

Ю.І. ГУБСЬКИЙ

БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ

*Допущено Міністерством
охорони здоров'я України
як підручник для студентів вищих
медичних навчальних закладів освіти
III-IV рівнів акредитації*

Київ-Тернопіль
«Укрмедкнига»
2 0 0 0

ББК 28072я73

Г93

УДК 612.015(075.8)+577.1(075.8)

Губський Ю.І. — д.м.н., професор, член-кореспондент АМН України, заслужений діяч науки і техніки України, завідувач кафедри біоорганічної, біологічної та фармацевтичної хімії Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця.

Рецензенти: член-кор. НАН України, д.б.н., проф., лауреат Державної премії України **М.Є.Кучеренко** (Київський університет ім. Т.Г.Шевченка); д.м.н., проф., лауреат премії ім. О.В.Паладіна **Ю.В.Хмелевський** (Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця); д.б.н., проф., лауреат Державної премії України **М.Д.Курський** (Інститут біохімії НАН України).

Допущено Міністерством охорони здоров'я України як підручник для студентів вищих медичних навчальних закладів освіти III-IV рівнів акредитації (лист МОЗ України № 1.01/5 від 11.02.2000).

Губський Ю.І.

Г93 **Біологічна хімія:** Підручник.— Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 2000.—508 с.
ISBN 966-7364-41-0

В підручнику викладений курс біологічної хімії відповідно до програми для студентів вищих медичних навчальних закладів: розглянуті структура та ферментативні реакції перетворення основних класів біомолекул — білків, амінокислот, вуглеводів, ліпідів, вітамінів, нуклеотидів, інформаційних нуклеїнових кислот. Висвітлені питання молекулярної біології та генетики, біохімічні основи фізіологічних функцій організму людини та їх нейрогормональної регуляції, молекулярні механізми виникнення найбільш поширених патологічних процесів (атеросклерозу, цукрового діабету, ожиріння) та спадкових ензимопатій. Значну увагу приділено молекулярним механізмам функціонування клітин крові, печінки, м'язів, імунної, нервової системи, ензимодіагностиці та біохімічним засадам фармакотерапії порушень обміну речовин.

Підручник може бути також використаний аспірантами, спеціалістами та науковцями, що працюють в галузі загальної і медичної біохімії, фармакології, мікробіології та інших біомедичних наук.

ББК 28072я73

УДК 612.015(075.8)+577.1(075.8)

ISBN 966-7364-41-0

© Ю.І.Губський, 2000

ЗМІСТ

ПЕРЕРЕДМОВА	7
ВСТУП. БІОХІМІЯ ЯК НАУКА	9
РОЗДІЛ I. БІОМОЛЕКУЛИ ТА КЛІТИННІ СТРУКТУРИ	12
ГЛАВА 1. БІОХІМІЧНІ КОМПОНЕНТИ КЛІТИН	12
ГЛАВА 2. БІЛКИ І ПЕПТИДИ	18
2.1. Біологічні функції білків і пептидів	18
2.2. Будова й амінокислотний склад білків і пептидів	19
2.3. Рівні структурної організації білкових молекул	26
2.4. Фізико-хімічні властивості білків	33
2.5. Методи виділення та аналізу білків і пептидів	36
ГЛАВА 3. НУКЛЕЙНОВІ КИСЛОТИ. НУКЛЕОТИДИ	41
3.1. Нуклеотиди: структура, біохімічні функції	41
3.2. Нуклеїнові кислоти: структура, властивості	44
3.3. Будова, властивості та біологічні функції ДНК	45
3.4. Будова, властивості й біологічні функції РНК	52
3.5. Молекулярна організація ядерного хроматину і рибосом	55
ГЛАВА 4. ВУГЛЕВОДИ ТА ЇХ ПОХІДНІ	57
4.1. Моносахариди та їх похідні	57
4.2. Складні вуглеводи. Олігосахариди. Гомополісахариди	61
4.3. Гетерополісахариди. Протеоглікани. Глікопротеїни	65
4.4. Пептидоглікани клітинної стінки мікроорганізмів	69
ГЛАВА 5. ЛІПІДИ. БІОМЕМБРАНИ	72
5.1. Загальна характеристика ліпідів. Жирні кислоти	72
5.2. Структура та функції ліпідів	73
5.3. Біологічні мембрани	78
РОЗДІЛ II. ЗАГАЛЬНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ	86
ГЛАВА 6. ФЕРМЕНТИ. I. СТРУКТУРА, ВЛАСТИВОСТІ	86
6.1. Властивості ферментів як біологічних каталізаторів	86
6.2. Номенклатура та класифікація ферментів	88
6.3. Хімічна структура ферментів. Коферменти	89
ГЛАВА 7. ФЕРМЕНТИ. II. МЕХАНІЗМИ КАТАЛІЗУ. КІНЕТИКА. РЕГУЛЯЦІЯ	98
7.1. Механізми дії ферментів	98
7.2. Кінетика ферментативних реакцій. Інгібітори ферментів	103
7.3. Регуляція ферментативних процесів. Ензимопатії	108
ГЛАВА 8. ОБМІН РЕЧОВИН: КАТАБОЛІЗМ, АНАБОЛІЗМ	115
8.1. Загальні закономірності обміну речовин	115
8.2. Методи вивчення обміну речовин	118
8.3. Стадії катаболізму біомолекул	120
ГЛАВА 9. БІОЕНЕРГЕТИЧНІ ПРОЦЕСИ: ТРАНСПОРТ ЕЛЕКТРОНІВ; ОКИСНЕ ФОСФОРИЛЮВАННЯ В МІТОХОНДРІЯХ	122
9.1. Реакції біологічного окислення	122
9.2. Ферменти біологічного окислення	125
9.3. Молекулярна організація ланцюга біологічного окислення в мітохондріях	127
9.4. Окисне фосфорилування та АТФ-синтаза мітохондрій	130
9.5. Інгібітори електронного транспорту та окисного фосфорилування в мітохондріях	134

ГЛАВА 10. ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ	137
10.1. Загальна характеристика циклу трикарбонних кислот	137
10.2. Ферментативні реакції циклу трикарбонних кислот	138
10.3. Енергетичний баланс циклу трикарбонних кислот	140
10.4. Анаплеротичні й амфіболічні реакції	142
РОЗДІЛ III. МЕТАБОЛІЗМ ОСНОВНИХ КЛАСІВ БІОМОЛЕКУЛ	143
ГЛАВА 11. МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ. I. АЕРОБНЕ ТА АНАЕРОБНЕ ОКИСЛЕННЯ ГЛЮКОЗИ	143
11.1. Шляхи внутрішньоклітинного катаболізму моносахаридів	143
11.2. Аеробне окислення глюкози	144
11.3. Гліколіз: реакції, енергетика, регуляція	146
11.4. Енергетика гліколізу й аеробного окислення глюкози	154
ГЛАВА 12. МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ. II. АЛЬТЕРНАТИВНІ ШЛЯХИ ОБМІНУ МОНОСАХАРИДІВ. РЕГУЛЯЦІЯ ОБМІНУ ГЛЮКОЗИ	156
12.1. Пентозофосфатний шлях метаболізму глюкози	156
12.2. Метаболізм фруктози та галактози	163
12.3. Біосинтез глюкози та його регуляція	166
12.4. Регуляція обміну глюкози. Цукровий діабет	172
ГЛАВА 13. МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ. III. ОБМІН ГЛІКОГЕНУ ТА ГЛІКОКОН'ЮГАТІВ	176
13.1. Біосинтез та розщеплення глікогену	176
13.2. Регуляція глікогенолізу та глікогенезу	179
13.3. Генетичні порушення метаболізму глікогену	184
13.4. Метаболізм вуглеводних компонентів глікокон'югатів	185
13.5. Глікозидози. Генетичні порушення метаболізму глікозамінгліканів	188
ГЛАВА 14. МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ. I. КАТАБОЛІЗМ ТРИАЦИЛГЛІЦЕРОЛІВ ТА ЖИРНИХ КИСЛОТ	190
14.1. Шляхи метаболізму ліпідів	190
14.2. Катаболізм триацилгліцеролів	190
14.3. Окислення жирних кислот та гліцеролу	194
14.4. Біосинтез та катаболізм кетонів тїл	197
ГЛАВА 15. МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ. II. БІОСИНТЕЗ ТРИАЦИЛГЛІЦЕРОЛІВ І СКЛАДНИХ ЛІПІДІВ	201
15.1. Біосинтез вищих жирних кислот	201
15.2. Біосинтез триацилгліцеролів	209
15.3. Біосинтез фосфогліцеридів	211
15.4. Метаболізм сфінголіпідів. Сфінголіпідози	213
ГЛАВА 16. МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ. III. ОБМІН ХОЛЕСТЕРИНУ. ТРАНСПОРТ ЛІПІДІВ	217
16.1. Біосинтез холестерину	217
16.2. Біотрансформація холестерину	220
16.3. Транспорт та депонування ліпідів. Ліпопротеїни плазми. Гіперліпопротеїнемії	224
16.4. Патологія ліпідного обміну: атеросклероз, ожиріння, цукровий діабет	230
ГЛАВА 17. МЕТАБОЛІЗМ АМІНОКИСЛОТ. I. ЗАГАЛЬНІ ШЛЯХИ ПЕРЕТВОРЕННЯ	234
17.1. Шляхи перетворення амінокислот у тканинах	234
17.2. Трансамінування амінокислот	236
17.3. Дезамінування амінокислот	239
17.3. Декарбоксілювання амінокислот	240
17.4. Обмін аміаку. Біосинтез сечовини	242

ГЛАВА 18. МЕТАБОЛІЗМ АМІНОКИСЛОТ. II. СПЕЦІАЛІЗОВАНІ ШЛЯХИ ОБМІНУ ...	248
18.1. Шляхи метаболізму безазотистого скелета амінокислот. Глюкогенні та кетогенні амінокислоти	248
18.2. Спеціалізовані шляхи обміну ациклічних амінокислот	250
18.3. Спеціалізовані шляхи обміну циклічних амінокислот	260
18.4. Метаболізм порфіринів	263
РОЗДІЛ IV. МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ СПАДКОВОСТІ ТА РЕАЛІЗАЦІЇ ГЕНЕТИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ	270
ГЛАВА 19. БІОСИНТЕЗ НУКЛЕОТИДІВ	270
19.1. Біосинтез пуринових нуклеотидів	270
19.2. Біосинтез піримідинових нуклеотидів	275
19.3. Біосинтез дезоксирибонуклеотидів	277
19.4. Катаболізм нуклеотидів	281
ГЛАВА 20. МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ РЕПЛІКАЦІЇ ДНК ТА ТРАНСКРИПЦІЇ РНК	284
20.1. Біологічне значення реплікації ДНК. Напівконсервативний механізм реплікації	284
20.2. Ферменти реплікації ДНК у прокаріотів та еукаріотів	286
20.3. Молекулярні механізми реплікації ДНК	289
20.4. Ферменти та механізми транскрипції РНК	292
ГЛАВА 21. БІОСИНТЕЗ БІЛКІВ У РИБОСОМАХ	300
21.1. Генетичний код та його властивості	300
21.2. Рибосомальна білоксинтезуюча система	302
21.3. Етапи та механізми трансляції	304
21.4. Регуляція трансляції. Антибіотики — інгібітори трансляції	307
ГЛАВА 22. РЕГУЛЯЦІЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ. ГЕНЕТИЧНІ РЕКОМБІНАЦІЇ	310
22.1. Регуляція експресії генів у прокаріотів	310
22.2. Особливості молекулярної організації та експресії геному в еукаріотів	313
22.3. Молекулярні механізми мутацій. Репарація ДНК	322
22.4. Генна інженерія. Рекombінантні ДНК	326
РОЗДІЛ V. ГОРМОНИ В СИСТЕМІ МІЖКЛІТИННОЇ ІНТЕГРАЦІЇ ФУНКЦІЙ ОРГАНІЗМУ	330
ГЛАВА 23. ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ ТА БІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ КЛІТИНИ. I. БІОХІМІЧНІ СИСТЕМИ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОЇ ТРАНСДУКЦІЇ ГОРМОНАЛЬНИХ СИГНАЛІВ	330
23.1. Гормони та біорегулятори: визначення, класифікація	330
23.2. Молекулярно-клітинні механізми дії пептидних гормонів та біогенних амінів	332
23.3. Молекулярно-клітинні механізми дії стероїдних та тиреоїдних гормонів	341
ГЛАВА 24. ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ ТА БІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ КЛІТИНИ. II. ГОРМОНИ — ПОХІДНІ ПЕПТИДІВ ТА АМІНОКИСЛОТ	345
24.1. Гіпоталамо-гіпофізарна система	345
24.2. Гормони підшлункової залози та шлунково-кишкового тракту	353
24.3. Тиреоїдні гормони	360
24.4. Катехоламіни та інші біогенні аміни	363
ГЛАВА 25. ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ ТА БІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ КЛІТИНИ. III. ГОРМОНИ ТА ІНШІ БІОРЕГУЛЯТОРИ ЛІПІДНОГО ПОХОДЖЕННЯ	367
25.1. Загальна характеристика стероїдних гормонів	367
25.2. Стероїдні гормони кори надниркових залоз	368

25.3. Стероїдні гормони статевих залоз	373
25.4. Гормони — регулятори гомеостазу кальцію	376
25.5. Фізіологічно активні ейкозаноїди	381
РОЗДІЛ VI. БІОХІМІЯ ФІЗІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ ТА СПЕЦІАЛІЗОВАНИХ ТКАНИН ...	386
ГЛАВА 26. БІОХІМІЯ ХАРЧУВАННЯ ЛЮДИНИ. I. КОМПОНЕНТИ ХАРЧУВАННЯ.	
ТРАВЛЕННЯ ПОЖИВНИХ РЕЧОВИН	386
26.1. Компоненти нормального харчування людини	386
26.2. Потреби організму людини в поживних сполуках	387
26.3. Механізми перетворення поживних речовин у травному тракті	392
ГЛАВА 27. БІОХІМІЯ ХАРЧУВАННЯ ЛЮДИНИ. II. ВІТАМІНИ ЯК КОМПОНЕНТИ	
ХАРЧУВАННЯ	399
27.1. Вітаміни як компоненти харчування людини; хвороби вітамінної недостатності	399
27.2. Коферментні вітаміни. Аскорбінова кислота та біофлавоноїди	400
27.3. Жиророзчинні вітаміни. Біоантиоксиданти	411
ГЛАВА 28. БІОХІМІЯ І ПАТОБІОХІМІЯ КРОВІ	418
28.1. Фізіологічні та біохімічні функції крові	418
28.2. Дихальна функція еритроцитів. Біохімія та патобіохімія гемоглобіну	419
28.3. Кислотно-основний стан. Буферні системи крові	423
28.4. Біохімічний склад крові в нормі та патології	425
ГЛАВА 29. БІОХІМІЯ ЗГОРТАЛЬНОЇ І ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ СИСТЕМ КРОВІ	432
29.1. Функціональні та біохімічні властивості системи гемостазу	432
29.2. Згортальна система крові: компоненти, механізми активації	433
29.3. Антизгортальна система крові	437
29.4. Фібринолітична система крові	438
ГЛАВА 30. БІОХІМІЯ ІМУННИХ ПРОЦЕСІВ	440
30.1. Клітинна і біохімічна організація імунної системи	440
30.2. Імуноглобуліни: структура, біологічні функції	441
30.3. Медіатори і гормони імунної системи	443
30.4. Біохімічні компоненти системи комплементу	445
30.5. Біохімічні механізми імунодефіцитних станів	447
ГЛАВА 31. БІОХІМІЧНІ ФУНКЦІЇ ПЕЧІНКИ. ПРОЦЕСИ ДЕТОКСИКАЦІЇ	449
31.1. Структурно-функціональна організація печінки. Біохімічні функції гепатоцитів	449
31.2. Біотрансформація ксенобіотиків та ендогенних токсинів. Мікросомальне окислення	455
31.3. Обмін жовчних пігментів. Біохімія жовтяниць	462
ГЛАВА 32. БІОХІМІЯ М'ЯЗІВ І М'ЯЗОВОГО СКОРОЧЕННЯ	468
32.1. Ультраструктура і хімічний склад м'язів	468
32.2. Молекулярні механізми м'язового скорочення	472
32.3. Біоенергетика м'язової тканини	476
ГЛАВА 33. БІОХІМІЯ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ. МОЛЕКУЛЯРНА ПСИХОБІОЛОГІЯ	478
33.1. Особливості хімічного складу та метаболізму нервової системи	478
33.2. Нейромедіатори. Рецептори для нейромедіаторів і фізіологічно активних сполук	480
33.3. Нейрохімічні механізми дії психотропних засобів	488
ЛІТЕРАТУРА	491
ПРЕДМЕТНИЙ ПОКАЖЧИК	492

ПЕРЕДМОВА

Біологічна хімія, або біохімія — фундаментальна біомедична наука та навчальна дисципліна, що вивчає хімічний склад живих організмів та хімічні перетворення, яким підлягають молекули, що входять до їх складу.

Розвиток усього комплексу наук про живу природу протягом XX сторіччя відзначався зростанням значення молекулярного рівня мислення, концептуальних підходів та методів дослідження. Стає все більш зрозумілим, що тільки шляхом розкриття хімічних, фізико-хімічних, молекулярних та субмолекулярних закономірностей функціонування живих систем можливе опанування внутрішніми механізмами патогенезу найважливіших хвороб людини — онкологічних, серцево-судинних, вірусних, генетичних, нейропсихічних захворювань, імунodefіцитів, розшифровка механізмів старіння, що визначають тривалість життя *Homo sapiens* як біологічного виду. Відповідно до цього фундаментального твердження, сучасна біохімія та її відгалуження — молекулярна біологія та біотехнологія — все в більшій мірі стають основою теоретичної медицини, впливаючи на напрямки розвитку й інших медико-біологічних наук, зокрема фізіології, морфології, імунології, мікробіології, вірусології, екології тощо.

У вищих медичних навчальних закладах України біохімія традиційно викладається протягом третього-четвертого семестрів і складає, поряд з іншими медико-біологічними дисциплінами, підвалини для подальшого вивчення загальної патології та клінічних предметів, формування наукового світогляду лікаря. У зв'язку з цим, курс біохімії, який вивчається студентами медичних університетів або відповідних факультетів загальноосвітніх університетів, повинен містити наукові відомості, що стосуються насамперед біохімічних процесів, які відбуваються в організмі здорової та хворої людини, і засвоєння яких є необхідною передумовою для оволодіння знаннями про молекулярні механізми як фізіологічних функцій, так і розвитку патологічних процесів. Крім того, значення глибокого розуміння закономірностей перебігу біохімічних процесів в організмі людини постійно зростає у зв'язку з тією обставиною, що біохімічні, молекулярно-біологічні підходи та методи посідають все важливіше місце в діагностичному процесі, контролі за перебігом хвороби та ефективністю лікування.

Вивчення в курсі біохімії молекулярної організації клітини, зокрема біологічних мембран, ядерного генетичного апарату, рибосомальної системи білкового синтезу, механізмів регуляції біохімічних реакцій, які лежать у підґрунті фізіологічних функцій організму людини і вищих тварин в нормі та за умов патології, має принципове значення також для розробки засобів та методів фармакологічної корекції порушених метаболічних процесів. Визначним досягненням біохімічної фармакології стало створення високоефективних кардіотропних, нейротропних, протизапальних, протипухлинних, протиінфекційних засобів. Так, наприклад, розв'язання молекулярних і клітинних основ впливу нейромедіаторів і фізіологічно активних сполук з

психоактивними властивостями на біохімічні процеси в нейронах головного мозку, дослідження молекулярної біології мембранних рецепторів для біогенних амінів та нейропептидів створило наукові засади для можливостей спрямованого синтезу психотропних препаратів. Виходячи із зазначеного, вивчення біологічної хімії є особливо важливим для подальшого засвоєння студентами загальної та клінічної фармакології (медичні факультети), фармацевтичної хімії, фармакотерапії та клінічної фармації (фармацевтичні факультети).

Кінець XX сторіччя позначився новою хвилею інфекційних хвороб, особливо вірусного походження. За оцінками багатьох вчених, справжньою загрозою існуванню людини стало розповсюдження вірусу СНІДу, що поставило принципово нові наукові проблеми перед біохімією мікроорганізмів, медичною мікробіологією. Вивчення молекулярної біології і генетики мікроорганізмів, особливостей будови та біосинтезу вірусних та бактеріальних ДНК та РНК, розробки в галузі технології рекомбінантних ДНК стають все більш актуальними завданнями біохімічної науки, що повинно знайти своє відображення у відповідних навчальних програмах.

Таким чином, викладання біохімії у вищих навчальних закладах медичного профілю потребує ретельного відбору із загального великого обсягу сучасної наукової інформації про біохімічні закономірності в живих організмах різного еволюційного рівня саме тих відомостей, що становлять предмет медичної біохімії. Разом з тим, автор вважає, що, незважаючи на професійну спрямованість та певну профілізацію навчального матеріалу, що викладається, **курс біохімії в системі вищих медичних закладів повинен обов'язково зберігати характер фундаментальної біологічної дисципліни**, яка забезпечує базову університетську освіту майбутнього фахівця. Тому основа структури підручника — викладення сучасного стану питань, що стосуються будови, біологічних функцій та біосинтезу основних класів біомакромолекул — білків та нуклеїнових кислот, основ ензимології, біоенергетики, мембранології, молекулярної генетики, механізмів та взаємозв'язку обміну різних класів біомолекул, закономірностей їх регуляції фізіологічно активними сполуками — внутрішньоклітинними месенджерами та гормонами, багато з яких застосовуються в сучасній клінічній практиці як ефективні лікарські засоби нового покоління (інсуліни, стероїди, інтерферони, імуномодулятори тощо).

Біохімія разом із молекулярною біологією є однією з найбільш розвинених природничих наук сучасності і тому вирішення зазначеного двоєдиного дидактичного завдання можливе лише за умов ретельного критичного відбору та логічного структурування навчального матеріалу. Сприяє викладанню основних теоретичних закономірностей біохімії протягом двох семестрів, що відводяться на цей курс у вищих навчальних закладах, вивчення біохімічної статистики та сучасних уявлень про структуру біомолекул в курсі біоорганічної хімії, який у більшості медичних університетів передуює вивченню біохімії та закінчується контрольним іспитом у другому навчальному семестрі (див.: Біоорганічна хімія: Навчальний посібник/Ю.І.Губський та співавт.— К.: Вища школа, 1997). Розвиток елементів патобіохімії, що включені в матеріал підручника, доцільно повторно та на більш високому науковому і методичному рівнях здійснювати в окремому навчальному курсі — клінічній біохімії, яку на медичних факультетах доцільно викладати на п'ятому-шостому курсах, тобто після завершення вивчення основних клінічних дисциплін терапевтичного та хірургічного циклів.

В основу підручника, що пропонується, покладено багаторічний досвід викладання на кафедрі біоорганічної та біологічної хімії Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця. Пропонується принципово новий тип підручника для вищих медичних навчальних закладів, і всі зауваження та пропозиції для його удосконалення будуть сприйняті з вдячністю. Автор висловлює глибоку подяку педагогічному колективу кафедри за участь в обговоренні та формулюванні концептуальних засад викладання біохімії в системі вищої медичної освіти.

*Das Sein ist ewig: denn Gesetze
Bewahren die Lebend'gen Schätze,
Aus welchen sich das All geschmückt.
Johann-Wolfgang Goethe*

*Буття є вічним, тому що існують
Закони, що оберігають скарби Життя,
якими прикрашає себе Всесвіт.
Йоган-Вольфганг Гете*

ВСТУП. БІОХІМІЯ ЯК НАУКА

Біологічна хімія (біохімія) — наука, предметом вивчення якої є хімічний склад організмів людини, тварин, рослин, мікроорганізмів, вірусів та хімічні (біохімічні) реакції, в які вступають біоорганічні (переважно) і біонеорганічні сполуки (біомолекули), що входять до складу цих організмів.

Структура біомолекул, тобто хімічна будова і просторове розміщення окремих атомів — конфігурація та конформація — є передумовою їх взаємодії та перетворень у біохімічних реакціях, що складають “молекулярну логіку живого” (А. Ленінджер, 1982). Ці біохімічні перетворення становлять сутність обміну речовин (метаболізму). Оскільки переважаюча більшість реакцій метаболізму здійснюється за участю білкових каталізаторів — ферментів, основним завданням біохімії є вивчення перебігу ферментативних реакцій, їх механізмів та регуляції.

Окрім суто хімічних перетворень, що супроводжуються змінами ковалентної структури біомолекул, визначальну роль в біологічних процесах мають фізико-хімічні закономірності, які становлять основу численних взаємодій між комплементарними сполуками — білками, нуклеїновими кислотами, оліго- та полісахаридами і низькомолекулярними лігандами, в тому числі неорганічними речовинами. Такі нековалентні (водневі, йонні, диполь-дипольні, гідрофобні) взаємодії беруть участь в утворенні надмолекулярних комплексів та біоструктур, ферментативному каталізі, зв’язуванні гормонів та медіаторів з рецепторами, імуноглобулінів (антитіл) з відповідними структурами на поверхні лімфоцитів та макрофагів, міжклітинному “пізнаванні” тощо.

Об’єктами вивчення біохімії є живі організми на різних етапах еволюційного розвитку: віруси, бактерії, рослини, тварини, організм людини як біологічний об’єкт.

Основні розділи біохімії:

1. Статична біохімія.
2. Динамічна біохімія.
3. Функціональна біохімія.

Статична біохімія вивчає хімічний склад живих організмів та структуру біоорганічних молекул — *біомолекул*, що входять до їх складу: білків, амінокислот, нуклеїнових кислот, нуклеотидів, вуглеводів та їх похідних, вітамінів, гормонів тощо). Сучасна статична біохімія за своїми об'єктами дослідження та методологією близька до *біоорганічної хімії*. На відміну від біоорганічної хімії, біохімія приділяє основну увагу значенню певних біомолекул в утворенні клітинних та тканинних структур, реалізації фізіологічних функцій організму.

Динамічна біохімія вивчає хімічні (біохімічні) реакції, що складають у своїй сукупності обмін речовин, або *метаболізм* живих організмів. Головними своїми завданнями динамічна біохімія має вивчення перебігу та механізмів реакцій обміну речовин, зокрема перетворень в живих організмах таких основних біомолекул, як вуглеводи, ліпіди, білки, нуклеїнові кислоти. Прості біоорганічні молекули, які утворюються в процесі метаболізму (моносахариди, жирні кислоти, амінокислоти, низькомолекулярні карбонові кислоти та їх похідні, нуклеотиди тощо) носять назву *метаболітів*.

Біоенергетика — розділ динамічної біохімії, що вивчає закономірності вивільнення, акумуляції та споживання енергії в біологічних системах.

Розуміння структури та діяльності живих клітин неможливе без *молекулярної біології* та *молекулярної генетики* — розділів біохімії та клітинної біології, що розкривають закономірності збереження та реалізації генетичної інформації шляхом вивчення будови та функціонування інформаційних макромолекул — нуклеїнових кислот ДНК та РНК.

Розвиток молекулярної біології та молекулярної генетики сприяв виникненню принципово нового етапу клітинної біології — *генної інженерії*, або *біотехнології*, які вивчають можливості направлених змін ядерного генетичного апарату; особливого значення набуває використання технології рекомбінантних ДНК для синтезу фізіологічно активних сполук — антибіотиків, гормонів, ферментів.

Функціональна біохімія — розділ біохімії, що вивчає біохімічні реакції, які лежать в основі певних фізіологічних функцій. Функціональна біохімія близька за своєю сутністю до *молекулярної фізіології*.

Функціональна біохімія, зокрема, вивчає: біохімічні основи травлення поживних речовин (білків, вуглеводів, ліпідів) в шлунково-кишковому тракті; біохімічні механізми, що лежать в основі таких фізіологічних процесів, як м'язове скорочення, генерація, проведення нервового імпульсу та вищі інтегративні функції нервової системи, дихальна функція крові, регуляція кислотно-основного стану в організмі, екзо- та ендокринна секреція, детоксикаційна функція печінки, видільна функція нирок, захисна функція імунної системи тощо.

Головним об'єктом дослідження та вивчення в **медичній біохімії** є організм людини. *Біохімія людини*, або *медична біохімія* — це розділ біохімії, який вивчає закономірності обміну речовин та їх порушення в умовах як нормального функціонування людського організму, так і виникнення патологічних процесів різного

генезу, зокрема спричинених дією на організм ушкоджуючих факторів біологічного, хімічного, фізичного походження. З метою розв'язання біохімічних механізмів виникнення хвороб в медичній біохімії широко використовується метод моделювання певних патологічних процесів на експериментальних тваринах.

Клінічна біохімія є підрозділом (науково-практичною галуззю) медичної біохімії, що вивчає біохімічні процеси, які відбуваються в організмі хворої людини, притаманні окремим захворюванням, пов'язані з патогенезом хвороб, і дослідження яких може бути використаним у діагностиці ураження певних органів, тканин, клітинних структур. Важливим розділом клінічної біохімії є клінічна (медична) ензимологія. Об'єктом вивчення цього розділу клінічної біохімії є перебіг ферментних реакцій в організмі людини за умов різних захворювань шляхом визначення активності окремих ферментів, ізоферментів та ферментних констеляцій в біологічних рідинах і біоптатах та використання набутої інформації в діагностичному та лікувальному процесі.

Розділ I. БІОМОЛЕКУЛИ ТА КЛІТИННІ СТРУКТУРИ

ГЛАВА 1. БІОХІМІЧНІ КОМПОНЕНТИ КЛІТИН

Біохімічний склад живих організмів суттєво відрізняється від хімічного складу компонентів неживої природи на Землі та відомих космічних об'єктах.

Особливості хімічного складу живих організмів

У живих організмах в складі біоорганічних сполук та у вільному стані виявлено більше 40 різних хімічних елементів, що знаходяться також у складі літосфери та атмосфери.

Разом з тим, кількісний склад та розподіл хімічних елементів у живих організмах та в земній корі суттєво відрізняються, тобто виникнення життя в умовах Землі було пов'язане з відбором хімічних елементів.

Так, зокрема, якщо в складі земної кори більше 1/3 її кількості займають Al та Si, то вони практично відсутні в біологічних системах або зустрічаються у слідових кількостях. З іншого боку, вуглець (C), азот (N), водень (H) та фосфор (P) сконцентровані в живих організмах у кількостях, що в 20-200 разів перевищують їх вміст у об'єктах неживої природи (табл. 1.1):

Т а б л и ц я 1.1. Вміст хімічних елементів (%) в земній корі та в організмі людини

Елемент	Земна кора	Тіло людини
Кисень (O)	50,0	63,0
Кремній (Si)	28,0	сліди
Алюміній (Al)	9,0	—
Залізо (Fe)	5,0	0,004
Водень (H)	0,9	10,0
Вуглець (C)	0,09	20,0
Фосфор (P)	0,08	1,0
Азот (N)	0,03	3,0
Сірка (S)	0,05	2,0

Найбільшу кількість (більше 99 % елементного складу) в живих організмах складають такі елементи, як **вуглець (C), кисень (O), водень (H), азот (N), фосфор (P), сірка (S)**.

Ці елементи входять до складу всіх біоорганічних сполук живих організмів (біомолекул) і отримали назву **біоелементів**, або **органогенів**.

Біохімічні компоненти клітини

Біомолекули — біоорганічні сполуки, що входять до складу живих організмів та спеціалізовані для утворення клітинних структур і участі в біохімічних реакціях, які становлять сутність обміну речовин та фізіологічних функцій живих клітин.

Функції біомолекул у живих організмах:

а) *участь у біохімічних реакціях обміну речовин в ролі субстратів та проміжних продуктів (метаболітів).* Прикладами є моносахариди та їх фосфорні ефіри, жирні кислоти та продукти їх окислення, амінокислоти, кетокислоти, дикарбонові кислоти, пуринові та піримідинові основи тощо;

б) *участь в утворенні інших, більш складних молекул* — білків, нуклеїнових кислот, полісахаридів, ліпідів (наприклад, амінокислоти, нуклеотиди, вищі жирні кислоти тощо), *або біологічних структур* (мембран, рибосом, ядерного хроматину тощо);

в) *участь у регуляції біохімічних процесів та фізіологічних функцій окремих клітин та цілісного організму.* Біомолекулами-регуляторами є вітаміни, гормони та гормоноподібні сполуки, внутрішньоклітинні регулятори — циклічні нуклеотиди цАМФ, цГМФ тощо.

Головні класи біомолекул, що складають основу структури та функції живих організмів.

Білки та амінокислоти. Білки (протеїни) — найважливіший клас біомолекул, з наявністю яких, а також нуклеїнових кислот, пов'язують саму хімічну сутність життя в умовах Землі. Білки є біополімерами, що складаються з двадцяти L-амінокислот, які утворилися в умовах хімічної еволюції на етапі “переджиття” (П.Тейяр де Шарден) і становлять разом з нуклеотидами молекулярну абетку будь-якої живої клітини. Головний внесок у становлення уявлень про пептидну будову білкових молекул зроблено видатним німецьким хіміком-органіком та біохіміком Е.Фішером.

Нуклеїнові кислоти та нуклеотиди. Нуклеїнові кислоти — дезоксирибонуклеїнові (ДНК) та рибонуклеїнові (РНК) — біополімери (біомакромолекули), що складаються з п'яти основних нуклеотидів пуринового та піримідинового ряду, є носіями генетичної інформації у всіх живих організмах, починаючи від найпростіших вірусів до організму людини. Лінійна послідовність певних мононуклеотидів у складі генетичних молекул нуклеїнових кислот детермінує послідовність амінокислотних залишків у відповідному білку (пептиді). Сутність *генетичного (біологічного) коду* полягає в тому, що послідовність із трьох нуклеотидів (*триплет*, або *кодон*) у молекулі ДНК або РНК відповідає одній з 20 L-амінокислот, що включається на певне місце пептидного ланцюга, який синтезується.

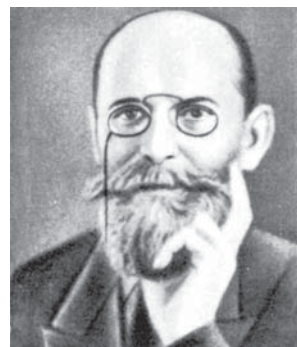


Рис. 1.1. **Фішер (Fischer) Еміль Герман** (1852-1919). Наукові розробки з хімії пептидів, вуглеводів, пуринів. Нобелівська премія (1902).



Рис. 1.2. **Мішер (Miescher) Іоган Фрідріх** (1844-1895).
Першовідкривач нуклеїнових кислот.

Відкриття нуклеїнових кислот — хімічних сполук, вивчення структури та властивостей яких принципово змінило обличчя сучасних біології та медицини, — людство зобов'язане швейцарському лікарю та біохіміку Ф.Мішеру (1869 р.), який вперше виявив у клітинних ядрах (nucleus) фосфатовмісні сполуки кислого характеру.

Сучасна молекулярна біологія народилася майже через 100 років після відкриття Ф.Мішером нуклеїнових кислот в результаті фундаментального дослідження Дж.Уотсона (J.Watson) та Фр.Кріка (Fr.Crick) (1953 р.). Дж.Уотсон та Фр.Крік постулювали для молекули ДНК структуру типу “подвійної спіралі”, що стало передумовою розкриття основних закономірностей її подвоєння — реплікації та пояснило фундаментальну загадку життя — можливість консерватизму спадковості шляхом копіювання спадкових ознак у прийдешніх поколіннях. Подальша розшифровка генетичного коду, тобто відповідності послідовностей триплетів нуклеотидів в молекулах генетичних нуклеїнових кислот послідовностям амінокислот в білкових молекулах, та з'ясування біологічних функцій різних класів РНК дозволило сформулювати основні закономірності молекулярної біології, які визначають напрямки перенесення біологічної інформації у всіх живих системах:

ДНК —————> РНК —————> білок

Вуглеводи та їх похідні — клас біомолекул, що складається з моносахаридів, гомо- та гетерополісахаридів. В організмі людини та тварин моносахариди (глюкоза, фруктоза, галактоза) та гомополісахарид глікоген виконують енергетичні функції; гетерополісахариди (до складу яких як мономери входять переважно аміноцукри-гексозаміни та їх N-ацетильовані похідні) беруть участь в утворенні біологічних структур (мембран, глікокаліксу, сполучної тканини).

Ліпіди та їх похідні — біомолекули різноманітної хімічної будови, головною особливістю яких є їх гідрофобний характер. Ліпіди виконують численні біологічні функції, виступаючи як енергетичний матеріал (триацилгліцероли, або нейтральні жири), основа структури біомембран (фосфоліпіди, гліколіпіди), фізіологічно активні сполуки з регуляторною дією (стероїдні гормони, жиророзчинні вітаміни, ейкозаноїди).

Вітаміни — сполуки, що не синтезуються в тваринних організмах, але необхідні для життєдіяльності, зокрема є компонентами метаболізму, за участю яких функціонують певні найважливіші ферментні системи. Вітаміни повинні постійно надходити в організм у складі продуктів харчування, переважно рослинного (більшість водорозчинних вітамінів) або тваринного (деякі жиророзчинні вітаміни) походження.

Гормони — біомолекули, що є передавачами хімічних сигналів у системі ендокринної регуляції. Завдяки регуляторній дії гормонів, медіаторів нервової системи та наявності локалізованих на клітинах-мішенях біохімічних структур, що специфічним

чином реагують на дію цих біорегуляторів зміною своєї функціональної активності (клітинних рецепторів), відбувається інтеграція окремих анатомо-фізіологічних систем у цілісний багатоклітинний організм.

Крім зазначених біоорганічних молекул, до складу всіх живих організмів входить певна кількість вільних амінокислот, азотистих сполук, нуклеотидів, низькомолекулярних моно-, ди- і трикарбонових кислот, спиртів, амінів, що є проміжними продуктами обміну речовин. У всіх живих організмах міститься значна (стала) кількість води та мінеральних елементів (зокрема кальцію, калію, натрію, магнію, заліза, марганцю, хлору, йоду), що виконують специфічні регуляторні та структурні функції, беруть участь як кофактори в багатьох ферментних реакціях, є компонентами металозалежних ферментів.

Хімічний склад живих клітин відрізняється у прокаріотів та еукаріотів, і в багатоклітинному організмі суттєво залежить від функціональної спеціалізації клітини, що, в свою чергу, визначається її диференціацією, яка відбувається протягом раннього онтогенезу. Склад головних біохімічних компонентів у найбільш вивчених об'єктах дослідження біохімії та молекулярної біології — кишковій паличці *Escherichia Coli* (*E. Coli*) та печінці білих щурів — наведено в табл. 1.2.

Т а б л и ц я 1.2. Хімічний склад (% загальної маси) метаболічно активних клітин прокаріотів та еукаріотів

Біохімічний компонент	<i>E. Coli</i>	Печінка щура
Білки	15	21
Нуклеїнові кислоти:		
ДНК	1	0,2
РНК	6	1
Вуглеводи	3	3–5
Ліпіди	2	6
Вода	70	69
Неорганічні солі	1	1–2

Середній кількісний хімічний склад організму людини подано в табл. 1.3.

Т а б л и ц я 1.3. Загальний хімічний склад організму людини масою 65–70 кг
(за S. Rapoport, 1964; R. Murray, 1988, середні дані)

Біохімічний компонент	Вміст, % маси тіла	Маса, кг
Білки	18	11–14
Нуклеїнові кислоти	1	0,7–1,0
Вуглеводи	1	0,7–1,0
Ліпіди (жири)	14	9–10
Вода	61	40–42
Мінеральні сполуки	5	3,5–4,0

Біохімічний склад усіх живих організмів знаходиться в *стаціонарному стані*, тобто в стані постійного оновлення всіх клітинних компонентів, яке забезпечується безперервним обміном речовинами та енергією з навколишнім середовищем (*метаболізмом*). Для всіх класів біомолекул характерна *середня тривалість напівжиття* ($T_{1/2}$), протягом якого компоненти певної біологічної структури (цілого організму, органа,

тканини, клітинної структури) обмінюються наполовину. В організмі людини $T_{1/2}$ білків усього тіла складає в середньому 12 тижнів, білків печінки — 2 тижні, білків м'язів — 27 тижнів; напівоволення білків кісткової тканини займає багато місяців (А.Я.Николаєв, 1998).

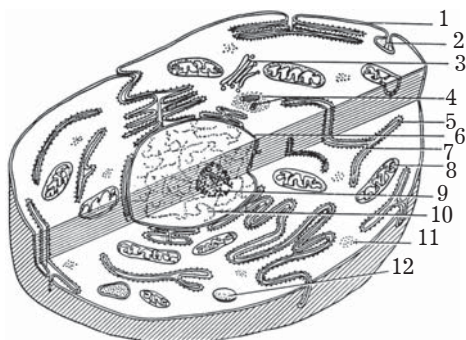


Рис. 1.3. Схема будови клітини людини і тварин:

1 — плазматична мембрана; 2 — піноцитозна бульбочка; 3 — апарат Гольджі; 4 — центріолі; 5 — рибосоми; 6 — ядерна мембрана; 7 — ендоплазматичний ретикулум; 8 — мітохондрія; 9 — ядерце; 10 — ядро; 11 — цитоплазма (цитозоль); 12 — лізома.

Основні біохімічні перетворення біомолекул, які становлять сутність обміну речовин, відбуваються внутрішньоклітинно, в субклітинних органелах — ядрі, мітохондріях, рибосомах, ендоплазматичному ретикулумі, лізомах, пероксисомах, апараті Гольджі. Для кожної субклітинної структури притаманні певна сукупність ферментів, що в ній містяться, та певна послідовність реакцій обміну речовин — *компартименталізація метаболізму* (від англ. compartment — відсік, відділення). Схему будови живої клітини подано на рис.1.3.

У зв'язку з динамічним станом всіх біологічних структур живі організми повинні постійно отримувати із середовища у вигляді продуктів харчування

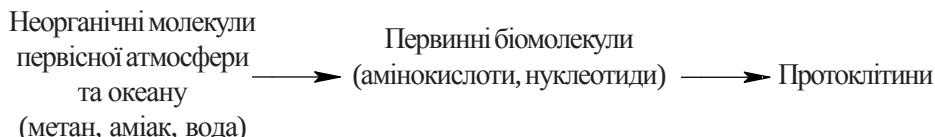
основні біомолекули — білки, вуглеводи, ліпіди, вітаміни, а також воду і певні неорганічні сполуки. Залежно від того, в якому вигляді організм отримує з навколишнього середовища енергію та вуглець, необхідні для побудови власних біомолекул — метаболітів і структурних елементів, — усі організми поділяються на два класи: *аутотрофи* (мікроорганізми та рослинні організми, що синтезують свої вуглецьвмісні молекули із атмосферного діоксиду вуглецю та води за рахунок енергії сонячного світла) та *гетеротрофи* (тваринні організми, до яких належить організм людини, що отримують вуглець у вигляді складних органічних молекул їжі та енергію за рахунок реакцій біологічного окислення).

Оскільки живі організми є не тепловими, а *хімічними машинами*, тобто системами, в яких різні види роботи здійснюються за умов сталої температури, **джерелом енергії для ендергонічних процесів, що відбуваються в гетеротрофних клітинах, є хімічна енергія, яка звільняється в результаті реакцій окислення біомолекул** — проміжних продуктів внутрішньоклітинного розщеплення моносахаридів (переважно глюкози), жирних кислот, гліцерину, деяких амінокислот. Основні реакції біологічного окислення, що вивільняють енергію, необхідну для процесів життєдіяльності, відбуваються в мітохондріях (саркосомах), у мембранах яких локалізовані також складні ферментні та йон-транспортуючі системи, які реалізують накопичення енергії окислювальних процесів у вигляді високоенергетичних (макроергічних) зв'язків АТФ.

Походження біомолекул

Принципово важливим, фундаментальним завданням сучасної біохімії є розв'язання проблеми виникнення життя на Землі, хімічної еволюції, що передувала появі перших

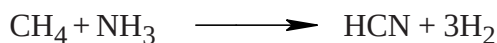
живих організмів. Згідно з існуючими уявленнями, витоки яких були закладені ще Чарльзом Дарвіном (1871), створення біомолекул та перших примітивних живих клітин відбувалось в умовах прадавньої Землі під впливом фізичних факторів атмосфери приблизно 3 млрд. років тому за такою схемою:



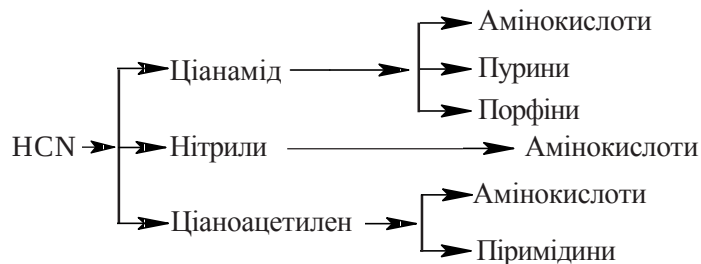
Вирішальним етапом у розвитку проблеми походження біомолекул в умовах первісної земної кори стали дослідження з абіогенного синтезу біоорганічних сполук, що входять до складу живих організмів. Визначним досягненням в експериментальному доведенні можливостей хімічної еволюції стало класичне дослідження С.Міллера (S. Miller, 1951), який вперше показав можливість утворення карбонових кислот та α -амінокислот, що використовуються для синтезу природних білків, за умов дії електричних розрядів на газову суміш метану, аміаку, водню та водяної пари.

Пізніше була доведена можливість утворення із зазначених хімічних сумішей в умовах, що моделювали первісну атмосферу, не тільки амінокислот, а й пуринів і піримідинів, тобто попередників нуклеїнових кислот.

У послідовностях реакцій, що призводять до абіогенного синтезу азотомісних біоорганічних сполук, центральне місце займає **ціанід водню** HCN, що може утворюватися, зокрема, в такій реакції:



У подальшому ціановодень може перетворюватися до ціанаміду, нітрилів та ціаноацетилену— попередників у синтезі амінокислот, пуринів, піримідинів, порфіринів:



Наведені реакції, які свідчать про можливість утворення біомолекул за умов, що моделюють первісну атмосферу Землі, мають фундаментальне значення для сучасного розуміння проблеми виникнення життя. Проте, оскільки синтез макромолекул білків та нуклеїнових кислот в умовах існуючих біосистем є *матричним*, тобто послідовність включення окремих мономерів в макромолекули (амінокислот та мононуклеотидів, відповідно) програмується на основі інформації, яка закладена в послідовностях матричних ланцюгів ДНК або РНК, головною нез'ясованою проблемою в питанні походження життя є синтез первісних *інформаційних* молекул, що, попри існуючі теорії та гіпотези, належить до нерозв'язаних фундаментальних загадок сучасної теоретичної біохімії.

ГЛАВА 2. БІЛКИ І ПЕПТИДИ

Білки — біоорганічні високомолекулярні сполуки, молекули яких являють собою гетерополімери, побудовані із залишків амінокислот, об'єднаних кислото-амідними (пептидними) зв'язками ($-\text{CO}-\text{NH}-$).

Білки є найбільш розповсюдженими з усіх класів біомолекул; вони входять до складу всіх клітинних компонентів мікроорганізмів, рослин, тварин (ядра, біомембран, цитоплазми) та міжклітинних структур. Білковий склад живих клітин ускладнюється пропорційно ступеню складності геному та етапу еволюційного розвитку організму. Кількість різних білків в прокаріотичній клітині *E. Coli* — близько 3 000, в організмі людини приблизно 5 000 000, всього в різних видах організмів, що складають біосферу Землі, — 10^{10} - 10^{12} різних білків.

2.1. БІОЛОГІЧНІ ФУНКЦІЇ БІЛКІВ І ПЕПТИДІВ

1. Ферментативна (каталітична) функція.

Усі ферменти (біокаталізатори) за своєю хімічною природою є білками або комплексами білків із низькомолекулярними небілковими сполуками (коферментами, кофакторами).

2. Структурна функція.

Білки входять до структури біомембран, становлять основу цитоскелета (мікро-трабекулярна сітка, мікрофіламенти), міжклітинного матриксу (колаген, еластин) та певних спеціалізованих тканин (кератини).

3. Регуляторна функція.

Білкову та пептидну природу мають численні біорегулятори — гормони, медіатори та модулятори, що виробляються в ендокринній системі, нейронах головного мозку, імунній системі: прості білки (інсулін, глюкагон тощо), глікопротеїни (тропні гормони гіпофіза тощо), низькомолекулярні пептиди (окситоцин, вазопресин, опіоїдні пептиди мозку, пептиди тимоцитів тощо).

4. Рецепторна функція.

Білкову природу мають мембранні рецептори для фізіологічно активних сполук, що приймають хімічний сигнал від гормонів, нейромедіаторів (адренорецептори, холіноорецептори, гістамінові рецептори тощо).

5. Транспортна функція.

Білки зв'язують та здійснюють міжклітинний та внутрішньоклітинний (трансмембранний, цитоплазматичний) транспорт різних лігандів — біомолекул, іонів металів, чужорідних хімічних сполук (ксенобіотиків). Транспортними білками крові людини є сироваткові альбуміни (переносять жирні кислоти, білірубін, лікарські та токсичні сполуки), гемоглобін еритроцитів (транспортує кисень), ліпопротеїни (транспортують ліпіди), трансферин (транспортує залізо).

6. Скорочувальна функція.

Білки є молекулярними структурами, що реалізують скорочувальну функцію м'язів (актин, міозин), джгутиків та війок (тубуліни, динеїни) тощо.

7. Захисна функція.

Білки виконують функцію імунного захисту (імуноглобуліни, лімфокіни, інтерлейкіни тощо), протидіють кровотечі та тромбоутворенню (білки згортальної, антикоагулянтної та фібринолітичної систем крові).

2.2. БУДОВА Й АМІНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД БІЛКІВ І ПЕПТИДІВ

Молекулярна маса білків. Білки є високомолекулярними сполуками; їх молекулярна маса (м.м.) коливається в межах від декількох тисяч до декількох мільйонів а.о.м. (дальтонів). Індивідуальні білки побудовані з декількох сотень амінокислотних залишків.

Білки можуть складатися з одного або декількох окремих поліпептидних ланцюгів, що об'єднані ковалентними (дисульфідними) та нековалентними зв'язками. Білки, в яких є один поліпептидний ланцюг, мають молекулярну масу від ~ 5-6 до ~ 50 кД; білки з більшою м.м. складаються, як правило, з декількох поліпептидних ланцюгів, що складають протомери (субодиниці) — мультиланцюгові (олігомерні) білки (табл. 2.1).

Таблиця 2.1. Молекулярна маса білків

Білок	Молекулярна маса, кД	Кількість субодиниць (протомерів)
Інсулін	5,7	1
Рибонуклеаза	12,6	1
Пепсин	35,5	1
Алкогольдегідрогеназа	80,0	2
Піруваткіназа	240,0	4
Фенілаланін-гРНК-синтетаза	276,0	4

Пептиди (олігопептиди, поліпептиди) відрізняються від власне *білків* молекулярною масою (меншою 5-6 кД) та відповідними фізико-хімічними властивостями.

Форма білкових молекул

Поліпептидні ланцюги, що лежать в основі ковалентної структури білкових молекул, здатні до формування впорядкованих конформацій, які стабілізуються водневими та іншими слабкими фізико-хімічними зв'язками. Ці високовпорядковані конформації створюють певні *рівні структурної організації білків* (див. нижче), що відображаються в різних формах будови білкових молекул.

За формою молекул білки поділяються на *глобулярні* — кулеподібні та *фібрилярні* — з витягнутою формою молекули.

Детальніше питання утворення глобулярних та фібрилярних білків будуть розглянуті при обговоренні механізмів формування вищих рівнів структурної організації білків.

Амінокислотний склад білків і пептидів

При гідролізі природних білків та пептидів вивільнюється близько 20 різних α -L-амінокислот, розміщення кожної з яких у поліпептидному ланцюгу кодується триплетом нуклеотидів у ДНК геному.

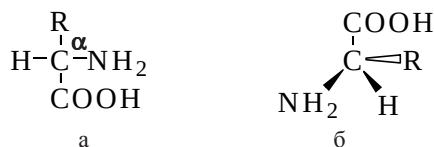
Структура протеїногенних амінокислот

Рис. 2.1. Структурна (а) та проекційна (б) формули протеїногенних амінокислот. Наведено проекційну формулу L-амінокислоти.

Амінокислоти, що входять до складу природних білків та пептидів (*протеїногенні амінокислоти*), мають загальну хімічну структуру, яка представлена наведеною звичайною структурною (а) та проекційною (б) формулами (рис. 2.1).

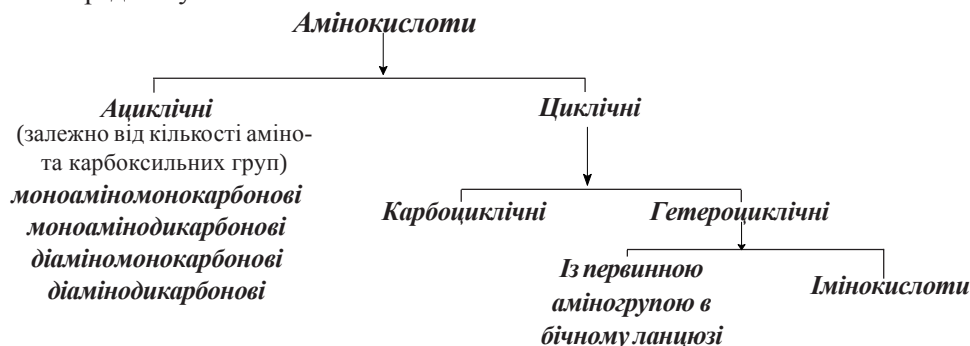
Структурні особливості протеїногенних амінокислот:

1) аміногрупа, іон водню та боковий ланцюг (R-група) зв'язані з атомом вуглецю, що міститься в α -положенні відносно карбоксильної групи, тобто природні амінокислоти є α -амінокислотами; деякі амінокислоти (лізин, аргінін) мають додаткову аміногрупу, що розташована в кінцевому положенні (ω -) радикала R;

2) за своєю абсолютною конфігурацією протеїногенні амінокислоти є стереоізомерами L-ряду (L-амінокислотами). D-амінокислоти до складу природних білків не входять; вони зустрічаються в бактеріальних та рослинних об'єктах, входять до складу деяких антибіотиків (граміцидин, актиноміцин D). Оптичні ізомери амінокислот диференціюються за смаком (L — гіркі або без смаку, D — солодкі), що свідчить про стереоспецифічність смакових рецепторів.

Класифікація протеїногенних амінокислот

Природні α -амінокислоти можуть поділятися на класи залежно від хімічної будови бічного радикалу R:

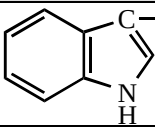
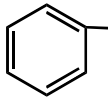


Сучасна *раціональна класифікація*, що базується на полярності та заряді радикалу R, передбачає чотири класи амінокислот (табл. 2.2):

- I — амінокислоти з неполярними (гідрофобними) R-групами;
- II — амінокислоти з полярними (гідрофільними) незарядженими R-групами;
- III — амінокислоти з негативно зарядженими R-групами (кислі амінокислоти);
- IV — амінокислоти з позитивно зарядженими R-групами (основні амінокислоти).

Крім зазначених у таблиці 2.2 двадцяти амінокислот, у складі деяких білків виявлено похідні цих амінокислот; зокрема 4-гідроксипролін, 5-гідроксилізін, N-метилізін, 3-метилгістидин, фосфосерин, фосфотреонін, дийодтирозин. Хімічна модифікація (гідроксилування, фосфорилювання, йодування) відповідних амінокислот відбувається вже після їх включення в поліпептидні ланцюги (*посттрансляційна модифікація білків*).

