил-КоА, является макроэргическим соединением. Гидролиз тиоэфирной связи сопровождается выделением энергии, достаточной для фосфорилирования ГДФ. Это третий случай субстратного фосфорилирования, два предыдущих имели место в гликолизе.



ГТФ по энергоемкости идентичен АТФ, поэтому при расчете энергетической эффективности ЦТК их можно приравнять. ГТФ используется в качестве источника энергии в биосинтезе белка, работе G-белков.

Стадия 6: окисление сукцината до фумарата

Сукцинат дегидрируется в фумарат под действием сукцинатдегидрогеназы. При этом образуется восстановленный ФАД.

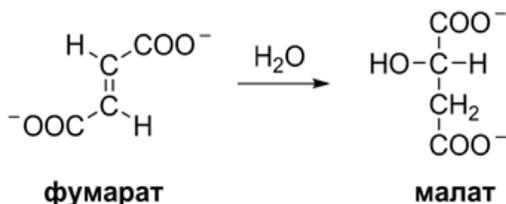


Фермент ассоциирован с внутренней мембраной митохондрий и является участником электронтранспортной цепи. Сукци-

натдегидрогеназа передает два электрона с ФАДН₂ на убихинон, и их энергия далее используется для синтеза двух молекул АТФ.

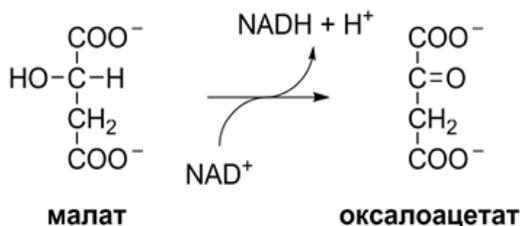
Стадия 7: гидратация фумарата

Присоединение воды по двойной связи фумарата приводит к образованию малата. Реакция обратима, катализируется ферментом – фумаразой (фумаратгидратазой).



Стадия 8: окисление малата до оксалоацетата

Катализируется малатдегидрогеназой. В ходе реакции образуется НАДН.



Реакция обратима, но ее равновесие смещено в сторону образования оксалоацетата, поскольку последний активно используется в цитратсинтазной реакции.

Энергетическая эффективность цикла Кребса.

При окислении одной молекулы ацетил КоА образуется три молекулы НАДН, одна ФАДН₂ и одна ГТФ. Если принять, что при окислении НАДН в цепи переноса электронов теоретически может образоваться три молекулы АТФ, а при окислении ФАДН₂ – две, то суммарный выход равен двенадцати молекулам АТФ.

Энергетическая эффективность окисления глюкозы.

При аэробном гликолизе из молекулы глюкозы образуется 8 молекул АТФ и две молекулы пирувата. В ходе окислительного декарбоксилирования каждого пирувата образуется одна молекула НАДН и один ацетил-КоА. Соответственно, из двух пируватов получится 2 НАДН, что эквивалентно 6 молекулам АТФ, и два ацетил-КоА. Каждый из ацетил-КоА в цикле Кребса даст по 12 АТФ.

Гликолиз – 8 АТФ

Окислительное декарбоксилирование – 6 АТФ

Цикл Кребса – 24 АТФ

Всего из одной молекулы глюкозы теоретически можно получить 38 молекул АТФ.

Реальный выход ниже теоретического и составляет 30-32 АТФ.

Анаплеротические реакции.

Это реакции пополнения промежуточных продуктов ЦТК из других источников. Наиболее важных из них – четыре:

1. Образование α -кетоглутарата и оксалоацетата в реакциях трансаминирования аминокислот;

2. Образование α -кетоглутарата в глутаматдегидрогеназной реакции;

3. Образование оксалоацетата из пирувата в пируваткарбоксилазной реакции.

4. Образование малата из пирувата в обратимой реакции, катализируемой малик-ферментом (малатдегидрогеназа декарбоксилирующая). Помимо подкрепления цикла малатом реакция (в сторону декарбоксилирования) играет важную роль в обеспечении клетки восстановленным НАДФ.





Регуляция ЦТК

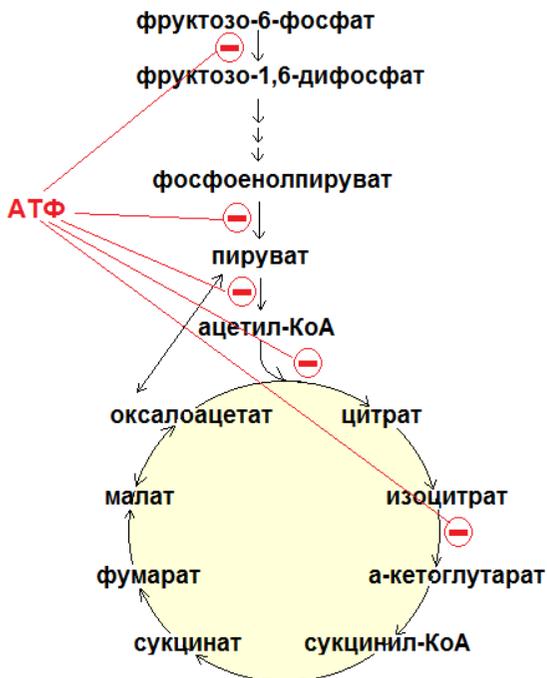
Осуществляется на уровне доступности субстратов и кофакторов, аллостерически по принципу обратной связи, ковалентными модификациями.

Соотношение ацетил-КоА/КоА

Клетка стремится поддерживать концентрацию ацетил-КоА на постоянном уровне. Поскольку ацетил-КоА образуется не только из глюкозы, но и при окислении жирных кислот и аминокислот, все пути его синтеза строго регулируются. При переходе клетки на окисление жирных кислот, образующийся из них ацетил-КоА тормозит гликолиз за счет ингибирования пируваткиназы и пируватдегидрогеназного комплекса. Накопление ацетил-КоА из пирувата активирует глюконеогенез за счет увеличения активности пируваткарбоксилазы, ограничивает β -окисление и стимулирует ацетил-КоА-карбоксилазу – первый фермент биосинтеза жирных кислот. Свободный КоА обладает противоположным действием.

Регуляция гликолиза и ЦТК соотношением АТФ/АДФ/АМФ.

Важную регуляторную роль играет энергетический статус клетки. Увеличение концентрации АТФ аллостерически блокирует цитратсинтазу, изоцитратдегидрогеназу, пируватдегидрогеназный комплекс, пируваткиназу, фосфофруктокиназу. АДФ и АМФ оказывают противоположное действие.



Доступность субстратов

Скорость цитратсинтазной реакции может лимитироваться доступностью оксалоацетата. Концентрация его в клетке мала, а регенерация в ходе цикла неполная. Промежуточные продукты ЦТК уводятся на различные анаболические цели, кроме того равновесие малатдегидрогеназной реакции может смещаться влево.

Соотношение НАД/НАДН

Поскольку в цикле четыре дегидрогеназных реакции, их скорость будет зависеть от соотношения НАД/НАДН в клетке. Если оно снижается по каким-либо причинам, замедлятся изоцитратдегидрогеназная, α -кетоглутаратдегидрогеназная и малатдегидрогеназная реакции. Торможение последней сместит равновесие в сторону малата и сформирует дефицит ЦУК для цитратсинтазной реакции. Накопление цитрата при ингибировании первых двух дегидрогеназных реакций, заблокирует гликолиз на уровне фосфофруктокиназы. Кроме того, цитрат блокирует реакцию своего образования.

Ингибирование конечным продуктом

Помимо цитратсинтазы, изоцитратдегидрогеназа и α -кетоглутаратдегидрогеназа также блокируются продуктами реакции - α -кетоглутаратом и сукцинил-КоА

Выше приведены лишь некоторые, наиболее важные регуляторные механизмы ЦТК. Их совокупное действие позволяет согласовать скорость катаболических процессов с энергетическими потребностями клетки.

ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ.

Тканевое дыхание - это совокупность окислительно-восстановительных реакций в клетках живых организмов, в ходе которых белки, жиры и углеводы окисляются до воды и углекислого газа, а выделяющаяся энергия запасается в форме химических связей макроэргических молекул.

Свое название этот процесс получил по аналогии с обычным дыханием, в ходе которого также потребляется кислород и выводится углекислый газ.

Преобладающей формой окисления молекул в клетках является дегидрирование, в ходе которого образуются восстановленные НАД и ФАД. НАД.Н и ФАД.Н₂ - основной итог расщеп-

ления всех видов питательных веществ. Извлечение аккумулированной в восстановленных коферментах энергии и запасание ее в виде химических связей АТФ завершает процесс катаболизма. Это происходит в цепи переноса электронов в митохондриях. Поскольку это последний этап тканевого дыхания, ее называют, также, цепью тканевого дыхания.

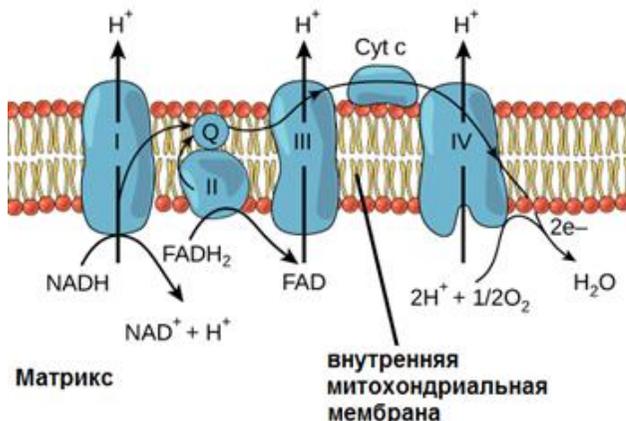
Цепь тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования (цепь переноса электронов, ЦПЭ, электронтранспортная цепь, ЭТЦ).

Принцип работы цепи.

ЦПЭ - это цепь белков, осуществляющая транспорт электронов от НАДН или ФАДН₂ на кислород с образованием воды. Энергия переноса используется для создания протонного градиента между межмембранным пространством и матриксом митохондрий. Этот градиент использует АТФ-синтаза для биосинтеза АТФ. Сопряженная работа ЦПЭ и АТФ-синтазы носит название окислительного фосфорилирования. АТФ за счет антипорта с АДФ транспортируется в межмембранное пространство, откуда через поры во внешней митохондриальной мембране выходит в цитоплазму.

Строение цепи.

Цепь состоит из четырех крупных белковых комплексов, небольшого белка – цитохрома С и убихинона (кофермент Q). Все они располагаются на внутренней мембране митохондрий.



<https://brainbrooder.com/lesson/254/7-4-1-electron-transport-chain/exercise/1853/cytochrome-c>

Каждый комплекс имеет окислительно-восстановительный потенциал, который возрастает по мере приближения к концу цепи. Наименьший он у НАД.Н (-0,32В), самый большой у кислорода – (+0,82В). Конечный акцептор обладает наибольшим сродством к электронам. Разность потенциалов является той движущей силой, которая «заставляет» перемещаться электроны. Движение электронов фактически аналогично электрическому току в проводнике. Так же, как и в физике, за счет этого тока может быть произведена работа. В ЦПЭ такой работой является перемещение протонов из матрикса в межмембранное пространство. Это осуществляют первый, третий и четвертый комплексы.

Комплекс I – НАДН-дегидрогеназный комплекс.

Комплекс окисляет НАД.Н, отнимая от него протон (ион водорода) и два электрона. Окисленный НАД покидает ЦПЭ и возвращается в метаболические пути для участия в дегидрогеназных реакциях. Протон остается в матриксе, пополняя концентрацию имеющихся там ионов водорода. Два электрона передаются вначале на ФМН, а, затем, через цепочку железосерных кластеров – на убихинон. Кроме того, на каждую окисленную

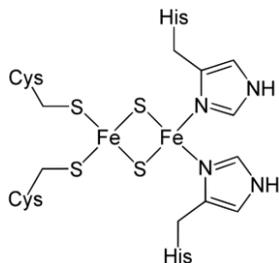
молекулу НАДН комплекс перекачивает четыре протона из матрикса в межмембранное пространство.

Строение комплекса I.

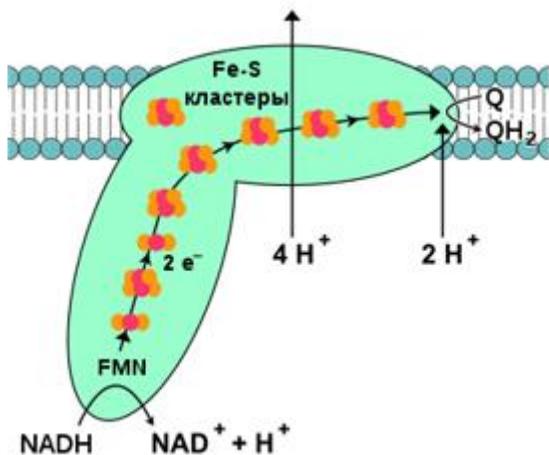
У животных состоит из 44 субъединиц, семь из которых кодируются митохондриальным геномом. Использует в качестве кофакторов – одну молекулу ФМН и 8 железосерных кластеров (центров).

Железосерные кластеры – белковые кофакторы, способные принимать и отдавать электроны. По химическому строению это элементарноорганические соединения. Свое происхождение они ведут со времен, когда в атмосфере Земли не было кислорода, а в океане было много сероводорода и ионов двухвалентного железа. Белки, которые имеют их в своей структуре, эволюционно являются одними из самых древних. Помимо первого комплекса, к ним относится комплекс III ЦПЭ, аконитаза и сукцинатдегидрогеназа цикла Кребса.

Железосерные кластеры критически важны для поддержания третичной структуры и каталитической активности содержащих их ферментов. В составе белка стабилизируются ковалентными связями с остатками цистеина и гистидина.



Комплекс I имеет L-образную форму, за что получил у ученых название «старый башмак».



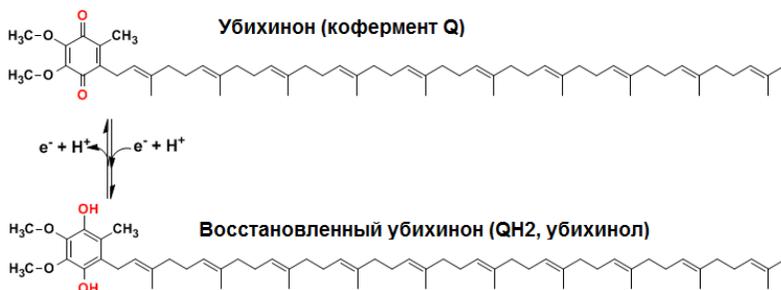
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2717189>

Гидрофобная «подошва» погружена в мембрану, гидрофильная «лодыжка» - в матриксе. На ней располагается центр связывания и окисления НАДН и все кофакторы. Центр связывания убихинона локализуется на «подошве».

Убихинон (кофермент Q, кофермент Q_{10}).

Производное бензохинона, имеет гидрофобный хвост из 10 изопренильных групп. Растворим в липидах, располагается во внутренней мембране митохондрий. Синтезируется в организме в достаточных количествах, кроме того поступает с пищей. В ряде источников фигурирует в качестве витаминopodobного фактора.

Принимает два электрона от первого или второго комплекса и два протона из матрикса и восстанавливается до убихинола (QH_2). Перемещаясь в мембране, осуществляет перенос этих частиц на комплекс III.



В Q-цикле (третий комплекс) восстановление убихинона идет в два этапа – через стадию семихинона.

Комплекс II.

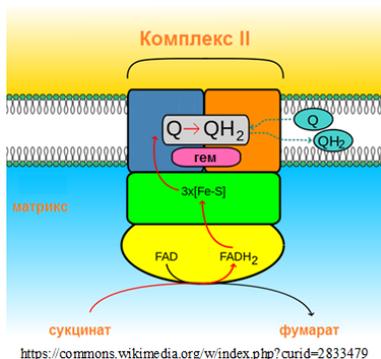
Это сборная группа ФАД-зависимых митохондриальных дегидрогеназ, ассоциированных с внутренней мембраной митохондрий и передающих электроны со своей простетической группы ФАДН₂ в цепь переноса электронов. Самой важной из них является сукцинатдегидрогеназа цикла Кребса. Окисляя сукцинат до фумарата, она, одновременно, восстанавливает убихинон.

Строение комплекса II.

Сукцинатдегидрогеназа состоит из четырех субъединиц, две из которых гидрофильные и две – мембранные, гидрофобные. На гидрофильных расположен активный центр с ФАД и три железосерных кластера. На гидрофобных субъединицах расположен центр связывания убихинона и гем. Назначение последнего в сукцинатдегидрогеназе до конца не ясно. Электроны от сукцината передаются сначала на ФАД, затем на железосерные кластеры и, в конце, на убихинон.

Аналогичным образом окисляют ФАДН₂ в своем составе митохондриальные ацил-КоА-дегидрогеназа – фермент β-окисления жирных кислот и глицерол-3-фосфатдегидрогеназа – компонент глицерофосфатной челночной системы.

Комплекс II действует аналогично и параллельно с комплексом I, но в отличие от него протоны, при этом в матриксе не перекачиваются. Комплекс II не участвует в образовании протонного градиента.

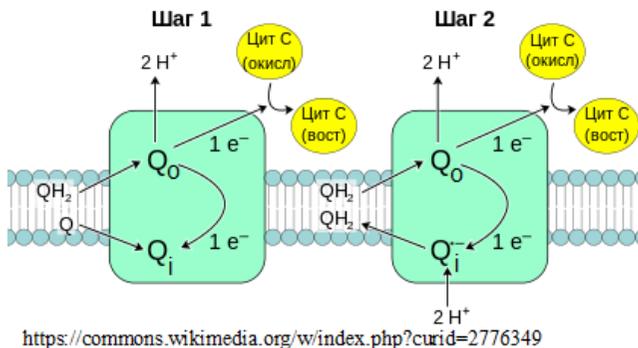


Комплекс III (комплекс цитохром bc₁)

Комплекс окисляет убинол, передавая два электрона на следующий переносчик – цитохром c, а два протона отдает в межмембранное пространство. Кроме этого, в ходе так называемого Q-цикла, комплекс захватывает из матрикса и переносит в межмембранное пространство еще два протона. Таким образом, всего на этом этапе в межмембранное пространство попадает четыре протона.

Схема Q-цикла

В комплексе III два центра связывания убинона. Каждый раз, когда в первом (Q_o) окисляется QH₂, один электрон с него уходит на окисленный убинон во втором центре (Q_i), превращая его сначала в семихинон, затем в QH₂. Протоны для восстановления берутся в матриксе. При окислении этого QH₂ в Q_o центре его протоны попадут в межмембранное пространство.

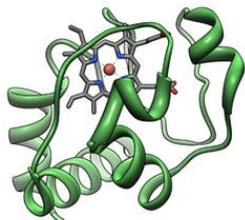


Строение комплекса III.

Мультибелковый комплекс, состоящий из 11 молекул. Восемь из них – небольшие гидрофобные белки, выполняющие структурные функции. Среди остальных трех – цитохромы b и c1, содержащие гемы в качестве простетических групп, и железосерный белок Риске, имеющий 2Fe-2S центр.

Цитохром С.

Небольшой гем-содержащий белок молекулярной массой 12 кДа. Растворим и свободно перемещается по поверхности мембраны. Переносит по одному электрону от третьего комплекса к четвертому. Связывает вначале, а затем отдает электрон ион железа в молекуле гема.



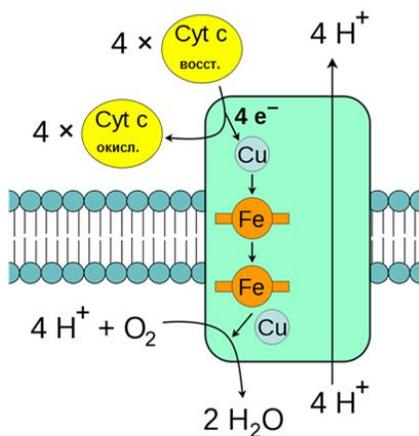
Комплекс IV (цитохром аа₃, цитохромоксидаза).

Последний и наиболее сложно организованный мультибелковый комплекс, передающий электроны на конечный акцеп-

тор – кислород. Играет ключевую роль в регуляции работы всей цепи.

В мембране существует в виде димера. Каждый димер состоит из 13 субъединиц, три из которых кодируются митохондриальным геномом. Три больших субъединицы содержат все кофакторы и осуществляют перенос электронов и протонов, остальные выполняют вспомогательные функции, и их роль мало изучена. В качестве кофакторов используются две разновидности гемов и два медных центра (атомы меди, лигированные остатками аминокислот).

Четыре электрона с четырех молекул цитохрома С переносятся последовательно на CuA-центр, затем на гем а и биядерный центр гем а3-CuВ. Именно здесь происходит связывание кислорода и восстановление его до воды. Из матрикса захватываются восемь протонов. Четыре их них идут на образование двух молекул воды, четыре закачиваются в межмембранное пространство и пополняют градиент.



<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2891976>

На этом этапе необходимы четыре электрона. В то же время при окислении одной молекулы НАДН (или ФАДН₂) по цепи запускается всего два электрона. Следовательно, два предыду-

щих комплекса, формирующих градиент, должны сработать дважды.

Комплекс IV играет важную роль в регуляции ЦПЭ и клеточного дыхания в целом. На нем имеется участок связывания трийодтиронина, аллостерический ингибиторный центр для АТФ. Только участков для ковалентной модификации фосфорилированием обнаружено 18.

АТФ-синтаза.

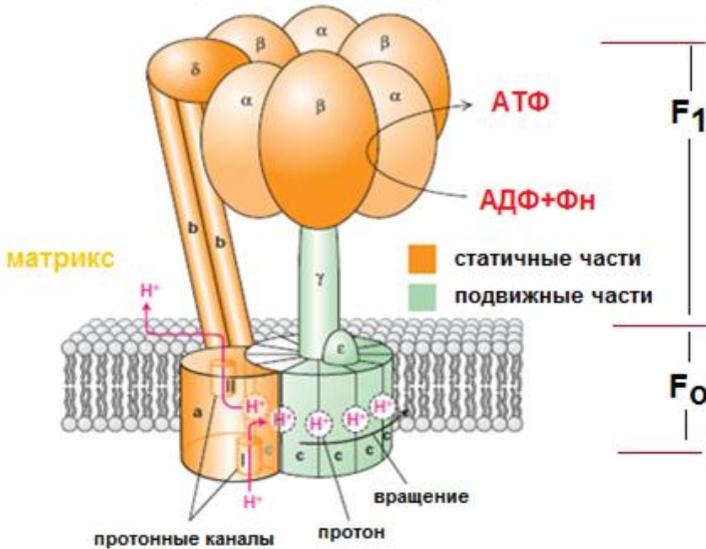
АТФ-синтаза трансформирует электрохимический градиент концентрации ионов водорода сначала в механическую энергию конформационных перестроек, а, затем, в энергию химической связи АТФ. Она работает в тесном контакте с ЭЦП, поэтому иногда этот белковый комплекс позиционируют, как пятый в цепи переноса электронов.

В августе 2018 года была перенесена из класса трансфераз во вновь созданный седьмой класс ферментов – транслоказ (7.1.2.2), поскольку катализируемую ей реакция синтеза АТФ хоть и является обратной гидролизу, но не может быть описана в рамках этого механизма.

Строение АТФ-синтазы.

Структура АТФ-синтазы хорошо изучена. По внешнему виду она напоминает гриб со шляпкой, ножкой и корнем. Комплекс состоит из двух фрагментов – гидрофобного трансмембранного F_0 и гидрофильного, выступающего в матрикс - F_1 .

F_0 построен из субъединиц трех типов: а, в и с. Основа трансмембранного фрагмента представляет собой кольцо (далее с-кольцо) из 9-12 субъединиц с. На каждой – участок связывания протона. Субъединица а имеет внутри два полуканала, по одному из которых протоны попадают внутрь комплекса, по второму – покидают его. Две субъединицы в фиксируют фрагменты F_0 и F_1 относительно друг друга и предотвращают вращение «шляп-



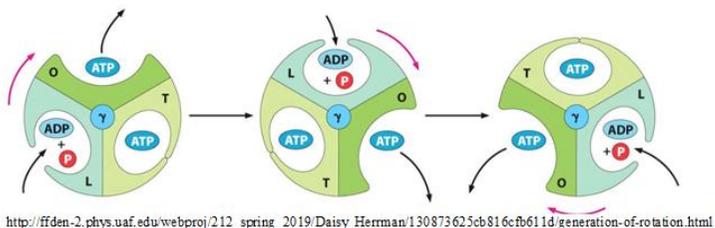
Molecular Cell Biology, Sixth Edition, 2008, W.H. Freeman & Co

F₁ состоит из субъединиц 5 типов. «Шляпка» образована чередующимися субъединицами α и β, по три копии каждой. Здесь происходит связывание субстратов и синтез АТФ. Длинная слегка изогнутая субъединица γ погружена в F₀ с одной стороны и проникает в F₁ с другой. С ней связана небольшая молекула ε. К наружной стороне «шляпки» присоединена субъединица δ, к которой крепятся соединяющие два фрагмента АТФ-азы субъединицы b.

Из-за разницы в концентрации с обеих сторон мембраны протоны из межмембранного пространства проникают сначала в полуканал на субъединице a, а затем переносятся по одному на каждую субъединицу c, вызывая вращение c-кольца. После полного оборота через второй полуканал протоны попадают в матрикс.

C-кольцо жестко связано с осью комплекса – субъединицей γ и передает ей вращательный момент. Вращаясь внутри

«шляпки», γ -субъединица индуцирует циклические конформационные перестройки в структуре составляющих ее субъединиц α и β . При повороте на каждые 120 градусов каталитические центры, расположенные на трех субъединицах β , меняют конфигурацию. В одной конфигурации связывается АДФ и фосфат, во второй происходит реакция, в третьей – освобождается АТФ. При каждом обороте синтезируется три молекулы АТФ. Количество протонов, которые для этого нужны, равно числу субъединиц у АТФ-синтазы. У человека это число равно десяти.



При окислении двух молекул НАДН в межмембранное пространство попадет 20 (8+8+4) протонов. Соответственно, 10 протонов на один НАДН. Если субстратом будет ФАДН₂, то этап НАДН-дегидрогеназы опускаем. Получаем 6 протонов при окислении одной молекулы ФАДН₂. Соответственно, при окислении одной молекулы НАДН теоретически образуется три молекулы АТФ. При окислении одной молекулы ФАДН₂ – две.

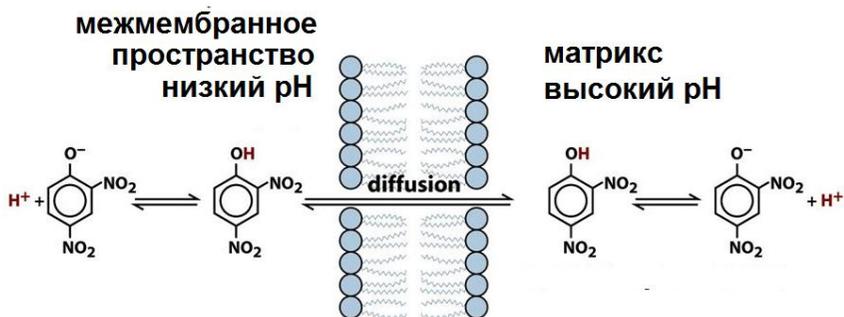
В реальной ситуации эти цифры равны 2,5 и 1,5 молекул АТФ.

Разобщение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования.

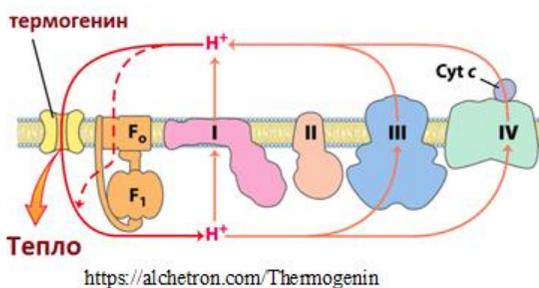
Разобщители уменьшают градиент концентрации протонов в митохондриях. Цепь переноса электронов функционирует обычным образом, а синтез АТФ уменьшается. Выделяющаяся энергия рассеивается в виде тепла.

По механизму действия эти вещества чаще всего относятся к протонифорам – переносчикам ионов водорода. В качестве примера можно привести динитрофенол. Он протонируется

в условиях низкого pH в межмембранном пространстве, диффундирует через мембрану и отдает протон в матриксе. Аналогично действуют жирные кислоты.



Природным разобщителем является белок термогенин. В бурой жировой ткани он составляет до 15% от всех митохондриальных белков. По строению термогенин напоминает фрагмент F₀ АТФ-синтазы. Он образует трансмембранный канал, по которому протоны из межмембранного пространства утекают в матрикс. Образование АТФ снижается, зато возрастает генерация тепла. Механизм используется для терморегуляции. Особое значение имеет у новорожденных и животных, впадающих в спячку.



ЦПЭ как источник свободных радикалов.

Во время работы ЭЦП возможна утечка электронов из цепи на кислород с образованием супероксида. Это снижает сопряже-

ние и дает начало появлению целого спектра активных соединений кислорода, индуцирующих перекисное окисление липидов, повреждение молекул и структур клетки.

Ингибиторы ЦПЭ и АТФ-азы.

I комплекс – ротенон, барбитураты. Конкурируют с убихиноном за центры связывания.

II комплекс – малонат. Конкурентный ингибитор связывания сукцината в активном центре.

III комплекс – антимицин А. Блокирует транспорт электронов внутри комплекса.

IV комплекс – цианиды, сульфиды, азиды, окись азота, окись углерода. Связываются с биядерным центром, блокируя доступ кислороду.

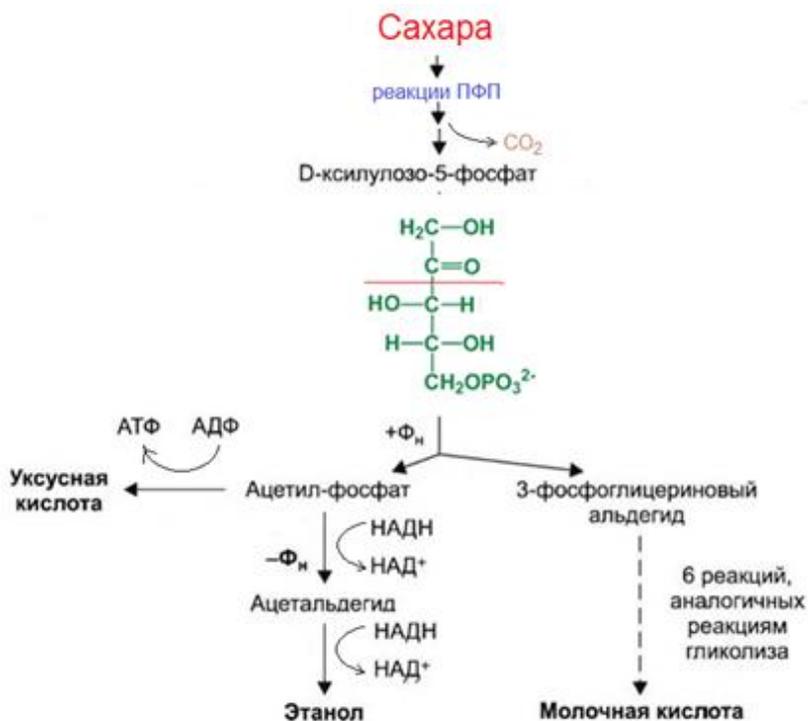
АТФ-синтаза – олигомицин. Блокирует фрагмент Fo.

Ингибиторы широко используются в качестве противомикробных средств, инсектицидов, фунгицидов.

БРОЖЕНИЕ.

Спиртовое брожение

Некоторые микроорганизмы, например, дрожжи, в анаэробных условиях используют другую стратегию регенерации окисленного НАД для глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы. Тиаминзависимый фермент пируватдекарбоксилаза катализирует декарбоксилирование пирувата с образованием уксусного альдегида. Далее ацетальдегид восстанавливается с участием алкогольдегидрогеназы до этилового спирта. В реакции регенерируется окисленный НАД для гликолиза



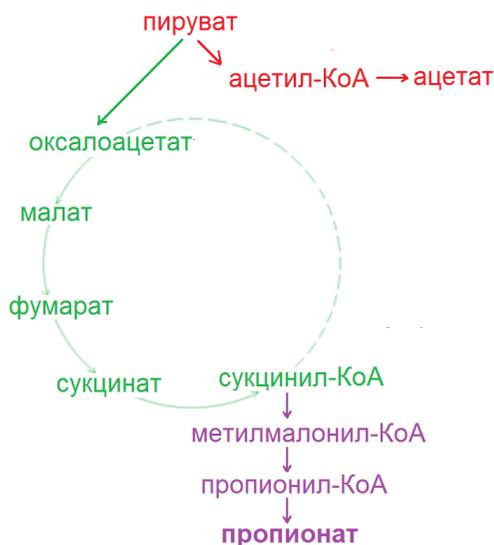
Ксилулозо-5-фосфат, образующийся в реакциях ПФП, расщепляется на глицеральдегид-3-фосфат и ацетил-фосфат. Последний является макроэргическим соединением и может превращаться по двум направлениям: в уксусную кислоту с образованием АТФ или восстановиться до этанола.

Пропионовокислородное брожение.

Пропионовокислые бактерии (род *Propionibacterium*) обитают в рубце и кишечнике жвачных животных. Широко используются в сыроварении, так как помимо основных продуктов образуют целый ряд вкусоароматических веществ. В качестве субстратов могут использовать различные моно- и дисахариды, за исключением лактозы.

Сахара окисляются по гликолитическому пути. Образующийся пируват может быть подвергнут окислительному декарбоксилированию с участием пируватдегидрогеназного комплекса. Ацетил-КоА, затем, через стадию ацетилфосфата превращается в первый продукт - ацетат.

В другом пути, который примерно вдвое мощнее, пируват карбоксилируется до оксалоацетата и вступает в серию реакций аналогичных циклу Кребса, но идущих в обратном направлении до стадии сукцинил-КоА.



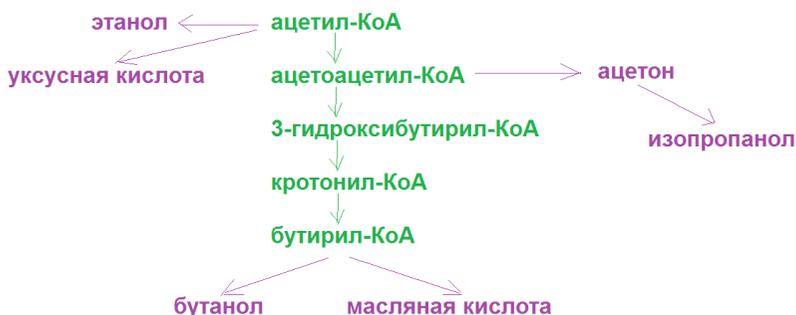
Пропионат образуется в серии реакций, известных нам из окисления жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов. С той лишь разницей, что они протекают в обратном направлении.

Маслянокислое брожение.

Практикуют облигатные анаэробы рода Clostridium, населяющие рубец жвачных и присутствующие в толстом кишечнике всех животных, включая человека. Окисляют гексозы с обра-

зованием целого ряда продуктов: уксусной и масляной кислот, этанола, бутанола и изопропанола, ацетона, водорода.

Схему маслянокислого брожения можно представить следующим образом:



Ацетил-КоА может идти на образование этанола и уксусной кислоты. Этот путь энергетически выгоден, но чреват закислением среды, что вредит жизнедеятельности микроорганизма. Кроме того, он не позволяет эффективно окислять НАДН, образующийся в гликолизе.

Для решения этих задач используется метаболический путь, напоминающий биосинтез жирных кислот у эукариот. Его польза состоит в том, что он позволяет окислять НАДН в двух реакциях гидрирования. Две молекулы ацетил-КоА преобразуются в бутирил-КоА, который можно окислить до масляной кислоты с образованием АТФ, либо восстановить до бутанола. Последний вариант хорош тем, что позволяет утилизировать еще две молекулы НАДН.

Похожие превращения используют целлюлозоразрушающие бактерии в рубце жвачных. Масляная кислота, которая при этом образуется, вместе с другими летучими жирными кислотами всасывается и усваивается организмом животных. Маслянокислое брожение в рубце, осуществляемое клостридиями, негативно сказывается на здоровье животных, приводя к кетозу. Активизация его при силосовании вызывает порчу корма.

Декарбоксилирование пирувата у бактерий может осуществляться с участием ферредоксина – небольшого белка, участвующего в некоторых окислительно-восстановительных превращениях. Восстановленный ферредоксин затем окисляется ферментом гидрогеназой с выделением молекулярного водорода.

ОБМЕН ЛИПИДОВ.

Переваривание липидов.

Ротовая полость.

У детей грудного возраста железами слизистой оболочки корня языка и глотки вырабатывается лингвальная липаза. Она предназначена для переваривания липидов молока. Выделяется рефлекторно в ответ на сосательные и глотательные движения, смешивается с молоком и попадает в желудок. Лингвальная липаза играет важную роль, поскольку:

- ✓ кислотность желудочного содержимого у младенцев совпадает с оптимумом ее рН (4-4,5);
- ✓ липиды молока находятся в эмульгированном состоянии;
- ✓ В жирнокислотном спектре липидов молока преобладают короткоцепочечные жирные кислоты, что соответствует предпочтениям фермента.

У взрослых лингвальная липаза вырабатывается в незначительных количествах и не играет роли в переваривании жиров.

Желудок.

В желудке вырабатывается небольшое количество собственной липазы. Ее активность невелика, так как оптимум рН фермента не совпадает с кислотностью желудочного сока, и жиры пищи находятся в не эмульгированном состоянии. Ее роль состоит в том, что образующиеся под ее действием свободные жирные кислоты и моноглицериды помогают эмульгировать липиды в двенадцатиперстной кишке.

12-перстная кишка.

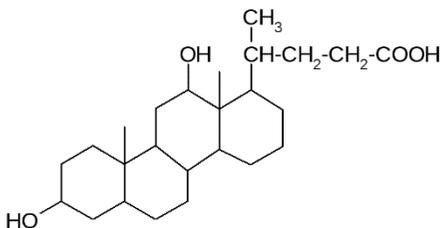
Попадание липидов в 12-перстную кишку стимулирует выделение пептидных гормонов нейроэндокринными клетками стенки кишки. I-клетки образуют холецистокинин, способствующий выделению желчи из желчного пузыря и обогащению гидролитическими ферментами сока поджелудочной железы. S-клетки вырабатывают секретин, стимулирующий образование бикарбонатов и обогащение ими панкреатического сока. Кислое содержимое порций, поступающих из желудка, нейтрализуется секретом поджелудочной железы и происходит процесс эмульгирования.

Это обязательный этап в переваривании липидов, поскольку липаза работает не в растворе, а на поверхности раздела водной и липидной фаз. Ее активность прямо пропорциональна величине этой поверхности. Липиды пищи эмульгируются до капелек размером менее 0,5 мкм. Важнейшими факторами при этом являются:

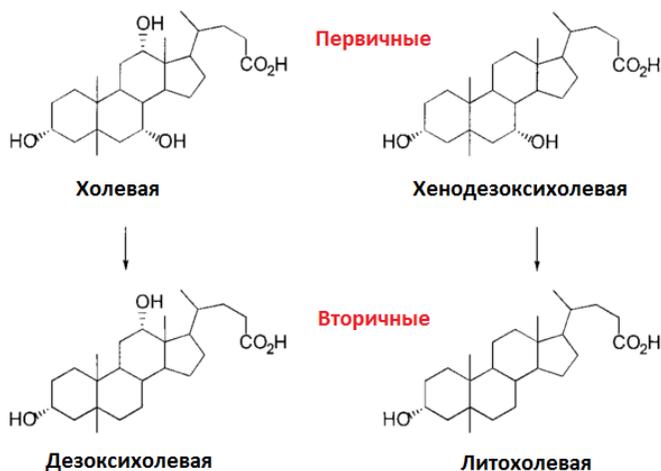
- ✓ Желчные кислоты, фосфолипиды и холестерин желчи;
- ✓ Жирные кислоты и моноглицериды, образовавшиеся в желудке, и образующиеся в кишке;
- ✓ Перистальтика кишки;
- ✓ Перемешивание содержимого под действием пузырьков углекислого газа, образующихся при нейтрализации соляной кислоты.

Желчные кислоты.

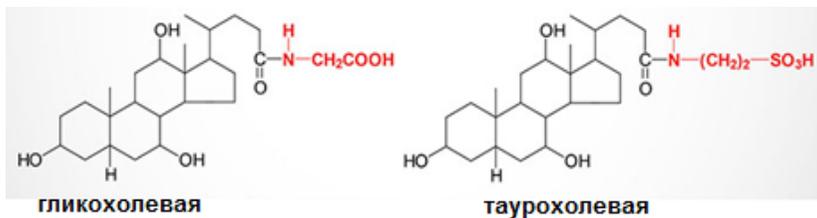
Относятся к стероидам, производным холановой кислоты (на рисунке ниже).



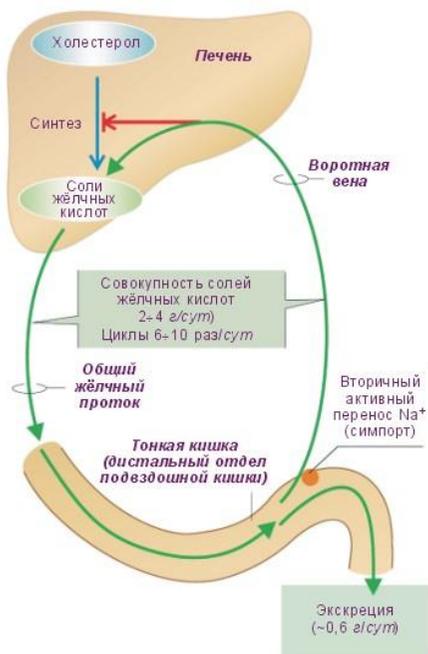
В печени из холестерина синтезируются холевая и хенодезоксихолевая кислоты, которые называются первичными или первично секретируемыми. Под действием микрофлоры толстой кишки из них образуются вторичные желчные кислоты: дезоксихолевая, литохолевая, урсодезоксихолевая, аллохолевая. В желчь они попадают после всасывания в кровь. Физиологическое значение имеет лишь дезоксихолевая кислота, роль остальных незначительна, поскольку всасываются они плохо и, в основном, выделяются с калом.