Т а б л и ц я 2.2. Амінокислоти, що входять до складу білків

Назва	Міжнародний символ	Структурна формула	pI
<i>Амінокислоти з неполярними R-групами</i>			
Аланін	Ala (A)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	6,02
Валін	Val (V)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \diagdown \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \diagup \quad \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$	5,97
Лейцин	Leu (L)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \diagdown \\ \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \diagup \quad \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$	5,98
Ізолейцин	Ile (I)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \diagdown \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \diagup \quad \\ \text{H}_3\text{C}-\text{H}_2\text{C} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$	6,02
Метіонін	Met (M)	$\text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^-$ $\quad \quad \quad $ $\quad \quad \quad \text{NH}_3^+$	5,75
Пролін	Pro (P)	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{N}^+\text{H}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_2 \end{array}$	6,10
Триптофан	Trp (W)	 $\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^-$ $\quad \quad \quad $ $\quad \quad \quad \text{NH}_3^+$	5,88
Фенілаланін	Phe (F)	 $\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^-$ $\quad \quad \quad $ $\quad \quad \quad \text{NH}_3^+$	5,98
<i>Амінокислоти з полярними незарядженими R-групами</i>			
Гліцин	Gly (G)	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	5,97
Серин	Ser (S)	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^-$ $\quad \quad \quad $ $\quad \quad \quad \text{NH}_3^+$	5,68

Продовження табл. 2.2

Треонін	Thr (T)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$	6,53
Цистеїн	Cys (C)	$\begin{array}{c} \text{HS}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	5,02
Тирозин	Tyr (Y)	$\begin{array}{c} \text{OH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	5,65
Аспарагін	Asn (N)	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$	5,41
Глутамін	Gln (Q)	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$	5,65
<i>Амінокислоти з негативно зарядженими R-групами</i>			
Аспарагінова кислота	Asp (D)	$\begin{array}{c} ^-\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	2,97
Глутамінова кислота	Glu (E)	$\begin{array}{c} ^-\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	3,22
<i>Амінокислоти з позитивно зарядженими R-групами</i>			
Лізин	Lys (K)	$\begin{array}{c} \text{N}^+\text{H}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	9,74
Аргінін	Arg (R)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2-\text{C}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{NH}_2^+ \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$	10,76
Гістидин	His (H)	$\begin{array}{c} \text{HC}=\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{H}^+\text{N} \quad \text{NH} \\ \quad \\ \text{C} \quad \text{H} \end{array}$	7,58

Властивості протейногенних амінокислот**1. Кислотно-основні властивості амінокислот.**

Амінокислоти є амфотерними електролітами, що можуть дисоціювати з утворенням іонних форм — аніона або катіона. У водному середовищі амінокислоти існують у вигляді рівноважної суміші, що складається з аніонної, катіонної форм та біполярного іона (цвіттер-іона) — рис. 2.2.

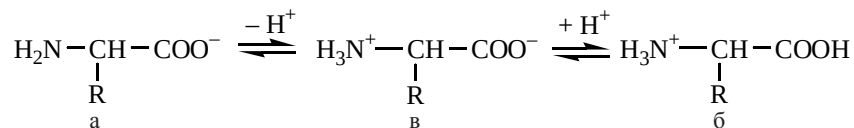


Рис. 2.2. Аніонна (а), катіонна (б) та біполярна (в) форми амінокислот у водних розчинах.

Зазначені реакції утворення аніонів, катіонів та біполярних іонів амінокислот повністю відповідають тільки схемі кислотно-основної дисоціації моноаміномонокарбонових амінокислот, що мають по одній α -амінній та α -карбоксильній групі. У цьому найпростішому випадку рівновага між позитивно та негативно зарядженими молекулами може теоретично досягатися вже в нейтральних розчинах, тобто при $\text{pH}=7$.

Разом із тим, деякі амінокислоти мають бокові ланцюги R, що містять додаткові функціональні групи, здатні до дисоціації:

- кислотні групи Asp, Glu;
- основні групи Lys, Arg, His.

Таким чином, *сумарний заряд молекул амінокислот (та, відповідно, білків і пептидів, до складу яких вони входять) визначається взаємовідношенням між кількістю вільних кислотних та основних груп, ступенем їх дисоціації (pK_a) та pH середовища.*

У кислих розчинах переважає катіонна форма амінокислот (молекули заряджені позитивно), в лужних розчинах — аніонна (амінокислоти заряджені негативно). Ці фізико-хімічні властивості амінокислот визначають їх здатність до *електрофорезу* — розділенню у високовольтному постійному електричному полі. При рівновазі позитивних та негативних зарядів молекула амінокислоти перебуває в *ізоелектричному стані*. Характерне для кожної амінокислоти значення pH , при якому амінокислота має сумарний нульовий заряд, називається *pH ізоелектричної точки (pI)*.

2. Полярність молекул амінокислот.

Залежно від полярності бічних радикалів R (табл. 2.2), амінокислоти в більшій або меншій мірі взаємодіють із диполями води, тобто проявляють гідрофільні або гідрофобні властивості.

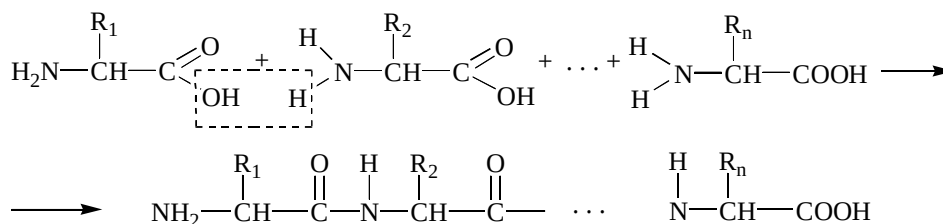
Полярність функціональних груп амінокислот разом з їх кислотно-основними властивостями визначають особливості структури, більшість фізико-хімічних та, відповідно, біологічних властивостей білків, що синтезуються з цих амінокислот.

3. Оптичні властивості амінокислот.

α -Атом вуглецю всіх протеїногенних амінокислот, за винятком гліцину, зв'язаний із чотирма різними функціональними групами (асиметричний атом) і є *хіральним центром молекули*; на основі цього, протеїногенні амінокислоти є оптично активними сполуками, тобто здатні до обертання площини поляризованого світла.

4. Здатність до утворення кислото-амідних зв'язків.

Характерною хімічною особливістю амінокислот є здатність їх α -амінної та α -карбоксильної груп утворювати кислото-амідний (*пептидний*) зв'язок за рахунок відщеплення елементів молекули води, тобто вступати до реакції поліконденсації:



Поліаміди, що утворюються в зазначених реакціях, отримали назву *пептидів* (дипептидів, трипептидів ... *олігопептидів* ... *поліпептидів*, відповідно).

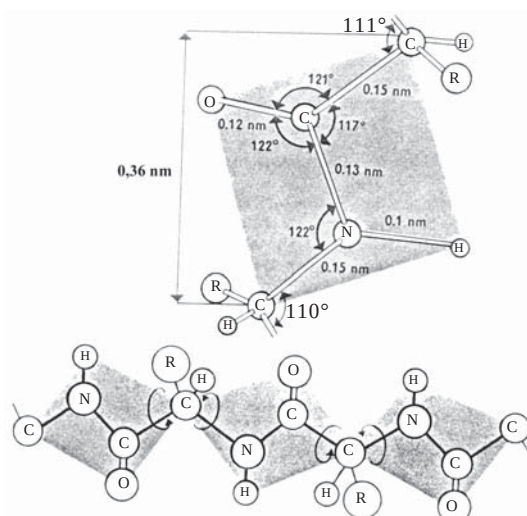
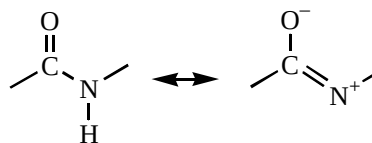


Рис. 2.3. Компланарне розміщення атомів пептидної групи в молекулах пептидів та білків. резонансної структури:



Виходячи з будови пептидного зв'язку та пептидної групи, *вільне обертання в пептидному ланцюзі можливе тільки навколо груп -CHR*, що розташовані між окремими компланарними пептидними групами (рис. 2.3). Ці структурні обмеження, разом із здатністю певних функціональних груп пептидних ланцюгів до сильних та слабких взаємодій, детермінують особливості утворення упорядкованих конформацій молекул білків, що розглянуті нижче.

5. Хімічні реакції, що використовуються для аналізу амінокислот.

Завдяки різноманітності своїх функціональних груп молекули α -амінокислот можуть вступати в хімічні реакції, які застосовуються в аналітичній та клінічній біохімії для

Структура пептидної групи

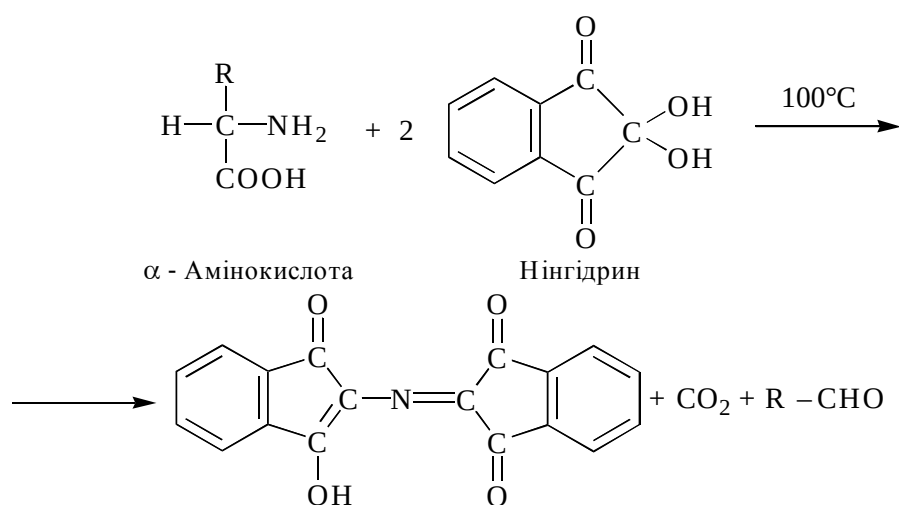
Чотири атоми, що входять до складу пептидної групи ($-\text{CO}-\text{NH}-$), розміщені в одній геометричній площині, тобто є *компланарними*. Кисень карбонільної групи та водень NH-групи розташовані в транспозиції (рис. 2.3).

Довжина зв'язку між атомами вуглецю карбонільної групи та азоту амідної групи дорівнює 0,132 нм, тобто цей зв'язок коротший звичайного одинарного зв'язку C-N (0,147 нм) і є приблизно на 50 % подвійним. Такий характер подвійного зв'язку зумовлений спряженням вільної пари р-електронів азоту з π -електронами подвійного зв'язку C=O (р, π -спряження) та утворенням

ідентифікації і кількісного визначення окремих амінокислот. Ці реакції (так звані “кольорові реакції”) використовуються для визначення як вільних амінокислот, що містяться як у біологічних об’єктах (плазмі крові, сечі тощо), так і в межах аналізу амінокислотного складу білків та пептидів.

Нінгідринова реакція

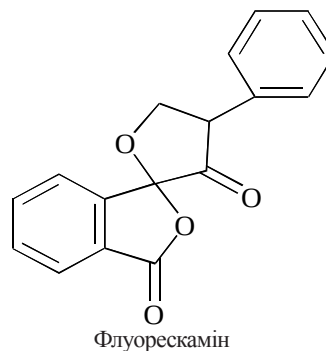
Нінгідрин (трикетогідринденгідрат) при нагріванні з α -амінокислотами спричиняє їх декарбоксилювання з утворенням NH_3 , CO_2 та альдегіду — продукту окислювального декарбоксилювання амінокислоти. У подальшому аміак, що вивільнився, реагує з відновленим нінгідрином, утворюючи комплекс синьо-фіолетового кольору з максимумом поглинання при $\lambda_{\text{max}} = 570 \text{ нм}$. За допомогою нінгідринової реакції можливо детектувати 1 нмоль амінокислоти:



Флуорескамінова реакція

Високочутливим реагентом на α -амінокислоти є також флуорескамін, який утворює з амінокислотами флуоресцюючі комплекси. Флуорескамінова реакція є більш чутливою, ніж нінгідринова, і дозволяє визначати амінокислоти в кількостях 10-50 пмолей.

Спектрофотометричне або спектрофлуориметричне вимірювання комплексів амінокислот із нінгідрином або флуорескаміном дозволяє кількісно визначати амінокислоти не тільки як вільні метаболіти, а й у складі білкових гідролізатів після їх хроматографічного розділення, що використовується в аналізі первинної структури білків та пептидів.



Крім зазначених, у клінічній біохімії застосовують такі “кольорові реакції” амінокислот:

– **ксантопротеїнова реакція** — характерна для бензольного ядра циклічних амінокислот (фенілаланіну, тирозину, триптофану), яке нітрується при дії концентрованої азотної кислоти з утворенням нітросполук жовтого кольору;

– **реакція Мілона** — специфічна реакція на тирозин (амінокислоту, що містить фенольний гідроксил). В умовах нагрівання фенолів та їх похідних із реактивом Мілона (суміш нітратів ртуті (I) та (II)) утворюються ртутні похідні цегляно-червоного кольору;

– **реакція Сакагучі** — реакція, що застосовується для ідентифікації гуанідинової групи аргініну. При взаємодії гуанідину з α -нафтолом та гіпохлоритом натрію в лужних умовах утворюються сполуки з червоним забарвленням;

– **реакція Ерліха** — застосовується для виявлення індольного кільця триптофану, яке при реакції з п-диметиламінобензальдегідом у кислому середовищі дає сполуки з фіолетовим забарвленням;

– **реакція Фоля** — реакція, характерна для сірковмісних амінокислот. При кип'ятінні розчину білка або відповідних амінокислот із лугом у присутності плумбіту натрію утворюється чорно-бурий осад сульфідів свинцю.

2.3. РІВНІ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ БІЛКОВИХ МОЛЕКУЛ

Усі білки та пептиди мають унікальну тримірну просторову організацію (конформацію), що є структурною основою їх специфічної біологічної функції.

Високовпорядковані конформації білкових молекул створюються на основі поліпептидних ланцюгів, що мають ковалентну структуру, та стабілізуються за рахунок утворення між амінокислотними залишками певних пептидних ділянок слабких фізико-хімічних зв'язків і взаємодій.

Типи зв'язків у білкових молекулах

1. Ковалентні зв'язки.

1.1. Пептидні зв'язки — виникають внаслідок взаємодії α -карбоксільних та α -аміногруп амінокислот, що утворюють пептидний ланцюг.

1.2. Дисульфідні зв'язки ($-S-S-$) — утворюються між залишками молекул цистеїну, що входять до одного або різних пептидних ланцюгів.

2. **Нековалентні зв'язки та слабкі взаємодії** — фізико-хімічні зв'язки, що беруть участь у взаємодії як певних частин одного пептидного ланцюга, так і різних, близько розташованих ланцюгів, утворюючи вищі рівні конформації білкових молекул.

2.1. Водневі зв'язки — виникають між двома електронегативними атомами за рахунок атома водню, ковалентно зв'язаного з одним із електронегативних атомів. Вони найчастіше утворюються між воднем, що входить до складу груп $=NH$, $-OH$, $-SH$, та сусіднім атомом кисню, наприклад:



2.2. Іонні зв'язки — зв'язують між собою іонізовані амінні та карбоксільні групи (головним чином, бічних радикалів діаміно- та дикарбонових амінокислот).

2.3. Дипольні зв'язки — електростатичні взаємодії постійних чи індукованих диполей, які можуть утворюватися між радикалами полярних амінокислот (серину, треоніну, цистеїну, тирозину тощо), що входять до складу білкових молекул.

2.4. Гідрофобні взаємодії — слабкі взаємодії, що виникають між бічними радикалами таких амінокислот, як валін, лейцин, ізолейцин, фенілаланін тощо за рахунок їх “виштовхування” з полярної (звичайно, водної) фази.

Рівні структурної організації білків

Первинна структура білків

Під первинною структурою білків розуміють пептидний (поліпептидний) ланцюг, побудований із залишків L-амінокислот. У поняття первинної структури білка або пептиду входять його якісний та кількісний амінокислотний склад та порядок чергування (послідовність) окремих амінокислотних залишків.

Фрагмент первинної структури поліпептидного ланцюга із структурними параметрами, що встановлені на підставі рентгеноструктурного аналізу пептидів, представлено на рис. 2.4.

Крім пептидних зв'язків, первинну структуру білків створюють також дисульфідні зв'язки, що з'єднують певні ділянки поліпептидного ланцюга або окремі пептиди. Прикладом може бути розміщення дисульфідних зв'язків у молекулі білкового гормону інсуліну, яка складається з двох пептидних ланцюгів (А-ланцюг — 21 амінокислотний залишок та В-ланцюг — 30 залишків):

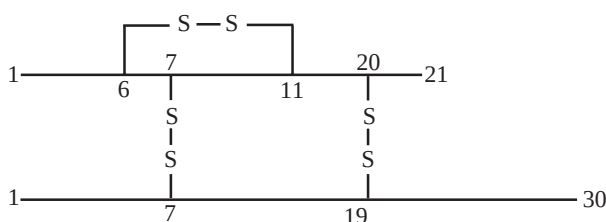


Рис. 2.4. Параметри структурних елементів поліпептидного ланцюга (розміри подано в ангстремах; 1Å = 0,1 нм).

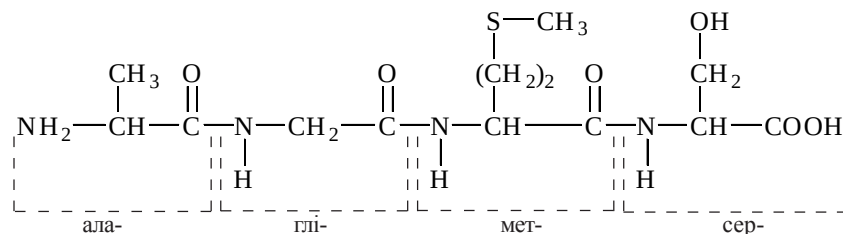
Назви пептидів, що визначають їх первинну структуру, будуються таким чином:

- першим вказується залишок амінокислоти, що має вільну α -аміногрупу (так званої “N-кінцевої амінокислоти”);

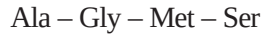
- у назвах усіх амінокислот, що беруть участь в утворенні пептидного зв'язку α -карбоксильною групою, закінчення -ин (-ін) змінюється на -іл (-іл);

- амінокислота, що має вільну α -карбоксильну групу (“C-кінцева амінокислота”), свого закінчення (-ин (-ін)) не змінює.

Приклад назви пептиду аланіл-гліцил-метіоніл-серин:



За допомогою міжнародних скорочених символів цей тетрапептид може бути позначений так:



Ці скорочені записи пептидів мають особливе значення для позначення білків, до первинної структури яких входить багато сотень амінокислотних залишків.

У зв'язку із зазначеною вище здатністю окремих функціональних груп пептидного ланцюга до внутрішньоланцюгових взаємодій, пептидний ланцюг набуває певної просторової структури (**конформації**). Розрізняють два рівні конформації пептидного ланцюга (та, відповідно, білкової молекули, що утворюється на його основі) — **вторинну** та **третинну** структури. Вторинну, третинну та **четвертинну** (див. нижче) структури називають разом **вищими рівнями структурної організації** білкових молекул.

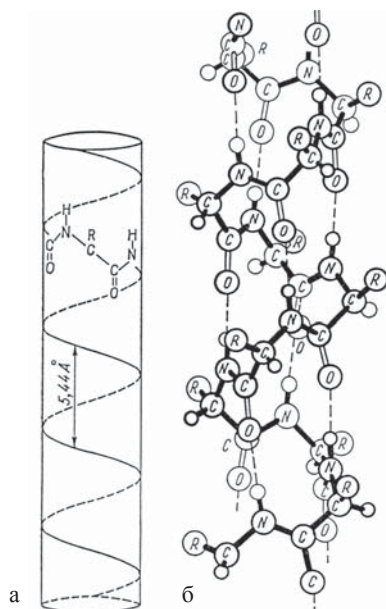


Рис. 2.5. Модель вторинної структури поліпептидного ланцюга у вигляді α -спіралі (за Л. Полінгом та Р. Корі).

Вторинна структура білків

Вторинна структура білків — це ряд конформацій, утворення яких зумовлено, головним чином, водневими зв'язками між окремими ділянками (переважно, пептидними групами) пептидного ланцюга або різними пептидними ланцюгами.

Розрізняють два основних типи впорядкованої вторинної структури білкових молекул: α -спіраль та β -структуру.

1. α -Спіраль — конформація, яка утворюється при просторовому скручуванні поліпептидного ланцюга за рахунок водневих зв'язків, що виникають між $\text{C}=\text{O}$ - та NH -групами поліпептидного ланцюга, що віддалені одна від одної на чотири амінокислотних залишки. Водневі зв'язки в α -спіралі спрямовані паралельно до осі молекули.

α -Спіраль можна уявити собі у вигляді лінії, що йде по боковій поверхні уявного циліндра. На один оберт α -спіралі припадає 3,6 амінокислотних залишків. Напрямок обертання поліпептидного ланцюга в природних білках — правий (“права” α -спіраль) (рис. 2.5).

Геометричні параметри α -спіралі: радіус — 0,25 нм; крок (період ідентичності) — 0,54 нм; висота зсунення на один амінокислотний залишок — 0,15 нм; на один оберт α -спіралі припадає 3,6 амінокислотних залишків.

α -Спіраль є молекулярною структурою, що утворюється за умов певних стеричних взаємовідносин між амінокислотними залишками, і її формування залежить від амінокислотного складу поліпептидного ланцюга. Окремі амінокислоти (Pro, Gly, Glu, Asp, Arg тощо) протидіють утворенню α -спіралі або дестабілізують її. У зв'язку з цим, можливе виникнення спіральних структур, що за своїми геометричними параметрами відрізняються від α -спіралі. Прикладом є спіраль білка *колагену* —

головного білкового компонента сполучної тканини, у складі якого міститься 33 % гліцину і 21 % проліну та гідроксипроліну.

Декілька білкових молекул із вторинною структурою у вигляді спіралей можуть взаємодіяти одна з одною, утворюючи міжмолекулярні комплекси, що являють собою *суперспіралізовані* (“супервторинні”) структури.

2. **β -Структура** — структура типу складчастого шару, складається із зигзагоподібно розгорнутих поліпептидних ланцюгів, що розташовані поряд (двох або більшої кількості) — рис. 2.6.

β -Структури утворюються за рахунок міжланцюгових водневих зв'язків, що з'єднують групи C=O та NH сусідніх поліпептидів (рис. 2.7):

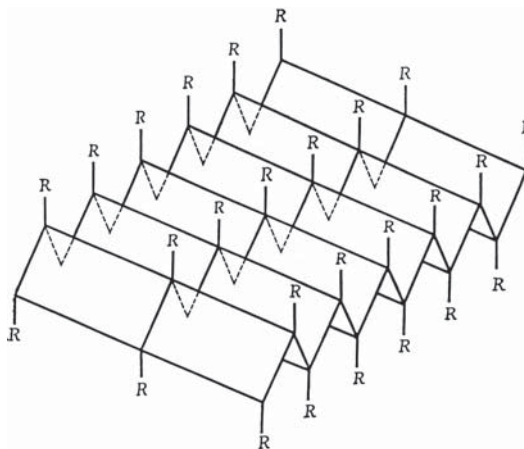
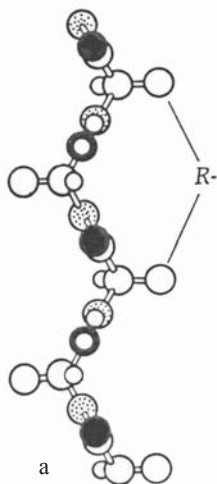
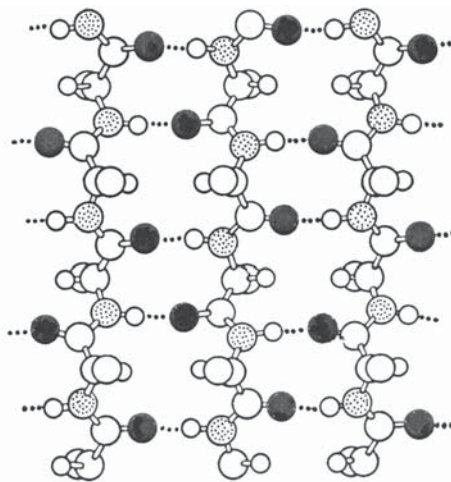


Рис. 2.6. **β -Конформація** поліпептидного ланцюга. Схематично зображені три паралельних ланцюги, що утворюють структуру типу складчастого шару.



а



б

Рис. 2.7. Утворення **β -структур**: а — вигляд збоку; б — вигляд зверху.

β -Конформацію мають білки **β -кератини**, які складаються з зигзагоподібних, антипаралельно орієнтованих поліпептидних ланцюгів. Представником **β -кератинів** є *фіброїн* — фібрилярний нерозчинний білок шовку та павутиння.

Крім упорядкованих типів (**α -спіралі** та **β -структури**), вторинна структура може являти собою нерегулярну, неупорядковану (хаотичну) конформацію.

У багатьох природних білках вздовж одного поліпептидного ланцюга, що становить первинну структуру даного білка, присутні як **α -спіралізовані** ділянки, так і зони, що становлять складчастий шар (**β -структури**) або мають нерегулярну

конформацію. Наприклад, у молекулі хімотрипсину до 14 % загальної кількості амінокислотних залишків входить до складу α -спіралей, 45 % — β -структур, 61 % — ділянок із невпорядкованою структурою. Поліпептидні ланцюги в молекулах міоглобіну та тропоміозину майже повністю α -спіралізовані (на 80 та 100 %, відповідно).

Третинна структура білків

Третинна структура білків являє собою спосіб укладання в тримірному просторі поліпептидного ланцюга з певною вторинною структурою. В утворенні та стабілізації третинної структури беруть участь водневі, іонні, гідрофобні зв'язки та взаємодії.



Рис. 2.8. Модель третинної структури молекули міоглобіну. Зображено просторове розташування поліпептидного ланцюга, зв'язаного з молекулою гему.

Залежно від форми та особливостей тримірної просторової організації, виділяють глобулярні та фібрилярні білки.

Глобулярні білки — білки, що мають округлу (кулеподібну, або еліпсоїдну) форму. Відношення довгої та короткої осей молекули в глобулярних білках — від 1:1 до 50:1. Це альбумін сироватки крові, міоглобін м'язів, гемоглобін, більшість ферментних білків.

Глобулярні білки побудовані з одного або декількох зв'язаних дисульфідними місточками поліпептидних ланцюгів, що згорнуті в щільні кулеподібні форми. Модель просторової структурної організації молекули міоглобіну, вперше запропоновану Дж.Кендр'ю (J.Kendrew) в 1958 р. на підставі рентгеноструктурного аналізу білкових кристалів, подано на рис. 2.8.

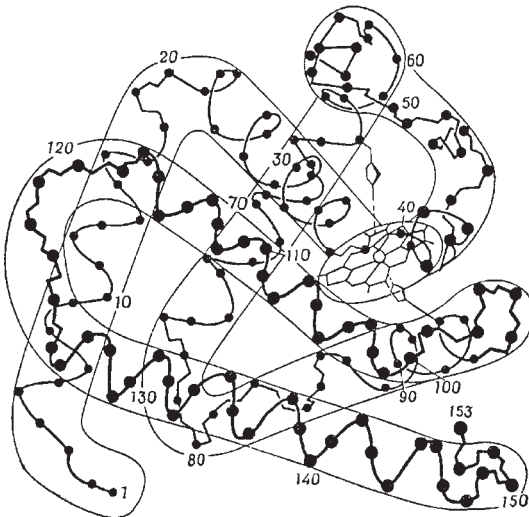


Рис. 2.9. Просторова конформація міоглобіну із зображенням характеру вторинної структури поліпептидного ланцюга.

Тримірна організація глобулярних білків утворюється за рахунок просторового згортання поліпептидного ланцюга, окремі частини якого можуть містити α -спіралі, β -структури та ділянки без упорядкованої структури (див.: **Вторинна структура білків**).

Схему просторової конформації міоглобіну, значна частина поліпептидного ланцюга якого α -спіралізована, подано на рис. 2.9.

Третинну структуру глобулярного ферментного білка гексокінази, поліпептидний ланцюг якого утворює як α -спіралі, так і складчасті шари, зображено на рис. 2.10.

Стабілізація компактної глобули реалізується за рахунок водневих та

інших слабких зв'язків між бічними радикалами амінокислотних залишків, які фіксують відносно один одного певні частини поліпептидного ланцюга (або ланцюгів, з'єднаних S–S-зв'язками).

Особливістю третинної структури глобулярних білків, що визначає їх важливі фізико-хімічні та біологічні властивості, є характер розташування полярних та неполярних амінокислотних залишків. У більшості глобулярних білків полярні (гідрофільні) залишки розміщені на поверхні глобули, де вони контактують із водною фазою, тоді як неполярні радикали занурені у внутрішню гідрофобну фазу молекули. Такі особливості будови білкових глобул визначають ступінь їх розчинності, особливості взаємодії з іншими білками та лігандами різної хімічної природи.

Фібрилярні білки — білки, структурною особливістю яких є витягнута форма молекул. Вони схильні до утворення мультимолекулярних ниткоподібних комплексів — фібрил, що складаються з декількох паралельних поліпептидних ланцюгів.

Фібрилярні білки є структурними компонентами сполучної або інших опорних тканин організму. Прикладами структурних фібрилярних білків є **колаген** — найбільш розповсюджений білок організму людини, що становить до 30 % загальної кількості тканинних білків, **еластин** сполучної тканини, **α -кератин** опірних тканин, епідермісу шкіри, волосся.

Формування багатьох біологічно важливих фібрилярних білків відбувається шляхом утворення супервторинних (суперспіралізованих) структур, зокрема:

1. Молекули **тропоколагену** — структурні одиниці колагенових фібрил сполучної тканини. Молекули тропоколагену складаються з трьох поліпептидних ланцюгів (спіралей колагену), що обвиті один навколо одного за типом тугого джгута. Стабілізація тропоколагену досягається за рахунок водневих зв'язків між C=O- та NH-групами сусідніх поліпептидних ланцюгів.

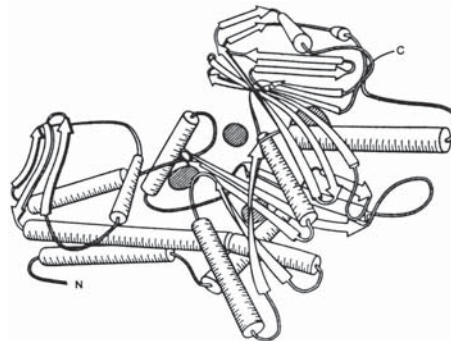


Рис. 2.10. Тримірна організація ферменту гексокінази. На цьому рисунку і на рисунку 2.13 α -спіралі умовно зображено у вигляді циліндрів, β -структури — у вигляді стрілок (за А.Я. Ніколаєвим, 1989).

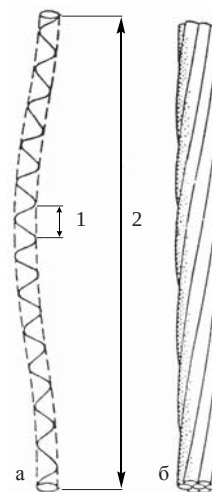


Рис. 2.11. Модель формування фібрилярних білків з окремих α -спіралізованих поліпептидів: а — поліпептидний ланцюг, що являє собою “велику” спіраль, сформовану на основі “малої” α -спіралі; в моделі, що зображена, крок “малої” спіралі (1) у 12,5 раза менший від кроку “великої” спіралі (2); б — суперспіраль типу багатожильного каната, побудована із семи α -спіралізованих поліпептидів.

2. Білки **α -кератини** — основний тип фібрилярних білків, з яких побудовано зовнішні захисні покриття хребцевих тварин (епідерміс шкіри, волосся, нігті людини; шерсть, пір'я, рогові утворення). **α -Кератини** являють собою мікрофібрили діаметром приблизно 2 нм, побудовані з трьох **α -спіралізованих** поліпептидних ланцюгів (суперспіраль). Окремі мікрофібрили, з'єднані міжланцюговими дисульфідними зв'язками, утворюють структури, подібні до багатожильного канату, що забезпечує міцність волосся та інших тканин, побудованих з **α -кератинів**.

Схему утворення фібрилярних білків за рахунок суперспіралізації окремих поліпептидних ланцюгів, що мають конформацію **α -спіралі**, подано на рис. 2.11.

Четвертинна структура білків

Четвертинна структура білків утворюється при об'єднанні (агрегації) декількох поліпептидних ланцюгів або протомерів, кожен з яких має свою характерну впорядковану конформацію.

Окремі протомери (субодиниці) в білках з четвертинною структурою об'єднані нековалентними зв'язками, що спричиняє порівняно легку їх дисоціацію при зміні фізико-хімічних властивостей середовища. Разом із тим, така дисоціація призводить до втрати специфічної для даного білка біологічної активності, яка притаманна лише цілісному олігомерному утворенню.

Прикладами білків із четвертинною структурою є олігомерні білки з м.м. вище 50 кД, що подані в табл. 2.1.

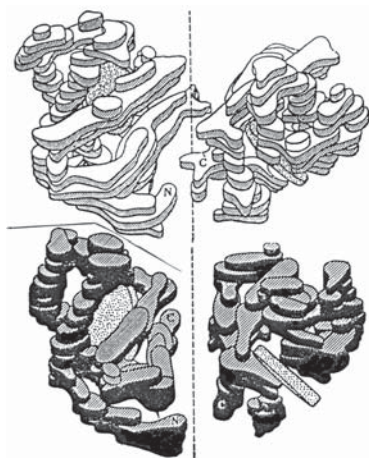


Рис. 2.12. Четвертинна структура молекули гемоглобіну.

Значний фізіологічний та клінічний інтерес становить білок еритроцитів гемоглобін (Hb), що є транспортером кисню в організмі людини та вищих тварин. Він є типовим представником білків, що мають четвертинну структуру. М.м. гемоглобіну дорівнює 68 кД; його молекула побудована з чотирьох попарно однакових субодиниць — двох **α -** та двох **β -** поліпептидних ланцюгів, кожен з яких з'єднаний з небілковою сполукою *гемом* — порфіриновим похідним, що зв'язує молекулу кисню (рис. 2.12):

Білки з четвертинною структурою можуть включати як однакові протомери (як у прикладі гемоглобіну), так і різні. У складі багатьох білків-ферментів містяться різні протомери, що виконують різні біохімічні функції (зокрема, каталітичну та регуляторну).

Доменні білки

Домени — структурні ділянки білкових молекул, що являють собою глобулярні утворення всередині білків із третинною структурою. Діаметр глобулярного домену дорівнює в середньому 2,5 нм; до його складу входить 100-150 амінокислотних залишків.

Окремі домени є функціонально відносно автономними утвореннями в складі білкових молекул, і доменні білки в цьому відношенні подібні до олігомерних білків. Але, на відміну від білків із четвиртинною структурою (олігомерів), окремі доменні глобули утворюються тим самим поліпептидним ланцюгом і, відповідно, зв'язані між собою пептидними фрагментами (“шарнірними” ділянками). Зв'язки між доменами можна розщепити тільки за допомогою протеолітичних ферментів.

Прикладами доменних білків є ферменти гліколітичного шляху окислення глюкози — *гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа* та *фосфогліцераткіназа* (рис. 2.13), у складі яких окремі домени реалізують різні етапи складного каталітичного акту.

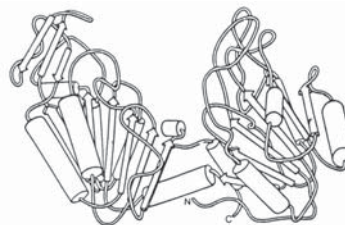


Рис. 2.13. Доменна організація ферменту фосфогліцераткінази.

Завершуючи розгляд молекулярних механізмів формування вищих рівнів структурної організації білків, необхідно зауважити, що **всі високовпорядковані форми просторової конформації білкових молекул детерміновані первинною структурою поліпептидного ланцюга, тобто амінокислотною послідовністю, яка визначається генетичним кодом клітини, в якій синтезується даний білок.**

Вторинна, третинна, четвиртинна та доменна організації білків є результатом довільного, спонтанного формування просторових угруповань, що спрямовані на досягнення складним біофізичним утворенням, яке являє собою макромолекулу білка, термодинамічно стабільного стану (рис. 2.14).

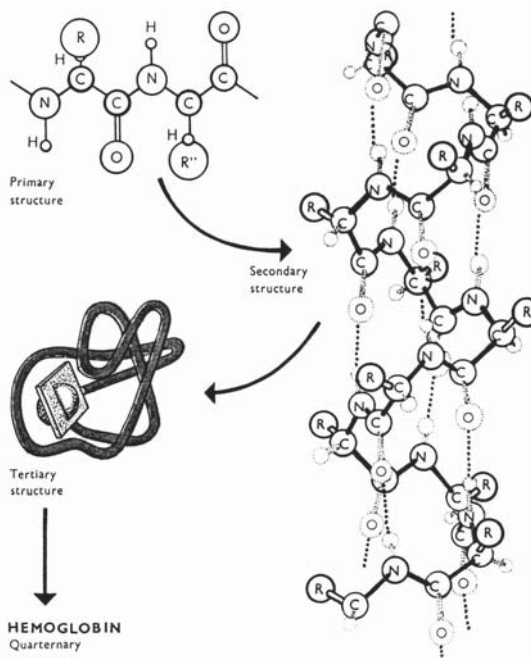


Рис. 2.14. Формування вищих рівнів структурної організації білків на основі первинної структури.

2.4. ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ

1. Кислотно-основні властивості білків.

Завдяки наявності значної кількості іоногенних груп (α -амінні та α -карбоксильні кінцеві групи, бічні радикали кислих та основних амінокислот) білкові молекули є амфотерними електролітами й у водних розчинах утворюють амфіони, знак та заряд яких залежить від їх амінокислотного складу та рН середовища.

Подібно до вільних амінокислот, у кислому середовищі переважають катіонні форми білкових молекул, у лужних — аніонні. Наявність заряду в молекулах білків визначає їх здатність до *електрофорезу* — руху в постійному електричному полі. Електрофоретична рухомість молекул білків залежить від їх заряду та молекулярної маси, що дозволяє застосовувати метод електрофорезу для фракціонування складних білкових сумішей.

Електрофорез як метод розділення білків сироватки крові широко використовується в клінічній біохімії. При застосуванні паперового або гелевого електрофорезу білки крові поділяються на такі основні фракції: *альбуміни*, α_1 -, α_2 -, β - та γ -глобуліни, *фібриноген* (детально — див. главу “*Біохімія крові*”).

Змінюючи рН, можливо перевести білок у стан, при якому сумарний електричний заряд білкової молекули дорівнює нулю (*ізоелектричний стан*). Відповідне значення рН отримало назву *рН ізоелектричної точки білка (pI)*. У складі більшості природних білків кількість аніоногенних амінокислотних залишків перевищує кількість катіоногенних залишків, тому для багатьох білків pI знаходиться в кислому середовищі, і при нейтральних або слаболужних значеннях рН вони знаходяться у формі аніонів (наприклад, білки плазми крові). Лужними є компоненти ядерних дезоксирибонуклеопротейнів білки *гістони*, що містять у своєму складі значну кількість залишків позитивно заряджених амінокислот аргініну та лізину.

2. Розчинність білків.

Розчинність окремих білків у різних фізико-хімічних середовищах залежить від переважання в їх складі полярних або неполярних амінокислотних залишків.

Багато глобулярних білків (зокрема, білків сироватки крові та інших біологічних рідин) містять на своїй поверхні гідрофільні залишки полярних незаряджених або заряджених амінокислот, які добре взаємодіють із дипольними молекулами води, утворюючи навколо білкових молекул гідратні оболонки. Ці білки добре розчинні у воді або слабких сольових розчинах солей лужних металів.

Збільшення в розчинах вмісту катіонів металів та амонію супроводжується дегідратацією білкових молекул і осадженням певних білків (метод *висолювання*). Із цією метою найбільш часто використовуються концентровані розчини сульфату амонію, сульфату натрію, хлоридів натрію та калію. Змінюючи концентрацію висолюючих реагентів, можливо здійснювати диференційоване осадження (фракціонування) певних білкових фракцій. Наприклад, в умовах напівнасичення сироватки крові сірчанокислим амонієм відбувається осадження глобулінів, при повному насиченні — альбумінів.

3. Денатурація білків.

Під *денатурацією* розуміють втрату білковою молекулою притаманної їй просторової структури (*нативної конформації*) та порушення характерних для даного білка фізико-хімічних властивостей. Денатурація супроводжується зниженням або втратою специфічної для даного білка біологічної активності (ферментативної, гормональної тощо).

Вона відбувається внаслідок впливу на білкові розчини та білки, що знаходяться в біологічних середовищах, жорстких хімічних, фізико-хімічних та фізичних факторів. Денатурацію викликають дія кислот, лугів, органічних розчинників, нагрівання білків до 60–80 °С, дія високих доз ультрафіолетового та іонізуючого випромінювання.

Механізм впливу денатуруючих агентів полягає в руйнуванні слабких зв'язків (водневих, іонних, дипольних, гідрофобних), що стабілізують упорядковані типи просторової організації білкових молекул (вторинну та третинну структуру).

4. Взаємодія білків із різними хімічними лігандами.

Внаслідок наявності на поверхні білкових молекул значної кількості активних функціональних груп, білки здатні до зв'язування різноманітних хімічних лігандів. До лігандів, з якими можуть взаємодіяти білкові молекули, належать низькомолекулярні та високомолекулярні сполуки, зокрема як біомолекули, так і чужорідні хімічні сполуки, що надходять в організм з оточуючого середовища.

Зв'язування білками певних хімічних лігандів у багатьох випадках є механізмом реалізації транспортної, регуляторної або каталітичної функцій даних білків. Наприклад, сорбція жирних кислот та білірубину альбуміном сироватки крові, зв'язування глюкокортикоїдів та прогестинів транскортином плазми є етапом циркуляторного транспорту цих біомолекул, взаємодія специфічного білка клітин шлунка (фактору Касла) з вітаміном B_{12} необхідна для всмоктування цього вітаміну слизовою оболонкою. Взаємодія деяких білків із лігандами являє собою форму депонування останніх (наприклад, зв'язування іонів заліза з білком феритином).

Поряд із білками, взаємодія яких із небілковими лігандами є етапом їх транспорту або депонування, існують класи білків, які постійно зв'язані з певними небілковими сполуками, що являються інтегральними структурними компонентами цих білків. У даному випадку йдеться про генетичну запрограмованість окремих білкових структур до взаємодії із своїми лігандами і реалізацію білком його специфічних функцій тільки у складі таких хімічних або фізико-хімічних комплексів. На відміну від зазначених вище типів взаємодій, зв'язування таких складних білків з їх небілковими частинами в багатьох представників цих білків (глікопротеїнів, фосфопротеїнів) відбувається *внутрішньоклітинно*, є етапом біосинтезу даного білка — посттрансляційної модифікації, що здійснюється в ендоплазматичному ретикулумі або апараті Гольджі після рибосомального збору поліпептидного ланцюга.

Прості та складні білки

Білки, до складу яких входять лише залишки амінокислот, об'єднані в поліпептидні ланцюги, отримали назву *простих білків*. Білки, до складу яких входять приєднані ковалентними або нековалентними зв'язками інші біомолекули або іони металів, називаються *складними білками*.

Сполуками неамінокислотної природи, що входять до складу складних білків (*простетичними групами*), можуть бути вуглеводи, ліпіди, нуклеїнові кислоти, нуклеотиди, порфірини, іони металів, залишки фосфорної кислоти. Простетична група може бути з'єднана з білковою частиною (*апопротеїном*) як ковалентними зв'язками, так і нековалентними (водневими, іонними, гідрофобними).

Залежно від хімічної природи простетичної групи складні білки поділяються на:

а) *глікопротеїни* — білки, простетичними групами в яких є моно- або олігосахариди. У складі глікопротеїнів вуглеводна частина ковалентно зв'язана з одним із бічних амінокислотних радикалів пептидного ланцюга. Комплекси білків із високомолекулярними гетерополісахаридами (мукополісахаридами) називаються *протеогліканами*;

б) *ліпопротеїни* — білки, простетичними групами яких є ліпіди (триацилгліцероли, складні ліпіди тощо);

в) *нуклеопроїтеїни* — білки, небілковою частиною яких є нуклеїнові кислоти ДНК та РНК (дезоксирибонуклеопроїтеїни та рибонуклеопроїтеїни, відповідно). Нуклеопроїтеїни є надмолекулярними комплексами, що становлять субклітинні органели — хроматин, рибосоми тощо;

г) *хромопроїтеїни* — білки, що мають забарвлену, пігментну простетичну групу (нуклеотид, порфірин у комплексі з металом); прикладами хромопроїтеїнів є флавопроїтеїни та цитохроми дихального ланцюга мітохондрій, гемоглобін еритроцитів;

д) *металопротейни* — білки, які містять метал, що не входить до складу металопорфіринового комплексу;

е) *фосфопроїтеїни* — білки, які містять у своєму складі залишок фосфорної кислоти, поєднаний фосфодієфірним зв'язком із гідроксильною групою серину або треоніну пептидного ланцюга.

2.5. МЕТОДИ ВИДІЛЕННЯ ТА АНАЛІЗУ БІЛКІВ І ПЕПТИДІВ

2.5.1. Методи виділення та фракціонування білків

Виділення індивідуальних білків із тканин, клітин та біологічних рідин живих організмів (тварин, рослин, бактерій, сироватки крові людини) є розповсюдженою біохімічною та біотехнологічною процедурою, що широко застосовується з метою отримання лікарських засобів (гормонів, ферментів, інтерферонів) або дослідження властивостей певних білків в аналітичній біохімії.

Виділення білків

Для виділення білків із біологічних об'єктів найчастіше використовують їх *екстрагування* за допомогою різних розчинників, вибір яких залежить від фізико-хімічних властивостей білка або групи білків, яку потрібно отримати. У разі необхідності одержання білків, які локалізовані в певних субклітинних органелах та зв'язані з біоструктурами (мембранами, ядерним хроматином тощо), процедура виділення білка включає в себе:

- руйнування тканинних та клітинних структур (гомогенізація тканини, механічне розтирання, осмотичний шок);
- диференційне центрифугування тканинних гомогенатів із метою отримання ізольованих фракцій ядер, мітохондрій, мембран ендоплазматичного ретикулу, лізосом тощо;
- переведення білків субклітинних фракцій у розчинний стан шляхом обробки біоструктур детергентами або сольовими розчинниками;
- осадження білків шляхом висолювання або застосування таких дегідратуючих реагентів, як етанол (метод Кона), ацетон.

Фракціонування білків

Результатом зазначених біохімічних процедур є, як правило, отримання екстрактів, в яких міститься значна кількість різних білків та небілкових компонентів. Тому наступним етапом виділення індивідуальних білків є *фракціонування*

білкових сумішей, яке здійснюється на основі відмінностей у фізико-хімічних властивостях індивідуальних білків (молекулярній масі, заряді, розчинності, хімічній та біохімічній активності). Ці ж методи дозволяють проводити визначення і відповідних фізико-хімічних параметрів певних білкових молекул.

Методи фракціонування:

1. Методи, що базуються на відмінностях у молекулярній масі білків:

– *метод ультрацентрифугування* (седиментаційного аналізу).

Метод ґрунтується на застосуванні швидкісних ультрацентрифуг, за допомогою яких білкові молекули (або інші високомолекулярні сполуки) зазнають дії центробіжного прискорення, що в сотні тисяч разів перевищує прискорення земного тяжіння (100 000–500 000 g). Внаслідок дії значної центробіжної сили, макромолекули осідають (*седиментують*) із швидкістю, яка залежить від їх розмірів та молекулярної маси.

Визначення швидкості седиментації білкової молекули, яка виражається *коефіцієнтом седиментації s*, дозволяє обчислити молекулярну масу білка (M) за рівнянням Сведберга:

$$M = \frac{RTs}{D(1 - v\rho)}$$

де R — газова стала, T — абсолютна температура, D — коефіцієнт дифузії білка, v — парціальний питомий об'єм білка, ρ — густина розчинника.

– *метод гель-фільтрації* (гель-хроматографії).

В основу методу покладено відмінності в швидкостях проходження (фільтрації) білкових молекул, що відрізняються молекулярними масами, через спеціальні гелі, які відіграють роль *молекулярних сит*.

Для гель-фільтрації застосовують полімерні сполуки, найчастіше — похідні полісахариду декстрану (комерційна назва — Сефадекси), що мають форму гранул із порами певного розміру. Під час проходження через хроматографічну колонку, яка містить гранули Сефадексу, суміші білків та інших хімічних сполук, відбувається фракціонування останніх залежно від розмірів молекул та, відповідно, здатності до проникнення в сітку гелю. Швидкість проходження різних молекул через молекулярні сита зворотно пропорційна їх розмірам та молекулярним масам.

2. Методи, що базуються на відмінностях у кислотно-основних властивостях білків.

Амфійонні властивості білків дозволяють здійснювати їх фракціонування методами іонообмінної хроматографії та електрофорезу.

Метод *іонообмінної хроматографії* базується на здатності заряджених молекул білків вибірково зв'язуватися за допомогою іонного обміну з певними ділянками іонообмінників. Фракціонування компонентів білкових сумішей досягається шляхом пропускання буферних розчинів білків при різних значеннях рН через хроматографічні колонки, що містять катіоно- або аніонообмінники.

Із метою хроматографічного розділення білків шляхом іонного обміну найчастіше використовують іонообмінники на основі целюлози: катіонообмінник діетиламіноетилцелюлозу (DEAE-целюлозу) або аніонообмінник карбоксиметилцелюлозу (KM-целюлозу).

3. Методи, що базуються на відмінностях у біохімічній активності індивідуальних білків.

Ця група методів ґрунтується на використанні різної спорідненості природних білків до певних хімічних лігандів, з якими окремі білкові молекули активно взаємодіють у живих організмах — *хроматографія за спорідненістю*, або *афінна хроматографія* (від англ. affinity — спорідненість, нахил).

Для реалізації методу афінної хроматографії суміш білків пропускають через хроматографічну колонку, що містить природні ліганди для білка, який потрібно виділити із складної біологічної суміші. Наприклад, для виділення ферментів застосовують їх специфічне зв'язування із субстратами, гормонів — із рецепторами, імуноглобулінів — із відповідними антигенами.

2.5.2. Методи визначення амінокислотного складу та первинної структури білків і пептидів

Вивчення амінокислотного складу білків

Дослідження амінокислотного складу (ідентифікація окремих амінокислотних залишків та з'ясування їх кількісного складу) є першим етапом у визначенні первинної структури білка чи пептиду.

Етапи вивчення амінокислотного складу білків (пептидів):

а) *гідроліз пептидного ланцюга білка чи пептиду, що досліджується.*

Гідроліз пептидного ланцюга здійснюється шляхом кислотного розщеплення пептидних зв'язків. Стандартною процедурою гідролізу є кип'ятіння білка в соляній кислоті (5,7 моль/л) при 105-110 °С протягом 24 год;

б) *розділення амінокислот гідролізату.*

Здійснюється шляхом іонообмінної хроматографії компонентів гідролізату на сульфополістиролових смолах, що несуть на своїй поверхні катіонні групування — $\text{SO}_3\text{H}^- \text{Na}^+$. При пропусканні через хроматографічну колонку, що заповнена сульфополістиролом, суміші амінокислот останні сорбуються на певних рівнях колонки. Подальше промивання колонки буферними розчинами з різними значеннями рН призводить до вимивання (*елюції*) певних амінокислот;

в) *ідентифікація та кількісне визначення окремих амінокислот.*

Здійснюється за допомогою реакції з нінгідрином або флуорескаміном, які дають при взаємодії з амінокислотами відповідні кольорові або флуоресцюючі комплекси (див. розділ 2.2).

Метод кількісного аналізу амінокислотного складу білків та пептидів був уперше запропонований у 1958 р. У.Стейном (W.Stein) та С.Муром (S.Moore) і в наш час реалізується за допомогою автоматичних амінокислотних аналізаторів.

Розшифровка первинної структури білків і пептидів

Визначення послідовності амінокислотних залишків у молекулах білків та пептидів (розшифровка первинної структури) складається з таких етапів:

1. *Аналіз N- та C-кінцевих амінокислотних залишків*

Оскільки в поліпептидному ланцюзі, що формує первинну структуру будь-якого білка, на одному кінці розташована вільна $\alpha\text{-NH}_2$ -група, а на другому — вільна

α -карбоксильна група, визначення N- та С-кінцевих амінокислотних залишків дозволяє оцінити кількість поліпептидних ланцюгів, що складають дану білкову молекулу.

Ідентифікація N-кінцевих амінокислот здійснюється шляхом використання хімічних реагентів, що ковалентно зв'язуються з кінцевою α -амінною групою пептидного ланцюга. Після подальшого кислотного гідролізу “міченого” пептиду хімічно модифікований N-термінальний амінокислотний залишок ідентифікується хроматографічним методом.

Для модифікації N-кінцевих амінокислот у білках та пептидах застосовують такі реагенти:

– 2,4-динітрофторбензол (ДНФБ) — реагент, який, взаємодіючи з α -аміногрупою кінцевої амінокислоти, утворює ДНФ-похідний білка чи пептиду. Подальший кислотний гідроліз продукту арилювання поліпептиду утворює суміш ДНФ-похідного N-кінцевої амінокислоти, яке ідентифікують хроматографічно, та вільних амінокислот, що входять до складу досліджуваного білка (рис. 2.15):

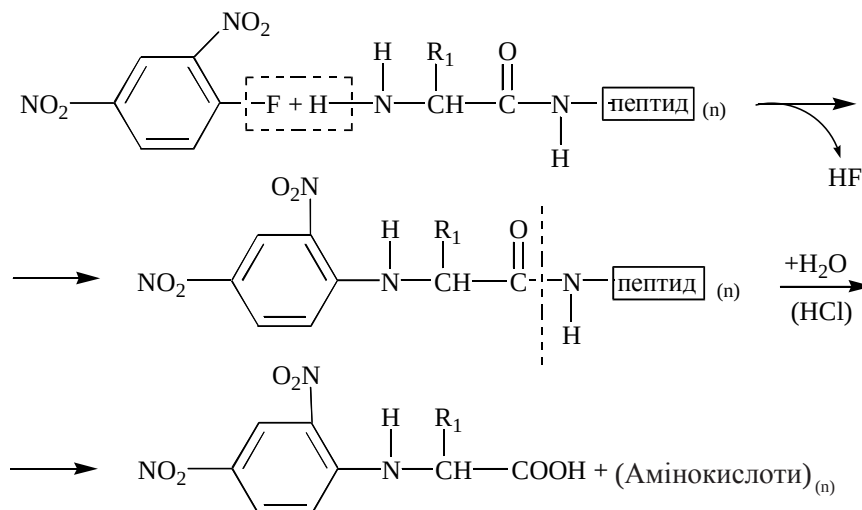


Рис. 2.15. Схема утворення ДНФ-похідних N-кінцевих амінокислот.

– дансил-хлорид (1-диметиламінонафталін-5-сульфохлорид, ДНС) — реагент, що в результаті взаємодії з N-кінцевою амінокислотою утворює ДНС-похідні білків та пептидів. Завдяки подальшому кислотному гідролізу ДНС-поліпептидів відбувається хроматографічна ідентифікація ДНС-амінокислот.

Ідентифікація С-кінцевих амінокислот здійснюється шляхом ферментативного гідролізу білків та пептидів карбоксипептидазами — протеолітичними ферментами, що специфічно відщеплюють від поліпептидного ланцюга С-кінцеву амінокислоту.

2. Фрагментація поліпептидного ланцюга та розділення пептидних фрагментів

Розщеплення досліджуваного білка чи пептиду на короткі фрагменти здійснюється, звичайно, методом ферментативного гідролізу із застосуванням протеолітичних

ферментів трипсину, хімотрипсину або інших протеаз (пепсину, еластази, папаїну тощо). Пептидні фрагменти, що утворились внаслідок гідролізу, складаються з 10-20 амінокислотних залишків і можуть розділятися за допомогою одного з хроматографічних методів (зокрема, методу *високоєфективної рідинної хроматографії* — ВЕРХ) або методом електрофорезу.

3. Визначення амінокислотних послідовностей у пептидах

Основним сучасним методом розшифровки амінокислотних послідовностей є метод ступінчастої деградації поліпептидних ланцюгів за допомогою *фенілізотіоціанату* (ФІТЦ).

Він був запропонований шведським біохіміком П.Едманом (P.Edman) у 1950-1956 рр. і складається з таких етапів:

- взаємодія ФІТЦ з α -аміногрупою N-кінцевої амінокислоти пептиду, що досліджується, з утворенням фенілтіокарбамоїл (ФТК)-пептиду;
- відщеплення в кислому середовищі від ФТК-пептиду фенілтіогідантоїнового (ФТГ)-похідного N-кінцевої амінокислоти та його ідентифікація (рис. 2.16):

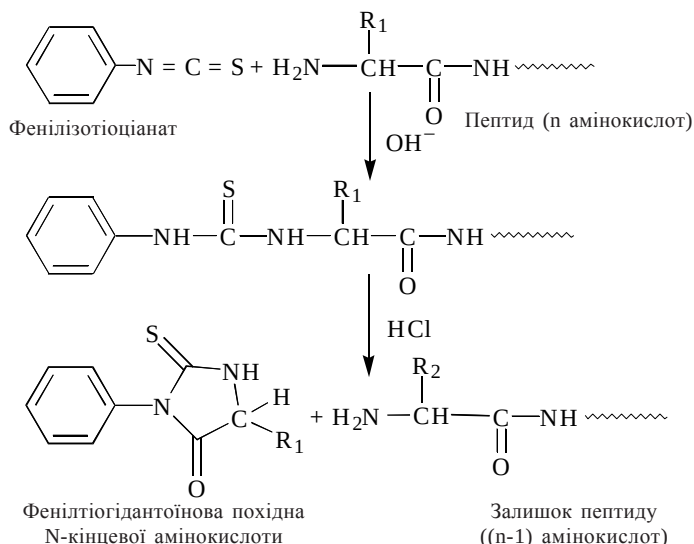


Рис. 2.16. Схема аналізу пептидів за методом П. Едмана.

Унікальною особливістю методу Едмана є послідовне вкорочення досліджуваного пептиду з N-кінця на один мономер без руйнування пептидних зв'язків між іншими амінокислотними залишками. Таким чином, стають можливими повторення зазначеної послідовності операцій та аналіз усього пептиду шляхом поступового відщеплення його N-кінцевих амінокислотних залишків. Автоматизація методу, що реалізована в спеціальному приладі — «сіквенаторі», від англ. — «sequence» — послідовність, дозволяє аналізувати з високою ефективністю продукти білкового гідролізу і природні пептиди.

ГЛАВА 3. НУКЛЕЙНОВІ КИСЛОТИ. НУКЛЕОТИДИ

Нуклеїнові кислоти — дезоксирибонуклеїнові кислоти (ДНК) та рибонуклеїнові кислоти (РНК) — це полінуклеотиди, що складаються з мономерних ланок — нуклеотидів (моонуклеотидів).

Нуклеотиди — трикомпонентні сполуки, які побудовані з азотистої основи пуринового чи піримідинового ряду, залишків пентоз (рибози або дезоксирибози) та фосфату.

Нуклеїнові кислоти є високомолекулярними сполуками з молекулярною масою від декількох тисяч (транспортні РНК) до кількох мільйонів дальтон (ДНК еукаріотів). Це біополімери, які разом із білками належать до класу *інформаційних біомакромолекул*. Нуклеїнові кислоти виконують ряд унікальних біологічних функцій, не властивих іншим біополімерам: забезпечують збереження і передавання нащадкам спадкової інформації, беруть безпосередню участь у механізмах її реалізації шляхом програмування матричного синтезу всіх білків індивідуального організму.

Нуклеотиди є структурними компонентами (мономерними ланками) молекул нуклеїнових кислот — ДНК та РНК. Крім того, деякі рибонуклеотиди та їх похідні, що не входять до складу нуклеїнових кислот (вільні нуклеотиди), виконують функції коферментів, кофакторів, алостеричних ефекторів різних ферментних систем. Особливе значення вільні нуклеотиди мають у ферментних процесах, що пов'язані з акумулюванням, зберіганням та міжмолекулярним перенесенням енергії в клітинах.

3.1. НУКЛЕОТИДИ: СТРУКТУРА, БІОХІМІЧНІ ФУНКЦІЇ

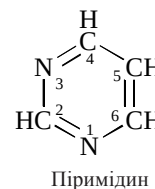
Структура нуклеотидів

За умов повного гідролізу нуклеїнових кислот (кислотного або лужного) в гідролізатах виявляють пуринові та піримідинові азотисті основи, пентози (D-рибоза або 2-дезокси-D-рибоза) та фосфорну кислоту.

В основі структури азотистих основ нуклеотидів лежать ароматичні гетероциклічні сполуки *пурин* та *піримідин*.



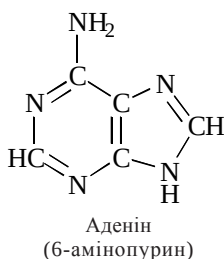
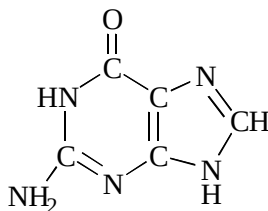
Пури́н



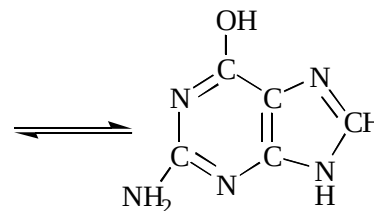
Піри́мідин

Пуринові основи нуклеїнових кислот

У гідролізатах нуклеїнових кислот постійно містяться дві пуринові основи — *аденін* (А) та *гуанін* (Г), — що мають таку будову:

Аденін
(6-амінопурин)

Лактамна форма

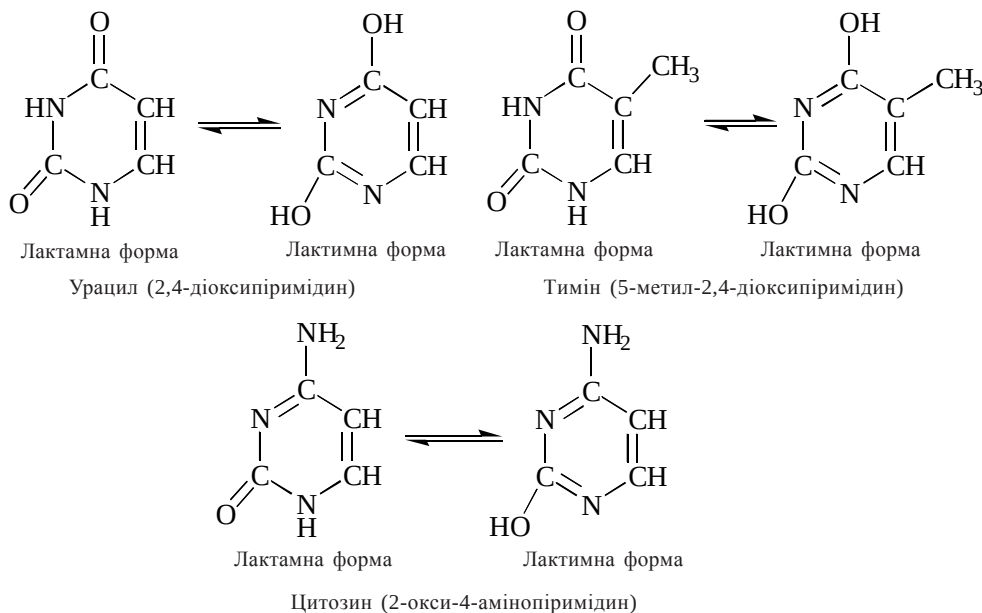


Лактимна форма

Гуанін (2-аміно-6-оксипури́н)

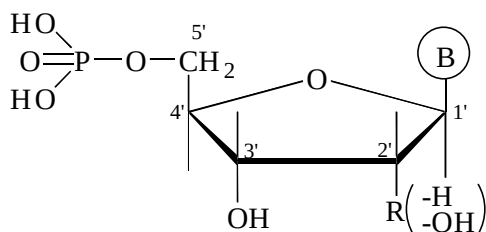
Піримідинові основи нуклеїнових кислот

До складу нуклеотидів нуклеїнових кислот входять три головні піримідинові основи: урацил (У), тимін (Т), цитозин (Ц).



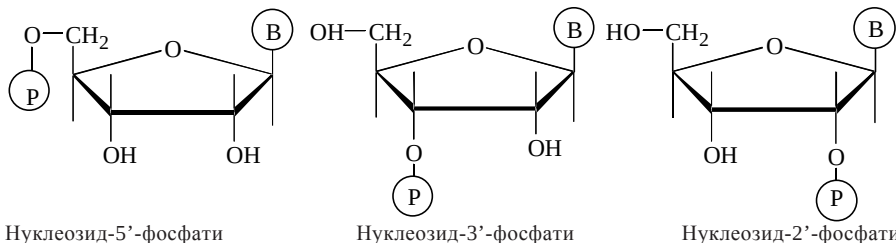
Оксипохідні пурину та піримідину можуть перебувати у двох таутомерних формах — лактамних і лактимних, — залежно від рН середовища. У складі нуклеотидів нуклеїнових кислот оксипохідні пурину та піримідину знаходяться в лактамній формі, що сприяє утворенню міжмолекулярних водневих зв'язків між пуринами та піримідинами окремих ланцюгів у дволанцюговій структурі молекул ДНК та в одноланцюгових РНК.

Нуклеозиди — двокомпонентні біоорганічні молекули, що складаються з азотистої основи (англ. “Base” — основа) пуринового чи піримідинового ряду та пентози (D-рибози або 2-дезоксид-рибози). Із точки зору хімічної структури нуклеозиди є N-глікозидами рибози або дезоксирибози та відповідної азотистої основи. В утворенні відповідних N-глікозидних зв'язків у піримідинових нуклеозидах беруть участь N-1 піримідину та C-1 пентози, а в пуринових — N-9 пурину та C-1 пентози.



Фосфорилування (ацилювання фосфорною кислотою) певного гідроксилу в пентозі, що входить до складу нуклеозиду, призводить до утворення нуклеотиду (нуклеозидфосфату). Нуклеотиди (та нуклеозиди) ДНК містять 2-дезоксид-рибозу, РНК — D-рибозу:

Залежно від місця фосфорилювання пентозного гідроксилу, розрізняють три типи нуклеотидів (нуклеозидмонофосфатів, НМФ):



У результаті гідролізу нуклеїнових кислот утворюються переважно нуклеозид-5'-фосфати (НМФ). Крім різниці в пентозах, нуклеотиди молекул РНК та ДНК розрізняються також за складом піримідинових основ (табл. 3.1).

Таблиця 3.1. Номенклатура нуклеозидів і нуклеотидів РНК та ДНК

Назви азотистих основ		Нуклеозиди	Нуклеотиди	Скорочені позначення нуклеотидів
повні	скорочені укр.; англ.			
РНК				
Пуринові:				
Аденін	(А; A)	Аденозин	Аденілова кислота (аденозин-5'-фосфат)	АМФ
Гуанін	(Г; G)	Гуанозин	Гуанілова кислота (гуанозин-5'-фосфат)	ГМФ
Піримідинові:				
Цитозин	(Ц; C)	Цитидин	Цитидилова кислота (цитидин-5'-фосфат)	ЦМФ
Урацил	(У; U)	Уридин	Уридилова кислота (уридин-5'-фосфат)	УМФ
ДНК				
Пуринові:				
Аденін	(А; A)	Дезокси-аденозин	Дезоксиаденілова кислота (дезоксиаденозин-5'-фосфат)	дАМФ
Гуанін	(Г; G)	Дезокси-гуанозин	Дезоксигуанілова кислота (дезоксигуанозин-5'-фосфат)	дГМФ
Піримідинові:				
Цитозин	(Ц; C)	Дезокси-цитидин	Дезоксицитидилова кислота (дезоксицитидин-5'-фосфат)	дЦМФ
Тимін	(Т; T)	Тимідин	Тимідилова кислота (тимідин-5'-фосфат)	ТМФ

Міnorні нуклеотиди

Крім зазначених вище основних п'яти азотистих основ (двох пуринових та трьох піримідинових), до складу деяких нуклеїнових кислот входять у відносно незначних кількостях додаткові (мінорні) азотисті основи та відповідні їм мінорні нуклеотиди. Найбільша кількість мінорних нуклеотидів зустрічається в молекулах транспортних РНК (тРНК) — до 5 % загального нуклеотидного складу. До мінорних нуклеотидів належать метильовані похідні звичайних азотистих основ, зокрема, 1-метиладенін, 2-метиладенін, 6-диметиладенін, 1-метилгуанін, 7-метилгуанін, 1-метилурацил, 5-оксиметилурацил, 3-метилцитозин тощо. ДНК людини містять значну кількість 5-метилцитозину, інформаційні РНК — N-метильовані похідні аденіну та гуаніну.

Нуклеотидом незвичайної структури, що входить до складу тРНК, є *псевдоуридин* (Ψ) — нуклеотид, в якому рибоза приєднана до урацилу в 5-му положенні, тобто не азот-вуглецевим, а вуглець-вуглецевим зв'язком.

Біологічні функції мінорних нуклеотидів до кінця не з'ясовані.

Біохімічні функції вільних нуклеотидів:

1. Участь в енергетичному обміні (реакціях окисного фосфорилування) — функцію виконують нуклеотиди аденілової системи (АТФ, АДФ). Ці ж нуклеотиди та АМФ можуть бути алостеричними модуляторами певних регуляторних ферментів, зокрема ферментів гліколізу, біосинтезу пуринових нуклеотидів.

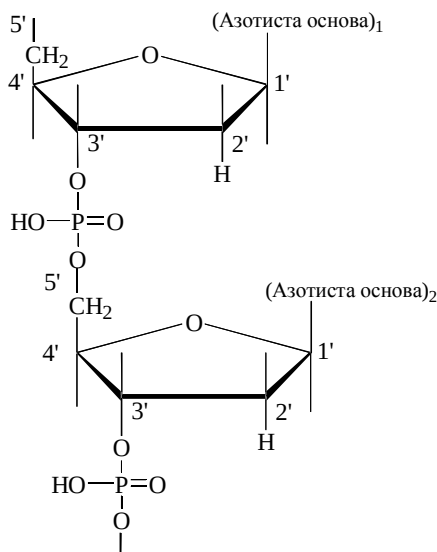
2. Участь у метаболічних реакціях у ролі коферментів, зокрема:

- НАД, НАДФ, ФАД, ФМН — у реакціях біологічного окислення;
- УТФ, УДФ — у реакціях біосинтезу глікогену;
- ЦТФ, ЦДФ — у біосинтезі гліцерофосфоліпідів.

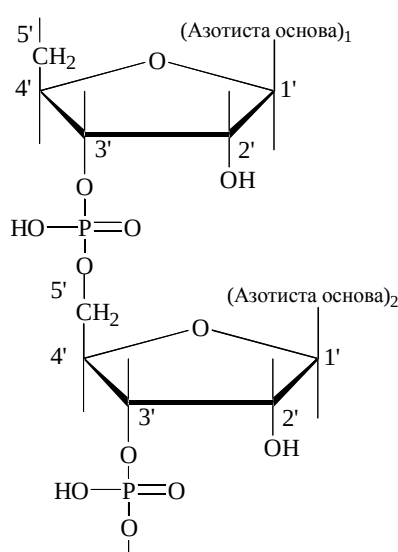
3.2. НУКЛЕЙНОВІ КИСЛОТИ: СТРУКТУРА, ВЛАСТИВОСТІ**Первинна структура нуклеїнових кислот**

Як уже зазначалося, всі класи нуклеїнових кислот (ДНК та РНК) є високомолекулярними сполуками, **основою первинної структури яких є полінуклеотидний ланцюг, побудований із мономерів — нуклеотидів.**

Окрім нуклеотиди сполучаються між собою в полінуклеотидний ланцюг за рахунок фосфодієфірних зв'язків, що утворюються між 3'- та 5'-гідроксильними групами пентоз (рибоз або дезоксирибоз) сусідніх нуклеотидів.



Первинна структура ДНК (фрагмент полідеоксирибонуклеотидного ланцюга).



Первинна структура РНК (фрагмент полірибонуклеотидного ланцюга).

При схематичному зображенні полінуклеотидних ланцюгів ДНК та РНК пентози позначають вертикальними лініями, 3'-, 5'-фосфодієфірні зв'язки — похилими лініями з буквою Ф (Р) посередині.



Цей самий ланцюг можна подати такою системою скорочених позначень:

фАфУфГфЦфАфТфУ

Відмінності в первинній структурі ДНК та РНК:

1. До складу нуклеотидів ДНК входить цукор 2'-дезоксирибоза, замість рибози в складі нуклеотидів РНК.
2. Нуклеотиди ДНК та РНК відрізняються за складом піримідинових основ:
 - у ДНК міститься піримідин *тимін* (5-метилурацил);
 - у РНК міститься піримідин *урацил* (замість тиміну).
3. Первинна структура ДНК та РНК відрізняється за наявністю деяких мінорних нуклеотидів.
4. Певні класи ДНК та РНК мають специфічні для них *послідовності нуклеотидів*, що визначають їх біологічні функції.

Т а б л и ц я 3.2. Особливості первинної структури ДНК та РНК

Нуклеїнові кислоти	Пентози	Азотисті основи	
		пурини	піримідини
ДНК	2'-дезоксирибоза	аденін, гуанін	цитозин, тимін
РНК	рибоза	аденін, гуанін	цитозин, урацил

Полярність полінуклеотидів

У полінуклеотидному ланцюзі ДНК або РНК виділяють два кінця: 5'-кінець, тобто той, що містить вільний (не зв'язаний із черговим нуклеотидом) 5'-гідроксил пентози, та 3'-кінець — той, що містить вільний (не зв'язаний із нуклеотидом) 3'-гідроксил пентози. У природних нуклеїнових кислотах 5'-кінець (5'-гідроксил кінцевої рибози або дезоксирибози) звичайно фосфорилюваний, 3'-кінець містить вільну ОН-групу. Прийнято вважати, що така нуклеїнова кислота *полярна* і має напрямок ланцюга 5' → 3'.

3.3. БУДОВА, ВЛАСТИВОСТІ ТА БІОЛОГІЧНІ ФУНКЦІЇ ДНК

Біологічні функції ДНК:

1. *Збереження спадкової інформації.*

Кількість ДНК у соматичних та статевих клітинах організму людини є сталою величиною, яку ці клітини отримують у процесах запліднення батьківських гамет та подальшого поділу зиготи.

2. Передавання генетичної інформації нащадкам.

Подвоєння молекул ДНК у процесі *реплікації* та передавання нащадкам копій материнських молекул є основою консерватизму спадковості, збереження протягом багатьох поколінь основних біологічних ознак виду.

3. Реалізація генетичної інформації.

Ця біологічна функція здійснюється за рахунок передачі закованої в ДНК інформації молекулам інформаційних (матричних) РНК (*транскрипції*) та подальшої розшифровки цієї інформації при синтезі білків (*трансляції*).

Сукупність зазначених біологічних функцій ДНК та механізмів їх реалізації отримала назву — **центральна догма молекулярної біології** (Ф.Крік) (рис. 3.1):

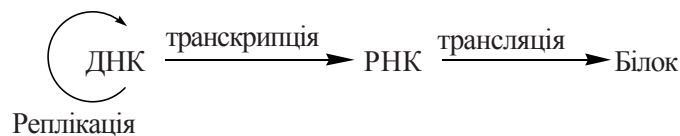
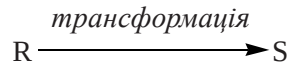


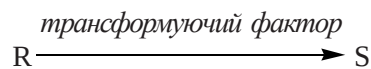
Рис. 3.1. Центральна догма молекулярної біології.

Експериментальне доведення генетичної ролі ДНК (феномен трансформації)

У 1928 р. англійським мікробіологом Ф. Гріффітом (F. Griffith) при вивченні двох штамів пневмококів *Streptococcus pneumoniae* — патогенного, що викликає пневмонію в людини та мишей (капсульної S-форми), та непатогенного мутанта (безкапсульної R-форми) — було відкрито явище *трансформації*. Вона полягала в можливості перетворення непатогенної R-форми в патогенну S-форму:



Гріффіт встановив, що трансформація пневмококів відбувається за умов взаємодії в організмі піддослідних тварин (мишей) вбитої нагріванням S-форми (патогенної) з живою непатогенною R-формою. Був зроблений висновок, що у вбитих нагріванням вірулентних клітинах пневмококів (штам S) присутній певний *трансформуючий фактор*, який, проникаючи в живі невірулентні клітини (штам R), змінює біологічні властивості останніх, надаючи їм властивість патогенності, до того ж ця властивість є спадковою:



Пізніше, в 1944 р., групою дослідників із Рокфелерівського інституту (США) — О.Евері, К.Мак-Леодом та М.Мак-Карті (O.Avery, C.McLeod, M.McCarthy) при дослідженні хімічної природи екстрактів патогенних пневмококів, які спричиняють трансформацію, було доведено, що трансформуючим фактором пневмококів є клітинна ДНК:



Таким чином, у результаті досліджень О.Евері та співавторів генетичне поняття “фактор спадковості”, або “ген” уперше набуло конкретного молекулярного змісту — ним виявилась дезоксирибонуклеїнова кислота.

Молекулярна маса і розміри молекул ДНК

Молекулярна маса (м.м.) дезоксирибонуклеїнових кислот суттєво варіює в різних біологічних об'єктах: вірусах, прокаріотичних та еукаріотичних клітинах.

Точному визначенню молекулярної маси різних зразків ДНК перешкоджає гідродинамічна ламкість гігантських молекул нуклеїнових кислот, особливо у вищих організмів, які при спробі виділити їх в інтактному стані руйнуються на більш короткі фрагменти. Крім того, ДНК багатьох об'єктів має складну молекулярну організацію і становить широкий спектр різних полінуклеотидних конформацій: лінійні одноланцюгові та дволанцюгові молекули, кільцеві одноланцюгові та дволанцюгові молекули, суперспіралізовані структури.

Утім, застосування сучасних фізико-хімічних методів дослідження та електронної мікроскопії дозволило встановити, що молекулярна маса ДНК (при розрахунку на один полінуклеотидний ланцюг) складає в середньому діапазон від 10^6 до 10^{11} дальтон (Д).

ДНК вірусів і прокаріотів

Найменшу молекулярну масу та довжину молекули мають ДНК найпростіших живих утворень — вірусів, зокрема вірусів бактерій (бактеріофагів). Наприклад, м.м. одного з найменших за розміром бактеріофагів — фага ϕ X 174 — становить (за даними різних досліджень) $1,6 \cdot 10^6$ (або $3,4 \cdot 10^6$) Д.

У прокаріотичних клітинах мікроорганізмів кількість ДНК та її молекулярна організація значно вищі, ніж у вірусів. Зокрема, ДНК кишкової палички *E. Coli* є ковалентно замкненим дволанцюговим кільцем з м.м. $1,9 \cdot 10^9$ (або, за іншими даними, $2,6 \cdot 10^9$) Д. Відповідно до зростання складності біологічної організації, при переході від вірусів до прокаріотів зростає і кількість нуклеотидних пар у дволанцюгових молекулах ДНК.

ДНК еукаріотичних клітин

У клітинах без'ядерних прокаріотів міститься одна молекула ДНК, яка розташована в спеціальній зоні цитоплазми — *нуклеоїді*. ДНК еукаріотів розміщена в ядрі й, поза фазами клітинного поділу, входить до складу аморфного нуклеопротейнового утворення — *ядерного хроматину*. В період підготовки до мітозу (у фазі S клітинного циклу) відбувається подвоєння ДНК із подальшою конденсацією хроматину й утворенням цитологічних структур — *хромосом*, — в яких сконцентрований ядерний генетичний матеріал клітини.

За рахунок подвоєння (реплікації) молекул ядерної ДНК у фазі S у кожній соматичній клітині утворюється *диплоїдний набір* генетичного матеріалу, що забезпечує його рівномірний поділ між двома дочірніми клітинами. Таким чином, в період *метафази* клітинного циклу (період, що передує розходженню в дочірні клітини генетичного матеріалу) **кожна хромосома еукаріотичної клітини містить дві повністю ідентичних молекули ДНК**. Кількість хромосом в еукаріотичних клітинах специфічна для біологічного виду. Так, клітини улюбленого об'єкта класичної генетики — плодової мушки *Drosophila melanogaster* — мають по 8 хромосом, соматичні клітини людини — 46 хромосом. Молекулярна маса ДНК із хромосом людського організму дорівнює в середньому $1,6 \cdot 10^{11}$ Д, що відповідає $2,4 \cdot 10^9$ парам азотистих основ. Фізична довжина розгорнутих молекул ДНК із клітин еукаріотів досягає декількох сантиметрів.

Молекулярні параметри розмірів ДНК деяких представників вірусів, прокаріотів та еукаріотів подано в табл. 3.3.

Таблиця 3.3. Молекулярна маса і розміри молекул ДНК із різних біологічних об'єктів

Біоб'єкт	Молекулярна маса, Д	Кількість нуклеотидних пар	Довжина молекули
Віруси			
Вірус полііоми	$3 \cdot 10^6$	$4,6 \cdot 10^4$	1,1 мкм
Бактеріофаг λ	$3,3 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^4$	13 мкм
Бактеріофаг Т4	$1,3 \cdot 10^8$	$2 \cdot 10^5$	50 мкм
Прокаріоти			
<i>Haemophilus influenzae</i>	$8 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^6$	300 мкм
<i>Escherichia coli</i>	$1,9 \cdot 10^9$	$3 \cdot 10^6$	1 мм
Еукаріоти			
<i>Drosophila melanogaster</i>	$4,3 \cdot 10^{10}$	$6,5 \cdot 10^7$	2 см
Хромосоми людини	$1,6 \cdot 10^{11}$	$2,4 \cdot 10^9$	8,2 см
Мітохондрії миші	$9,5 \cdot 10^6$	$1,4 \cdot 10^4$	5 мкм

Як свідчать дані таблиці 3.3, в цілому існує пряма пропорційність між зростанням еволюційного рівня, біологічної складності живих організмів та кількістю генетичного матеріалу, вираженого в чисельності нуклеотидних пар та, відповідно, молекулярній масі молекул ДНК. Значно менші молекулярні розміри та складність нуклеотидної організації ДНК мітохондрій тільки підтверджують існуючу теорію про походження цих органел із примітивних прокаріотів.

Вторинна структура

Вивчення нуклеотидного складу молекул ДНК із різних біологічних об'єктів показало, що, незалежно від джерела походження (бактеріальні, рослинні, тваринні організми), всі ДНК мають певні кількісні взаємовідносини між вмістом пуринових та піримідинових нуклеотидів. Згідно з цими закономірностями (*правилами Чаргафа*), у складі ДНК:

1) сума пуринових основ дорівнює сумі піримідинових основ, тобто:

$$A + G = T + C, \text{ або}$$

2) кількість 6-аміногруп дорівнює кількості 6-кетогруп (за хімічною номенклатурою Фішера);

3) вміст аденіну дорівнює вмісту тиміну, а вміст гуаніну дорівнює вмісту цитозину (*правило еквівалентності*):

$$A = T, G = C.$$

Зазначені кількісні взаємовідношення між азотистими основами, а також результати вивчення будови молекул ДНК методом рентгеноструктурного аналізу (М.Уілкінс), дозволили американському біохіміку Джеймсу Уотсону та англійському фізику Френсису Кріку, що працювали в Кембриджському університеті, запропонувати просторову модель структури молекули ДНК у вигляді подвійної спіралі.

Згідно з моделлю Уотсона-Кріка, молекула ДНК складається з двох ланцюгів, що утворюють правообертальну спіраль, в якій обидва полінуклеотидні ланцюги закручені навколо центральної осі; при цьому два полінуклеотидні ланцюги в молекулі ДНК антипаралельні (рис. 3.2, 3.3).

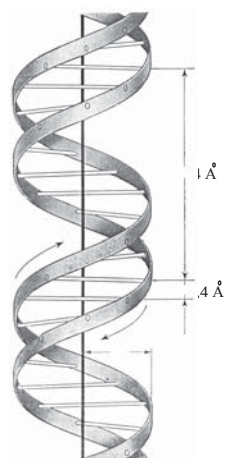


Рис. 3.2. Схематичне зображення двоспіральної молекули ДНК.

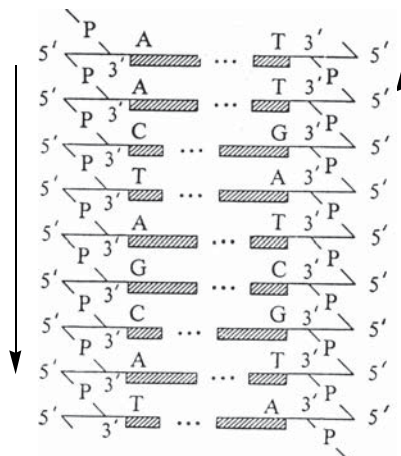


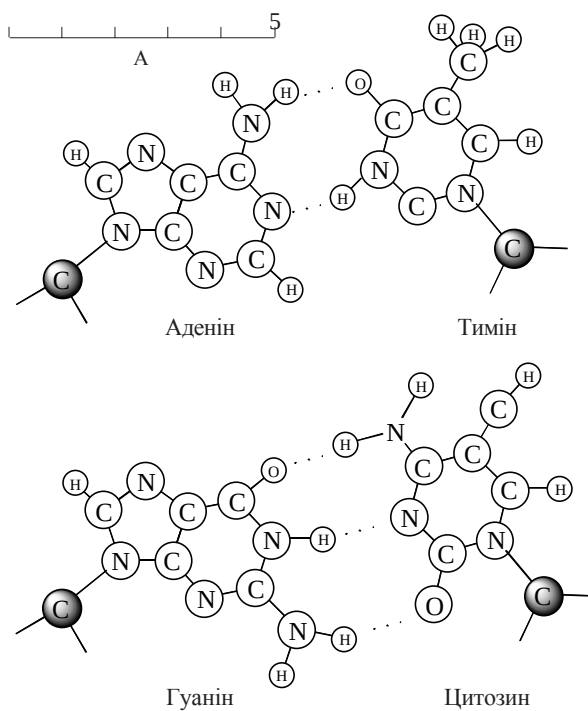
Рис. 3.3. Антипаралельність полінуклеотидних ланцюгів в молекулі ДНК.

Стабілізація подвійного ланцюга здійснюється за рахунок водневих зв'язків, що утворюються між протилежно розташованими, так званими *комплементарними* (додатковими), азотистими основами (аденіном і тиміном та гуаніном і цитозином, відповідно), що пояснює зазначені вище емпіричні правила Чаргафа.

Крім водневих зв'язків, стабільність молекули ДНК підтримується також у результаті взаємодій між π -електронними хмарами гетероциклів азотистих основ, що розміщені один під одним вздовж осі спіралі — так звані “стекинг-взаємодії”.

Структурні особливості подвійної спіралі: діаметр спіралі — 20 μ ; відстань між азотистими основами впродовж осі спіралі — 3,4 $\text{\AA}$; спіральна структура повторюється з інтервалом у 34 $\text{\AA}$, тобто через 10 нуклеотидних пар.

Зазначені структурні особливості стосуються запропонованої Уотсоном і Кріком В-форми молекули ДНК (рис. 3.4). Разом із тим, залежно від взаємодії з різною



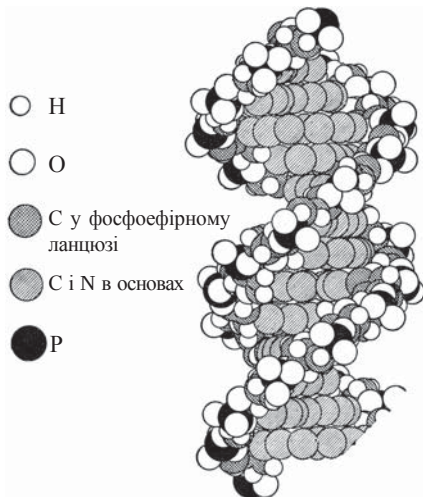


Рис. 3.4. В-форма молекули ДНК.

кількістю молекул води та катіонами, ДНК набуває інших структурних форм: А, С та Z, які можуть відповідати певним фізіологічним умовам та взаємодії ДНК із білками ядерного хроматину (С-форма).

Третинна структура

У живій клітині подвійна спіраль, що становить вторинну структуру ДНК, не має вигляду розгорнутої молекули, а додатково згорнута в просторі, утворюючи певні третинні структури — *суперспіралі*.

У суперспіралізованому стані молекули ДНК у комплексі з певними клітинними білками входять до складу нуклеоїду прокаріотів та ядерного хроматину еукаріотів. Завдяки суперспіралізації довгі молекули

ДНК формують компактні утворення, зокрема хромосоми ядра. Так, у результаті компактизації ядерна молекула ДНК клітин організму людини, що становить приблизно 8 см, вміщається в хромосомі довжиною 5 нм.

Фізико-хімічні властивості

Реакційноздатність

Усі полінуклеотиди, ДНК зокрема, є сильними багатоосновними кислотами з низьким значенням рК. Кислотність ДНК обумовлена вторинними фосфатними групами, що при $\text{pH} > 4$ повністю іонізовані.

Завдяки кислотним властивостям і наявності на своїй поверхні негативних зарядів молекули ДНК при фізіологічних значеннях рН активно реагують і утворюють комплекси з катіонами:

- поліамінами (спермідин, спермін);
- основними білками (гістонами, протамінами);
- катіонами металів (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+}).

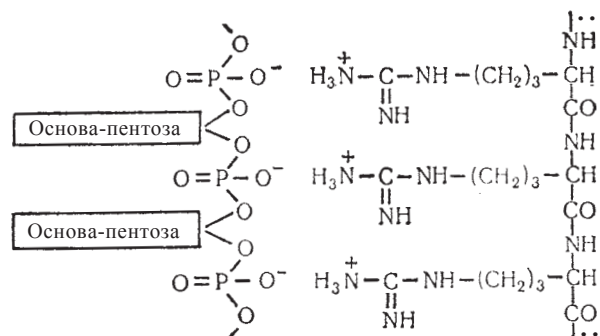


Рис. 3.5. Схема взаємодії полінуклеотидного ланцюга ДНК з основними білками.

В'язкість та оптична активність

Висока молекулярна маса і велика довжина молекул ДНК зумовлюють високу в'язкість навіть дуже розбавлених їх розчинів. В'язкість молекул ДНК у розчині залежить від їх конформації і суттєво змінюється за умов *денатурації* та *ренатурації* (див. нижче), що дозволяє використовувати віскозиметричні методи для дослідження кінетики цих процесів.

Завдяки впорядкованій вторинній структурі молекули ДНК є оптично активними, тобто вони здатні обертати площину поляризованого світла. Оптична активність розчинів ДНК також застосовується з метою реєстрації конформаційних змін молекул.

Поглинання в УФ-ділянці

Азотисті сполуки (та відповідні нуклеотиди), що входять до складу нуклеїнових кислот ДНК і РНК, мають властивість поглинати ультрафіолетове світло при 260 нм.

За умов утворення полінуклеотидів взаємний вплив паралельно розташованих по довжині молекули ДНК пар азотистих основ супроводжується певним зниженням УФ-поглинання. Таким чином, поглинання при 260 нм нативної молекули ДНК дещо нижче (в середньому на 40 %) від відповідного поглинання суми азотистих основ, що входять до складу полінуклеотиду — *гіпохромний ефект*. При порушенні високопорядкованої двоспіральної конформації ДНК та структурних взаємовідносин між азотистими основами спостерігається *гіперхромний ефект*, тобто зростання поглинання розчинів молекул ДНК при 260 нм, що дозволяє досліджувати процес денатурації.

Денатурація

Денатурація ДНК — це порушення нативної двоспіральної конформації молекул ДНК та їх упорядкованого просторового розташування з утворенням неупорядкованих одноланцюгових клубків. За умов денатурації ковалентні зв'язки в ДНК зберігаються, проте відбувається розкручування подвійної спіралі з втратою специфічних взаємодій між азотистими основами. *Ренатурація* — відновлення нативної вторинної конформації ДНК, що спостерігається за певних умов.

Денатурація ДНК супроводжується гіперхромним ефектом та зменшенням в'язкості її розчинів (рис. 3.6).

Нуклеїнові кислоти, що піддані процесу денатурації, втрачають свої біологічні властивості.

Молекулярною основою денатурації молекул ДНК є руйнування водневих зв'язків між комплементарними азотистими основами А–Т та Г–Ц, відповідно.

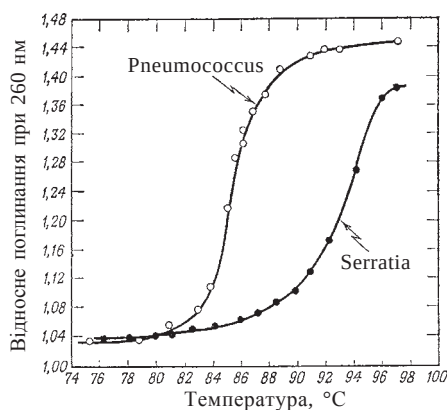


Рис. 3.6. Гіперхромний ефект у процесі денатурації ДНК мікроорганізмів.

Структурні зміни в молекулах ДНК, що призводять до їх денатурації, відбуваються внаслідок:

- різких змін рН у кислий або лужний бік;
- нагрівання розчинів ДНК до певних температур.

Термічна денатурація ДНК отримала назву процесу *плавлення*. Для кожного типу молекул ДНК (тобто молекул, що мають певний нуклеотидний склад) характерна відповідна температура денатурації, що позначається як *температура (точка) плавлення* — T_m (від англ. *melting* — плавлення). T_m різних зразків ДНК залежить від співвідношення в їх складі G–C- та A–T-пар.

Співвідношення між G–C- та A–T-парами є важливим показником нуклеотидного складу молекул ДНК з різних біологічних об'єктів. Оскільки між гуаніном та цитозином в складі двоспіральної молекули ДНК утворюється три водневі зв'язки (на відміну від двох — між аденином та тиміном), термічна дисоціація пари G–C потребує більших затрат енергії, тобто відбувається при більш високих температурах, ніж руйнування пари A–T. Виходячи з цього, температура плавлення молекул ДНК прямо пропорційна вмісту в них G–C-пар, що дозволяє використати визначення T_m як показника нуклеотидного складу ДНК.

3.4. БУДОВА, ВЛАСТИВОСТІ Й БІОЛОГІЧНІ ФУНКЦІЇ РНК

Рибонуклеїнові кислоти — полірибонуклеотиди, що в клітинах еукаріотів та прокаріотів за характером своєї структури та біологічних функцій поділяються на такі основні класи: інформаційні (матричні) РНК (мРНК), транспортні РНК (тРНК), рибосомні РНК (рРНК). У клітинах РНК-вмісних вірусів полірибонуклеотиди виконують генетичну функцію зберігання та переносу спадкової інформації.

Особливості *первинної структури* РНК розглянуто вище (табл. 3.2). На відміну від дволанцюгових ДНК, молекули РНК вищих організмів є одноланцюговими полінуклеотидами. Дволанцюгову структуру мають лише генетичні РНК деяких вірусів (реовірусів, вірусів ранових пухлин рослин, вірусу карликовості рису). Разом із тим, одноланцюгові РНК за рахунок внутрішньомолекулярних взаємодій набувають конформацій, що позначаються як вторинні та третинні структури.

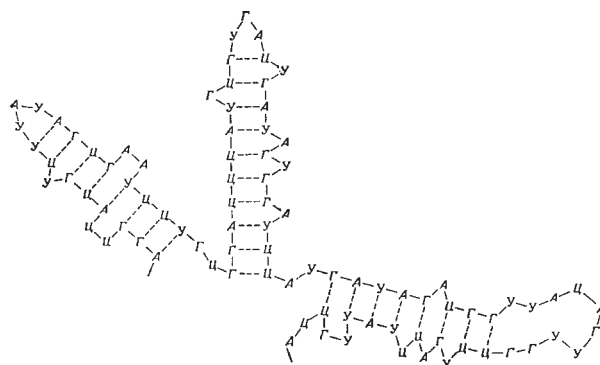


Рис. 3.7. Утворення “шпильок” у вторинній структурі РНК.

Вторинна структура одноланцюгових полірибонуклеотидів еукаріотів характеризується наявністю ділянок, що мають двоспіральну структуру. Ці ділянки молекул РНК (так звані “шпильки”) утворюються за рахунок згинів полірибонуклеотидного ланцюга та взаємодії між собою комплементарних азотистих основ (A–U

та Г–Ц) у межах одного ланцюга. Такі спіралізовані ділянки містять 20-30 нуклеотидних пар і чергуються з неспіралізованими фрагментами РНК (рис. 3.7).

Як і ДНК, полінуклеотиди РНК характеризуються максимумом поглинання при 260 нм, зумовленим азотистими основами, мають гіпохромний ефект, оптичну активність та підлягають денатурації при дії жорстких фізико-хімічних факторів.

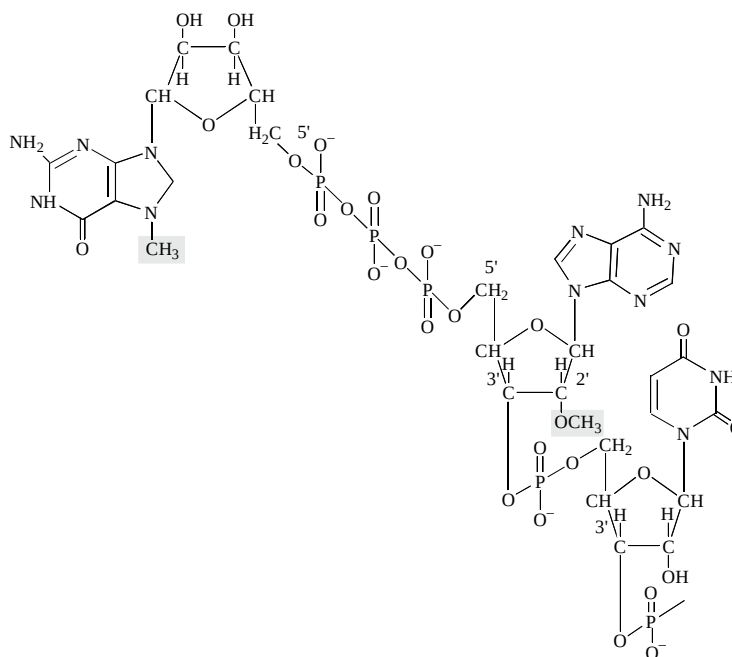
Інформаційні (матричні) РНК

Це клас РНК, що складають 2-5 % загальної кількості клітинної РНК. мРНК виконують функцію переносників генетичної інформації від геному (ядерної ДНК) до білоксинтезуючої системи клітини. Вони є інформаційними матрицями, які визначають амінокислотні послідовності в молекулах поліпептидів, що синтезуються в рибосомах.

мРНК властиві метаболічна нестабільність і найбільша гетерогенність молекулярної маси та розмірів молекул (від $25 \cdot 10^3$ до $1-2 \cdot 10^6$) з константами седиментації від 6 до 25 S. Широкий спектр окремих молекул мРНК відповідає кількості білків організму, носіями генетичної інформації для синтезу яких є РНК цього класу.

За своїм нуклеотидним складом мРНК відповідає (з урахуванням принципу комплементарності) нуклеотидній послідовності фрагмента одного з ланцюгів ядерної ДНК, транскриптом якого вона (мРНК) є. Особливістю первинної структури мРНК є також наявність на 5'- та 3'-кінцях молекули характерних для цього класу РНК нуклеотидних послідовностей.

5'-кінець усіх молекул мРНК еукаріотів та деяких вірусів в якості першого нуклеотиду містить 7-метилгуанозин (перший нуклеотид), що через трифосфатний залишок зв'язаний із 5'-гідроксисилом сусіднього (другого) нуклеотиду. Нуклеотид, з яким зв'язаний 5'-кінцевий 7-метилгуанозин, має, звичайно, метильовану по С-2'-рибозу:



Модифікований

7-метилгуанозином 5'-кінець мРНК має назву “кепа” (від англ. cap — шапочка). До його складу можуть входити 1-3 залишки 7-метилгуанозину.

3'-кінець багатьох мРНК еукаріотів містить відносно довгі поліаденілатні (poly(A)) послідовності. До складу poly(A)-“хвостів” мРНК — входять 20-250 нуклеотидів.

Вважають, що 5'-кепування та 3'-поліаденілування стабілізують молекули мРНК, запобігаючи дії нуклеаз, та мають велике значення для зв'язування мРНК із рибосомами в процесі трансляції.

Вторинна структура мРНК характеризується численними внутрішньоланцюговими двоспіральними ділянками ("шпильками"), до складу яких входить до 40-50 % нуклеотидного складу полірибонуклеотиду.

Транспортні РНК

На тРНК припадає 10-20 % клітинної РНК. Їх молекули — це полірибонуклеотидні ланцюги, довжина яких — 70-90 нуклеотидів. Молекулярна маса тРНК — $(23-28) \cdot 10^3$ кД, константа седиментації — 4 s. Усього в клітинах знаходиться не менше 20 типів тРНК, що відповідає кількості природних L-амінокислот, з якими тРНК взаємодіють у ході трансляції.

Первинна структура тРНК відзначається великою кількістю мінорних нуклеотидів — наявністю метильованих, псевдоуридилових та дигідроуридилових залишків.

Вторинна структура молекул тРНК у двовірному просторі має конформацію "листка конюшини", що утворюється за рахунок специфічної взаємодії комплементарних азотистих основ упродовж полірибонуклеотидного ланцюга. Неспарені нуклеотидні послідовності формують специфічні для будови тРНК структурні елементи:

Акцепторну гілку (стебло) — 3'-кінець молекули, який містить термінальну послідовність нуклеотидів ЦЦА. Кінцевий аденозин через 3'-гидроксильну групу рибози акцептує амінокислоту в процесі трансляції.

Антикодонову петлю — містить групу з трьох нуклеотидів (*антикодон*),

комплементарних триpletу нуклеотидів (кодону) в складі мРНК. Ця петля відповідає за взаємодію тРНК із певними нуклеотидами мРНК при утворенні в рибосомі транслуючого комплексу.

Дигідроуридилову петлю — складається з 8-12 нуклеотидів, містить у собі 1-4 дигідроуридилові залишки.

Псевдоуридилову петлю — ділянка тРНК, яка в усіх молекулах містить обов'язкову нуклеотидну послідовність — 5'-ТΨС-3'. Вважають, що ця петля необхідна для взаємодії тРНК із рибосомою.

Додаткову гілку — структура, за кількістю нуклеотидних залишків в якій тРНК поділяються на два класи: тРНК класу I — містить 3-5 нуклеотидів; тРНК класу II — з додатковою гілкою, яка має довжину від 13 до 21 нуклеотиду.

Схему будови тРНК подано на рис. 3.8.

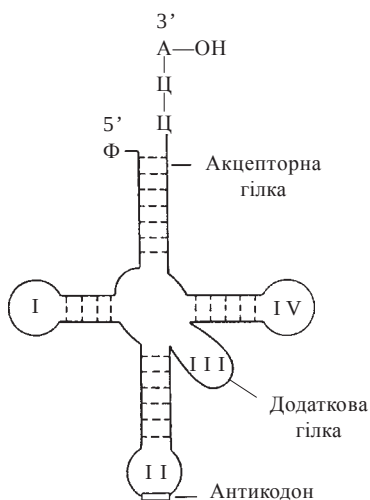


Рис. 3.8. Узагальнена схема вторинної структури молекули тРНК типу "листка конюшини".

Притаманні тРНК структури типу “листка конюшини” можуть утворювати більш компактні просторові конформації — третинні структури. За даними рентгеноструктурного аналізу, третинна структура молекул тРНК нагадує велику латинську літеру L.

Рибосомні РНК

Рибосомні РНК (рРНК) — клас клітинних РНК, що входять до складу рибосом прокаріотичних та еукаріотичних клітин. На рРНК припадає до 90 % загальної кількості клітинних РНК.

рРНК разом із специфічними білками становлять основу структури та функції рибосом (рибонуклеопротеїнових часточок), в яких відбувається процес *трансляції* — біосинтез поліпептидних ланцюгів на основі коду, що поставляється мРНК. Рибонуклеїнові кислоти цього типу є метаболічно стабільними молекулами; взаємодіючи з рибосомними білками, вони виконують функцію структурного каркаса для організації внутрішньоклітинної системи білкового синтезу.

Модифікованих (мінорних) основ у складі рРНК значно менше, ніж у тРНК. Проте рибосомні РНК є також високометильованими полірибонуклеотидами, в яких метильні групи зв’язані або з азотистими основами, або з 2'-гідроксильними групами рибози.

Вторинна структура рРНК представлена значною кількістю коротких двоспіральних ділянок, що мають вигляд “шпильок” або паличок.

Крім зазначених класів РНК, в ядрах клітин ссавців містяться рибонуклеїнові кислоти різної молекулярної маси, так звані *гетерогенні ядерні РНК (гяРНК)*. Їх молекулярна маса може перевищувати 10^7 . ГяРНК є продуктами транскрипції генів, що не зазнали посттранскрипційної модифікації — процесингу.

3.5. МОЛЕКУЛЯРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ЯДЕРНОГО ХРОМАТИНУ І РИБОСОМ

За своєю молекулярною організацією хроматин клітинного ядра або нуклеоїд та рибосоми еукаріотів і прокаріотів є складними за структурою нуклеопротеїновими комплексами.

Ядерний хроматин

Хроматин ядра еукаріотів є структурою, що на електронних мікрофотографіях являє собою волокна, які нагадують нитки намиста. Окремі кулеподібні намистини хроматинових волокон отримали назву *нуклеосом*.

Усередині нуклеосом знаходиться білкова частина — ядро, або нуклеосомний *кор* (від англ. core — серцевина, ядро), на поверхню якого намотаний відрізок двоспіральної ДНК (рис. 3.9).

До складу нуклеосомного кошу входять вісім молекул гістонів (гістоновий октамер): по дві молекули гістонів H2A, H2B, H3 та H4 (табл. 3.4).

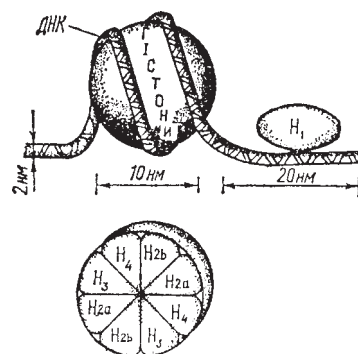


Рис. 3.9. Схема молекулярної організації нуклеосом ядерного хроматину.

Таблиця 3.4. Гістони ядерного хроматину

Тип	Молекулярна маса, кД	Вміст лізину, %	Вміст аргініну, %	Локалізація в нуклеосомі
H1	21,0	29	1,5	Інтерлінкерна ДНК
H2A	14,5	11	9,5	Кор нуклеосом
H2B	13,7	16	6,5	Кор нуклеосом
H3	15,3	10	13,5	Кор нуклеосом
H4	11,3	11	14,0	Кор нуклеосом

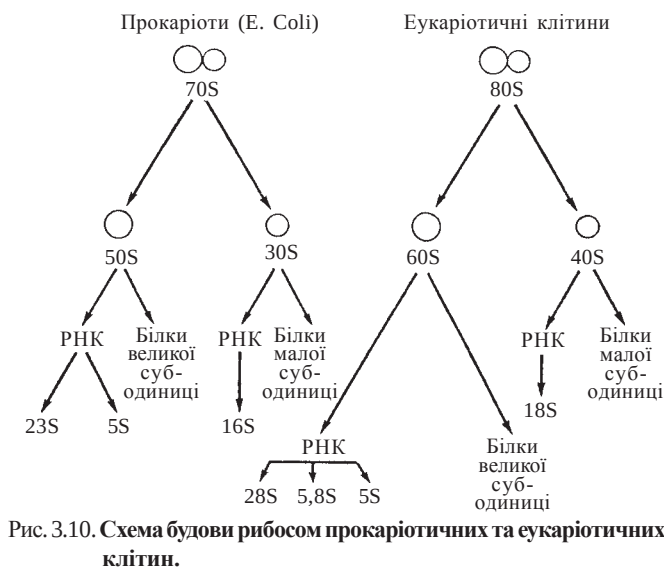
Гістоновий октамер у складі нуклеосомі формує кулеподібну структуру, обмотану двоспіральною ДНК за типом суперспіралі. Нуклеосомна ДНК утворює навколо кору 1,75 витка (приблизно 140 нуклеотидних пар) і переходить на іншу нуклеосому. Із відрізком ДНК, який об'єднує сусідні нуклеосоми (*лінкерна ДНК*, довжина якої — 50 нуклеотидних пар) зв'язаний гістон H1.

Гістони, що входять до складу хроматину, є основними білками, які містять значну кількість діаміномоноткарбонових амінокислот лізину та аргініну, позитивний заряд яких дає їм можливість утворювати солеподібні комплекси з фосфатними групами ДНК. Біологічна функція гістонів полягає в регуляції зчитування генетичної інформації з молекул ДНК.

Крім гістонів (білків основного характеру), до складу ядерного хроматину входять певна кількість кислих негістонових білків (НГБ) (декілька десятків фракцій) та незначний відсоток ліпідів і іонів металів, зокрема Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} . Біохімічні функції цих мінорних компонентів хроматину ще не повністю з'ясовані.

Рибосоми

Рибосоми — субклітинні часточки, що за біохімічним складом являють собою рибонуклеопротеїнові структури. Вони є “молекулярними машинами”, в яких відбуваються основні етапи біосинтезу білків — трансляції. У клітинах людини і тварин більша частина рибосом зв'язана з мембранами ендоплазматичного ретикулуму.



Рибосоми прокаріотичних та еукаріотичних клітин мають схожу молекулярну організацію, складаючись із двох субодиниць — меншої та більшої, — що відрізняються за розмірами та наборами специфічних рРНК і рибосомних білків (рис. 3.10).

Участь окремих субодиниць рибосом у реалізації біохімічних реакцій трансляції буде розглянуто в главі 21.

ГЛАВА 4. ВУГЛЕВОДИ ТА ЇХ ПОХІДНІ

Вуглеводи (глюциди, цукри) — біоорганічні сполуки, що за своєю хімічною будовою є *альдегідо-* та *кетопохідними багатоатомних спиртів*, або *поліоксіальдегідами* та *поліоксикетонами*.

Вуглеводи, що відповідають зазначеним хімічним структурам і не підлягають гідролізу (тобто розщепленню водою на більш прості сполуки), є *простими вуглеводами*, або *моносахаридами*. Вуглеводи, що гідролізуються до моносахаридів, мають назву *складних вуглеводів* — *олігосахаридів* та *полісахаридів*.

Вуглеводи утворюються в природі з діоксиду вуглецю та води за рахунок фотосинтезу, що протікає в рослинах та деяких мікроорганізмах, і складають основну масу органічного вуглецю біосфери; їх вміст у тканинах рослин становить близько 80 % маси. У свою чергу, рослинні вуглеводи є одним із основних джерел вуглецю для тваринних організмів.

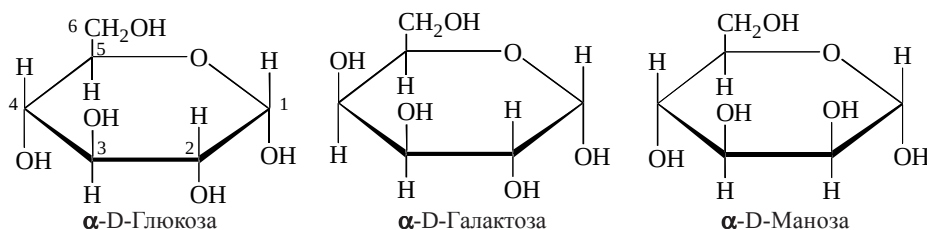
У тваринних організмах вміст вуглеводів відносно невисокий, становлячи в середньому 1-2 % сухої маси, в основному у вигляді резервного полісахариду глікогену. Втім, вуглеводи відіграють життєво важливі енергетичні (моносахариди глюкоза, фруктоза, гомополісахарид глікоген) та структурні (гетерополісахариди) функції.

4.1. МОНОСАХАРИДИ ТА ЇХ ПОХІДНІ

Залежно від кількості вуглецевих атомів, моносахариди (монози) поділяються на тріози, тетрози, пентози, гексози, гептози т.і. Найбільш поширеними в тваринних організмах моносахаридами є гексози та пентози, які знаходяться в клітинах як учасники обміну речовин — метаболіти та виконують певні структурні функції, входячи до складу інших біомолекул.

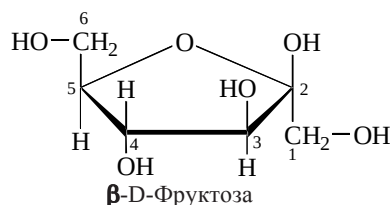
Гексози

Гексози поділяються на:



— альдогексози, до яких належать *D-глюкоза* і її епімери *D-галактоза*, *D-маноза*, *D-фруктоза* тощо;

— кетогексози, представником яких є *D-фруктоза*.



D-Глюкоза (виноградний цукор, декстроза) — моносахарид, широко поширений у природі: у вільному стані глюкоза знаходиться в рослинах, крові людини (4,44–6,66 ммоль/л) та інших біологічних рідинах. Глюкоза є структурним компонентом дисахаридів сахарози, лактози та гомополісахаридів крохмалю, клітковини та глікогену. Рослинний полісахарид крохмаль є основним джерелом надходження глюкози в організм людини. В організмі людини за рахунок аеробного окислення глюкози вивільняється в середньому 60–70 % хімічної енергії, необхідної для енергозабезпечення процесів життєдіяльності.

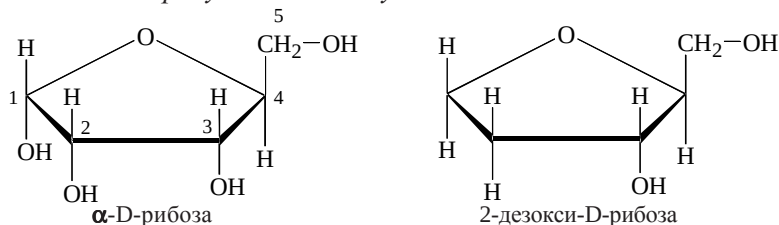
D-Галактоза (молочний цукор) — входить до складу дисахариду лактози, що міститься в молоці, а також у гетерополісахаридах (глікозамінгліканах, або мукополісахаридах) тваринних тканин. Головним джерелом галактози для організму людини є лактоза, яка після гідролізу звільнює галактозу, здатну перетворюватися на глюкозу.