Желчные кислоты в пузырной желчи находятся в виде конъюгатов с глицином (75%) и таурином (25%). Их название формируется добавлением приставок «глико» или «тауро». Например, гликохолевая, гликодезоксихолевая, таурохолевая и т.д. Другое их название – парные желчные кислоты. Конъюгирование увеличивает полярность молекулы и ее эмульгирующую способность.



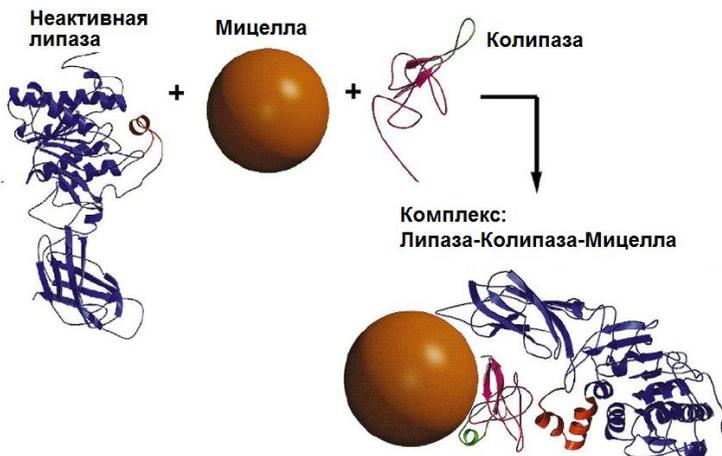
Доля вновь образуемых желчных кислот в желчи не превышает 10%, остальные 90% поступают в результате реабсорбции из кишечника. Этот процесс носит название энтерогепатической циркуляции желчных кислот. За сутки у человека проходит 6-8 (до десяти) циклов выделения желчных кислот в кишечник, их всасывания и поступления в желчь.



<https://www.gastroscan.ru/handbook/206/390>

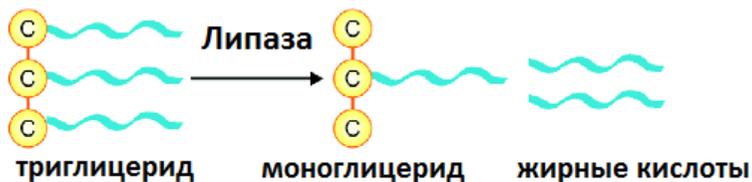
Гидролиз триглицеридов происходит под действием панкреатической липазы. Она выделяется в неактивном виде и ак-

тивируется белком, образующимся также в поджелудочной железе – колипазой. Колипаза секретируется в виде предшественника и активируется трипсином в просвете кишки. Далее она образует комплекс с липазой и помогает ей фиксироваться на поверхности мицеллы.



https://www.researchgate.net/figure/Schematic-depiction-of-PL-activation-in-solution-by-CL-and-a-duodenal-mixed-micelle-The_fig4_13910232

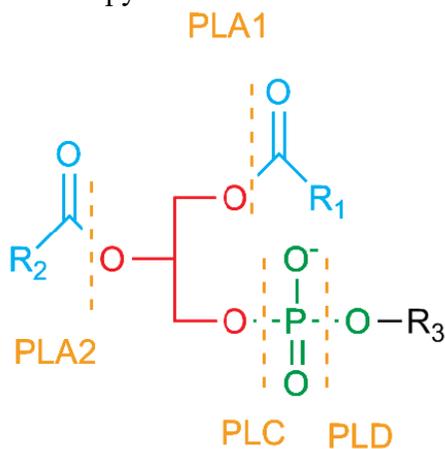
Липаза гидролизует сложноэфирные связи в первом и третьем положении глицерина. Три четверти образующихся 2-моноацилглицеролов всасывается вместе с жирными кислотами. Остальные изомеризуются в 1-моноацилглицерол с помощью моноглицеридизомеразы и гидролизуются липазой.



Эфиры холестерина расщепляются холестеролэстеразой. Холестерин также поступает в кишечник с желчью. Большая его часть всасывается, часть модифицируется микрофлорой кишечника и теряется с калом в виде копростерина, холестенона и пр.

Фосфолипиды пищи поступают в основном в виде фосфатидилхолина (лецитина). Их гидролиз осуществляется фосфолипазами четырех классов:

- Фосфолипаза А1 - отщепляет жирные кислоты в первом положении триглицерида.
- Фосфолипаза А2 отщепляет жирные кислоты во втором положении триглицерида, образуя лизофосфолипиды.
- Фосфолипаза В или лизофосфолипаза – обладает активностью как в первом, так и втором положениях.
- Фосфолипаза С отщепляет полярную группировку в третьем положении.
- Фосфолипаза D гидролизует эфирную связь после фосфатной группы.



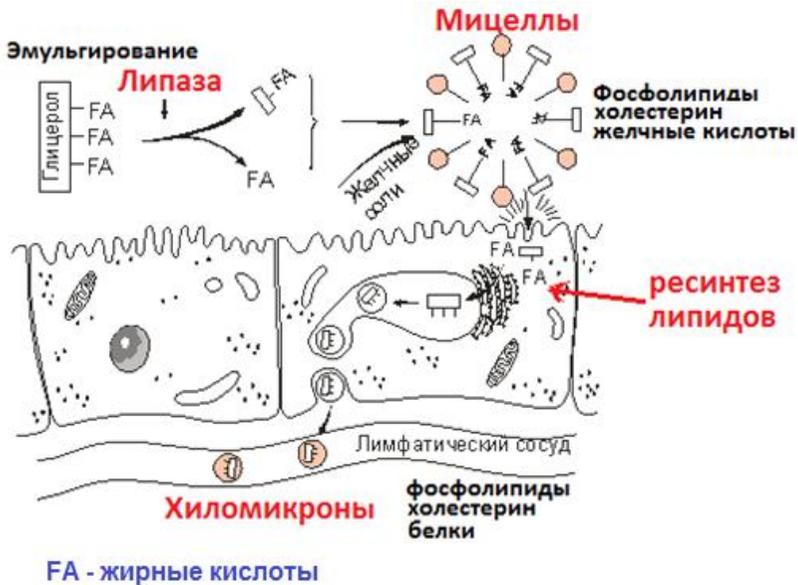
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2087073>

В пищеварении наибольшее значение имеют ферменты класса А и В. Образующиеся в результате их действия жирные кислоты и глицерофосфохолин всасываются.

Часть фосфолипидов поступает в кишечник из желчи для целей эмульгирования и участвует в энтерогепатической циркуляции.

Всасывание продуктов гидролиза.

Всасывание происходит в проксимальной части тонкого кишечника. Глицерол и жирные кислоты с длиной цепи менее 10 атомов углерода свободно диффундируют внутрь клеток эпителия. Моноглицериды и длинноцепочечные жирные кислоты всасываются в составе мицелл. Их оболочка гидрофильна и образована желчными кислотами, фосфолипидами и холестерином. Гидрофобные продукты гидролиза располагаются внутри. Мицелла достигает стенки кишечника, ее содержимое поступает внутрь клетки, желчные кислоты и фосфолипиды оболочки всасываются позже в подвздошной кишке и вовлекаются в энтеро-гепатическую циркуляцию.



Ресинтез жира в стенке кишечника.

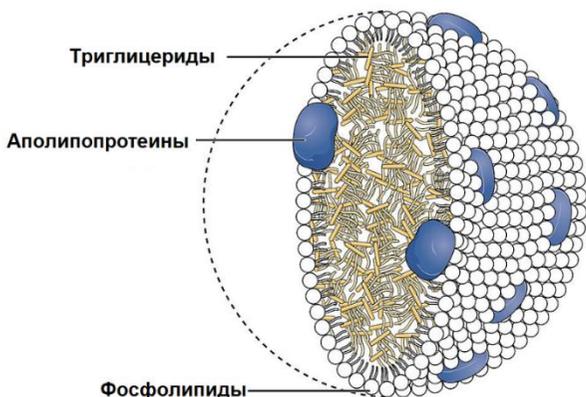
В клетках эпителия происходит синтез видоспецифичных триглицеридов. Биохимические механизмы этих процессов не

отличаются от тех, которые происходят в других клетках и будут рассмотрены далее в разделе, посвященном промежуточному обмену липидов.

Образование хиломикронов.

Ресинтезированные липиды являются гидрофобными молекулами и для их транспортировки к органам и тканям в клетках стенки кишечника образуются липопротеиновые частицы - хиломикроны. Как и в случае мицелл, гидрофобные триглицериды формируют ядро, а на периферии располагаются гидрофильные молекулы: фосфолипиды, холестерин и его эфиры. Помимо них в оболочку встраивается специальный белок – аполипопротеин апоВ-48.

Хиломикроны – самые крупные липопротеины, их размер составляет от 75 нм до 1,2 мкм. В силу этого они не могут проникнуть через эндотелий стенки сосуда, а первоначально поступают в лимфу и лишь потом в кровь. В ходе транспортировки они созревают, их оболочка обогащается еще двумя аполипопротеинами - (апоС-II и апоЕ), полученными от липопротеинов высокой плотности.

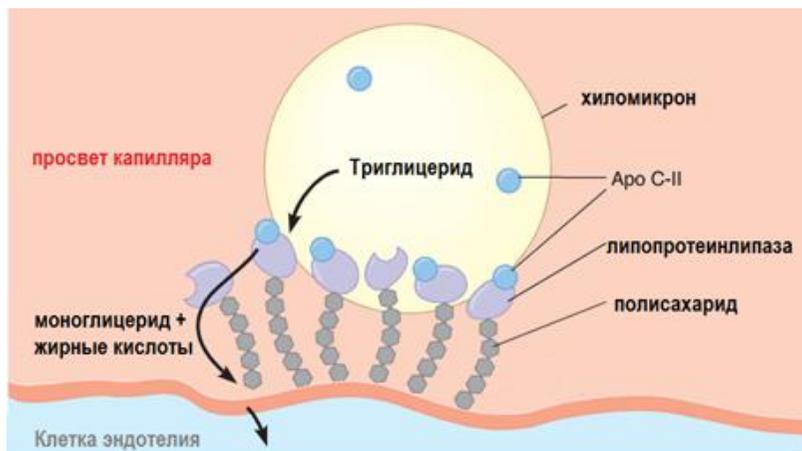


<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=30148502>

Достигнув периферических органов и тканей зрелые хиломикроны фиксируются на поверхности клеток эндотелия кровеносных сосудов. Мембраносвязанный фермент - липопротеин-

липаза гидролизует триглицериды до моноглицеридов и жирных кислот.

Лipoproteinлипаза синтезируется в паренхиматозных клетках органов и тканей, транспортируется по межклеточному пространству в просвет капилляров и фиксируется с помощью специального белка GPIIb/IIIa и гепаринсодержащих протеогликанов на поверхности клеток эндотелия. Больше всего ее в сосудах сердца, лактирующей молочной железы, мышечной и жировой ткани (в печени функционирует другой фермент). Аполипопротеин ApoC-II на поверхности хиломикрон (и липопротеинов очень низкой плотности) служит точкой фиксации хиломикрона и кофактором для липопротеинлипазы, без которого она не активна.



<http://biochemistrymolecularbiology.blogspot.com/2015/05/lipoprotein-metabolism.html>

Продукты гидролиза проникают в межклеточную жидкость и диффундируют к клеткам потребителям, либо связываются с альбумином и транспортируются к удаленным тканям. Пустая оболочка (остаточный хиломикрон) переносится с током крови, захватывается печенью и утилизируется.

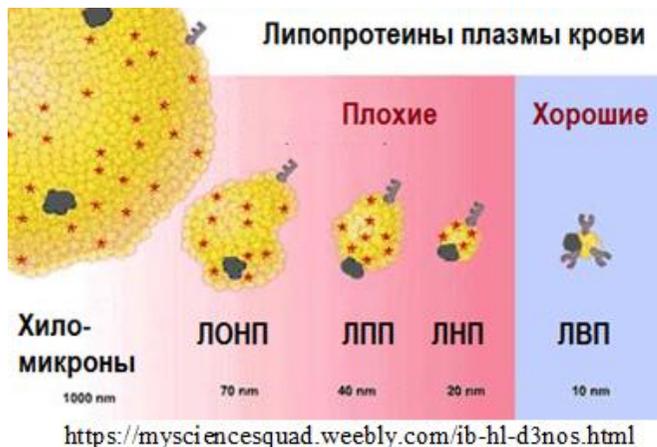
Лipopотеины плазмы крови.

Транспорт к тканям триглицеридов, фосфолипидов и холестерина, синтезированных в печени осуществляется липопротеинами очень низкой плотности (ЛОНП). Они образуются в печени, имея в составе аполипопротеин В100. В кровеносном русле получают еще два апобелка: Апо-СII и Апо-Е от липопротеинов высокой плотности (ЛВП). Дальнейшая их судьба аналогична хиломикронам. Потеряв большую часть триглицеридов в периферических тканях, ЛОНП превращаются в липопротеины промежуточной плотности (ЛПП). ЛПП с током крови попадают в печень, где лишаются апобелков Апо-СII и Апо-Е, превращаясь в липопротеины низкой плотности (ЛНП). Их размер уменьшается, а относительное содержание холестерина увеличивается. ЛНП захватываются с помощью рецепторного эндоцитоза печенью и другими органами и тканями.



В печени образуется еще один вид липопротеинов – высокой плотности (ЛВП). Они осуществляют транспорт холестерина от периферических органов в печень.

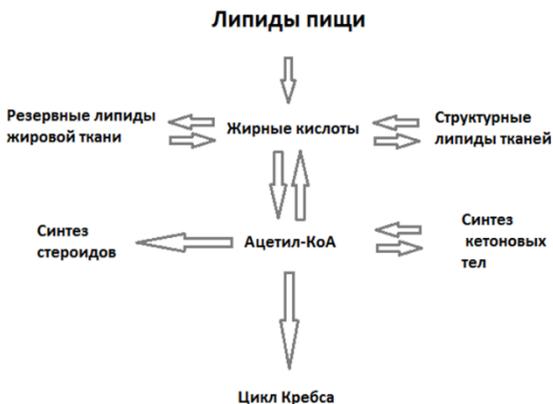
Названия липопротеинов произошли от их плавучести при центрифугировании в градиенте плотности. Этот физический параметр частиц зависит в основном от соотношения в них холестерина и триглицеридов. Чем больше доля холестерина, тем выше плотность.



Анализ крови на липопротеиновые фракции – эффективный диагностический прием для оценки состояния липидного обмена. Увеличение доли ЛНП считается плохим прогностическим признаком и свидетельствует о риске возникновения атеросклероза и сердечно-сосудистой патологии. Холестерин в их составе называют в популярной литературе «плохим». Напротив, холестерин ЛВП, транспортирующийся из сосудов и тканей в печень, считается «хорошим».

Промежуточный обмен липидов включает:

- Расщепление и биосинтез триглицеридов, фосфолипидов
- Окисление и биосинтез жирных кислот
- Образование и распад кетоновых тел
- Обмен холестерина.
- Образование и распад липопротеинов плазмы крови



Липолиз. Мобилизация жира из депо.

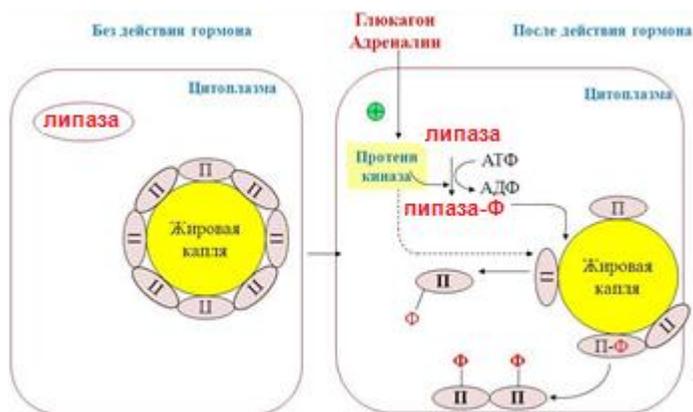
Липолиз – это расщепление триглицеридов до глицерина и жирных кислот. Преимущественно этот процесс происходит в жировой ткани и называется мобилизацией жира.

Жировая ткань является депо (местом хранения) жира в организме. Он мобилизуется в состоянии голодания и при физических нагрузках. Липолиз в жировой ткани – гормонзависимый процесс. Его стимулируют адреналин, норадреналин, кортизол, соматотропный гормон, глюкагон. Антагонистом выступает инсулин.

Гидролиз протекает в три стадии. Триацилглицероллипаза (ТАГ-липаза) отщепляет первую жирную кислоту, образуя диацилглицерол. Вторую отщепляет гормонзависимая липаза, третью – моноацилглицероллипаза. Доступ ТАГ-липазы к жировой капле регулирует белок перилипипин 1А.

При действии липолитических гормонов в адипоците увеличивается синтез цАМФ и активируется протеинкиназа А. Она фосфорилирует перилипипин и гормончувствительную липазу. Перилипипин освобождает поверхность капли, ТАГ-липаза получает доступ к субстрату, гормончувствительная липаза активи-

руется. Инсулин действует через фосфоинозитидную систему, снижая уровень циклического АМФ.



<https://en.ppt-online.org/488311>

Жирные кислоты поступают в кровь и транспортируются к другим клеткам в комплексе с альбумином.

Расщепление глицерофосфолипидов.

В клетках и вне их функционируют фосфолипазы четырех различных специфичностей: А, В, С, D. Они описаны в разделе пищеварения. В клетке помимо катаболизма фосфолипидов, они участвуют в опосредовании действия гормонов, биосинтезе биологически активных соединений и других важных процессах.

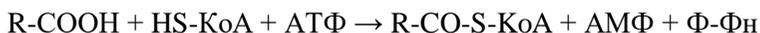
Гидролиз сфинголипидов.

В распаде сфингомиелинов участвуют сфингомиелиназа, отщепляющая фосфорилхолин, церамидаза, продуктами действия которой являются сфингозин и жирная кислота. В расщеплении гликолипидов принимают участие α - и β -галактозидазы, β -глюкозидазы, нейраминидаза и церамидаза.

Окисление жирных кислот.

Наиболее распространен метаболический путь, в ходе которого окисляется третий (β) атом углерода жирной кислоты, из-за чего процесс получил название β -окисления. За исключением стадии активации жирной кислоты, он протекает в митохондриях и является важным источником ацетил-КоА для цикла Кребса. Кроме того, в ходе β -окисления образуются восстановленные НАД и ФАД. Все это делает жирные кислоты самым эффективным источником энергии в клетке.

Активация жирных кислот заключается в присоединении к ним кофермента А. Реакция происходит в цитоплазме, катализируется ацил-КоА-синтетазой. Процесс эндергонический и сопровождается гидролизом АТФ. При этом отщепляется пирогосфат, который немедленно гидролизуется пирофосфатазой.



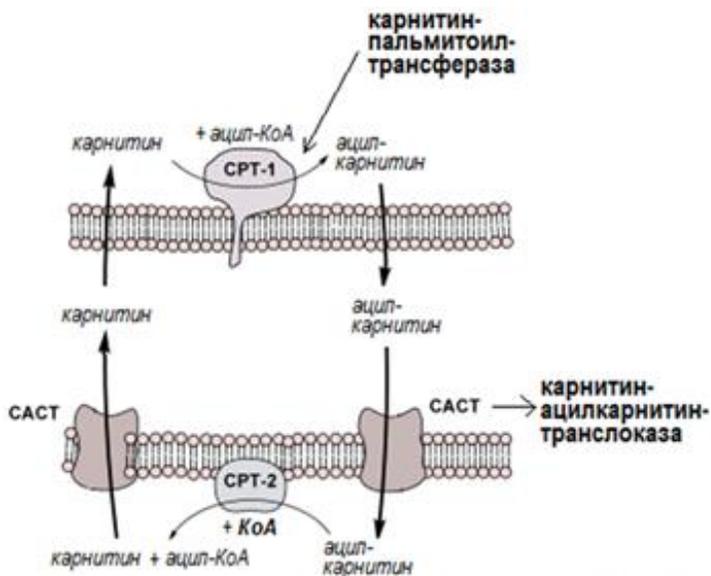
АМФ, образующийся в этой и других реакциях, превращается в АТФ по следующей схеме:

1. $АМФ + АТФ \rightarrow 2АДФ$
2. Окислительное фосфорилирование 2АДФ

Поэтому отщепление пирофосфата следует трактовать, как потерю двух макроэнергетических связей АТФ.

Транспорт ацил-КоА в митохондрии.

Короткоцепочечные ЖК (до 6 атомов углерода) попадают внутрь за счет обычной диффузии. Для длинноцепочечных ацил-КоА митохондриальная мембрана не проницаема, поэтому для переноса используется специальная карнитиновая транспортная система.

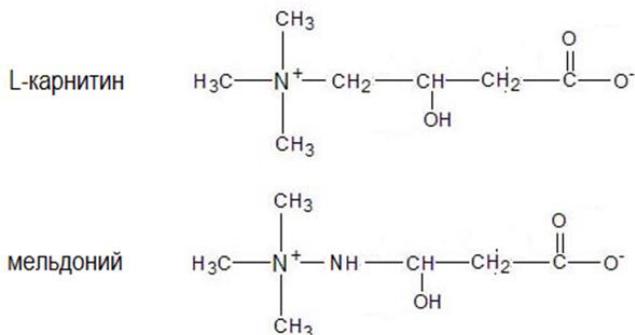


<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=7734791>

На наружной мембране митохондрий фермент карнитин-пальмитоилтрансфераза 1 переносит ацил с кофермента А на карнитин. Наружная мембрана проницаема для карнитина и его производных. Перемещение через внутреннюю мембрану происходит с участием специфической транслоказы (САСТ – карнитин-ацилкарнитин-трансферазы). На внутренней мембране происходит ресинтез ацил-КоА с участием карнитинпальмитоилтрансферазы 2. Свободный карнитин возвращается в цитоплазму.

У взрослых карнитин синтезируется в достаточном количестве. У детей до 15 лет необходимо поступление с пищей, что дает основания считать его витаминоподобным фактором. Попытки применения карнитина для улучшения физической результативности не дали результата. Зато оказалось, что таким действием обладают некоторые ингибиторы его образования, в частности мельдоний.

Снижая образование карнитина, мельдоний тормозит окисление жирных кислот и переключает метаболизм на использование глюкозы. Это позволяет экономить кислород, поскольку для окисления глюкозы его требуется меньше.

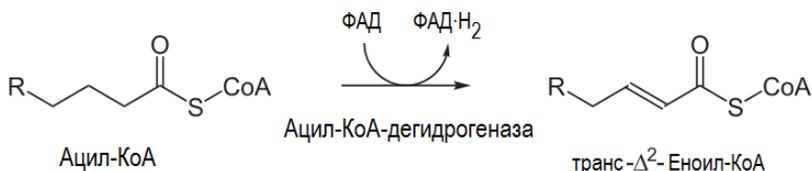


Кроме того, при действии мельдония накапливается предшественник карнитина – γ -бутиробетаин, обладающий сосудорасширяющим действием. Это улучшает снабжение ткани кислородом, повышает физическую выносливость и предотвращает ишемические осложнения у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями.

β -окисление.

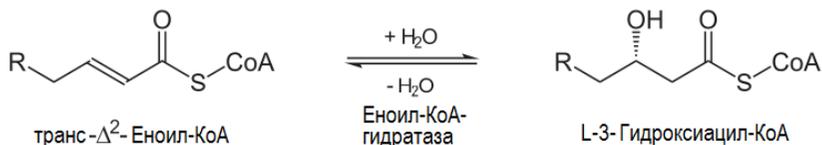
Процесс состоит из повторяющихся четырех реакций, приводящих каждый раз к отщеплению двухуглеродного фрагмента в виде ацетил-КоА.

В первой реакции происходит дегидрирование ацил-КоА у второго атома углерода с участием фермента ацил-КоА-дегидрогеназы и ФАД в качестве кофермента.

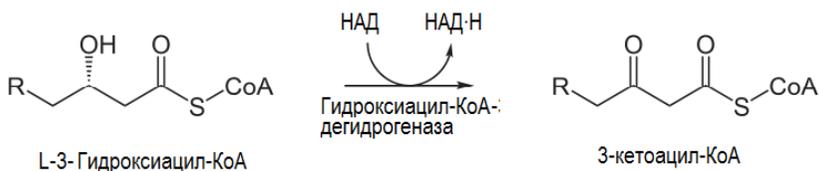


Двойная связь образуется в транс-конфигурации. ФАДН₂ в составе фермента окисляется в цепи переноса электронов, отдавая электроны и протоны непосредственно на кофермент Q.

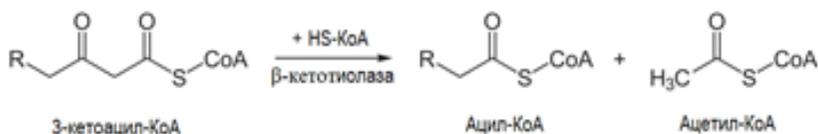
Далее следует обратимая реакция гидратации еноил-КоА под действием еноил-КоА-гидратазы с образованием L-изомера 3-гидроксиацил-КоА



Гидроксиацил-КоА окисляется с участием НАД-зависимой дегидрогеназы.

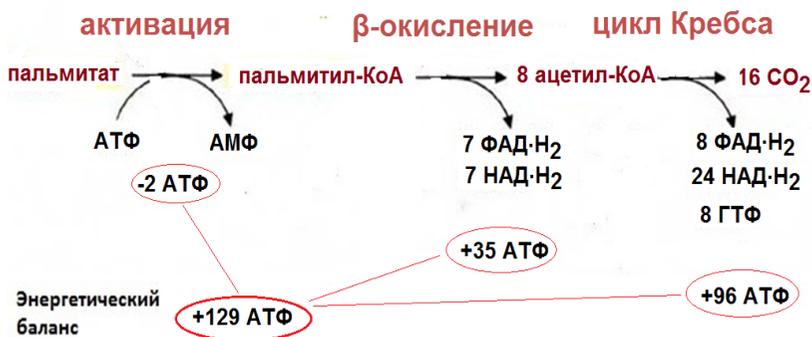


В последней реакции разрывается связь между вторым и третьим атомами углерода. Реакцию катализирует фермент β-кетотиолаза. Поскольку в ней принимает участие свободный кофермент А, повторная активация жирной кислоты не требуется. Образуется ацетил-КоА и укороченный на два атома углерода ацил-КоА.



Процесс повторяется до тех пор, пока вся жирная кислота не расщепится на ацетил-КоА. Для окисления пальмитиновой кислоты (C_{16:0}), например, требуется семь (не восемь!) циклов β-окисления.

Энергетическая эффективность.



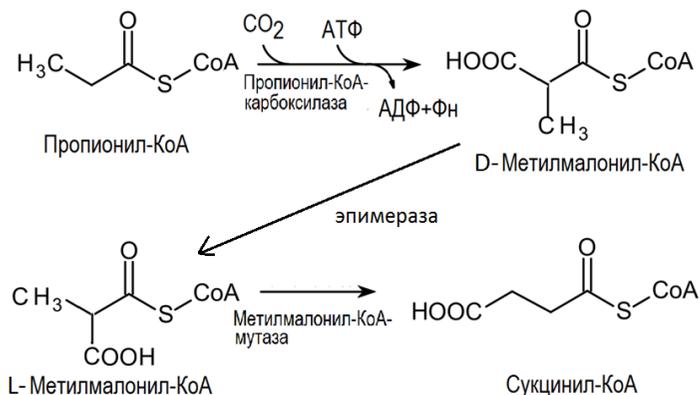
Баланс складывается из образующихся НАДН и ФАДН₂, окисления ацетил-КоА в цикле Кребса и с учетом затрат двух молекул АТФ на стадии активации жирной кислоты.

Окисление жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов

Эти жирные кислоты поступают в организм с растительной пищей и морепродуктами. Они окисляются обычным образом с тем лишь отличием, что в конце образуется трехуглеродная молекула – пропионил-КоА.

Она вовлекается в цикл Кребса за три этапа. Первый – это карбоксилирование с участием биотинзависимого фермента пропионил-КоА-карбоксилазы, который использует для этого энергию АТФ. Образующийся D-метилмалонил-КоА изомеризуется метилмалонил-КоА-эпимеразой в L-изомер. В третьей реакции с участием метилмалонил-КоА-мутазы происходит перегруппировка атомов и образуется сукцинил-КоА. Это одна из двух реакций в организме, протекающих с участием витамина В12, в частности одной из его форм – дезоксиаденозилкобаламина.

Сукцинил-КоА окисляется в цикле Кребса.

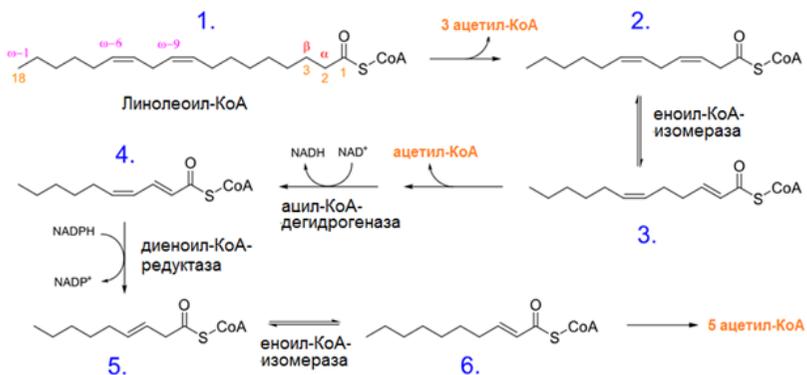


Эти реакции имеют также большое значение для окисления пропионата, образующегося в больших количествах при сбраживании углеводов в рубце жвачных животных.

Окисление ненасыщенных жирных кислот.

Особенностью природных жирных кислот является то, что двойные связи в них находятся в цис-конфигурации. В то же время, для еноил-КоА-гидратазы необходим транс изомер. Окисление протекает обычным образом до того момента, пока двойная связь не попадет в положение Δ3-4. Далее фермент еноил-КоА-изомераза преобразует ее в транс-конфигурацию и переносит во второе положение.

В случае наличия двух и более двойных связей процесс требует участия дополнительного фермента - диеноил-КоА-редуктазы.



https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Linoleic_acid_beta_oxidation.svg

После изомеризации двойной связи и отщепления ацетил-КоА, вторая двойная связь оказывается в Δ4-5 положении. Дегидрирование этого соединения под действием ацил-КоА-дегидрогеназы образует диен (на рисунке – под номером 4). Диеноил-КоА-редуктаза катализирует присоединение двух атома водорода с использованием восстановленного НАДФ, при этом из двух двойных связей образуется одна в Δ3-4 положении (1,4-присоединение). Еноил-КоА-изомераза переносит ее в Δ2-3 положение, что необходимо для дальнейшего окисления.

Ненасыщенные жирные кислоты окисляются намного быстрее насыщенных. Так скорость окисления арахидоновой кислоты в 200 раз больше, чем стеариновой.

Окисление длинноцепочечных жирных кислот.

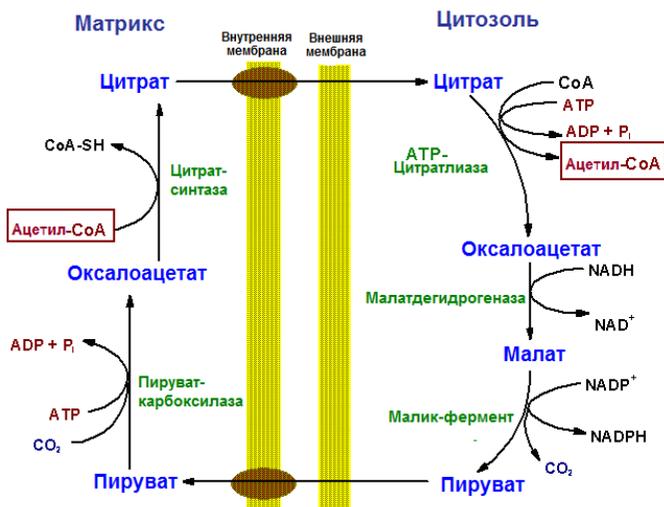
Расщепление разветвленных, длинноцепочечных (C22 и более) жирных кислот и некоторых эйкозаноидов происходит в пероксисомах до стадии образования октаноил-КоА, который затем транспортируется в митохондрии и претерпевает дальнейшее β-окисление. При этом образуются ацетил-КоА и перекись водорода. Последняя расщепляется каталазой.

Биосинтез липидов.

При избыточном поступлении глюкозы, клетки направляют ее на биосинтез липидов.

Образующийся в гликолизе пируват переносится в митохондрии, окисляется в пируватдегидрогеназной реакции до ацетил-КоА. В обычном режиме последний конденсируется с оксалоацетатом в первой реакции цикла Кребса. Однако, при высоком энергетическом статусе клетки ЦТК блокируется вследствие ингибирования изоцитратдегидрогеназы и α -кетоглутаратдегидрогеназы высокими концентрациями АТФ и НАДН. Накапливающийся цитрат по градиенту концентрации транспортируется в цитозоль. Под действием АТФ-цитратлиазы он расщепляется до оксалоацетата и ацетил-КоА. Последний используется для синтеза холестерина и жирных кислот.

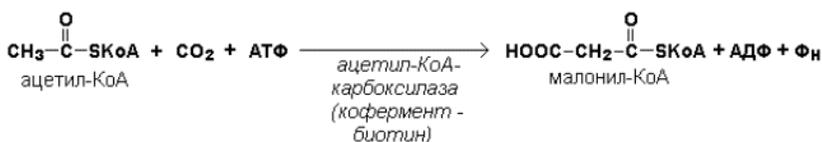
Оксалоацетат возвращается в митохондрии посредством малат-аспартатного челнока, либо в виде пирувата после декарбоксилирования малик-ферментом. Последний путь предпочтителен, так как позволяет получить восстановленный НАДФ, необходимый для синтеза липидов.



Биосинтез жирных кислот.

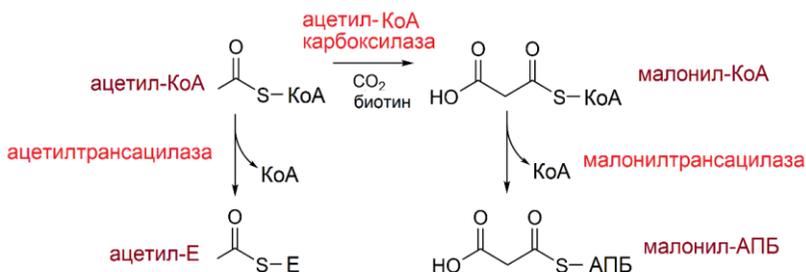
Процесс происходит во всех клетках в цитоплазме. Наиболее интенсивно протекает в печени, почках, мозге, молочной железе, жировой ткани.

В первой реакции ацетил-КоА карбоксилируется до малонил-КоА с помощью биотин-зависимого фермента - ацетил-КоА-карбоксилазы. Реакция лимитирует скорость всего процесса и требует расхода АТФ. Фермент активируется цитратом и ингибируется длинноцепочечными ацил-КоА.



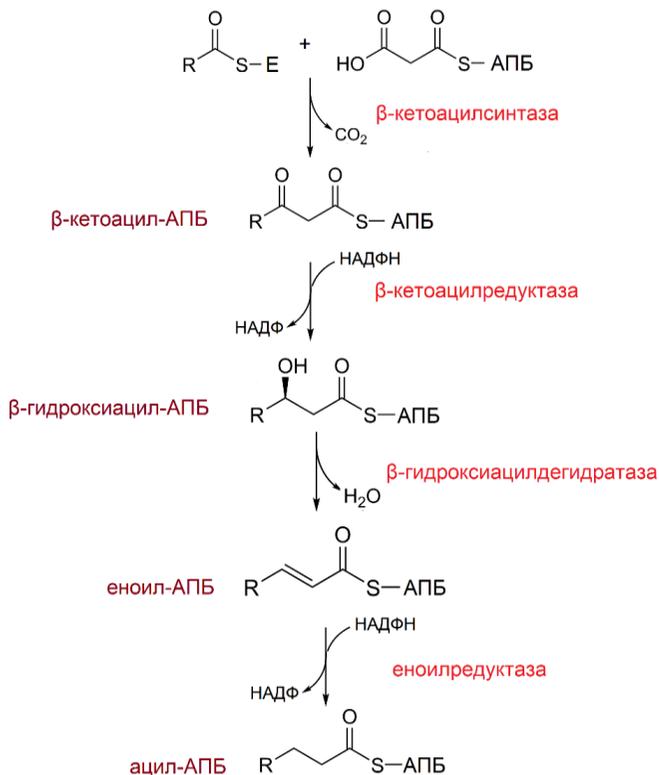
Дальнейшие превращения осуществляются мультиферментным комплексом – синтетаза жирных кислот. В его состав входит ацилпереносящий белок (АПБ), заменяющий кофермент А, и шесть ферментов. За один цикл реакций происходит удлинение цепи на два углеродных атома.

На первом этапе ферменты ацетилтрансацилаза и малонилтрансацилаза переносят ацетильный и малонильный радикалы на цистеин β-кетоацилсинтазы и 4-фосфопантетеин АПБ, соответственно.



Четыре следующих фермента осуществляют цикл превращений, напоминающий β-окисление, если его рассматривать в

обратном направлении. Ацильные фрагменты конденсируются с участием β -кетоацилсинтазы. Образуется ацетоацетил-АПБ, который далее восстанавливается редуктазой, дегидратируется и вновь восстанавливается с образованием бутирил-АПБ.



Ацилтрансфераза перемещает вновь синтезированный бутирил на цистеин β -кетоацилсинтазы, а очередной радикал малонила присоединяется к 4-фосфоантетеину АПБ. Цикл повторяется семь раз, что приводит к образованию пальмитиновой кислоты. В ходе синтеза используется один ацетил-КоА и семь малонил-КоА.

Источником водорода для редуктаз является исключительно НАДФН. Основным его источником в клетке является ПФП. Кроме того, он образуется малик-ферментом (малатдегидрогеназа декарбоксилирующая) и цитоплазматическим НАДФ-зависимым изоферментом изоцитратдегидрогеназы.

Пути биосинтеза и окисления жирных кислот в клетке не пересекаются, так как протекают в разных компартаментах.

Элонгация и десатурация жирных кислот.

Элонгация (удлинение цепи) жирных кислот происходит в эндоплазматическом ретикулуме с участием малонил-КоА. Последовательность реакций сходна с той, что происходит при синтезе пальмитиновой кислоты, однако в данном случае жирные кислоты связаны не с синтазой жирных кислот, а с КоА.

Основной продукт элонгации в печени - стеариновая кислота (С 18:0), однако в ткани мозга образуется большое количество жирных кислот с более длинной цепью - от С20 до С24, которые необходимы для образования сфинголипидов и сахаролипидов.

Включение двойных связей в радикалы жирных кислот называется десатурацией. Основные жирные кислоты, образующиеся в организме человека в результате десатурации, - пальмитоолеиновая (С16:1Δ9) и олеиновая (С18:1Δ9). Образование двойных связей в радикалах жирных кислот происходит в эндоплазматическом ретикулуме в реакции с участием молекулярного кислорода, NADH и цитохрома b5.

Фактически, незаменимыми для человека являются только две жирные кислоты – линолевая и α-линоленовая. Из них могут быть синтезированы все остальные представители ω-3 и ω-6 ряда. В ходе этих превращений процессы десатурации предшествуют элонгации, так как наши ферментные системы не могут образовывать двойные связи дальше девятого атома углерода.

18:0 стеариновая



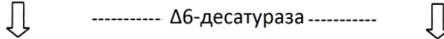
18:1 олеиновая

ω-6

ω-3

18:2 линолевая

18:3 α-линоленовая



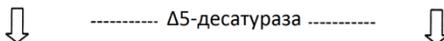
18:3 γ-линоленовая

18:4 октадекатетраеновая



20:3 ди-гомо γ-линоленовая

20:4 эйкозатетраеновая

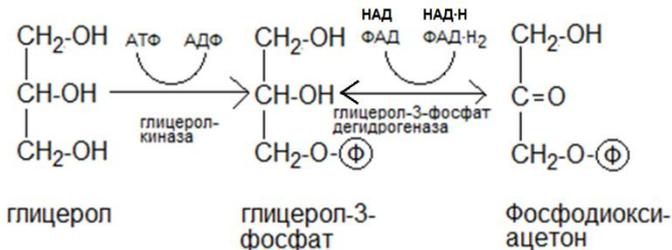


20:4 арахидоновая

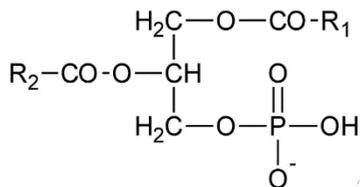
20:5 эйкозапентаеновая

Синтез триглицеридов.

Синтез может протекать по двум механизмам. В первом исходным веществом является глицерол-3-фосфат. В печени, почках и клетках стенки кишечника он образуется при фосфорилировании глицерина с участием глицеролкиназы. В жировой ткани и мышцах, где активность глицеролкиназы мала, глицерол-3-фосфат образуется из промежуточного продукта гликолиза – фосфодиоксиацетона. Реакция обратима и катализируется глицерол-3-фосфатдегидрогеназой. При необходимости этот же фермент может работать в обратном направлении, например, в ходе глюконеогенеза из глицерина.