D-Маноза — є структурним компонентом полісахариду манану, що є компонентом рослинних та бактеріальних глікопротеїнів; у вільному стані міститься в шкурці цитрусових. У тваринному організмі входить до складу олігосахаридної частини гліколіпідів та глікопротеїнів мембран та біологічних рідин. Продукт відновлення манози — шестиатомний спирт манітол (маніт) застосовують у медицині як осмотичний діуретик і як замітник сахарози в дієті хворих на цукровий діабет.

Пентози

Біологічно важливими представниками пентоз є:

- альдопентози: *D-рибоза*, *2-дезоксид-рибоза*, *L-арабіноза*, *D-ксилоза*;
- кетопентози: *D-рибулоза* і *D-ксиулоза*.



D-Рибоза — альдопентоза, що в β -фуранозній формі входить до складу нуклеотидів рибонуклеїнових кислот та вільних рибонуклеотидів, ряду коферментів (НАД, НАДФ, ФАД, ФМН), глікозидів і антибіотиків.

2-Дезоксид-D-рибоза (дезоксидрибоза) — пентоза, що відрізняється від D-рибози відсутністю атома кисню в 2-му положенні. Входить до складу нуклеотидів дезоксирибонуклеїнових кислот.

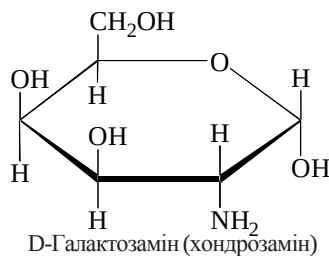
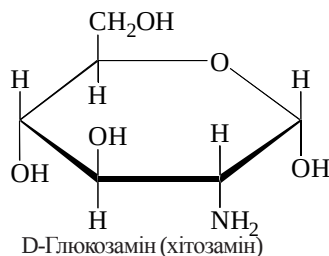
L-арабіноза — альдопентоза, що входить до складу полісахаридів рослин арабанів, рослинних камедів, зокрема, *гуміарабіку* (див. нижче), полісахаридів туберкульозної палички. У вільному стані міститься в хвойних деревах.

D-ксилоза — зустрічається у складі рослинних *ксиланів*. Використовується в кондитерському виробництві як поживна речовина для росту кормових дріжджів, а також для синтезу спирту *ксиліту*, що застосовується як лікарський засіб.

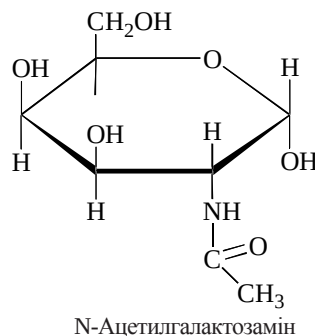
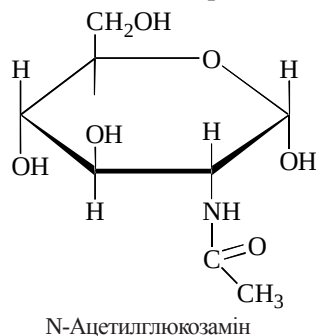
D-рибулоза, D-ксиулоза — кетопентози, які у вигляді фосфорних ефірів утворюються в організмі людини і тварин як метаболіти пентозофосфатного шляху обміну глюкози.

Амінопохідні моносахаридів (аміноцукри)

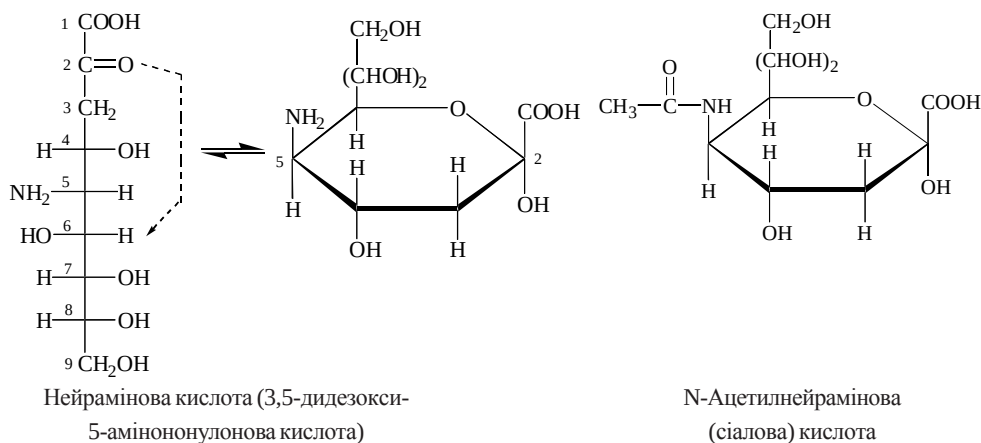
До найбільш поширених аміноцукрів належать 2-амінопохідні гексоз D-глюкози та D-галактози — *гексозаміни*:



N-ацетильовані похідні гексозамінів найчастіше зустрічаються у складі гетерополісахаридів (див. нижче) — глікозамінгліканів (компонентів протеогліканів), oligo-сахаридних ланцюгів глікопротеїнів та гліколіпідів.

**Нейрамінова та сіалова кислоти**

Біологічно важливим амінопохідним моносахаридів є *нейрамінова кислота*. Із хімічної точки зору нейрамінова кислота є похідним моносахариду кетонози (нонулози). В біологічних об'єктах нейрамінова кислота присутня у вигляді N- та O-ацильних похідних, що відомі під назвою *сіалові кислоти*.



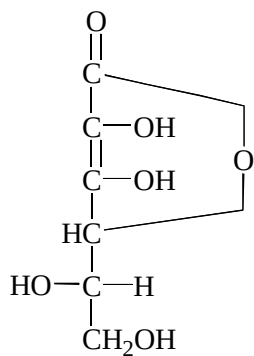
Нейрамінова та сіалові кислоти є структурними компонентами гліколіпідів біомембран (гангліозидів), глікопротеїнів та протеогліканів біологічних рідин, слизу, сполучної тканини, виконуючи важливі механічні, імунохімічні функції.

Глікарові (цукрові) кислоти

При окисленні моносахаридів утворюються глікарові (цукрові) кислоти, які поділяються на окремі хімічні групи, залежно від того, яка функціональна група (альдегідна або первинноспиртова) підлягає окисленню.

Альдонові кислоти — продукти окислення альдоз за альдегідним атомом вуглецю. Прикладом альдонових кислот є *глюконова кислота*, яка у вигляді фосфорного ефіру (6-фосфоглюконової кислоти) утворюється в реакціях пентозо-фосфатного шляху окислення глюкози.

Уронові кислоти — продукти окислення первинної гідроксильної групи альдоз. Важливе біологічне значення мають уронові кислоти, що утворюються при окисненні глюкози та галактози — *D-глюкуронова* та *D-галактуронова кислоти*, що, поряд з аміноцукрами, зустрічаються в організмі переважно як структурні елементи гетерополісахаридів. Похідне гексози L-ідози *L-ідуронова кислота* є структурним компонентом гетерополісахариду гепарину, дерматансульфатів сполучної тканини.



L-Аскорбінова кислота

Вільна глюкуронова кислота виконує важливі функції в реакціях детоксикації в тваринних організмах, утворюючи продукти кон'югації — *глюкуроніди* з метаболітами катаболізму білків, порфіринів, чужорідними хімічними сполуками.

Аскорбінова кислота — цукровою кислотою є також *L-аскорбінова кислота* (γ -лактон 2-кетогулонової кислоти). Аскорбінова кислота синтезується в тканинах рослин та більшості вищих тварин із глюкози. Організм людини, інших приматів та морських свинок не має ферментних систем, необхідних для утворення аскорбінової кислоти, у зв'язку з чим дана сполука є необхідним харчовим фактором — *вітаміном С*.

Глікозиди

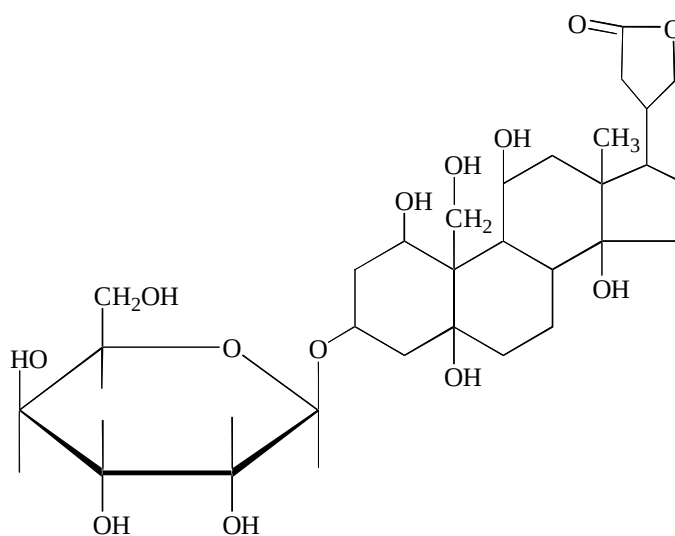
Глікозиди — сполуки, що є продуктом конденсації моносахаридів (або моносахаридних залишків у складі більш складного цукру) із спиртами або фенолами.

Глікозиди формуються за рахунок взаємодії напівацетальної OH-групи вуглеводу з OH-групою спирту (фенолу). Назви глікозидів утворюються із назв відповідних

моносахаридів за рахунок зміни суфікса *-оза* на *-озид* (наприклад: *глюкозид*, *галактозид*, *фруктозид*, *рибозид* тощо).

Глікозидні зв'язки, що виникають між залишками окремих цукрів, є основою будови складних вуглеводів (див. нижче). При взаємодії ацетального гідроксилу моносахариду з гідроксилвмісними неуглеводними молекулами виникають численні глікозиди, що є фізіологічно активними сполуками; неуглеводний компонент глікозиду називають *агліконом*. Агліконами можуть бути залишки метанолу, гліцеролу, фенолу, стеролу.

Рослинні стероїдвмісні глікозиди мають кардіотонічну дію і набули широкого застосування в медичній практиці — *серцеві глікозиди*. Серцеві глікозиди, які використовують для стимуляції діяльності міокарда при серцевій недостатності, виділяють із різних видів наперстянки (наперстянки пурпурової — *Digitalis purpurea*, наперстянки шерстистої — *Digitalis lanata*), строфанту (строфанту гладкого — *Strophanthus gratus*, строфанту Комбе — *Strophanthus Kombe*) та конвалії (*Convallaria*).



Серцевий глікозид убаїн

Крім розглянутих глікозидів, що утворюються при взаємодії вуглеводів із гідроксилвмісними сполуками (О-глікозидів), в живій природі широко представлені N-глікозиди. N-глікозиди є продуктами взаємодії моносахаридів з агліконами через атом азоту NH-групи, яка входить до складу аліфатичних, ароматичних, гетероциклічних амінів. Біологічно важливими прикладами N-глікозидів є нуклеозиди, що є структурними компонентами нуклеотидів нуклеїнових кислот та багатьох коферментів.

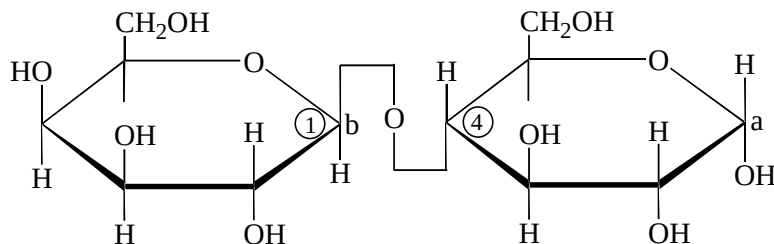
4.2. СКЛАДНІ ВУГЛЕВОДИ. ОЛІГОСАХАРИДИ. ГОМОПОЛІСАХАРИДИ

Складні вуглеводи (глікани) — продукти конденсації моносахаридів та їх похідних, що містять у своєму складі від двох-, трьох- (*олігосахариди*) до багатьох тисяч (*полісахариди*) мономерних залишків цукрів.

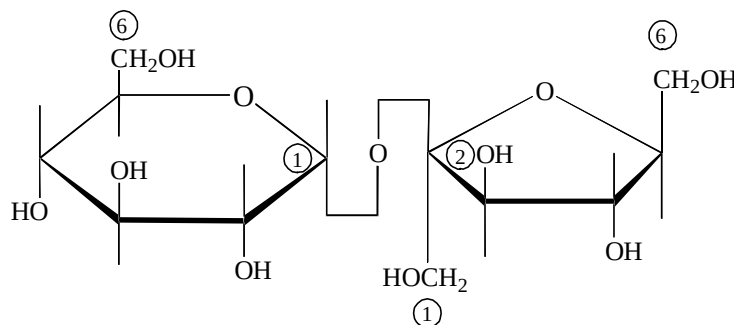
Олігосахариди

Найважливіше значення в біохімії і фізіології людини мають *дисахариди* *лактоза*, *сахароза*, *мальтоза*.

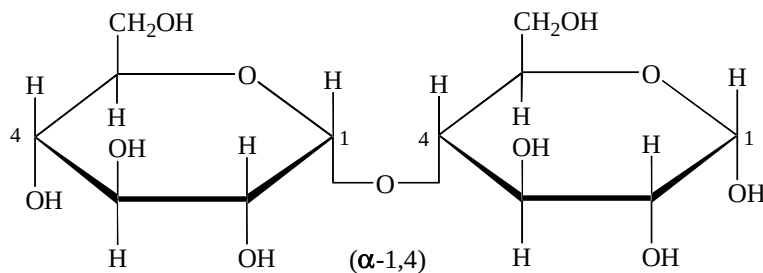
Лактоза (β -D-галактозидо-1,4- α -D-глюкоза) — молочний цукор, складається із залишків β -галактози та α -глюкози, сполучених 1,4-глікозидним зв'язком. Лактоза є важливим компонентом харчування людини, входячи до складу жіночого (6-7 %) та коров'ячого (близько 5 %) молока.



Сахароза (α -D-глюкозил-1,2- β -D-фруктозид) — один із найбільш розповсюджених у природі та практично важливих дисахаридів, що міститься в стеблах, коренях, бульбах та плодах рослин. У харчуванні людини найбільше значення має сахароза, яка утворюється в цукровому буряку (12-20 %) та цукровій тростині (14-26 %) і є основним компонентом харчового цукру.



Мальтоза (α -D-глюкозил-1,4- α -D-глюкоза), солодовий цукор — дисахарид, що складається із залишків двох молекул глюкози. Мальтоза утворюється в травному каналі людини під дією на харчовий крохмаль ферменту β -амілази.



Окрім зазначених дисахаридів, до організму людини у складі рослинних продуктів харчування надходять трисахарид *рафіноза* з цукрового буряка та інших рослин, тетрасахарид *стахіоза*.

Полісахариди — складні вуглеводи, які за хімічною структурою є полімерами, побудованими із залишків багатьох тисяч молекул моносахаридів та їх похідних, об'єднаних за допомогою реакції поліконденсації. За особливостями хімічної будови ці сполуки поділяються на *гомополісахариди* та *гетерополісахариди*.

Гомополісахариди — складні вуглеводи, мономерами яких є залишки однакових моносахаридів (найчастіше глюкози) або їх похідних. Гомополісахариди поділяються на вуглеводи тваринного (глікоген, хітин), рослинного (крохмаль, клітковина, інулін, пектини) та мікробного (декстран) походження.

Гетерополісахариди — складні вуглеводи, утворені з різних за хімічною структурою мономерів — похідних гексоз (див. п. 4.3).

Гомополісахариди

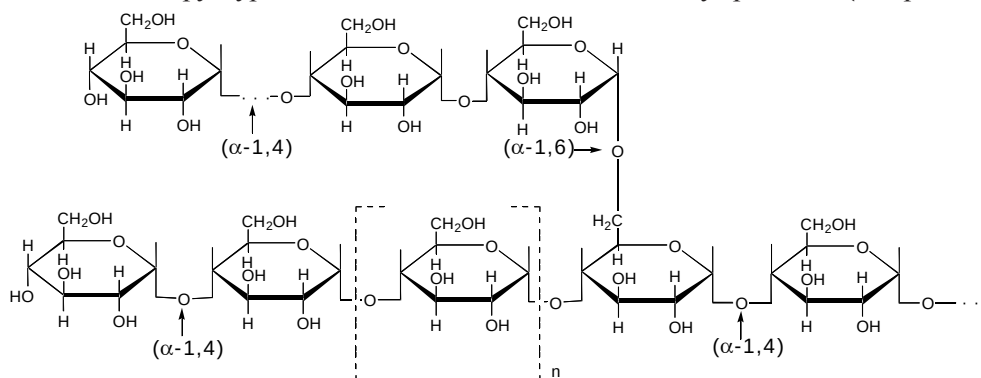
Крохмаль — рослинний гомополісахарид, що складається з двох фракцій — *амілози* та *амілопектину*, які становлять 15-20 % та 80-85 % загальної маси крохмалю, відповідно.

Амілоза — лінійний полісахарид, молекули якого містять від 200 до 1000 мономерів (залишків глюкози); м.м. амілози — 40-160 кД. У складі амілози момери сполучені α -1,4-глікозидними зв'язками. Гомополімери амілози формують спіральні структури, кожен виток яких включає шість молекул глюкози. Специфічна кольорова реакція на крохмаль із йодом (синє забарвлення) зумовлена включенням молекул йоду в молекулярні канали всередині спіралей амілози.

Амілопектин — розгалужений полісахарид з м.м. від 1 до 6 млн. Головний ланцюг амілопектину утворений α -1,4-глікозидними зв'язками; розгалуження формуються α -1,6-глікозидними зв'язками. Між точками розгалужень містяться 20-30 глікозидних мономерів.

Крохмаль є основним джерелом резервної енергії в рослинних клітинах, що утворюється внаслідок фотосинтезу і відкладається в коренях, бульбах і насінні. Крохмаль — головний вуглевод в харчуванні людини, який міститься в значних кількостях у хлібних злаках, картоплі, бобових рослинах.

Глікоген — гомополісахарид тваринного походження з м.м. близько 100 млн. За хімічною структурою глікоген близький до амілопектину крохмалю ("тваринний



Фрагмент молекули глікогену. Представлені лінійні $(\alpha-1,4)$ ланцюги та точки розгалуження $(\alpha-1,6)$.

крохмаль”), але має більш розгалужені молекули. Лінійні відрізки основного ланцюга глікогену вміщують 6-12 залишків молекул глюкози, об’єднаних α -1,4-глікозидними зв’язками; розгалуження формуються за рахунок α -1,6-глікозидних зв’язків.

Глікоген утворює внутрішньоклітинні гранули — депо метаболічної енергії, в яких резервується надлишок глюкози, що надходить із їжею. Найбільша кількість глікогену в організмі людини міститься в печінці (2-5 %) та хребцевих м’язах (0,5-2 %).

Целюлоза (клітковина) — гомополісахарид, який є головним структурним компонентом клітинних стінок рослин. До складу целюлози входить більше 50 % усього органічного вуглецю біосфери; деревина складається з целюлози приблизно наполовину, а бавовна є майже чистою целюлозою.

Молекули целюлози — нерозгалужені ланцюги, що складаються із залишків молекул глюкози, сполучених β -1,4-глікозидними зв’язками. Макромолекулярний ланцюг целюлози утворюється з 2500-12000 молекул глюкози, м.м. — 1-2 млн. У травному каналі людини целюлоза не розщеплюється.

Крім целюлози, з їжею до травного каналу людини потрапляють і інші рослинні гомо- і гетерополісахариди, що формують *харчові волокна* (глава 26). До цих полісахаридів належать *геміцелюлоза* (полімер молекул D-ксилози, сполучених β (1→4)-зв’язками, що можуть також містити залишки інших моносахаридів — арабінози, галактози, манози і т.ін.)) та *пектини* (див. нижче).

Декстран — гомополісахарид дріжджів та бактерій із розгалуженою будовою. Основний тип зв’язку в молекулах декстрану — α -1,6-глікозидний; розгалуження утворюються за рахунок α -1,2, α -1,3 або α -1,4-зв’язків. Декстрини використовуються в клінічній медицині як плазмо- і кровозамінники (фармацевтичні препарати *Поліглюкін* та *Реополіглюкін*) та в біохімічній практиці як гелі для хроматографічного розділення макромолекул (гель-хроматографія).

Хітин — тваринний гомополісахарид, що утворений із залишків N-ацетилглюкозаміну, об’єднаних β -1,4-глікозидними зв’язками. Хітин надзвичайно поширений у живій природі: подібно до клітковини рослин, хітин утворює міцні нерозгалужені ланцюги, що є основою поверхневого панцира комах та ракоподібних.

Інулін — рослинний гомополісахарид, що має лінійну будову. Молекула інуліну складається із залишків β -D-фруктози (фруктозан), сполучених 2,1-глікозидними зв’язками; м.м. інуліну не перевищує 6 кД. Інулін використовується у фізіологічних дослідженнях для визначення швидкості клубочкової фільтрації в нирках.

Пектини (пектинові речовини) — гомополісахариди, основою структури яких є полігалактуронова (пектова) кислота, яка складається із залишків α -D-галактуронової кислоти, об’єднаних 1,4-глікозидними зв’язками. Пектини синтезуються у вищих рослинах та деяких водоростях і надходять в організм людини з рослинними продуктами харчування. Пектини використовуються для виготовлення гелів і є основою ряду лікарських препаратів.

Гетерополісахариди тваринного походження будуть розглянуті нижче (п. 4.3). Медичне значення мають деякі рослинні гетерополісахариди, зокрема розглянуті вище *геміцелюлози* та *камеді* — рослинні гетерополісахариди з розгалуженою

будовою, які містять у своєму складі залишки моносахаридів (D-галактози, D-глюкози, L-арабінози, L-рамнози тощо) та уранових кислот. У фармацевтичній практиці як емульгатор при виготовленні лікарських емульсій застосовується *аравійська камідь* (*гуміарабік*), до складу якої входять залишки L-арабінози, D-галактози, D-глюкуронової кислоти та метилпентоз.

4.3. ГЕТЕРОПОЛІСАХАРИДИ. ПРОТЕОГЛІКАНИ. ГЛІКОПРОТЕЇНИ

Гетерополісахариди

Гетерополісахариди — полімери, побудовані з великої кількості різних моносахаридних одиниць та їх похідних. У біохімії та фізіології людини і тварин найбільше значення мають гетерополісахариди *глікозамінглікани*.

Глікозамінглікани — гетерополісахариди, побудовані з дисахаридних залишків, які повторюються. Моносахаридними компонентами дисахаридних залишків глікозамінгліканів є найчастіше гексуронові кислоти (глюкуронова або іноді ідурунова тощо) та N-ацетилпохідні гексозамінів (глюкозаміну, галактозаміну).

До глікозамінгліканів належать численні тваринні біополімери, що складають міжклітинний матрикс сполучної тканини, який заповнює простір між окремими клітинами. Застаріла назва цих сполук — *мукополісахариди* — вказує, що сполуки даного класу були вперше виділені з *муцину* — компоненту слизів, що є змазуючою речовиною, яка виконує функцію фізіологічного мастила. Найбільш вивченими глікозамінгліканами є *гіалуронова кислота*, *хондроїтинсульфати*, *дерматансульфати*, *кератансульфати*, *гепарансульфати*, які входять до складу шкіри, сухожилів, хрящів суглобів, забезпечуючи механічну міцність та пружність органів, еластичність їх сполучень. Глікозамінглікан *гепарин* є природним антикоагулянтном.

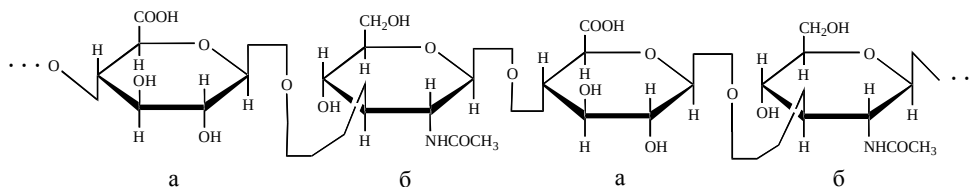
Глікозамінглікани є поліаніонними молекулами. Щонайменше один із моносахаридних компонентів у молекулах глікозамінгліканів несе кислотне угруповання — карбоксильну або сульфатну групу, що забезпечує їх високу гідрофільність, тобто здатність утримувати в біологічних тканинах значну кількість води.

Усі глікозамінглікани виконують свої біохімічні та фізіологічні функції, будучи зв'язаними з білками. Ковалентні комплекси глікозамінгліканів сполучної тканини (гіалуронової кислоти, хондроїтинсульфатів тощо) з білками отримали назву *протеогліканів*, що є представниками мішаних біополімерів (*глікокон'югатів*).

Таблиця 4.1. Структурні компоненти глікозамінгліканів

Глікозамінглікан	Склад дисахаридної одиниці
Гіалуронова кислота	D-глюкуронат + N-ацетилглюкозамін
Хондроїтинсульфати	D-глюкуронат + N-ацетилгалактозамінсульфат
Дерматансульфати	D-ідурунат + N-ацетилгалактозамінсульфат (або D-глюкуронат)
Кератансульфати	D-галактоза + N-ацетилглюкозамінсульфат
Гепарансульфати та Гепарин	D-глюкуронат + N-ацетилглюкозамінсульфат (або D-ідурунат)

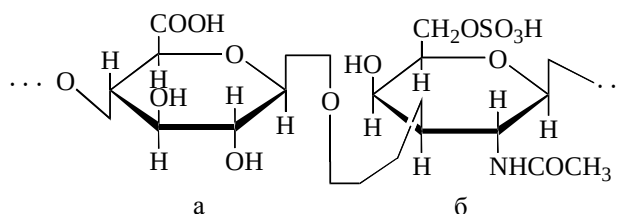
Гіалуронова кислота — лінійний гетерополісахарид, у якому D-глюкуронова кислота та N-ацетил-D-глюкозамін сполучені між собою β -1,3-глікозидним зв'язком; окремі дисахаридні фрагменти об'єднані β -1,4-глікозидними зв'язками:



Будова молекули гіалуронової кислоти: а — D-глюкуронат; б — N-ацетил-D-глюкозамін.

Гіалуронова кислота має найбільшу молекулярну масу з усіх глікозамінгліканів — 10^5 - 10^7 . Велика кількість груп COO^- формує значний негативний заряд молекули, сприяє утриманню води та катіонів Na^+ . Гіалуронова кислота наявна в пухкій сполучній тканині, синовіальній рідині суглобів, скловидному тілі ока.

Хондроїтинсульфати — глікозамінглікани, що у складі відповідних *протеогліканів* (див. нижче) є важливими структурними компонентами хрящової тканини. Молекулярна маса хондроїтинсульфатів — 10-60 кД. Дисахаридні фрагменти складаються із глюкуронової кислоти та сульфатованого N-ацетилгалактозаміну, сполучених β -1,3-глікозидним зв'язком. Група SOO^- присутня в 4-му або 6-му положеннях залишку N-ацетилгалактозаміну (хондроїтин-4- та хондроїтин-6-сульфати, відповідно):



Дисахаридний фрагмент молекули хондроїтинсульфатів: а — D-глюкуронат; б — N-ацетил-6-сульфога-лактозамін. Окремі дисахаридні фрагменти сполучені між собою β -1,4-глікозидним зв'язком.

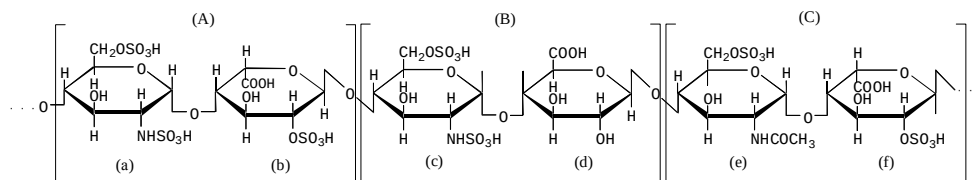
Кератансульфати — глікозамінглікани, сульфатовані в 6-му положенні залишку N-ацетилглюкозаміну. Подібно до хондроїтинсульфатів, кератансульфати сполучені з білками у формі протеогліканів. Розрізняють *кератансульфат I* — глікозамінглікан рогівки ока та *кератансульфат II* — компонент кісткової тканини.

Гепарансульфати — глікозамінглікани, присутні на зовнішніх поверхнях тваринних клітин. Уроновими кислотами у складі дисахаридних одиниць гепарансульфатів є глюкуронова та ідуоронова кислоти, що сполучені β -1,4-глікозидними зв'язками із сульфатованими N-ацетилглюкозамінними залишками.

Гепарин — глікозамінглікан, який синтезується тучними клітинами сполучної тканини і виконує функцію антикоагулянта за рахунок активації інгібуючої дії анти-тромбіну III, що протидіє внутрішньосудинному згортанню крові.

Подібно до гепарансульфатів, ланцюги гепарину мають дисахаридні одиниці, до складу яких входить ідуоронова та глюкуронова кислоти (ідуоронова кислота переважає у гепарині на відміну від гепарансульфатів, складаючи до 90 %

загального вмісту уронових кислот), зв'язані за типом $\beta(1 \rightarrow 4)$ з N- або O-сульфатованими залишками глюкозаміну та N-ацетилглюкозаміну:



Будова ланцюга молекули гепарину.

Подані три дисахаридні фрагменти (A), (B) та (C) (в квадратних дужках), до складу яких входять: (A) O- та N-сульфатований глюкозамін (a), сполучений із сульфатованою ідуриновою кислотою (b); (B) O- та N-сульфатований глюкозамін (c), сполучений із глюкуроною кислотою (d); (C) O-сульфатований N-ацетилглюкозамін (e), сполучений із сульфатованою ідуриновою кислотою (f).

Гепарин та гепарансульфати мають спільного попередника у вигляді нессульфатованого полісахаридного ланцюга гепаринового протеоглікану. Модифікація полісахариду в складі протеоглікану включає в себе дію епімерази, яка перетворює частину залишків глюкуронової кислоти в ідуринову, та реакції O- і N-сульфування.

Протеоглікани

Протеоглікани — гібридні молекули (глікокон'югати), у складі яких білки ковалентно зв'язані з полісахаридами глікозамінгліканами. У складі протеогліканів на частку білків припадає 5-10 % маси молекули і на частку вуглеводної частини — 90-95 %.

Полісахаридні ланцюги сполучені з поліпептидним фрагментом молекул протеоглікану, утворюючи:

- 1) O-глікозидні зв'язки між гідроксильними групами моносахаридів та OH-групами серину або треоніну;
- 2) N-глікозиламінові зв'язки між ацетильною групою N-ацетилглюкозамінів та амідним азотом аспарагіну поліпептиду.

Типова молекула протеоглікану складається із центрального, серцевинного поліпептидного ланцюга — *кору* (core — серцевина, ядро; англ.), з боків якого приєднані молекули глікозамінгліканів. Завдяки електростатичному відштовхуванню окремих поліаніонних ланцюгів полісахаридів загальна структура протеоглікану нагадує в цілому щіточку або ялинку.

За умов взаємодії в міжклітинному матриксі сполучної тканини протеогліканів із молекулами гіалуронової кислоти утворюються складні структурні комплекси з гіалуроною кислотою посередині та бічними ланцюгами протеогліканів ("ялинка з ялинок"). Встановлено, що з однією молекулою гіалуронової кислоти може сполучатися до 150 молекул сульфатованих протеогліканів (рис. 4.1).

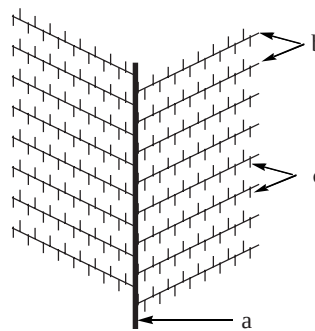


Рис. 4.1. Схема будови протеогліканового агрегату, що складається з молекули гіалуронової кислоти (a), серцевинних ("корових") поліпептидів (b) та глікозамінгліканів (c).

Протеоглікани, сполучені з гіалуроновою кислотою, утворюють гелеподібний матрикс — “основу речовину” сполучної тканини, яка протидіє дифузії чужорідних молекул та мікроорганізмів усередину тканин. Будучи полівалентними аніонами, глікозамінгліканові компоненти протеогліканів зв’язують значну кількість екстрацелюлярного Na^+ та, відповідно, H_2O , що зумовлює механізм участі тканинних протеогліканів у регуляції водно-сольового обміну.

Глікопротеїни

Глікопротеїни — гібридні молекули, що є складними білками, з поліпептидною основою яких ковалентно зв’язані олігосахаридні (гліканові) ланцюги.

Глікопротеїни є численною групою білків із різноманітними функціями. В цілому можна зазначити, що **глікопротеїнами є більшість позаклітинних білків**. Це структурні білки біомембран та екстрацелюлярного матриксу, зокрема сполучної тканини (колаген, еластин, муцини, слизові секрети, білки кісткового матриксу); білки крові, в тому числі фактори згортальної системи, транспортери вітамінів, гормонів, мінеральних елементів; гормони (хоріонічний гонадотропін, тиреотропін); білки імунної системи (імуноглобуліни, інтерферони, компоненти системи комплементу); ферменти (протеази, нуклеази, глікозидази) тощо.

Глікопротеїни та близькі до них за будовою гліколіпіди створюють поверхнево-клітинний *глікокалікс*, компоненти якого беруть участь у міжклітинній взаємодії, регуляції клітинного поділу та її порушеннях при злоякісному рості. Глікопротеїни клітинної поверхні реалізують функцію взаємного розпізнавання клітин, що має особливе значення в процесах імунітету: полісахариди клітинної мембрани є антигенами, відносно яких розвиваються реакції клітинного імунітету, зокрема при трансплантації органів та тканин.

Вміст вуглеводного компоненту в більшості глікопротеїнів невеликий, але іноді складає до 50-80 % маси молекули. Кількість вуглеводних ланцюгів у складі окремих молекул глікопротеїнів змінюється від одного до кількох десятків. У свою чергу, кожен олігосахаридний ланцюг глікопротеїнів містить від 1 до 15 монозних залишків. Ці ланцюги можуть бути лінійними або розгалуженими.

Найчастіше у вуглеводному фрагменті глікопротеїнів організму людини зустрічаються такі цукри, як галактоза (Gal), глюкоза (Glc), маноза (Man), фукоза (Fuc), N-ацетилгалактозамін (GalNAc), N-ацетилглюкозамін (GlcNAc), N-ацетилнейрамінова (сіалова) кислота (NeuAc).

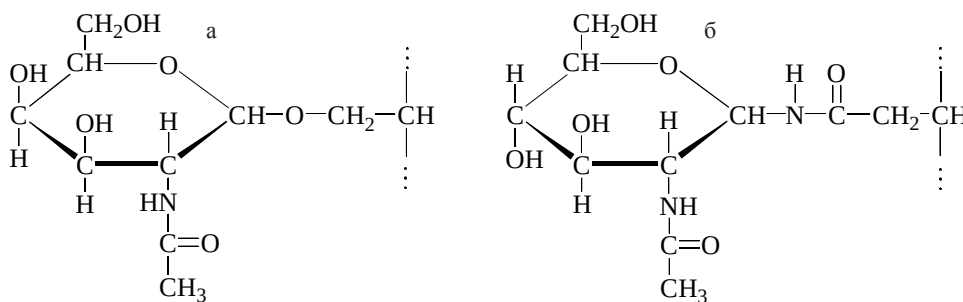
Подібно до протеогліканів, у молекулах глікопротеїнів олігосахаридні ланцюги зв’язані з поліпептидною частиною молекули за рахунок:

- 1) О-глікозидного зв’язку між цукром та ОН-групою серину або треоніну;
- 2) N-глікозидного зв’язку між цукром та амідною групою аспарагіну.

Представниками О-зв’язаних глікопротеїнів є муцини (слизові білки) і деякі білки крові та біомембран. У складі цих глікопротеїнів цукром, що безпосередньо зв’язаний з Ser або Thr пептидного ланцюга, є GalNAc.

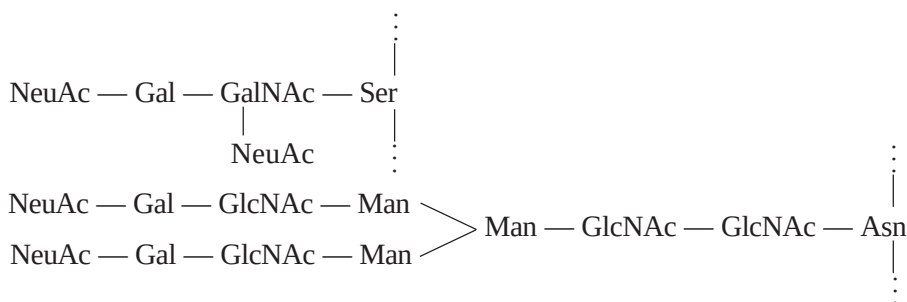
N-зв’язані глікопротеїни мають як олігосахаридний фрагмент, що безпосередньо зв’язаний з NH-групою аспарагіну, пентасахарид $(\text{Man})_3(\text{GlcNAc})_2$, з яким сполучені

різні за будовою зовнішні олігосахаридні фрагменти. Ці зовнішні розгалужені олігосахаридні ланцюги нагадують молекулярні “антени”, що відіграють головну роль у взаємодії клітин між собою та з іншими білковими і полісахаридними структурами.



Зв'язок N-ацетилгалактозаміну із серином (а) та N-ацетилглюкозаміну з аспарагіном (б) в молекулах глікопротеїнів.

Приклади будови О- та N-зв'язаних олігосахаридних компонентів глікопротеїнів:



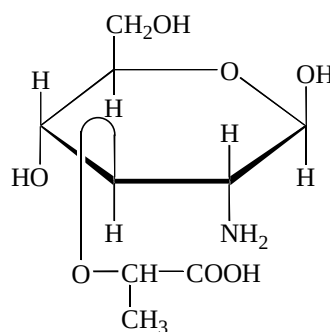
О- та N-зв'язані олігосахаридні фрагменти хоріонального гонадотропіну.

4.4. ПЕПТИДОГЛІКАНИ КЛІТИННОЇ СТІНКИ МІКРООРГАНІЗМІВ

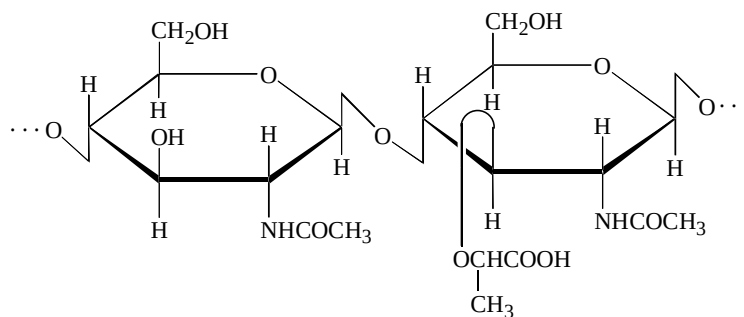
Більшість мікробів значну частину свого життєвого циклу проводять у вигляді одноклітинних організмів, тому їх крихка цитоплазматична мембрана обгорнена зовнішньою *клітинною стінкою*, що захищає мембрану від пошкоджуючих факторів середовища.

Основу клітинної стінки бактерій складають особливі гетерополісахариди, що сполучені з мембранними білками у вигляді протеогліканів або *пептидогліканів*.

Мурамін — гетерополісахарид клітинної стінки бактерій, нерозгалужені ланцюги якого складаються із залишків N-ацетилглюкозаміну та N-ацетилмурамової



Мурамова кислота (подано β -конфігурацію заміників при C-1).



Фрагмент молекули мурамину.

кислоти, що сполучені між собою β -1,4-глікозидним зв'язком. Мурамова кислота є похідним D-глюкозаміну, до якого в 3-му положенні приєднана молочна кислота (лактильний залишок).

Організація будови мурамину подібна до такої целюлози і хітину (нерозгалужені ланцюги з β -зв'язками між мономерами), що визначає механічну міцність цих гетерополісахаридів та їх структурну функціональну роль. До того ж шлунково-кишковий тракт організму людини не містить ферментів, що здатні розщеплювати ці полісахариди.

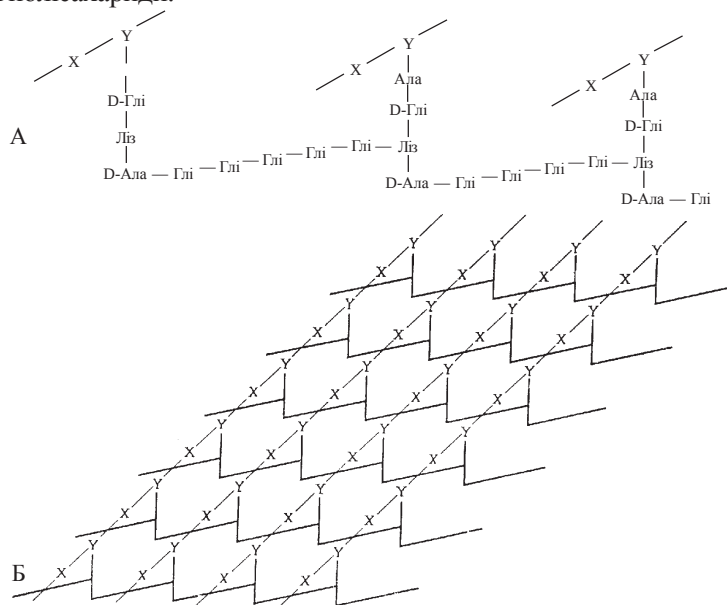


Рис. 4.2. Схема молекулярної організації пептидоглікану бактеріальної стінки — на прикладі муреїну *Salmonella aureus* (за А. Ленінджером, 1974). А. Будова поперечних пептидних зв'язків між окремими ланцюгами полісахаридів (X — залишок N-ацетилглюкозаміну; Y — залишок N-ацетилмурамової кислоти). Тетрапептидні (L-Ала — D-Глн — L-Ліз — D-Ала) бічні ланцюги кожного полісахаридного (мурамінового) ланцюга сполучені між собою пентапептидними "місточками" з п'яти залишків гліцину. Б. Паралельні гетерополісахаридні ланцюги муреїну зв'язані між собою в єдиний макромолекулярний каркас пептидоглікану за рахунок поперечних пептидних ланцюгів.

Муреїн. У формуванні клітинної стінки бактерій бере участь мурамін, сполучений із пептидними ланцюгами у вигляді протеоглікану (або пептидоглікану) муреїну. Муреїн — це мішаний біополімер, що складається з паралельних полісахаридних ланцюгів, які зв'язані один з одним у поперечному напрямку короткими пептидними ланцюгами. Фактично мурамін можна собі уявити як єдину молекулу, що у вигляді гігантського мішка або каркаса охоплює бактеріальну клітину.

Грампозитивні та грамнегативні мікроорганізми

Стінки бактеріальних клітин, окрім охарактеризованої вище пептидогліканової сітки, мають у своєму складі деякі додаткові біохімічні компоненти полісахаридної, ліпідної та білкової природи, що варіюють у різних мікроорганізмів.

Особливістю складу клітинних стінок є молекулярна основа класичного розподілу бактерій на *грампозитивні* та *грамнегативні*, що відрізняються своїм відношенням до забарвлення сумішшю генціанового фіолетового, йоду та сафраніну. Грампозитивні бактерії за умов їх послідовної обробки зазначеними реактивами дають синьо-фіолетове забарвлення внаслідок утримання комплексу йоду з генціановим фіолетовим, грамнегативні бактерії — не дають позитивної реакції на зазначений барвник.

Грампозитивні мікроорганізми — бактерії, характерною особливістю біохімічного складу клітинної стінки яких є наявність *тейхоєвих кислот*, вплетених у пептидоглікановий матрикс. Тейхоєві кислоти є складними полімерами, ланцюги яких побудовані із залишків спиртів гліцерину та рибіту, що сполучені фосфодіефірними зв'язками. У деяких тейхоєвих кислотах з основним ланцюгом молекули зв'язані залишки D-аланіну та D-глюкози або N-ацетил-D-глюкозаміну. Пептидоглікани складають більшу частину (40-90 %) маси клітинної стінки грампозитивних бактерій.

Грамнегативні мікроорганізми — бактерії, до складу клітинної стінки яких входить додаткова *зовнішня мембрана*. Зовнішня мембрана складається із шару ліпополісахаридів, ліпідів та білків, під якими міститься шар пептидогліканів, які, в свою чергу, вкривають внутрішню (цитоплазматичну) мембрану. Загальний вміст пептидогліканів у стінці грамнегативних бактерій значно нижчий (5-10 %), ніж у грампозитивних організмів.

Антибіотики — інгібітори синтезу клітинної стінки

Розщеплення або порушення синтезу окремих компонентів пептидогліканової структури клітинних стінок мікроорганізмів є молекулярною основою антибактеріальної дії деяких антибіотиків.

Пеніциліни — антибіотики, що продукуються пліснявими грибами штамів *Penicillium* і мають значну бактерицидну активність відносно грампозитивних мікроорганізмів. Механізм біохімічної дії пеніцилінів полягає в гальмуванні однієї із заключних стадій у формуванні пептидоглікану, а саме — взаємодії пентагліцину з термінальним D-аланіном бічних тетрапептидних ланцюгів, що зв'язані з гетерополісахаридом. Така дія антибіотика призводить до порушення формування муреїнового каркаса клітинної стінки мікроорганізму, що в остаточному підсумку спричиняє загибель бактерій.

Подібно до пеніцилінів діють *цефалоспорини* — антибіотики, що виділені з гриба *Serphalosporium acremonium*. Цефалоспорини також спричиняють пригнічення активності ферментів, які необхідні для формування пептидогліканів клітинної стінки бактерій.

Лізоцим — антибактеріальний фактор тваринного походження, що є компонентом неспецифічної резистентності організму. За механізмом дії лізоцим є *мурамідідазою*. Це гідролітичний фермент, який розщеплює (1→4)-глікозидні зв'язки між дисахаридними компонентами в полісахаридному ланцюгу мурамину, що призводить до руйнування клітинної стінки мікроорганізмів.

ГЛАВА 5. ЛІПІДИ. БІОМЕМБРАНИ

Ліпіди — клас біоорганічних сполук, характерною ознакою яких є нерозчинність у воді й інших полярних розчинниках та здатність до розчинення в неполярних (гідрофобних) рідинах. Неполярні розчинники (діетиловий ефір, тетрахлорметан, хлороформ тощо) використовують для екстрагування ліпідів із біологічних об'єктів (крові, тканин тощо).

В організмі людини та тварин ліпіди виконують важливі функції як акумулятори та постачальники енергії, компоненти структури клітин, особливо біологічних мембран; певні класи ліпідів є фізіологічно активними речовинами (вітаміни, гормони).

5.1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІПІДІВ. ЖИРНІ КИСЛОТИ

За своєю хімічною структурою більшість ліпідів є складними ефірами вищих карбонових (жирних) кислот та спиртів (гліцеролу, сфінгозину, холестеролу тощо). До складу багатьох класів ліпідів (складних ліпідів) входять також залишки фосфорної кислоти, азотистих основ (коламіну, холіну), вуглеводів тощо.

Жирні кислоти. Найважливішою ознакою, що визначає фізико-хімічні та біологічні властивості ліпідів, є їх жирнокислотний склад. Кількість вуглецевих атомів та, відповідно, довжина вуглеводневого ланцюга, ступінь насиченості жирних кислот, що входять до складу природних ліпідів (нейтральних жирів, фосфоліпідів, сфінголіпідів тощо) обумовлюють їх консистенцію (рідкі, тверді) та поверхневу активність, зокрема, здатність до комплексоутворення з білками і, відповідно, утворення міцел, бішарів, транспортних ліпопротеїнів, ліпідного матриксу біологічних мембран.

До складу ліпідів організму людини і вищих тварин входять жирні кислоти з парним числом вуглецевих атомів, що містять від 12 до 24 атомів С, переважно від C_{16} до C_{20} (вищі жирні кислоти) (табл. 5.1).

В організмі людини жирні кислоти знаходяться частково у вільному, тобто не-естерифікованому, стані (так звані *неестерифіковані жирні кислоти* — НЕЖК) — головним чином, у плазмі крові — та переважно входять до складу складних структурних ліпідів і тригліцеридів жирової тканини як резерв енергетичного матеріалу (табл. 5.2).

Серед насичених жирних кислот у жирах людини переважає пальмітинова кислота ($C_{15}H_{31}COOH$), серед ненасичених — олеїнова ($C_{17}H_{33}COOH$), яка становить близько 60 % від загальної кількості головних жирних кислот, що входять до складу триацилгліцеридів жирової тканини людини. Наявність у ліпідах значної кількості олеїнової кислоти з низькою температурою плавлення зумовлює рідкий стан жирів тіла людини, температура плавлення яких становить в середньому 10-15 °С. Так, зокрема, ліпіди, які депоновані в адипоцитах жирової тканини, являють собою сферичну ліпідну краплину, що складається переважно з тригліцеридів; ліпіди плазми крові являють собою розчин ліпідних міцел, стабілізованих білками у вигляді ліпопротеїнів.

Таблиця 5.1. Найпоширеніші природні жирні кислоти (Ю.І. Губський та співавт., 1997)

Кодове позначення	Структура	Систематична назва	Тривіальна назва
Насичені кислоти			
C _{12:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH	n-Додеканова	Лауринова
C _{14:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	n-Тетрадеканова	Міристинова
C _{16:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	n-Гексадеканова	Пальмітинова
C _{18:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	n-Октадеканова	Стеаринова
C _{20:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH	n-Ейкозанаова	Арахідова
C _{22:0}	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH	n-Докозанаова	Бегенова
C _{24:0}	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COOH	n-Тетракозанаова	Лігноцеринаова
Ненасичені моноосновні кислоти			
C _{16:1}	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	цис-Гексадецен-10-ова	Пальмітоолеїнова
C _{18:1}	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	цис-Октадецен-9-ова	Олеїнова
C _{22:1}	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CH(CH ₂) ₁₁ COOH	цис-Докозен-13-ова	Ерукова
Ненасичені поліосновні кислоти			
C _{18:2}	CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₂ (CH ₂) ₆ COOH	цис,цис-Октадекадієн-9,12-ова	Лінолева
C _{18:3}	CH ₃ CH ₂ (CH=CHCH ₂) ₃ (CH ₂) ₆ COOH	цис,цис,цис-Октадекатрієн-9,12,15-ова	Ліноленова
C _{20:4}	CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₄ (CH ₂) ₂ COOH	цис,цис,цис,цис-Ейкозатетраєн-5,8,11,14-ова	Арахідонова

Таблиця 5.2. Вміст жирних кислот у тригліцеридах жирової тканини людини

Жирні кислоти	Вміст, %	Температура плавлення, °C
Насичені жирні кислоти		
Міристинова	3	+54,4
Пальмітинова	20	+62,8
Стеаринова	5	+69,6
Ненасичені жирні кислоти		
Пальмітоолеїнова	5	+1,0
Олеїнова	55–60	+13,0
Лінолева	10	–11,0
Арахідонова	0,2	–49,5

5.2. СТРУКТУРА ТА ФУНКЦІЇ ЛІПІДІВ

Залежно від хімічної структури компонентів, що вивільняються за умов повного гідролізу, ліпіди поділяються на такі класи:

1. Прості ліпіди.
 - 1.1. Ацилгліцероли.
 - 1.2. Стериди.
 - 1.3. Цериди (воски).
2. Складні ліпіди.
 - 2.1. Фосфоліпіди.
 - 2.1.1. Гліцерофосфоліпіди.
 - 2.1.2. Сфінгофосфоліпіди.

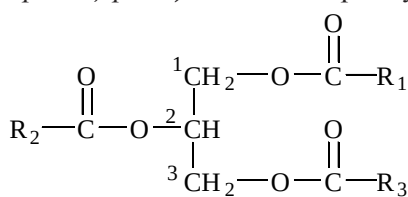
2.2. Гліколіпіди.

2.2.1. Глікозилгліцероли.

2.2.2. Глікосфінголіпіди.

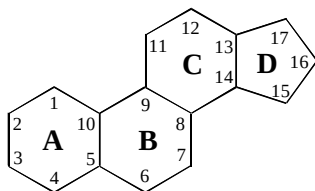
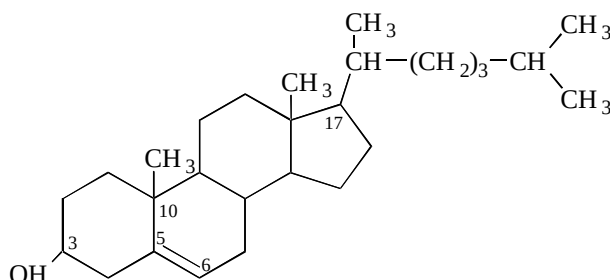
1. Прості ліпіди — ліпіди, що при гідролізі утворюють спирт та жирні кислоти.

1.1. Ацилгліцероли (ацилгліцериди) — ліпіди, що є складними ефірами гліцеролу (гліцерину) та жирних кислот. Ацилгліцероли (зокрема *триацилгліцероли*, або *тригліцериди*) мають емпіричну назву — *нейтральні жири*. Тригліцериди є

Триацилгліцерол (*тригліцерид*)

основною складовою частиною адипоцитів жирової тканини людини і тварин, являючи собою молекулярну форму зберігання вищих жирних кислот — найбільш енергоємного метаболічного палива. Природні тригліцериди є змішаними ліпідами, тобто до їх складу входять залишки різних жирних кислот.

1.2. Стероїди — ліпіди, що є складними ефірами циклічних спиртів стеролів (стеринів) та жирних кислот. Стероли є 3-гідроксипохідними вуглеводню стерану (циклопентанпергідрофенантрону). Найбільш розповсюдженим стеролом тваринного організму є холестерол (холестерин), що входить як структурний ліпід до складу плазматичних мембран та є попередником в синтезі інших стеринів та їх похідних (стероїдів).

Стеран
(циклопентанпергідрофенантрен)Холестерол
(холестерин)

До біологічно важливих стеринів належать стероїдні гормони кори надниркових залоз, чоловічі та жіночі статеві гормони, вітаміни групи Д та їх похідні, жовчні кислоти.

1.3. Цериди (воски) — прості ліпіди, які є складними ефірами вищих жирних кислот та високомолекулярних спиртів, зокрема цетилового ($\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{OH}$) та мірицилового ($\text{C}_{30}\text{H}_{61}\text{OH}$). До восків тваринного походження належать бджолиний віск, спермацет, ланолін, що використовуються у фармації для виготовлення мазей, кремів, у виробництві косметичних засобів.

2. Складні ліпіди — ліпіди, що при гідролізі вивільняють спирт (гліцерол, сфінгозин, інозит), а також фосфат, аміносполуки, вуглеводи. Складні ліпіди є полярними, амфифільними сполуками і більшість із них виконує структурні функції, входячи до складу біологічних мембран.

2.1. Фосфоліпіди.

Численну групу складних ліпідів складають *фосфоліпіди*, які, залежно від спирту, що входить до їх складу, поділяються на гліцерофосфоліпіди та сфінгофосфоліпіди.

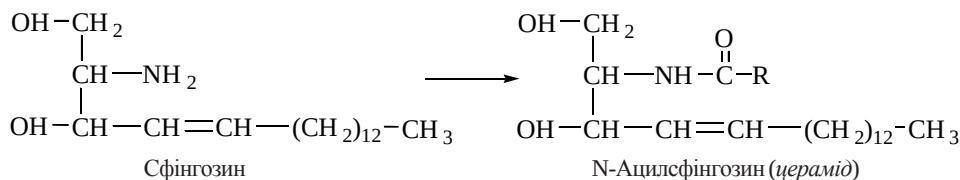
До фосфоліпідів належать:

Гліцерофосфоліпіди (фосфогліцериди) — складні ефіри гліцеролу та вищих жирних кислот, що є похідними *фосфатидної кислоти*, етерифікованої аміноспиртами холіном, етаноламіном (коламіном) і оксіамінокислотою серином.

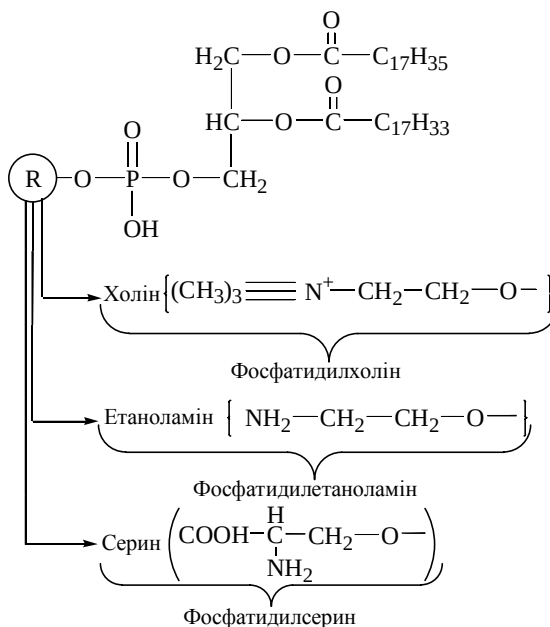
Фосфодієфірний зв'язок у складі гліцерофосфоліпідів утворений гідроксильними групами холіну (*фосфатидилхоліни*, або *лецитини*), етаноламіну (*фосфатидилетаноламіни*, або *кефаліни*) або серину (*фосфатидилсерини*).

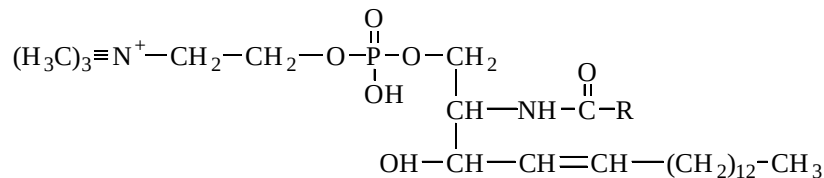
Природні гліцерофосфоліпіди містять у центральному (2-му, β -) положенні залишки ненасичених, а в крайньому (1-му, α -) — насичених жирних кислот.

Сфінгофосфоліпіди — складні ефіри багатоатомного аміноспирту *сфінгозину* та вищих жирних кислот, що можуть також містити залишки холіну, фосфорної кислоти. N-ацильні похідні сфінгозину та жирних кислот мають назву *церамідів*:



Сфінгофосфоліпіди є фосфорними ефірами *церамідів* та аміноспиртів — холіну, етаноламіну, серину. В нервовій тканині людини та вищих тварин присутні *сфінгомієліни* (N-ацил-сфінгеніл-фосфохоліни):

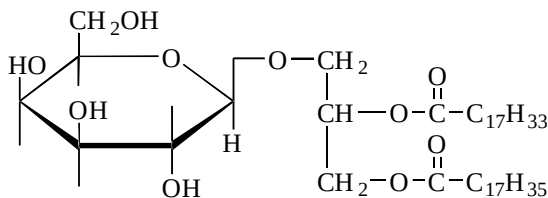




Сфінгомієліни

2.2. Гліколіпіди — сполуки, в яких ліпідна частина ковалентно зв'язана з вуглеводною. Гліколіпіди є складними ефірами вищих жирних кислот та гліцеролу або сфінгозину і містять у своєму складі вуглеводний компонент (зокрема, глюкозу, галактозу та їх похідні або олігосахаридну групу).

Глікозилгліцероли (глікозилгліцериди) — гліколіпіди, що є ефірами гліцеролу.

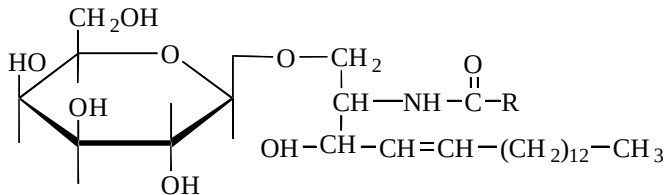


Глікозилгліцерид
(Моногалактозилдіацилгліцерин)

Глікосфінголіпіди — гліколіпіди, що є ефірами N-ацилсфінгозинів (церамідів). Цей клас гліколіпідів (або сфінголіпідів) має важливе біологічне значення у зв'язку з розповсюдженням глікосфінголіпідів у складі біомембран, зокрема в нервовій тканині; до того ж, існує ряд

спадкових захворювань, пов'язаних з порушенням метаболізму цього класу ліпідів.

Залежно від будови вуглеводної частини молекули, глікосфінголіпіди розділяють на декілька класів: цереброзиди, гангліози, сульфати та глобози:



Галактоцереброзид

а) *цереброзиди* — моногексозиди *церамідів*; найбільш поширеними представниками є *галактоцереброзиди* та *глюкоцереброзиди*:

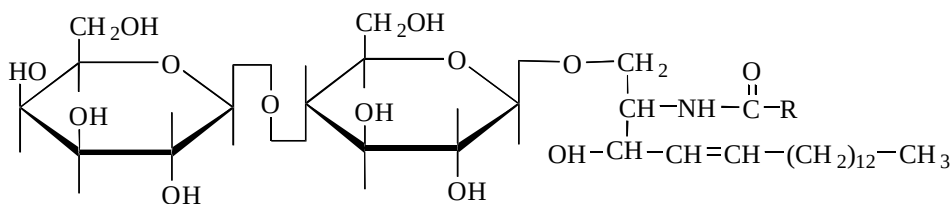
Природними цереб्रोзидами мембран нейронів головного мозку є галактоцереброзиди; аномальне накопичення в мозку глюкоцереброзидів спостерігається при *хворобі Гоше* (Gaucher), що супроводжується затримкою розумового розвитку та важкими неврологічними порушеннями.

б) *сульфатиди* — сульфатовані похідні цереброзидів, найбільш поширеним представником яких є *галактоцереброзидсульфат* (3'-сульфогалактоцереброзид).

Генетичний дефект, який призводить до підвищеного вмісту в нервовій тканині галактоцереброзидсульфату, має місце при спадковій хворобі — *метахроматичній лейкодистрофії*, що проявляється важкими психічними розладами.

в) *глобозиди* — олігосахаридні похідні (олігогексозиди) керамідів.

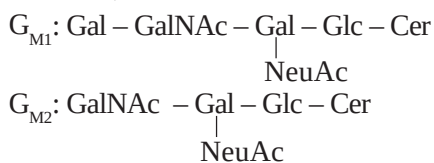
Олігосахаридний залишок глобозидів найчастіше містить у своєму складі галактозу, глюкозу або N-ацетилгалактозамін. Прикладами глобозидів є дигексозид *лактозилцерамід* еритроцитарних мембран, тригексозид *галактозиллактозилочерамід*.



Глобозид (лактозилцерамід)

2) *гангліозиди* — глікофінголіпіди, що містять в олігосахаридному ланцюзі, крім галактози, глюкози та N-гексозамінів, один або більше залишків дев'ятиуглецевого моносахариду нейрамінової або N-ацетилнейрамінової (сілової) кислоти.

Для позначення окремих гангліозидів застосовують спеціальну номенклатуру. Згідно з номенклатурою молекула гангліозиду позначається літерою G (ganglioside) з індексами, що складаються з літер, які вказують на кількість залишків сілової кислоти (M — mono-; D — di-; T — tri; Q — quatto) та умовних цифрових позначень:



де: Cer — церамід; Glc — глюкоза; Gal — галактоза; NeuAc — N-ацетилнейрамінова кислота.

Найбільший вміст гангліозидів у мембранах гангліонарних нейронів. Аномальне накопичення їх у головному мозку внаслідок генетичного дефекту ферментів їх метаболізму (*гангліозидози*) супроводжується важкими нервово-психічними розладами: G_{M2} -гангліозидоз — хвороба Тея-Сакса (Tay-Sachs), G_{M1} -гангліозидоз тощо.

Розглянуті класи ліпідів (прості, складні) здатні до гідролізу. Разом з тим, до ліпідів відносять численні біомолекули, що мають фізико-хімічні властивості ліпідів (гідрофобність, нерозчинність у полярних розчинниках), але не гідролізуються до більш простих сполук. Це — вільні жирні кислоти та біологічно активні похідні арахідонової кислоти (ейкозаноїди), вищі спирти, ізопреноїди та їх похідні, зокрема різноманітні стероїди, жиророзчинні вітаміни (A, D, E, K).

Ліпопротеїни — комплекси ліпідів різної хімічної будови з білками. В утворенні ліпопротеїнів беруть участь нековалентні зв'язки та фізико-хімічні взаємодії (водневі, іонні, ван-дер-ваальсові, гідрофобні).

Найбільше значення в біохімії мають ліпопротеїни, в складі яких ліпіди знаходяться в плазмі крові людини, та ліпопротеїни, що є інтегральними компонентами біологічних мембран.

Ліпопротеїни плазми крові є молекулярними комплексами різних класів ліпідів (головним чином, тригліцеридів, холестерину, фосфогліцеридів) з білками, що утворюють міцелярні структури, в складі яких ліпіди розчинені (суспендовані) в плазмі, яка за своїми фізико-хімічними властивостями є водним розчином. Фізіологічною функцією цих ліпопротеїнів є міжорганний транспорт ліпідів — *транспортні ліпопротеїни*. Детально хімічний склад та метаболізм транспортних ліпопротеїнів плазми крові людини буде розглянуто нижче (глава 16).

5.3. БІОЛОГІЧНІ МЕМБРАНИ

Біологічні мембрани (біомембрани) — клітинні структури, що відокремлюють клітину від навколишнього середовища та розділяють внутрішньоклітинний простір на певні компартменти (органелли, субклітинні структури).

Протягом багатьох років основним науковим обґрунтуванням наявності на поверхні живих клітин спеціальних структурних утворень — *мембран* — був феномен обмеженої та вибіркової проникності клітини для хімічних сполук в іонній та молекулярній формах. У свою чергу, ця обмежена проникність зумовлює притаманну будь-якій клітині різницю концентрацій іонів усередині і в зовнішньому середовищі та наявність електричної різниці потенціалів між цитоплазмою і зовнішньоклітинною рідиною, особливо вираженої у збудливих нервових та м'язових клітинах.

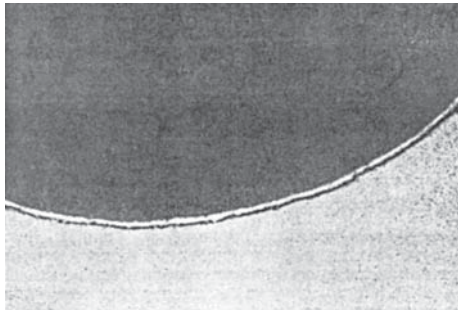


Рис. 5.1. Тришарова будова плазматичної мембрани еритроцита (за E. Sim, 1982).

Прямим доведенням наявності на поверхні клітини спеціального морфологічного утворення — *плазматичної мембрани* стали безпосередні електронно-мікроскопічні дослідження, які встановили також тришарову структуру всіх клітинних мембран, що відповідає внутрішньому ліпідному шару, вкритому зовні та зсередини білковими молекулами. Електронно-мікроскопічне зображення плазматичної мембрани, що оточує еритроцит, подано на рис. 5.1.

Функції біомембран:

а) відмежовування внутрішньоклітинного простору від навколишнього хімічного середовища за рахунок вибіркової проникності плазматичних мембран для іонів та молекул;

б) створення та підтримання на плазматичній мембрані іонних градієнтів та електричних потенціалів;

в) регуляція клітинних функцій біорегуляторними хімічними сигналами, що надходять від нервової та ендокринної систем;

г) поділ клітини на окремі компартменти, що характеризуються специфічними наборами ферментів, метаболітів та реакцій обміну речовин;

д) створення структурних, біофізичних умов для організації мембранозв'язаних мультиферментних комплексів (ферментних ансамблів), які реалізують життєво важливі клітинні функції (наприклад, електронтранспортних ланцюгів у мембранах мітохондрій та ендоплазматичного ретикулуму), функціонування іонних каналів та насосів);

е) участь у процесах міжклітинної взаємодії як необхідного фактора регуляції клітинного росту, створення тканин (гістогенезу).

Мембранні структури тваринної клітини:

- плазматична мембрана;
- мембрани ендоплазматичного (саркоплазматичного) ретикулуму;
- мітохондріальні мембрани;
- ядерна мембрана;
- мембрани комплексу Гольджі;
- мембрани лізосом та фагосом;
- мембрани пероксисом (мікротілець).

Молекулярні компоненти біомембран

Головними хімічними компонентами біологічних мембран є білки, ліпіди та вуглеводи. Співвідношення між вказаними біохімічними компонентами значно відрізняється в окремих типах біомембран і залежить від їх функціональної та біохімічної спеціалізації (табл. 5.3).

Таблиця 5.3. Середній хімічний склад (%) деяких клітинних мембран

	<i>Білки</i>	<i>Ліпіди</i>	<i>Вуглеводи</i>
Плазматична мембрана еритроцитів людини	49	43	8
Внутрішня мембрана мітохондрій печінки	76	24	0
Мембрани ендоплазматичного ретикулума клітин печінки	55	45	0
Мієлінові мембрани мозку людини	18	79	3
<i>Salmonella typhimurium</i>			
зовнішні мембрани	44	20	36
внутрішні мембрани	65	35	0

Як слідчать дані таблиці 5.3, вміст білків у клітинних мембранах становить в середньому 50-75 %, ліпідів — 25-45 %, вуглеводів — 0-10 %. Для зовнішніх клітинних (плазматичних) мембран притаманна наявність певної кількості вуглеводів, що входять до складу гліколіпідів та глікопротеїнів, для мієлінових мембран мозку — значна концентрація ліпідів. Внутрішні (субклітинні) мембрани мітохондрій, ендоплазматичного ретикулума містять відносно більшу кількість білків, що відображує наявність у цих мембранних структурах важливих мультиферментних комплексів.

А. Ліпіди мембран

Ліпідні компоненти біологічних мембран представлені переважно різними класами полярних ліпідів: фосфоліпідами (фосфатидилхоліном, фосфатидилетаноламіном, фосфатидилсерином, сфінгомієліном) — до 80-90% загального вмісту мембранних ліпідів; гліколіпідами (переважно глікосфінголіпідами). Зовнішня плазматична мембрана характеризується значним вмістом вільного холестеролу та його ефірів і наявністю гліколіпідів, які відсутні в інших мембранних структурах (табл. 5.4).

Таблиця 5.4. Ліпідний склад(%) субклітинних мембран печінки щурів (за А. Ленінджером, 1985)

Мембрана	Фосфоліпіди	Гліколіпіди	Холестерин	Ефіри холестеролу та інші міnorні ліпіди
Плазматична	57	6	15	22
Ядерна	85	0	5	10
Мітохондріальна внутрішня	92	0	0	8
Ендоплазматичного ретикулума	85	0	5	10
Апарату Гольджі	57	0	9	34

Особливістю структурної організації молекул ліпідів, що входять до складу біологічних мембран — фосфоліпідів та гліколіпідів, є наявність у них *гідрофільної “голівки”*, що утворена залишком фосфату, етерифікованим полярними або зарядженими групами, та *гідрофобних “хвостиків”*, які утворені ацилами насичених та ненасичених жирних кислот (C_{16} , C_{18} , C_{20} тощо) — рис. 5.2 та рис. 5.3.

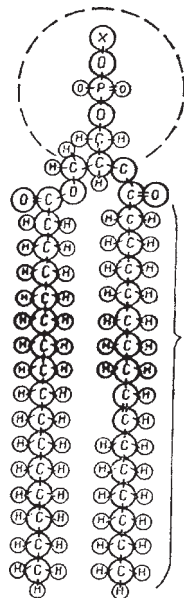


Рис. 5.2. Молекулярна будова фосфогліцеридів біологічних мембран.

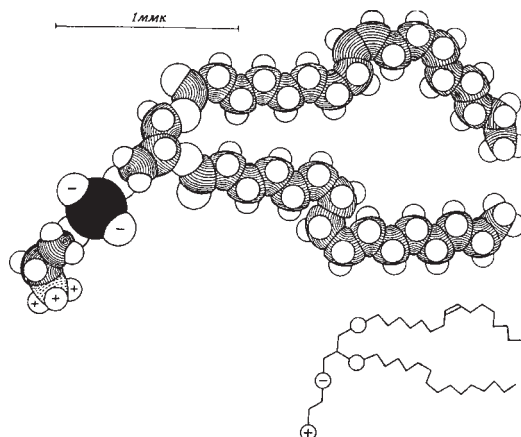


Рис. 5.3. Молекулярна модель фосфатидилетаноламіну (відображено конформацію гідрофобних ацилів, яку вони набувають через наявність подвійних зв'язків).

На рис. 5.4 подано схематичні зображення молекулярних моделей основних мембранних ліпідів, у яких гідрофобний кінець молекул складають вуглеводневі радикали жирних кислот або вищого спирту сфінгозину, гідрофільний — іонізовані фосфати, ковалентно зв'язані з залишками холіну, етаноламіну, серину, гліцеролу, інозитулу, вуглеводу.

Молекула холестеролу входить до складу біомембран також завдяки наявності в її структурі гідрофобної частини (поліциклічний вуглеводень циклопентанпергідрофенантрен) та гідрофільної — ОН-групи — рис. 5.5.

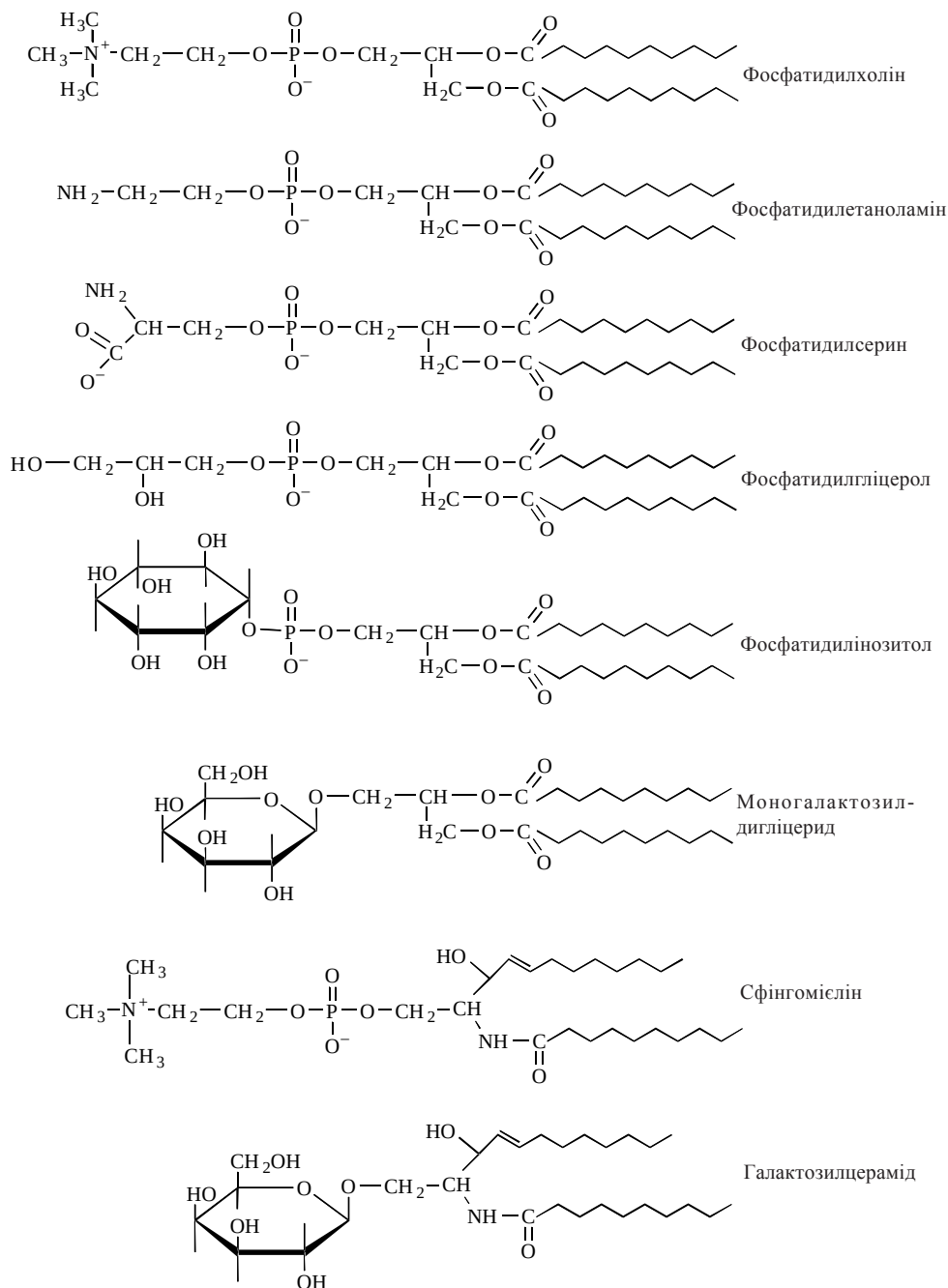


Рис. 5.4. Схематичні зображення молекулярних моделей ліпідів біомембран.

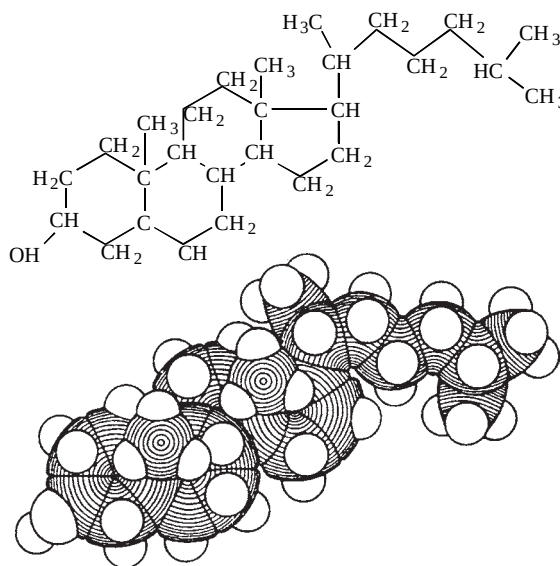


Рис. 5.5. Модель молекули холестеролу.

Б. Білки мембран

Білки біологічних мембран — це, переважно: ферменти; білки іонних каналів та інших систем мембранного транспорту; рецепторні білки, що зв'язують зовнішні ліганди та беруть участь у трансформації хімічного сигналу в біологічну реакцію клітини.

Певна кількість мембранних білків зв'язана з вуглеводами (глікозилізована) у вигляді глікопротеїнів.

За характером розташування у мембрані білки поділяють на зовнішні (периферичні) та внутрішні. Зв'язок білків із різними мембранними структурами буде розглянуто нижче.

В. Вуглеводи мембран

Вуглеводи в складі біологічних мембран зв'язані з іншими хімічними компонентами мембрани у вигляді *гліколіпідів* та *глікопротеїнів*.

Гліколіпіди мембран є, головним чином, похідними сфінгозину (глікосфінголіпіди, або глікоцераміди).

Глікопротеїни мембран є молекулярними структурами, що утворюються за рахунок ковалентних зв'язків олігосахаридних ланцюгів з мембранними білками. Ці зв'язки формуються за участю гідроксильних груп серину або треоніну (О-глікозидні зв'язки) та амідної групи аспарагіну (N-глікозидний зв'язок).

Мономерними залишками у складі олігосахаридних ланцюгів мембранних гліколіпідів та глікопротеїнів є такі моносахариди та їх похідні: галактоза, глюкоза, маноза, галактозамін, глюкозамін, нейрамінова та сіалова кислота, фруктоза.

Гліколіпіди та глікопротеїни входять до складу, як правило, плазматичної мембрани клітини, контактуючи із зовнішньоклітинним оточенням та міжклітинним матриксом. Олігосахаридні залишки виконують функції лігандів для зовнішніх білків,

тобто забезпечують процес розпізнавання та міжклітинної взаємодії, особливо важливі в реакціях клітинного імунітету. Аномальні зміни структури поверхневих гангліозидів у мембранах пухлинних клітин призводять до втрати характерного для росту нормальних клітинних пластів феномену “контактного гальмування”, що супроводжується притаманним злоякісним пухлинам інфільтративним ростом.

Молекулярна організація біомембран

Наявність у мембранных ліпідах (гліцерофосфоліпідах, сфінгофосфоліпідах, гліколіпідах) полярних голівок та неполярних гідрофобних структур (вуглеводневих радикалів жирних кислот та сфінгозину) визначає їх *амфіфільну* (*амфінатичну*) *природу*, тобто здатність до взаємодії як з гідрофільними (полярними), так і з гідрофобними (неполярними) молекулами.

Завдяки амфіфільній будові молекул, ліпіди, що беруть участь у побудові біомембран, здатні до утворення в полярних середовищах впорядкованих структур: міцел, моношарових та бішарових плівок (моношарів та бішарів) — рис 5.6.

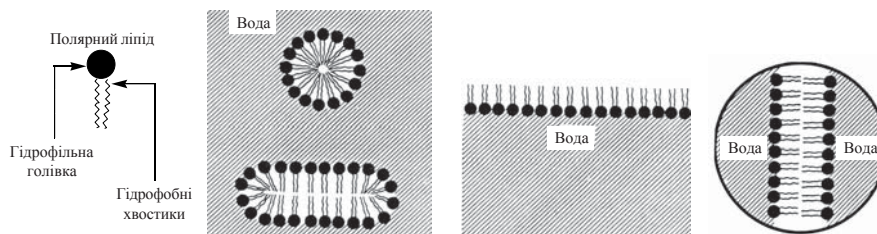


Рис. 5.6. Мембранні структури, що утворюються полярними ліпідами.

а) *Міцели* — молекулярні структури, які амфіфільні ліпіди утворюють у водному (полярному) оточенні. У міцелах вуглеводневі хвости ліпідів вкриті від контакту з водою та утворюють гідрофобну фазу, а гідрофільні голівки молекул розташовуються на поверхні. Міцелярні структури характерні для ліпопротеїнів крові та для ліпідних комплексів, що всмоктуються в кишковому тракті.

б) *Мономолекулярні шари* — плівки, які амфіфільні ліпіди утворюють на поверхні водних розчинів. У мономолекулярних шарах гідрофільні голівки молекул взаємодіють з водною фазою, а вуглеводневі хвости спрямовані до повітряної фази. Мономолекулярний шар, що утворює в легених альвеолах фосфогліцерид *дипальмітоїлфосфатидилхолін*, виконує функцію легеневого *сурфактанту*, який протидіє злипанню легених альвеол.

в) *Бімолекулярні шари* — молекулярні структури, в яких вуглеводневі хвости ліпідів спрямовані всередину, утворюючи неперервний вуглеводневий бішар, а гідрофільні (полярні) голівки направлені в бік водної фази, що оточує бімолекулярну плівку, яка утворилася; бімолекулярні шари є основою будови біологічних мембран.

Амфіфільний характер мембранных ліпідів є фізико-хімічною властивістю, що зумовлює їх здатність до утворення ліпідних бішарів, які складають основу молекулярної структури біологічних мембран.

Рідинно-мозаїчна модель будови біомембрани

Вперше припущення про те, що основу молекулярної організації біомембран складає подвійний ліпідний шар (бішар) було висунуте в 1925 р. Гортером та Гренделем (E.Gorter, F.Grendel). У 1935 р. Даніелі та Даусон (J.F.Danielli, H.Davson) запропонували модель, згідно з якою біологічні мембрани складаються з подвійного шару ліпідів, який вкрито із зовнішнього та внутрішнього боку шарами білків — “бутербродна” модель. Модифікація моделі Даніелі-Даусона (модель Стейна-Даніелі, 1956) постулювала наявність в біомембранах полярних пор, придатних для трансмембранного переносу гідрофільних молекул — рис. 5.7.

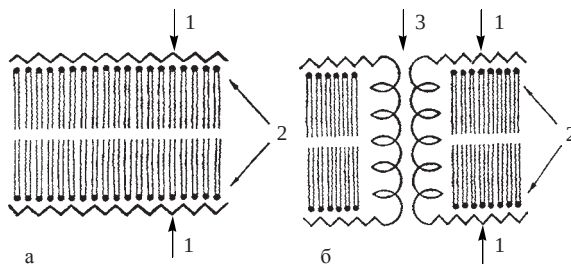


Рис. 5.7. Моделі біомембран за Даніелі-Даусоном (а) та Стейном-Даніелі (б): 1 — білкові шари; 2 — бішар ліпідів; 3 — мембранні пори.

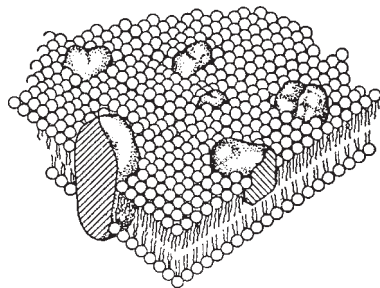


Рис. 5.8. Рідинно-мозаїчна модель будови біомембран.

Згідно з сучасною **рідинно-мозаїчною моделлю** Сінгера-Ніколсона (S.J.Singer, G.L.Nicolson), основу (безперервний *матрикс*) біологічної мембрани складає полярний ліпідний бішар, в який занурені окремі білкові молекули. За умов нормальних фізіологічних температур ліпіди біомембран знаходяться в рідинному стані, являючи собою “ліпідне озеро”, в якому плавають, подібно до айсбергів, мембранні білки — рис. 5.8.

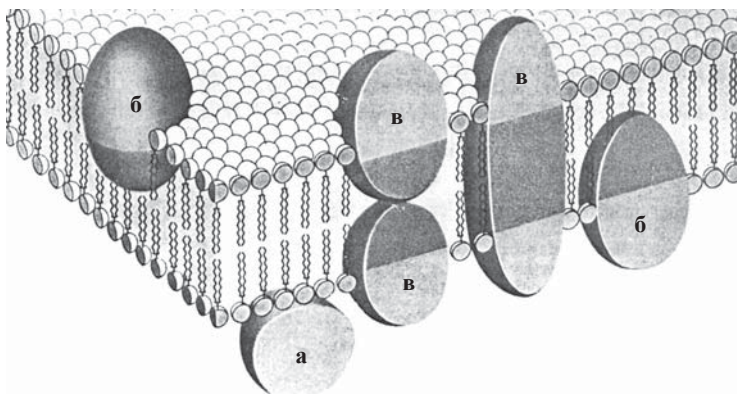


Рис. 5.9. Молекулярна організація біомембрани. Мембранні білки.

За своєю локалізацією відносно інших компонентів біомембрани мембранні білки поділяються на такі типи (рис. 5.9): а) *поверхневі* (периферичні) білки; б) білки, що частково занурені у бішар; в) *внутрішні* (інтегральні) білки.

Біофізичні властивості мембран

1. Плинність та в'язкість ліпідної фази, що визначається співвідношенням між ненасиченими (рідкими) та насиченими (твердими) жирними кислотами в

складі мембранних ліпідів та постійною рухомістю вуглеводневих хвостів ацилів та сфінгозину (подібно до “корзини із живими зміями”) — рис. 5.10.

Холестерол, що входить до складу біомембран, виконує важливу функцію модифікатора фізико-хімічних властивостей ліпідного бішару, стабілізуючи його шляхом обмеження рухомості внутрішньомембранних компонентів, тобто зменшуючи плинність та збільшуючи в'язкість матриксу мембранних ліпідів.

2. Рухомість окремих молекулярних компонентів мембрани — ліпідів та білків.

Ліпіди біомембран мають певну впорядкованість, але разом з тим вони здатні до латеральної дифузії, тобто переміщення впродовж рідинної ліпідної фази (*рідкісно-кристалічний стан* мембранних ліпідів).

До латеральної дифузії здатні також молекули мембранних білків, що сприяє утворенню внутрішньомембранних білок-білкових ансамблів (кластерів). Важливим прикладом фізіологічного значення кластероутворення білків у площині біологічної мембрани є “шапкоутворення” (capping) мембранних рецепторів лімфоцитів при дії на клітину чужорідних лігандів.

3. Асиметрія мембранної структури.

Зовнішня та внутрішня поверхні будь-якої мембрани суттєво відрізняються за своїми фізико-хімічними властивостями та за складом основних біохімічних компонентів, що пов'язано з різною функціональною спеціалізацією двох поверхней мембран. Із зовнішньою поверхнею плазматичних мембран зв'язані рецептори для гормонів і інших фізіологічно активних речовин, із внутрішньою — деякі цитозольні ферменти та компоненти цитоскелета. Внутрішній моношар ліпідного бішару відрізняється від зовнішнього за складом фосfolіпідів.

Наприклад, зовнішня поверхня мембрани еритроциту містить олігосахаридні залишки гліколіпідів, які відіграють роль детермінант груп крові (система А, В, О); із зовнішньою поверхнею еритроцитарної мембрани зв'язаний фермент ацетилхолінестераза, із внутрішньою — білок *спектрин* — рис. 5.11.

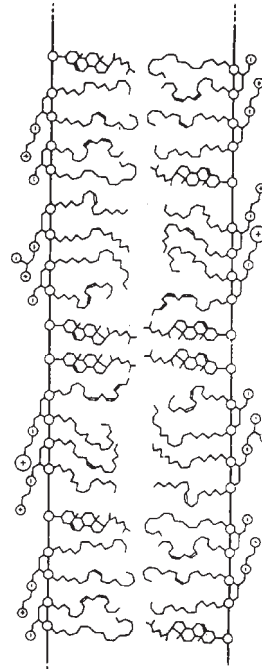


Рис. 5.10. Рухомість жирнокислотних залишків у молекулах мембранних ліпідів.

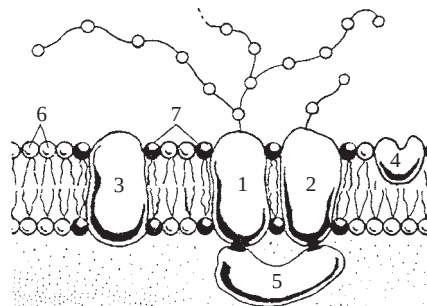


Рис. 5.11. Схема молекулярної організації плазматичної мембрани еритроцита (А.А.Заварзин, А.Д.Харазова, 1982): 1 — білок глікофорин; 2 — мембранний глікопротеїн; 3 — Na^+ , K^+ -АТФ-аза; 4 — ацетилхолінестераза; 5 — білок спектрин; 6 — ліпіди бішару; 7 — ліпіди, що контактують з мембранними білками.

Розділ II. ЗАГАЛЬНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ

ГЛАВА 6. ФЕРМЕНТИ

I. СТРУКТУРА, ВЛАСТИВОСТІ

Ферменти (ензими) — біологічні каталізатори білкової природи, які синтезуються в клітинах живих організмів та забезпечують необхідні швидкість і координацію біохімічних реакцій, що становлять обмін речовин (метаболізм).

Розділ біохімії, що вивчає структуру, властивості та механізми дії ферментів, називається *ензимологією*. Прийняті в ензимології позначення:

E — *фермент, ензим* (“enzyme”; англ.) — біологічний каталізатор;

S — *субстрат* (“substrate”; англ.) — хімічна речовина, сполука, перетворення якої каталізує фермент;

P — *продукт* (“product”; англ.) — сполука, що утворилася в результаті ферментативної реакції.

6.1. ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ ЯК БІОЛОГІЧНИХ КАТАЛІЗАТОРІВ

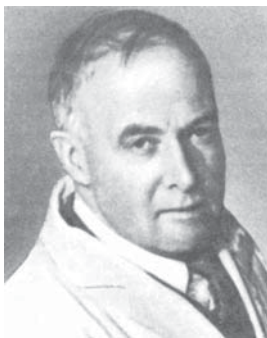


Рис. 6.1. Самнер (Sumner) Джеймс Б. (1887-1955) — американський біохімік, професор та завідувач лабораторії хімії ферментів Корнельського ун-ту. Нобелівська премія (1946).

Ферменти — специфічні білки, в основі каталітичної дії яких лежать загальні фізико-хімічні та термодинамічні закономірності хімічної кінетики. Білкову природу ферментів беззаперечно довів Дж. Самнер (1926), який отримав перші кристалічні препарати ферменту уреазы.

Властивості ферментів

— ферменти значно підвищують швидкість перебігу біохімічних реакцій, але не входять до складу кінцевих продуктів реакції;

— ферменти забезпечують перебіг лише тих біохімічних реакцій, які можливі, виходячи із законів термодинаміки;

— ферменти прискорюють швидкість як прямої, так і зворотної реакції перетворення субстрату, не змінюючи константи рівноваги (K_p) реакції та зменшуючи термін часу до досягнення стану рівноваги (або стаціонарного стану у відкритій метаболічній системі);

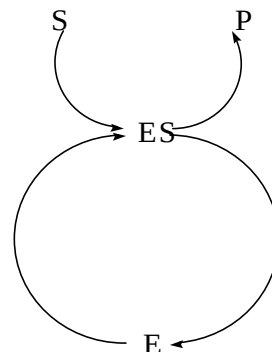
— протягом реакції фермент певним чином взаємодіє із субстратом, що перетворюється, але до складу кінцевих продуктів реакції не входить. Під час перебігу біохімічної реакції, що каталізується, відбувається циклічний процес, в

ході якого фермент та субстрат підлягають ступеневому перетворенню з утворенням продукту реакції та регенерацією ферменту;

– ферменти є високоспецифічними каталізаторами, тобто діють, як правило, на структурно близькі субстрати, що мають певний хімічний зв'язок, структурно подібні радикали або функціональні групи. Проявом високої специфічності ферментів є їх *стереоспецифічність*, тобто здатність перетворювати тільки певні стереоізомери, наприклад L- або D-амінокислоти, D- або L-моносахариди;

– відповідно до білкової природи, каталітична активність ферментів дуже чутлива до змін фізико-хімічних властивостей середовища (рН, температури), які можуть впливати на структурну організацію молекул ферментів, спричиняючи в певних умовах їх денатурацію;

– активність ферментів може суттєво змінюватися під впливом певних хімічних сполук, що збільшують (*активатори*) або зменшують (*інгібітори*) швидкість реакції, яка каталізується.



Одиниці виміру активності ферментів

Оскільки кількість ферменту в біологічному об'єкті в більшості випадків визначити неможливо, для характеристики швидкості біохімічної реакції, що каталізується певним ферментом, за умов сталості інших показників середовища (фізико-хімічних параметрів, концентрації активаторів та інгібіторів) користуються значеннями *активності ферменту*.

Одиниці активності ферментів — умовні величини, що базуються на лінійній залежності *швидкості* ферментативної реакції від *кількості* ферменту (або кількості його молекул, що перебувають у каталітично активному стані).

1. У біохімічній практиці загальноприйнятими є *одиниці ферменту*.

Одиницею ферменту (U — unit; англ.) є така його кількість, яка каталізує перетворення 1 мкмоль субстрату за 1 хв:

$$1 U = 1 \text{ мкмоль/хв.}$$

2. При використанні одиниць системи СІ (SI) активність ферменту виражають в *каталах* (кат).

1 катал — така кількість ферменту, яка каталізує перетворення 1 моля субстрату за 1 с:

$$1 \text{ кат} = 1 \text{ моль/с.}$$

3. Розповсюдженою одиницею є *питома активність ферменту*, яка визначається кількістю одиниць ферментної активності, що припадають на 1 мг білка в біологічному об'єкті ($U/\text{мг}$ білка).

У медичній ензимології активність ферменту часто виражають в *одиницях* (U) на 1 л біологічної рідини, що досліджується, — сироватки крові, слини, сечі тощо ($U/\text{л}$).

6.2. НОМЕНКЛАТУРА ТА КЛАСИФІКАЦІЯ ФЕРМЕНТІВ

Номенклатура та класифікація ферментів, що є прийнятими в біохімії, були затверджені Комісією з ферментів Міжнародного біохімічного союзу (1961).

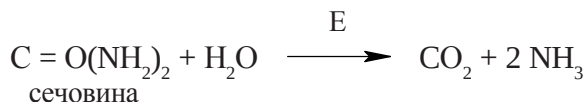
А. Номенклатура ферментів.

1. Систематична номенклатура.

Згідно із систематичною номенклатурою, назва (найменування) ферменту включає в себе: хімічну назву субстрату або субстратів; тип реакції, що каталізується; суфікс *-аза*.

2. Тривіальна номенклатура.

Тривіальні назви ферментів утворюються на основі хімічної назви субстрату з додаванням суфікса *-аза*. У біохімії існують також загальноприйняті, історично усталені назви ферментів, що не відображають хімічної природи реакції, зокрема, *пепсин*, *трипсин*, *тромбін*, *плазмін* тощо. Тривіальна назва (або назви) ферменту звичайно вказується в дужках.



Наприклад:

Систематична назва ферменту (E): *карбамідамідогідролаза*.

Тривіальна назва ферменту: *уреаза* (*urea* — сечовина; лат.).

Б. Класифікація ферментів.

Ферменти поділяють на *класи* згідно з типом реакції, яку вони каталізують; *класи* ферментів поділяють на *підкласи*, а останні — на *підпідкласи*, в складі яких кожному ферменту відповідає певний номер.

1-й клас. Оксидоредуктази — ферменти, що каталізують окислювально-відновлювальні реакції різних типів.

До оксидоредуктаз належать *дегідрогенази* — ферменти, що каталізують реакції дегідрування, *оксидази*, що окислюють субстрати шляхом приєднання кисню, *цитохроми* — переносники електронів тощо.

2-й клас. Трансферази — ферменти, що каталізують реакції міжмолекулярного переносу хімічних груп.

Трансферази поділяють на *амінотрансферази*, *метилтрансферази*, *ацилтрансферази*, *фосфотрансферази*, *глікозилтрансферази* — ферменти, що переносять аміні, метильні, ацильні, фосфатні, глікозильні групи, відповідно.

До трансфераз належать також *кінази*, зокрема *протеїнкінази* — ферменти, що каталізують фосфорилування субстратів та інших білків за рахунок фосфатного залишку АТФ.

3-й клас. Гідролази — ферменти, що каталізують реакції гідролізу, тобто розщеплення субстратів за участю молекули води.

Гідролази здатні розщеплювати складноєфірні, пептидні, глікозидні та інші зв'язки — *естерази*, *пептидази* та *протеази*, *глікозидази*.

4-й клас. Ліази — ферменти, що каталізують реакції розщеплення ковалентних зв'язків між атомами С, О, N, S негідролітичним шляхом.

До ліаз належать *декарбоксилази* — ферменти, що відщеплюють від органічних кислот карбоксильну групу у вигляді CO_2 ; *альдолази*, що розщеплюють вуглець-вуглецеві зв'язки з утворенням альдегідів; *дегідратази*, які відщеплюють від субстратів молекулу води з утворенням подвійного зв'язку.

5-й клас. Ізомерази — ферменти, що каталізують реакції ізомеризації субстратів (рацемізації, епімеризації, внутрішньомолекулярної оксидоредукції тощо) — *рацемази*, *епімерази* тощо.

6-й клас. Лігази (синтетази) — ферменти, що каталізують реакції синтезу біомолекул, тобто утворення нових хімічних зв'язків за рахунок енергії АТФ.

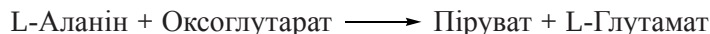
Код ферменту (за систематичною класифікацією ферментів — КФ) складається з чотирьох цифр, що позначають: клас — підклас — підпідклас — порядковий номер ферменту в підпідкласі.

Наприклад:

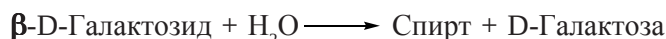
КФ 1.1.1.1. *Алкоголь: НАД⁺-оксидоредуктаза (алкогольдегідрогеназа):*



КФ 2.6.1.2. *Аланін: оксоглутарат-аміотрансфераза (аланінаміотрансфераза):*



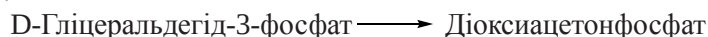
КФ 3.2.1.23. *β -D-Галактозид-галактогідролаза (β -галактозидаза; лактаза):*



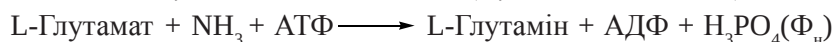
КФ 4.3.1.3. *Гістидин-аміак-ліаза (гістидаза):*



КФ 5.3.1.3. *D-Гліцеральдегід-3-фосфат-кетол-ізомераза (тріозофосфат-ізомераза):*



КФ 6.3.1.2. *L-Глутамат: аміак-лігаза (глутамінсинтетаза):*



6.3. ХІМІЧНА СТРУКТУРА ФЕРМЕНТІВ. КОФЕРМЕНТИ

А. Будова ферментних білків

За хімічною структурою ферменти є простими білками або складними білками (тобто такими, що містять у собі небілкову частину).

Білкова частина складного білка-ферменту має назву *апофермент* (*апоензим*), небілкова — *кофермент* (*коензим*) — див. нижче. Повна назва складного ферменту — *холофермент*:



Олігомерні білки-ферменти

Багато ферментних білків складаються з декількох субодиниць (протомерів), що являють собою різні поліпептидні ланцюги, сполучені нековалентними зв'язками — *олігомерні ферменти*.

Найбільш розповсюджені олігомерні ферменти, що містять у собі два (C_2), чотири (C_4) або шість (C_6) протомерів. Окрім ферментів, що складаються з однакових за хімічною природою протомерів, існують ферменти, до складу яких входять різні за будовою та біохімічними функціями субодиниці. Наприклад, фермент *аспартат-карбамоїлтрансфераза* складається з шести каталітичних та шести регуляторних субодиниць (C_6R_6). Приклади деяких білків-ферментів, що мають олігомерний склад, були наведені в таблиці 2.1.

У клітині, особливо в складі біологічних мембран, деякі ферменти здатні утворювати *поліферментні (мультиензимні) комплекси (системи)*, що каталізують послідовності спряжених біохімічних реакцій. Такі поліферментні комплекси складаються з декількох десятків фізично асоційованих білків-ферментів, кожен з яких каталізує певну реакцію. Розрізняють (рис. 6.1):

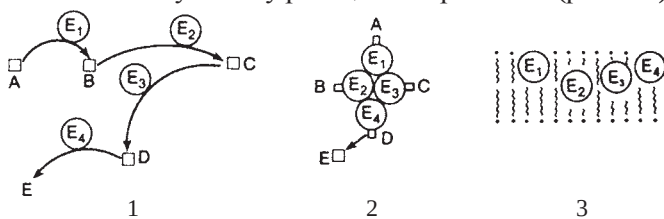


Рис. 6.1. Типи мультиензимних систем в клітині.

1. Розчинні мультиензимні системи, в яких відсутня постійна асоціація між ферментами E_1 , E_2 , E_3 , E_4 ; відбувається дифузія субстратів A, B, C, D між окремими ферментами.

2. Мультиензимні системи, в яких окремі ферменти сполучені між собою нековалентними зв'язками, утворюючи комплекси, які полегшують передавання субстратів та продуктів між окремими ферментними білками.

3. Мембрано-зв'язані мультиензимні системи, в яких окремі ферменти асоційовані з ліпідним бішаром субклітинних органел (мітохондрій, ендоплазматичного ретикулула тощо).

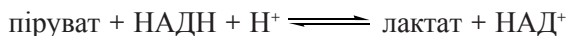
Прикладом мультиензимних систем може бути *піруватдегідрогеназний комплекс*, виділений із мітохондрій та *E. Coli*. Зокрема, піруватдегідрогеназний комплекс *E. Coli*, що має м.м. $4,0 \cdot 10^6$, складається з 24 молекул ферментного білка *піруватдегідрогенази* (м.м. — 90 кД; із кожною молекулою білка зв'язаний *тіаміндифосфат* — ТДФ), молекули *дигідроліпоїлтрансацилази* (яка складається з 24 протомерів — окремих поліпептидних ланцюгів із м.м. 36 кД; кожен ланцюг містить залишок ліпоєвої кислоти) та 12 молекул *дигідроліпоїлдегідрогенази* (м.м. — 55 кД; кожна молекула сполучена з ФАД).

Ізоферменти

Ізоферменти (ізозими) — множинні молекулярні форми одного й того ж ферменту. Ізоферменти каталізують одну й ту ж біохімічну реакцію, але розрізняються за своєю первинною структурою і, відповідно, фізико-хімічними (молекулярною масою, рухомістю при електрофорезі тощо) та каталітичними (різною спорідненістю ферменту із субстратом — K_m) властивостями.

Різні ізоферменти одного й того ж ферменту можуть бути присутніми в різних органах і тканинах (ізоферменти *лактатдегідрогенази*), субклітинних структурах (мітохондріальний та цитозольний ізоферменти *ізоцитратдегідрогенази*).

Ізоферменти належать до більш широкого класу *ізобілків* — множинних молекулярних форм певного білка, що зустрічаються в різних організмах в межах одного біологічного виду і є результатами експресії різних генетичних локусів або *алеломорфами* — продуктами одного локусу. В разі, якщо фермент, що представлений ізоферментними формами, має олігомерну будову, його ізоферменти формують за рахунок різних комбінацій неідентичних протомерів. Прикладом такого ізоферментного сімейства можуть бути ізоферменти *лактатдегідрогенази* (*ЛДГ-аза*) — ферменту, що каталізує обернену реакцію перетворення піровиноградної кислоти в молочну:



За своєю молекулярною будовою ЛДГ-аза є тетрамером, що побудований із протомерів двох типів: Н (“серцевого” — heart, англ.) та М (“м’язового” — muscle). В організмі людини присутні п’ять комбінацій зазначених протомерів, які створюють різні ізоферменти ЛДГ-ази: ЛДГ₁(Н₄), ЛДГ₂(Н₃М), ЛДГ₃(Н₂М₂), ЛДГ₄(НМ₃) та ЛДГ₅(М₄), що розподілені переважно в різних органах (міокарді, печінці, скелетних м’язах, нирках тощо). Ці ізоферменти розрізняються за своєю електрофоретичною рухомістю та їх визначення в сироватці крові хворих має діагностичне значення для виявлення пошкоджень мембранних структур, що спостерігаються при різних захворюваннях (інфаркті міокарда, гепатиті тощо).

Б. Кофактори та коферменти

Кофактори

Багато ферментів потребують для реалізації своєї каталітичної активності наявності певних низькомолекулярних небілкових сполук — *кофакторів*. Роль кофакторів можуть відігравати біоорганічні сполуки різної хімічної природи або іони металів (Mg²⁺, Ca²⁺, Fe³⁺–Fe²⁺, Cu²⁺ – Cu¹⁺ т.і.).

Іони металів зв’язані з апоферментом або входять до складу небілкової простетичної групи (див. нижче) — найчастіше порфіринового кільця гемінових ферментів (*цитохромів*, *пероксидаз*, *каталази*). Ферменти, які міцно зв’язані з іонами металів і не втрачають цього зв’язку за умов виділення та фракціонування ферменту, називаються *металоферментами* (табл. 6.1).

Таблиця 6.1. Металоферменти та відповідні метали-кофактори

Металоферменти	Іони металів
Аргіназа	Mn ²⁺
Алкогольдегідрогеназа	Zn ²⁺
Карбоангідраза	Zn ²⁺
Карбоксипептидаза А	Zn ²⁺
Супероксиддисмутаза	Zn ²⁺ , Cu ²⁺
Ксантиноксидаза	Mo ⁶⁺
Цитохром с	Fe ²⁺
Цитохроми (а + а ₃)	Fe ²⁺ , Cu ⁺

У деяких випадках іони металів не входять до складу ферментів як інтегральні структурні компоненти, а виконують лише функцію їх *активаторів*.

Коферменти (коензими) — біорганічні сполуки небілкової природи, що є необхідними для дії ферменту, тобто перетворення субстрату в каталітичному акті.

Коферменти можуть сполучатися з білковою частиною (апоферментом) нековалентними фізико-хімічними або ковалентними зв'язками (в останньому випадку вони є простетичними групами ферментного білка — флавінові коферменти, піридоксальфосфат, ліпоєва кислота тощо); деколи коферменти утворюють комплекси з апоферментом лише в ході каталітичного процесу (НАД, НАДФ).

Класифікація коферментів

А. За хімічною природою коферменти підрозділяють на:

— похідні вітамінів, зокрема: вітаміну B_1 — *тіаміндифосфат*; вітаміну B_2 — *флавінмононуклеотид (ФМН)*; вітаміну B_6 — *піридоксальфосфат, піридоксамінфосфат*; пантотенової кислоти — *коензим А*; вітаміну B_{12} — *метилкобаламін, дезоксиаденозилкобаламін*; вітаміну Н (біотину) — *карбоксибіотин*; фолієвої кислоти — *тетрагідрофолієва кислота*;

— динуклеотиди (похідні нікотинаміду — НАД⁺, НАДФ⁺; похідний рибофлавіну — ФАД);

— нуклеотиди — похідні пуринів та піримідинів (АТФ, АДФ, ЦТФ, ЦДФ, УТФ, УДФ);

— комплекси порфіринів з іонами металів.

Б. За типом реакції, яку вони каталізують, коферменти поділяють на:

1. Коферменти, що є переносниками атомів водню та електронів.

2. Коферменти, що є переносниками різних хімічних груп.

3. Коферменти синтезу, ізомеризації та розщеплення вуглець-вуглецевих зв'язків.

Таблиця 6.2. Коферменти та ферментативні реакції, в яких вони беруть участь

Коферменти	Біоорганічна сполука, похідним якої є кофермент	Тип реакції, що каталізується коферментом
1. Переносники водню та електронів:		
НАД (нікотинамідаденіндинуклеотид)	Вітамін РР (нікотинова кислота, нікотинамід)	Перенос гідрид-іону (:H)
НАДФ (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат)	—	—
ФАД (флавінаденіндинуклеотид)	Вітамін B ₂ (рибофлавін)	Перенос атомів водню (2H ⁺ + 2e ⁻)
ФМН (флавінмононуклеотид)	—	—
Коензим Q	Убіхінон	Перенос атомів водню (2H ⁺ + 2e ⁻)
Глутатіон	Трипептид: γ-глутамініл-цистеїніл-гліцин	Перенос водню в пероксидазних та редуктазних реакціях
Гемінові коферменти	Металопорфірини	Перенос електронів

Продовження табл. 6.2

2. Переносники інших хімічних груп:		
Нуклеозидфосфати: АТФ (аденозинтрифосфат)	Аденозин	Перенос фосфатних, пірофосфатних, аденозильних радикалів
АДФ(аденозиндифосфат) УТФ (уридинтрифосфат)	—" Уридин	—" Перенос моносахаридних радикалів
УДФ (уридиндифосфат) ЦТФ (цитидинтрифосфат)	—" Цитидин	—" Перенос холіну та етанол-аміну
ЦДФ (цитидиндифосфат) Піридоксалеві коферменти:	—" Вітамін В ₆ (піридоксин)	—" Перенос аміногруп; декарбоксилювання
Піридоксальфосфат Піридоксамінфосфат Коензим ацилювання (КоА; КоА-SH)	Вітамін В ₃ (пантотенова кислота) Вітамін В _с (фолієва кислота)	Перенос ацильних радикалів Перенос одновуглецевих радикалів (формільного, оксиметильного, метильного)
Тетрагідрофолієва кислота (ТГФК)		
Ліпоєва кислота	Тіоктова кислота	Перенос ацетильних радикалів
3. Коферменти синтезу, ізомеризації та розщеплення вуглець-вуглецевих зв'язків:		
Тіаміндифосфат (ТДФ)	Вітамін В ₁ (тіамін)	Окисне декарбоксилювання оксо(α -кето)-кислот; перенос кето-фрагментів
Кобамідні коферменти: Метилкобаламін 5-Дезоксиаденозилкобаламін Карбоксибіотин	Вітамін В ₁₂ (кобаламін) Вітамін Н (біотин) — похідне тіофену	Реакції трансметилування Реакції ізомеризації Реакції карбоксилювання за участю CO ₂

Структура найбільш поширених коферментів (с. 94-97).

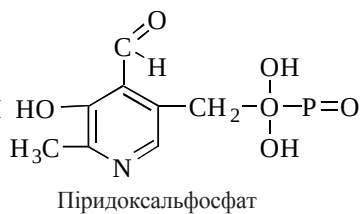
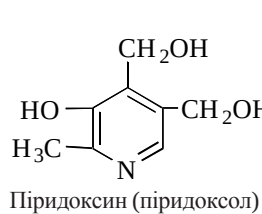
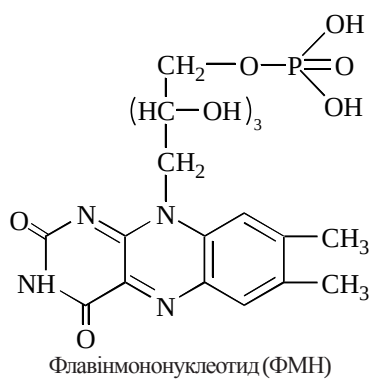
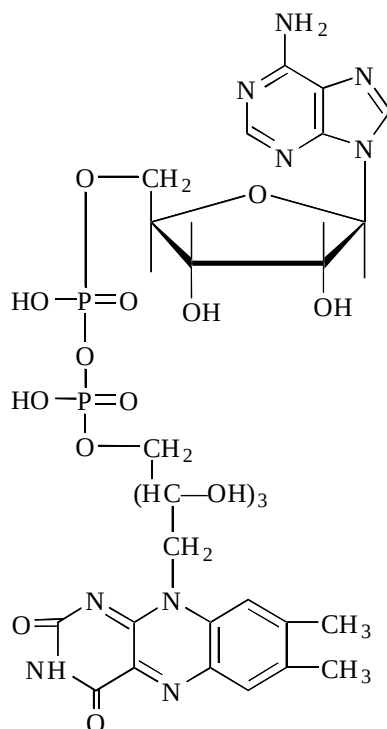
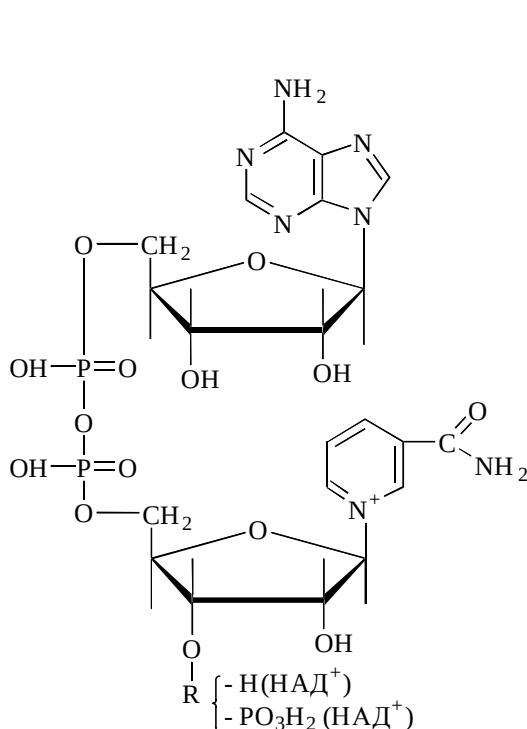
Коферменти — похідні вітаміну РР (нікотинаміду) (входять до складу дегідрогеназ): нікотинамідаденіндинуклеотид (НАД⁺) та нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ⁺).