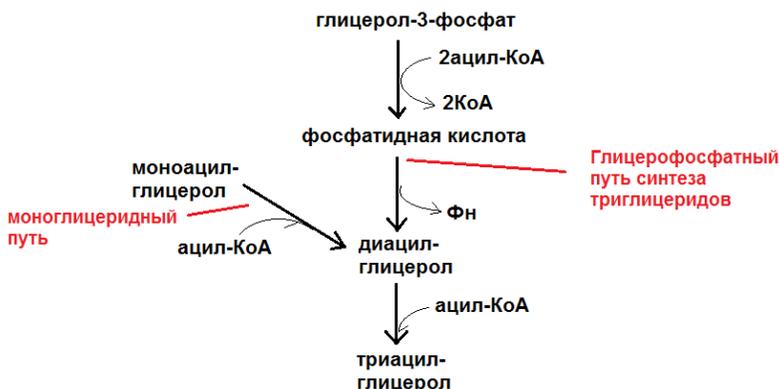
Глицерол-3-фосфат ацилируется двумя остатками жирных кислот с образованием фосфатидной кислоты. Это предшествует, как синтезу триглицеридов, так и фосфолипидов.



Возможно, также, образование фосфатидной кислоты ацилированием непосредственно фосфодиоксиацетона, с последующим восстановлением карбонильной группы.

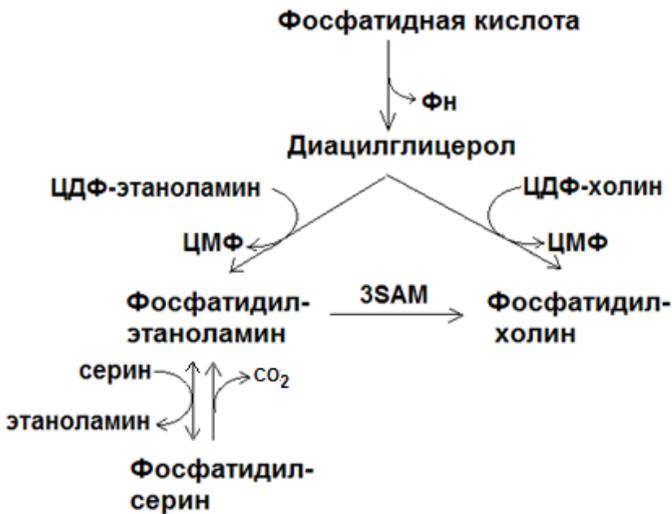
Далее фосфатидная кислота дефосфорилируется с участием фосфатадифосфатазы до диацилглицерола, который этерифицируется третьей жирной кислотой.

Во втором пути в качестве исходного субстрата используются моноацилглицеролы (моноглицериды), всасывающиеся из желудочно-кишечного тракта. Биосинтез протекает, минуя стадию фосфатидной кислоты.

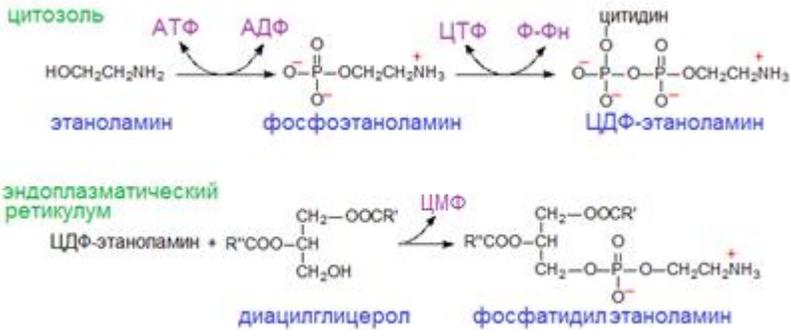


Биосинтез фосфолипидов.

Диацилглицерол взаимодействует с ЦДФ-холином и ЦДФ-этаноломином с образованием фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, соответственно. Фосфатидилхолин, также, может образовываться за счет метилирования фосфатидилэтаноламина с участием S-аденозилметионина. Фосфатидилэтанолламин может обменивать этанолламин на серин с образованием фосфатидилсерина. Последний способен декарбоксилироваться в фосфатидилэтанолламин.



Реакции активации холина и этаноламина протекают в цитоплазме и требуют больших энергетических затрат. Непосредственно синтез фосфолипидов – в эндоплазматическом ретикулуме.



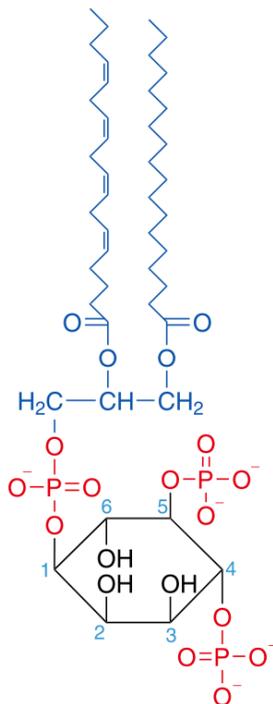
Образование фосфатидинозита осуществляется по другой схеме. С ЦТФ реагирует фосфатидная кислота, в результате чего образуется ЦДФ-диацилглицерол. Последний конденсируется с инозитом.



Фосфатидинозитол играет важную роль в опосредовании действия многих гормонов и нейромедиаторов. Инозитол в его составе может быть фосфорилирован в третьем, четвертом и пятом положениях. Гидролиз под действием гормончувствительной фосфолипазы С приводит к образованию сразу двух вторичных мессенджеров: диацилглицерола и инозитол-1,4,5-трифосфата.

Группа липидов на основе инозитола носит название инозитидов или фосфоинозитидов.

Фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат



<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=6785466>

Метаболизм кетоновых тел.

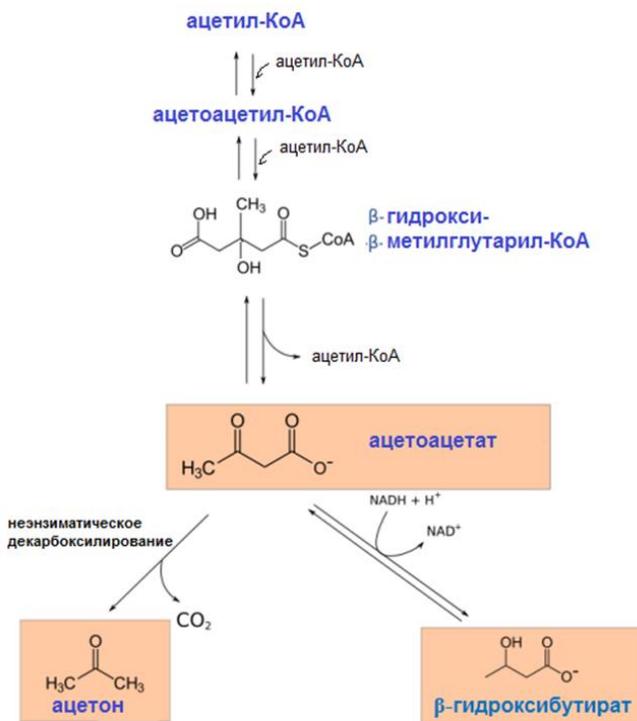
К кетоновым телам относятся три соединения: ацетоацетат, β-гидроксibuтират и ацетон. Это обычные интермедиаты обмена веществ, которые используются (за исключением ацетона) тканями в качестве альтернативного глюкозе и жирным кислотам источника энергии.

При голодании, тяжелой мышечной нагрузке, сахарном диабете их концентрация в крови возрастает в десятки раз (кетонемия), достигая 20 мМ. Это может приводить к сдвигу рН в кислую сторону (кетацидоз). При превышении почечного порога кетоновые тела появляются в моче (кетонурия). В выдыхаемом воздухе отмечается запах ацетона.

При всех указанных выше состояниях клетки испытывают дефицит глюкозы, что индуцирует процессы глюконеогенеза в печени. Это, в свою очередь, провоцирует снижение доступности оксалоацетата в цикле Кребса. Вследствие этого, образующийся при окислении жирных кислот ацетил-КоА направляется на синтез кетоновых тел.

Синтез кетоновых тел.

В первой реакции конденсируются две молекулы ацетил-КоА и образуется ацетоацетил-КоА. Далее под действием β -гидрокси- β -метилглутарил-КоА-синтетазы присоединяется третий ацетил. β -гидрокси- β -метилглутарил-КоА с участием лиазы отщепляет один ацетил-КоА и образует первое кетоновое тело – ацетоацетат.



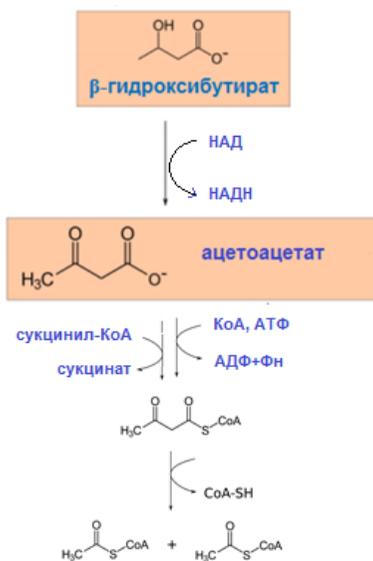
Он может восстанавливаться в обратимой реакции до β -гидроксибутирата, либо неэнзиматически декарбоксилироваться с образованием ацетона. Последний является тупиковым продуктом и выводится с мочой и выдыхаемым воздухом.

Все эти превращения протекают в митохондриях.

Кетоновые тела поступают в кровь и используются периферическими органами и тканями, включая мозг, для поддержания энергетического баланса. Причем, сама печень не обладает ферментными системами для их использования.

Распад кетоновых тел.

β -гидроксибутират окисляется до ацетоацетата с образованием восстановленного НАД. Ацетоацетат либо активируется непосредственным присоединением КоА в ацил-КоА-синтетазной реакции, либо отнимает его у сукцинил-КоА. Далее β -кетотиолаза расщепляет ацетоацетил-КоА до двух молекул ацетил-КоА, которые поступают в цикл Кребса.



Перекисное окисление липидов (ПОЛ).

ПОЛ – это повреждение липидов свободными радикалами, образующимися в ходе окислительных процессов в организме. Реакция развивается по цепному механизму и может приводить к нарушению функции мембранных структур, модификации белков, возникновению мутаций в нуклеиновых кислотах. Например, за сутки в организме человека модифицируется порядка 10 000 нуклеотидов. ПОЛ играет патогенетическую роль в развитии многих заболеваний: атеросклероза, болезни Паркинсона и Альцгеймера, артериальной гипертензии, диабета; процессах старения, онкогенеза.

Наиболее частой причиной ПОЛ является увеличение образования активных форм кислорода. Этот процесс происходит в клетке постоянно и играет важную роль в ее функционировании. С участием свободных радикалов синтезируются эйкозаноиды, некоторые стероидные гормоны, осуществляется антимикробная защита. Под действием неблагоприятных условий внешней среды, ксенобиотиков, радиации и пр. процессы образования свободных радикалов резко активируются. Это явление получило название окислительного стресса.

Активные формы кислорода.

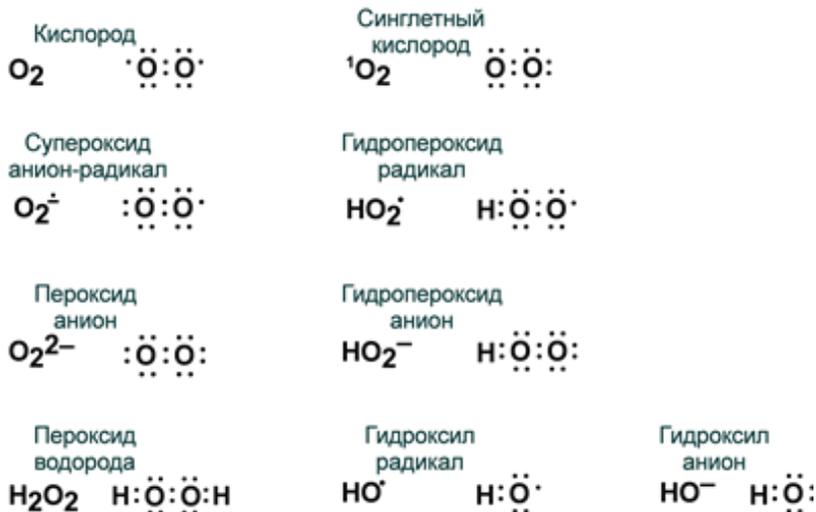
В это понятие входят ионы кислорода, свободные радикалы и перекиси.

Радикалы – атомы, молекулы или ионы, содержащие один или несколько неспаренных электронов на внешней электронной оболочке. В связи с этим, эти молекулы обладают высокой реактивностью.



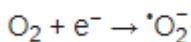
Активные формы кислорода являются продуктами его неполного восстановления.

Строение активных форм кислорода.

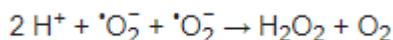


Образование активных форм кислорода.

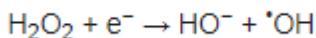
При одноэлектронном восстановлении кислорода образуется супероксид.



Он является предшественником других форм. Дисмутация супероксида приводит к образованию перекиси водорода.

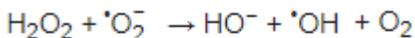


При восстановлении перекиси водорода образуется гидроксильный анион и гидроксильный радикал. Последний является наиболее реакционноспособным видом.

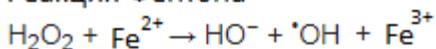


Источником электрона для этого превращения может быть супероксид (реакция Хабера-Вайса), либо Fe^{2+} (реакция Фентона):

Реакция Хабера-Вайса



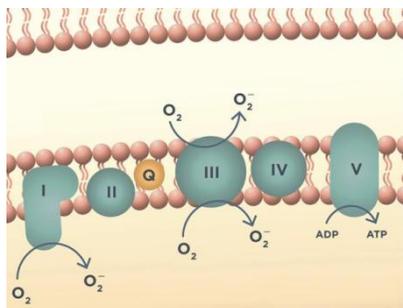
Реакция Фентона



Гидроксильный радикал отнимает электрон у первой же молекулы, с которой сталкивается, инициируя реакции свободно-радикального окисления.

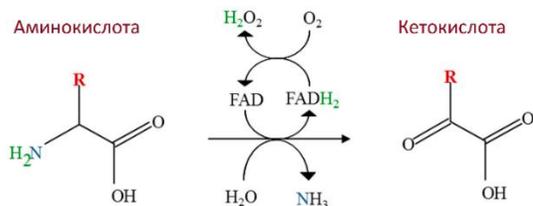
Источники активных форм кислорода в клетке.

Наиболее мощным источником электронов, необходимых для этого процесса, является утечка с электронтранспортной цепи, в частности с убухинона и комплексов I и III.

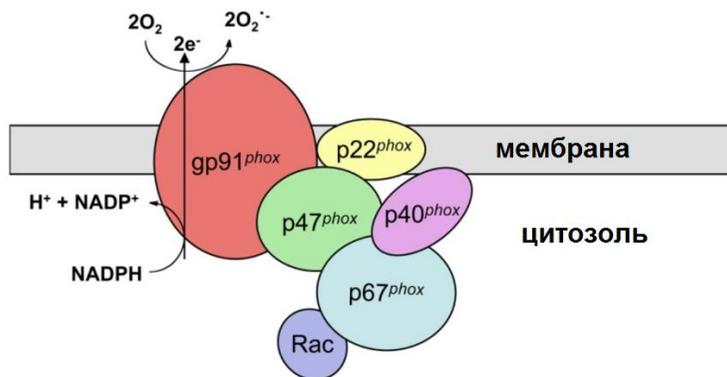


Некоторое количество супероксида образуется микросомальной системой окисления.

АФК могут образовываться, как побочный продукт реакции. Например, в ходе окисления аминов (моноаминоксидаза), аминокислот (оксидазы D- и L-аминокислот), гипоксантина и ксантина (ксантиноксидаза) образуется перекись водорода.



АФК могут образовываться целенаправленно. НАДФН-оксидаза лейкоцитов (на рисунке ниже), образуя супероксид, участвует в клеточной противомикробной защите.



https://www.researchgate.net/publication/257075489_A_role_for_NADPH_oxidase_in_antigen_presentation

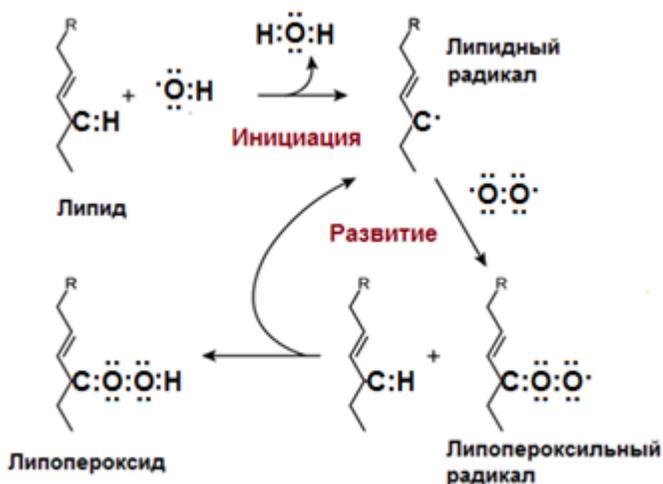
Механизм ПОЛ.

В развитии процесса выделяют стадии инициации, развития и терминации.

Наиболее подвержены окислению полиненасыщенные жирные кислоты, в частности водород метиленовых мостиков между двойными связями. Иницирует реакцию чаще всего гидроксильный радикал, отнимающий атом водорода и образующий липидный радикал. Сам он при этом восстанавливается до воды.

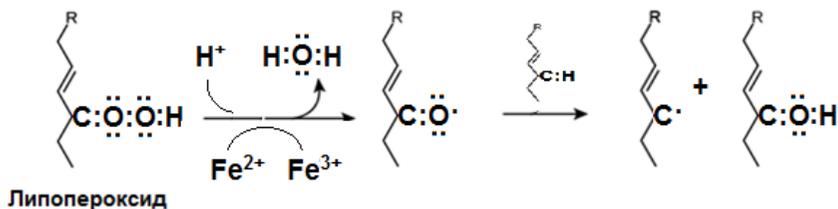
Стадия развития (элонгации) включает присоединение кислорода к липидному радикалу с образованием липопероксильного радикала. Последний реагирует с новой липидной молеку-

лой, восстанавливается до гидроперекиси, образовав новый радикал.

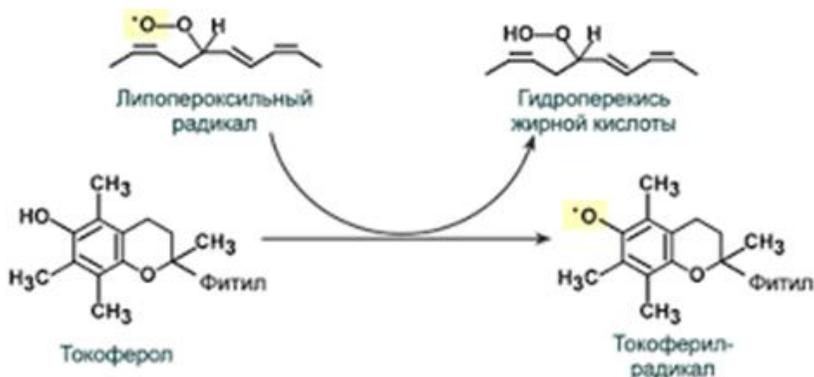


<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1728531>

Ветвление.



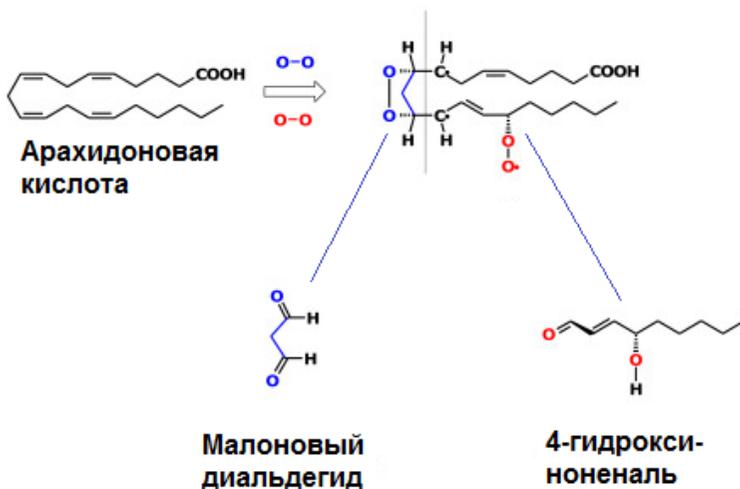
Реакция терминируется, когда два радикала реагируют друг с другом, что актуально при их высокой концентрации, либо, когда вторым реагентом выступает антиоксидант.



<https://biokhimija.ru/oxidative-stress/antioxidanty.html>

Гидроперекиси липидов далее распадаются с образованием конечных продуктов перекисного окисления липидов – спиртов, альдегидов, диальдегидов, кетонов, эпоксидов.

Наиболее важными из них являются малоновый диальдегид и 4-гидроксиноненаль. Определение их концентрации является способом оценки интенсивности ПОЛ в биологических системах. Схема образования этих продуктов из эндоперекиси арахидоновой кислоты представлена на рисунке.



Малоновый диальдегид реагирует со свободными аминогруппами белков, фосфолипидов, гликозаминогликанов и образует ковалентные сшивки внутри и между этими молекулами. Это негативно сказывается на их функционировании.

Накопление окисленных липидов изменяет физико-химические свойства мембран. Нарушаются процессы транспорта, рецепции, работа мембранных ферментов.

Антиоксидантная защита.

Скорость образования активных форм кислорода в клетке контролируется по окислению остатков цистеина в чувствительных белках. Среди них факторы транскрипции, шапероны, тирозиновые протеинфосфатазы. Их активность зависит от окислительно-восстановительного статуса клетки. Модификация тирольной группы изменяет конформацию белков и их активность, что приводит к формированию сигнального каскада. В результате клетка активизирует элементы антиоксидантной защиты. Среди них ферменты и антиоксиданты.

Антиоксиданты.

Самым важным является витамин Е. Будучи жирорастворимым витамином, он накапливается непосредственно в клеточных мембранах, где и защищает липиды от повреждения. Токоферол отдает атом водорода липопероксидному радикалу, восстанавливая его до пероксида и прерывая, таким образом, цепную реакцию ПОЛ. Сам он при этом превращается в стабильный токоферилрадикал, способный прореагировать еще с одним липопероксидным радикалом. В результате образуются две молекулы липопероксида и стабильная окисленная форма витамина – токоферилхинон.

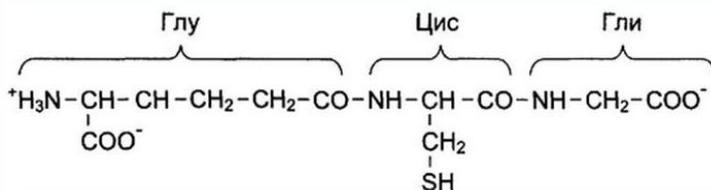
Аскорбиновая кислота,

являясь сильным восстановителем, способна инактивировать активные формы кислорода - супероксид, гидроксильный радикал и перекись водорода. Помимо этого, она способна восстанавливать окисленные формы витамина Е.



Глутатион -

трипептид: γ -глутамилцистеинилглицин. Глутамат образует в нем нетипичную пептидную связь с участием γ -аминогруппы.



Содержится в клетке в высокой концентрации. Участвует в детоксикации ксенобиотиков и обезвреживании свободных радикалов. Окисляясь, он превращается в димер, соединенный дисульфидным мостиком (G-S-S-G). Восстанавливается глутатионредуктазой с участием НАДФН.

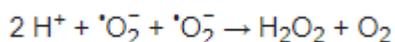
Соотношение восстановленной и окисленной форм глутатиона – важнейший параметр, характеризующий окислительно-восстановительный статус клетки и уровень окислительного стресса.

Антиоксидантным действием обладают, также, каротиноиды – β -каротин и ликопин, биофлавоноиды – кверцетин, ресвератрол и другие компоненты пищи. Убихинон, глутатион, мочевиная кислота – примеры эндогенных соединений, обладающих антиоксидантными свойствами

Ферментные системы.

Супероксиддисмутаза переносит электрон с одного супероксидного радикала на второй, образуя кислород и перекись водорода.

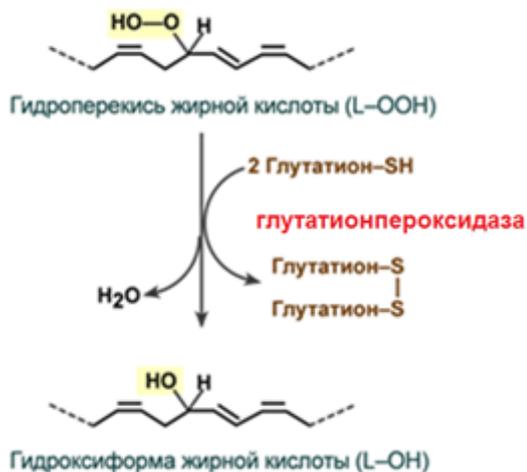
Цитозольный изофермент использует для катализа медь, митохондриальный в активном центре имеет марганец. Помимо этого, в состав обоих ферментов входит атом цинка, который не участвует в катализе.



Каталаза – гемсодержащий фермент, присутствующий в пероксисомах. Он превращает перекись водорода в кислород и воду.



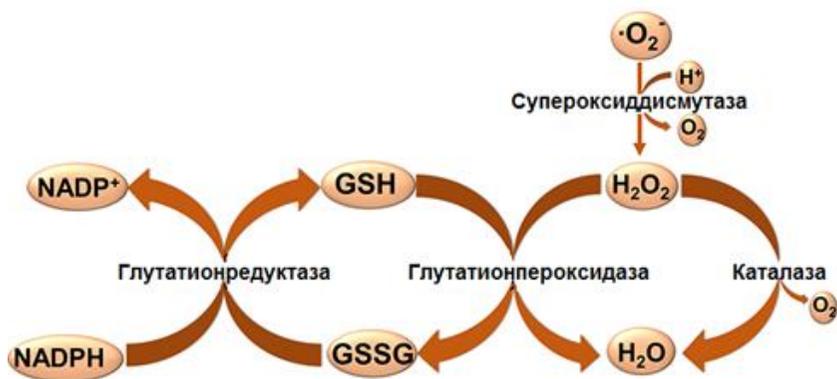
Глутатионпероксидаза катализирует восстановление гидроперекисей липидов в спирты и превращение перекиси водорода в кислород и воду.



<https://biokhimija.ru/oxidative-stress/kontrol-okisleniya.html>

Использует в качестве кофактора глутатион. Особенностью глутатионпероксидазы является необычная аминокислота – селеноцистеин, входящая в активный центр фермента.

Схема взаимодействия ферментных систем, обезвреживающих активные формы кислорода, представлена на рисунке:



https://www.researchgate.net/figure/ROS-Scavenging-SOD-are-responsible-for-the-dismutation-of-the-reactive-superoxide-to_fig7_305524550

ОБМЕН БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ.

Переваривание белков.

Желудок.

Основным ферментом, расщепляющим белки в желудке, является пепсин. Он вырабатывается главными клетками в виде профермента – пепсиногена. Активация происходит в полости желудка под действием соляной кислоты. В кислой среде молекула пепсиногена разворачивается, что делает возможным аутокаталитическое отщепление N-концевого пептида из 44 аминокислот. Пепсин относится к эндопротеазам и гидролизует преимущественно пептидные связи, образованные ароматическими аминокислотами (фенилаланин, тирозин, триптофан). Проявляет максимальную активность при pH 2.

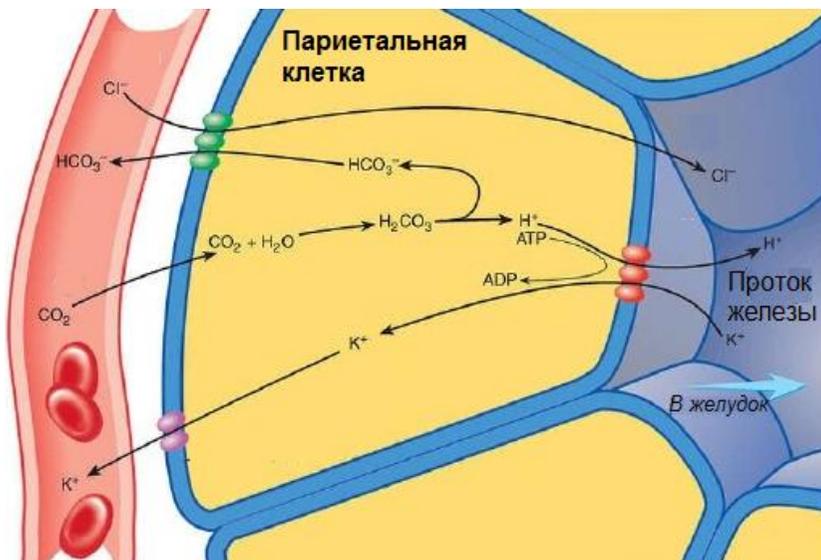
Помимо пепсина (пепсин А), главные клетки синтезируют небольшое количество других изоформ, наиболее важными из которых являются пепсин В - гастриксин и пепсин С – химозин (реннин). Не путать с ренином – протеазой почек, превращающей ангиотензиноген в ангиотензин 1.

Гастриксин максимально активен при рН 3,2 – 3,5. Такая кислотность желудочного сока возможна при употреблении молочно-растительных продуктов.

Химозин играет важную роль у детей, находящихся на грудном вскармливании. Он отщепляет гликопептид от казеина, превращая его в параказеин. Последний взаимодействует с ионами кальция и образует нежный осадок, который задерживается в желудке и переваривается. Если бы этого не происходило, молоко бы транзитом уходило в кишечник. У взрослых химозина нет, и денатурация казеина происходит под действием высокой концентрации соляной кислоты.

Концентрация соляной кислоты в желудочном соке достигает 0,16М. Она секретируется обкладочными (париетальными) клетками. Механизм этого процесса следующий.

Фермент карбоангидраза образует в клетке угольную кислоту из углекислого газа и воды. Она диссоциирует с образованием бикарбоната и иона водорода. Последний перекачивается в проток железы с участием протонной помпы – H^+, K^+ -АТФ-азы по механизму антипорта, то есть в клетку одновременно поступают ионы калия. Бикарбонат выводится в кровь, откуда в обмен поступают ионы хлора. Далее они переносятся в секрет.



<https://www.sli-deserve.com/helene/digestive-system>

Помимо активации пепсиногена и создания оптимума pH для протеолитических ферментов желудка, соляная кислота выполняет еще несколько важных функций.

- Денатурирует белки пищи, делая доступными пептидные связи для гидролиза.
- Высвобождает витамины и минералы из связи с молекулами белков, что необходимо для всасывания.
- Обладает бактерицидным действием.

Образование соляной кислоты контролируется гистамином, образуемым энтерохромафинными клетками стенки желудка; выделение ферментов – гастрином – пептидом, секретиремым G-клетками.

12-перстная кишка.

Кислое содержимое желудка нейтрализуется основным секретом поджелудочной железы. pH поднимается до значений 7,5-8,0, что соответствует оптимуму панкреатических протеаз. Сре-

ди них – трипсин, химотрипсин, эластаза, коллагеназа, карбоксипептидазы А и Б.

Все они образуются в виде проферментов и активируются в просвете кишки. Активация трипсиногена происходит под действием специфической протеазы, вырабатываемой клетками стенки кишки, – энтеропептидазы, и заключается в отщеплении гексапептида с N-конца. Активация остальных протеаз (химотрипсиногена, проэластазы, проколлагеназы, прокарибоксипептидаз) происходит под действием трипсина.

Протеазы поджелудочной железы обладают разной специфичностью, что позволяет гидролизовать большинство пептидных связей в белках. Кроме того, карбоксипептидазы относятся к экзопептидазам и отщепляют любые аминокислоты с C-конца. Эластаза специфична к пептидным связям аланина, глицина, пролина – аминокислот, которых много в фибриллярных белках.

Тонкий кишечник.

Не гидролизованные ди- и трипептиды расщепляются в тонком кишечнике дипептидазами и аминопептидазами. Наиболее известна лейцинаминопептидаза, которая несмотря на название, обладает широкой субстратной специфичностью.

Всасывание аминокислот.

Осуществляется двумя путями. Основной - антипорт или симпорт с различными ионами. Такого рода активных транспортеров в организме человека насчитывается порядка пятидесяти. Примерно десять с разной специфичностью участвуют во всасывании аминокислот в кишечнике.

Второй механизм носит название γ -глутамильного цикла и используется для переноса некоторых аминокислот (лизин, лейцин, фенилаланин) через мембраны в клетках кишечника, печени, мозга. В настоящее время считается, что этот цикл участвует прежде всего в обмене глутатиона.

Промежуточный обмен аминокислот.

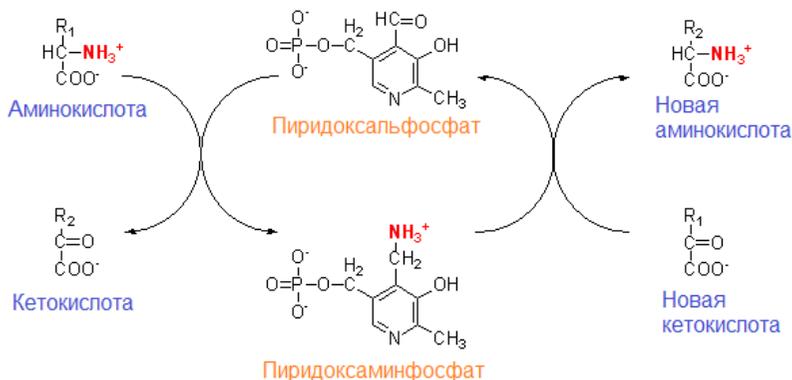
Пул свободных аминокислот в клетках поддерживается за счет поступления из крови, деградации клеточных белков и синтеза заменимых аминокислот. Основное направление использования – биосинтез белка. Помимо этого, аминокислоты участвуют в синтезе нуклеотидов, гема и многих других азотсодержащих молекул. Углеродный скелет аминокислот может быть окислен с целью получения энергии.



Катаболизм аминокислот.

Катаболизм аминокислот начинается с удаления аминогруппы. Это происходит в результате реакций двух типов – трансаминирования и дезаминирования.

Трансаминирование – это перенос аминогруппы с аминокислоты на кетокислоту с образованием новых amino- и кетокислоты.



<https://www.david-bender.co.uk/metabonline/aaN/transam/transam2.html>

Катализ осуществляется трансаминазами (аминотрансферазами), использующими производные витамин В₆ в качестве кофермента. Наиболее интенсивно процесс переаминирования происходит в печени. Трансаминированию подвергаются все аминокислоты за исключением лизина, треонина и пролина. Реакция обратима.

Биологическое значение трансаминирования:

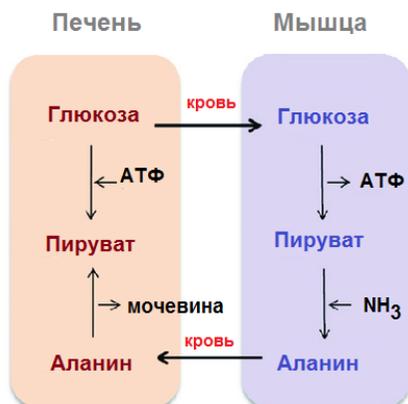
- Оптимизация фонда свободных аминокислот
- Биосинтез заменимых аминокислот
- Это первая стадия катаболизма аминокислот.

Реакция протекает по механизму пинг-понг: второй субстрат присоединяется только после удаления из активного центра первого продукта. Отщепление аминогруппы и затем присоединение ее к кетокислоте проходит через стадии образования альдимины (Шиффово основание I) и кетимины (Шиффово основание II).

Многие трансаминазы специфичны к парам аминокислота/кетокислота. Например, аланинаминотрансфераза (по обратной реакции глутамат-пируват трансаминаза) и аспаратаминотрансфераза (глутамат-оксалоацетат трансаминаза).

Печеночные трансаминазы предпочитают оксалоацетат и α -кетоглутарат в качестве субстратов, что важно для перевода аминного азота в аспартат и глутамат и последующего синтеза мочевины.

Мышечные изоферменты используют преимущественно пируват, образуя из разных аминокислот аланин. С током крови он переносится в печень, удаляя из мышц избыток аминного азота. Образующийся после дезаминирования аланина пируват используется для глюконеогенеза, а аммиак идет на синтез мочевины. Эта последовательность превращений получила название глюкозо-аланинового цикла:

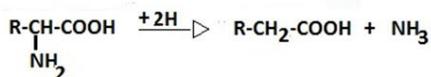


Определение активности трансаминаз в крови является распространенным клиническим тестом. В норме их содержание незначительно и растет при повреждении клеток и выходе ферментов в кровь. По увеличению активности аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ), а также по их соотношению можно диагностировать различные заболевания.

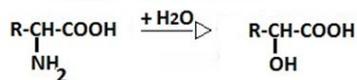
Дезаминирование -

это отщепление аминогруппы. Известно четыре основных типа дезаминирования, плюс для ряда аминокислот описаны индивидуальные пути:

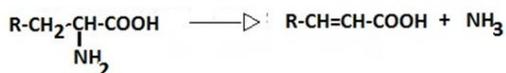
Восстановительное



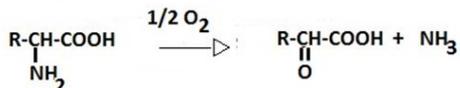
Гидролитическое



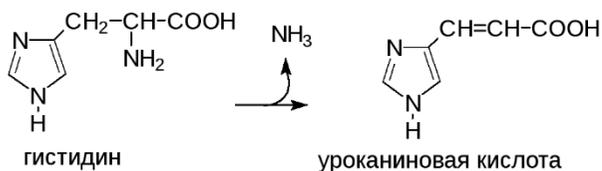
Внутримолекулярное



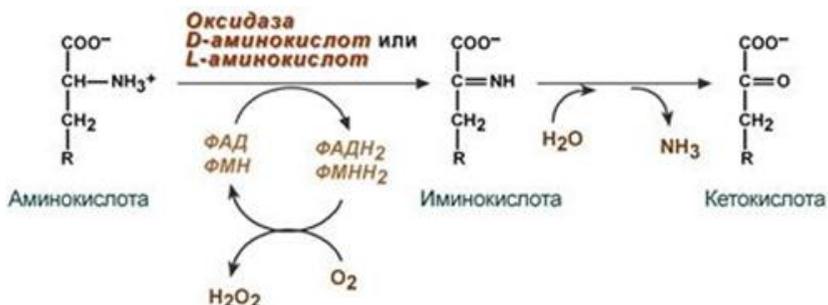
Окислительное



Первые три типа характерны для анаэробного микробного метаболизма. У человека, животных, растений и большинства аэробных микроорганизмов преобладает окислительное дезаминирование. Исключением является гистидин, который дезаминируется по внутримолекулярному механизму.

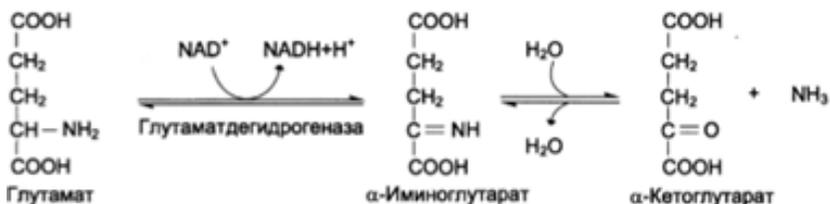


Окислительное дезаминирование. Одним из примеров являются оксидазы D- и L-аминокислот. Они используют ФАД и ФМН в качестве кофермента и образуют перекись водорода. Роль этих ферментов в дезаминировании аминокислот невелика.



<https://biokhimiya.ru/obmen-aminokislot/okislitelnoe-dezaminirovanie.html>

Самым важной реакцией из этой серии превращений является окислительное дезаминирование глутамата, катализируемое НАД-зависимым ферментом - глутаматдегидрогеназой.



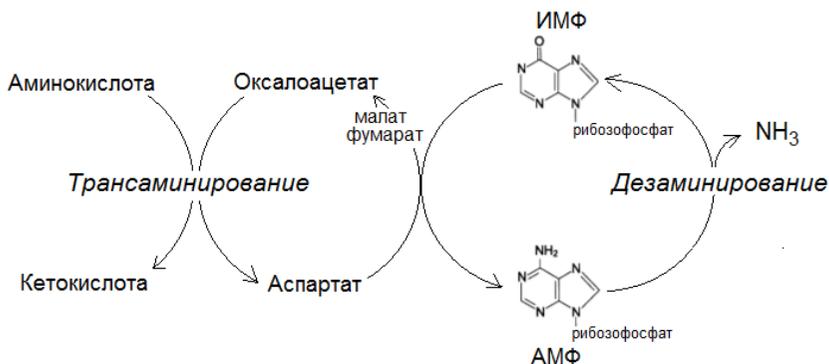
В комплексе с трансаминированием эта реакция является главным способом отщепления аминогрупп от большинства аминокислот. Процесс носит название непрямого дезаминирования.

Непрямое дезаминирование (трансдезаминирование).

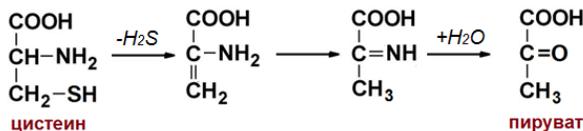
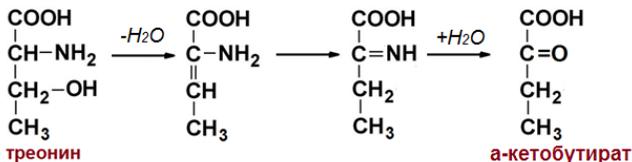
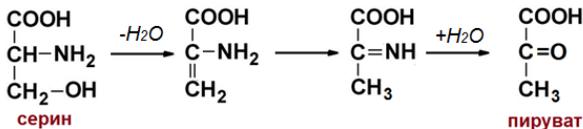
Любая аминокислота (за исключением лизина треонина и пролина) может отдать аминогруппу α-кетоглутарату. Образовавшийся глутамат дезаминируется глутаматдегидрогеназой. Реакция обратима и может использоваться для синтеза любых аминокислот из кетокислот и аммиака.



В мышцах из-за низкой активности глутаматдегидрогеназы для непрямого дезаминирования аминокислот используется другой цикл реакций. Сначала аминокислота трансаминируется с оксалоацетатом, образуется аспартат. Затем аминогруппа аспартата переносится на инозинмонофосфат (ИМФ) с образованием АМФ. Последний дезаминируется АМФ-деаминой.



Для серина, треонина и цистеина существуют индивидуальные пути дезаминирования с участием сериндегидратазы, треониндегидратазы и цистатионин-γ-лиазы, соответственно.



Обезвреживание аммиака.

Аммиак, образуется в основном при дезаминировании аминокислот. Некоторое количество продуцируется при окислении биогенных аминов, дезаминировании нуклеотидов, в ходе гниения белка и разложения мочевины в толстом кишечнике.

Это токсичное вещество, концентрация которого в организме поддерживается на минимальном уровне. Особенно чувствительна к избытку аммиака нервная ткань.

В разных тканях используются разные стратегии его обезвреживания:

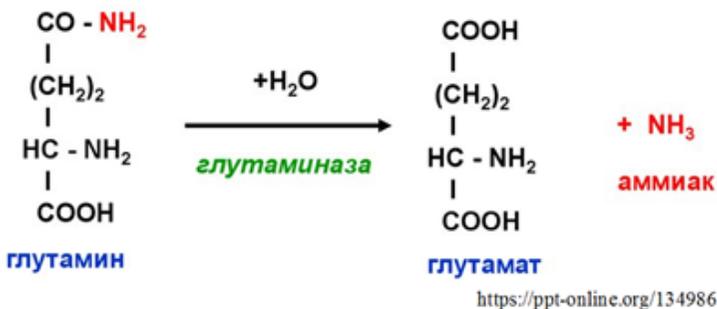
1. Синтез глутамина и аспарагина
2. Аминирование α-кетоглутарата в глутаматдегидрогеназной реакции
3. Образование и выведение аммонийных солей
4. Синтез мочевины

Гематоэнцефалический барьер непроницаем для аммиака, соответственно вывести его можно лишь в связанном состоянии. Некоторое количество может утилизироваться в глутаматдегидрогеназной реакции, однако в обычном режиме она работает в сторону дезаминирования. В основном выведение происходит в форме глутамина:



Транспорт через мембраны клеток осуществляется по градиенту концентрации с участием белка-переносчика.

Глутаминсинтетаза функционирует также в печени, легких и мышцах. Глутамин мышц и легких поступает в кровь. В кишечнике и почках он дезаминируется с образованием глутамата и аммиака.

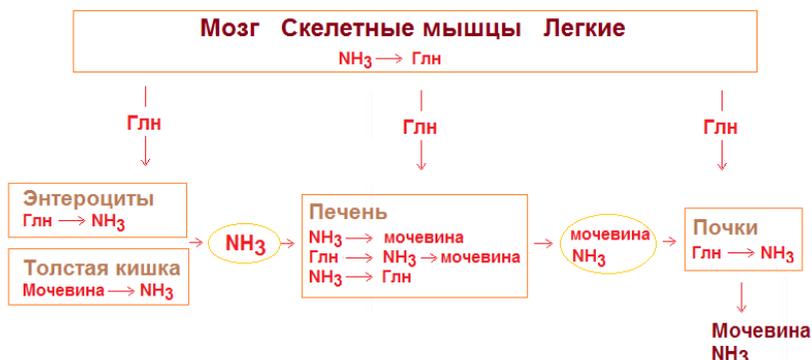


Глутамат в обеих тканях трансаминируется с пируватом. Образовавшийся аланин с током крови направляется в печень. Аммиак, образовавшийся в глутаминовой реакции, по воротной вене направляется в печень, где вовлекается в синтез мочевины.

Аммиак в почках выводится с мочой в виде аммонийных солей. Суточная экскреция аммония у человека составляет порядка 0,5 грамма. В дополнение к детоксикации этот механизм используется для поддержания кислотно-основного равновесия в крови. При накоплении кислых продуктов обмена, они выводятся в виде аммонийных солей.

Еще одним путем обезвреживания аммиака может быть синтез аспарагина. Источником аминогруппы у животных является глутамин. Реакция протекает с затратой двух макроэнергетических связей АТФ и не имеет большого значения.

Схема основных путей обезвреживания аммиака представлена на рисунке



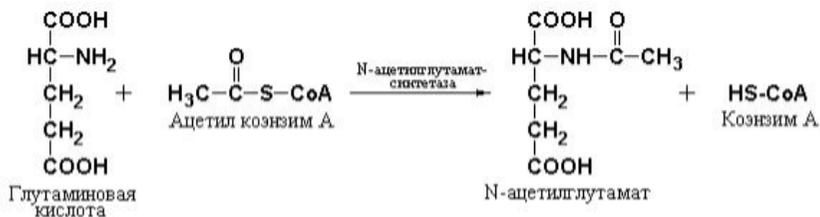
Орнитиновый цикл синтеза мочевины (цикл мочевины, цикл Кребса-Хенслайта).

Цикл из шести реакций, в ходе которого образуется мочевина. Функционирует в печени. Две первых реакции протекают в митохондриях, остальные в цитозоле.

1. В первой реакции под действием фермента карбамоилсинтетазы I из бикарбоната, аммиака и двух молекул АТФ образуется карбамоилфосфат.

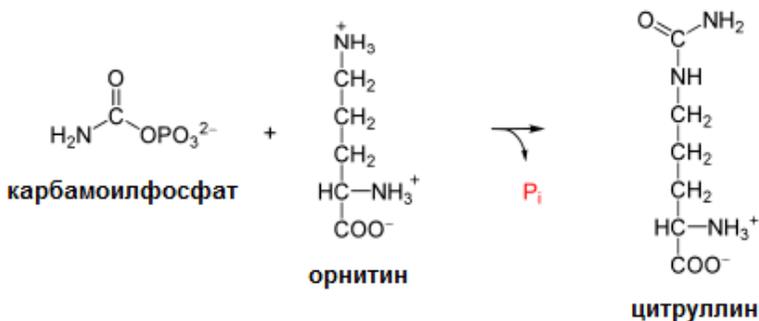


Активность фермента проявляется только в присутствии аллостерического активатора – N-ацетилглутамина. Последний синтезируется из глутамата и ацетил-КоА.

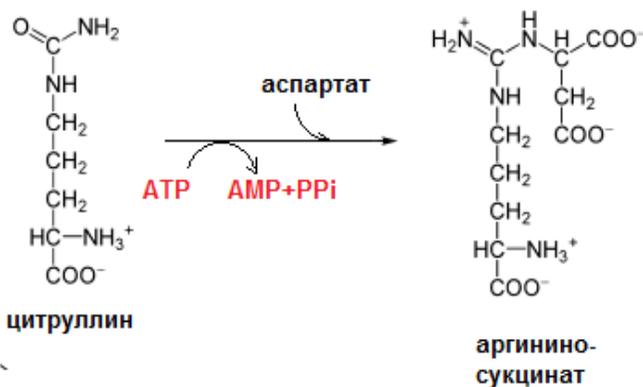


Аммиак, который используется для синтеза карбамоилфосфата, поступает из воротной вены. Значение других источников – расщепление глутамина и окислительное дезаминирование глутамата – существенно меньше.

2. Орнитинкарбамоилтрансфераза переносит карбамоильную группу на непротеиногенную аминокислоту орнитин. При этом образуется аминокислота цитруллин, который также не используется в построении белков.

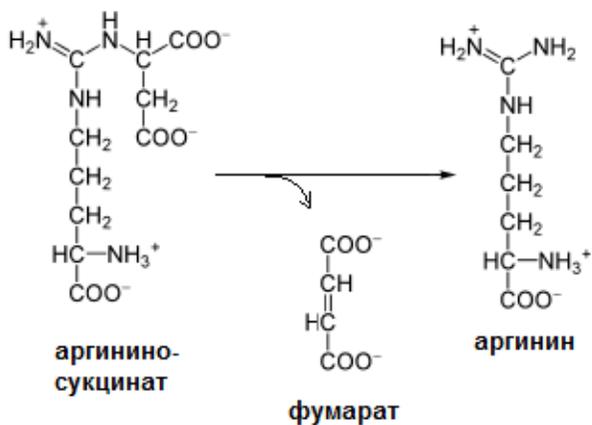


3. Цитруллин конденсируется с аспаратом с образованием аргининосукцината. Фермент – аргининосукцинатсинтетаза.



Реакция сопровождается гидролизом АТФ до АМФ и пиррофосфата, что эквивалентно потере двух молекул АТФ. Аспартат, необходимый для этой реакции, образуется главным образом при трансаминировании аланина, поступающего из крови.

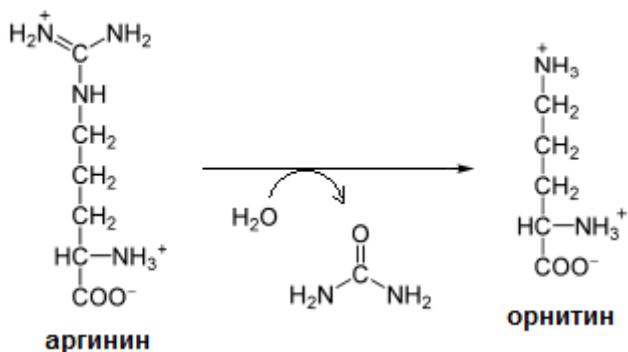
4. Аргининосукцинат отщепляет фумаровую кислоту под действием фермента аргининосукцинатазы с образованием аргинина.



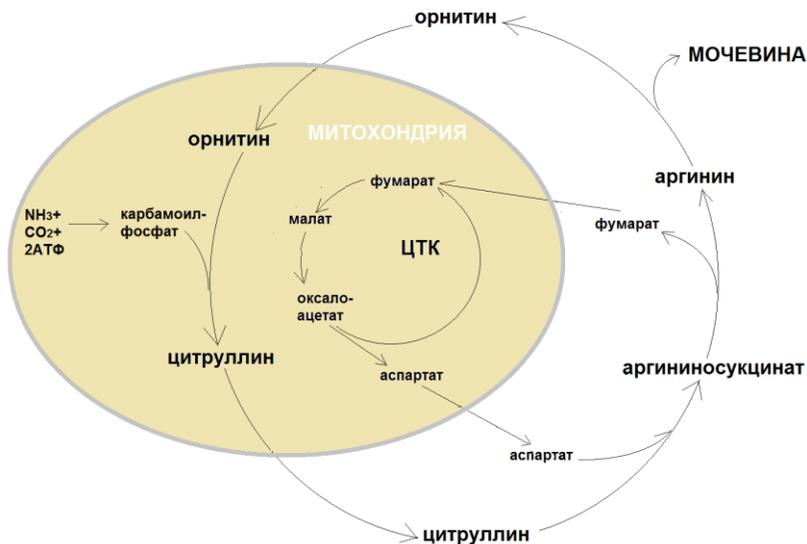
Эта реакция служит, также, для обеспечения других органов и тканей аргинином, необходимым для синтеза белка, полиаминов (спермина, спермидина), креатина. Кроме того, аргинин является субстратом NO-синтетазы, образующей один из вторичных мессенджеров – оксид азота.

Фумарат проникает в митохондрии, где превращается в оксалоацетат в ходе фумаразной и малатдегидрогеназной реакций ЦТК. Далее оксалоацетат трансаминируется с глутаматом, образуется аспарат, который переносится в цитозоль и вновь вовлекается в синтез мочевины.

5. Аргинин под действием аргиназы расщепляется на мочевину и орнитин. Последний переносится в митохондрии и цикл повторяется. Мочевина транспортируется в кровь.



Таким образом, в молекуле мочевины один азот происходит из аммиака, второй из аспартата. Схема процесса, его клеточная локализация и взаимосвязь с циклом Кребса представлены на рисунке



Энергетика цикла мочевины.

В ходе карбамоилфосфатсинтетазной и аргининосукцинатсинтетазной реакций расходуется по две молекулы АТФ. Энергетическая стоимость цикла в 4 АТФ снижается за счет НАДН, образующегося в малатдегидрогеназной реакции при регенерации аспартата. Однако, реальные затраты превышают одну молекулу АТФ, которая получается из этих рассуждений, в том числе из-за потерь энергии в ходе активного транспорта мочевины в мочу.

С мочевиной выводится большая часть азота. На рисунке – соотношение азотсодержащих веществ в моче.



Другие стратегии обезвреживания аммиака в живой природе.

По способу выведения аминного азота живые организмы делятся на три группы.

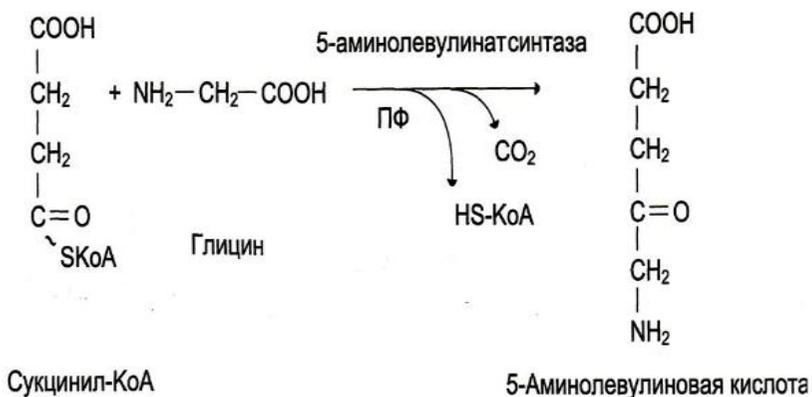
- *Аммонотелические* экскретируют азот в форме солей аммония. К ним относятся водные беспозвоночные, которые могут позволить себе выводить соли аммония непосредственно в окружающую воду.
- *Уреотелические* (urea, лат. - мочевина) в качестве конечного продукта образуют мочевины. Это - млекопитающие и земноводные.
- *Урикотелические* (acidum uricum, лат. – мочевая кислота) выводят азот в форме мочевой кислоты. Это обусловлено необходимостью концентрировать конечный продукт, либо для уменьшения полетного веса (у птиц), либо для экономии воды (у пресмыкающихся). Мочевая кислота не токсична, плохо растворима и выводится в виде густой суспензии.

Декарбоксилирование аминокислот.

Декарбоксилирование – это отщепление карбоксильной группы в виде CO₂. Реакция необратима, катализируется ферментами – декарбоксилазами, коферментом которых является пиридоксальфосфат.

Известно несколько видов декарбоксилирования:

- α-декарбоксилирование – отщепление карбоксильной группы в α-положении, - основной вид у животных;
- ω-декарбоксилирование – отщепление карбоксильной группы у последнего атома, - характерно для микроорганизмов;
- декарбоксилирование, связанное с дезаминированием, также присуще микробному метаболизму;
- декарбоксилирование, связанное с конденсацией двух молекул, - встречается у животных, например, при синтезе 5-аминолевулиновой кислоты из глицина и сукцинил-КоА.



Декарбоксилированию подвергаются не все аминокислоты. Оно описано для валина, тирозина, гистидина, глутамата, цистеина, аргинина, орнитина, диоксифенилаланина, 5-гидрокситриптофана и некоторых других производных аминокислот.

Биогенные амины.

При декарбоксилировании аминокислот образуются амины. Многие из них обладают высокой биологической активностью и называются биогенными аминами.

При декарбоксилировании глутамата образуется *ГАМК* – *γ-аминомасляная кислота* – основной тормозной нейромедиатор (замедляет проведение нервного импульса) в головном мозге.

Декарбоксилирование гистидина дает *гистамин*. Он участвует в регуляции тонуса капилляров, бронхов, стимулирует образование соляной кислоты в желудке. Играет важную роль в патогенезе воспаления, аллергических реакций (анафилактический шок, сенная лихорадка, крапивница).

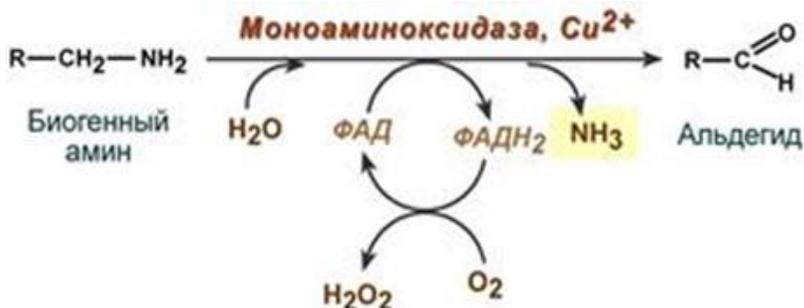
Триптофан декарбоксилируется под действием декарбоксилазы ароматических аминокислот, субстратами которой являются также ДОФА (диоксифенилаланин) и 5-гидрокситриптамин. *Триптамин* – нейромедиатор в головном мозге, его производные обладают психотропным действием. При декарбоксилировании 5-гидрокситриптофана образуется *серотонин* – «гормон счастья» - один из наиболее важных нейромедиаторов. Его концентрация увеличивается в период психического подъема, экстаза, дефицит вызывает депрессивные состояния. Участвует в регуляции очень многих процессов в мозге, например, модулирует гормональную функцию гипофиза. На периферии регулирует секреторную и двигательную функцию ЖКТ, участвует в процессах воспаления и аллергии, возбуждения и торможения в половой сфере и пр.

Хотя тирозин декарбоксилируется и сам, образуя тирамин, большее значение имеет продукт декарбоксилирования его 3-гидрокси-производного – *дофамин*. Это нейромедиатор и предшественник в синтезе адреналина и норадреналина. В мозге дофамин – ключевой фактор системы вознаграждения. Вырабатывается во время положительного, по субъективному мнению человека, опыта. Вызывает чувство удовольствия, любви и привязанности, стимулирует когнитивные функции. Важный элемент в возникновении наркотической зависимости.

Помимо биогенных аминов в ходе декарбоксилирования аминокислот образуются другие важные метаболиты. Из орнитина образуется путресцин – предшественник биогенных аминов – спермина и спермидина, участвующих в стабилизации структуры рибосом и ДНК. Декарбоксилирование серина приводит к образованию этаноламина – важного компонента фосфолипидов, предшественника холина. Из цистеина при декарбоксилирова-

нии образуется тиоэтиламин – фрагмент молекулы кофермента А, из цистеинсульфиновой кислоты – таурин – антиоксидант и компонент парных желчных кислот.

Обезвреживание биогенных аминов происходит за счет деаминации с участием моноаминоксидаз (МАО),



<https://biokhimija.ru/obmen-aminokislot/obezvrezhivanie-aminov.html>

либо за счет метилирования катехол-О-метил трансферазы (КОМТ).



<https://biokhimija.ru/obmen-aminokislot/obezvrezhivanie-aminov.html>

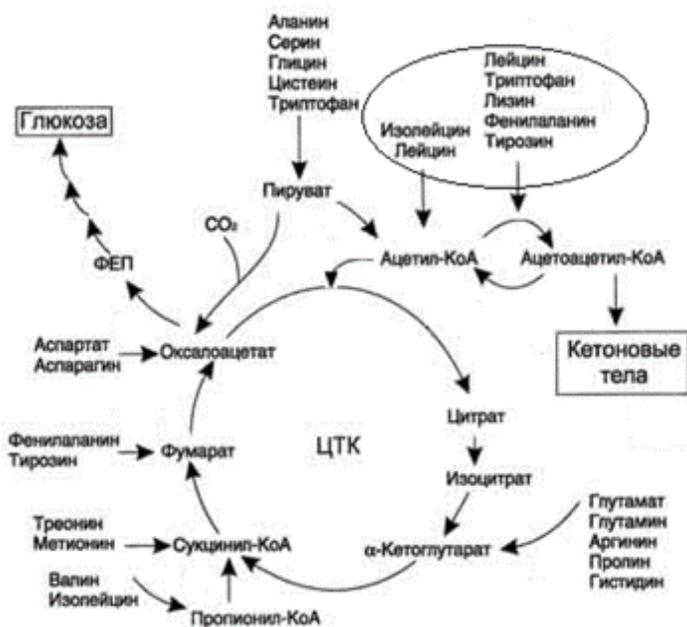
Метаболизм углеродного скелета аминокислот.

После деаминации углеродный скелет аминокислот претерпевает превращения, специфичные для каждой из них. В конечном итоге он превращается в одно из семи соединений, интермедиатов центральных метаболических путей: пируват, оксалоацетат, α-кетоглутарат, сукцинил-КоА, фумарат, ацетоацетил-КоА и ацетил-КоА.

Большинство аминокислот дают вещества, способные образовывать глюкозу в реакциях глюконеогенеза, - пируват, интер-

медиаты цикла Кребса. Они получили название гликогенных. Кетогенные аминокислоты расщепляются до ацетил- или ацетоацетил-КоА. Их всего две – лизин и лейцин. Ряд аминокислот превращаются в продукты обоих типов и носят название гликокетогенных. Фенилаланин и тирозин дают фумарат и ацетоацетил-КоА. Изолейцин превращается в сукцинил-КоА и ацетил-КоА, триптофан – в пируват и ацетоацетил-КоА.

Схема вовлечения углеродного скелета аминокислот в центральные метаболические пути представлена на рисунке.

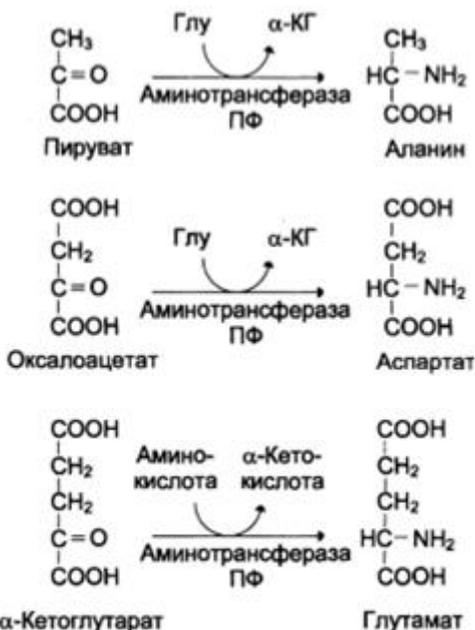


Биохимия. Учебник/ред. Е.С. Северина. 2-ое изд., М: ГЭОТАР-МЕД - 2004. - 784С.

Метаболизм отдельных аминокислот.

Аланин, аспартат, глутамат, аспарагин, глутамин, пролин.

Аланин, аспаргат и глутамат образуются при аминировании пирувата, оксалоацетата и α-кетоглутарата, соответственно.



Биохимия. Учебник/ред. Е.С. Северина. 2-ое изд., М: ГЭОТАР-МЕД - 2004. - 784С.

Аспаргат и глутамат амидируются с участием аспарагин- и глутаминсинтетаз с образованием аспарагина и глутамина. Эти реакции приводились в разделе, посвященном обезвреживанию аммиака.

Глутамат служит предшественником еще одной заменимой аминокислоты – пролина. Реакции его образования обратимы и используются также для катаболизма. В первой реакции γ-карбоксильная группа глутамата восстанавливается до альдегидной. Образовавшийся γ-полуальдегид глутаминовой кислоты циклизуется с отщеплением воды. Δ²-пирролидин-5-карбоксилат восстанавливается с участием НАДФН до пролина.

Реакция 2 на схеме – обратимые взаимопревращения серина и глицина. Катализируются - серингидроксиметилтрансферазой. Биологическое значение этой реакции заключается в образовании N5, N10-метилен-ТГФК, - важнейшего звена в обмене фолатов, необходимого, в частности, для синтеза пуринов и пиримидинов.

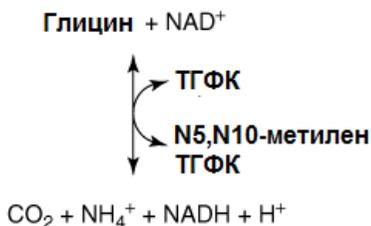
Под действием сериндегидратазы серин превращается в пируват. Эта реакция, а также, дегидратация треонина описывалась в разделе «Дезаминирование».

Серин декарбоксилируется с образованием этаноламина – важнейшего предшественника холина и фосфолипидов.

Конденсация серина с пальмитоил-КоА – первый этап синтеза сфингозина.

Глицин

Основным путем катаболизма глицина в животных клетках является распад до аммиака, углекислого газа, метилен-ТГФК и НАДН в реакции, катализируемой глициндекарбоксилазным комплексом. Реакция обратима, поэтому другое название у фермента – глицинсинтаза.

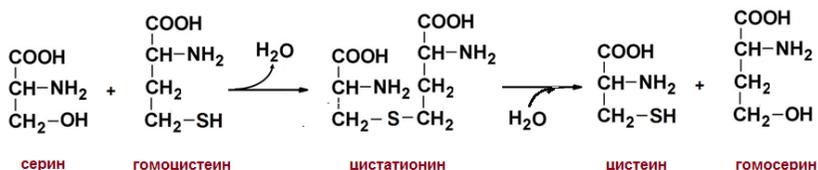


Глицин используется в организме для синтеза пуринов, гема, глутатиона, креатина, парных желчных кислот.

Цистеин.

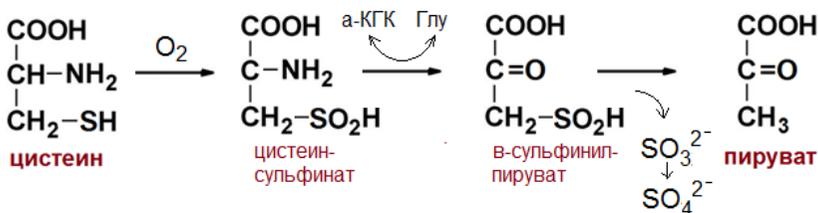
Конденсация серина с гомоцистеином приводит к образованию цистатионина, который далее распадается на цистеин и

гомосерин. Первую реакцию катализирует цистатионинсинтаза, вторую – цистатионинлиаза.



Гомоцистеин образуется из метионина в реакциях метилирования. Таким образом, сера в цистеине происходит из метионина, а углеродный скелет – из серина.

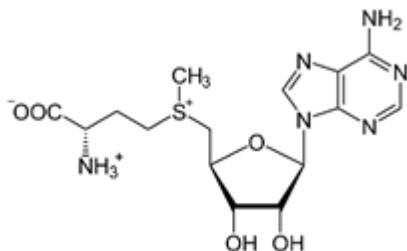
Цистеин катаболизируется до пирувиноградной кислоты:



Цистеин используется при синтезе глутатиона, кофермента А, таурина. В составе белков образует дисульфидные мостики, поддерживающие третичную структуру белка.

Метионин.

Является источником метильных групп в синтезе холина, карнитина, креатина, адреналина, обезвреживании биогенных аминов и источником серы в цистеине. В реакциях принимает участие его активная форма – S-аденозилметионин (SAM), который синтезируется с участием АТФ под действием фермента - метионаденозилтрансфераза.



SAM - S-аденозилметионин

Метилирование субстратов сопровождается превращением S-аденозилметионина в S-аденозилгомоцистеин. Регенерация метионина осуществляется из гомоцистеина с участием N5-метил-ТГФК и фермента метионинсинтазы.

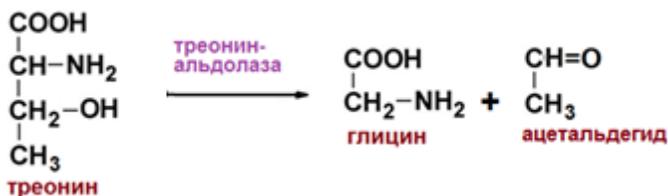
Совокупность этих превращений метионина получила название – цикл метилирования



<https://www.beloveshkin.com/2017/04/metilirovanie-i-detoksikaciya.html>

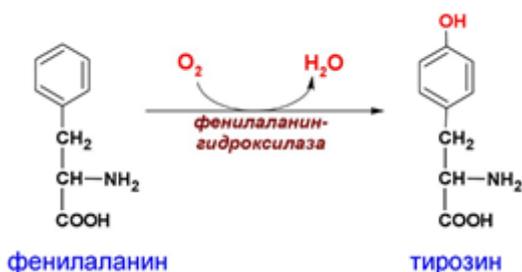
Треонин

Помимо расщепления серина, глицин может синтезироваться при альдольном расщеплении треонина, катализируемом треонинальдолазой.



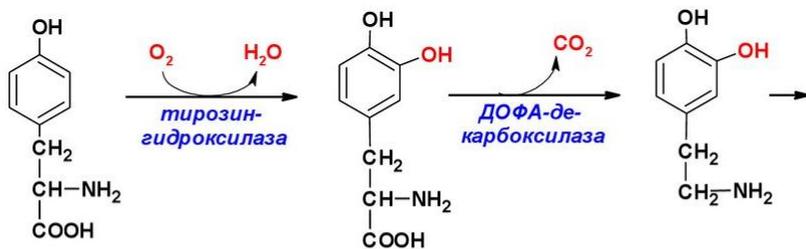
Фенилаланин, тирозин.

Тирозин образуется гидроксилированием фенилаланина:



Существует заболевание – фенилкетонурия, при котором имеется наследственный дефект гена фенилаланингидроксилазы. Превращение фенилаланина при ней протекает по пути образования токсичных продуктов – фенилпировиноградной, фенилмолочной кислот, фенилэтиламина. Патология сопровождается глубокой умственной отсталостью.

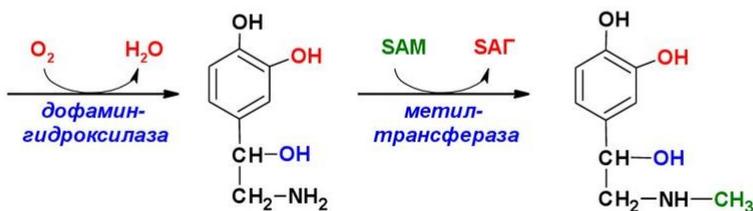
В мозге и мозговом слое надпочечников из тирозина образуется группа веществ под названием катехоламины: адреналин (эпинефрин), норадреналин (норэпинефрин), дофамин.



тирозин

ДОФА

дофамин

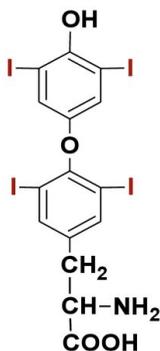


норадреналин

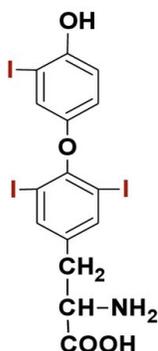
адреналин

<https://ppt-online.org/134986>

В щитовидной железе из тирозина образуются тиреоидные гормоны: трийодтиронин и тироксин.



тироксин
(тетрайодтиронин)



трийодтиронин

<https://ppt-online.org/134986>

Триптофан

Является предшественником нейромедиатора серотонина.



<https://biokhimija.ru/obmen-aminokislot/nejromediatory.html>

Дальнейшие превращения приводят к образованию мелатонина – гормона, регулирующего циркадные ритмы в организме. Из триптофана, также, может синтезироваться небольшое количество витамина РР.

Лейцин, изолейцин, валин.

После трансаминирования этих аминокислот образуются α -кетокислоты, которые претерпевают окислительное декарбоксилирование под действием одного фермента – декарбоксилазы разветвленных аминокислот. Этот мультиферментный комплекс устроен аналогично пируват- и кетоглутаратдегидрогеназным комплексам. При его наследственном дефиците развивается болезнь – «Моча с запахом кленового сиропа».

Азотистый баланс.

Это соответствие между количеством азота, поступившего с пищей и выведенного из организма. Поскольку азот поступает в организм и задерживается в нем в основном в виде белка, азотистый баланс указывает на соотношение процессов катаболизма и анаболизма белков.

Положительный азотистый баланс имеет место, если количество выводимого азота меньше, чем поступившего. Это бывает у детей, беременных и кормящих женщин, спортсменов, набирающих мышечную массу, выздоравливающих после тяжелых заболеваний. *Отрицательный азотистый баланс* отмечает-

ся у стариков, тяжело больных и голодающих людей. У здоровых правильно питающихся людей наблюдается *азотистое равновесие*. При этом количество поступающего с пищей азота равно его выведению.

Если исключить из пищи белок, выведение азота стабилизируется на величине 53 мг/кг массы, что для индивида массой 70 кг эквивалентно расщеплению 23,2 г белка в сутки. Эта величина получила название *коэффициента изнашивания*.

Минимальное количество белка в пище, позволяющее достичь азотистого равновесия, получило название *физиологического минимума*. Эта величина составляет 35-40 г в сутки и зависит от качества потребляемого белка. Рекомендуемые суточные нормы потребления, необходимые для поддержания здоровья, существенно выше и отличаются для мужчин, женщин и детей разного возраста. Например, для мужчин рекомендовано потребление 65-117 г белка в сутки, причем половина должна быть животного происхождения.

Для оценки качества белков пищи введено понятие *биологической ценности*. Полноценным считается белок, в котором содержатся все незаменимые аминокислоты в необходимом для человека соотношении. Кроме того, белок должен находиться в легко перевариваемой форме. Полноценными считаются белки животного происхождения - яиц, молока, мяса. Растительные белки часто дефицитны по отдельным незаменимым аминокислотам: метионину, лизину, триптофану. Кроме того, их усвоение затрудняется прочностью клеточных стенок, состоящих из не перевариваемых углеводов, и наличием антипитательных веществ.

Гниение белка в кишечнике.

Под этим термином понимается превращение белков и аминокислот под действием микроорганизмов толстого кишечника. Гниению подвергается микробный белок, белок слущенного эпителия кишечника, непереваренный белок пищи. Процесс

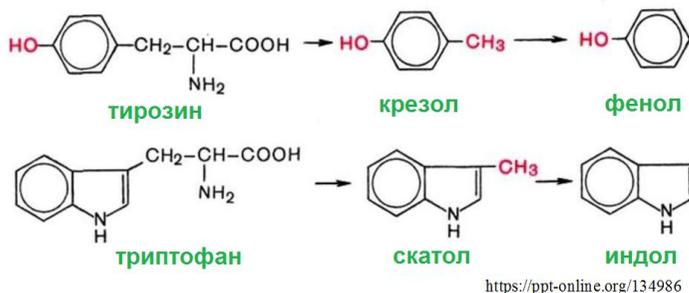
интенсифицируется и приобретает патологический характер при различных заболеваниях.

В ходе гниения белки расщепляются до аминокислот, которые претерпевают не характерные для макроорганизма превращения: восстановительное и гидролитическое дезаминирование, окислительное укорочение боковых цепей и пр.

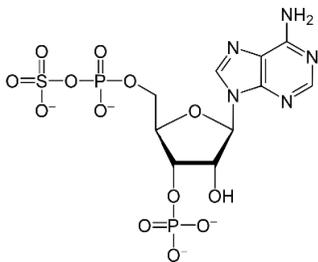
Из лизина и орнитина образуются так называемые трупные яды (птомаины): путресцин и кадаверин:



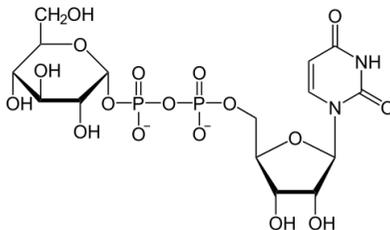
Из серосодержащих аминокислот образуется сероводород и метилмеркаптан, из тирозина – крезол и фенол, из триптофана – скатол, индол:



В толстой кишке происходит частичное всасывание этих продуктов. По воротной вене они поступают в печень, где осуществляется обезвреживание. Это достигается за счет окисления микросомальной системой с участием цитохрома P450 и конъюгации с активными формами серной и глюкокуроновой кислот:



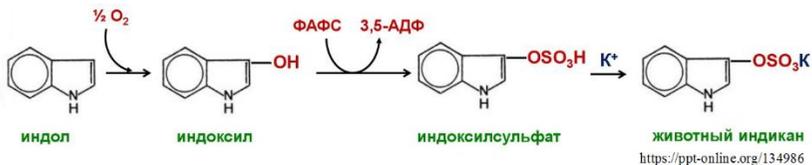
ФАФС - фосфоаденозин-фосфосульфат



УДФ-глюкоза

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=8705174>

При этом уменьшается токсичность веществ и увеличивается их растворимость, что способствует выведению. Крезол и фенол превращаются в сульфаты и глюкуроныды. Индол и скатол сначала гидроксилируются до индоксила и скатоксила и затем превращаются преимущественно в сульфаты:



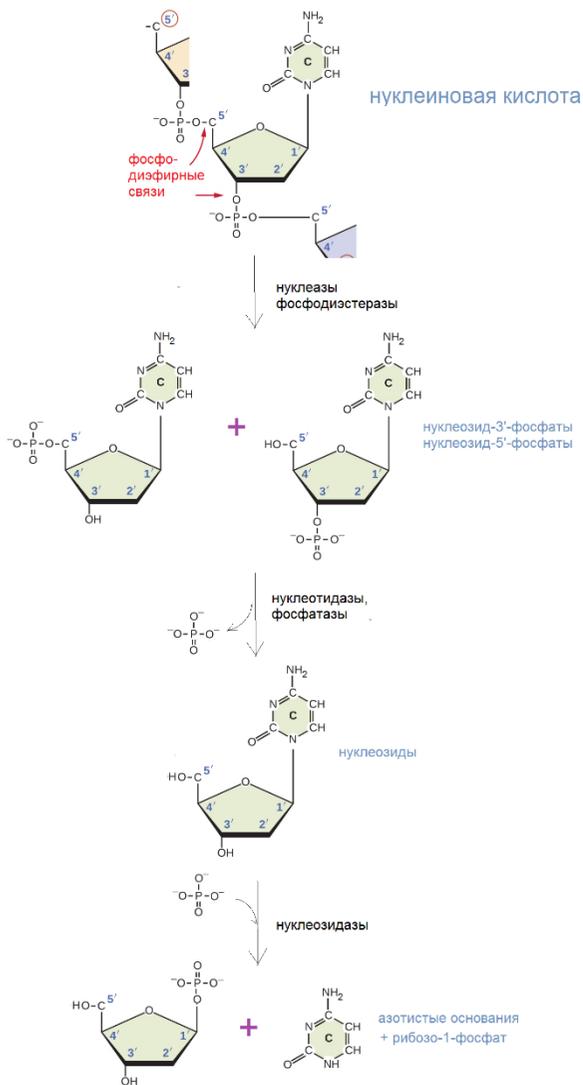
Калиевая соль индоксилсерной кислоты носит название «животный индикан» и используется в качестве диагностического маркера в медицине для оценки пищеварения, выделительной функции почек и обезвреживающей - печени.

ОБМЕН НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И НУКЛЕОТИДОВ

Переваривание.

Нуклеопротеины пищи денатурируют под действием соляной кислоты желудка. Белковая часть отделяется, нуклеиновые кислоты подвергаются гидролизу под действием ДНК-аз и РНК-аз сока поджелудочной кислоты. Поскольку они относятся к эндонуклеазам, то в результате образуется смесь олигонуклеотидов различной длины. Расщепление до нуклеозид-3'- и нуклеозид-5'-монофосфатов происходит под действием панкреатических фосфодиэстераз. Нуклеотидазы и неспецифические фосфа-

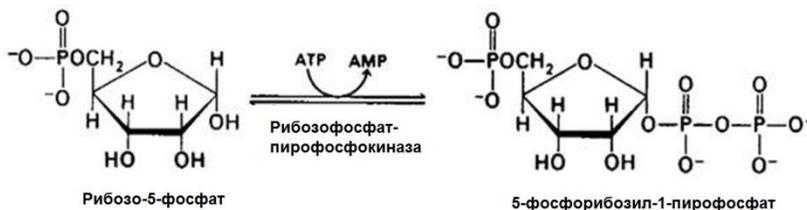
тазы кишечника превращают их в нуклеозиды, которые всасываются, либо гидролизуются нуклеозидазами (нуклеозидфосфоорилазами) с образованием азотистых оснований и пентозо-1-фосфатов.



Биосинтез нуклеотидов.

Нуклеозиды и азотистые основания мало используются в синтезе нуклеотидов, хотя ферменты для таких преобразований в клетках имеются. Преобладает образование *de novo*.

Первой стадией в синтезе как пуринов, так и пиримидинов является образование ключевого интермедиата – фосфорибозилдифосфата (фосфорибозилпирофосфат, ФРПФ).

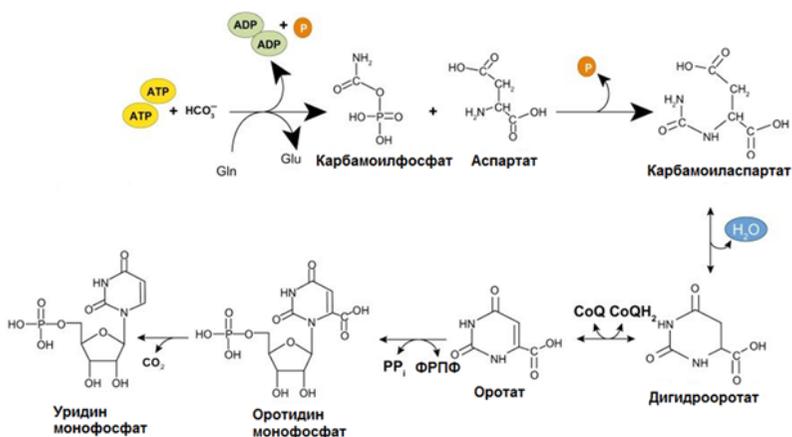


С участием ФРПФ синтезируются оба типа нуклеотидов. Различие в том, что пуриновое ядро выстраивается путем наращивания на ФРПФ групп атомов из различных источников, а пиримидиновое присоединяет рибозо-5'-фосфат уже после своего образования.

Биосинтез пиримидинов начинается с уже известной реакции образования карбамоилфосфата. В отличие от митохондриального синтеза, источником аминогруппы в ней выступает не аммиак, а глутамин, и катализирует ее цитоплазматический изофермент - карбамоилфосфатсинтетаза II.

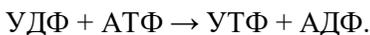
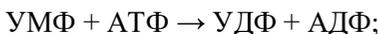
Аспартаткарбамоилтрансфераза присоединяет аспартат, а дигидрооротаза циклизует образующийся карбамоиласпартат. Эти три фермента в клетке объединены в мультиферментный комплекс – КАД-фермент, по первым буквам их названий.