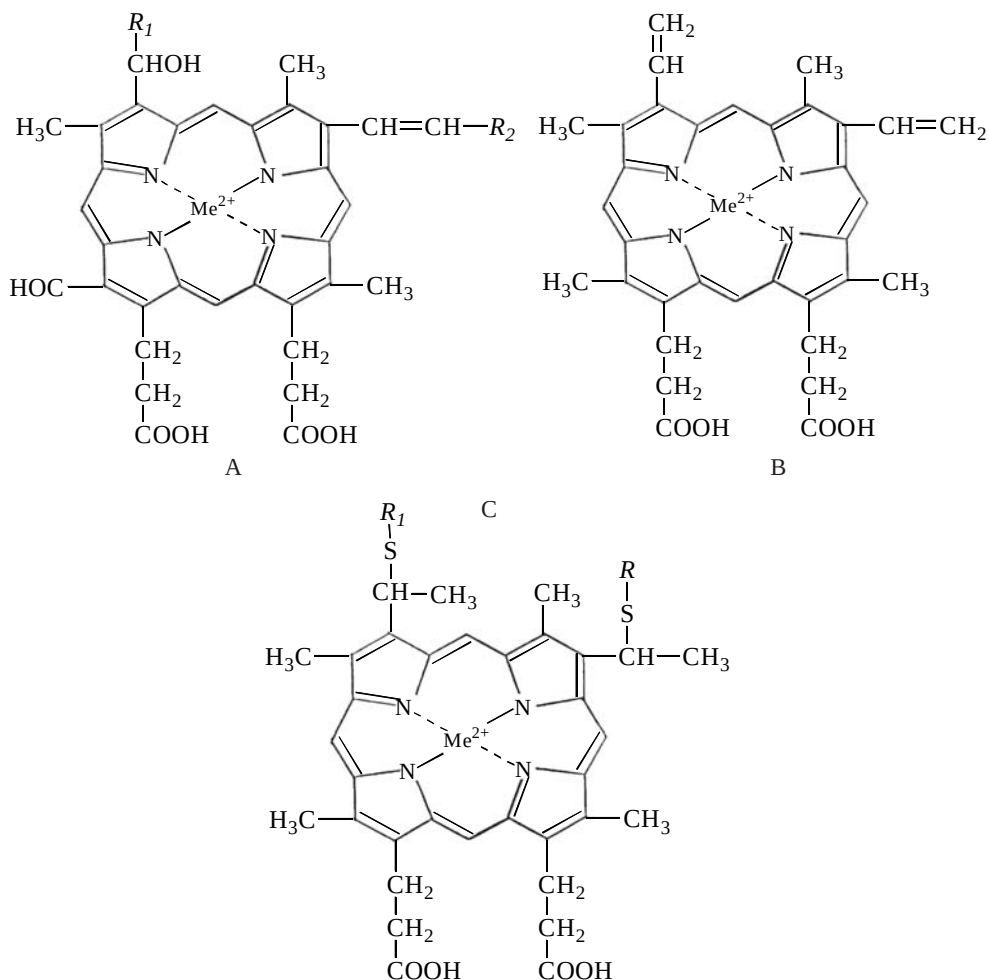
Коферменти — похідні вітаміну В₂ (рибофлавіну) (входять до складу дегідрогеназ та оксидаз): флавінаденіндинуклеотид (ФАД), флавінмононуклеотид (ФМН).

Піридоксалеві коферменти — похідні вітаміну В₆ (піридоксину) (входять до складу амінотрансфераз, декарбоксилаз): піридоксин (піридоксол), піридоксальфосфат, піридоксамінфосфат.

Металопорфірини — коферменти цитохромів: металопорфіринові структури цитохромів *a* (А), *b* (В), *c* (С). (Me²⁺: залізо в цитохромах *b* та *c*, мідь — у цитохромі *a*).

Кофермент ацилювання — похідний пантотенової кислоти: коензим А (КоА).





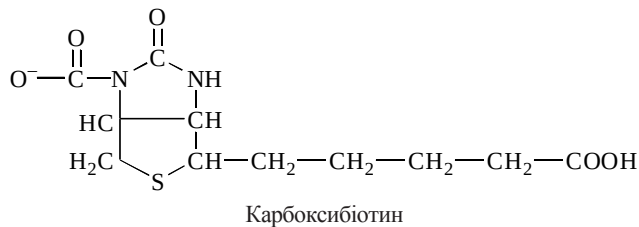
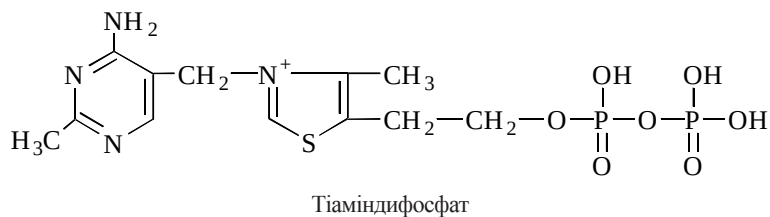
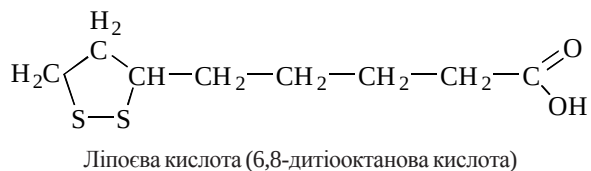
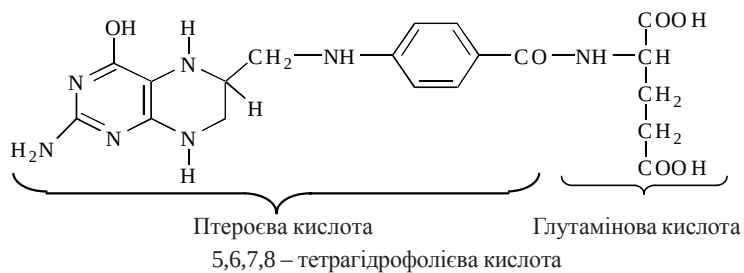
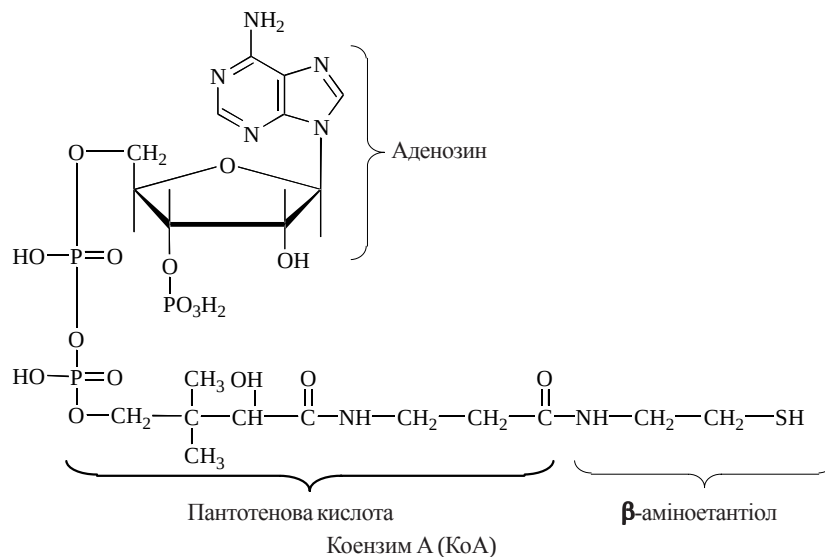
Металопорфіринові структури цитохромів *a* (A), *b* (B), *c* (C).
(Me^{2+} : залізо в цитохромах *b* та *c*, мідь — у цитохромі *a*).

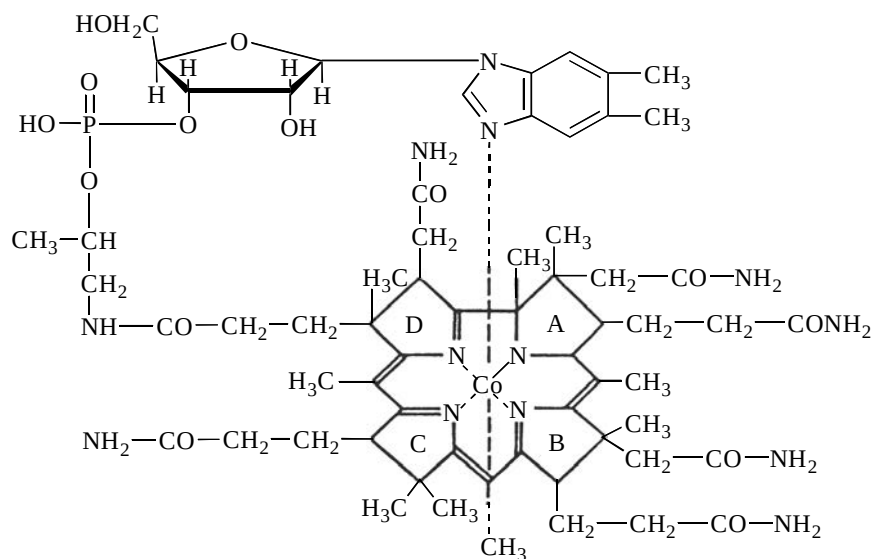
Коферменти — *похідні фолієвої кислоти* (коферменти в реакціях переносу та оксидоредукції одновуглецевих радикалів): 5,6,7,8-тетрагідрофолієва кислота.

Ліпоєва кислота (кофермент у реакціях окислювального декарбоксилювання α -кетокислот): ліпоєва кислота (6,8-дитіооктанова кислота).

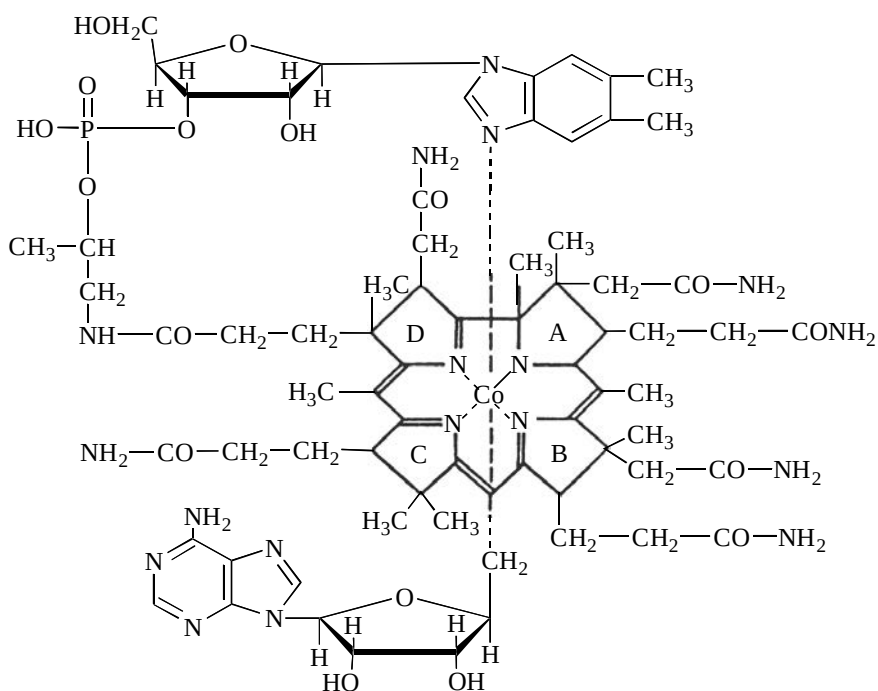
Тіаміндифосфат — *похідний вітаміну B_1* (кофермент у реакціях декарбоксилювання α -кетокислот, транскетотазній реакції): тіаміндифосфат.

Кофермент карбоксибіотин (кофермент реакцій карбоксилювання): карбоксибіотин.





Метилкобаламін (кофермент у реакціях метилювання)



Дезоксиаденозилкобаламін (кофермент у реакціях ізомеризації, спряжених із внутрішньомолекулярним переносом гідридного іона)

Коферменти — похідні вітаміну B_{12} : метилкобаламін (кофермент у реакціях метилювання), дезоксиаденозилкобаламін (кофермент у реакціях ізомеризації, спряжених із внутрішньомолекулярним переносом гідридного іона).

ГЛАВА 7. ФЕРМЕНТИ

II. МЕХАНІЗМИ КАТАЛІЗУ. КІНЕТИКА. РЕГУЛЯЦІЯ

7.1. МЕХАНІЗМИ ДІЇ ФЕРМЕНТІВ

Ферменти збільшують швидкості біохімічних реакцій, які вони каталізують, у 10^8 - 10^{20} разів; при відсутності ферменту будь-яка метаболічна реакція практично не відбувається. Відомо, що константа швидкості хімічної реакції залежить від її енергії активації та температури, що виражається рівнянням Арреніуса в експоненційній формі:

$$k = Ae^{-\Delta E/RT}.$$

Під енергією активації (ΔE в рівнянні Арреніуса) в хімічній термодинаміці розуміють додаткову енергію, необхідну для переходу молекул (субстратів S) у *перехідний (активований) стан* (S^*), який передуює їх перетворенню в продукти реакції. Згідно з цим, експоненційний член рівняння $e^{-\Delta E/RT}$ (фактор Больцмана) — доля молекул у системі, які мають енергію, достатню для хімічного перетворення.

Оскільки всі метаболічні процеси в живих організмах перебігають в ізотермічних умовах, **каталітична дія ферментів реалізується за рахунок зниження останніми енергії активації (ΔE) біохімічної реакції**, що збільшує фактор Больцмана, і, відповідно, константу швидкості реакції на декілька порядків:

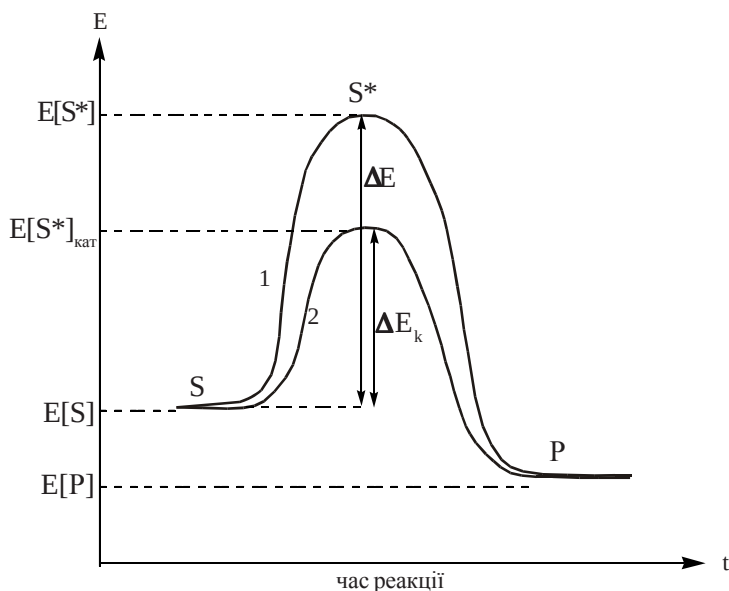


Рис. 7.1. Енергетичні діаграми хімічної реакції ($S \rightarrow P$) без каталізатора (1) та в присутності каталізатора — ферменту (2). ΔE та ΔE_k — енергія активації реакції без та в присутності каталізатора, відповідно.

Порівняно з хімічними каталізаторами, ферменти значно зменшують ΔE реакцій, які вони каталізують. Так, наприклад, у реакції розщеплення перекису водню



енергія активації може зменшуватися під дією неорганічних каталізаторів (йодиду, платини) або, більш сильно, під впливом специфічного ферменту *каталази*, що призводить до відповідних величин збільшення швидкості реакції.

Т а б л и ц я 7.1. Неферментативний та ферментативний каталіз розщеплення перекису водню ($t = 25^\circ\text{C}$; константу швидкості некаталізуючої реакції прийнято за одиницю) (за S.Rapoport, 1964)

Умови реакції	Енергія активації (ккал/моль)	Кількість активованих молекул	Збільшення константи швидкості реакції
Без каталізатора	18	$1,3 \cdot 10^{-13}$	1
+ Йодид	14	$1 \cdot 10^{-10}$	$8 \cdot 10^2$
+ Платина	12	$3 \cdot 10^{-9}$	$2 \cdot 10^4$
+ Каталаза	2	$4 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{11}$

Активні центри ферментів

Зниження енергії активації біохімічної реакції і, як результат високої каталітичної ефективності ферментів досягають за рахунок взаємодії субстратів із певними ділянками ферментної молекули (*активними, або каталітичними центрами*), що супроводжується зближенням та орієнтацією відповідних хімічних груп субстратів і створює стеричні умови, необхідні для реалізації специфічних актів каталізу.

Активний центр — ділянка молекули ферментного білка, що взаємодіє із субстратом під час ферментативної реакції і необхідна для перетворення субстрату в каталітичному процесі.

Він формується з певних ділянок поліпептидного ланцюга, що просторово зближені за рахунок унікальної тривимірної конформації ферментного білка.

До складу активних центрів різних ферментів входять радикали певних амінокислотних залишків, головним чином ОН-групи серину, треоніну та тирозину, імідазольне кільце гістидину, SH-група цистеїну, COO-групи дикарбонових амінокислот, NH_3^+ -групи аргініну та лізину (рис. 7.2). В утворенні активних центрів беруть участь також кофактори даного ферменту: простетичні групи, іони металів (рис. 7.3).

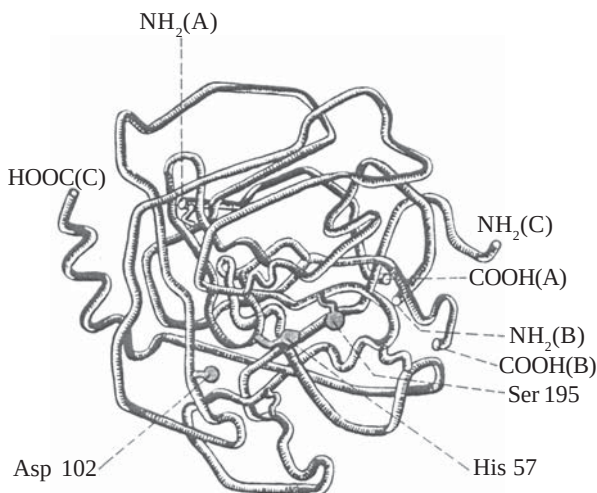


Рис.7.2. Тривимірна будова ферменту хімотрипсину. Активний центр ферменту сформований амінокислотними залишками Ser-195, His-57 та Asp-102.

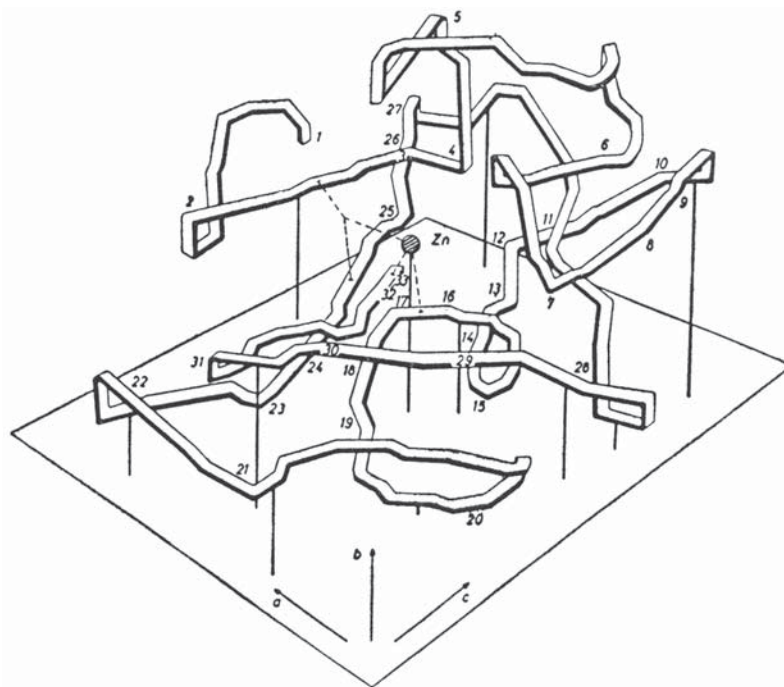


Рис.7.3. Розташування атома Zn в активному центрі ферменту карбоангідрази.

Активний центр локалізується, як правило, в заглибленні, просторовій ніші, що утворюється в макромолекулі білка-ферменту. Структура активного центру є комплементарною до просторової будови субстрату, що стало основою уявлення Е.Фішера про відповідність ферменту і субстрату як “ключа і замка”. Пізніші теорії ферментативного каталізу (Д.Кошленд) враховують можливі взаємні зміни просторових конформацій ферменту і субстрату під час їх взаємодії (“теорія індукованої відповідності ферменту і субстрату”).

У структурі активного центру розрізняють:

– **ділянку, що зв’язує субстрат**, або контактну (“якірну”) ділянку; вона містить радикали полярних (зв’язують молекули субстрату за рахунок водневих зв’язків або дипольних взаємодій) або неполярних амінокислотних залишків (створюють в активному центрі гідрофобні зони, що взаємодіють із відповідними радикалами в субстраті);

– **каталітично активну ділянку**, до складу якої входять хімічні групи, що беруть безпосередню участь у перетворенні субстрату (групи $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $\geq\text{N}$, $-\text{NH}_3^+$, $-\text{COO}^-$).

Механізми перетворення субстрату за каталітичної дії ферменту

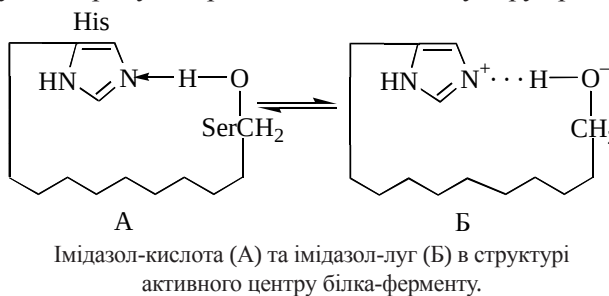
У механізмі ферментативного перетворення субстрату беруть участь такі молекулярні ефекти:

1. **Ефекти зближення та орієнтації.** Адсорбція та фізико-хімічна взаємодія субстратів з активними центрами ферментів супроводжуються локальним

зростанням концентрації реагуючих молекул, їх зближенням та найбільш ефективною орієнтацією одна до одної та до каталітично активних груп активного центру.

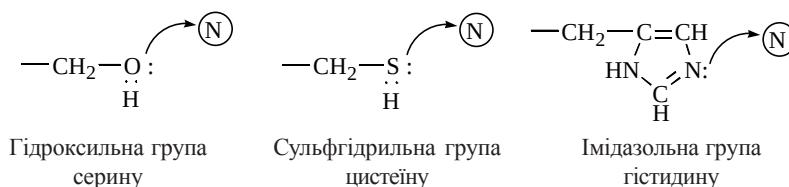
2. Ефекти кислотно-основного каталізу. Певні функціональні групи радикалів амінокислот, що входять до структури активних центрів, мають властивості кислот або основ Бренстеда, тобто донорів чи акцепторів протонів (амінні, карбоксильні, сульфгідрильні, імідазольні групи).

Прикладом кислотно-основного каталізатора є імідазольна група гістидину, яка у взаємодії з гідроксильною групою серину створює кислотно-основну пару Бренстеда. Функціональні групи $\geq N$ та $-OH$, що відіграють каталітичну роль, розміщені, як правило, в різних ділянках пептидного ланцюга та зближуються за рахунок унікальної третинної структури ферментного білка.



3. Ефекти нуклеофільного та електрофільного каталізу. Функціональні групи амінокислотних залишків, що входять до складу активних центрів, можуть виступати в каталітичному акті перетворення субстратів як донори електронів (нуклеофіли) або акцептори електронів (електрофіли), тобто як основи або кислоти Льюїса, відповідно.

Нуклеофільні групи в складі активних центрів ферментів:



Електрофільні групи в складі активних центрів ферментів:

- NH_3^+ — групи аргініну та лізину;
- іони металів-кофакторів (Mg^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Cu^{2+}).

Механізми каталітичної дії хімотрипсину

Механізми ферментативної дії найбільш вивчені для гідролаз, які є каталізаторами з активними центрами кислотно-основного типу. Представниками таких ферментів є біокаталізатори, до складу активних центрів яких входять *гістидин-серинові каталітичні комплекси*; це такі поширені ферменти, як *хімотрипсин* (КФ 3.4.4.5), *трипсин* (КФ 3.4.4.4), *тромбін* (КФ 3.4.4.13), *еластаза* (КФ 3.4.21.11), *ацетилхолін-естераза* (КФ 3.1.1.7).

Хімотрипсин (α -хімотрипсин) — протеолітичний фермент (протеаза), що розщеплює пептидні зв'язки за участю води в молекулах певних білків та пептидів.

Як уже зазначалося (рис. 7.2), каталітичний центр хімотрипсину утворюється з гідроксильної групи серину та імідазольної групи гістидину, що розташовані в 195-му (Ser-195) та 57-му (His-57) положеннях пептидного ланцюга молекули ферменту.

Перший етап каталітичного акту.

Імідазол діє як основа Бренстеда, витягуючи на себе протон від ОН-групи серину, що спричиняє появу надлишкової електронної щільності на атомі кисню серину та полегшує нуклеофільну атаку групи —CO— субстрату гідроксилом серину. Як результат цього процесу, відбувається ацилювання ферменту за рахунок перенесення ацильного радикала від субстрату на сериновий залишок (Ser-195) ферменту (рис. 7.4 а,б).

Другий етап каталітичного акту.

Атом гістидину (His-57) здійснює нуклеофільну атаку на кисень ацильного похідного серину, що сприяє відщепленню та перенесенню ацилу на зовнішній акцептор — молекулу води (рис. 7.4 в,г).

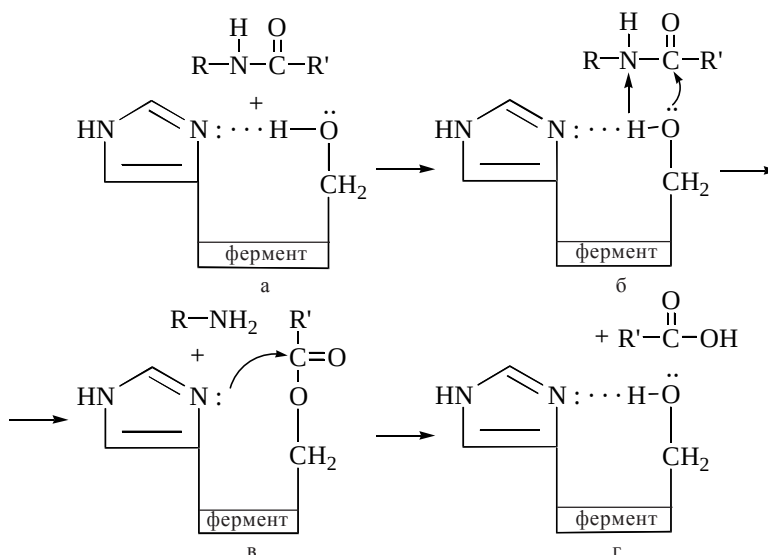
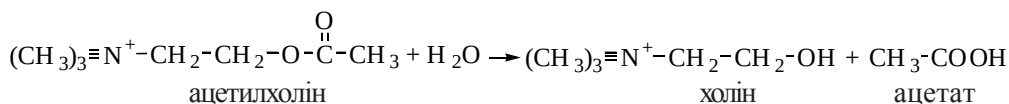


Рис. 7.4. Участь функціональних груп активного центру хімотрипсину (His-57 та Ser-195) в каталітичному акті розщеплення пептидного зв'язку в молекулі субстрату.

Механізми каталітичної дії ацетилхолінестерази

Ацетилхолінестераза (КФ 3.1.1.1) — фермент, що розщеплює гідролітичним шляхом молекулу нейромедіатора ацетилхоліну:



Ацетилхолінестераза також належить до гістидин-серинових гідролаз і здійснює гідролітичне розщеплення субстрату з проміжним утворенням ацетилюваного за залишком серину ферменту. Разом із тим, до активного центру ацетилхолінестерази

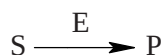
входить гідроксильна група тирозину, що, виконуючи функцію лужного каталізатора, сприяє гідролізу ацетильованого серину та регенерації вихідної структури активного центру ферменту.

7.2. КІНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНИХ РЕАКЦІЙ. ІНГІБІТОРИ ФЕРМЕНТІВ

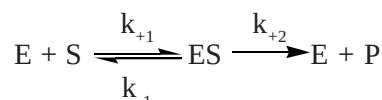
Ферментативна кінетика є розділом хімічної кінетики, що займається вивченням впливу різних хімічних та фізико-хімічних факторів на швидкість реакцій.

Вона вивчає, зокрема, залежність швидкостей ферментативних реакцій від концентрацій ферменту, субстрату, pH та температури середовища, дії активаторів та інгібіторів.

Загальне рівняння односубстратної ферментативної реакції:



З урахуванням взаємодії ферменту із субстратом у ході каталітичного акту (*теорія Міхаеліса-Ментен*) рівняння ферментативного перетворення субстрату набуває вигляду:



Для характеристики утворення фермент-субстратного комплексу використовується *субстратна константа*, або *константа дисоціації комплексу Міхаеліса*:

$$K_s = k_{-1}/k_{+1}$$

Відношення між сумою констант швидкостей реакцій зворотного розпаду (k_{-1}) і розщеплення комплексу з утворенням продуктів реакції (k_{+2}) та константою швидкості утворення фермент-субстратного комплексу (k_{+1}) називається *константою Міхаеліса* (K_m):

$$K_m = k_{-1} + k_{+2}/k_{+1}$$

K_m має розмірність концентрації (моль/л) і кількісно визначає спорідненість ферменту із субстратом — чим активніший фермент, тим нижче значення його K_m . Значення K_m для різних ферментів коливаються в широкому діапазоні — від 10^{-6} моль/л для високоактивних ферментів (наприклад, *пероксидази*) до 10^{-2} для малоактивних протеаз.

Залежність швидкості реакції від концентрації ферменту та субстрату

Концентрації ферменту та субстрату є величинами, що найбільш часто змінюються в умовах будь-якої біохімічної ферментативної реакції.

Цілком зрозуміло, що швидкість ферментативної реакції буде прямо пропорційно залежати від концентрації ферменту, а саме:

$$V = k \cdot [E],$$

тобто збільшення в клітині рівня певного ферментного білка повинно супроводжуватися зростанням швидкості реакції, що каталізується цим ферментом.

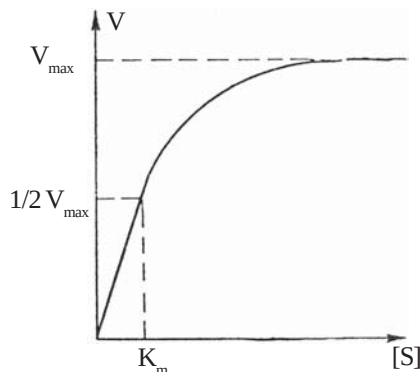


Рис. 7.5. Залежність швидкості реакції від концентрації субстрату (гіпербола Міхаеліса-Ментен).

Більш складною є залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату. Графічно ця залежність зображується гіперboloю, що подана на рис.7.5. Як видно з ходу гіперболи, ця залежність має складний характер: при низьких концентраціях субстрату швидкість реакції прямо пропорційна його концентрації (реакція 1-го порядку), а при високих концентраціях досягається *ефект насичення*, тобто незалежність V від $[S]$.

Рівняння залежності V від $[S]$, або *рівняння Міхаеліса-Ментен* таке:

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

У випадку, коли $V = 1/2 V_{\max}$, маємо:

$$\frac{V_{\max}}{2} = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_m + [S]}, \text{ звідси:}$$

$$\frac{1}{2} = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_m + [S]},$$

та після відповідних перетворень:

$$K_m = [S].$$

Константа K_m дорівнює концентрації субстрату, при якій швидкість реакції становить половину від максимальної (рис.7.5).

Рівняння Міхаеліса-Ментен можна отримати на основі аналізу кінетики реакції взаємодії ферменту із субстратом — за Брігсом та Холдейном.

Розглядаємо вихідне кінетичне рівняння.

Введемо такі позначення:



$[E]$ — загальна кількість ферменту (у вільній та зв'язаній формах);

$[ES]$ — концентрація ферменту, що входить до складу фермент-субстратного комплексу;

$[E] - [ES]$ — концентрація вільного, не зв'язаного з субстратом, ферменту.

Вважаємо також, що $[S] \gg [E]$.

Швидкість реакції утворення фермент-субстратного комплексу:

$$\frac{d[ES]}{dt} = V_{+1} = k_{+1}([E] - [ES]) \cdot [S] \quad (2)$$

Швидкість реакції розщеплення фермент-субстратного комплексу:

$$- \frac{d[ES]}{dt} = V_{-1} + V_{+2} = k_{-1}[ES] + k_{+2}[ES] \quad (3)$$

Після встановлення в системі стаціонарного стану:

$$V_{+1} = V_{-1} + V_{+2}$$

Враховуючи (2) та (3), можна вважати, що:

$$k_{+1}([E] - [ES]) \cdot [S] = k_{-1}[ES] + k_{+2}[ES] \quad (4)$$

Розв'язуємо рівняння (4) через $K_m = k_{-1} + k_{+2}/k_{+1}$:

$$K_m = \frac{([E] - [ES]) \cdot [S]}{[ES]} \quad (5)$$

З рівняння (5) знаходимо концентрацію [ES] в стаціонарному стані:

$$[ES] = \frac{[E] \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad (6)$$

Загальну швидкість ферментативної реакції, тобто швидкість утворення продукту, можна подати як:

$$V = k_{+2} [ES] \quad (7)$$

В умовах, коли

$$[ES] = [E] \quad (8)$$

(тобто весь фермент входить до складу фермент-субстратного комплексу), швидкість реакції

$$V = V_{\max},$$

тобто, враховуючи (7, 8):

$$V_{\max} = k_{+2} [E] \quad (9)$$

Підставляючи значення [E] та [ES] з (7) та (9) до рівняння (6), легко показати, що:

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

Обробка рівняння Міхаеліса-Ментен за методом подвійних зворотних величин дає змогу представити залежність V від [S] прямою лінією — *рівняння Лайнуївера-Берка*:

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

Перевагою цього рівняння є прямо пропорційна залежність між $1/V$ та $1/[S]$ (рис.7.6), яка дозволяє легко отримати значення кінетичних констант K_m та $V_{\max}$, що неможливо при аналізі звичайної гіперболи Міхаеліса-Ментен.

Із рівняння Лайнуївера-Берка та графіка (рис.7.6) очевидно, що кутовий коефіцієнт прямої (тангенс кута нахилу) дорівнює $K_m/V_{\max}$. Значення цих констант легко знаходять на графіку.

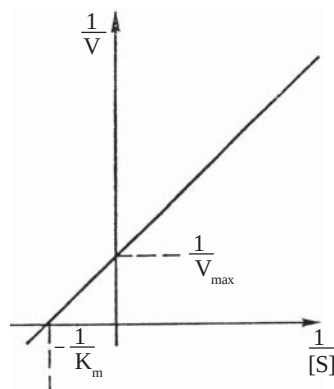


Рис. 7.6. Залежність $1/v$ від $1/[S]$ — графік Лайнуївера-Берка.

Залежність швидкості реакції від рН та температури

Вплив рН на активність ферментів

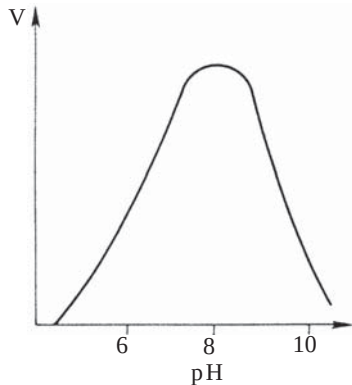


Рис. 7.7. Типова рН-залежність швидкості ферментативної реакції.

Кожен фермент має свій *рН-оптимум*, тобто значення рН середовища, при якому його каталітична активність максимальна. “Дзвоноподібна” залежність активностей ферментів від змін рН визначається їх білковою природою, зсувами в дисоціації іоногенних груп та (при екстремальних значеннях рН) розвитком конформаційних змін молекул.

Більшість внутрішньоклітинних та тканинних ферментів організму людини найактивніші в нейтральному, слаболужному або слабокислому середовищі (звичайно, в межах рН між 5,0 та 9,0). Ферментами з оптимумами при екстремальних значеннях рН є *пепсин* ($\text{pH}_{\text{опт}} = 1-2$) і *аргіназа* ($\text{pH}_{\text{опт}} = 10-11$).

Вплив температури на активність ферментів

Ферменти, відповідно до своєї білкової природи, є термочутливими та термолабільними утвореннями:

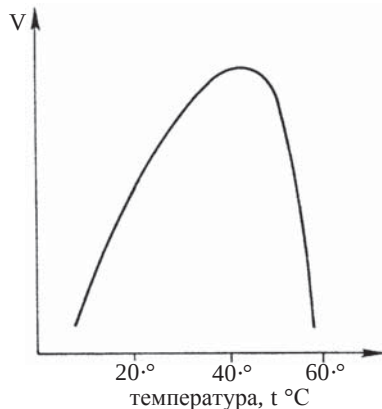


Рис. 7.8. Вплив температури на швидкість ферментативної реакції.

– зростання температури до оптимальних значень (для більшості ферментів — у межах 37-40 °C) супроводжується збільшенням швидкості ферментативної реакції відповідно за рівнянням Арреніуса (за рахунок частіших ефективних зіткнень між молекулами); ступінь збільшення швидкості реакції при зростанні t° на 10 °C позначають, як *температурний коефіцієнт* Q_{10} ;

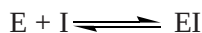
– при збільшенні температури вище оптимального значення швидкість ферментативної реакції різко зменшується за рахунок конформаційних (денатураційних) змін у структурі ферментного білка.

Інгібітори ферментів

Інгібітори — хімічні сполуки, що зменшують каталітичну активність ферментів. На відміну від речовин, які інактивують ферменти за рахунок їх денатурації (концентровані кислоти та луги, солі важких металів у високих концентраціях), дія інгібіторів є специфічною стосовно певних ферментів або груп ферментів, вони мають низьку концентрацію.

Залежно від характеру змін, що відбуваються в молекулі ферменту, розрізняють:

– *зворотне інгібування*, що описується таким рівнянням взаємодії ферменту з інгібітором I:



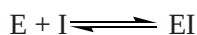
– незворотне інгібування:



Зворотне інгібування ферментів, залежно від механізму взаємодії ферменту з інгібітором, поділяється на *конкурентне* та *неконкурентне*.

Конкурентне інгібування.

Конкурентне інгібування спричиняють ліганди, що за своєю хімічною структурою близькі до субстрату і взаємодіють із тим самим активним центром на молекулі ферменту, що і субстрат, утворюючи комплекс EI:



Класичним прикладом конкурентного інгібітора є *малонова кислота* $\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{COOH}$, яка протидіє зв'язуванню активним центром ферменту *сукцинат-дегідрогенази* справжнього субстрату — *янтарної кислоти (сукцинату)* $\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$. Конкурентне інгібування викликають різні *антиметаболіти*, тобто сполуки, близькі за будовою до справжніх клітинних метаболітів: антивітаміни; речовини, близькі до амінокислот, пуринових та піримідинових основ і нуклеотидів. У зв'язку з високою біологічною активністю деякі антиметаболіти застосовують як антибактеріальні засоби (сульфаніламіди, антибіотики), протипухлинні препарати.

Конкурентне інгібування ферменту можна перебороти за рахунок підвищення концентрації субстрату в інкубаційному середовищі. Кінетичний аналіз за Лайнуївером-Берком свідчить, що **конкурентні інгібітори збільшують константу Міхаєліса K_m ферменту і не впливають на $V_{\max}$ реакції** (рис. 7.9).

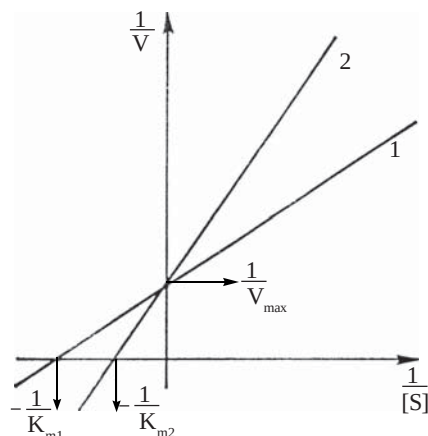


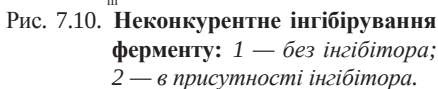
Рис. 7.9. Конкурентне інгібування ферменту: 1 — без інгібітора; 2 — в присутності інгібітора.

Неконкурентне інгібування.

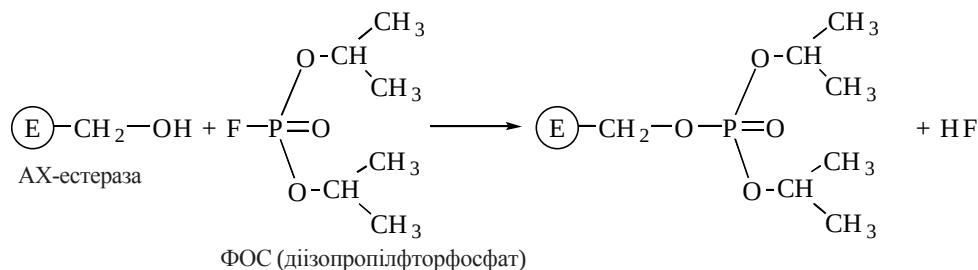
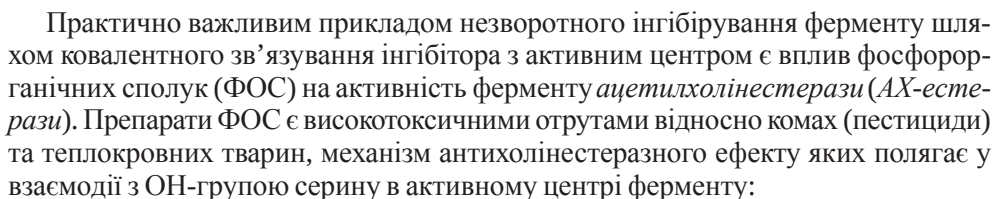
Неконкурентні інгібітори не мають структурної подібності до субстрату. Вони реагують з іншими, відмінними від активних центрів, ділянками на молекулі ферменту і можуть зв'язуватися не тільки з вільним ферментом, а й із фермент-субстратним комплексом:



Приєднання неконкурентного інгібітора до ферменту зменшує його активність (максимальну швидкість реакції ($V_{\max}$), але не впливає на спорідненість ферменту із субстратом (K_m) (рис.7.10).



Прикладом такої модифікації молекули ферменту є дія *алкілюючих агентів* (зокрема, *йодацетаміду*), що незворотно реагують із каталітично активними SH-групами:



Упорядкований перебіг біохімічних реакцій в організмі можливий лише за умов присутності каталітично активних форм ферментів у потрібний час і в потрібному місці (в тканині, клітині, субклітинному компартменті), що вимагає наявності чіткої *системи регуляції* (контролю) діяльності ферментів. Крім того, будь-які зміни оточуючого або внутрішнього середовища (характеру харчування, інтенсивності впливу на організм біологічних, хімічних та фізичних факторів) потребують спрямованих адаптаційних реакцій різних фізіологічних систем, що реалізуються через зміни швидкостей певних метаболічних процесів, які каталізуються ферментами.

Існують два принципових шляхи регуляції інтенсивності, або швидкості біохімічних ферментативних реакцій:

А — через зміну *каталітичної активності ферменту*.

Б — через зміну *кількості ферменту (або ферментів)*, що визначають перебіг ферментативного процесу.

А. Перший шлях регуляції передбачає наявність у ферментному пулі клітини спеціальних *регуляторних ферментів*, які містяться звичайно на головних, ключових ланках метаболізму. Цей шлях забезпечує термінову адаптацію ферментного апарату організму і реалізується протягом декількох секунд або хвилин — механізм “швидкого реагування”.

Існують чотири основних механізми регуляції каталітичної активності ферментів (L.Stryer, 1995):

1. Алостерична регуляція активності ферментів.
2. Регуляція активності ферментів за рахунок їх ковалентної модифікації.
3. Активація ферментів шляхом обмеженого протеолізу.
4. Активація та гальмування активностей ферментів за допомогою особливих регуляторних білків.

Алостеричні ферменти

Алостеричні ферменти — це різновид регуляторних ферментів, що, крім активного центру, мають додатковий регуляторний (*алостеричний центр*), з яким взаємодіють *алостеричні регулятори (ефектори, модулятори)*.

Алостеричні ефектори можуть бути як *позитивними*, тобто такими, що збільшують каталітичну активність ферменту (*алостеричні активатори*), так і *негативними*, тобто такими, що її гальмують (*алостеричні інгібітори*).

За своєю молекулярною будовою алостеричні регуляторні ферменти складаються, як правило, з декількох поліпептидних ланцюгів, тобто мають четвертинну структуру. Активний та регуляторний (алостеричний) центри локалізуються на різних білкових субодиницях — *каталітичній та регуляторній*, відповідно. Модифікація каталітичної активності такого ферменту здійснюється шляхом передачі на каталітичні субодиниці конформаційних змін із регуляторних субодиниць, які відбуваються в останніх після взаємодії з лігандами — ефекторами.

Згідно з моделлю Ж.Моно, Дж.Уаймена, Ж.-П.Шанжьо (J.Monod, J.Wyman, J.-P.Changeux, 1965) (рис. 7.11), існують два фізичних стани алостеричного

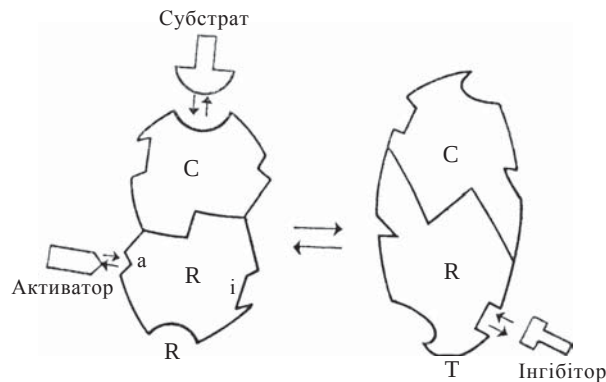


Рис.7.11. Перехід між каталітично активною (R) та неактивною (T) формами алостеричного ферменту (модель Monod-Wyman-Changeux). C і R — каталітична і регуляторна субодиниці, відповідно.

ферменту, що відрізняються своєю конформацією та каталітичною активністю: каталітичний (релаксований) стан (R-стан — *relaxed*, англ.) та інгібований (напружений) стан (T-стан — *tensed*, англ.) (рис. 7.11).

Зворотний перехід між R- та T-станами залежить від взаємодії ферменту з алостеричними ефекторами (активатором або інгібітором, відповідно), які, взаємодіючи з місцями зв'язування на регуляторній субодиниці ферменту, стабілізують його молекулу в одному з конформаційних станів.

Кінетика алостеричних ферментів

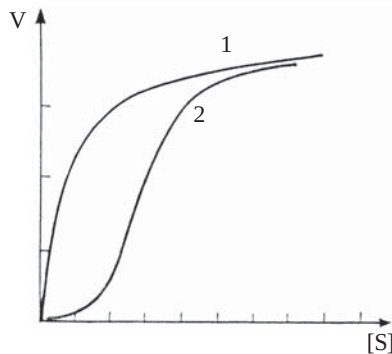
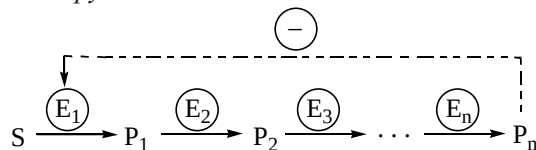


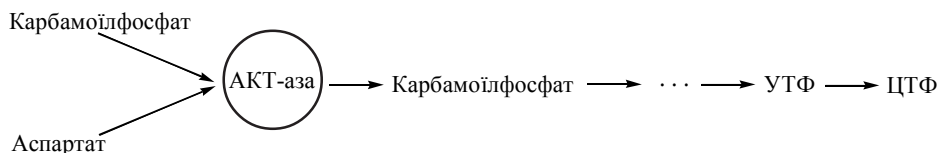
Рис. 7.12. Вплив концентрації субстрату на швидкість реакції для звичайного (1 — гіперболічна крива) та алостеричного (2 — S-подібна крива) ферментів.

Кінетика алостеричних ферментів має ряд відмінностей від кінетики звичайних ферментів. Крива залежності швидкості реакції від концентрації субстрату для цих ферментів має не гіперболічну, а S-подібну (сигмоподібну) форму, що визначається кооперативними ефектами взаємодії між окремими субодиницями регуляторного ферменту під час зв'язування молекул субстрату: при низьких концентраціях субстрат практично не перетворюється, лише після досягнення концентрацією певного порогового значення, швидкість реакції починає стрімко зростати (рис. 7.12).

Алостеричні ферменти каталізують біохімічні реакції, що знаходяться, як правило, на початку нерозгалужених або розгалужених метаболічних шляхів. При цьому модуляторами цих ферментів можуть бути як їх власні субстрати — *гомotropні регуляторні ферменти*, так і інші хімічні ефектори, зокрема кінцеві продукти багатоступеневого біохімічного процесу — *гетеротропні регуляторні ферменти*. В останньому випадку продукт (або продукти) метаболічного шляху (звичайно анаболічного, біосинтетичного характеру) за механізмом негативного зворотного зв'язку гальмує активність першого ферменту послідовності — *ретроінгібування*:



Класичним прикладом ферменту з алостеричним механізмом регуляції є *аспартаткарбамоїлтрансфераза* (АКТ-аза) — перший фермент біосинтетичного шляху утворення піримідинів, що синтезуються у вигляді таких нуклеозидтрифосфатів, як уридинтрифосфат (УТФ) та цитидинтрифосфат (ЦТФ):



Враховуючи роль піримідинів як компонентів нуклеотидів ДНК та РНК і деяких коферментів, регуляція каталітичної активності АКТ-ази має надзвичайно велике біологічне значення. У зв'язку з цим, існує чітка система контролю за їх кількістю, яка реалізується шляхом впливу алостеричних ефекторів на активність першого ферменту цього біосинтетичного шляху — АКТ-ази:

ЦТФ — кінцевий продукт біосинтезу — є алостеричним інгібітором АКТ-ази, що переводить фермент у неактивну Т-форму;

АТФ — продукт біосинтезу пуринів та показник високого енергетичного стану клітини — є алостеричним активатором ферменту, що переводить його в активну R-форму.

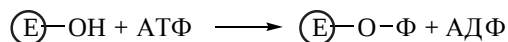
За своєю молекулярною будовою АКТ-аза є типовим регуляторним ферментом, що складається із шести регуляторних та каталітичних субодиниць (R_6C_6), які утворюють білок із четвертинною структурою (рис.7.13).

Кінетика субстратної залежності швидкості АКТ-азної реакції подана на рис.7.14. Додавання алостеричного активатора (АТФ) зсуває кінетичну криву вліво, інгібітора (ЦТФ) — вправо.

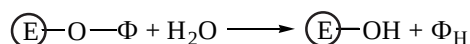
Ковалентна модифікація ферментів

Постсинтетична ковалентна модифікація ферментних білків є одним із поширених механізмів контролю за перебігом метаболічних процесів. Шляхами такої модифікації є зворотне *фосфорилування-дефосфорилування* (найбільш поширений механізм регуляції), *метилування*, *аденілування*, *АДФ-рибозилування* білків-ферментів.

Фосфорилують білки спеціальні ферменти *протеїнкінази* (*протеїнфосфокінази*), що за рахунок кінцевого (γ -) фосфату АТФ здійснюють фосфорилування серинового чи треонінового (деякі протеїнкінази — тирозинового) радикалу відповідного білка:



Зворотна реакція — дефосфорилування білків — каталізується *протеїнфосфатазами*:



Субстратами протеїнкіназ є численні ферментні білки (*глікогенфосфорилаза*, *кіназа фосфорилази b*, *глікогенсинтетаза*, *тригліцеридліаза*, *піруватдегідрогеназа*, *ацетил-КоА-карбоксилаза* тощо), деякі білки мембранних каналів, гістони хроматину тощо.

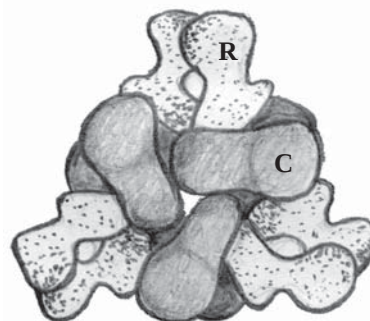


Рис. 7.13. Четвертинна структура аспартаткарбамоїлтрансферази — вигляд зверху. С — каталітичні, R — регуляторні субодиниці.

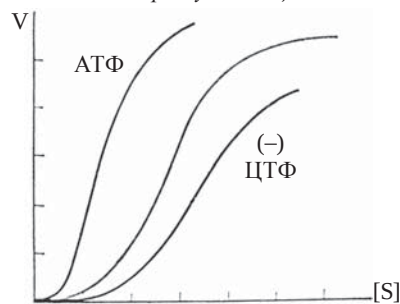


Рис. 7.14. Кінетичні криві АКТ-ази в присутності АТФ та ЦТФ.

Фосфорилування багатьох білків-ферментів трансформує їх у каталітично активну форму (фосфорилування глікогенфосфорилази, кінази фосфорилази b, тригліцеридліпази тощо); фосфорилування інших ферментних білків (глікогенсинтетази, β -ГОМК-редуктази) є, навпаки, механізмом їх інактивації. Швидкість фосфорилування-дефосфорилування білків коливається, як правило, в межах від декількох секунд до декількох хвилин, відповідно до необхідності включення або виключення певної фізіологічної функції клітини.

У регуляції численних біохімічних функцій та фізіологічних процесів бере участь унікальна протеїнкіназа, що активується циклічним аденозинмонофосфатом (цАМФ) — *вторинним посередником* у дії на клітину багатьох фізіологічно активних сполук (див. нижче).

Протеолітична активація ферментів

Активація ферментів шляхом обмеженого протеолізу їх молекул є механізмом *незворотної* трансформації ферменту в каталітично активний стан. При дії цього механізму від неактивної форми ферменту-попередника (*проферменту*, *зимогену*) відщеплюється певний пептидний ланцюг; у пептиді, що залишається після обмеженого протеолізу, відбуваються конформаційні зміни, які призводять до формування активного центру і створення каталітично активної форми білка-ферменту.

Цей регуляторний механізм функціонує при утворенні активних форм більшості протеолітичних ферментів травного каналу — *пепсину*, *трипсину*, *хімотрипсину*, а також активних протеаз, що є компонентами (факторами) згортальної і фібринолітичної систем крові людини.

Дія регуляторних білків

Активність деяких ферментів контролюється спеціальними регуляторними білками, що можуть спричиняти активуючі або інгібіторні ефекти.

Прикладами таких білків-ефекторів є:

- *кальмодулін (КМ)* — Са-чутливий протеїн, який є хімічним сенсором, що трансформує збільшення цитозольної концентрації Ca^{2+} в певні біохімічні та фізіологічні реакції клітини; після зв'язування чотирьох іонів кальцію комплекс КМ– 4Ca^{2+} стає здатним до активації багатьох ферментних білків, зокрема *фосфодіестерази циклічних нуклеотидів*, *кінази легких ланцюгів міозину* тощо;

- *протеїназні інгібітори*, тобто ефектори, що обмежують (блокують) активність тканинних протеїназ — ферментів, які спроможні розщеплювати власні білки організму; найбільш активними інгібіторами є α_2 -макроглобулін та α_1 -антитрипсин (α_1 -протеїназний інгібітор), які блокують активність серинових та інших протеїназ за рахунок зв'язування з їх активними центрами;

- *антигемофільний глобулін А (фактор VIII згортальної системи крові)*; цей білок бере участь в активації *фактора X*, що запускає весь коагуляційний каскад, який призводить до формування кров'яного згустка; спадкова недостатність антигемофільного глобуліну А проявляється схильністю до кровотеч — *гемофілією*.