Дигидрооротатдегидрогеназа – митохондриальный фермент, и катализируемая ей реакция является единственной протекающей не в цитозоле. Как сукцинатдегидрогеназа и ацил-КоА-дегидрогеназа она отдает протоны и электроны на кофермент Q внутренней митохондриальной мембраны.

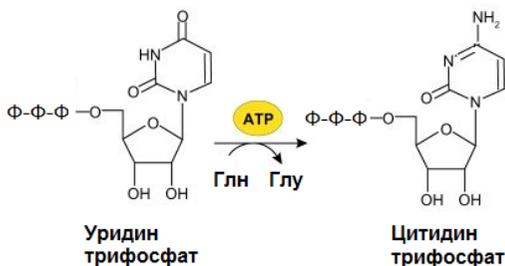


https://www.researchgate.net/figure/De-novo-synthesis-of-pyrimidines-inhibition-of-dihydroorotate-dehydrogenase-by_fig4_262786101

УМФ фосфорилируется до УДФ и УТФ нуклеозидмонофосфаткиназой и нуклеозиддифосфаткиназой, соответственно:

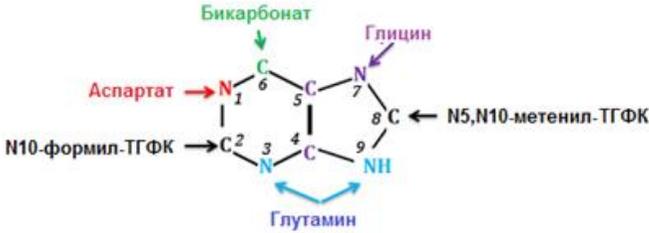


Цитидинтрифосфат образуется из УТФ с участием ЦТФ-синтазы. Источником аминогруппы является глутамин, энергии – АТФ.

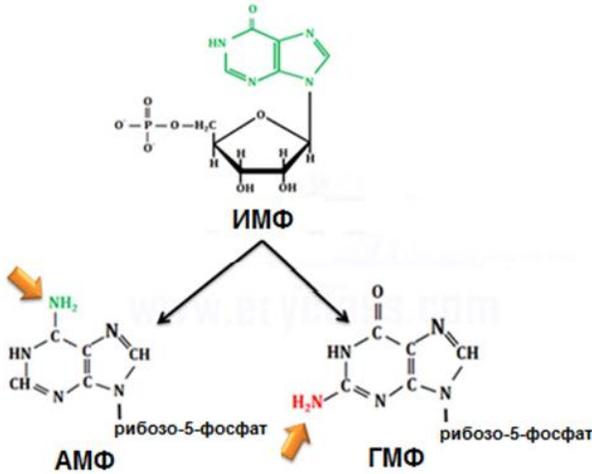


Синтез пуриновых нуклеотидов

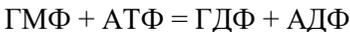
протекает сложнее. Формирование пуринового ядра происходит за десять реакций. Источники атомов и групп представлены на рисунке:



В процессе биосинтеза образуется инозинмонофосфат, который является общим предшественником для АМФ и ГМФ.

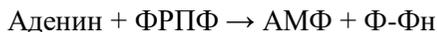


Образование нуклеозиддифосфатов катализируют аденилаткиназа и гуанилаткиназа:



Фосфорилирование ГДФ осуществляется нуклеозиддифосфаткиназой – ферментом с широкой субстратной специфичностью. Превращение АДФ в АТФ происходит в ходе окислительного фосфорилирования в митохондриях.

Ввиду сложности и энергетической дороговизны образования пуриновых нуклеотидов, в тканях функционирует запасной путь – из азотистых оснований и ФРПФ.

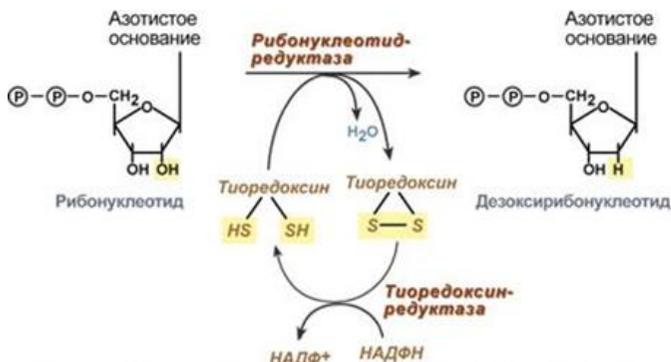


Синтез дезоксирибонуклеотидов.

Осуществляется в соответствии со схемой:

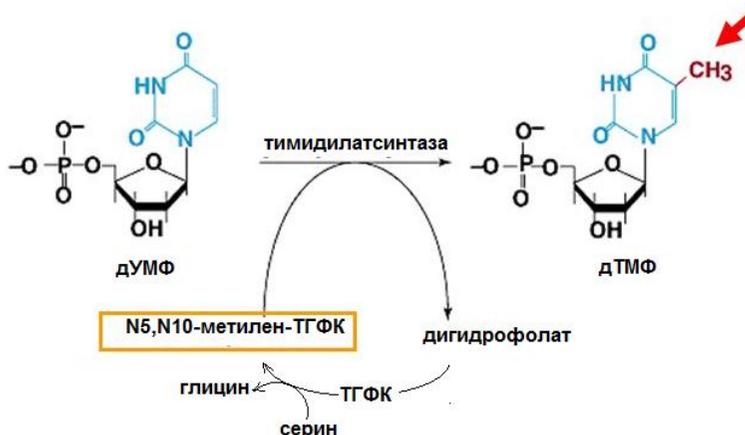


Рибонуклеотидредуктазный комплекс использует для восстановления белок тиоредоксин, две сульфгидрильные группы которого являются источником атомов водорода и в ходе катализа окисляются в дисульфидную группу. Фермент тиоредоксинредуктаза восстанавливает белок с участием НАДФН.



<https://biokhimija.ru/obmen-pirimidinov/sintez-dezoksiribonukleotidov.html>

Образование тимидинмонофосфата катализирует тимидилатсинтаза. В качестве источника метильной группы выступает N5, N10-метилен-ТГФК.

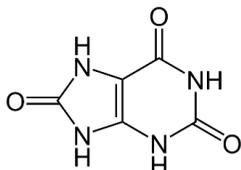


Катаболизм нуклеотидов.

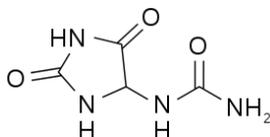
Пиримидины расщепляются до углекислого газа, аммиака, β-аланина (урацил и цитозин) и β-аминоизобутирата (тимин). Оба вещества могут подвергнуться дальнейшему окислению, экскреции, либо быть использованы в ряде синтезов. В частно-

сти, распад пиримидинов – главный источник β-аланина для синтеза кофермента А.

Конечным продуктом обмена пуринов у человека и приматов является мочевая кислота:



У остальных млекопитающих она расщепляется до аллантина:



Мочевая кислота выводится с мочой. Растворимость ее в водных средах невелика, и при некоторых заболеваниях, в частности при подагре, кристаллы уратов могут формироваться непосредственно в тканях организма: в почках, подкожной клетчатке и суставах.

МАТРИЧНЫЕ СИНТЕЗЫ

Репликация (синтез ДНК).

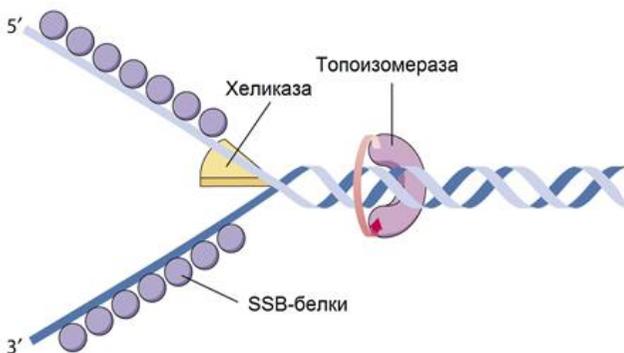
Репликация осуществляется в S-фазе клеточного цикла с использованием ДНК клетки в качестве матрицы. Удвоение носит полуконсервативный характер, то есть в каждой новой ДНК одна нить материнская, вторая вновь образованная. Синтез осуществляется из дезоксирибонуклеозидтрифосфатов и за счет энергии, выделяющейся при их гидролизе. Нуклеотиды присоединяются строго по принципу комплементарности, и образование фосфодиэфирной связи происходит только после формирования водородных связей между парами.

В репликации выделяют три фазы: инициация, элонгация и терминация.

Инициация.

В молекуле ДНК имеются последовательности нуклеотидов – сайты инициации (ориджины), с которых стартует процесс репликации. В клетках прокариот как правило один сайт, у человека – до ста тысяч. Инициация начинается с присоединения ДНК-топоизомеразы I и формирования одноцепочечного разрыва в молекуле ДНК. Далее фермент ковалентно присоединяется к 5'-концу и осуществляет локальное расплетение нитей, образуя две репликативных вилки, направленные в противоположные стороны.

К одноцепочечным нитям присоединяются SSB-белки (single strand binding proteins), предотвращающие их слипание и скручивание. Инициация завершается присоединением ДНК-хеликазы, которая в ходе синтеза разрывает водородные связи между нуклеотидами и расплетает нити.



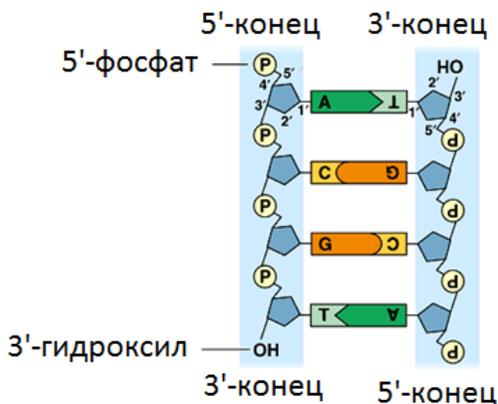
<https://www.slideserve.com/rodd/animation>

Элонгация.

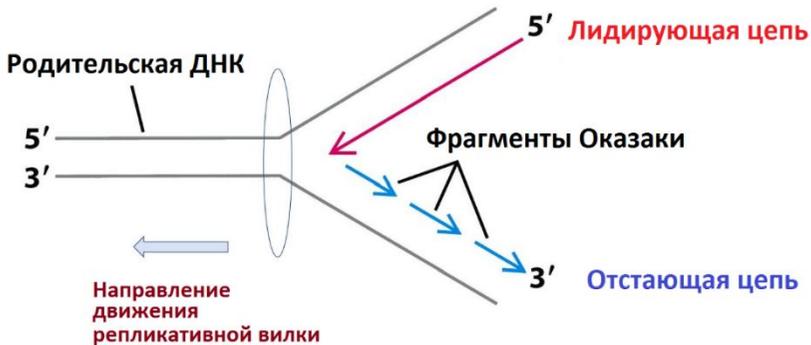
Удвоение цепи в эукариотической клетке осуществляется с участием пяти различных ДНК-полимераз: α , β , γ (митохондриальный изофермент), δ и ϵ .

Сначала на копируемой цепи синтезируется полинуклеотидный фрагмент, который называется праймером. Он начинается с последовательности из 8-10 рибонуклеотидов, которые присоединяет праймаза. За ними следует примерно 50 дезоксирибонуклеотидов, присоединяемых ДНК-полимеразой α . К образовавшемуся двухнитевому фрагменту присоединяется ДНК-полимераза δ , которая далее осуществляет синтез непрерывно в направлении 5'-3'. Эта цепь ДНК называется лидирующей.

Вторая цепь – отстающая. Дело в том, что цепи ДНК антипараллельны и для копирования второй из них ферменту необходимо было бы перемещаться в обратном направлении – против движения репликативной вилки, что невозможно.



Проблема разрешается тем, что вторая нить копируется участками, которые получили название фрагментов Оказаки.



Длина фрагмента у эукариот – примерно 150 нуклеотидов. Каждый из фрагментов Оказаки начинается с РНК-праймера, синтезируемого праймазой, длиной примерно 10 нуклеотидов. Затем следует участок праймера, состоящий из дезоксирибонуклеотидов. Его образует ДНК-полимераза α . Остальную часть фрагмента Оказаки синтезирует ДНК-полимераза ϵ . РНК-праймер удаляется ДНК-полимеразой β и ею же заполняется дезоксирибонуклеотидами. После этого ДНК-лигаза соединяет фрагменты Оказаки в непрерывную цепь.



http://faculty.scf.edu/keirlem/BSC_1007_eText_UNIT_2/TEXT_Biological_Macromolecules/TEXT_Biological_Macromolecules18.html

Терминация.

В каждой хромосоме имеется одна молекула ДНК. Она состоит примерно из 150 млн пар нуклеотидов. Скорость копирования относительно невелика – 500-5000 нуклеотидов в минуту, и для того, чтобы провести удвоение в разумное время, в ходе репликации образуется множество репликативных вилок. Процесс заканчивается, когда вилки встречаются друг с другом.

В завершение процесса ДНК метилаза метилирует некоторые остатки аденина во вновь синтезированных цепях. До завершения метилирования, цепи не идентичны, что используется ферментами репарации для исправления ошибок.

Теломеры – участки ДНК вблизи конца хромосомы - не копируются в силу стерических проблем. При каждом делении они укорачиваются, пока потеря ДНК не становится критической. Укорочение теломер – обычный процесс в эукариотической клетке, который лимитирует число ее делений.

Репарация.

Процесс исправления ошибок в ДНК называется репарацией.

Mismatch репарация. При каждом акте присоединения нуклеотида происходит проверка правильности считывания. Если присоединяется не комплементарный нуклеотид, ДНК-полимераза ингибируется до момента его удаления.

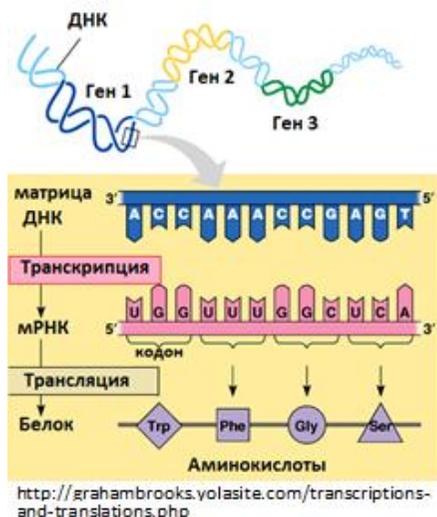
Прямая – ферменты исправляют поврежденные нуклеотиды.

Экцизионная – удаление поврежденных участков ДНК и комплементарное их заполнение.

Транскрипция (синтез РНК).

Происходит на матрице ДНК. Для синтеза используются рибонуклеозидтрифосфаты. Начинается на определенных участках (сайтах), называемых промоторами, заканчивается на сайтах

терминации. Считывается только одна цепь, называемая матричной. Фрагмент ДНК между промотором и сайтом терминации называется транскриптом. В его составе есть незначимые последовательности и один (у эукариот) ген. Ген – это участок ДНК, в котором закодирована аминокислотная последовательность одного полипептида или нуклеотидная последовательность молекулы РНК.

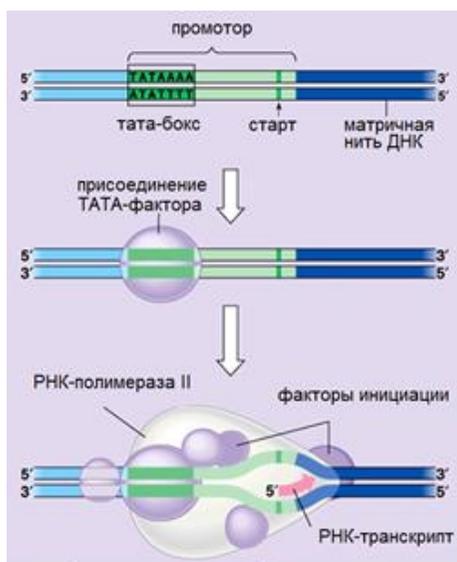


В синтезе принимают участие ДНК-зависимые РНК полимеразы I, II и III. Первая из них синтезирует прерибосомную 45S РНК, вторая – гетерогенные ядерные РНК – предшественники матричных РНК, третья – пре-тРНК, 5S рибосомную РНК и малые ядерные РНК.

В транскрипции, как и в репликации и трансляции выделяют три стадии: инициация, элонгация и терминация.

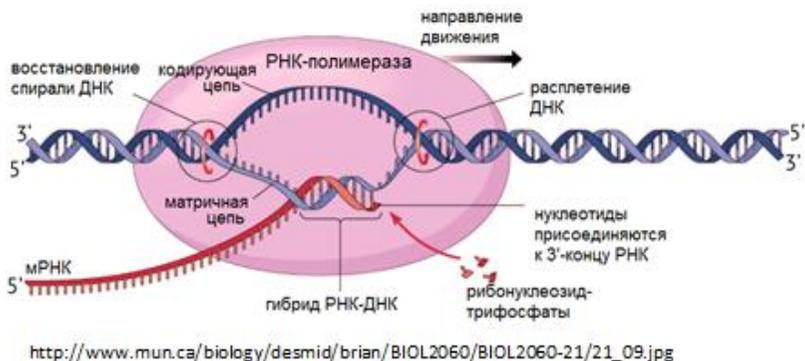
Инициация осуществляется на промоторах. В них имеется нуклеотидная последовательность ТАТААА, называемая ТАТА-боксом. К ней прикрепляется белок под названием ТАТА-фактор, что способствует присоединению РНК-полимеразы. Образуется так называемый «закрытый комплекс», в котором ДНК сохраняет двухцепочечную структуру. Далее ДНК расплетается на про-

тяжении примерно 13 нуклеотидов и формируется «транскрипционный пузырь». Синтезируется фрагмент РНК из 8-10 нуклеотидов. Инициация завершается диссоциацией одной из субъединиц РНК-полимеразы и присоединением нескольких факторов элонгации. Такая структура называется открытым комплексом. На этой стадии синтез может приостанавливаться (пробуксовывать). Транскрипт может высвобождаться и расщепляться нуклеазами. Если длина синтезируемого фрагмента РНК превысит 10 нуклеотидов транскрипция переходит в стадию элонгации.



<http://brussels-scientific.com/?p=2724>

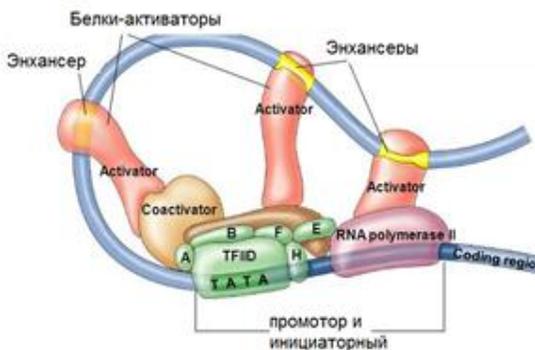
Элонгация совершается путем комплементарного присоединения нуклеотидов к растущей цепи РНК. При этом расплетено примерно 18 нуклеотидных пар, а 12 находятся в виде гибридного комплекса РНК-ДНК. Спереди транскрипционного комплекса двойная спираль расплетается, сзади восстанавливается. Достигнув сайта терминции, транскрипт освобождается, РНК-полимераза отсоединяется.



Транскрипция регулируется главным образом на стадии инициации. Имеют значение нетранскрибируемые последовательности: энхансеры и сайленсеры.

Энхансеры - участки ДНК, усиливающие транскрипцию одного или группы генов. Могут располагаться вблизи промотора или на удалении, в том числе даже на другой хромосоме. Но для реализации функции требуется физический контакт энхансера с промотором. Это достигается за счет изгибания молекулы ДНК.

Энхансеры привлекают к области промотора факторы транскрипции и РНК-полимеразу. В геноме человека обнаружено порядка миллиона энхансеров.



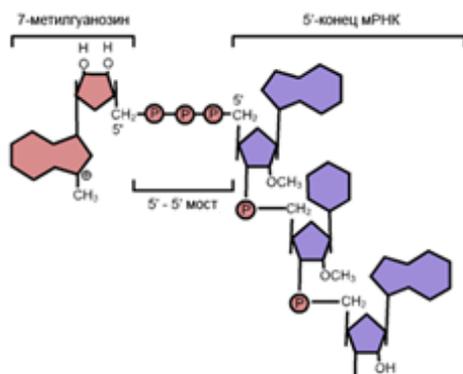
Сайленсеры – последовательности ДНК, угнетающие транскрипцию. Также могут находиться на удалении от контролируемого гена.

Процессинг.

Под этим термином понимается созревание РНК, то есть совокупность посттранскрипционных модификаций, приводящих к превращению первичного транскрипта в функционально активную молекулу. Для мРНК они включают: экзпирование 5'-конца, полиаденилирование 3'-конца, сплайсинг, химическую модификацию нуклеотидов.

Экзпирование (cap, англ. - шапочка).

Осуществляется экзпирующим белковым комплексом сразу после начала считывания, как только 5'-конец транскрипта появляется из РНК-полимеразного комплекса. На 5'-конце синтезирующейся РНК находятся трифосфатная группировка. Первый фермент - РНК-фосфатаза удаляет один фосфат. Далее, гуанилтрансфераза, используя ГТФ в качестве субстрата, присоединяет ГДФ 5'-5'-фосфодиэфирной связью. Высвобождается пирофосфат. Завершает процесс N⁷ метилирование гуанина.



https://ru.wikipedia.org/wiki/Файл:Схема_экзпирования.png#filelinks

Кэп выполняет следующие функции:

- Участвует в транспорте мРНК из ядра.

После синтеза кэп связывается с белковым комплексом CBC (cap binding complex) и TREX (transcription/export complex). Благодаря этому белки ядерных пор распознают мРНК, и она переносится в цитоплазму.

- Участвует в инициации трансляции.

В цитоплазме комплекс CBC заменяется на фактор инициации трансляции eIF4, что приводит к образованию инициаторного комплекса.

- Предотвращает расщепление 5'-конца РНК нуклеазами.

После модификации 5'-конец РНК выглядит, как 3'-конец, что предотвращает расщепление. Кроме того, кэп-связывающий комплекс CBC защищает кэп от удаления специфическими ферментными системами (decapping complex), которое привело бы к немедленному расщеплению транскрипта.

- Участвует в сплайсинге.

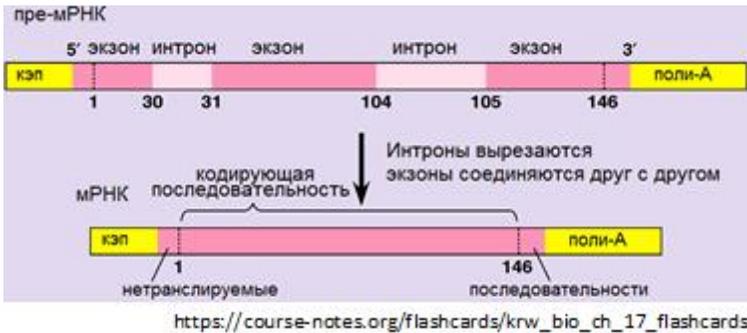
Наличие кэпа распознается сплайсосомой и необходимо для начала сплайсинга.

Полиаденилирование.

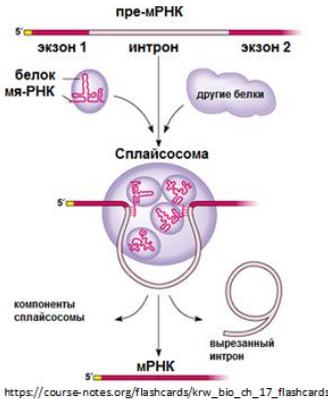
После завершения транскрипции 3'-конец транскрипта обрезается ферментом CPSF и к образовавшемуся концу полиаденилатполимераза присоединяет последовательность из примерно 250 остатков АМФ. К образовавшемуся поли(А) хвосту присоединяются поли(А)-связывающие белки. Это является необходимым условием транспорта мРНК из ядра. В цитоплазме к поли(А) присоединяется белок, который рекрутирует 40S-субъединицу рибосомы, способствуя инициации трансляции. У эукариот поли(А)-хвост в цитоплазме постепенно укорачивается, и такие РНК меньше транслируются и быстрее разрушаются.

Сплайсинг.

В первичном транскрипте присутствуют участки, которые элиминируются в ходе созревания и отсутствуют в зрелой РНК. Они называются интронами. Термином экзоны обозначаются участки, которые кодируют структуру белка или РНК и не вырезаются. Сплайсинг, то есть процесс вырезания интронов и сшивания экзонов в непрерывную молекулу, происходит в ядре. В цитоплазму транспортируются уже зрелые молекулы.



Сплайсинг осуществляют крупные рибонуклеопротеиновые комплексы – сплайсосомы, в состав которых входят малые ядерные РНК и около восьмидесяти белков. На каждой пре-мРНК комплекс формируется заново. Его компоненты распознают характерные нуклеотидные последовательности и присоединяются к ним.



Альтернативный сплайсинг – вариант сплайсинга, в ходе которого из одного транскрипта получаются разные мРНК. Он осуществляется за счет пропуска экзонов или, реже, сохранения части интронов. Альтернативный сплайсинг – способ синтеза изоформ ферментов.

Химическая модификация нуклеотидов.

мРНК подвергается метилированию. Наиболее частой модификацией является образование N⁶-метиладенозина.

Особенности процессинга рРНК и тРНК.

Рибосомная РНК синтезируется в виде предшественника – пре-РНК с коэффициентом седиментации 45S. В результате сплайсинга образуются 28S рРНК, 18S рРНК и 5,8S рРНК. Четвертая рибосомная РНК -5S – синтезируется отдельно с участием РНК-полимеразы III.

У транспортных РНК всего один интрон в 14-16 нуклеотидов. Кроме него удаляется 5'-концевой фрагмент и нуклеотиды с 3'-конца до общей для всех тРНК последовательности ССА, к которой прикрепляется аминокислота. Иногда ССА добавляется на 3'-конец. До 25% нуклеотидных остатков в зрелых молекулах тРНК модифицировано.

Дегградация РНК.

Время жизни мРНК эукариот составляет от нескольких минут до нескольких дней. Помимо обычных нуклеаз в клетке существуют специфические ферментные системы, осуществляющие дегградацию РНК.

Экзосома – белковый комплекс эукариот, контролирующий качество РНК. Молекулы с нарушенной структурой распознаются и гидролизуются. Этот процесс происходит до выхода РНК из ядра и предотвращает возможные нарушения трансляции и образование дефектных белков.

Декэпирующий комплекс конкурирует с фактором инициации eIF4 за связывание с кэпом. Если трансляция приостанавливается по каким-либо причинам, eIF4 освобождается и кэп удаляется декэпирующим комплексом. После этого РНК быстро расщепляется нуклеазами. Этот механизм важен для регуляции количества специфических мРНК в клетке.

Поли(А) рибонуклеаза присоединяется к мРНК в области кэпа. Уменьшение трансляции мРНК делает кэп более доступным и способствует постепенному укорочению поли(А) хвоста. Это, в свою очередь, приводит к дальнейшему уменьшению использования РНК в качестве матрицы. Как только поли(А)-хвост исчезает, декэпирующий комплекс удаляет кэп, и РНК расщепляется.

Трансляция (синтез белка).

Осуществляется на матрице РНК. Состоит из трех этапов: инициация, элонгация и терминация. Синтез происходит на рибосомах, в нем принимают участие м РНК, комплексы аминокислот с тРНК, белковые факторы, используется энергия макроэргов.

Отсутствие соответствия между числом мономеров в молекуле белка и кодирующих участках молекул РНК и комплементарности между ними предполагает наличие «шифра», с помощью которого информация, записанная в РНК, переносится на последовательность аминокислот в белке. Такой шифр получил название генетического кода.

Основные свойства генетического кода:

Триплетность. Для кодирования одной аминокислоты используются тройки нуклеотидов, получивших название триплетов или кодонов. Из трех нуклеотидов можно образовать 64 триплета. 61 из них – значащие, три - УАГ, УАА, УГА – бессмысленные. Они не кодируют аминокислот, но выполняют функцию остановки трансляции, поэтому называются терминирующими. Кодон АУГ и ГУГ кодируют метионин в середине цепи и одно-

временно выполняют роль стартовых, если расположены в начале смысловой последовательности. У прокариот и в митохондриях эукариот они обеспечивают включение одной аминокислоты во все белки – N-формилметионина, который далее может отщепляться. У эукариот первой аминокислотой, включающейся в состав белка, является метионин.

Вырожденность. Число кодонов больше числа аминокислот, поэтому некоторые аминокислоты кодируются двумя, тремя и даже шестью кодонами. Как правило два первых нуклеотида в тройке не меняются, а третий – варьирует.

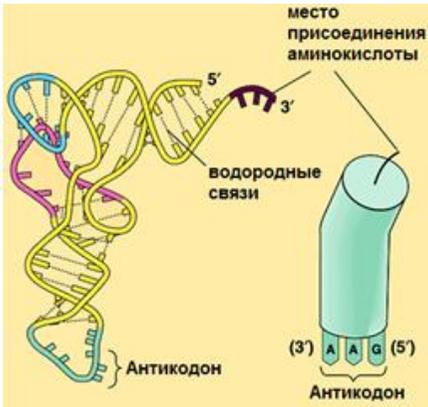
Линейность записи информации. Между смысловыми кодонами нет знаков препинания. Они считываются тройками, начиная с иницилирующих триплетов.

Коллинеарность. Между последовательностью нуклеотидов в РНК и аминокислот в белке есть линейное соответствие.

Универсальность. Генетический код универсален для всех живых существ за малыми исключениями.

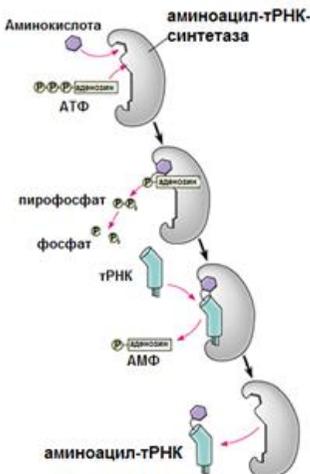
Образование аминоацил-тРНК.

Аминокислоты участвуют в синтезе белка в виде комплексов с тРНК. Именно РНК определяет специфичность последующих взаимодействий комплекса с рибосомой и матричной РНК. В клетках эукариот порядка пятидесяти тРНК, соответственно каждая аминокислота может связываться более, чем одной тРНК.



https://course-notes.org/flashcards/krw_bio_ch_17_flashcards

Специфичность взаимодействия определяют ферменты – аминоксил-тРНК-синтетазы. Их имеется не менее двадцати разновидностей – по числу аминокислот, участвующих в синтезе белка. Они присоединяют аминокислоту к гидроксильной группе во втором положении рибозы конечного аденина на акцепторном стебле тРНК. Реакция протекает с участием АТФ по схеме:



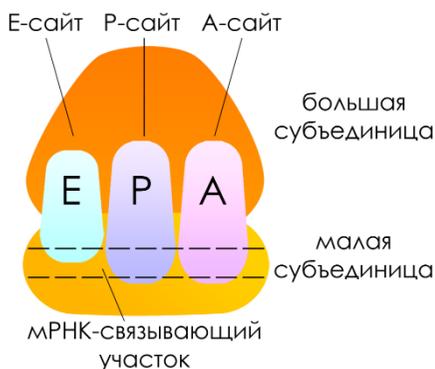
https://course-notes.org/flashcards/krw_bio_ch_17_flashcards

В образующемся комплексе аминоксил-тРНК имеется строгое соответствие между присоединенной аминокислотой и антикодоном на антикодоновой петле, который далее будет осуществлять комплементарное взаимодействие с триплетами матричной РНК.

Рибосома.

Рибосома – клеточный органоид, осуществляющий трансляцию. Она представляет собой рибонуклеопротеиновый комплекс и состоит из двух субъединиц – малой и большой. У эукариот в состав малой субъединицы с коэффициентом седиментации 40S входит молекула 18S рРНК и 30-40 белков. Большая – 60S – построена из трех молекул рРНК (28S, 5,8S, 5S) и порядка пятидесяти белков. В начале трансляции субъединицы функционируют отдельно, в ходе непосредственно синтеза – объединяются. В митохондриях и у прокариот рибосомы меньше по размеру и построены из РНК с другими коэффициентами седиментации.

В рибосоме имеется три центра – аминокислотный (А-центр), пептидильный (Р-центр) и Е-центр (от англ. exit – выход, освобождение). Первый предназначен для связывания аминокислот-тРНК, на втором удерживается растущая полипептидная цепь, третий – сайт, где освобождается пустая тРНК.



Белковые факторы.

На каждом этапе трансляции участвуют нерибосомные белковые факторы, обеспечивающие его протекание.

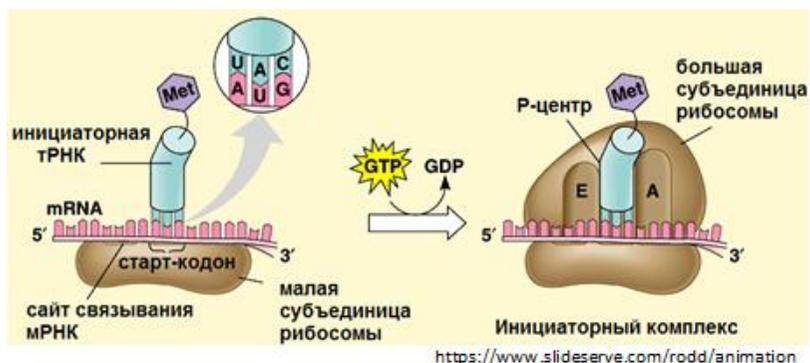
Источники энергии.

Для образования пептидной связи и транслокации рибосомы используется энергия ГТФ.

Синтез полипептидной цепи.

Инициация.

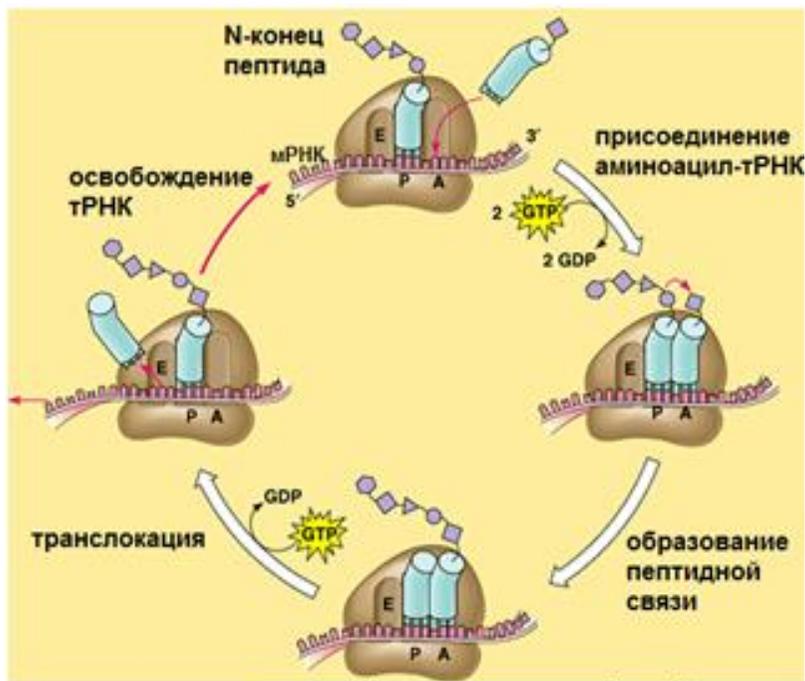
40S субъединица рибосомы с участием белковых факторов инициации (eIF) образует комплекс с иницирующей метионил-тРНК и ГТФ. Далее малая субъединица связывается с матричной РНК в районе кэпа. В мРНК присутствуют нетранслируемые последовательности, которые комплекс преодолевает, используя энергию гидролиза АТФ. Достигает иницирующего кодона АУГ. Присоединяется большая субъединица, формируются три центра связывания на рибосоме. При этом метионил-тРНК сразу попадает в пептидильный центр.



Элонгация.

К свободному триплету в аминокцильном центре присоединяется комплекс аминокцил-тРНК с ГТФ и фактором элонгации EF1. Происходит взаимодействие последовательностей антико-

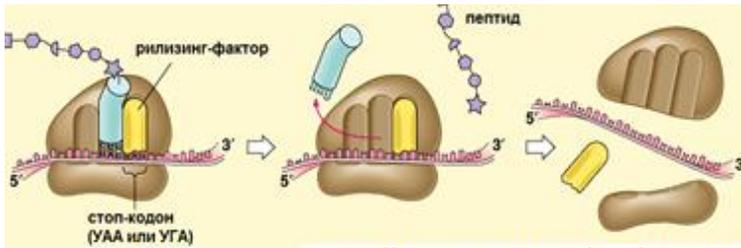
дона тРНК и кодона мРНК. В случае их комплементарности, ГТФ гидролизуется до гуанозиндифосфата и происходит образование пептидной связи. Рибосома катализирует перенос синтезируемого пептида на тРНК в аминоацильном центре. тРНК в пептидилном центре – освобождается. ГДФ и ЕФ1 диссоциируют, присоединяется фактор элонгации ЕФ2, который осуществляет транслокацию, – подвигает рибосому на один триплет. Расходуется еще одна молекула ГТФ. В результате аминоацильный центр становится свободным, тРНК с присоединенным к ней пептидом - в пептидилном центре, а «пустая» тРНК после транслокации оказывается в Е-центре. Последняя самопроизвольно отсоединяется. Аминоацильный центр присоединяет новую аминоацил-тРНК.



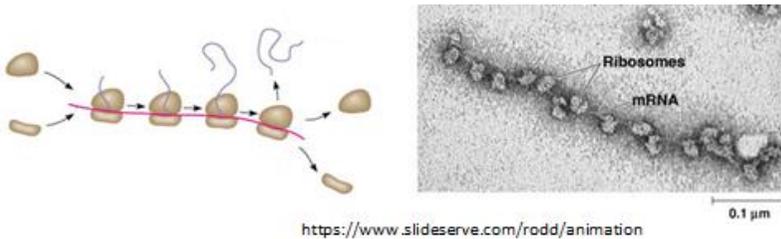
Пептидилтрансферазной активностью в рибосоме обладает 28S РНК. То есть, она является рибозимом.

Терминация.

Процесс элонгации завершается при попадании в аминокислотный центр терминирующего кодона, который не соответствует ни одной тРНК. Вместо нее присоединяются три рилизинг фактора (RF). RF1 и RF2 способствуют отщеплению вновь синтезированного белка от тРНК в пептидном центре, RF3 – диссоциирует рибосому на субъединицы. мРНК освобождается, синтез завершен.



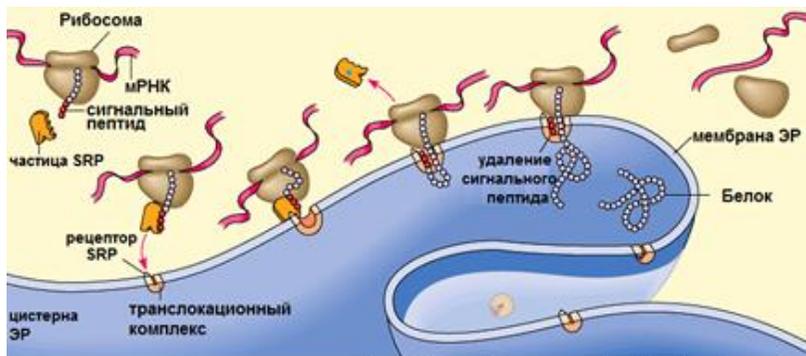
Одну мРНК, как правило, считывают одновременно несколько рибосом. Такой комплекс называется полирибосомой или полисомой



Синтез белков на экспорт.

Белки, предназначенные на экспорт, имеют на N-конце сигнальную последовательность, которую распознает рибонуклеопротеиновая частица - SRC (signal recognition particle). Она связывается с сигнальным фрагментом и приостанавливает трансляцию. Далее комплекс транспортируется к мембране эндоплазматического ретикулума (ЭПР) и связывается со специфическим

рецептором. При этом открывается мембранный канал – транслокон. Частица SRC диссоциирует, синтез белка возобновляется непосредственно в полость цистерны ЭПР. В завершение процесса сигнальная последовательность удаляется, осуществляется фолдинг белка.



<https://www.slideserve.com/rodd/animation>

Процессинг (созревание) белков.

Является обязательным этапом в формировании биологически активной структуры белка. Его суть - в ферментативной модификации полипептидной цепи, что необходимо для правильного фолдинга, компартиментализации, приобретения или изменения биологической активности, регуляции периода функционирования.

Созревание происходит в форме частичного протеолиза или химической модификации полипептидной цепи.

Частичный протеолиз может протекать в эндоплазматическом ретикулуме, аппарате Гольджи, секреторных гранулах или даже после секреции, как, например, в случае пищеварительных ферментов. При этом белок приобретает новые свойства. При созревании пепсина, с N-концевым фрагментом отщепляются все основные аминокислоты и белок приобретает оптимум pH в кислой области, формируется активный центр.

Многие белки подвергаются нескольким расщеплениям. Например, инсулин синтезируется в виде препроинсулина. Отщепление пептида из 24 аминокислот происходит в цистернах ЭПР. Образовавшийся проинсулин переносится в комплекс Гольджи и претерпевает второй этап протеолиза, который заключается в вырезании С-пептида и формировании биологически активного гормона.

Химические модификации.

Они очень многочисленны. Фосфорилирование используется часто для регуляции активности белка. Его осуществляют специфические протеинкиназы. Удаление фосфатных групп происходит под действием протеинфосфатаз. Очень многие белки подвергаются О- и N-гликозилированию по остаткам серина, треонина или аспарагина. Присоединение гидрофобных группировок, например, миристоилирование или пальмитинирование, характерно для мембранных белков. Коллаген приобретает необходимые физико-химические свойства после гидроксирования радикалов пролина и лизина.

Фолдинг.

Это формирование нативной пространственной структуры белка. Большинство белков сворачиваются самопроизвольно, и информация об их третичной (четвертичной) структуре содержится в последовательности аминокислот. Для некоторых требуется помощь специальных белков – шаперонов. Механизм фолдинга изучен недостаточно, и в настоящее время ученые не могут с точностью предсказать пространственное строение белка по его аминокислотной последовательности.

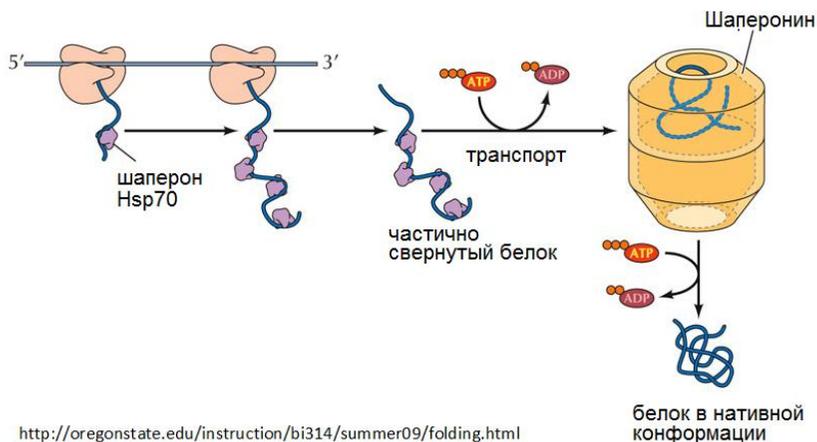
Сворачивание полипептидной цепи начинается еще во время синтеза. Растущая полипептидная цепь выводится через туннель внутри рибосомы, который накладывает определенные ограничения на формирование пространственной структуры. После освобождения вновь синтезированной молекулы сначала образуется статистический клубок, который далее перестраивается под влиянием гидрофобных взаимодействий. В случае раство-

римых белков гидрофильные аминокислоты перемещаются наружу, гидрофобные внутрь глобулы. Далее происходит образование специфических связей, включая дисульфидные, и формируется истинная глобула – нативная трехмерная структура белка.

Шапероны и шаперонины.

Белки, обладающие развитой третичной или четвертичной структурой для фолдинга нуждаются в присутствии специализированных белков - помощников.

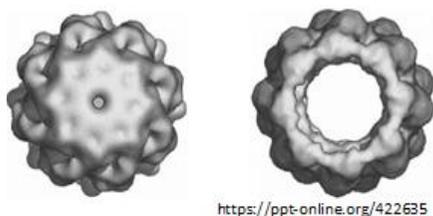
Образующаяся в процессе трансляции полипептидная цепь не может принять нативную конформацию до завершения синтеза. Чтобы предотвратить некорректный фолдинг и агрегацию с другими белками с ней связываются шапероны, экранируя ее от посторонних влияний. После завершения синтеза полипептидная цепь переносится в специализированный белковый комплекс - шаперонин, где завершается укладка.



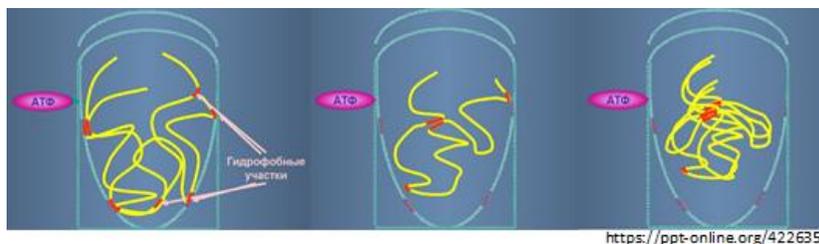
<http://oregonstate.edu/instruction/bi314/summer09/folding.html>

Шаперонины представляют собой бочкообразные мультибелковые образования с полостью внутри. После попадания полипептидной цепи, они закрываются в результате конформаци-

онного сдвига субъединиц, напоминающего закрытие диафрагмы в объективе фотоаппарата.



Процессы, происходящие внутри, изучены недостаточно, но в результате происходит формирование нативной конформации вновь синтезированного белка.



Шапероны классифицируют по молекулярной массе: HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40.

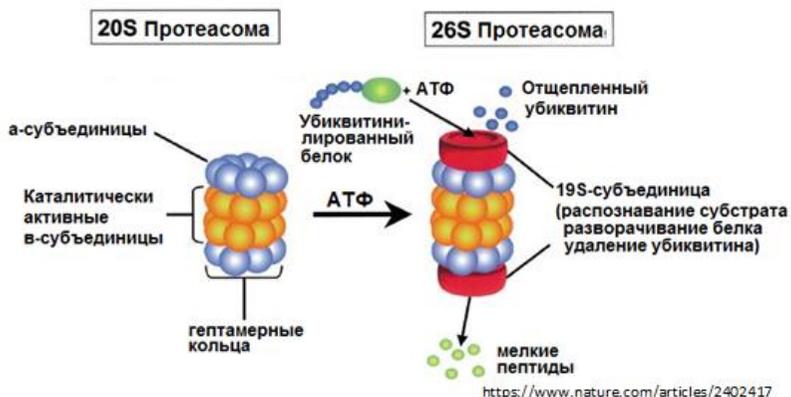
Шапероны и шаперонины принимают участие, также, в восстановлении структуры поврежденных белков. Нарушение работы этой системы приводит к образованию амилоида - нерастворимых белковых агрегатов, играющих патогенетическую роль в развитии таких заболеваний, как муковисцидоз, болезнь Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона и других.

Убиквитин-зависимая деградация белков. Протеасома.

Неправильно свернутые и поврежденные белки помечаются путем убиквитинилирования и расщепляются с помощью надмолекулярного комплекса – протеасомы.

Убиквитин – небольшой белок (8,5 кДа), присутствующий во всех клетках эукариот. Он присоединяется по ε-аминогруппам лизина белка, подлежащего расщеплению, с помощью фермента убиквитин лигазы. Далее к нему присоединяются следующие молекулы убиквитина, образуя цепочку.

Протеасома – состоит из коровой (core, англ. – сердцевина) 20S субъединицы и двух регуляторных 19S субъединиц с торцов. Вместе они образуют полный комплекс 26S.



19S субъединицы осуществляют распознавание субстрата, разворачивание белка и удаление убиквитина. Попав внутрь белок подвергается протеолизу. В результате образуются короткоцепочечные пептиды, которые выводятся наружу и расщепляются до аминокислот цитоплазматическими протеазами.

ДНК-ТЕХНОЛОГИИ.

Это приемы и методы, позволяющие выделять генетический материал и манипулировать им. Ниже приведены два наиболее важных примера.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Метод позволяет получить миллионы и миллиарды копий выбранного фрагмента ДНК для последующего детального анализа. Предложен в 1983 году К. Mullis (Нобелевская премия за

1993 год). В основе лежит многократное копирование (амплификация) выбранного участка ДНК с помощью ДНК-полимеразы. Метод предполагает наличие сведений об амплифируемом участке, поскольку для его осуществления нужны праймеры - короткие (18-24 пар оснований) олигонуклеотиды, комплементарные концам размножаемого фрагмента. ПЦР включает три основных стадии.

Денатурация.

Образец нагревается до температуры, при которой водородные связи разрываются и цепи ДНК расходятся (плавление ДНК).

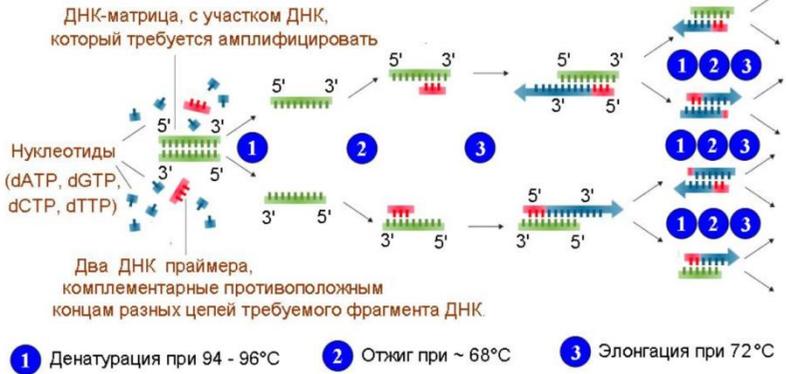
Отжиг.

Температура инкубационной среды понижается, что позволяет присутствующим в ней праймерам присоединиться к комплементарным участкам одиночных цепей ДНК.

Элонгация.

ДНК-полимераза связывается в месте присоединения праймера и наращивает комплементарную цепь. Образуется копия исходной двухцепочечной молекулы. Фермент способен копировать цепь только в направлении от 5' к 3'-концу. Поскольку цепи ДНК антипараллельны, при плавлении исходной матрицы образуются две цепи, которые нужно копировать, начиная с разных сторон. Поэтому нужны два праймера – для каждого из концов.

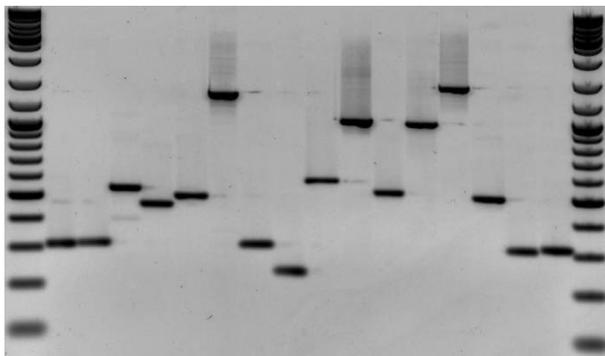
Полимеразная цепная реакция - ПЦР



https://ru.wikipedia.org/wiki/Полимеразная_цепная_реакция

Цикл из перечисленных выше трех стадий повторяется 20-40 раз. Количество образуемых копий равно 2^n , где n – число циклов. Праймер вносится в избытке, что предотвращает слияние после отжига вновь синтезированных цепей. Используется термостабильная ДНК-полимераза (Taq, Pfu), которая выдерживает кратковременное нагревание до температуры денатурации. Температурные режимы для каждой стадии приведены на рисунке. Выполнение их критически важно для успешной амплификации.

Длина амплифицируемых фрагментов составляет обычно от 0,1 до 10 тысяч пар оснований, в некоторых случаях – до 40. Их анализируют разными методами, наиболее часто с использованием электрофореза. Ниже – фотография геля, содержащего маркерную ДНК (в первом и последнем слоте) и продукты ПЦР в остальных слотах.



https://ru.wikipedia.org/wiki/Полимеразная_цепная_реакция

Примеры применения на практике.

Криминалистика. С места преступления берутся биологические следы, содержащие ДНК. Она разрезается на фрагменты, которые затем амплифицируют и разделяют методом электрофореза. Получают характерный набор полос, индивидуальный для каждого человека. Его называют генетическим «отпечатком пальцев» и используют для идентификации следов.

Таким же способом устанавливают отцовство. Полоски на электрофореграмме ДНК ребенка будут соответствовать таковым биологического отца.

Диагностика. ПЦР - золотой стандарт в диагностике вирусных и бактериальных заболеваний, так как позволяет установить наличие возбудителя в организме. Этим методом выявляются наследственные заболевания, в основе которых лежат генетические дефекты.

Методом ПЦР составляется генетический паспорт человека, из которого можно почерпнуть сведения о склонности к различным заболеваниям и даже прогнозировать сферу деятельности, в которой данный индивид будет наиболее успешен.

Генетическая сертификация животных позволяет подтвердить происхождение, наличие генетически детерминированных заболеваний и прогнозировать продуктивность.

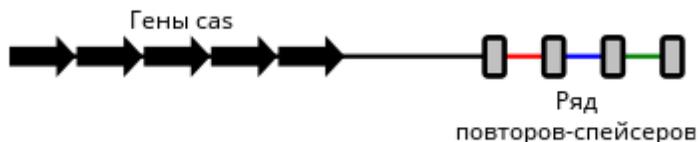
Научные исследования. ПЦР позволяет выделить и амплифицировать ген или другой фрагмент ДНК, который далее можно использовать в молекулярно-биологических исследованиях.

Редактирование генома с помощью метода CRISPR-Cas9.

CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) – короткие палиндромные повторы, собранные в кластеры и разделенные промежутками.

Изучая адаптивный иммунитет бактерий, ученые обнаружили в их геноме кластеры (группы) из повторяющихся последовательностей, разделенных спейсерами (space, англ. – промежуток) - уникальными участками примерно той же длины (30-40 нуклеотидов). Оказалось, что часть спейсеров – это фрагменты ДНК вирусов и плазмид, с которыми бактерия сталкивалась на протяжении существования вида. При инфицировании она захватывает небольшой фрагмент чужеродной ДНК, интегрирует ее в свой геном и использует затем для идентификации и уничтожения патогена.

Рядом с CRISPR располагаются гены Cas-белков (CRISPR-associated protein), обладающих нуклеазной активностью и непосредственно уничтожающих чужеродную ДНК.



<https://ru.wikipedia.org/wiki/CRISPR>

Весь процесс делится на три стадии: приобретение (или адаптация), экспрессия и интерференция.

Приобретение – это копирование фрагмента чужеродной ДНК и вставка его в собственный геном в виде очередного спейсера.

Экспрессия – спейсеры-повторы копируются на одну молекулу пре-crРНК. Далее она разрезается на небольшие фрагменты, в каждом из которых есть один спейсер. То есть, каждая из образовавшихся crРНК комплементарна какому-либо фрагменту чужеродной ДНК.

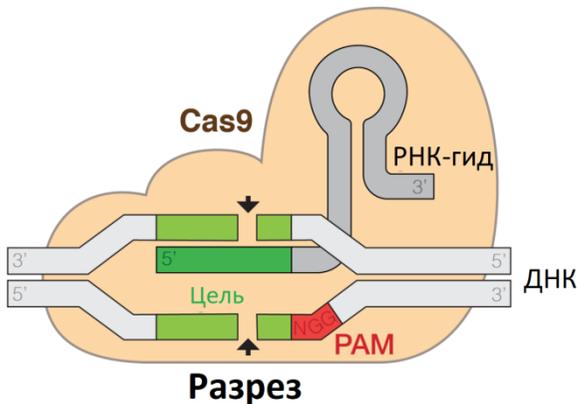
Интерференция.

crРНК связывается с Cas-белками и служит для них РНК-гидом. Она связывается с участками чужеродной ДНК (если они есть) по принципу комплементарности. Белки Cas активируются и уничтожают патоген.

В 2012 году выяснилось, что CRISPR-Cas может функционировать в клетках эукариот. Более того, в состав crРНК может быть вставлен сконструированный фрагмент, который комплементарен выбранному исследователем локусу в ДНК. С помощью искусственных РНК-гидов появилась возможность прицельно воздействовать на выбранные участки генома.

В большинстве защитных систем бактерий участвуют много Cas-белков. Одни связывают crРНК, другие «узнают» мишень, третьи обладают нуклеазной активностью. Однако, оказалось, что есть белок – Cas9, который обладает всеми этими способностями. Именно на его основе сконструированы наиболее эффективные системы редактирования.

Они способны делать одно- или двухцепочечные разрывы в заданной точке ДНК, элиминировать или вставлять фрагмент ДНК, производить точечные мутации, модифицируя какой-либо нуклеотид, или исправлять их, заменяя дефектную «букву» на правильную, просто связываться с ДНК в выбранных местах и механически препятствовать протеканию каких-то генетических процессов, например, считыванию гена или работе энхансеров и сайленсеров.



https://en.wikipedia.org/wiki/CRISPR_gene_editing

Технология CRISPR-Cas9 широко используются в эксперименте и применима для лечения заболеваний человека. Особенно тех, которые вызваны мутациями одного гена - муковисцидоз, серповидноклеточная анемия, гемофилия и пр. В 2015 году в Китае была предпринята попытка исправить генетический дефект у человеческих эмбрионов, приводящий к развитию наследственного заболевания - бета-талассемии. Примерно у 10% эмбрионов был получен положительный результат. В 2016 году там же больному раком легких ввели Т-лимфоциты с модифицированным геномом. В 2018 году в той же стране родились девочки-близнецы с отредактированным геномом, которые в результате стали невосприимчивы к вирусу иммунодефицита человека. Это стало поводом для многочисленных дискуссий об этичности такого рода исследований. Предпринимаются попытки использования CRISPR-Cas в лечении полигенных заболеваний: аллергических, сердечно-сосудистых, онкологических, нейродегенеративных.

Метод CRISPR-Cas имеет колоссальные биотехнологические перспективы. Он широко используется для создания более продуктивных и устойчивых штаммов микроорганизмов, сортов сельскохозяйственных растений. Ведутся работы по редактированию генома крупного рогатого скота, свиней.

В 2020 году за разработку метода редактирования генома была вручена Нобелевская премия по химии.

ЭНДОКРИННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ.

Гормоны (hormao (греч) – побуждаю, привожу в движение) – биологически-активные вещества, вырабатываемые специализированными клетками и оказывающие влияние на обмен веществ и физиологические функции.

Специфические особенности гормонов:

- Действуют в очень низких концентрациях (до 10^{-12} М).
- Действие опосредовано рецепторами и вторичными мессенджерами;
- Изменяют скорость реакций за счет модификации ферментов, либо за счет изменения их количества;
- Образование контролируется центральной нервной системой;
- Между гормонами и железами внутренней секреции существует как прямая, так и обратная связь, объединяющая их в общую систему.

Помимо метаболизма, гормоны регулируют многие физиологические и поведенческие реакции организма: половое и пищевое поведение, ответ на стресс, иммунный ответ, дифференцировку и рост, эмоциональное состояние и психические реакции и пр.

Гормоны классифицируются по месту синтеза, химической природе, механизму действия.

Классификация по месту синтеза.

Эндокринная система делится на glandулярную, в которой гормонообразующие клетки собраны в железы внутренней секреции, либо образуют скопления, и диффузную, клетки которой

рассеяны по организму и присутствуют в большинстве органов и тканей.

Важнейшие гормоны желез внутренней секреции:

Гипоталамус	- 6 либеринов: кортиколиберин, тиролиберин, гонадолиберин, соматолиберин, меланолиберин, пролактолиберин. - 3 статина: фоллистатин, соматостатин, меланостатин. - 2 гормона прямого действия: антидиуретический гормон (вазопрессин), окситоцин.
Гипофиз	- 4 тропных гормона: адренкортикотропный гормон (кортикотропин, АКТГ), тиреотропный гормон (тиреотропин, ТТГ), фолликулостимулирующий гормон (фоллитропин, ФСГ), лютеинизирующий гормон (лютропин, ЛГ). - 2 прямого действия: пролактин, соматотропный гормон (соматотропин, СТГ).
Эндокринная часть поджелудочной железы	Инсулин, глюкагон
Надпочечники	Кортизол, адреналин, альдостерон
Половые железы	Эстрадиол, прогестерон, тестостерон
Щитовидная железа	Тироксин, трийодтиронин, кальцитонин
Паращитовидные железы	Паратгормон
Эпифиз	Мелатонин

Некоторые гормоны диффузной эндокринной системы

Кардиомиоциты правого предсердия	Предсердный натрийуретический пептид (ПНУП)
Клетки слизистой	Холецистокинин, секретин, глюкокозави-

оболочки тонкой кишки	сильный инсулотропный пептид (ГИП), вазоактивный интестинальный пептид (ВИП)
G-клетки желудка	Гастрин
Клетки островков Лангерганса поджелудочной железы	Грелин, соматостатин, панкреатический полипептид
Жировая ткань	Лептин
Плацента	Плацентарный лактоген, хорионический гонадотропин
Клетки крови и эндотелия сосудов	Тромбоксаны, лейкотриены, простаглицлины

Классификация по химическому строению

Стероидные гормоны:

Гормоны коркового слоя надпочечников (кортикостероиды):

Глюкокортикоиды: кортизон, кортизол, кортикостерон;
 Минералокортикоиды: дезоксикортикостерон, альдостерон;
 Надпочечниковые андрогены: дегидроэпиандростерон.

Гормоны половых желёз:

Гестагены: прегненолон, прогестерон;
 Андрогены: тестостерон;
 Эстрогены: эстрадиол, эстриол, эстрон.

Производные жирных кислот:

Эйкозаноиды: простагландины, простаглицлины, тромбоксаны и лейкотриены.

Производные аминокислот:

- *тирозина:*

адреналин (мозговое вещество надпочечников),
 тироксин и трийодтиронин (щитовидная железа).

- *триптофана:*

мелатонин (эпифиз).

Белковые и пептидные гормоны:

Либерины и статины гипоталамуса, гормоны гипофиза, антидиуретический гормон (вазопрессин), окситоцин, кальцитонин, паратгормон, инсулин, глюкагон и др.

Механизм действия гормонов.

Рецепторы гормонов.

Рецептор — специализированный белок, специфично реагирующий изменением своей пространственной конфигурации на присоединение к нему молекулы определённого химического вещества, либо изменение физических параметров окружающей среды. Передаёт внешний сигнал внутрь клетки или клеточной органеллы.

Лиганд - вещество, специфически взаимодействующее с рецептором.

Агонист – лиганд искусственного происхождения, активирующий рецептор.

Антагонист - лиганд, блокирующий рецептор.

Агонисты и антагонисты применяются в исследовательских целях и в качестве лекарственных средств.

Специфичность действия гормонов определяется наличием рецепторов в клетках-мишенях. Рецепторы гормонов могут располагаться на наружной или внутриклеточных мембранах клетки, либо в цитоплазме.

Мембранные подразделяются на:

- Рецепторы, связанные с G-белками
- Рецепторы, обладающие ферментативной активностью.
- Рецепторы, связанные с ионными каналами

Первые две группы относятся к метаботропным рецепторам, третья – к ионотропным. Метаботропные рецепторы оказывают влияние непосредственно на метаболические процессы в

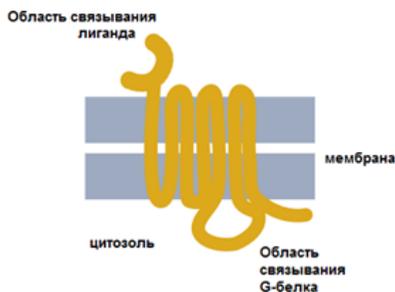
клетке мишени и действуют через системы вторичных посредников. Ионотропные связаны с ионными каналами в мембране.

Внутриклеточные рецепторы локализируются в цитоплазме и являются факторами, регулирующими транскрипцию.

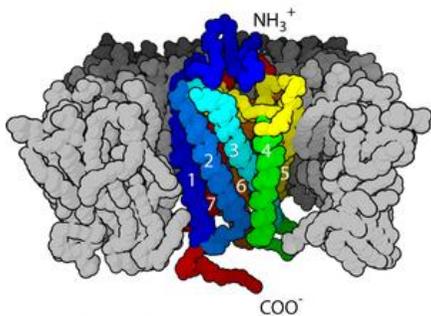
Рецепторы, связанные с G-белками (GPCR, G-protein coupled receptors).

Это самый распространенный тип рецепторов. На основании анализа генома было выяснено, что у человека имеется порядка 800 генов GPCR, что составляет около 4% всех кодирующих белки последовательностей. Этот тип рецепторов помимо гормонов участвует в восприятии вкусовых и запаховых молекул, света, большинства нейромедиаторов. Только для эндогенных лигандов известно более 350 рецепторов этого типа. Рецепторы, связанные с G-белками, опосредуют действие адреналина и норадреналина, глюкагона, окситоцина и вазопрессина, тирoliberина и соматостатина, ФСГ, кальцитонина, эйкозаноидов и ряда других гормонов.

GPCR – это интегральные мембранные белки, имеющие семь доменов, пронизывающих мембрану. Внеклеточные домены имеют центр связывания лиганда, внутриклеточные – G-белка. После связывания лиганда (гормона) рецептор претерпевает конформационные изменения, которые активируют G-белок.

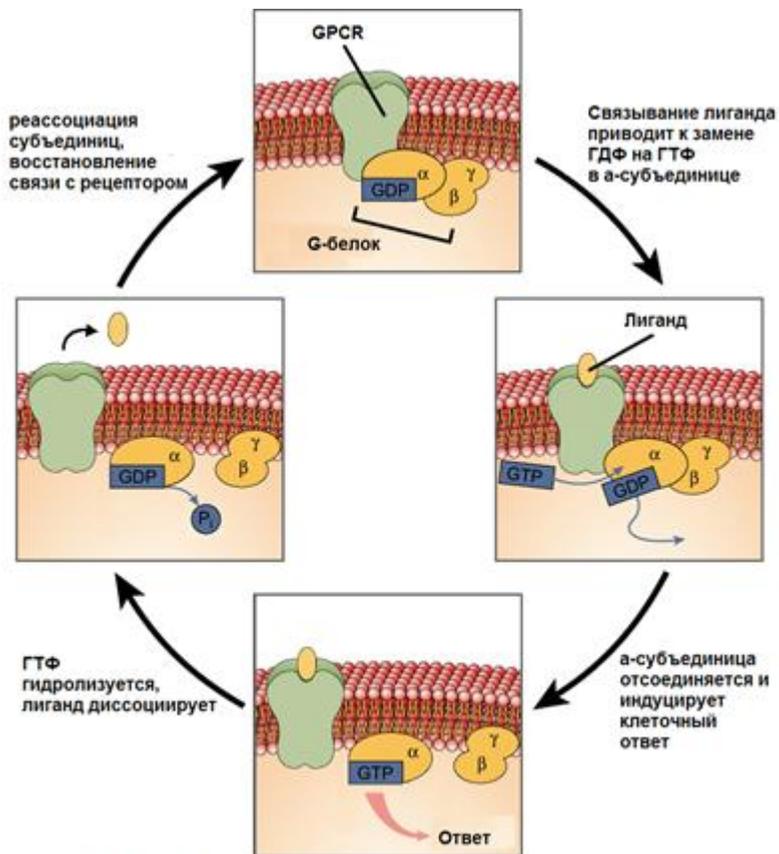


[https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Biochemistry/Book%3A_Biochemistry_Free_and_Easy_\(Ahem_and_Rajagopal\)/08%3A_Signaling/8.04%3A_G-protein_Coupled_Receptors_\(GPCRs\)](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Biochemistry/Book%3A_Biochemistry_Free_and_Easy_(Ahem_and_Rajagopal)/08%3A_Signaling/8.04%3A_G-protein_Coupled_Receptors_(GPCRs))



https://commons.wikimedia.org/wiki/File:PDB_1hzx_7TM_Sketch_Membrane.png

G-белки получили свое название из-за того, что обладают ГТФ-азной активностью и используют замену ГДФ на ГТФ, как молекулярный механизм регуляции своей активности. Взаимодействие лиганда с рецептором приводит к обмену ГДФ на ГТФ и диссоциации белкового комплекса на α - и $\beta\gamma$ -субъединицы. α -субъединица воздействует на следующее звено в цепи передачи сигнала, после чего ГТФ гидролизуется и происходит реассоциация субъединиц в неактивный комплекс.



<https://www.khanacademy.org/science/biology/cell-signaling/mechanisms-of-cell-signaling/a/signal-perception>

G-белки действуют через изменение активности аденилатциклазы, фосфосфодиэстеразы, могут открывать и закрывать ионные каналы. Их α -субъединицы делятся на несколько типов по механизму действия. Например, они могут активировать аденилатциклазу (α_s) или ингибировать ее (α_i), стимулировать фосфолипазу C (α_q) и т.д.

Рецепторы, обладающие ферментативной активностью.

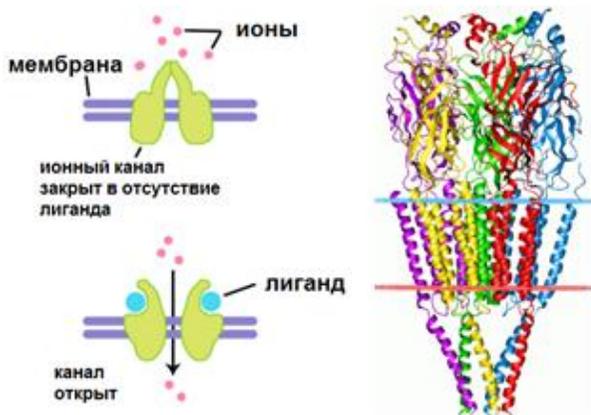
Это трансмембранные белки, у которых цитоплазматический домен обладает ферментативной активностью, либо способен связывать фермент, активность которого необходима для дальнейшей передачи сигнала. Эти рецепторы могут включать те же сигнальные пути, что и GPCR.

В качестве ферментов выступают тирозинкиназы, серинтреониновые киназы, гистидиновые киназы, тирозинфосфатазы, гуанилатциклазы. Киназы фосфорилируют по соответствующим аминокислотным остаткам, присутствующим в их названии, небольшой набор внутриклеточных сигнальных белков.

К такому типу относится инсулиновый рецептор. Он обладает тирозинкиназной активностью.

Рецепторы, связанные с ионными каналами.

Это мембранные каналы, которые открываются или закрываются при связывании лиганда. Через них проходят ионы калия, натрия, кальция или хлора. Изменение внутриклеточной концентрации ионов, которое при этом происходит, может самостоятельно воздействовать на внутриклеточные процессы, либо опосредованно - через изменение мембранного потенциала.

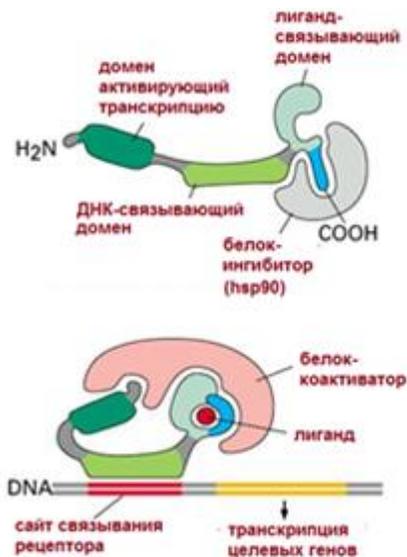


[https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Biochemistry/Book%3A_Biochemistry_Free_and_Easy_\(Ahem_and_Rajagopal\)/08%3A_Signaling/8.02%3A_Ligand-gated_Ion_Channel_Receptors](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Biochemistry/Book%3A_Biochemistry_Free_and_Easy_(Ahem_and_Rajagopal)/08%3A_Signaling/8.02%3A_Ligand-gated_Ion_Channel_Receptors)

Лиганд-управляемые (хемочувствительные) ионные каналы играют большую роль в синаптической передаче с участием глицина, серотонина, ацетилхолина, ГАМК.

Внутриклеточные рецепторы

Липофильные гормоны проникают через мембрану клетки и взаимодействуют с рецепторами в цитоплазме. Рецептор в неактивном состоянии находится в комплексе с шаперонами. Например, глюкокортикоидный рецептор комплексируется с белком hsp90, который маскирует домен, предназначенный для связи с ДНК. Структурным мотивом такого домена является цинковый палец. Присоединение лиганда приводит к конформационной перестройке рецептора, в результате которой он теряет сродство к hsp90. После отделения этого белка, рецептор взаимодействует с промотором, энхансерами или сайленсерами и изменяет транскрипцию гена - мишени. В результате количество белка, кодируемого геном, в клетке изменяется, и это приводит к необходимым метаболическим сдвигам.



<https://www.slideserve.com/omana/generalized-signaling-pathway>

Реализация этого механизма требует времени, поэтому эффект наблюдается не сразу, а спустя несколько часов. Зато он более продолжителен.

Таким образом действуют глюкокортикоиды, тиреоидные гормоны, половые стероиды, кальцитриол, ретиновая кислота.

Вторичные мессенджеры.

Это малые небелковые молекулы, которые образуются либо высвобождаются в ответ на стимуляцию рецепторов и активируют следующие компоненты сигнального каскада. К ним относятся цАМФ, цГМФ, ионы кальция, диацилглицерол, инозитолтрифосфат и окись азота.

Важным свойством системы вторичных мессенджеров является усиление первичного сигнала. Одна молекула гормона вызывает образование множества молекул вторичных мессенджеров. Основные свойства, присущие вторичным мессенджерам:

- Они быстро образуются или выделяются и так же быстро могут быть удалены;

- Некоторые из них, такие, как ионы кальция, могут храниться про запас в специализированных органеллах;

- Их образование, выделение, удаление и уничтожение находится под жёстким контролем внутриклеточных систем обратной связи;

Механизмы трансмембранной передачи сигнала.

Аденилатциклазная система.

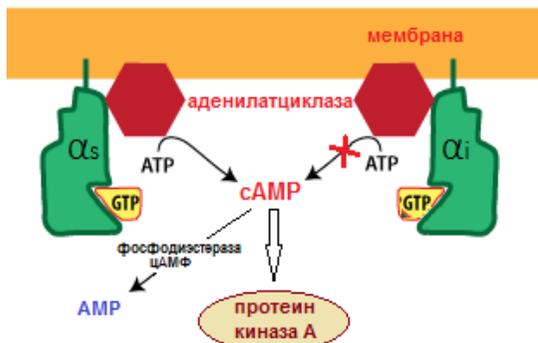
Помимо рецептора и G-белка в нее входит аденилатциклаза и фосфодиэстераза циклического АМФ, протеинкиназа А.

Аденилатциклаза – интегральный мембранный белок, обращенный активным центром в сторону цитоплазмы. Активность модулируется G-белками по механизму белок-белкового взаимодействия. Присоединение Gs-белка стимулирует фермент

и увеличивает концентрацию циклического АМФ (адреналин, глюкагон). Gi-белок оказывает обратное действие и опосредует действие, например, соматостатина и эйкозаноидов. Циклический АМФ связывается с протеинкиназой А и увеличивает ее активность, либо взаимодействует с ионными каналами.

Протеинкиназа А – тетрамерный белок, состоящий из двух каталитических и двух регуляторных субъединиц. Присоединение двух молекул цАМФ к каждой регуляторной субъединице приводит к полной диссоциации комплекса и активации каталитических субъединиц. Они фосфорилируют белки – мишени по гидроксильным группам серина, треонина, либо по гетероциклическому азоту гистидина, изменяя их активность. Другая группа ферментов – протеинфосфатазы – дефосфорилируют белки, возвращая их активность к исходной.

Уровень циклического АМФ снижается под действием фосфодиэстеразы цАМФ, активность которой также является важным звеном в передаче сигнала.



<https://www.liberaldictionary.com/g-protein/g-protein-coupled-receptors/>

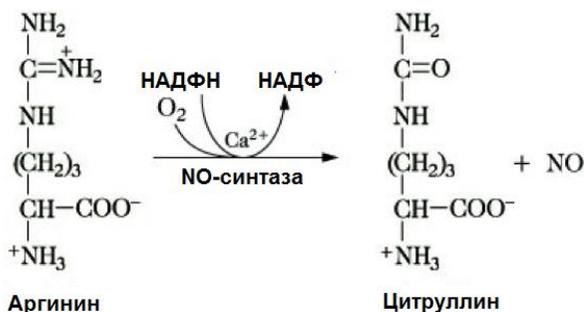
Циклический АМФ опосредует действие гормонов гипофиза (ТТГ, ЛГ, МСГ, ФСГ, АКТГ), кальцитонина, соматостатина, глюкагона, паратгормона, адреналина (через α_2 - и β -адренорецепторы), вазопрессина (через V2-рецепторы).

Гуанилатциклазная система.

Аналогична аденилатциклазной, только действует через уровень циклического ГМФ. Опосредует действие цГМФ протеинкиназа G. Из гормонов этот механизм использует предсердный натрийуретический пептид.

Оксид азота - цГМФ

Через цитозольную гуанилатциклазу оказывает действие оксид азота (NO). Этот вторичный мессенджер образуется в ходе превращения аргинина в цитруллин под действием NO-синтаз.

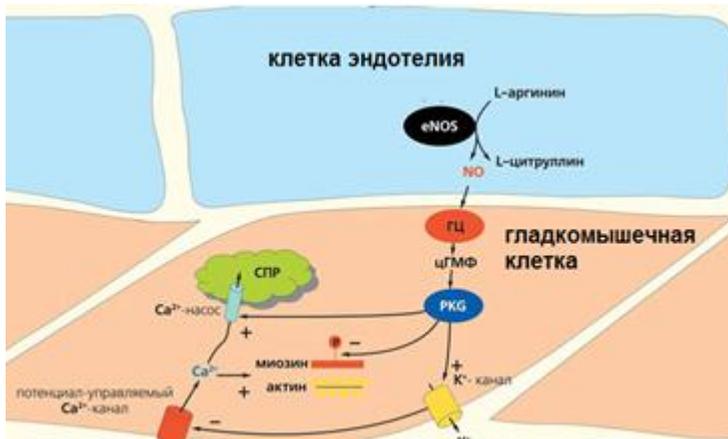


Проникая в цитоплазму, он связывается непосредственно с этим ферментом, который в данном случае выполняет одновременно роль рецептора для NO. В качестве простетической группы цитоплазматическая гуанилатциклаза использует гем. Оксид азота присоединяется к гемовому железу.

Гуанилатциклаза снижает концентрацию кальция в клетке по двум механизмам:

1. Активация калиевого канала деполяризует мембрану. Это блокирует потенциалуправляемый кальциевый канал и снижает поступление кальция в клетку.
2. Активизируется закачивание ионов кальция в эндоплазматический ретикулум.

В результате концентрация кальция снижается, мышечные волокна расслабляются, в результате расширяются сосуды и снижается давление.

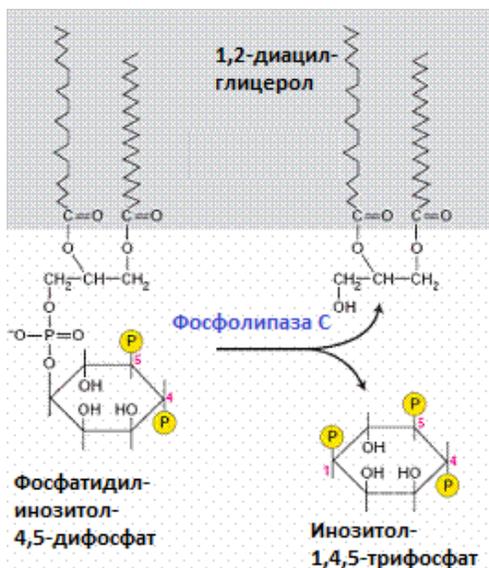


<https://www.google.by/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Felementy.ru>

eNOS – NO-синтаза, ГЦ – гуанилатциклаза, PKG – протеинкиназа G, СПР – саркоплазматический ретикулум.

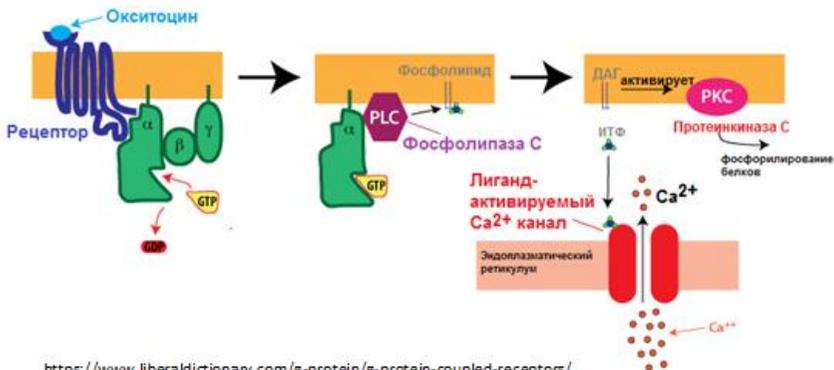
Фосфолипазно-кальциевая система.

Ряд рецепторов ассоциированы с G-белками, в составе которых имеется α_q -субъединица (G α_q). Она активирует фосфолипазу C, которая гидролизует мембранный фосфолипид – фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат. В результате образуются сразу два вторичных мессенджера: инозитол-1,4,5-трифосфат (ИФ₃) и диацилглицерол (ДАГ). Первый представляет собой гидрофильную молекулу и оказывает свое действие в цитоплазме, второй остается в мембране.



Lodish H. et al. (2016) Molecular Cell Biology

Инозитолтрифосфат открывает кальциевые каналы в эндоплазматическом ретикулуме. Уровень ионов кальция в клетке в 5-10 тысяч раз ниже, чем в межклеточной жидкости или плазме крови и составляет величину порядка 0,1 мкМ в спокойном состоянии. Такая разница поддерживается непрерывной работой кальциевых насосов. Они удаляют ион наружу и закачивают во внутриклеточные депо - цистерны эндоплазматического ретикулума, митохондрии. Инозитолтрифосфат увеличивает уровень кальция в цитоплазме до 1 мкМ.



Ионы кальция непосредственно являются активаторами многих ферментов. Кроме того, в цитоплазме имеется белок кальмодулин, который активируется присоединением четырех ионов кальция на молекулу. Сам он не обладает ферментативной активностью, но способен к ассоциации с множеством белков (около 40). Среди них протеинкиназы, протеинфосфатазы, фосфодиэстеразы.

Важнейшей мишенью для ионов кальция является протеинкиназа C, которая для своей активности нуждается также во втором липидном мессенджере – ДАГ.

Протеинкиназа C – это название группы ферментов, по механизму действия, относящихся к серин-треониновым киназам. У человека насчитывается 15 изоферментов. Они фосфорилируют множество белков, включая факторы транскрипции.

Помимо этого, ДАГ является источником арахидоновой кислоты для синтеза простагландинов и предшественником эндоканнабиноида – 2-арахидоноилглицерола.

Другие сигнальные пути.