Б. Другий шлях регуляції є механізмом довготривалої адаптації ферментного апарату. Для його включення і повної реалізації необхідно декілька годин або діб. У більшості випадків він полягає в змінах в інтенсивності біосинтезу певного ферментного білка за рахунок впливу на систему ядерного генома або рибосомального білкового синтезу (тобто процеси транскрипції та трансляції). У деяких біохімічних системах кількість білка-ферменту в клітині збільшується шляхом

стабілізації існуючих молекул за рахунок гальмування активності протеаз, що їх розщеплюють.

Цей тип регуляції широко представлений у мікроорганізмів, які мають вражаючу властивість пристосування до змін у хімічному складі культурального середовища (концентрацій амінокислот, вуглеводів, присутності певних антибіотиків тощо) шляхом швидкої активації або гальмування синтезу відповідних ферментів.

Розрізняють два класи ферментів мікроорганізмів:

- *конститутивні ферменти* — такі, що синтезуються бактеріальними клітинами постійно, незалежно від змін в умовах існування;
- *адаптивні ферменти* — такі, інтенсивність біосинтезу яких змінюється залежно від змін в умовах існування.

Адаптивні ферменти мікроорганізмів поділяються на *індуцибельні* та *репресибельні*, тобто такі, активність синтезу яких, відповідно, підвищується або гальмується залежно від дії певних сполук-ефекторів. Молекулярні механізми ферментної індукції та репресії в кишкової палички *E. Coli* будуть розглянуті в главі 22.

Адаптивна індукція або репресія ферментів має місце і в клітинах еукаріотів. Прикладами індукції ферментних систем в організмі людини можуть бути зміни в концентрації білків-ферментів у печінці, що відбуваються залежно від кількості поживних сполук в їжі (адаптація ферментів вуглеводного, амінокислотного та ліпідного обмінів), надходження в організм чужорідних сполук — лікарських, токсичних (індукція ферментів детоксикації — глюкуронування та мікросомального окислення).

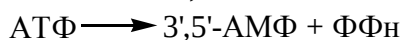
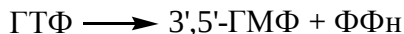
Циклічні нуклеотиди в регуляції ферментативних процесів

Важливою та поширеною біологічною системою контролю за ферментативними реакціями, що поєднує в собі різні молекулярні механізми регуляції, є *система циклічних нуклеотидів*.

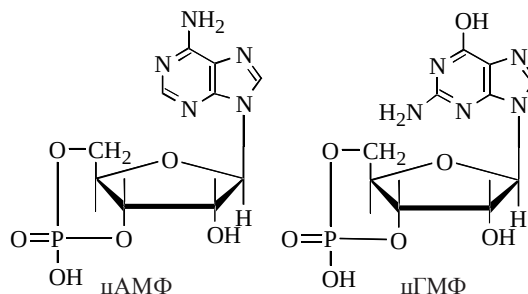
Циклічні нуклеотиди 3',5'-АМФ (цАМФ) та 3',5'-ГМФ (цГМФ) — це внутрішні (3'5') дифосфорні ефіри аденілової (АМФ) та гуанілової (ГМФ) кислот.

Найбільш поширеними є цАМФ-залежні системи контролю за внутрішньоклітинними біохімічними процесами, зокрема за такими, що підлягають нейрогуморальній регуляції з боку цілісного організму, яка реалізується гормонами та нейромедіаторами (глава 23). Регуляція ферментативних процесів за участю цАМФ включає декілька послідовних стадій передавання та трансформації хімічного (регуляторного) сигналу.

1. Утворення циклічних нуклеотидів у реакціях, що каталізуються ферментами циклазами: *аденилатциклазою* та *гуанілатциклазою* з нуклеозидтрифосфатів АТФ та ГТФ, відповідно:



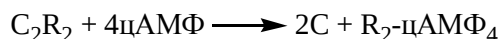
Розщеплення цАМФ та цГМФ до звичайних, нециклічних нуклеозидмонофосфатів каталізується *фосфодіестеразою циклічних нуклеотидів*.



Фермент *аденілатциклаза* розміщений у плазматичних мембранах клітин і його активація відбувається в результаті взаємодії з рецепторами мембран певних фізіологічно активних сполук, зокрема гормонів *адреналіну*, *глюкагону* тощо.

2. Активація циклічним АМФ *протеїнкіназ*, функцією яких є фосфорилування інших ферментних білків. Ці цАМФ-залежні протеїнкінази є регуляторними ферментами, що активуються цАМФ за механізмом алостеричного контролю.

цАМФ-залежна протеїнкіназа є тетрамером, що складається з двох каталітичних та двох регуляторних субодиниць (C_2R_2), як і інші ферменти з алостеричним механізмом регуляції. Взаємодія чотирьох молекул цАМФ із R-субодиницями призводить до дисоціації протеїнкіназного комплексу з вивільненням С-субодиниць, які спроможні до каталізу відповідної реакції (тобто фосфорилування відповідних клітинних білків):



Активована протеїнкіназа може фосфорилувати декілька сотень або тисяч білків-субстратів, що призводить до значного посилення первинного хімічного регуляторного сигналу — *каскадна система регуляції*. Більш детально молекулярні механізми включення цАМФ-залежних каскадів біохімічних реакцій при дії гормонів на чутливі клітини будуть розглянуті в главі 23.

Порушення ферментативних процесів

Результатом зменшення концентрації в біохімічній системі *in vivo* будь-якого ферменту є порушення перебігу відповідної ферментативної реакції. Такі порушення ферментативних процесів мають місце в організмі людини та є біохімічним базисом розвитку численних патологічних процесів. У випадку, якщо зменшення кількості ферменту на певному метаболічному шляху є результатом уродженої нездатності клітини до його біосинтезу, внаслідок дії спадкових, генетичних факторів, виникають *уроджені вади метаболізму*.

Поняття “уроджені вади метаболізму” було висунуто ще в 1908 р. лікарем А. Garrod, який першим розпізнав спадкову природу таких порушень метаболізму в людини, як алкаптонурия, цистинурия, альбінізм та пентозурия. Завдяки розвитку біохімічної генетики встановлено, **що молекулярною основою уроджених вад метаболізму є дефекти ферментів (ензимопатії), що спричинені мутаціями в складі генів, які відповідальні за синтез певних ферментних білків.**

До *ензимопатій* належать:

- уроджені порушення метаболізму простих та складних вуглеводів;
- уроджені порушення метаболізму ліпідів;
- уроджені порушення метаболізму амінокислот;
- уроджені порушення метаболізму порфіринів;
- уроджені порушення метаболізму пуринів та піримідинів.

На даний час відомо близько 150 спадкових ензимопатій. Зрозуміло, що, якщо ген, експресія якого відбувається шляхом синтезу білка-ферменту, є *домінантним*, певна патологія метаболізму проявляється вже в гетерозиготному стані; у випадку дефекту в структурі *рецесивного* гена гетерозиготні за даним геном особини здатні синтезувати відповідний білок у зменшеній кількості, й ензимопатія у вигляді спадкової патології часто проявляє себе лише за певних фізіологічних умов.

Біохімічні механізми виникнення окремих типів ензимопатій та їх клінічні прояви будуть розглянуті у відповідних главах.

ГЛАВА 8. ОБМІН РЕЧОВИН: КАТАБОЛІЗМ, АНАБОЛІЗМ

Обмін речовин (метаболізм) — сукупність біохімічних реакцій перетворення хімічних сполук (*метаболітів*), що відбуваються в живих організмах. Постійний обмін речовинами та енергією з навколишнім середовищем є головною ознакою живої клітини, що визначає її термодинамічно стаціонарний стан та протидіє зростанню ентропії в будь-якій біологічній системі.

8.1. ЗАГАЛЬНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ОБМІНУ РЕЧОВИН

Обмін речовин в організмі людини та вищих тварин складається з декількох послідовних стадій, що включають у себе:

- надходження біоорганічних речовин (поживних сполук) — білків, ліпідів, вуглеводів, вітамінів, мінеральних елементів, води — до організму в складі продуктів харчування;
- перетворення поживних сполук (білків, полісахаридів, жирів) у травному каналі до простих сполук (амінокислот, моносахаридів, жирних кислот, гліцерину), що здатні всмоктуватися епітелієм слизової оболонки шлунка та кишечника;
- біотранспорт молекул — продуктів травлення поживних речовин кров'ю та лімфою, надходження їх через мембрани судин та клітинні мембрани до певних органів і тканин (печінки, м'язів, головного мозку, нирок, жирової тканини тощо);
- внутрішньоклітинний метаболізм біомолекул в органах і тканинах (*проміжний обмін*, або власне метаболізм у вузькому значенні);
- виділення (екскреція) з організму — через нирки, легені, шкіру, кишечник — кінцевих продуктів обміну речовин (діоксиду вуглецю, аміаку, сечовини, води, продуктів кон'югації деяких органічних молекул та продуктів їх окислення).

Реакції внутрішньоклітинного метаболізму включають у себе такі біохімічні перетворення:

а) розщеплення біоорганічних молекул (глюкози, жирних кислот, амінокислот, гліцерину) до кінцевих продуктів проміжного обміну (діоксиду вуглецю, води, аміаку) з вивільненням хімічної енергії та акумуляцією її у формі аденозинтрифосфornoї кислоти (аденозинтрифосфату, АТФ), інших макроергічних фосфатів або протонного потенціалу, що забезпечує енергетичні потреби основних процесів життєдіяльності. Сукупність процесів розщеплення біомолекул з вивільненням енергії отримала назву *катаболізму*;

б) синтез специфічних, генетично притаманних даному організмові біомолекул (білків, нуклеїнових кислот, полісахаридів, ліпідів, біорегуляторів тощо), що необхідні для утворення власних клітинних та позаклітинних біоструктур. Ці процеси отримали назву *анаболізму* та потребують використання енергії у формі АТФ.

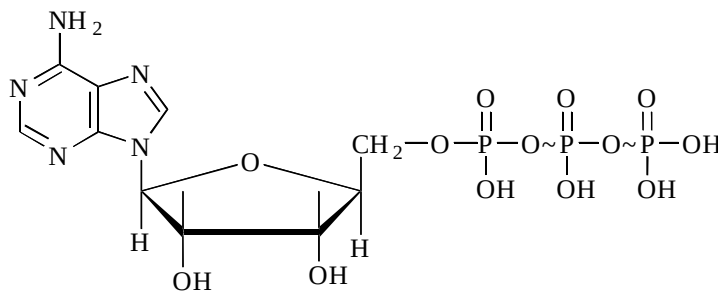
в) використання енергії (у формі АТФ або протонного потенціалу) для забезпечення таких процесів клітинної фізіології, як функціонування скоротливих структур (м'язове скорочення, діяльність елементів цитоскелета, війок і джгутиків тощо), екзо- та ендоцитоз, генерація мембранного потенціалу, активний транспорт метаболітів та неорганічних іонів.

– *реакції відновлення* — приєднання до біоорганічних сполук (здебільшого, ненасичених зв’язків) атомів водню; в реакціях відновлення як донори використовуються молекули відновленого нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату (НАДФН).

Спряження ендергонічних процесів з екзергонічними здійснюється за рахунок синтезу протягом екзергонічної реакції сполук з високим енергетичним потенціалом, які в подальшому використовуються в ендергонічних реакціях, що забезпечує передачу хімічної енергії від екзергонічного до ендергонічного процесу.

Сполуки з високим енергетичним потенціалом — це біомолекули (органічні фосфати), що мають високу стандартну вільну енергію переносу кінцевої фосфатної групи (зокрема, гідролізу) ΔG^0 (або ΔG^0 при $\text{pH} = 7,0$). Такі біомолекули та відповідні хімічні зв’язки мають назву *макроергічних*. Присутність у цих сполуках високо-енергетичного (макроергічного) фосфатного зв’язку позначається символом $\sim$ (знак “тильда”), тобто $\sim \Phi$, або $\sim \text{P}$ (англ.).

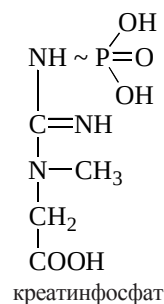
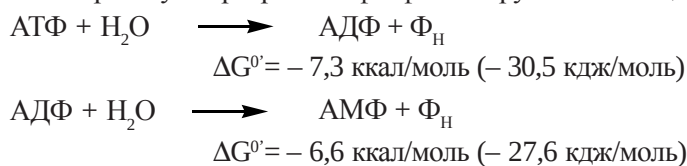
Головною макроергічною сполукою в живих організмах є молекула АТФ. У структурі молекули АТФ є два макроергічні зв’язки, молекули АДФ — один макроергічний зв’язок:



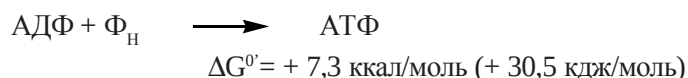
Аденозинтрифосфорна кислота (АТФ)

До макроергічних сполук належать також такі інтермедіати вуглеводного, ліпідного і амінокислотного метаболізму, як фосфоенолпіруват, 1,3-дифосфогліцерат та важливий енергетичний резерв м’язів — креатинфосфат.

Вивільнення хімічної енергії відбувається за умов гідролізу АТФ та АДФ або переносу макроергічних фосфатних груп на інші акцептори:



Зворотне перетворення АДФ в АТФ за участю неорганічного фосфату (Φ_{H}), тобто фосфорилування АДФ до АТФ вимагає відповідних витрат хімічної енергії:



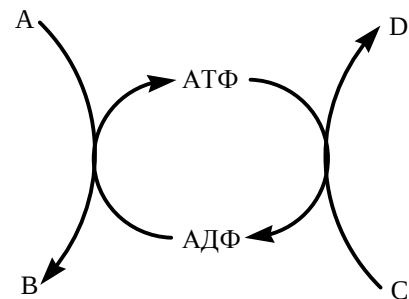


Рис. 8.1. Роль системи АТФ—АДФ у спряженні екзергонічних та ендергонічних процесів.

Відповідно до цих енергетичних закономірностей, циклічні перетворення АТФ в АДФ зв'язують процеси, що генерують $\sim \Phi$, з процесами, що споживають $\sim \Phi$. Таким чином, у всіх біологічних системах АТФ є основною сполукою, яка передає енергію від екзергонічних до ендергонічних процесів (біохімічних реакцій та фізіологічних функцій).

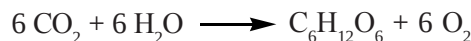
Схема спряження екзергонічних (А—В) з ендергонічними (С—D) реакціями через систему АТФ — АДФ подана на рис. 8.1.

Типи обміну речовин

Протягом біологічної еволюції на Землі виникли два типи обміну речовин — *аутоτροφний* та *гетеротрофний*, що розрізняються залежно від того, у якій формі організми отримують з навколишнього середовища необхідні для їх життєдіяльності і побудови біоструктур вуглець та енергію.

Аутоτροφні клітини (організми) можуть використовувати як єдине джерело вуглецю CO_2 атмосфери, з якого вони здатні утворювати всі свої вуглецевмісні компоненти. До аутотрофних належать фотосинтезуючі клітини вищих зелених рослин та клітини деяких прокаріотів — синьо-зелених водоростей, зелених та пурпурових бактерій. Енергію для своїх ендергонічних реакцій аутотрофи отримують за рахунок енергії сонячного світла, яка уловлюється та трансформується в хімічну енергію спеціальними світлочутливими білками, зокрема *хлорофілами* хлоропластів зелених рослин.

Сумарне рівняння фотосинтезу:



Гетеротрофні клітини (організми) отримують вуглець, необхідний для побудови власних молекул і біоструктур, у вигляді складних біоорганічних сполук (вуглеводів, ліпідів, білків тощо), що містяться в продуктах харчування. За джерело енергії для процесів життєдіяльності у гетеротрофів правлять реакції біологічного окислення метаболітів, які утворюються при катаболізмі моносахаридів, ліпідів та деяких амінокислот.

До гетеротрофних належать еукаріотичні клітини тваринних організмів, у яких основні екзергонічні процеси, що супроводжуються вивільненням хімічної енергії, відбуваються в мітохондріях.

8.2. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ ОБМІНУ РЕЧОВИН

Для вивчення обміну речовин використовують різноманітні хімічні, фізико-хімічні та фізичні методи, що дозволяють ідентифікувати певні метаболіти, оцінювати їх перетворення, біологічне значення для здійснення окремих фізіологічних функцій усього організму, спеціалізованих тканин (м'язової, нервової, сполучної тощо), окремих клітин та субклітинних структур.

Сучасними методами розподілу, очищення складних біологічних сумішей та виділення з них окремих сполук є хроматографія — іонообмінна, абсорбційна, розподільна, гель-хроматографія, афінна (біоспецифічна) — та електрофорез. Із метою вивчення структури біомолекул застосовують інфрачервону та ультрафіолетову спектроскопію, спектроскопію електронного парамагнітного та ядерного магнітного резонансів, флуоресцентний та рентгеноструктурний аналіз.

Окремі метаболічні шляхи містяться у визначених внутрішньоклітинних ділянках — *компартаментах*, що відокремлені біологічними мембранами, зокрема:

- в ядрах — реакції біосинтезу (реплікації) ДНК, синтезу інформаційних та інших класів РНК (транскрипції);
- в мітохондріях — реакції циклу трикарбонових кислот, β -окислення жирних кислот, електронного транспорту та окисного фосфорилування;
- в цитоплазмі (цитозолі) — реакції гліколізу, глюконеогенезу, синтезу жирних кислот, обміну амінокислот тощо;
- в рибосомах — реакції білкового синтезу (утворення поліпептидних ланцюгів);
- у мембранах ендоплазматичного ретикулуму — цитохром Р-450-залежні процеси окисного гідроксилювання гідрофобних субстратів ендогенного та екзогенного походження (реакції “мікосомального окислення”);
- у лізосомах — реакції гідролітичного розщеплення біополімерів — білків та нуклеїнових кислот (як власних біомолекул, так і чужорідних сполук, що поглинаються певними клітинами за рахунок ендоцитозу).

Для вивчення біохімічних реакцій та окремих метаболітів, які локалізовані в певних клітинних компартментах, використовують метод *диференційного центрифугування*. Сутність методу полягає в послідовному центрифугуванні з різними швидкостями гомогенатів біологічних тканин (печінки, м’язів, мозку тощо), що містять у собі суспендовані субклітинні структури (ядра, мітохондрії, лізосоми, різні мембранні везикули, рибосоми). Для отримання гомогенату тканину дезінтегрують у спеціальному гомогенізаторі, суспендуючи її в біологічно інертному розчині (0,25 М розчин сахарози, сольові розчини). Залежно від розмірів та маси, означені органели осідають (седиментують) з різною швидкістю, тому, застосовуючи різну швидкість обертання ротору ультрацентрифуги (та, відповідно, збільшуючи *фактор седиментації*, що кількісно визначається в одиницях прискорення земного тяжіння — **g**) досягають фракціонування тканинного гомогенату на окремі субклітинні структури — табл. 8.1.

Т а б л и ц я 8.1. Субклітинні структури, що виділяються за умов фракціонування тканинних гомогенатів методом диференційного центрифугування

Фактор седиментації	Фракція	Склад фракції, маркерні ферменти
600 g	Ядерна	Клітинні ядра; ДНК- та РНК-полімерази
10 000 g	Мітохондріальна	Мітохондрії; ферменти циклу трикарбонових кислот, біологічного окислення та окисного фосфорилування
12-16 000 g	Лізосомальна	Лізосоми; кислі гідролази
100 000 g	Мікосомальна	Везикули ендоплазматичного ретикулума, рибосоми; ферменти окисного гідроксилювання, біосинтезу білка
Супернатант	Надосадова фракція	Розчинні ферменти цитозолю

8.3. СТАДІЇ КАТАБОЛІЗМУ БІОМОЛЕКУЛ

У ферментативному розщепленні складних біоорганічних сполук в організмі виділяють три основних стадії (етапи), що є загальними для катаболізму різних біомолекул.

Стадія 1. На першій стадії катаболізму складні молекули (макромолекули вуглеводів, білків, нуклеїнових кислот та молекули ліпідів) розщеплюються до простих компонентів:

- полісахариди — до моносахаридів (переважно — глюкози, фруктози, галактози);
- ліпіди (триацилгліцероли) — до жирних кислот та гліцеролу;
- білки — до амінокислот;
- нуклеїнові кислоти — до нуклеотидів.

Реакції першої стадії катаболізму є *гідролітичними* за своїм механізмом і каталізуються *гідролазами* травного тракту (шлунка, кишечника). Ці реакції не супроводжуються суттєвим вивільненням хімічної енергії.

Стадія 2. На другій стадії катаболізму декілька десятків метаболітів, що утворились на першій стадії, підлягають ферментативним реакціям розщеплення з вивільненням певної кількості хімічної енергії, яка акумулюється у високо-енергетичних (макроергічних) зв'язках АТФ.

Реакції другої стадії катаболізму відбуваються внутрішньоклітинно (в цитоплазмі та частково в мітохондріях). Основними з цих реакцій є:

для моносахаридів — гліколіз, кінцевим метаболітом якого є піровиноградна кислота (піруват), що в подальшому окислюється до активної форми оцтової кислоти — ацетил-коензиму А (ацетил-КоА);

для жирних кислот — β -окислення, кінцевим продуктом якого є ацетил-КоА;

для гліцеролу — розщеплення до пірувату, який перетворюється в ацетил-КоА;

для амінокислот та нуклеотидів — дезамінування з виділенням аміаку та розщепленням безазотистих молекулярних скелетів до дво- і тривуглецевих карбонових кислот та їх похідних; більшість із цих метаболітів у кінцевому підсумку також утворюють ацетильний радикал у формі ацетил-КоА.

Таким чином, *ацетил-КоА — це загальний кінцевий продукт другої стадії внутрішньоклітинного катаболізму вуглеводів, ліпідів та амінокислот.*

Стадія 3. На третій стадії катаболізму відбувається окислення ацетил-КоА до кінцевих метаболітів — двоокису вуглецю та води. Ця стадія має місце в мітохондріях і складається з двох процесів:

– *циклу трикарбонових кислот* (ЦТК, циклу Кребса), в результаті функціонування якого утворюється CO_2 , а атоми водню використовуються для відновлення коферментів нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАД^+) та флавінаденіндинуклеотиду (ФАД);

– *системи електронного транспорту в мембранах мітохондрій*, в якій атоми водню (протони та електрони) переносяться на кисень з утворенням H_2O ;

ця система спряжена з окисним фосфорилуванням, в результаті якого енергія реакцій біологічного окислення використовується для синтезу молекул АТФ — головного безпосереднього постачальника енергії у всіх біологічних ендергонічних процесах.

Метаболічна карта загальних шляхів та стадій катаболізму подана на рис. 8.2:

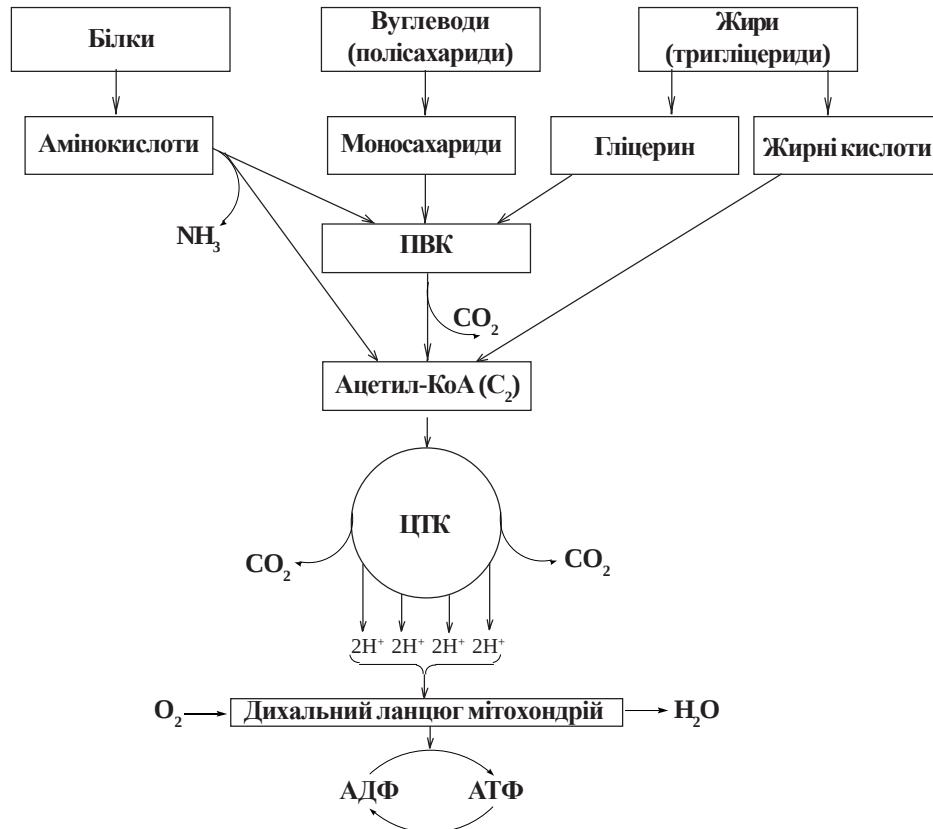


Рис. 8.2. Схема загальних шляхів катаболізму біомолекул.

ГЛАВА 9. БІОЕНЕРГЕТИЧНІ ПРОЦЕСИ: ТРАНСПОРТ ЕЛЕКТРОНІВ; ОКИСНЕ ФОСФОРИЛЮВАННЯ В МІТОХОНДРІЯХ

Біоенергетичні процеси — біологічне окислення та спряжене з ним окисне фосфорилювання — є кінцевою фазою катаболізму молекул у живих організмах, що реалізується складними мультиензимними комплексами внутрішніх мембран мітохондрій. Результатом цих структурованих у біомембранах реакцій є генерація макроергічних зв'язків у молекулі АТФ — основному постачальнику енергії для всіх ендергонічних процесів клітин.

9.1. РЕАКЦІЇ БІОЛОГІЧНОГО ОКИСЛЕННЯ

Внутрішньомолекулярне окислення біологічних субстратів (*біологічне окислення*) є основним молекулярним механізмом, за рахунок якого забезпечуються енергетичні потреби функціонування живих організмів.

Окислення — це процес втрати атомом, молекулою, що окислюється (субстратом окислення), електронів або атомів водню (протонів та електронів).

Відновлення — реакція, зворотна окисленню, супроводжується приєднанням органічним субстратом електронів або атомів водню (гідруванням субстрату).

Прикладом окислювально-відновлювальної реакції, поширеної в біологічних системах, є перетворення ферро-іону в ферри-іон:



В окислювально-відновлювальному процесі завжди беруть участь два типи речовин: *окисник* (сполука, що приймає електрони) та *відновник* (сполука, що віддає електрони окиснику).

Електрони та атоми водню, що беруть участь в окислювально-відновлювальних реакціях, мають назву *відновлювальних еквівалентів*.

Окислювально-відновлювальна реакція може полягати в міжатомному або міжмолекулярному передаванні відновлювальних еквівалентів від донора електронів (сполуки, що окислюється) акцептору електронів (сполуці, що відновлюється) без безпосереднього приєднання акцептора до донора. Існують також реакції, в ході яких утворюється новий хімічний зв'язок між атомом вуглецю біомолекули, що окислюється, та гетероатомом, який є більш електронегативним і виступає окисником (зокрема, атомом кисню).

Окисник та відновник складають *окислювально-відновлювальну пару* (*систему*) (редокс-систему). Здатність окислювально-відновлювальної системи віддавати або приймати електрони характеризується її *окислювально-відновлювальним потенціалом*, значення якого обчислюється за рівнянням Нернста:

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{OX}]}{[\text{RED}]},$$

де: R — газова стала, T — абсолютна температура, n — кількість електронів, що беруть участь у реакції, F — число Фарадея, $[OX]$ та $[RED]$ — концентрації, відповідно, окисленої та відновленої форми сполуки, E_0 — стандартний окислювально-відновлювальний потенціал системи (тобто окислювально-відновлювальний потенціал за умов рівностей концентрацій окисленої та відновленої форм редокс-пари).

Величина E_0 кількісно визначає здатність системи бути донором або акцептором електронів відносно іншої редокс-системи. Згідно з рекомендаціями Міжнародного союзу з теоретичної та прикладної хімії (International Union of Pure and Applied Chemie — IUPAC), прийнято вважати, що **більш негативні редокс-потенціали мають системи з підвищеною здатністю віддавати електрони, а більш позитивні — системи, що схильні акцептувати електрони.**

Стандартні окислювально-відновлювальні потенціали (у вольтах) вимірюють відносно потенціалу водневого електрода H^+/H_2 , приймаючи останній за 0,0 в при $pH=0$. Однак для біологічних систем більш зручно визначати редокс потенціали за умов $pH=7,0$ — такий стандартний окислювально-відновлювальний потенціал позначається E_0' . За цих умов E_0' водневого електрода дорівнює — 0,42 в. Значення E_0' біологічно важливих редокс-систем наведені нижче (п. 9.3).

Тканинне дихання

Реакції біологічного окислення складають молекулярну основу *тканинного дихання* — поглинання O_2 живими тканинами, яке є інтегральним фізіологічним показником інтенсивності перебігу в них окислювально-відновлювальних процесів. Джерелом кисню для цього процесу є O_2 , який надходить в тканини за умов нормальної діяльності системи зовнішнього дихання та кисеньтранспортуючої функції гемоглобіну крові, і через плазматичні мембрани дифундує всередину клітин.

У результаті тканинного дихання, яке відбувається в *мітохондріях*, атоми кисню включаються в молекулу води, а вуглець біоорганічних сполук, що окислюються, виділяється у формі двоокису вуглецю. Саме мітохондріальне дихання є біохімічною основою утворення та акумуляції вільної хімічної енергії, яка використовується у ендергонічних процесах.

У гепатоцитах печінки та клітинах деяких інших спеціалізованих тканин деяка частина кисню, який поглинається клітиною під час тканинного дихання, використовується в біологічному окисленні екзогенних та ендогенних субстратів у мембранах *ендоплазматичного ретикулума* — процесі *мікросомального окислення*, що є механізмом модифікації гідрофобних молекул в організмі. Його частка в сумарному балансі поглинання клітиною кисню складає в гепатоцитах до 20 %.



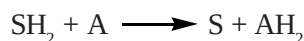
Рис.9.1. **Варбург (Warburg) Отто**, німецький біохімік (1883-1970). Зробив значний внесок у з'ясування біохімічних механізмів тканинного дихання, будови та функції дихальних ферментів, коферментів НАД і ФАД. Нобелівська премія (1931).

Типи реакцій біологічного окислення

Усі окислювально-відновлювальні реакції, що відбуваються в живих клітинах, каталізуються ферментами з класу *оксидоредуктаз*.

У процесах біологічного окислення, що мають місце в живих системах, виділяють такі класи реакцій:

1. Реакції, пов'язані з передаванням субстратом, що окислюється (SH_2), певному акцептору (A), водню (тобто протонів і електронів):



Реакції такого типу називаються реакціями *дегідрування*, а ферменти, що їх каталізують — *дегідрогеназами*.

Коферментами дегідрогеназ, що виконують функції безпосередніх акцепторів відновлювальних еквівалентів, є такі сполуки:

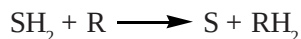
– *нікотинамідні (піридинові) коферменти* — нуклеотиди НАД⁺ (нікотинамід-аденіндинуклеотид) та НАДФ⁺ (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат);

– *флавінові коферменти* — нуклеотиди ФАД (флавінаденіндинуклеотид) та ФМН (флавінмононуклеотид).

Ці коферменти передають електрони на подальші біохімічні акцептори, утворюючи ланцюги передавання відновлювальних еквівалентів у біологічних системах.

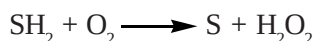
Залежно від хімічної природи акцептора, з яким взаємодіють дегідрогенази, реакції дегідрування поділяють на такі класи:

1.1. Реакції дегідрування, в яких акцептором є хімічна сполука (R), відмінна від кисню:



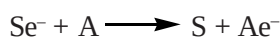
Ферменти, що каталізують такі реакції, — *анаеробні дегідрогенази*.

1.2. Реакції дегідрування, в яких як акцептор використовується кисень:



Ферменти, що каталізують ці реакції, — *аеробні дегідрогенази*, або *оксидази*; в результаті їх дії утворюється перекис водню.

2. Реакції, що відбуваються з передаванням від субстрату до акцептора електронів (одного або двох):

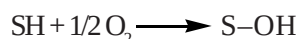


Реакції такого типу каталізуються *цитохромами* дихального ланцюга мітохондрій.

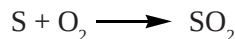
3. Реакції, що полягають у безпосередньому приєднанні до субстрату, який окислюється, одного або двох атомів кисню.

Такі реакції дістали назву *оксигеназних*, а відповідні ферменти, що їх каталізують, — *оксигенази*. Залежно від кількості атомів кисню, що взаємодіють із субстратом, оксигеназні реакції поділяють на:

– *монооксигеназні*:



– діоксигеназні:



Монооксигеназні реакції каталізуються цитохромом Р-450 і лежать в основі *окислювального гідроксилювання* багатьох гідрофобних субстратів екзогенного та ендogenousного походження (мікросомальне окислення). До діоксигеназних належать реакції *перекисного окислення ліпідів*, тобто ненасичених жирних кислот, що входять до складу ліпідів природного походження.

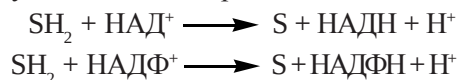
9.2. ФЕРМЕНТИ БІОЛОГІЧНОГО ОКИСЛЕННЯ

1. Дегідрогенази, залежні від нікотинамідних коферментів (НАД(Ф)-залежні дегідрогенази).

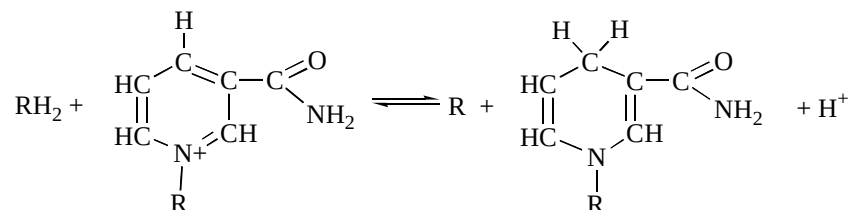
Коферментами цих дегідрогеназ є нуклеотиди НАД⁺ або НАДФ⁺, у структурі молекул яких міститься похідне піридину — нікотинамід (глава 6).

Зв'язок між НАД⁺ (або НАДФ⁺) та білковою частиною ферменту (апоферментом) у складі піридинзалежних дегідрогеназ нестійкий: він утворюється та руйнується в процесі каталітичного циклу, що дозволяє вважати нікотинамідні нуклеотиди скоріше субстратами, ніж простетичними групами.

Реакції, що каталізуються НАД(Ф)-залежними дегідрогеназами, можуть бути зображені в загальному вигляді такими рівняннями:



Активною структурою в молекулі НАД⁺ або НАДФ⁺, що акцептує відновлювальні еквіваленти від субстрату, є піридинове кільце нікотинамідну. У ході ферментативної реакції субстрат відщеплює два атоми водню ($2H^+ + 2e^-$), один з яких у формі гідрид-іону: H^- (тобто $H^+ + 2e^-$) приєднується до піридинового кільця НАД(Ф)⁺, а другий у вигляді протону (іону H^+) надходить у реакційне середовище:



Як свідчить наведене рівняння, під час реакції до четвертого вуглецевого атома нікотинамідну приєднується атом водню (тобто $H^+ + e^-$), а додатковий електрон гідрид-іону взаємодіє з азотом піридинового кільця. В подальшому викладенні тексту відновлені форми нікотинамідних коферментів (системи НАД(Ф)Н + H^+) для спрощення будуть в деяких випадках позначатися як НАД(Ф)Н.

Дегідрогенази, залежні від нікотинамідних коферментів, дуже поширені в живих клітинах. Вони виконують функції анаеробних дегідрогеназ, що відщеплюють протони та електрони від багатьох субстратів, відновлюючи НАД⁺ або НАДФ⁺, передаючи в подальшому відновлювальні еквіваленти на інші акцептори.

НАД-залежні дегідрогенази — ці ферменти каталізують окислювально-відновлювальні реакції, що містяться на *окислювальних шляхах метаболізму* — гліколізу, циклу лимонної кислоти, β -окислення жирних кислот, окисного дезамінування амінокислот, дихального ланцюга мітохондрій.

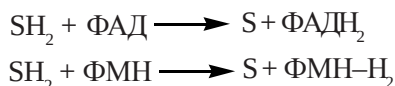
НАДФ-залежні дегідрогенази — ці ферменти беруть участь у процесах *відновлювального синтезу*, що відбуваються в цитозолі, зокрема постачають атоми водню при синтезі жирних кислот та стероїдів. Головним джерелом відновленого НАДФ є дегідрогеназні реакції пентозофосфатного шляху окислення глюкози.

2. Флавінзалежні дегідрогенази.

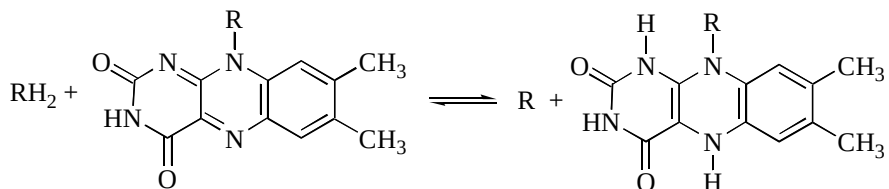
Дегідрогенази цього типу за хімічною природою є *флавопротеїнами*, простетичними групами, в яких є флавінаденіндинуклеотид (ФАД) та флавінмононуклеотид (ФМН) (будову див. главу 6).

На відміну від піридинзалежних дегідрогеназ, у більшості флавінзалежних ферментів коферменти (ФАД та ФМН) міцно зв'язані з білковою частиною і не відщеплюються від неї на жодній стадії каталітичного циклу. Виключенням є ФАД-залежна оксидаза D-амінокислот, у складі якої білок має низьку спорідненість із коферментом.

Загальні рівняння окислення субстратів за участю флавінзалежних дегідрогеназ:



Активною частиною молекули ФАД або ФМН, що бере участь в окислювально-відновлювальній реакції, є *ізоалоксазинове кільце рибофлавіну*, яке акцептує два атоми водню ($2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$) від субстрату:



У процесах біологічного окислення певні флавопротеїнові ферменти відіграють роль як анаеробних, так і аеробних дегідрогеназ.

Флавопротеїни — анаеробні дегідрогенази:

– *НАДН-дегідрогеназа* — ФМН-залежний компонент внутрішньої мембрани мітохондрій; виконує функцію колектора електронів, що забирає їх від НАДН і передає на більш електропозитивні компоненти дихального ланцюга мітохондрій;

– *сукцинатдегідрогеназа* — ФАД-залежний фермент циклу трикарбонових кислот, що окислює янтарну кислоту;

– *дигідроліпоїлдегідрогеназа* — ФАД-залежний фермент, що бере участь в окислювальному декарбоксилюванні піровиноградної кислоти;

– *ацил-КоА-дегідрогеназа* — ФАД-залежний фермент системи β -окислення жирних кислот;

– *гліцерол-3-фосфат-дегідрогеназа* — ФАД-залежний фермент, що окислює гліцерол-3-фосфат у мітохондріях.

Флавопротеїни — аеробні дегідрогенази:

– *дегідрогеназа (оксидаза) L-амінокислот* — ФМН-залежний фермент нирок, специфічний до природних L-амінокислот;

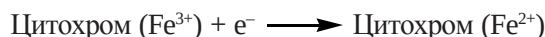
– *ксантиноксидаза (ксантиндегідрогеназа)* — ФАД-залежний фермент, який окислює пурини до сечової кислоти;

– *глюкозоксидаза* — ФАД-залежний рослинний фермент, що використовується для кількісного визначення глюкози в біологічних рідинах.

3. Цитохроми.

Цитохроми — залізовмісні білки мітохондрій, що належать до класу *гемопротеїнів*. У цитохромах іон заліза входить до складу металопорфіринового комплексу (*гемінове залізо*), близького за хімічною структурою до простетичних груп гемоглобіну та міоглобіну.

За рахунок оберненої зміни валентності гемінового заліза цитохроми виконують функцію транспорту електронів у ланцюгах біологічного окислення в аеробних клітинах:



Залежно від характерних особливостей спектрів поглинання, розрізняють три класи цитохромів (*a*, *b*, *c*). У мітохондріях еукаріотів наявні п'ять різновидів цитохромів — *b*, *c*, *c*₁, *a*, *a*₃; в ендоплазматичному ретикулумі гепатоцитів містяться цитохроми P-450 та *b*₅, що беруть участь у реакціях окислювального гідроксилування.

9.3. МОЛЕКУЛЯРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ЛАНЦЮГА БІОЛОГІЧНОГО ОКИСЛЕННЯ В МІТОХОНДРІЯХ

Система біологічного окислення, що локалізована в мембранах мітохондрій, здійснює дегідрування органічних субстратів та послідовний перенос відновлювальних еквівалентів на кисень через ряд проміжних переносників — транспортерів електронів та протонів. Ця система організована у вигляді *ланцюга електронного транспорту*, або *дихального ланцюга мітохондрій*.

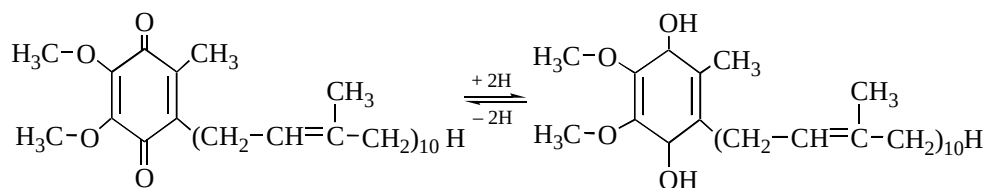
Дихальний ланцюг мітохондрій — сукупність молекулярних компонентів (ферментів та коферментів), які вбудовані в ліпідний матрикс внутрішніх мітохондріальних мембран і здійснюють окислення біологічних субстратів та послідовне, ступеневе транспортування відновлювальних еквівалентів на кисень з утворенням молекули води.

Компоненти дихального ланцюга мітохондрій:

НАДН-дегідрогеназа — компонент дихального ланцюга, що окислює відновлений НАД⁺ (НАДН); входить до складу молекулярного комплексу внутрішніх мітохондріальних мембран *НАДН-коензим Q-редуктази*.

Сукцинатдегідрогеназа — компонент дихального ланцюга, що окислює янтарну кислоту; входить до складу молекулярного комплексу сукцинат-коензим Q-редуктази.

Коензим Q (убіхінон) — ліпідорозчинний хінон з ізопреноїдним бічним ланцюгом, що містить у тканинах ссавців десять п'ятиуглецевих ізопреноїдних залишків (Q_{10}). Убіхінон виконує функцію колектора відновлювальних еквівалентів, акцептуючи протони та електрони не тільки від ФМН-залежної НАДН-дегідрогенази, а й від ФАД-залежних дегідрогеназ мітохондрій (сукцинатдегідрогенази та дегідрогеназ системи β -окислення жирних кислот тощо).



Цитохроми мітохондрій:

Цитохром *b*.

Цитохром c_1 .

Цитохром *c*.

Цитохром *a*.

Цитохром a_3 .

Залізо-сіркові білки, що містять негемове залізо (FeS), — це білки, асоційовані з флавопротеїнами мітохондрій (металофлавопротеїнами) та цитохромом *b*.

Послідовність передавання електронів від одного компонента дихального ланцюга мітохондрій до іншого визначається стандартними окислювально-відновлювальними потенціалами цих компонентів — табл. 9.1.

Таблиця 9.1. Стандартні окислювально-відновлювальні потенціали компонентів дихального ланцюга мітохондрій

Окислювально-відновлювальна пара α	$E_o', \text{ в}$
НАДН / НАД ⁺	– 0,32
Лактат / піруват	– 0,19
Сукцинат / фумарат	+ 0,03
Убіхінол / убіхінон	+ 0,10
Цитохром <i>b</i> (Fe ²⁺ / Fe ³⁺)	+ 0,12
Цитохром c_1 (Fe ²⁺ / Fe ³⁺)	+ 0,21
Цитохром <i>c</i> (Fe ²⁺ / Fe ³⁺)	+ 0,25
Цитохром <i>a</i> (Fe ²⁺ / Fe ³⁺)	+ 0,29
Цитохром a_3 (Fe ²⁺ / Fe ³⁺)	+ 0,55
H ₂ O / 1/2O ₂	+ 0,82

Окремі ферменти та коферменти, що складають дихальний ланцюг, структурно об'єднані між собою в надмолекулярні (мультиензимні) комплекси, інтегровані в ліпідний матрикс внутрішніх мембран мітохондрій, що створює стеричні умови, необхідні для ефективного перебігу окислювально-відновлювальних реакцій.

Комплекси дихального ланцюга внутрішніх мембран мітохондрій

НАДН-коензим Q-редуктаза — ферментний комплекс (являє собою флавопротеїн, що містить ФМН), який окислює НАДН і передає відновлювальні еквіваленти на коензим Q (убіхінон); у складі НАДН-коензим Q-редуктази НАДН-дегідрогеназа асоційована з FeS-білками (так званий *комплекс I*).

Сукцинат-коензим Q-редуктаза — ферментний комплекс (ФАД-залежний флавопротеїн), який окислює сукцинат, відновлюючи коензим Q; до складу комплексу входить флавопротеїн сукцинатдегідрогеназа, асоційована з FeS-білком (*комплекс II*).

Коензим Q-цитохром c-редуктаза (убіхінолдегідрогеназа) — ферментний комплекс, що складається з цитохрому b, FeS-білка та цитохрому c₁; ферментний комплекс транспортує електрони з відновленого коензиму Q (QH₂) на цитохром c (*комплекс III*).

Цитохром c-оксидаза — ферментний комплекс, що складається з цитохромів a та a₃ (*комплекс IV*); комплекс здійснює кінцеву стадію біологічного окислення — відновлення електронами молекулярного кисню; він містить іони міді, як і інші оксидази.

Шляхи включення відновлювальних еквівалентів у дихальний ланцюг мітохондрій

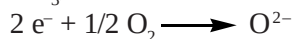
1. Включення протонів і електронів у дихальний ланцюг через ФМН флавопротеїну НАДН-коензим Q-редуктази. Цим шляхом на молекулу убіхінону надходять відновлювальні еквіваленти, відщеплені від відповідних субстратів НАДН-залежними дегідрогеназами.

2. Включення протонів і електронів у дихальний ланцюг через ФАД сукцинат-коензим Q-редуктази та деяких інших ФАД-залежних дегідрогеназ. Цим шляхом на убіхінон надходять відновлювальні еквіваленти від янтарної кислоти — метаболіту циклу трикарбонових кислот та певних інших субстратів.

Послідовність включення окремих компонентів системи транспорту електронів і протонів у дихальний ланцюг мітохондрій подано на рисунку 9.2.

Як впливає з наведеної схеми, дихальний ланцюг мітохондрій організований таким чином, що перенос у ньому відновлювальних еквівалентів (електронів) відбувається в напрямку від електронегативного кінця (флавопротеїнів) до електропозитивного цитохрому a₃. Більшість метаболітів (субстрати гліколізу, циклу трикарбонових кислот тощо) передає атоми водню в дихальний ланцюг через НАДН-дегідрогеназу (Е-ФМН); сукцинат та КоА-похідні жирних кислот віддають електрони та протони на коензим Q через специфічні флавопротеїни (Е-ФАД), мінаючи ФМН-залежний флавопротеїн.

Убіхінон є останнім компонентом дихального ланцюга мітохондрій, що здатний транспортувати як електрони, так і протони. На рівні цитохрому b шляхи електронів і протонів розділяються — протони переходять з внутрішньої поверхні мітохондріальної мембрани на зовнішню, а електрони через послідовність цитохромів транспортуються на цитохром a₃, який відновлює кисень:



Взаємодія відновленого кисню з вільними протонами мітохондріального матриксу призводить до утворення молекули води:

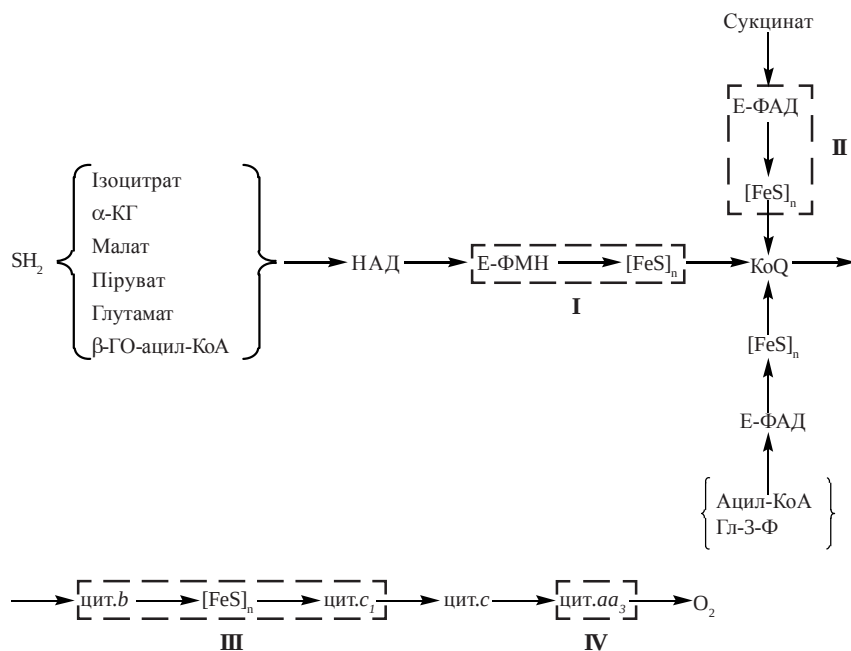
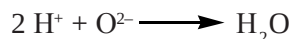


Рис. 9.2. Схема організації дихального ланцюга мітохондрій. I-IV — електронотransпортні комплекси мітохондріальних мембран. Позначення: α -КГ — α -кетоглутарат; β -ГО-ацил-КоА — β -гідроксиацил-КоА; Гл-3-Ф — гліцерол-3-фосфат.

9.4. ОКИСНЕ ФОСФОРИЛЮВАННЯ ТА АТФ-СИНТЕТАЗА МІТОХОНДРІЙ

Окисне фосфорилування — процес, шляхом якого хімічна енергія, що вивільняється під час транспортування електронів упродовж дихального (електронотransпортного) ланцюга мітохондрій, уловлюється та використовується для синтезу аденозинтрифосфату (АТФ) з аденозиндифосфату (АДФ) та неорганічного фосфату (Φ_{H}).

Синтез АТФ з АДФ та неорганічного фосфату Φ_{H} (P_i — англ.) отримав назву *спряження дихання* (електронного транспорту в мітохондріях) та окисного фосфорилування.

Вивільнення хімічної енергії в дихальному ланцюзі та ділянки утворення АТФ

Транспортування електронів у дихальному ланцюзі мітохондрій від первинних донорів відновлювальних еквівалентів (субстратів біологічного окислення) до

молекулярного кисню супроводжується зниженням вільної енергії (ΔG), значення якого можна розрахувати за рівнянням:

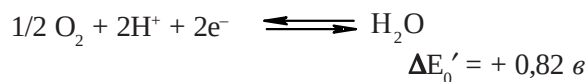
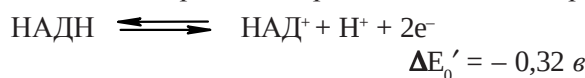
$$\Delta G = -nF \Delta E_0',$$

де: n — кількість електронів, що транспортуються (дорівнює двом при утворенні молекули води);

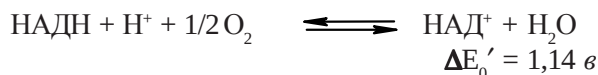
F — число Фарадея [23,062 ккал/в · моль];

$\Delta E_0'$ — різниця стандартних потенціалів електронодонорної та електроноакцепторної систем (при рН = 7,0).

Враховуючи дані таблиці 9.1, виконаємо розрахунок вивільнення хімічної енергії за умов перенесення двох електронів від піридинзалежних дегідрогеназ до кисню:



Сумування двох рівнянь дає:



що відповідає

$$\Delta G = -2 \cdot 23,062 \cdot 1,14 = -52,6 \text{ ккал } (-220 \text{ кДж}).$$

Синтез однієї молекули АТФ з АДФ та P_H потребує витрат хімічної енергії, що дорівнюють +7,3 ккал (+30,5 кДж). Очевидно, що енергії, яка вивільняється за умов транспорту електронів у дихальному ланцюзі мітохондрій, достатньо для синтезу декількох молекул АТФ. Безпосередніми біохімічними дослідженнями доведено, що за умов окислення субстратів через НАДН-коензим Q-редуктазу утворюється 3 молекули АТФ, при дії сукцинат-коензим Q-редуктази — 2 молекули АТФ.

Коефіцієнт окисного фосфорилування — відношення кількості зв'язаного (естерифікованого) неорганічного фосфату (моль) до кількості поглинутого мітохондріями кисню (моль) (позначається як $\Phi_\text{H}(\text{P}_\text{i})/\text{O}$) — кількісно дорівнює числу молекул АТФ, що утворюються при перенесенні двох відновлювальних еквівалентів на один атом кисню, тобто АТФ/О — табл. 9.2.

Таблиця 9.2. Значення коефіцієнта окисного фосфорилування при окисленні різних субстратів у мітохондріях

Субстрат	Коефіцієнт Φ_H/O (АТФ/О)
α -Кетоглутарат	3
Ізоцитрат	3
Малат	3
L-Глутамат	3
Сукцинат	2
Ацил-КоА	2

Пункти спряження транспорту електронів та окисного фосфорилування

Утворення АТФ з АДФ та Φ_H може відбуватися тільки в певних ділянках електронотransпортного ланцюга мітохондрій, в яких величина хімічної енергії, що виділяється при транспортуванні пари електронів між двома редокс-системами (компонентами дихального ланцюга), достатня для синтезу 1 молекули АТФ (тобто $> 7,3$ ккал, або $30,5$ кДж) — табл. 9.3.

Т а б л и ц я 9.3. Ділянки дихального ланцюга мітохондрій, де вивільнення хімічної енергії достатнє для синтезу молекули АТФ

Ділянка дихального ланцюга	$\Delta E_0'$ (вольт)	ΔG	
		(ккал)	(кДж)
Комплекс I (НАДН $\longrightarrow$ коензим Q)	0,27	12,2	51,0
Комплекс III (цитохром $b \longrightarrow$ цитохром c_1)	0,22	9,9	41,4
Комплекс IV (цитохром $a_3 \longrightarrow O_2$)	0,53	23,8	99,6

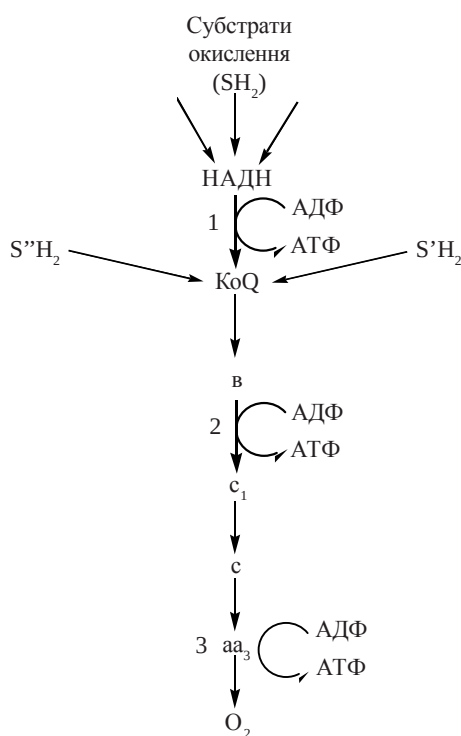


Рис. 9.3. Локалізація пунктів спряження (1,2,3) дихання та окисного фосфорилування в електронотransпортному ланцюзі внутрішніх мембран мітохондрій.

(спрягаючих) мембранах мітохондрій супроводжується генерацією на цих мембранах електрохімічного градієнта протонів (H^+).

Зазначені ділянки електронотransпортного ланцюга називаються *пунктами спряження дихання (електронного транспорту) з окисним фосфорилуванням* — рисунок 9.3.

Хеміосмотична теорія окисного фосфорилування

Молекулярні механізми генерації АТФ в ході біологічного окислення в мітохондріях пояснюються *хеміосмотичною теорією* (за П.Мітчелом — P.Mitchell).