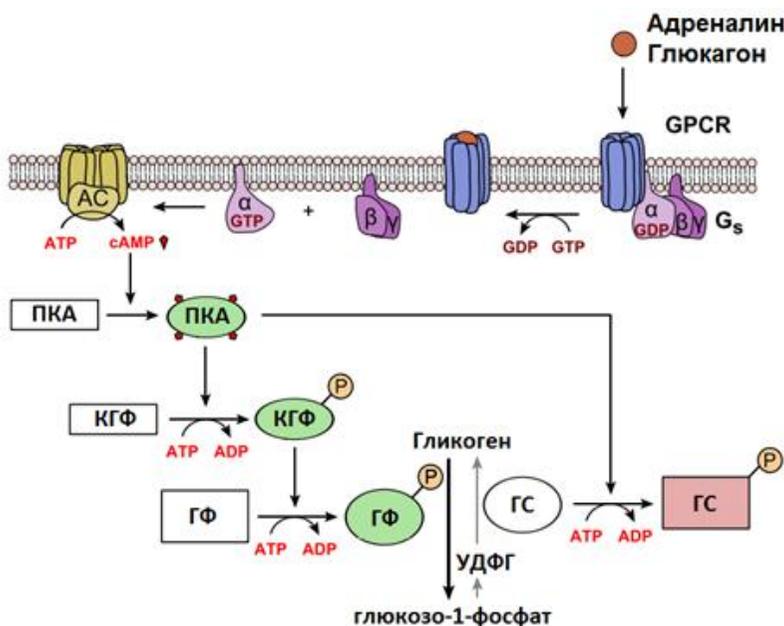
Существуют и другие пути передачи сигнала. Среди них фосфатидилинозитолтрифосфат киназный путь (PI-3K путь), MAP-киназный (MAPK) и др.

Примеры действия гормонов.

Ингибирование гликогенсинтазы адреналином.

1. Связывание гормона рецептором приводит к диссоциации G-белка и замене ГДФ на ГТФ в α -субъединице.
2. α -субъединица активирует протеинкиназу А
3. Протеинкиназа А фосфорилирует киназу гликогенфосфорилазы (КГФ)
4. КГФ фосфорилирует гликогенфосфорилазу, что ее активирует
5. Протеинкиназа А по аналогичному механизму, фосфорилируя ряд промежуточных белков, инактивирует гликогенсинтазу.

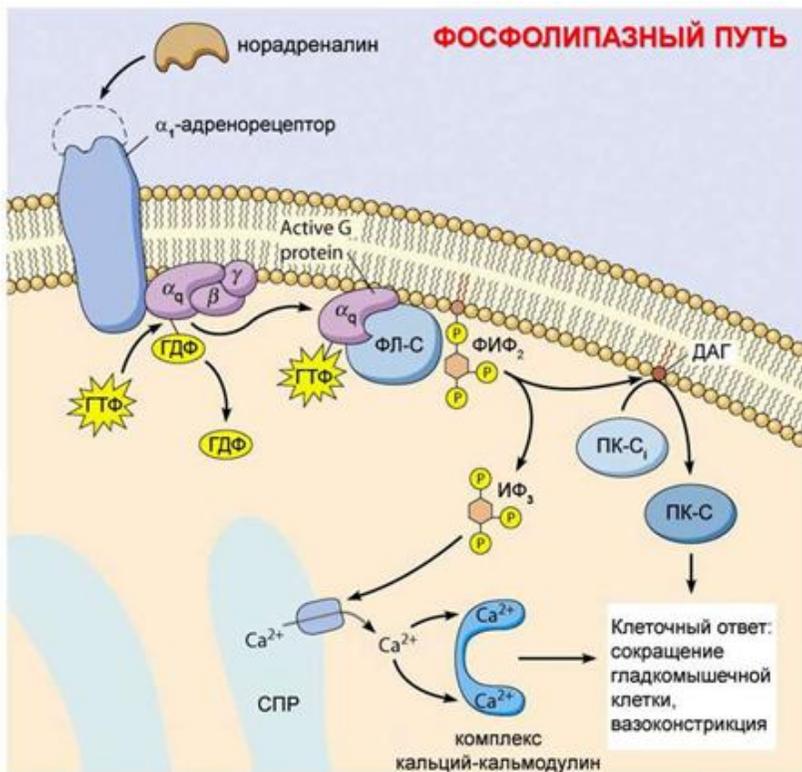
В результате активизируется распад гликогена и тормозится его синтез.



<https://www.lecturio.com/magazine/glycogen-metabolism/>

С – аденилатциклаза; ПК – протеинкиназа А; КГФ – киназа гликогенфосфорилазы; ГФ – гликогенфосфорилаза; ГС – гликогенсинтаза.

Сокращение мышечных волокон под действием норадреналина (через α_1 -рецептор), вазопрессина (через V2-рецептор), ангиотензина II.



<https://slideplayer.com/slide/6847222/>

ПК-С – протеинкиназа С, ФЛ-С – фосфолипаза С, ДАГ – диацилглицерол, ИФ₂ – фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат.

Иерархия в эндокринной системе. Основные гормоны и механизмы их действия.

Гипоталамус

Центральным органом является гипоталамус – небольшая область в промежуточном мозге, являющаяся связующим звеном между нервной и эндокринной системами. Он имеет связи практически со всеми образованиями головного мозга, собирает информацию о состоянии гомеостаза в органах и тканях с помощью вегетативной нервной системы и развитого рецепторного аппарата. Выделяет гормоны и нейропептиды, регулируя многие физиологические функции и поведенческие реакции: голод и жажду, сон, бодрствование и циркадные ритмы, терморегуляцию, половое и пищевое поведение. Вместе с гипофизом образует гипоталамо-гипофизарную систему.

Гипоталамус с помощью ножки и системы кровеносных сосудов соединен с гипофизом и регулирует функцию последнего, образуя два типа нейропептидов: либерины (рилизинг-факторы) и статины. Первые увеличивают выработку определенных гормонов в гипофизе, вторые – тормозят. В настоящее время известно три статина и семь либеринов.

Либерины:

1. кортикотропин-рилизинг-гормон (кортиколиберин)
2. соматотропин-рилизинг-гормон (соматолиберин)
3. тиреотропин-рилизинг-гормон (тиролиберин)
4. пролактотропин-рилизинг-гормон (пролактолиберин)
5. гонадотропин-рилизинг-гормон (гонадолиберин, люлиберин, фоллиберин)
6. меланотропин-рилизинг-гормон (меланолиберин)

Статины:

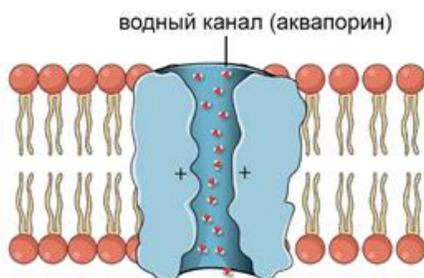
1. соматостатин
2. пролактостатин
3. меланостатин

Помимо этого, в гипоталамусе образуются два гормона, которые затем поступают в заднюю долю гипофиза и оттуда по мере необходимости секретируются в кровь:

1. Антидиуретический гормон (АДГ) или вазопрессин;
2. Окситоцин.

Антидиуретический гормон (АДГ, вазопрессин)

Увеличивает реабсорбцию воды в почках. Выделяется в ответ на увеличение осмолярности плазмы крови или уменьшении объема циркулирующей крови. Действует через V_{1R} рецепторы в эпителиальных клетках собирательных трубочек. Рецепторы связаны с G_q – белком и действуют по фосфолипазно-кальциевому механизму. Присоединение гормона приводит к увеличению в апикальной мембране числа водяных каналов, построенных из аквапорина 2.



<https://netnature.wordpress.com/2015/03/11/aquaporinas-a-homologia-de-sub-familias-proteicas/>

Увеличивает тонус кровеносных сосудов с помощью V_{1A} рецепторов, расположенных на гладкомышечных клетках кровеносных сосудов. Повышает артериальное давление.

Окситоцин.

Олигопептид. Стимулирует сокращение миоэпителиальных клеток, окружающих альвеолы и протоки молочной железы, увеличивая выделение молока. Вызывает сокращение мускулатуры матки.

Окситоцин, также, оказывает влияние на психоэмоциональную деятельность человека. Его называют «гормоном доверия». Уменьшает чувство страха, тревоги, повышает доверие в общении с партнером. Вызывает благожелательное расположение к другим людям, повышение восприимчивости к социально-значимым явлениям, увеличивает щедрость. Гормон участвует сразу же после родов в формировании отношения мать-ребенок.

Гипофиз

В гипофизе выделяют три доли. В передней образуется шесть основных гормонов: четыре тропных и два прямого действия. Помимо них, там же синтезируется ряд биологически активных пептидов.

Тропные регулируют образование гормонов железами внутренней секреции:

Адренокортикотропный гормон (адренокортикотропин, АКТГ) регулирует гормонообразующую функцию коры надпочечников.

Тиреотропный гормон (тиреотропин, ТТГ) - стимулирует образование гормонов в щитовидной железе;

Гонадотропные гормоны – лютеинизирующий (ЛГ) и фолликулостимулирующий (ФСГ) регулируют функцию половых желез. ФСГ способствует сперматогенезу, созреванию фолликулов в яичниках, пролиферации эндометрия. ЛГ – вызывает овуляцию, образование желтого тела, регулирует стероидогенез в яичках и яичниках.

К гормонам прямого действия относятся:

Соматотропный гормон (гормон роста, соматотропин, СТГ) – важнейший регулятор роста, стимулятор анаболических процессов в клетке.

Пролактин – регулирует лактацию и ряд других процессов.

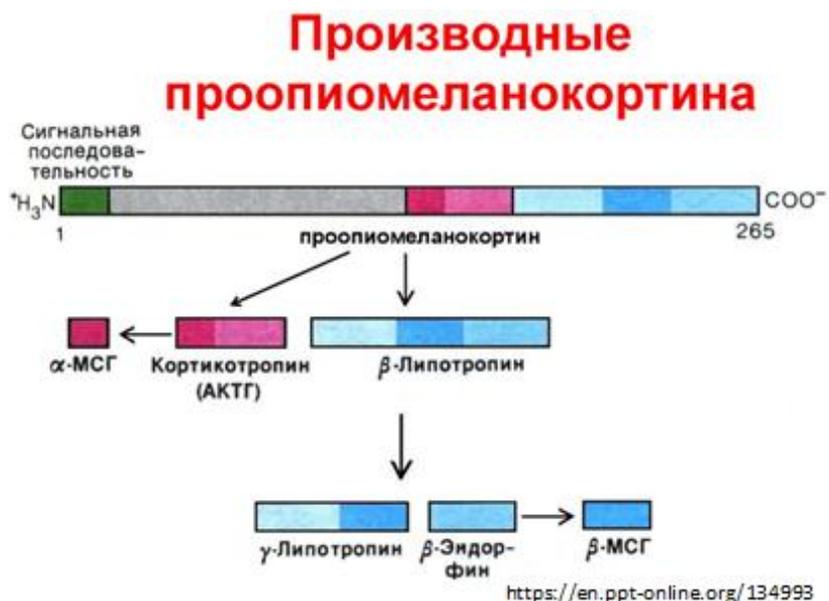
Средняя доля гипофиза выделяет группу меланоцитстимулирующих гормонов (α -, β -, γ -МСГ), регулирующих синтез меланинов.

В задней доле, как было сказано выше, накапливаются нейроромоны гипоталамуса: АДГ и окситоцин.

Некоторые эндокринные железы не регулируются системой гипофиз-гипоталамус: островки Лангерганса поджелудочной железы, мозговое вещество надпочечников, парашитовидная железа и др. Они контролируются нервными влияниями и уровнем определенных веществ в крови.

Проопиомеланокортин.

Кортикотропные клетки гипофиза синтезируют предшественник – проопиомеланокортин, который при расщеплении дает несколько гормонов. В разных клетках гипофиза расщепление идет с преимущественным образованием некоторых из них. В кортикотропных клетках образуется больше АКТГ и липотропина. В меланотропах синтезируется больше МСГ. Все они выделяются одновременно в ответ на действие кортиколиберина.



Адренокортикотропный гормон действует через меланокортиновые рецепторы MC2R в клетках коры надпочечников и жировой ткани. Они относятся к GPCR и с участием Gs-белка стимулируют выработку цАМФ. АКТГ стимулирует образование белка, переносящего холестерин из жировых капель во внутреннюю мембрану митохондрий, где находится ключевой фермент биосинтеза кортикостероидов – холестериндесмолаза (цитохром-P450sc). Более длительный эффект АКТГ заключается в увеличении синтеза этого белка.

Меланоцитстимулирующие гормоны (α , β , γ) увеличивают образование меланина меланоцитами кожи, волос и сетчатки глаза.

Липотропины – увеличивают липолиз в жировой ткани, однако этот эффект не значителен. Предполагается, что в значительной мере β -липотропин имеет значение, лишь как предшественник β -эндорфина.

β -эндорфин – опиоидный пептид, обладающий широким спектром биологической активности. Регулирует реакцию организма на стресс: обладает обезболивающим, противошоковым действием, подавляет функцию гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси; участвует в патогенезе формирования зависимостей.

Соматотропин.

Оказывает анаболическое действие: усиливает синтез белка, тормозит липогенез, увеличивает соотношение мышечной массы к жировой. Повышает концентрацию глюкозы в крови. Стимулирует деление и дифференцировку клеток, рост внутренних органов и костей.

Многие эффекты опосредуются инсулиноподобными факторами роста (EGF - insulin-like growth factor). Ранее они назывались соматомединами.

Образование стимулируется соматолиберином и подавляется соматостатином. Последний образуется не только в гипотала-

мусе, но и в островках Лангерганса поджелудочной железы и регулирует многие другие гомеостатические процессы в организме. Масштаб его участия в регуляции метаболизма становится понятным из простого перечисления гормонов, секрецию которых он снижает. Помимо СТГ, это – ТТГ, инсулин, глюкагон, гастрин, холецистокинин, вазоактивный интестинальный пептид, инсулиноподобный фактор роста-1.

Тиреотропин

Белковый гормон, состоящий из двух субъединиц. α – субъединица одинаковая с ЛГ, ФСГ и хорионическим гонадотропином. Она стимулирует аденилатциклазу. β – отвечает за специфическое связывание с рецептором.

Рецепторы располагаются на фолликулярных клетках щитовидной железы и стимулируют образование тиреоидных гормонов. Это происходит на многих уровнях: увеличивается транспорт иодида в клетку и иодирование тиреоглобулина, стимулируется конъюгация иодированных тирозинов и отщепление гормонов от белка, усиливается секреция Т3 и Т4 в кровь.

Образование ТТГ регулируется тиролиберином гипоталамуса и тиреоидными гормонами по принципу обратной связи.

Гонадотропины (ЛГ и ФСГ).

ЛГ (лютропин).

Гетеродимерный гликопротеин. Увеличивает активность 17 β -гидроксистероиддегидрогеназы в клетках Лейдига, превращающей андростендион в тестостерон.

В яичниках стимулирует образование стероидных предшественников эстрадиола. В середине менструального цикла пиковый выброс ЛГ вызывает овуляцию и вслед за этим – лютеинизацию желтого тела. В течение двух недель ЛГ поддерживает растущий синтез прогестерона желтым телом. Далее этот процесс стимулируется ХГЧ.

Концентрация регулируется гонадолиберинном и уровнем периферических половых стероидов.

ФСГ (фоллитропин).

Гликопротеин, аналогичный по строению ЛГ. Действует через рецепторы по аденилатциклазному механизму. В клетках Сертоли семенников стимулирует сперматогенез за счет увеличения синтеза андрогенсвязывающего белка. В яичниках способствует росту фолликула и синтезу эстрадиола. Вместе с ЛГ вызывает овуляцию в середине цикла и поддерживает образование прогестерона желтым телом

Пролактин (лактотропный гормон)

Пролактин — это белок, состоящий из 199 аминокислот. Стимулирует образование и выделение молозива, превращение его в зрелое молоко. Способствует росту и развитию молочной железы.

Рецепторы обладают тирозинкиназной активностью. Помимо молочной железы обнаружены во многих тканях, где функция пролактина изучена недостаточно.

Секреция пролактина находится под сильным ингибирующим действием пролактостатина, в роли которого выступает нейротрансмиттер дофамин. Раздражение рецепторов сосков при кормлении ребенка снижает выделение дофамина гипоталамусом и способствует выделению пролактина.

Эпифиз (шишковидная железа)

Эпифиз располагается в среднем мозге над гипоталамусом.

Мелатонин – регулятор циркадного ритма у всех живых организмов, включая одноклеточные. Синтезируется из триптофана, через стадию образования серотонина.

Концентрация имеет четкий суточный ритм и зависит от освещенности. Больше всего его образуется ночью, и синтез уменьшается при освещении. Регулирует все циклические про-

цессы в организме, прежде всего режим сна-бодрствования. У животных определяет сезонную ритмику размножения, миграционного поведения, линьки и пр.

Один из редких случаев, когда гормон имеет как ядерные, так и мембранные рецепторы.

Гормоны щитовидной железы.

Тиреоидные гормоны: тироксин, трийодтиронин.

Повышают уровень основного обмена, потребление тканями кислорода. Увеличивают артериальное давление, частоту сердечных сокращений, температуру тела, двигательную активность, психическую энергию.

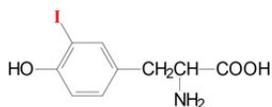
Увеличивают концентрацию глюкозы в крови и использование ее тканями. Усиливают глюконеогенез в печени и тормозят синтез гликогена. Увеличивают мобилизацию и тормозят синтез липидов. В малых концентрациях стимулируют синтез белка и формируют положительный азотистый баланс. При высоком уровне в отношении белкового обмена обладают катаболическим действием.

Действуют синергично с соматотропином, стимулируют рост и дифференцировку клеток. Увеличивают чувствительность клеток к катехоламинам.

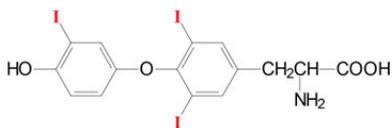
Синтез

Происходит в клетках фолликулов. Ионы йода поступают в клетку путем симпорта (одновременного импорта) с ионами натрия и транспортируются в коллоид с участием белка пендрина. Тиреопероксидаза (селен- и гем-содержащий фермент) превращает ионы в молекулярный йод, что повышает их реакционную способность, йодирует остатки тирозина в тиреоглобулине. Всего в молекуле тиреоглобулина 100 - 120 тирозинов. Образуются моно- и дийодтирозиновые остатки в составе белка. Далее под действием того же фермента моно- и дийодтирозины конъюгируют с образованием Т3 и Т4. Конъюгация моно- и дийодтиро-

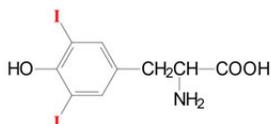
зина дает трийодтиронин. Конъюгация двух дийодтирозинов приводит к образованию тироксина.



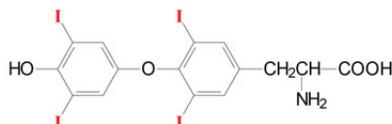
3-монойодтирозин (МИТ)



3,5,3'-трийодтиронин (Т3)

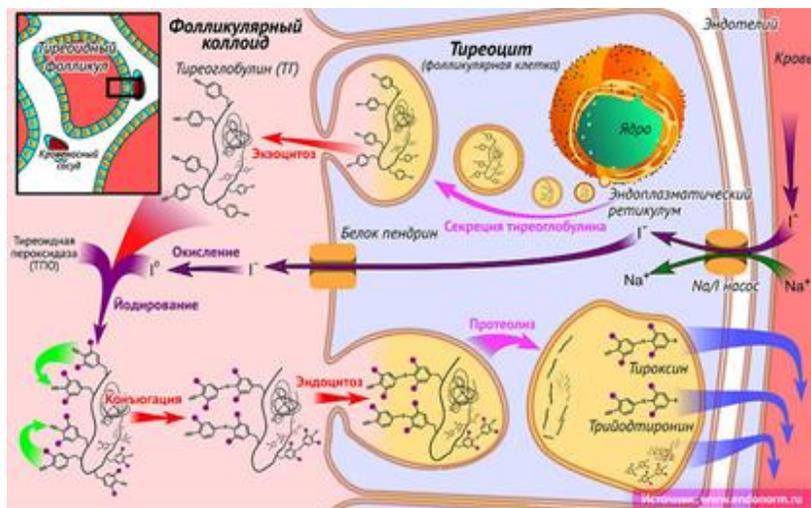


3,5-дийодтирозин (ДИТ)



3,5,3',5'-тетрайодтиронин (Т4)
(тироксин)

Под действием ТТГ происходит рецепторный эндоцитоз коллоида в цитоплазму. Везикула сливается с лизосомой, протеазы освобождают тироксин и трийодтиронин. Гормоны транспортируются в кровь.



<http://www.endonorm.ru/shchitovidnaya-zheleza/>

В крови гормоны транспортируются в комплексе с тироксинсвязывающим глобулином. В периферические клетки тиреоидные гормоны поступают за счет активного переноса. Тироксин фактически является прогормоном. В клетке от него отщепляется один атом йода под действием деиодиназы, и именно трийодтиронин связывается с рецептором. Гормон действует на уровне транскрипции.

Кальцитонин

Пептидный гормон, образуемый парафолликулярными клетками. Антагонист паратгормона и кальцитриола. Уменьшает концентрацию кальция и фосфатов в крови за счет угнетения активности остеокластов и снижения реабсорбции в почках. Предотвращает потерю кальция из скелета при беременности и лактации.

Рецепторы кальцитонина относятся к типу GPCR, локализуются на мембранах остеокластов, в почках и некоторых клетках мозга.

Паращитовидные железы.

Паратгормон – пептидный гормон, увеличивающий содержание кальция и уменьшающий концентрацию фосфатов в крови.

На мембранах клеток паращитовидной железы имеются рецепторы кальция, которые реагируют на уровень этого катиона в плазме крови. При увеличении концентрации рецептор по фосфолипазно-кальциевому механизму снижает выведение секреторных гранул с гормоном из клетки.

Основным механизмом действия паратгормона является увеличение активности остеокластов и повышение уровня кальция в крови за счет растворения минеральной составляющей кости. Костная ткань является своего рода депо кальция в организме, которое используется для поддержания его концентрации в крови. Паратгормон – ключевой фактор, регулирующий этот процесс. Кроме того, он играет важную роль в ремоделировании

костей – физиологическом процессе, в ходе которого происходит локальная резорбция и формирование костной ткани.

В почках паратгормон увеличивает реабсорбцию кальция и снижает реабсорбцию фосфатов. Там же он стимулирует активность 1-гидроксилазы и превращение кальцидиола в кальцитриол, вследствие чего возрастает всасывание кальция в кишечнике.

Поджелудочная железа.

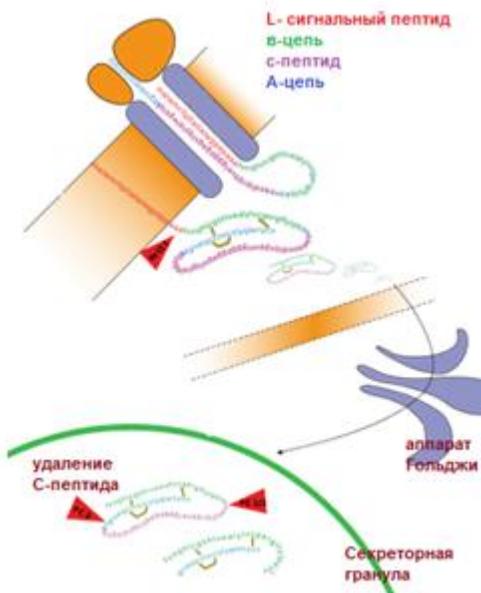
В поджелудочной железе, преимущественно в хвосте, имеются скопления гормонпродуцирующих клеток – островки Лангерганса. α -клетки островков синтезируют глюкагон, β -клетки – инсулин, Δ -клетки – соматостатин, ϵ -клетки – грелин, PP-клетки – панкреатический полипептид.

Глюкагон.

Пептид из 29 аминокислот. Увеличивает концентрацию глюкозы в крови. Рецепторы располагаются преимущественно на клетках печени. Действуют увеличивая концентрацию циклического АМФ. Стимулируют глюконеогенез, распад гликогена за счет активации гликогенфосфорилазы и угнетения гликогенсинтазы.

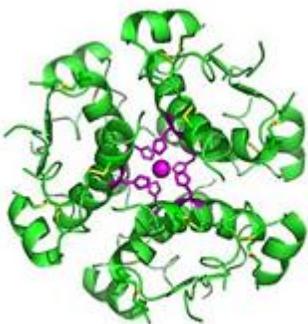
Инсулин.

Самый изученный гормон. Имеет пептидную природу, синтезируется в виде препроинсулина, в котором имеется четыре фрагмента: L-пептид, B-пептид, C-пептид и A-пептид. В процессе синтеза происходит спонтанный фолдинг и образуется две дисульфидные связи между фрагментами A и B и одна внутри A. L-пептид носит название сигнального, служит для переноса инсулина через мембрану эндоплазматического ретикулума и отщепляется сразу после этого. Далее проинсулин транспортируется в цистерны аппарата Гольджи, где вырезается инертный C-пептид и гормон приобретает зрелую структуру.



<https://en.wikipedia.org/wiki/Insulin>

В секреторных гранулах инсулин образует гексамерные агрегаты, в которых остатки гистидина каждой молекулы удерживают атом цинка.



<https://ru.wikipedia.org/wiki/Инсулин>

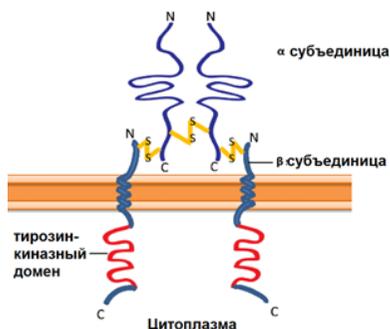
Секрецию инсулина запускает увеличение скорости окисления глюкозы в β -клетках в ответ на рост гликемии. Образуются

щийся АТФ закрывает калиевые каналы и вызывает деполяризацию мембраны. Это активирует потенциал-зависимые кальциевые каналы и увеличивает концентрацию ионов кальция в клетке. Симулируется фосфолипаза С, которая нарабатывает инозитолтрифосфат. Последний мобилизует кальций из эндоплазматического ретикулума еще больше повышая его уровень в цитоплазме. Это служит сигналом для экзоцитоза секреторных гранул.

На секрецию инсулина влияет уровень в крови ряда гормонов, аминокислот (лейцин, аргинин, жирных кислот, ионов калия и кальция). Парасимпатические нервные волокна увеличивают выделение инсулина, симпатические - через α_2 -адренорецепторы – подавляют.

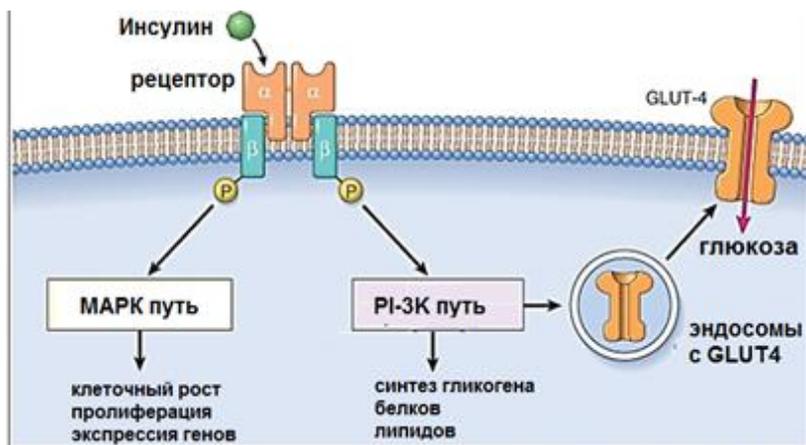
Механизм действия.

Инсулиновый рецептор состоит из двух субъединиц: α и β . Два рецептора объединяются, образуя гомодимер. Инсулин присоединяется к α -субъединицам, что активирует тирозинкиназную активность β -субъединиц. Сначала они фосфорилируют сами себя (аутофосфорилирование), затем клеточные белки, известные как субстраты инсулина (IRS). Последние запускают сигнальный каскад PI-3K, одним из этапов которого является активация протеинкиназы В.



https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-insulin-receptor-Insulin-receptor-is-a-heterotetrameric-receptor-that_fig3_311994370

Протеинкиназа В стимулирует слияние эндосом (внутриклеточных везикул), содержащих глюкозные транспортеры GLUT4, с клеточной мембраной. Перенос глюкозы внутрь клеток активируется, гликемия снижается.



<http://www.imolpat.com/fulltext/66-1562022444.pdf?1585033949>

Другими эффектом активации протеинкиназы В является фосфорилирование киназы гликогенсинтазы. Киназа при этом инактивируется, не фосфорилирует гликогенсинтазу, и та сохраняет активность. Одновременно за счет фосфорилирования инактивируется гликогенфосфорилаза. В результате при действии инсулина активируется синтез гликогена.

Аналогичным образом инсулин тормозит глюконеогенез и мобилизацию жира из жировых депо, стимулирует синтез липидов в печени.

Еще одна большая группа эффектов инсулина связана с активацией сигнального пути MAPK. Он получил название по центральной митогенактивируемой протеинкиназе (MAP-киназа). Помимо некоторых гормонов MAPK опосредует действие факторов роста, цитокинов, нейромедиаторов. Он опосредует влияние инсулина на рост и пролиферацию клеток путем изменения транскрипции генов.

Патология.

Патологическое повышение уровня глюкозы в крови носит название - диабет. Различают два его вида. Диабет первого типа обусловлен аутоиммунным разрушением β -клеток, приводящим к абсолютной недостаточности инсулина. Диабет второго типа характеризуется либо снижением образования инсулина, либо уменьшением чувствительности к нему тканей, либо обеими причинами одновременно. Его появление имеет связь с диетой, гиподинамией, ожирением, возрастом и метаболическим синдромом. Играет роль генетическая предрасположенность.

Метаболический синдром – состояние, при котором имеются три признака из пяти: ожирение, артериальная гипертензия, гипергликемия, высокий уровень триглицеридов в плазме крови и низкий уровень ЛВП.

Надпочечники.

Состоят из мозгового вещества и коры. Мозговое синтезирует гормоны – производные аминокислот, главным из которых является адреналин. В коре образуются стероидные гормоны.

В корковом веществе выделяют три зоны, каждая из которых вырабатывает свой спектр гормонов.

Клубочковая – альдостерон, кортикостерон, дезоксикортикостерон

Пучковая – кортизол, кортизон

Сетчатая – дегидроэпиандростерон, дегидроэпиандростерон сульфат.

Кортикостероиды – общее название стероидных гормонов, образуемых корой надпочечников. Они делятся на глюкокортикоиды и минералокортикоиды. В понятие кортикостероидов не входят надпочечниковые половые стероиды.

К глюкокортикоидам относятся: кортизол, кортизон, кортикостерон. Основной – кортизол.

К минералокортикоидам: альдостерон (основной), дезоксикортикостерон.

Альдостерон.

Вызывает усиление реабсорбции ионов натрия и хлора и выведение ионов калия в почках. Это повышает объем циркулирующей крови и артериальное давление. Действует совместно и под влиянием ренин-ангиотензиновой системы, регулирующей водно-солевой обмен в организме. Один из компонентов этой системы – ангиотензин II является главным стимулятором образования и секреции альдостерона.

Действует через цитоплазматические рецепторы. Усиливает синтез белков, осуществляющих транспорт ионов натрия и калия через эпителиальные мембраны (эпителиальный натриевый канал, Na-K-АТФ-аза и ряд регуляторных белков).

Кортизол (гидрокортизон).

Основной глюкокортикоид у человека. У животных кортикостерон может иметь сопоставимую концентрацию и даже превышать содержание кортизола.

Действует через цитозольный рецептор. Комплекс переносится в ядро и регулирует транскрипцию генов-мишеней.

Концентрация кортизола повышается при стрессе и снижении уровня глюкозы в крови.

Основные биохимические эффекты кортизола направлены на повышение уровня глюкозы. Он стимулирует глюконеогенез в печени в том числе за счет увеличения синтеза ключевого фермента – фосфоенолпируваткарбоксикиназы. Уменьшает потребление глюкозы мышцами вследствие уменьшения числа глюкозных транспортеров GLUT4 на мембранах клеток. Стимулирует синтез ферментов катаболизма аминокислот для пополнения фонда субстратов глюконеогенеза. Усиливает катаболизм белков в периферических тканях.

Обладает мощным противовоспалительным и иммунодепрессивным действием.

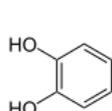
Надпочечниковые андрогены.

Надпочечники образуют целый ряд стероидов, которые являются промежуточными продуктами в синтезе тестостерона. Больше всего секретируется дегидроэпиандростерона и дегидроэпиандростерон сульфата. Они обладают слабой андрогенной активностью. Скорее они служат источником циркулирующих в крови стероидов, которые могут превращаться в тестостерон и эстрадиол в периферических клетках.

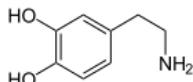
У взрослых мужчин они существенно не модифицируют андрогенный фон, поскольку доля синтезируемого из него тестостерона не превышает 5%. Усиление секреции надпочечниковых андрогенов у женщин может быть причиной заболеваний, так как доля тестостерона, образуемого из них в норме, может достигать 40% от общего пула.

Адреналин.

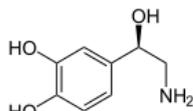
Катехоламины – гормоны и нейромедиаторы, имеющие в основе катехол (пирокатехин):



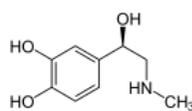
катехол



дофамин



норадреналин



адреналин

К катехоламинам относится дофамин, адреналин (эпинефрин) и норадреналин (норэпинефрин). Кроме мозгового слоя надпочечников, они образуются в окончаниях симпатических нервных волокон. Гормоном является адреналин, два остальных соединения преимущественно выступают в роли нейромедиаторов.

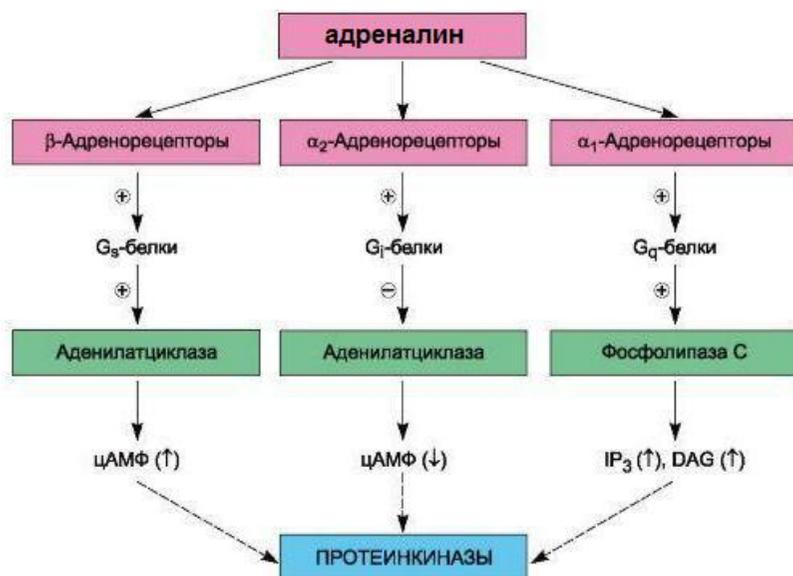
Адренорецепторы делятся на две типа: α и β . Каждый из них имеет по три подтипа, важнейшими из которых являются α_1 ,

α_2 и $\beta_1, \beta_2, \beta_3$. Они имеют разные механизмы трансдукции сигнала.

α_1 -рецепторы используют G_q -белок и активируют фосфолипазно-кальциевый путь.

α_2 -рецепторы через G_i -белок снижают образование цАМФ в аденилатциклазном пути передачи сигнала

β -адренорецепторы с помощью G_s белка увеличивают образование цАМФ



<https://wikidol.com/wiki/Файл:Harkevich51.jpg>

Реакция клеток, тканей и органов на катехоламины определяется спектром, имеющихся там адренорецепторов.

Адреналин выбрасывается в кровь в ответ на стрессорные воздействия или физическую нагрузку, реализуя программу «бей или беги» (fight or flight). Расширяются зрачки, учащается сердечный ритм и дыхание, перераспределяется кровотока в пользу скелетных мышц, мобилизуются источники энергии.

Адреналин – катаболический гормон, влияющий на метаболизм практически всех клеток в организме.

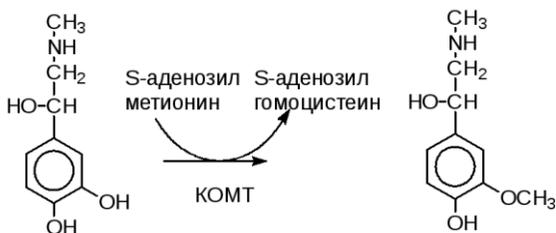
Через $\alpha 1$ -рецепторы усиливается распад и тормозится синтез гликогена в печени и скелетных мышцах, индуцируется глюконеогенез в печени.

Через $\alpha 2$ -рецепторы стимулируется секреция глюкагона и подавляется инсулина.

Через β -адренорецепторы усиливается липолиз в жировой ткани, синтез белка в скелетных мышцах и катаболизм в других тканях, стимулируется гликогенолиз и глюконеогенез в печени.

Время жизни катехоламинов в крови – несколько минут. Инактивация осуществляется двумя путями:

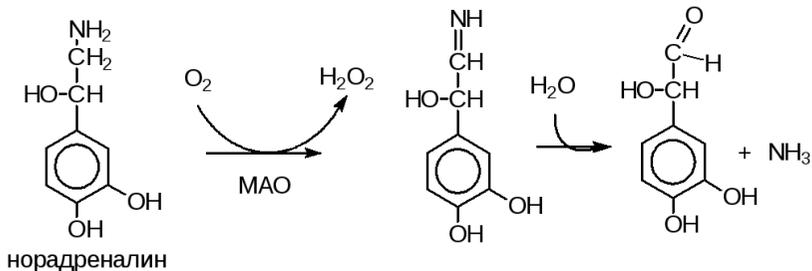
Метилированием с участием катехол-О-метилтрансферазы (КОМТ):



адреналин

метиладреналин

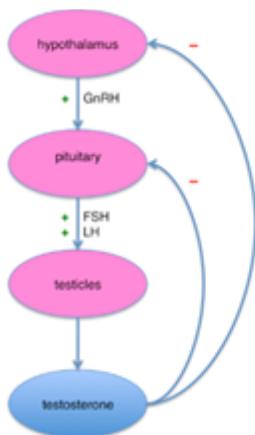
Деаминарованием с участием моноаминооксидазы (MAO)



Половые железы.

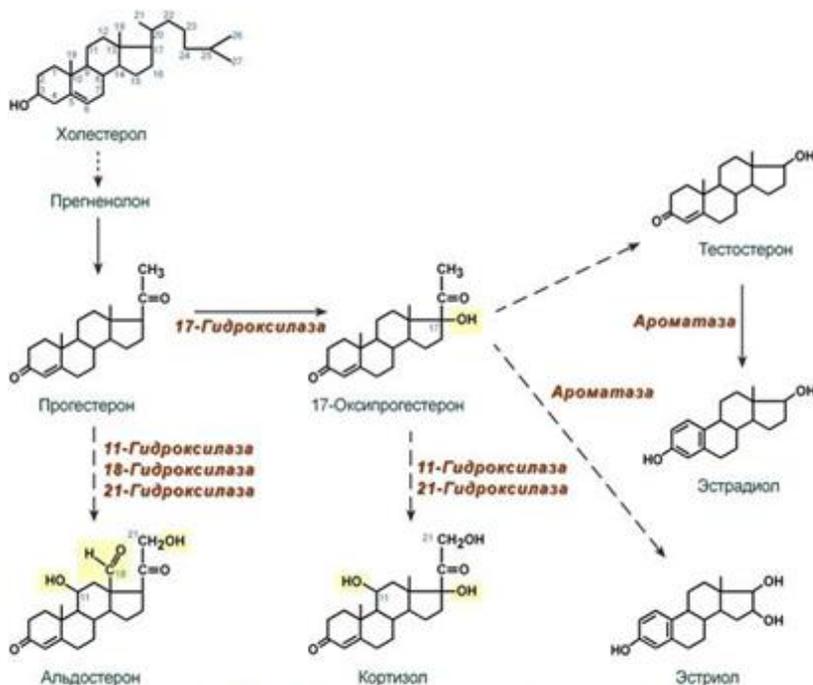
Тестостерон.

Вырабатывается клетками Лейдига в яичках и в меньшем количестве в коре надпочечников и яичниках. Образование стимулируется ЛГ, который увеличивает синтез 17β-гидроксистероид дегидрогеназы. Существует четкая обратная связь между концентрацией тестостерона и продукцией гонадотропинов и гонадолиберинов.



https://enacademic.com/pictures/enwiki/72/'Hypothalamus_pituitary_testicles_axis.png

Синтезируется из холестерина. В митохондриях отщепляется боковая цепь и образуется прегненолон. Остальные реакции протекают в эндоплазматическом ретикулуме. 3 β -гидроксистероид дегидрогеназа окисляет гидроксильную группу в третьем положении, образуя прогестерон. По этому-же пути идет также синтез глюко- и минералокортикоидов в надпочечниках. В яичках 17-гидроксилаза окисляет его в 17-гидроксипрогестерон, а 17,20-лиаза и 17 β -гидроксистероиддегидрогеназа превращают в тестостерон.



<https://biokhimiya.ru/gormony/polovye-gormon.html?start=2>

В крови тестостерон циркулирует в виде главным образом комплекса с секс-стероид-связывающим глобулином. В периферических клетках тестостерон под действием 5 α -редуктазы превращается в дигидротестостерон, биологическая активность которого примерно в 5 раз выше, и взаимодействует с внутриклеточным рецептором. Комплекс гормон-рецептор связывается с

ДНК и регулирует экспрессию генов-мишеней. Имеется мембранный рецептор, функция которого изучена недостаточно.

Инактивируется тестостерон в печени за счет конъюгации с глюкуроновой кислотой, либо химической модификации.

Тестостерон обладает анаболическим и андрогенным действием.

Стимулирует биосинтез белков и нуклеиновых кислот. Увеличивает мышечную массу. Ускоряет рост костей в длину, повышает их прочность.

Начиная со внутриутробного периода обуславливает формирование организма, включая нервную систему, по мужскому типу. Необходим для сперматогенеза. У женщин также участвует в функционировании половой сферы. Избыток может быть причиной заболеваний.

Эстрогены и прогестагены -

женские половые гормоны. Прогестагены – собирательное название половых гормонов, обеспечивающих наступление и развитие беременности. Основной из них – прогестерон. Прогестины - синтетические прогестагены.

Эстрадиол.

Основной женский половой стероид. Формирует организм по женскому типу, участвует в регуляции менструального цикла, поддерживает функционирование половых органов. Фактически выполняет роль гормона роста для органов женской репродуктивной сферы.

Образуется в яичниках из андрогенных предшественников, в том числе из тестостерона, с помощью фермента ароматазы. Во время беременности синтезируется также в плаценте. С наступлением менопаузы синтез эстрогенов в яичниках прекращается.

Действует через ядерные эстрогеновые рецепторы в клетках – мишенях, регулируя транскрипцию определенных генов. Имеются и мембранные рецепторы, опосредующие быстрые эффекты эстрадиола.

Эстрон и эстриол.

Являются слабыми эстрогенами. Эстрон является предшественником эстрадиола, и это, вероятно, его основное предназначение в организме. После наступления менопаузы его концентрация в крови выше, чем у эстрадиола.

Эстриол образуется в значительных количествах в плаценте при беременности. Основным источником стероидных предшественников для его синтеза являются надпочечники плода.

Прогестерон -

главный прогестаген организма человека. Промежуточный продукт в синтезе всех остальных стероидных гормонов.

Действует на уровне транскрипции в комплексе с ядерным прогестероновым рецептором (nPR). Часть эффектов опосредуется мембранными прогестероновыми рецепторами (mPR), обнаруженными во многих тканях, в том числе не имеющих отношения к репродукции. Связывается с альдостероновыми рецепторами MR с афинностью, превышающую таковую у альдостерона, и производит антиминералокортикоидный эффект. Негативный аллостерический модулятор n-холинорецепторов. В мозге превращается в нейроактивные метаболиты - 5 α -дигидропрогестерон и аллопрегнанолон.

Прогестерон называют «гормоном беременности». Совокупность его эффектов приводит к перестройке женских половых органов, необходимой для зачатия, имплантации и развития беременности.

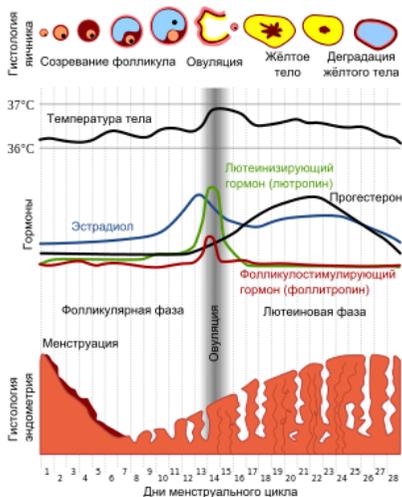
Синтезируется желтым телом яичников. В преовуляторный период концентрация не превышает 2 нг/мл. В лютеиновую фазу менструального цикла она возрастает до величин, превышаю-

щих 10 нг/мл. При наступлении беременности под действием хорионического гонадотропина образование прогестерона резко возрастает. Начиная с 7-9 недели беременности функцию синтеза прогестерона берет на себя плацента и его концентрации достигают 200 нг/мл.

Менструальный цикл.

Циклические изменения в организме женщины, направленные на возможность зачатия. В ходе цикла происходят согласованные изменения уровня половых гормонов.

В фолликулярная фаза характеризуется невысокими уровнями эстрадиола и гонадотропинов. Ближе к овуляции доминирующий фолликул начинает производить увеличенные количества эстрадиола, который по механизму положительной обратной связи стимулирует выработку гонадотропинов. В овуляторную стадию происходит пиковый выброс лютеинизирующего гормона, что наряду со снижением уровня эстрадиола, вызывает овуляцию.



(Приводятся средние значения. Продолжительность цикла может отличаться у разных женщин и быть непостоянной.)

https://ru.wikipedia.org/wiki/Менструальный_цикл

В лютеиновую фазу цикла желтое тело, формирующееся на месте фолликула, синтезирует большие количества прогестерона, готовящего матку к имплантации. Если беременность не наступает, желтое тело атрофируется, уровень образуемых им гормонов падает и эндометрий отторгается.

Гормоны диффузной эндокринной системы.

Гормонообразующие клетки разбросаны по всему организму. Только в нейроэндокринных клетках желудочно-кишечного тракта синтезируется более 20 биологически активных соединений такого плана. Ниже приведено несколько примеров.

Холецистокинин.

Пептид, вырабатываемый I-клетками 12-перстной и начала тощей кишки.

Секретируется в ответ на поступление белка и липидов в 12-перстную кишку. Расслабляет сфинктер Одди и способствует поступлению желчи в кишечник. Стимулирует секрецию сока поджелудочной железы, снижает образование соляной кислоты в желудке.

Помимо этого, действуя на уровне мозга, холецистокинин участвует в регуляции пищевого поведения, формировании чувства сытости и контроле аппетита. Обладает свойствами антидепрессанта, играет роль в патогенезе шизофрении.

Грелин – гормон голода.

Пептидный гормон, синтезируемый в поджелудочной железе, кишечнике, почках, легких, гонадах и других органах. Он формирует чувство голода, увеличивает частоту приемов пищи, стимулирует пищевое поведение. Его концентрация максимальна перед едой и падает после нее. Является регулятором массы тела. Когда человек набирает вес, концентрация грелина падает, когда теряет – растет.

Лептин – гормон насыщения.

Пептид, гормон жировой ткани, участвующий в регуляции массы тела и энергетического обмена.

Действует через рецепторы в гипоталамусе, вызывая снижение аппетита. Стимулирует симпатическую нервную систему, активизируя катаболические процессы в организме. Разобщает процессы дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях жировой ткани, снижая образование АТФ и увеличивая термогенез. При дефиците лептина наступает ожирение.

ВОДНО-СОЛЕВОЙ ОБМЕН.

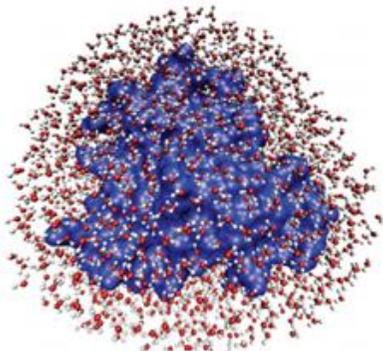
Вода: строение и функции.

В молекуле воды связи кислород – водород расположены под углом $104,7^\circ$. Общие электронные пары смещены в сторону более электроотрицательного кислорода. В силу этого молекула приобретает полярность, и это обуславливает многие из ее свойств.

Вода, как растворитель.

Вода имеет высокую способность к растворению неорганических и многих органических веществ. По способности растворяться в воде все вещества делятся на гидрофильные, гидрофобные и амфифильные. Гидрофобные взаимодействия – важнейший фактор, определяющий образование (фолдинг) и поддержание трехмерной структуры макромолекул. Амфифильность, например, обуславливает способность липидов к формированию двуслойных мембран.

Вода образует гидратные оболочки биологических молекул, поддерживающие их в растворенном состоянии. На поверхности биополимеров имеются заряженные группы, которые ориентируют и удерживают молекулы воды. Это многослойное образование. Гидратная оболочка миоглобина состоит из 1911 молекул воды.



https://www.researchgate.net/figure/The-hydration-shell-of-myoglobin-Mb-Diagram-of-myoglobin-blue-surface-with-1-911_fig3_24146177

Гидратационная вода имеет особые свойства: температура кипения выше ста градусов, замерзания – ниже нуля, другая способность к растворению веществ. Как один из способов очистки белков в биохимии используется высаливание. Добавление к раствору, например, сульфата аммония лишает белки их гидратной оболочки, в результате чего они выпадают в осадок.

Полярность молекулы воды позволяет ей образовывать водородные связи, определяющие ее важнейшие физико-химические свойства: теплоемкость, температуру плавления, кристаллизации, испарения.

Участие в терморегуляции.

Большая теплоемкость воды способствует тому, что процессы, сопровождающиеся образованием тепла, не вызывают локального перегрева. Вода в составе биологических жидкостей перераспределяет тепло по организму. Высокая температура парообразования позволяет удалять избыток тепла за счет потоотделения и испарения с кожи и поверхности органов дыхания.

Формирование структуры макромолекул.

Водородные связи участвуют в стабилизации вторичной и третичной структуры белков и нуклеиновых кислот, катализе и других вариантах комплементарного взаимодействия молекул.

Поддержание структуры клеток.

Вода не сжимается и в силу этого образует гидростатический скелет клетки. Растворенные в ней вещества формируют осмотическое давление и обеспечивают необходимый тургор тканей.

Транспорт.

Оптимальные параметры вязкости обуславливают участие воды в процессах всасывания, транспорта молекул и их выведения. Капиллярный эффект позволяет растениям поднимать раствор минеральных веществ от корня вверх, транспортировать продукты фотосинтеза.

Вода смачивает трущиеся поверхности в суставах, легких (плевра), сердце (перикард).

Вода – участник химических реакций.

Гидролиз – расщепление молекул с участием воды – играет ключевую роль в переваривании питательных веществ. Помимо этого, гидролазы участвуют во многих других метаболических процессах (ренин, тромбин, гиалуронидаза, фосфатазы, уреазы, хеликазы, ГТФ-аза и пр.).

Гидратация и дегидратация – важнейшие реакции многих обменных процессов: цикла Кребса (аконитаза, фумараза), синтеза и окисления жирных кислот (еноил-КоА-гидратаза, гидроксиацилдегидратаза) и пр.

Вода – источник протонов и электронов фотосистем растений, кислорода, выделяющегося в ходе фотосинтеза. Вода – конечный продукт окисления органических веществ.

Баланс воды в организме.

Вода составляет примерно 60% массы тела взрослого человека. 40% приходится на внутриклеточную воду, 20% - внеклеточную. Из внеклеточной воды примерно 4% находится в составе крови, 16% - межклеточной жидкости. Небольшой объем со-

ставляет вода различных полостей – цереброспинальных, плевральных, суставных.

Экзогенная вода поступает с пищей (в среднем 2,5 литра в сутки), эндогенная образуется при окислении питательных веществ (примерно 0,3 литра в сутки). Почки экскретируют 1,5 литра, внепочечное выведение (испарение при дыхании, пот, кал) составляет 1,3 литра.

Водно-солевой обмен.

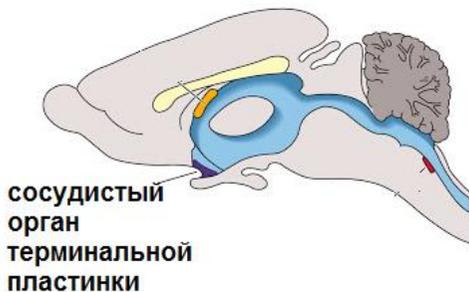
Основным фактором, влияющим на распределение воды между различными компартментами, является концентрация в них солей, прежде всего натрия и калия. Поэтому обмен этих макроэлементов и воды рассматривается отдельно и носит название водно-солевого обмена. Сведения о других химических элементах входят в понятие минерального обмена.

Важнейшие параметры водно-солевого гомеостаза – осмотическое давление и объем вне- и внутриклеточной жидкости. Они могут изменяться вследствие снижения или увеличения потребления воды, соли, потери жидкости организмом, различных заболеваний.

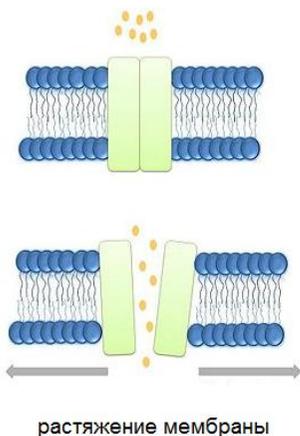
Компенсирующие механизмы включают изменения на уровне потребления жидкости и солей (жажда, солевой аппетит) и выведения их почками. Основным катионом, концентрация которого подвергается коррекции, является натрий. Для оптимизации его концентрации в плазме крови, и соответственно, в межклеточной жидкости используются две стратегии: регуляция выведения самого натрия и регуляция объема воды.

Осмотическая регуляция.

Осмоляльность плазмы крови контролируется центральными осморорецепторами. Они расположены в участке мозга, не имеющем гематоэнцефалического барьера, - в сосудистом органе терминальной пластинки (*organum vasculosum laminae terminalis*)



В мембранах осморцепторных нейронов встроены водяные поры, образованные аквапорином 4. При изменении осмоляльности плазмы крови, через них перемещается вода внутрь клетки либо наружу, в результате чего изменяется ее объем. Мембрана клетки растягивается, либо сжимается, активируя механочувствительные катионные каналы.



Внутрь поступают ионы натрия и калия, вызывая первичную деполяризацию клеточной мембраны. Активируются потенциалзависимые натриевые каналы. Поток внеклеточного натрия усиливает деполяризацию, что приводит к генерации потенциалов действия.

По афферентным волокнам нервные импульсы поступают в центр жажды, изменяя питьевое поведение, и модифицируют выделение антидиуретического гормона задней долей гипофиза.

Аналогично устроены *волюморорецепторы* (рецепторы объема), расположенные в предсердиях, устьях полых вен и легочной вены. Они также относятся к механочувствительным ионным каналам и реагируют на степень растяжения окружающих тканей при изменении объема или давления циркулирующей крови. Их афферентные волокна также участвуют в формировании жажды и регуляции секреции АДГ.

Антидиуретический гормон (вазопрессин).

Через рецепторы V₂ увеличивает число водных каналов, состоящих из аквапорина 2, в клетках собирательных трубочек. Это увеличивает реабсорбцию воды и увеличивает объем жидкости в организме. Более подробно механизм действия описан в разделе биохимии гормонов.

Альдостерон.

Стимулирует реабсорбцию ионов натрия, хлора и уменьшает калия, действуя через альдостероновые рецепторы в клетках дистальных извитых канальцев и собирательных трубочек. Увеличивает синтез Na/K-АТФаз, эпителиальных натриевых каналов, регуляторных белков, ферментов катаболизма, обеспечивающих процесс энергией.

Натрий-калиевые помпы (Na/K-АТФазы) переносят за раз три иона натрия из клетки в интерстициальную жидкость и два иона калия в обратном направлении. Формируется градиент концентрации этих ионов, в результате чего увеличивается поступление натрия в кровь, а калия в мочу.

Одним из сильнейших стимуляторов высвобождения альдостерона является увеличение концентрации калия в крови. Синергично с ним действует ангиотензин II – компонент ренин-ангиотензиновой системы.

Предсердный натрийуретический пептид (ПНУП).

Основной гормон из девяти аналогичных пептидов, обнаруженных в организме человека. Вырабатывается кардиомиоцитами в ответ на увеличение объема циркулирующей крови. В мембранах этих клеток имеются волюморепторы, реагирующие на растяжение ткани, вызванное повышением кровяного давления. Их импульсация активирует синтез и выделение гормона.

Аналогичный эффект вызывают симпатические нервные волокна. Повышение концентрации ионов натрия в крови увеличивает выделение гормона опосредованно.

ПНУП синтезируется в виде препрогормона. Первый этап созревания осуществляется в клетке и приводит к образованию прогормона. Он накапливается в секреторных гранулах и выделяется в ответ на стимулирующие воздействия. Образование зрелого гормона происходит уже на поверхности кардиомиоцита. Трансмембранная сериновая протеаза корин укорачивает его со 151 до 26 аминокислотных остатков.

Мембранный рецептор соединен с гуанилатциклазой. ПНУП снижает реабсорбцию натрия за счет цГМФ-зависимого фосфорилирования эпителиального натриевого канала (ENaC) и Na/K-АТФ-азы в клетках нефрона. Угнетает секрецию ренина, предотвращая таким образом синтез ангиотензина II и высвобождение альдостерона. Противостоит почечным эффектам симпатической нервной системы.

Ренин-ангиотензиновая система.

Регулирует кровяное давление и объем циркулирующей крови. Ключевым компонентом является ренин – протеаза, синтезируемая в клетках юкстагломерулярного аппарата почки.

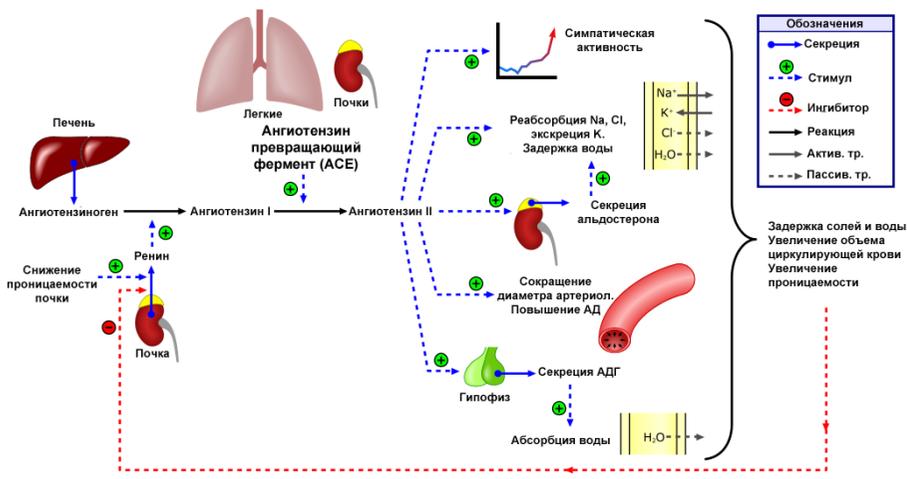


<https://en.ppt-online.org/353911>

Сначала синтезируется препроренин, который укорачивается, претерпевает посттрансляционные модификации и превращается в проренин. Уже в секреторных гранулах отщепляется еще 43 остатка и образуется ренин. Выделение его в кровь стимулируется при понижении кровяного давления в приносящей артериоле, снижении уровня NaCl в дистальном отделе нефрона, симпатическими влияниями через β_1 -адренорецепторы. Концентрация NaCl контролируется клетками плотного пятна (macula densa). При уменьшении его концентрации, они выделяют простагландины и таким образом стимулируют секрецию ренина.

Ренин превращает ангиотензиноген, синтезируемый печенью, в ангиотензин I – пептид, состоящий из 10 аминокислот (Ang-1-10), и не обладающий биологической активностью. В эндотелии капилляров легких ангиотензин I укорачивается еще на две аминокислоты и превращается в ангиотензин II (Ang-1-8). Реакцию катализирует сериновая протеаза – ангиотензин-превращающий фермент (АПФ).

Ангиотензин II оказывает множественные эффекты на организм через четыре типа рецепторов. В рамках водно-солевого обмена наибольший интерес представляет его действие на почки. Во-первых, он реализует обратную связь и регулирует высвобождение ренина, и, во-вторых, увеличивает реабсорбцию натрия. Помимо, этого ангиотензин II стимулирует образование альдостерона и влияет на функцию центра жажды.



<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=64197445>

Как следует из названия данного пептида, он оказывает также мощное сосудосуживающее действие. Результатом действия этой системы является задержка натрия и воды и увеличение кровяного давления.

Ниже приведена схема взаимодействия систем, регулирующих водно-солевой баланс, направленная на восстановление объема циркулирующей крови.



Минеральный обмен.

Минералы, присутствующие в теле человека и животных, делятся на две группы: биологически-значимые элементы и инертные, попадающие в организм из окружающей среды, но не участвующие в обеспечении нормальной жизнедеятельности.

Если содержание минерала превышает 0,01% массы тела его считают макроэлементом, если менее – микроэлементом. К первой группе относятся:

Калий — 0,35 %

Кальций — 2 %

Магний — 0,05 %

Натрий — 0,15 %

Сера — 0,25 %

Фосфор — 1,1 %

Хлор — 0,15 %

К микроэлементам относятся: железо, цинк, бром, йод, кобальт, марганец, медь, селен, фтор и еще более двух десятков химических элементов. Ниже приведены сведения о некоторых из них в произвольном порядке.

Натрий и калий.

Помимо участия в регуляции водно-солевого гомеостаза, оба иона принимают участие в формировании трансмембранного потенциала.

Концентрация ионов натрия и калия по обе стороны мембраны отличается на порядок (https://ru.wikipedia.org/wiki/Потенциал_покоя).

Ионы	Концентрация в саркоплазме (ммоль/л)	Концентрация вне клетки (ммоль/л)
K ⁺	140	2,5
Na ⁺	10	120

Cl ⁻	3-4	120
Ca ²⁺	<0,001	2
A ⁻ (полипептиды)	140	0

Эта разница обусловлена двумя факторами. Во-первых, работой Na/K-АТФазы, которая используя энергию АТФ обменивает три иона натрия, выведенные наружу, на два иона калия, переносимые внутрь. За счет этого формируется разность потенциалов между обеими сторонами мембраны порядка 10 мВ. Во-вторых, работой калиевых каналов постоянного тока. Ионы калия выходят наружу по градиенту концентрации. Для отрицательно заряженных анионов мембрана не проницаема, поэтому на внешней стороне мембраны формируется излишний положительный заряд. В какой-то момент он уравнивает стремление ионов калия выйти наружу по градиенту концентрации и устанавливается динамическое равновесие – потенциал покоя. Он составляет у разных возбудимых клеток величину порядка 55-100 мВ.

При действии различных возбудителей в мембране могут открываться ионные каналы, которые изменяют распределение ионов по обе ее стороны. Разность потенциалов изменяет свою величину, - возникает потенциал действия, который вызывает такие биологические явления, как нервный импульс, сокращение мышц, секреция биологически-активных веществ или восприятие сенсорной информации (свет, вкус, запах, тактильные ощущения и пр.).

Метаболизм железа

В организме взрослого человека примерно 4 грамма железа. Оно содержится в гемоглобине (68%), ферритине (27%), миоглобине (4%), трансферине (1%). Железо в составе гема (гемовое) помимо гемоглобина и миоглобина присутствует также в цитохромах, каталазе, пероксидазах. Железо присутствует в составе

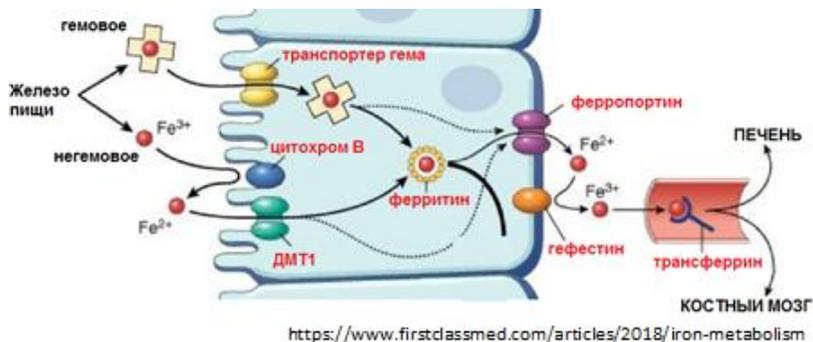
железосерных кластеров – в сукцинатдегидрогеназе, аконитазе, НАДН-дегидрогеназе, цитохроме bc1. Всего идентифицировано более 20 белков, имеющих в своем составе железо.

Гемовое железо усваивается лучше (15 – 35%). Поэтому мясная пища, где оно преобладает, предпочтительна для устранения дефицита железа в организме. Всасыванию негемового железа из растительной пищи препятствуют антипитательные вещества: танины, фитаты, оксалаты, кофеин. Например, всасывание железа из бобовых из-за фитатов не превышает одного процента.

Всасывание, транспорт и депонирование железа в организме осуществляется с участием большой группы специализированных белков.

С участием пищевых восстановителей, например, аскорбиновой кислоты, или ферментов ферриредуктаз (ферроксидаз) на поверхности энтероцитов трехвалентное железо восстанавливается до двухвалентного. Последнее переносится внутрь клетки с помощью транспортера двухвалентных металлов DMT1 (divalent metal transporter). Другой переносчик – ферропортин – осуществляет транспорт железа за пределы клетки, где оно окисляется до трехвалентного с участием белка гепестина, присоединяется к трансферрину и поступает в кровь. Ферропортин удаляет железо, также, из других клеток: макрофагов, гепатоцитов и пр. Это единственный такого рода транспортер в организме. Его функция контролируется с помощью специального пептида-гепсидина, который необратимо связывается с ферропортином и блокирует выведение железа из клетки.

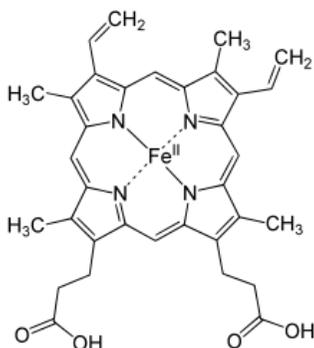
В плазме крови двухвалентное железо, выведенное из клеток ферропортином, окисляется до трехвалентного с помощью церулоплазмينا.



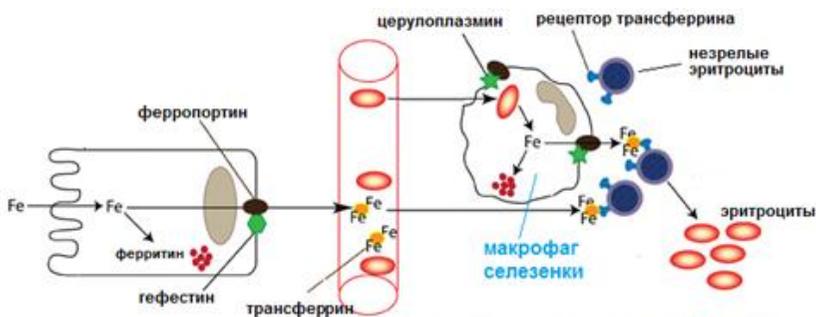
Трансферрин – транспортный белок, способный связывать 2 иона железа. Он циркулирует в крови и захватывается клетками с участием трансферриновых рецепторов. После присоединения комплекс интернализуется (втягивается внутрь клетки в составе мембранного пузырька). Протонные насосы снижают внутри рН, железо освобождается, рецептор возвращается на поверхность.

Железо депонируется в организме в составе белка ферритина. Он присутствует в цитоплазме всех клеток, но больше всего его в печени, которая обеспечивает при необходимости железом все остальные органы и ткани. Ферритин - глобулярный белковый комплекс, состоящий из 24 субъединиц, способный связывать 4-4,5 тысячи атомов железа в растворимой гидроксифосфатной форме. Железо находится внутри молекулы, белок покрывает его снаружи. Свободные ионы железа токсичны для организма, так как могут быть источником электронов для образования активных форм кислорода и провоцировать свободно-радикальные процессы. Ферритин позволяет хранить железо в растворимой, но не токсичной для организма форме.

Основным потребителем железа является костный мозг, который использует его для синтеза гема (на рисунке ниже).



В составе гемоглобина эритроцитов железо циркулирует в крови 3-4 месяца. Далее специализированные макрофаги селезенки и печени захватывают состарившиеся эритроциты и высвобождают железо. Ферропортин выводит его наружу, где оно связывается с трансферрином и пополняет в общий пул железа в организме. Ежедневно требуется 20-30 мг железа для эритропоэза и только 1-2 мг из этого количества поступает из пищи.



<http://eclinpath.com/chemistry/iron-metabolism/print/>

При дефиците железа развивается анемия (малокровие) – состояние, при котором снижается количество эритроцитов и (или) содержание в них гемоглобина.

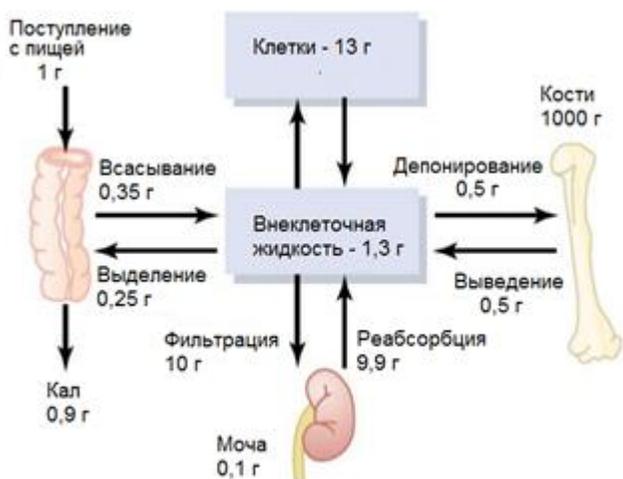
Метаболизм кальция.

Кальция - важнейший структурный и регуляторный элемент. Помимо формирования костного матрикса, он участвует в очень многих процессах, среди которых передача нервного им-

пульса, секреторная активность, дифференцировка и гибель клеток, мышечное сокращение, свертывание крови, реализация иммунного ответа и пр.

В теле взрослого человека содержится около килограмма кальция. 99% т этого количества находится в костях в виде гидроксиапатита ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Костный пул кальция является источником для поддержания его концентрации в плазме крови. Выведение осуществляется в ходе процесса ремоделирования костной ткани.

Движение кальция в организме можно проследить по рисунку.



http://ksumsc.com/download_center/Archive/2nd/434/3-Endocrine%20Block/Teams/Physiology/7-Calcium%20Homeostasis.pdf

Всасывание кальция осуществляется по двум механизмам. В 12-перстной кишке осуществляется активный транспорт с участием ионных каналов TRPV6. Внутри клетки кальций связывается с белком кальбиндином (витамин D-зависимый кальций связывающий белок), который транспортирует его по каналам эндоплазматического ретикулаума без контакта с цитозолем. В межклеточную жидкость кальций переносится Ca^{2+} -АТФазой.

При высокой концентрации кальция в пище, он может диффундировать внутрь клетки пассивно по градиенту концентрации. Этот процесс протекает по всей поверхности тонкого кишечника и не регулируется.

В плазме крови 35-50% кальция связано с белками, преимущественно с альбумином. 5-10% присутствует в виде солей органических кислот и фосфатов. Остальные 50-60% составляет ионизированный кальций. Именно его концентрация в крови (1,3-1,5 мМ) подвержена строгой регуляции.

Концентрация кальция внутри клетки в 7000 раз меньше, чем снаружи (0,2 мкМ против 1,4 мМ). Даже кратковременное открытие кальциевых каналов существенно повышает его внутриклеточную концентрацию. Той же цели служит депо ионов в эндоплазматическом ретикулуме. Увеличение уровня кальция в цитоплазме активирует в клетке сигнальный каскад, опосредующий действие гормонов (инсулин), нейромедиаторов (ацетилхолин), вызывает мышечное сокращение и т.д.

Кальций непосредственно может изменять активность многих белков. Он обладает способностью связываться со свободными карбоксильными группами в их составе, что приводит к изменению их конформации и биологической активности. По этому механизму кальций участвует в свертывании крови.

Помимо этого, в цитоплазме присутствуют кальций-связывающие белки, которые опосредуют его активность. В мышечной ткани это, например, тропонин С, который в отсутствие ионов кальция блокирует связывание миозина с актином, предотвращая мышечное сокращение. Или присутствующий в цитоплазме всех эукариотических клеток белок кальмодулин. После присоединения четырех ионов кальция он встраивается в более, чем сорок различных ферментов, регулируя их функцию.

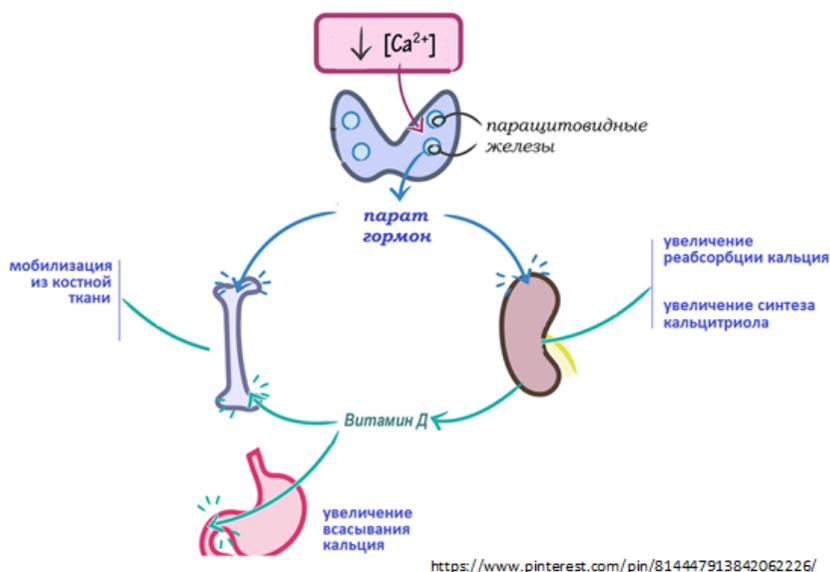
Регуляция уровня кальция в крови.

Осуществляется с помощью кальцитонина, паратгормона и кальцитриола.

Секреция кальцитонина возрастает при увеличении концентрации кальция в крови и способствует депонированию его в костной ткани. Антагонистом кальцитонина является паратгормон. Его действие противоположно.

Кальцитонин подавляет активность остеокластов и мобилизацию кальция из костей. Увеличивает экскрецию этого иона с мочой. Одновременно паратгормон снижает выведение фосфатов почками, что приводит к связыванию кальция плазмы крови в виде нерастворимых фосфорнокислых солей и уменьшению концентрации его активной ионизированной формы.

Паратгормон уменьшает образование кальцитриола (активного метаболита витамина D) в почках. Это приводит к снижению синтеза кальбиндина и всасывания кальция в кишечнике.



Следствием дефицита кальция являются такая патология, как рахит, остеопороз. Избыточные дозы кальция и витамина D могут приводить к гиперкальциемии.

Магний

Третий по количеству минерал. В организме человека содержится порядка 70 г, 60% из которых находится в костной ткани.

Участвует в качестве кофактора в более чем 300 реакциях, в том числе в гликолизе, цикле Кребса и β -окислении. Нуклеозидтрифосфаты включая АТФ проявляют активность только в комплексе с магнием. Соответственно, это затрагивает множество реакций с их участием.

Связываясь с отрицательно заряженными фосфатными группами, магний поддерживает пространственную структуру нуклеиновых кислот и хроматина в целом.

У растений входит в состав хлорофилла и принимает участие в фотосинтезе.

Недостаток магния в организме чреват множеством нарушений, включая сердечно-сосудистую патологию.

Медь

В плазме крови поддерживается постоянный уровень этого микроэлемента, благодаря сложным механизмам всасывания, транспорта, выведения и депонирования. В крови 95% связано с церулоплазмином – ферментом, обладающим оксидазной активностью. Каждая молекула белка связывает шесть атомов меди, из-за чего он имеет голубую окраску.

Благодаря переменной валентности (Cu^{2+} и Cu^{1+}) медь участвует в окислительно-восстановительных превращениях и входит в состав более десятка ферментов.

Церулоплазмин – окисляет фенолы и полиамины, а также Fe^{2+} в Fe^{3+} , участвуя таким образом в гомеостазе железа.

Супероксиддисмутаза – вне- и внутриклеточный фермент разрушающий супероксид, компонент антиоксидантной системы организма.

Цитохромоксидаза – участник цепи переноса электронов в митохондриях.

Дофамин-β-гидроксилаза - фермент, превращающий дофамин в норадреналин.

Тирозиназа – фермент, катализирующий превращение тирозина в диоксифенилаланин, - предшественник всех катехоламинов, и диоксифениланина в дофахром – ключевой промежуточный продукт в синтезе меланинов.

Лизилоксидаза – внеклеточный фермент, участвующий в созревании коллагена и эластина. Окисляет свободные аминокислотные группы лизина в составе этих белков, превращая их в альдегидные. Далее они спонтанно реагируют друг с другом или аминокислотными группами, образуя поперечные сшивки в молекулах белков, что стабилизирует их структуру.

Марганец

Входит в состав ферментов всех шести классов. Наиболее известными металлопротеинами, содержащими марганец, являются:

Митохондриальная супероксиддисмутаза.

Аргиназа – фермент цикла мочевины.

Обратная транскриптаза некоторых вирусов - фермент, синтезирующий ДНК на матрице РНК.

Водоокисляющий комплекс фотосистемы II содержит четыре атома марганца с разной степенью окисления.

Цинк

Примерно 10% всех белков организма (примерно 2800) обладают способностью связывать цинк. Среди них более трехсот ферментов всех шести классов. В составе цинковых пальцев входит в состав нуклеаз и сотен факторов транскрипции.

Из ферментов можно упомянуть алкогольдегидрогеназу, карбоксипептидазу, карбоангидразу.

Концентрация цинка в организме поддерживается за счет координации процессов всасывания и выведения через кишечник.

Селен

В виде селеноцистеина и селенометионина (у растений) входит в состав некоторых ферментов. У человека и животных селеноцистеин присутствует в глутатионпероксидазе – одном из ферментов антиоксидантной защиты; йодотиронин-деиодиназе – синтезирующей трийодиронин из тироксина и дейодирующей Т3 и Т4.

Йод

Йод поступает в организм в основном с водой и растительной пищей. Всасывается в тонком кишечнике в форме йодидов и транспортируется в крови в слабо связанном с белками виде. С участием натрий-йодного симпортера поглощается фолликулярными клетками щитовидной железы. В ней содержится 80% всего йода, присутствующего в организме. Выводится на две трети с мочой.

Используется для синтеза гормонов щитовидной железы.

Поскольку основные запасы йода на планете находятся в морской воде, почвы территорий, удаленных от побережья, часто дефицитны по йоду. Это обуславливает необходимость йодирования продуктов для профилактики заболеваний, связанных с недостаточностью данного микроэлемента.

Фтор.

Содержится преимущественно в эмали зубов в форме фторапатита $\text{Ca}_5\text{F}(\text{PO}_4)_3$. Для здоровья зубов вреден как недостаток фтора, поскольку приводит к уменьшению прочности эмали и

провоцирует развитие кариеса, так и избыток, вызывающий ее потемнение (флуороз).

Хлор

Содержится в организме человека в количестве 50-60 г в форме хлоридов. Совместно с ионами калия и натрия участвует в водно-солевом обмене, поддержании осмотического и кислотно-основного равновесия в организме, стабилизации мембранного потенциала. Необходим для синтеза соляной кислоты в желудке. Ионы хлора стимулируют амилазу, что является редким примером, когда фермент нуждается не в катионе, а анионе для проявления активности.

Фосфор.

Биологическая роль фосфора определяется его присутствием в виде фосфата в структуре нуклеотидов, нуклеиновых кислот, коферментов, фосфолипидов, фосфопротеинов. В составе апатита и фторапатита входит в состав костей и эмали. Фосфатный буфер – один из факторов, поддерживающих кислотно-основное равновесие в организме.

Сера.

Входит в состав цистеина, метионина и, соответственно, практически всех белков в организме. Участвует в формировании третичной структуры белков (дисульфидные мостики). Присутствует в тиамине, биотине, липоевой кислоте, коферменте А, глутатионе и пр. В форме сульфата используется для обезвреживания токсичных метаболитов и ксенобиотиков.

Выводится в форме сульфатов с мочой.

Кобальт.

Входит в состав витамина В12.

ЛИТЕРАТУРА

1. Северин, Е.С. Биологическая химия с упражнениями и задачами: учебное пособие/ Е.С. Северин. – М.: ГЭОТАР-МЕД: 2011. - 624с.
2. Березов, Т.Т. Биологическая химия: учебное пособие/ Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. - М.: Медицина: 1998. - 704с.
3. Овчинников, Ю.А. Биоорганическая химия: учебное пособие/ Ю.А. Овчинников. - М.: Просвещение: 1987. - 815с.
4. Nelson, D.L. Lehninger Principles of biochemistry/ D.L. Nelson, М.М. Cox. — New York: W. H. Freeman and company: 2008. — p.1158.
5. Biokhimija.ru [Electronic resource]. – Mode of access: <https://biokhimija.ru>. – Date of access: 2019-2020.
6. Лелевич, В.В. Биологическая химия/ В.В. Лелевич. - [Электронный ресурс]. – Mode of access: <https://bio.wikireading.ru/7741>. – Date of access: 2019-2020.
7. Wikipedia.org [Electronic resource]. – Mode of access: <https://en.wikipedia.org>. – Date of access: 2019-2020.
8. Wikipedia.org [Electronic resource]. – Mode of access: <https://ru.wikipedia.org>. – Date of access: 2019-2020.
9. Wikimedia.org [Electronic resource]. – Mode of access: <https://commons.wikimedia.org>. – Date of access: 2019-2020.

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр
Введение	3
Биохимия, как наука. История биохимии. Общая характеристика обмена веществ.	3
Статическая биохимия	7
Углеводы	7
Липиды	29
Аминокислоты	46
Белки	59
Нуклеотиды и нуклеиновые кислоты	74
Витамины	90
Ферменты	133
Динамическая и функциональная биохимия	171
Общая характеристика обмена веществ и энергии	171
Обмен углеводов.	176
Гликолиз	182
Взаимопревращения сахаров	195
Глюконеогенез	196
Пентозофосфатный цикл	202
Цикл Кальвина	206
Синтез и распад гликогена	209
Терминальное окисление	214
Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты	214
Цикл Кребса	217
Тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование	226
Брожение	239
Обмен липидов	244
Липолиз. Мобилизация жира из депо	255
Окисление жирных кислот	257
Биосинтез липидов	265
Перекисное окисление липидов	276
Обмен белков и аминокислот	285
Промежуточный обмен аминокислот	289

Обезвреживание аммиака	295
Декарбоксилирование аминокислот	302
Метаболизм углеродного скелета аминокислот	305
Азотистый баланс	314
Обмен нуклеиновых кислот и нуклеотидов	317
Матричные синтезы	324
Репликация (синтез ДНК)	324
Транскрипция (синтез РНК)	328
Трансляция (синтез белка)	336
ДНК-технологии	345
Эндокринная регуляция обмена веществ	351
Механизм действия гормонов	354
Основные гормоны	368
Водно-солевой обмен	393
Литература	414

Учебное издание

Хоха Александр Михайлович

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ.

Учебно-методическое пособие
для студентов инженерно-технологического факультета

Ст. корректор

Компьютерная верстка: А.М. Хоха

Подписано к печати .2020.
Формат 60x84/16. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс.
Печать Riso. Усл. печ. л. Уч.-изд.л.
Тираж экз. Заказ №

Учреждение образования
«Гродненский государственный аграрный университет»

230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28.

Отпечатано на технике издательско-полиграфического отдела
Учреждения образования «Гродненский государственный
аграрный университет».
230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28.