Головний постулат хеміосмотичної теорії — *спряження електронного транспорту в мітохондріях із біохімічною системою синтезу АТФ здійснюється за рахунок електрохімічного потенціалу протонів ($\Delta\mu_{H^+}$), що утворюється під час функціонування електронотransпортного ланцюга.*

Хеміосмотична теорія передбачає, що:

1. Функціонування дихального (електронотransпортного) ланцюга у внутрішніх мембранах мітохондрій супроводжується генерацією на цих мембранах електрохімічного градієнта протонів (H^+).

2. Окремі компоненти електронотransпортного ланцюга діють як протонні помпи, що спричиняють векторний (перпендикулярний площині мембрани) транспорт протонів, спрямований у напрямку “матрикс → зовнішня поверхня мембрани”.

3. Електрохімічний потенціал протонів на спрягаючих мембранах, який створюється завдяки дії протонних pomp дихального ланцюга, є рушійною силою синтезу АТФ з АДФ та Φ_{H} .

4. Існує ферментна система, що використовує енергію електрохімічного протонного потенціалу для синтезу АТФ за рахунок транслокації протонів через мітохондріальну мембрану в напрямку “зовнішня поверхня → матрикс”.

Ця ферментна система, яка замикає *протонний цикл* на спрягаючих мембранах мітохондрій — *протонна АТФаза* (H^+ -АТФаза), або *АТФ-синтетаза*. АТФ-синтетаза є білком з четвертинною структурою, що складається з декількох білкових субодиниць, які утворюють компоненти F_0 та F_1 (F_0F_1 — АТФаза).

5. Будь-які фізичні, хімічні та біологічні фактори, що пошкоджують цілісність спрягаючих мембран мітохондрій та розсіюють енергію електрохімічного градієнта, порушують синтез АТФ, тобто виступають як *роз'єднувачі* транспорту електронів та окисного фосфорилування.

Таким чином, згідно з хеміосмотичною теорією, спряження між переносом електронів в дихальному ланцюзі та синтезом АТФ здійснюється за рахунок утворення при функціонуванні протонних pomp градієнта концентрації H^+ між двома поверхнями мітохондріальної мембрани. АТФ-синтетаза, транспортуючи протони у зворотному напрямку (за електрохімічним градієнтом) призводить до вивільнення хімічної енергії, за рахунок якої утворюються макроергічні зв'язки АТФ.

Схему протонного циклу на спрягаючих мембранах мітохондрій як рушійної сили окисного фосфорилування подано на рисунку 9.5.

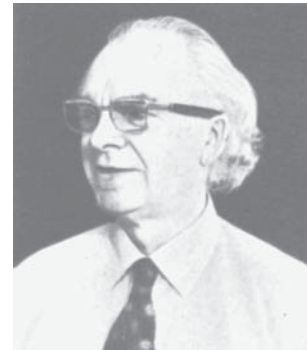


Рис. 9.4. Мітчел (Mitchell) Пітер Д. (народ. 1920 р.), англійський біохімік. Автор хеміосмотичної теорії окисного та фотосинтетичного фосфорилування. Нобелівська премія (1978).

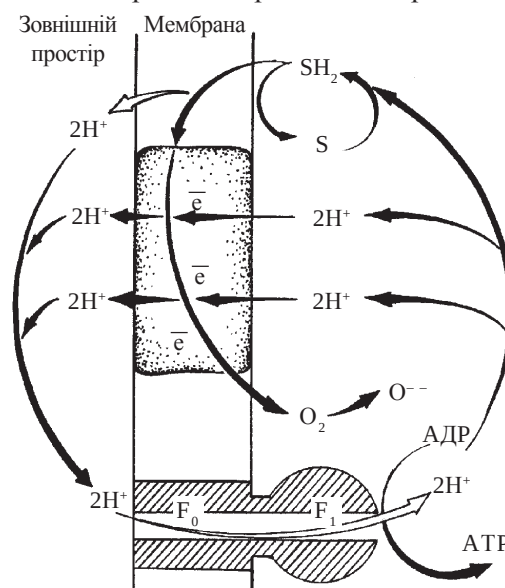


Рис. 9.5. Хеміосмотичний механізм спряження транспорту електронів у дихальному ланцюзі з синтезом АТФ АТФ-синтетазою за рахунок функціонування векторно спрямованих (перпендикулярно площині мембрани) протонних pomp.

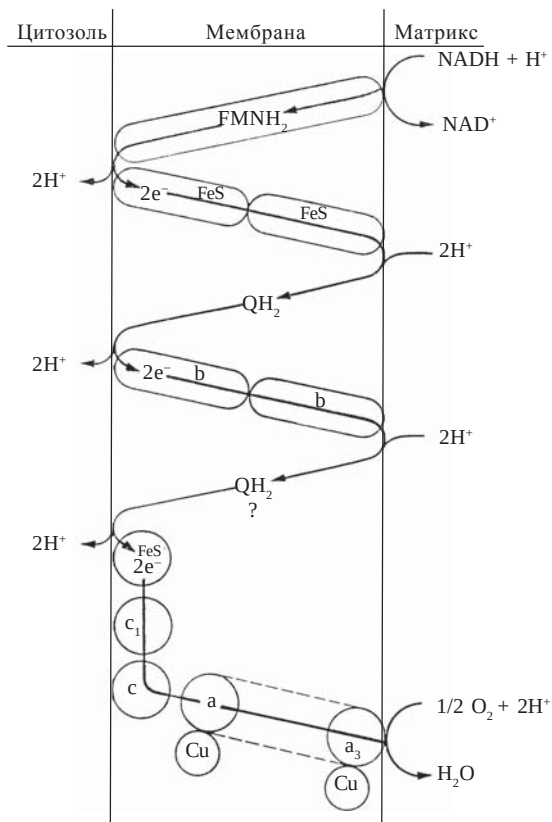
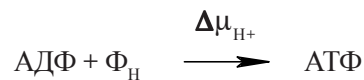


Рис. 9.6. Схема внутрішньомембранної організації електротранспортних комплексів у вигляді "петель", що двічі перетинають мембрану.

Спроможність мітохондріальних переносників електронів до транслокації протонів через мембрану зумовлюється особливостями їх внутрішньомембранної топографії. Вважають, що дихальний ланцюг укладений у спрягаючій мембрані у вигляді трьох окислювально-відновлювальних "петель", що відповідають трьом комплексам переносу електронів — I, III та IV. Кожна пара відновлювальних еквівалентів ($2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$), проходячи через "петлю", транспортує два іони H^+ з матриксу в зовнішнє середовище. Зворотний перенос іонів H^+ через протонний канал АТФ-синтетази спрямовує електрохімічну енергію в бік синтезу АТФ:



9.5. ІНГІБІТОРИ ЕЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТУ ТА ОКИСНОГО ФОСФОРИЛЮВАННЯ В МІТОХОНДРІЯХ

Певні хімічні сполуки здатні специфічним чином порушувати електронний транспорт (*інгібітори електронного транспорту*) та окисне фосфорилювання (*інгібітори та роз'єднувачі окисного фосфорилювання*) в мітохондріях. Дані сполуки взаємодіють з певними компонентами дихального ланцюга або системами окисного фосфорилювання, порушуючи їх біохімічні функції.

Інгібітори електронного транспорту

Сполуки цього класу порушують функціонування дихального ланцюга мітохондрій за рахунок зв'язування з окремими ферментними білками або кофакторами, що беруть безпосередню участь у переносі електронів від субстратів біологічного окислення на O_2 . При надходженні в організм людини або тварин ці речовини діють як клітинні отрути, спричиняючи феномен тканинної гіпоксії.

Ротенон — інгібітор транспорту електронів через НАДН-коензим Q-редуктазний комплекс. Ротенон застосовується як інсектицид.

Амобарбітал (амітал) та близький до нього за структурою *секобарбітал* (секонал). Ці похідні барбітурової кислоти (барбітурати) застосовуються у фармакології як снодійні засоби. Разом з тим, барбітурати, подібно до ротенону, є активними інгібіторами клітинного дихання, блокуючи електронний транспорт на рівні НАДН-коензим Q-редуктази.

Пієрицидин А — антибіотик, що також блокує НАДН-коензим Q-редуктазний комплекс за рахунок конкурентної взаємодії з убіхіноном.

Антиміцин А — антибіотик, що блокує дихальний ланцюг мітохондрій на рівні переносу електронів через комплекс III (цитохром *b* — цитохром *c*₁).

Ціаніди (іони CN⁻) — потужні клітинні отрути, що є інгібіторами транспорту електронів на термінальній ділянці дихального ланцюга мітохондрій (у цитохромоксидазному комплексі). Іони CN⁻ утворюють комплекси з ферри (Fe³⁺) — формою молекул гем у цитохромоксидази, блокуючи їх відновлення до ферро (Fe²⁺) — форм.

Монооксид вуглецю (CO) — інгібірує цитохромоксидазу шляхом зв'язування з ділянкою гем у, що взаємодіє з молекулою кисню.

Інгібітори окисного фосфорилування

Інгібітори окисного фосфорилування блокують як окислення субстратів, так і фосфорилування АДФ у мітохондріях.

Олігоміцин — антибіотик, що протидіє як фосфорилуванню АДФ до АТФ, так і стимуляції поглинання O₂, що спостерігається після додавання до мітохондрій АДФ (феномен “дихального контролю”). Механізм дії олігоміцину полягає в інгібуванні функції АТФ-синтетази.

Роз'єднувачі окисного фосфорилування

Сполуки цього класу спричиняють “неконтрольоване” дихання мітохондрій, яке не залежить від функціонування системи фосфорилування АДФ. В присутності роз'єднувачів спостерігається активне поглинання мітохондріями O₂, незважаючи на зниження швидкості (або відсутність) генерації АТФ з АДФ та Ф_n. Згідно з хеміосмотичною теорією, роз'єднувачі спричиняють втрату мембраною протонного потенціалу — рушійної сили генерації макроергічних зв'язків АТФ.

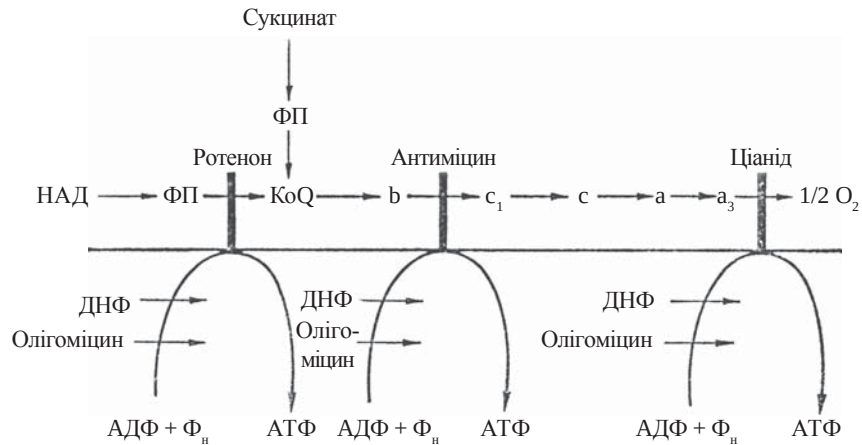
До роз'єднувачів окисного фосфорилування належать:

– *2,4-динітрофенол* та сполуки, близькі до нього за хімічною структурою (динітрокрезол, пентахлорфенол);

– *СССР* (карбоніліціанід-*м*-хлорфенілгідразон) — сполука, що в 100 разів перевищує за специфічною активністю 2,4-динітрофенол.

Здатність роз'єднувати дихання та окисне фосфорилування в мітохондріях мають також гормони щитовидної залози (тироксин, трийодтиронін).

Пункти дії деяких інгібіторів електронного транспорту, інгібіторів та роз'єднувачів окисного фосфорилування, подані на схемі.



Порушення синтезу АТФ спостерігається в умовах дії на організм людини і тварин багатьох патогенних факторів хімічного (природні та синтетичні токсини), біологічного та фізичного (іонізуюча радіація) походження, які спричиняють роз'єднання дихання та окисного фосфорилування за рахунок порушення спроможності створювати і підтримувати протонний потенціал на спрягаючих мембранах мітохондрій.

ГЛАВА 10. ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ

Цикл трикарбонових кислот (цикл лимонної кислоти, цикл Кребса) — циклічна послідовність ферментативних реакцій, у результаті яких ацетил-КоА ($\text{CH}_3\text{—CO}\sim\text{S}\text{—КоА}$) — продукт катаболізму основних видів метаболічного палива (вуглеводів, жирів, амінокислот), окислюється до двоокису вуглецю з утворенням атомів водню, які використовуються для відновлення первинних акцепторів дихального ланцюга мітохондрій — нікотинамідних або флавінових коферментів.

10.1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИКЛУ ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ

Цикл трикарбонових кислот (ЦТК) — це загальний кінцевий шлях окислювального катаболізму клітини в аеробних умовах. Реакції і ферменти ЦТК локалізовані в матриксі та внутрішній мембрані мітохондрій. Вони функціонально та біохімічно спряжені з мітохондріальними електронотransпортними ланцюгами, що використовують для відновлення атомів кисню відновлювальні еквіваленти від НАДН ($\text{НАДН} + \text{H}^+$) та ФАДН₂ або ФМНН₂ і утворюють АТФ у ході окисного фосфорилування.

Схема функціонування ЦТК

Цикл трикарбонових кислот починається з взаємодії (конденсації) двовуглецевої молекули ацетил-КоА (C_2) з чотиривуглецевою (C_4) щавлевооцтовою кислотою (оксалоацетатом), що призводить до утворення шестивуглецевої (C_6) молекули лимонної кислоти (цитрату). В результаті подальшого багатоступеневого перетворення три- та дикарбонових кислот (інтермедіатів ЦТК) відбувається регенерація оксалоацетату (C_4) та виділяються дві молекули двоокису вуглецю (C_2).

Таким чином, коензим А відщеплюється від ацетил-КоА (“активної форми оцтової кислоти”) вже в першій реакції ЦТК; у ході функціонування подальших реакцій циклу відбувається відщеплення від цитрату (альтернативна назва



Рис 10.1. Кребс (Krebs) Ханс (1900-1981). Працював у Німеччині, з 1933 р. — у Кембріджському, Шеффілдському, Оксфордському ун-тах (Велика Британія). Нобелівська премія (1953).

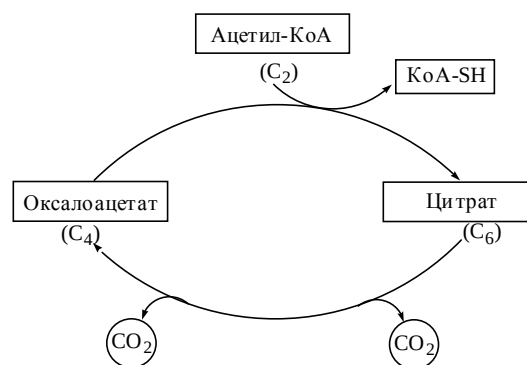
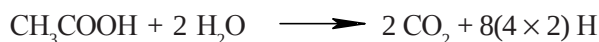


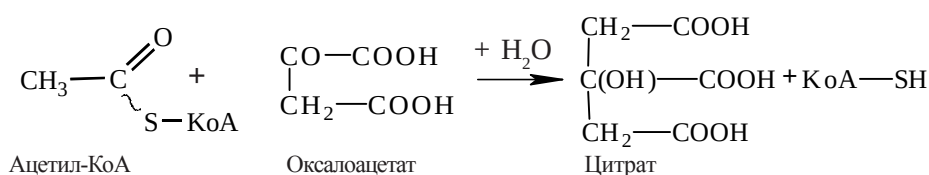
Схема функціонування циклу лимонної кислоти.

ЦТК — *цитратний цикл*) двох молекул двоокису вуглецю та чотирьох пар атомів водню ($4 \times 2\text{H}$), що дозволяє подати таке сумарне рівняння ЦТК:



10.2. ФЕРМЕНТАТИВНІ РЕАКЦІЇ ЦИКЛУ ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ

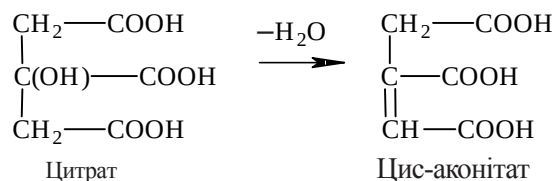
1. Утворення лимонної кислоти (цитрату) за рахунок конденсації ацетил-КоА з щавлевооцтовою кислотою (оксалоацетатом):



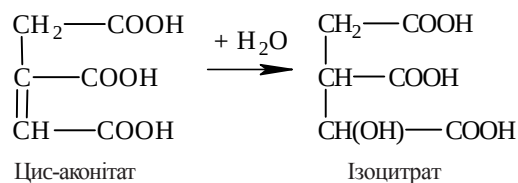
Реакція каталізується ферментом *цитратсинтазою*. Вона є регуляторним ферментом, активність якого гальмується АТФ, НАДН, сукциніл-КоА та довголанцюговими ацил-КоА.

2. Перетворення (ізомеризація) цитрату на ізоцитрат. Реакція каталізується ферментом *аконітазою* і складається з двох етапів:

2.1. Дегідратація лимонної кислоти з утворенням цис-аконітової кислоти (цис-аконітату):

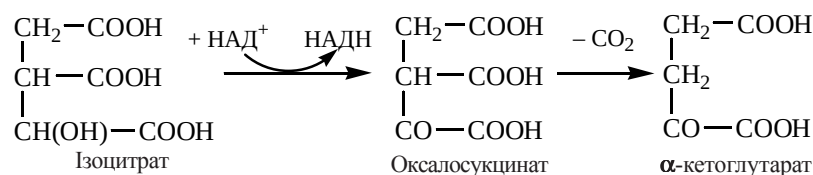


2.2. Приєднання до цис-аконітату молекули води. При приєднанні до подвійного зв'язку в складі цис-аконітату H^+ та OH^- у транс-положенні результатом реакції є утворення ізолимонної кислоти (ізоцитрату):



3. Дегідрування та декарбоксилювання ізоцитрату. Реакція каталізується НАД-залежною *ізоцитратдегідрогеназою* і призводить до утворення α -кетоглутарової кислоти (α -кетоглутарату).

Ізоцитратдегідрогеназа є регуляторним ферментом, позитивний модулятор якого — АДФ, негативний — НАДН.

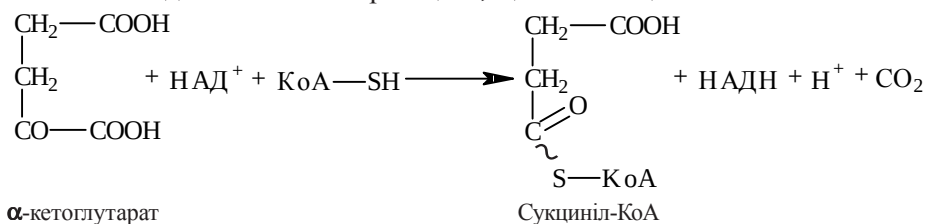


Фермент має дві молекулярні форми — мономерну (молекулярна маса ізоцитратдегідрогенази з мітохондрій серця дорівнює 330 кД) та димерну. В присутності позитивного модулятора АДФ мономери агрегують між собою з утворенням димеру. Негативний модулятор НАДН протидіє індукованій АДФ агрегації мономерних форм ферменту. Обидві молекулярні форми ізоцитратдегідрогенази мають каталітичні властивості, але за умов низької концентрації АДФ димер значно більш активний.

4. Окислення α -кетоглутарату до сукцинату.

Цей процес відбувається у дві стадії:

4.1. Окислювальне декарбоксилювання α -кетоглутарату з утворенням сукциніл-КоА — стадія, що каталізується мультиензимним α -кетоглутарат-дегідрогеназним комплексом. Кінцевий продукт — високоенергетичний тіоефір сукциніл-КоА, в макроергічному зв'язку якого акумульовано хімічну енергію окислювально-відновлювальною реакцією, що мала місце:

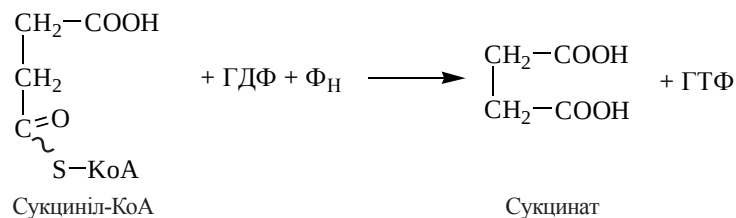


НАДН, що утворився в цій реакції, окислюється в дихальному ланцюзі мітохондрій із генерацією 3 молекул АТФ.

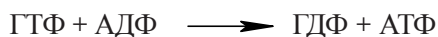
За механізмом реакції цей процес нагадує окислювальне декарбоксилювання пірувату до ацетил-КоА (див. главу 11); як і піруватдегідрогеназний, α -кетоглутаратдегідрогеназний комплекс має у своєму складі коферменти тіаміндіфосфат (ТДФ), ліпоєву кислоту (ЛК), КоА, НАД⁺ та ФАД. Молекулярна маса цього комплексу з клітин E. Coli дорівнює $2,1 \cdot 10^6$.

4.2. Деацилювання сукциніл-КоА (перетворення на янтарну кислоту (сукцинат)).

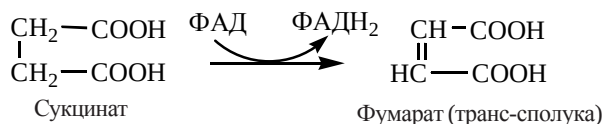
Реакція каталізується ферментом *сукцинілтіокіназою*. У результаті розщеплюється макроергічний зв'язок у молекулі сукциніл-КоА, та за рахунок цієї енергії утворюється нова макроергічна сполука нуклеозидтрифосфат ГТФ:



Потім ГТФ передає свою кінцеву фосфатну групу на АДФ у нуклеозид-фосфокіназній реакції з утворенням АТФ:



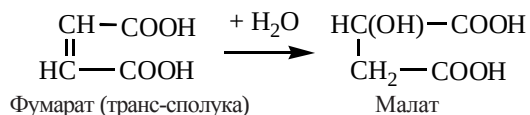
5. Окислення янтарної кислоти до фумарової кислоти (фумарату). Реакція каталізується ФАД-залежним ферментом *сукцинатдегідрогеназою*:



Окислення відновленого коферменту (ФАДН₂) за допомогою коензиму Q дихального ланцюга мітохондрій призводить до синтезу за рахунок окисного фосфорилювання 2 молекул АТФ.

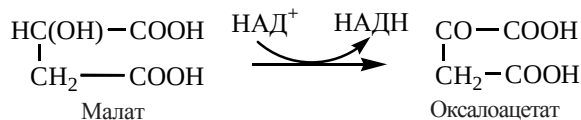
6. Перетворення фумарової кислоти на яблучну кислоту (малат) внаслідок приєднання до фумарату молекули води.

Реакція каталізується ферментом *фумарат-гідратазою* (фумаразою):



7. Окислення малату до оксалоацетату (щавлевооцтової кислоти).

Реакція каталізується НАД-залежним ферментом — *малатдегідрогеназою* мітохондрій:



Окислення НАДН, що утворився, в дихальному ланцюзі мітохондрій призводить до генерації 3 молекул АТФ.

Малатдегідрогеназна реакція завершує цикл трикарбонових кислот. Оксалоацетат, який є продуктом даної реакції, здатний до взаємодії з новими молекулами ацетил-КоА.

Загальну метаболічну карту циклу трикарбонових кислот подано на рис. 10.2

10.3. ЕНЕРГЕТИЧНИЙ БАЛАНС ЦИКЛУ ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ

Біохімічний підсумок циклу трикарбонових кислот полягає в утворенні двох молекул CO₂ (в ізоцитратдегідрогеназній та α-кетоглутаратдегідрогеназній реакціях) та чотирьох пар атомів водню, три з яких акцептуються НАД⁺ та одна — ФАД. Відновлені коферменти окислюються в дихальному ланцюзі мітохондрій,

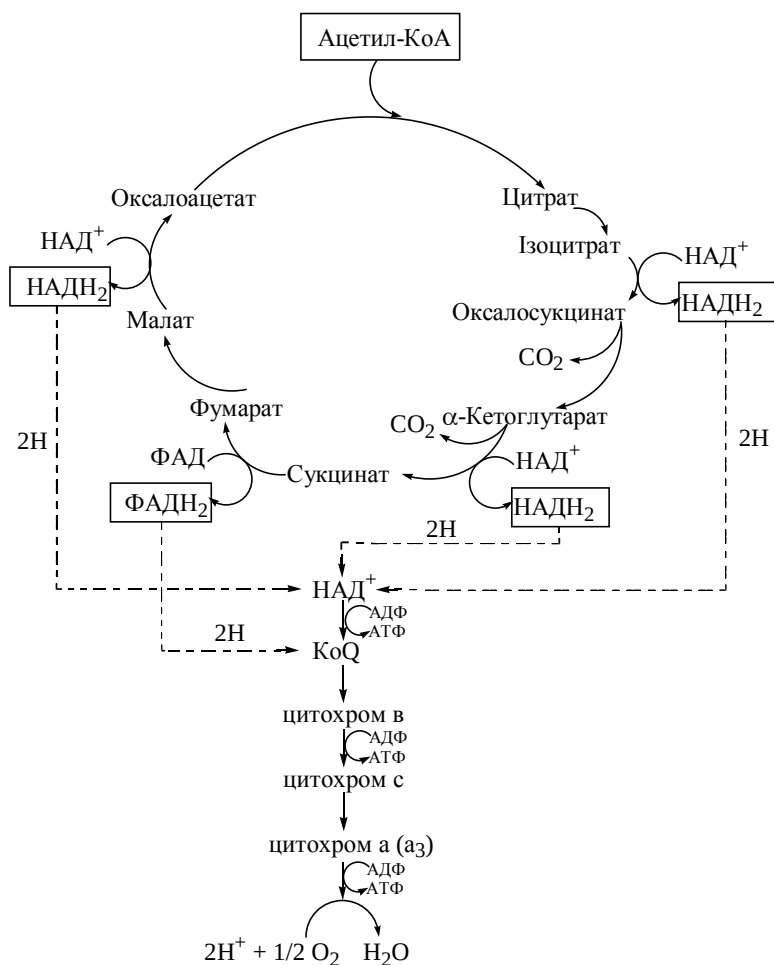


Рис. 10.2. Метаболічна карта циклу трикарбованих кислот та зв'язок ЦТК з дихальним ланцюгом мітохондрій.

утворюючи за рахунок окисного фосфорилування по 3 молекули АТФ на кожну молекулу НАДН і по 2 молекули АТФ на кожну молекулу ФАДН₂. Крім того, одна молекула АТФ утворюється в субстратному фосфорилуванні при перетворенні сукциніл-КоА в сукцинат (табл. 10.1).

Таблиця 10.1. Сумарний баланс молекул АТФ, що утворюються при функціонуванні цитратного циклу

Реакція	Кофермент	Кількість молекул АТФ, що утворюються
1. Ізоцитрат — α-кетоглутарат	НАД	3
2. α-кетоглутарат — сукциніл-КоА	НАД	3
3. Сукциніл-КоА — сукцинат	ГДФ	1
4. Сукцинат — фумарат	ФАД	2
5. Малат — оксалоацетат	НАД	3
Усього		12

Таким чином, при повному окисненні однієї молекули ацетил-КоА до CO_2 та H_2O в циклі трикарбонових кислот генерується 12 молекул АТФ.

10.4. АНАПЛЕРОТИЧНІ Й АМФІБОЛІЧНІ РЕАКЦІЇ

Анаплеротичні реакції — реакції клітинного метаболізму, що підвищують концентрацію субстратів трикарбонового циклу, утворюючи їх з інтермедіатів інших метаболічних шляхів (зокрема, амінокислот, пірувату). Активуючи ЦТК, анаплеротичні реакції сприяють посиленню інтенсивності катаболічних процесів в організмі.

Утворення субстратів ЦТК в анаплеротичних реакціях:

1. Перетворення амінокислот на дикарбонові кислоти — субстрати ЦТК:
 - утворення α -кетоглутарату в реакціях трансамінування;
 - утворення оксалоацетату в реакціях трансамінування;
 - утворення α -кетоглутарату в глутаматдегідрогеназній реакції;
 - утворення сукциніл-КоА з ізолейцину, валіну, метіоніну, треоніну.
2. Утворення оксалоацетату з пірувату в піруваткарбоксилазній реакції:



Коферментом *піруваткарбоксилази* є біотин (вітамін Н), що в ході реакції зворотно акцептує CO_2 , утворюючи N-карбоксибіотин.

Піруваткарбоксилаза — алостеричний фермент, позитивним модулятором якого є ацетил-КоА. За умов низької внутрішньоклітинної концентрації ацетил-КоА активність ферменту і, відповідно, швидкість піруваткарбоксилазної реакції низькі. Накопичення ацетил-КоА, що спостерігається при активації катаболічних процесів, стимулює через утворення оксалоацетату інтенсивність ЦТК і активність окислення його головного субстрату — ацетил-КоА.

Утворення оксалоацетату з пірувату під дією піруваткарбоксилази є найважливішою анаплеротичною реакцією в клітинах печінки та нирок.

3. Утворення оксалоацетату з фосфоенолпірувату:

Реакція каталізується *фосфоенолпіруваткарбоксикіназою*. При цьому відбувається утворення макроергічного нуклеозидтрифосфату ГТФ за рахунок розщеплення високоенергетичного зв'язку в молекулі фосфоенолпірувату — метаболіту *гліколізу*.

Фосфоенолпіруваткарбоксикіназна реакція є анаплеротичною реакцією ЦТК, що має місце в міокарді та інших м'язових тканинах. Ця ж реакція, за умов її перебігу у зворотному напрямку, використовується в процесі синтезу глюкози.

Амфіболічні реакції — реакції, що застосовують субстрати ЦТК для утворення інтермедіатів, необхідних для біосинтетичних процесів:



1) у ролі амфіболічних можуть виступати реакції, обернені для розглянутих вище перетворень амінокислот — в цьому разі дикарбонові кислоти, що утворюються в ЦТК, стимулюють процеси білкового синтезу;

2) важливою реакцією синтезу глюкози (*глюконеогенезу*) є утворення фосфоенолпірувату з оксалоацетату та ГТФ, тобто фосфоенолпіруваткарбоксикіназна реакція за умов її перебігу в напрямку, зворотному для розглянутого вище анаплеротичного процесу.

Розділ III. МЕТАБОЛІЗМ ОСНОВНИХ КЛАСІВ БІОМОЛЕКУЛ

ГЛАВА 11. МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ

I. АЕРОБНЕ ТА АНАЕРОБНЕ ОКИСЛЕННЯ ГЛЮКОЗИ

Прості вуглеводи (моносахариди — глюкоза, фруктоза, галактоза, маноза) після всмоктування в кишковому тракті та проникнення всередину клітин підлягають метаболічним перетворенням, які становлять підґрунтя їх біоенергетичної функції. Безпосередній і найбільший внесок в утворення АТФ здійснює окислення глюкози до кінцевих продуктів катаболізму — діоксиду вуглецю та води. Крім того, певна кількість вуглеводів, що постійно надходять в організм з продуктами харчування, формують енергетичні депо метаболічного палива у вигляді глікогену та нейтральних жирів.

11.1. ШЛЯХИ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОГО КАТАБОЛІЗМУ МОНОСАХАРИДІВ

Основним моносахаридом, що в результаті катаболічних реакцій окислення до кінцевих простих продуктів утворює найбільшу кількість АТФ, є D-глюкоза, основним джерелом якої в організмі людини та тварин є крохмаль рослинних продуктів харчування. Інші прості вуглеводи, що надходять до організму в складі їжі (фруктоза — як компонент дисахариду сахарози, галактоза — як компонент лактози тощо), підлягають метаболічним перетворенням переважно після їх трансформації у фосфорні ефіри глюкози.

Основні шляхи внутрішньоклітинного катаболізму глюкози:

— *аеробне окислення*, в результаті якого глюкоза розщеплюється до двоокису вуглецю та води;

— *гліколітичний шлях розщеплення (гліколіз)*, в результаті якого глюкоза утворює проміжні продукти катаболізму (піровиноградну або молочну кислоту).

Глюкоза, яка всмоктується в кров у кількості, що перевищує безпосередні енергетичні потреби організму, відкладається про запас у вигляді глікогену (“тваринного крохмалю”) або використовується для синтезу триацилгліцеролів жирової тканини.

Вторинні шляхи перетворення глюкози, що призводять до утворення біологічно важливих метаболітів:

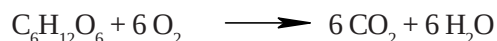
— *пентозофосфатний шлях (шунт) окислення глюкози*, в результаті якого утворюються необхідні для інших реакцій метаболізму фосфорні ефіри моносахаридів (пентоз, тріоз тощо) та відновлена форма НАДФ⁺ (НАДФН);

- перетворення глюкози на глюкуронову кислоту;
- перетворення глюкози на аскорбінову кислоту (метаболічний шлях функціонує лише в деяких видів тваринних організмів).

11.2. АЕРОБНЕ ОКИСЛЕННЯ ГЛЮКОЗИ

В умовах нормального клітинного дихання аеробне окислення є переважаючим для більшості тканин тваринних організмів і найбільш ефективним з точки зору енергетичної цінності шляхом метаболізму глюкози.

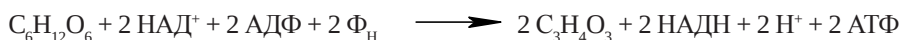
Аеробне окислення глюкози до двоокису вуглецю та води відповідає такому сумарному рівнянню:



Складний багатоступеневий процес аеробного окислення глюкози поділяється на такі етапи:

1. Розщеплення глюкози до піровиноградної кислоти.

Продуктом цього *гліколітичного етапу* розщеплення глюкози є піруват, а також дві молекули відновленого НАД⁺ і дві молекули АТФ:

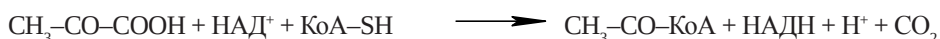


Ферментативні реакції утворення з глюкози пірувату (*аеробного гліколізу*) будуть розглянуті нижче. Зауважимо, що окислення в дихальному ланцюзі мітохондрій утворених на цьому етапі двох молекул НАДН супроводжується генерацією за рахунок окисного фосфорилування шести (2×3) молекул АТФ.

2. Окислювальне декарбоксилювання піровиноградної кислоти.

У результаті цього процесу утворюється ацетилкоензим А — основний субстрат окислення в циклі трикарбонових кислот — та відновлена форма НАД⁺.

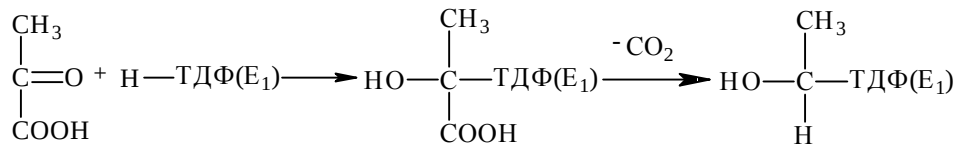
Сумарне рівняння окислювального декарбоксилювання пірувату:



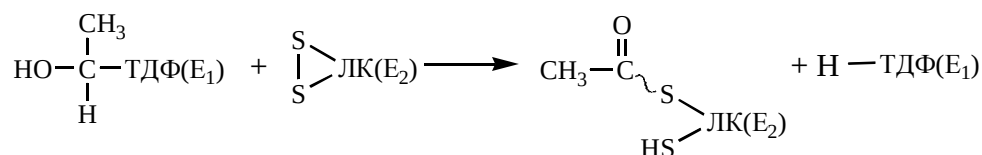
Окислювальне декарбоксилювання пірувату каталізується *піруватдегідрогеназним комплексом* — мультиферментною системою, яка в клітинах еукаріотів міститься в мембранах мітохондрій, а у прокаріотів — у цитоплазмі. До складу цього комплексу входять три ферменти, що каталізують три послідовні стадії перетворення пірувату на ацетил-КоА: *піруватдегідрогеназа*, *дигідроліпоїлацетилтрансфераза*, *дигідроліпоїлдегідрогеназа* та п'ять коферментів і простетичних груп: тіаміндифосфат (ТДФ), коензим А (КоА), ліпоєва кислота (ЛК), НАД⁺, ФАД.

Ферментативні стадії утворення ацетил-КоА з пірувату.

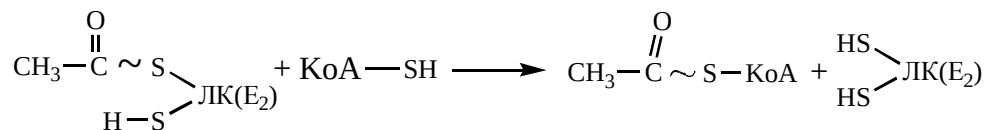
Стадія I — каталізується *піруватдегідрогеназою* (E₁), коферментом якої є ТДФ. На цій стадії відбувається взаємодія пірувату з С–2 тіазольного кільця молекули тіаміну; в результаті реакції утворюється зв'язаний із ферментом гідроксиетильний похідний тіаміндифосфату:



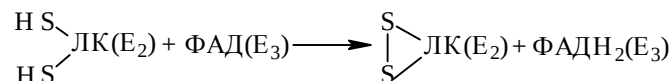
Стадія II — каталізується центральним ферментом комплексу *дигідроліпоїлацетилтрансферазою* (E_2), яка переносить гідроксиетильну групу від $\text{ТДФ}(\text{E}_1)$ на простетичну групу ферменту E_2 , що є окисленою формою ліпоєвої кислоти (ЛК); в результаті реакції утворюється ацетилтіоефір відновлених ліпоїльних груп ферменту E_2 , що містить макроергічний зв'язок:



Стадія III — *дигідроліпоїлацетилтрансфераза* переносить ацетильну групу від відновленої ліпоєвої кислоти на коензим А:



Стадія IV — окислення відновленої форми ферменту E_2 ФАД-залежною *дигідроліпоїлдегідрогеназою* (E_3):



Стадія V — перенесення атомів водню від відновленої ФАД-групи *дигідроліпоїлдегідрогенази* на НАД^+ з утворенням НАДН:



Відновлений НАДН, що утворюється в результаті окислювального декарбоксилування пірувату, в аеробних умовах окислюється в мітохондріальному електротранспортному ланцюзі з генерацією шести (2×3) молекул АТФ.

3. Окислення ацетил-КоА до двоокису вуглецю та води в циклі трикарбонових кислот.

Цикл трикарбонових кислот, функціонально та біохімічно спряжений із ланцюгом електронного транспорту в мембранах мітохондрій, завершує аеробне окислення глюкози до CO_2 та H_2O , генеруючи 12 молекул АТФ на кожну молекулу ацетил-КоА, що розщеплюється.

11.3. ГЛІКОЛІЗ: РЕАКЦІЇ, ЕНЕРГЕТИКА, РЕГУЛЯЦІЯ

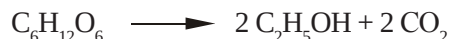
Загальна характеристика гліколізу



Рис. 11.1. **Ембден (Embden) Густав** (1874-1933), німецький біохімік. Професор та завідувач кафедри біохімії, ректор ун-ту у Франкфурті-на-Майні.

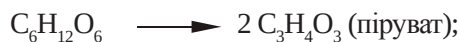
Гліколіз (шлях Ембдена-Мейергофа) — центральний шлях катаболізму глюкози, сукупність ферментативних реакцій, в результаті яких шостивуглецева молекула глюкози $C_6H_{12}O_6$ розщеплюється до двох тривуглецевих молекул піровиноградної або молочної кислоти. Гліколіз є шляхом катаболізму глюкози, в якому кисень не бере безпосередньої участі, проте, за рахунок наявності в гліколізі окислювально-відновлювальних реакцій, у результаті гліколітичного розщеплення глюкози генерується дві молекули АТФ.

Гліколіз є різновидом *бродиння* — біохімічного процесу, за рахунок якого забезпечують свою потребу в енергії у формі АТФ більшість існуючих на Землі анаеробних організмів або аеробів при функціонуванні в умовах недостатнього забезпечення молекулярним киснем. Поширеним типом бродиння в анаеробів є утворення з глюкози етилового спирту — процес, що каталізується ферментами дріжджів і широко використовується для виробництва алкогольних напоїв:



В організмі людини та тварин розрізняють:

- **аеробний гліколіз**, що супроводжується утворенням з однієї молекули глюкози двох молекул піровиноградної кислоти (пірувату):



Аеробний гліколіз можна також розглядати як проміжний (гліколітичний) етап аеробного окислення глюкози до кінцевих продуктів — двоокису вуглецю та води (див. п. 11.2);

- **анаеробний гліколіз**, що супроводжується утворенням з однієї молекули глюкози двох молекул молочної кислоти (лактату):



Рис. 11.2. **Мейергоф (Meyerhoff) Отто** (1874-1951), німецький біохімік. Працював у Німеччині, США. Нобелівська премія (1922).

Для більшості тканин людини та вищих тварин в умовах нормальної життєдіяльності характерний аеробний гліколіз, тобто утворення з глюкози пірувату, який у подальшому окислюється до вуглекислого газу й води. Анаеробний гліколіз має місце переважно в м'язах при інтенсивній фізичній діяльності, тобто при відносній кисневій недостатності, та в деяких високоспеціалізованих клітинах (зокрема, в еритроцитах, в яких відсутні мітохондрії) або за певних патологічних умов (клітини злоякісних пухлин).

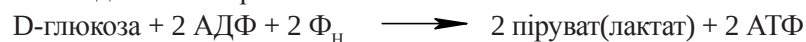
Реакції гліколізу перебігають у цитозолі клітини і каталізуються ферментами, що локалізовані в цьому компартменті.

Виділяють дві стадії гліколізу:

1. Розщеплення молекули глюкози до двох молекул фосфотріоз (гліцеральдегід-3-фосфату та діоксiacетонфосфату). Ця стадія включає в себе послідовність реакцій, які потребують витрати двох молекул АТФ на кожен молекулу глюкози, що розщеплюється.

2. Перетворення двох молекул фосфотріоз на дві молекули пірувату (або лактату). Ця стадія включає в себе окислювально-відновлювальні реакції ("гліколітична окисдоредукція"), які супроводжуються генерацією чотирьох молекул АТФ.

Таким чином, у результаті розщеплення однієї молекули глюкози в реакціях аеробного або анаеробного гліколізу сумарний вихід АТФ складає дві молекули, що можна подати таким рівнянням:

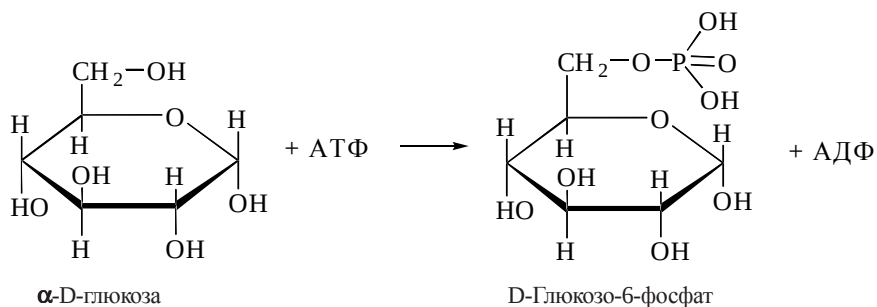
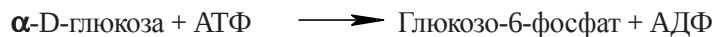


Ферментативні реакції гліколізу

Реакції аеробного та анаеробного гліколізу повністю співпадають на першій стадії розщеплення глюкози і розрізняються лише після утворення пірувату, який для аеробного гліколізу є кінцевим продуктом, а для анаеробного — метаболітом, який відновлюється до лактату. Крім того, анаеробний та аеробний типи гліколізу розрізняються за метаболічною часткою відновленого НАД⁺ (НАДН), що утворюється на етапі гліколітичної окисдоредукції.

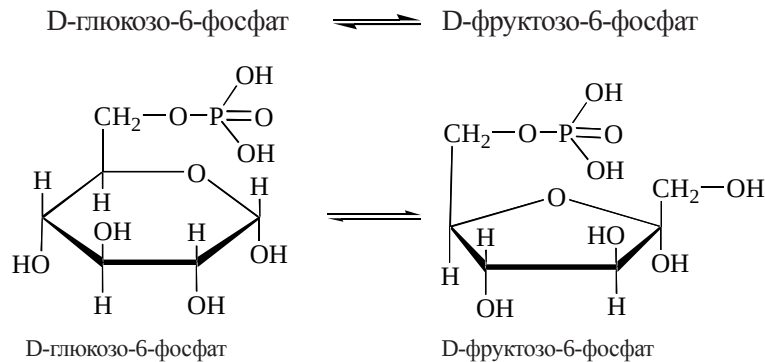
Ферментативні реакції аеробного гліколізу:

1. Активація молекули глюкози шляхом її фосфорилування до фосфорного ефіру — глюкозо-6-фосфату. Джерелом фосфату в реакції є молекула АТФ:



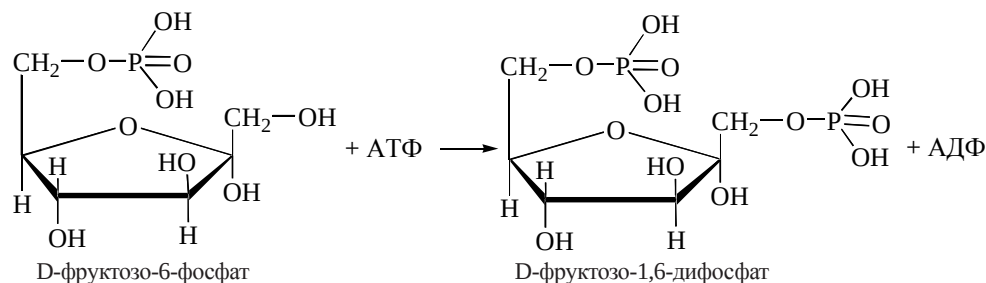
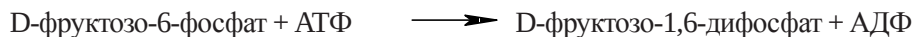
Ця реакція каталізується ферментом *гексокіназою*, що найбільш активна в м'язовій тканині. У клітинах печінки в утворенні глюкозо-6-фосфату з вільної молекули глюкози значну роль відіграє також фермент *глюкокіназа*. Гексокіназа здатна фосфорилувати різні гексози. Глюкокіназа специфічна для глюкози, проте її активність проявляється лише при концентраціях глюкози в крові, що перевищують фізіологічний рівень глікемії (аліментарна гіперглікемія, цукровий діабет).

2. Перетворення (ізомеризація) глюкозо-6-фосфату у фруктозо-6-фосфат:



Реакція каталізується ферментом *фосфогексоізомеразою* і є зворотною, тобто легко перебігає в обох напрямках залежно від переважної концентрації субстрату (глюкозо-6-фосфату або фруктозо-6-фосфату, відповідно). У фізіологічних умовах рівновагу реакції зсунуто праворуч у зв'язку з використанням фруктозо-6-фосфату в подальших реакціях гліколізу.

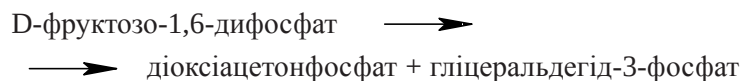
3. Фосфорилування фруктозо-6-фосфату з утворенням фруктозо-1,6-дифосфату. Джерелом фосфату, як і в 1-й реакції гліколізу, є молекула АТФ.

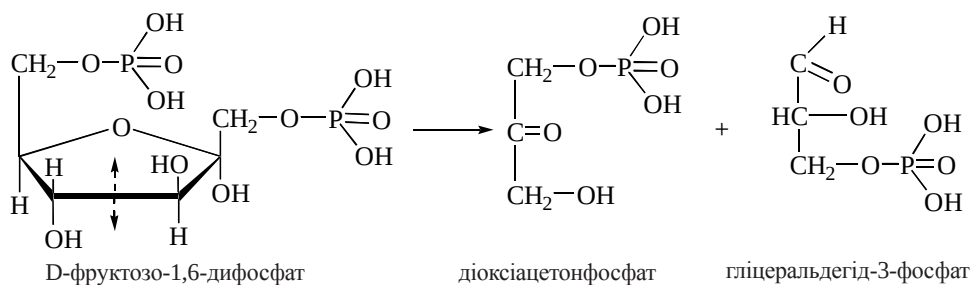


Ферментом, що каталізує цю реакцію, є *фосфофруктокіназа*, яка належить до регуляторних ферментів гліколізу з алостеричним механізмом регуляції.

4. Розщеплення фруктозо-1,6-дифосфату на дві молекули фосфотріоз шляхом розриву ковалентного —C—C— зв'язку між 3-м та 4-м атомами вуглецю в шести-вуглецевому ланцюзі фруктозо-1,6-дифосфату.

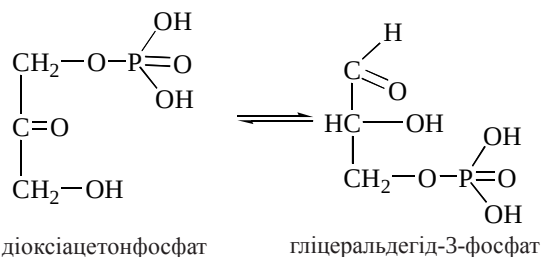
Реакція каталізується ферментом *фруктозо-1,6-дифосфатальдолоазою* (альдолазою). У результаті альдолазної реакції утворюються діоксіацетонфосфат (ДОАФ) та гліцеральдегід-3-фосфат (Г-3-Ф):



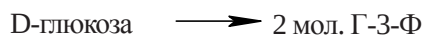


5. Взаємоперетворення двох фосфотріоз (ДОАФ та Г-3-Ф), що каталізується ферментом *тріозофосфатізомеразою*:

діоксіацетонфосфат $\rightleftharpoons$ гліцеральдегід-3-фосфат



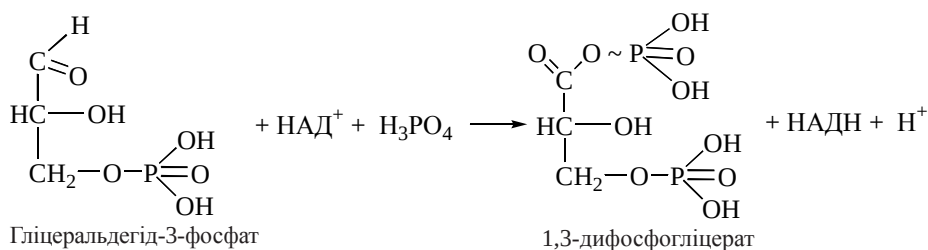
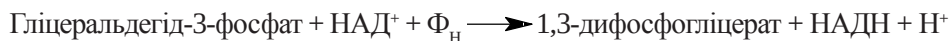
Оскільки за фізіологічних умов рівновагу даної реакції зсунуто праворуч у зв'язку з використанням у подальших реакціях гліколізу саме гліцеральдегід-3-фосфату, сумарним результатом зазначених п'яти реакцій розщеплення глюкози є перетворення однієї молекули глюкози на дві молекули Г-3-Ф:



6. Окислення гліцеральдегід-3-фосфату до 3-фосфогліциринової кислоти (3-ФГК). Цей процес (**гліколітична оксидоредукція**) складається з двох етапів, що каталізуються окремими ферментами:

6.1. Окислення гліцеральдегід-3-фосфату до 1,3-дифосфогліцерату (1,3-дифосфогліциринової кислоти — 1,3-диФГК).

Реакція каталізується ферментом *гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназою*, коферментом якого є НАД^+ , що акцептує відновлювальні еквіваленти (електрони) від альдегідної групи Г-3-Ф. У реакції бере також участь неорганічний фосфат:

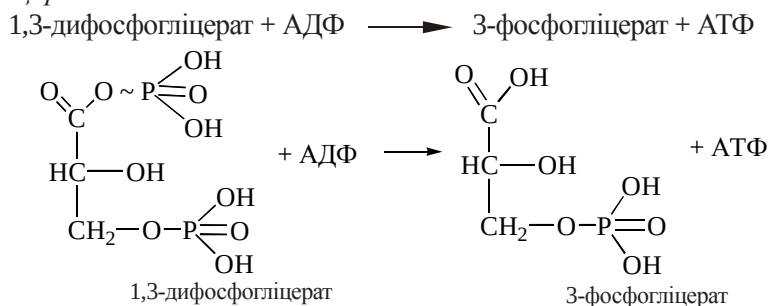


1,3-диФГК, що утворилася, є мішаним ангідридом фосфорної та 3-фосфогліцеринової кислот (ацилфосфат) і містить у своєму складі макроергічний фосфатний зв'язок, тобто 1,3-диФГК — це сполука з високим потенціалом переносу фосфатної групи (див. главу 8).

Другим продуктом гліцераальдегід-3-фосфатдегідрогеназної реакції є НАДН (“гліколітичний НАДН”), який в аеробних умовах передає свої відновлювальні еквіваленти на внутрішньомітохондріальний НАД⁺ та, послідовно, на мітохондріальний ланцюг електронного транспорту, генеруючи при цьому в результаті окисного фосфорилування три молекули АТФ.

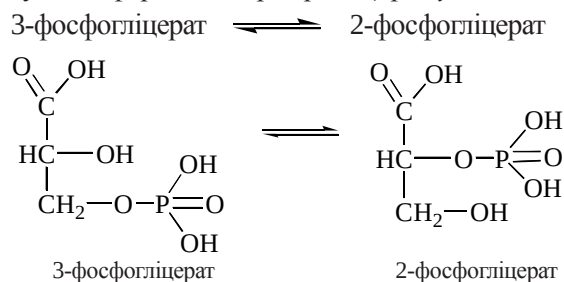
6.2. Перетворення 1,3-дифосфогліцерату на 3-фосфогліцерат (3-фосфогліцеринову кислоту — 3-ФГК).

Ця реакція супроводжується перенесенням макроергічної фосфатної групи від 1,3-диФГК на АДФ з утворенням молекули АТФ і каталізується ферментом *фосфогліцераткіназою*:



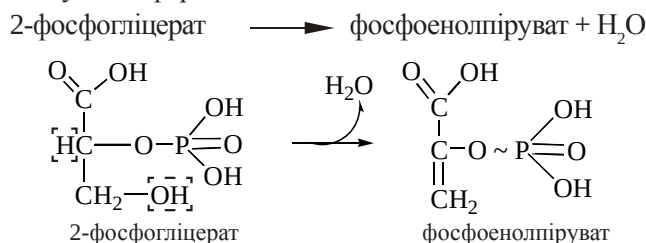
7. Перетворення 3-фосфогліцерату на 2-фосфогліцерат (2-фосфогліцеринову кислоту — 2-ФГК).

Реакція каталізується ферментом *фосфогліцеромутазою*:



8. Дегідратація 2-фосфогліцерату з утворенням фосфоенолпірувату (ФЕП).

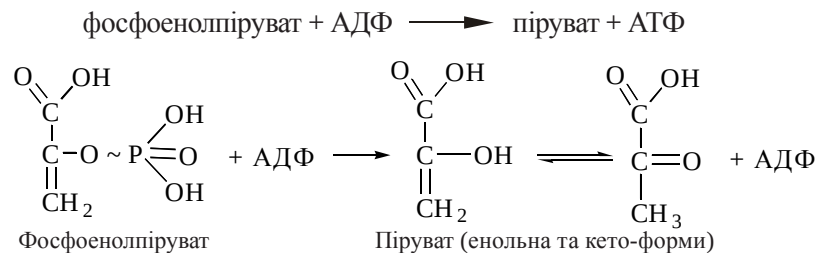
Реакція каталізується ферментом *енолазою*:



Ця реакція є другою в ході гліколізу, в результаті якої генерується макроергічний зв'язок (в молекулі ФЕП).

9. Утворення з фосфоенолпірувату пірувату.

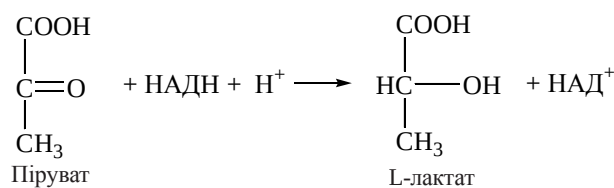
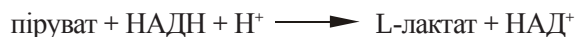
Реакція каталізується ферментом *піруваткіназою* і супроводжується перенесенням макроергічної фосфатної групи від молекули ФЕП на АДФ:



Піруваткізна реакція є заключною для аеробного гліколізу. В її результаті утворюються дві молекули пірувату та дві молекули АТФ (на кожен молекулу глюкози, яка стає на шлях гліколітичного розщеплення). *Піруваткіназа*, як і *фосфофруктокіназа*, є регуляторним ферментом, на рівні якого здійснюється регуляція гліколізу.

Ферментативні реакції анаеробного гліколізу

Як свідчать зазначені вище реакції, в аеробних умовах кінцевим продуктом гліколізу в тваринних тканинах є піруват; при цьому НАДН, що утворився в результаті окислення гліцеральдегід-3-фосфату, реокислюється в мітохондріях за рахунок молекулярного кисню. За умов анаеробного гліколізу (наприклад, в інтенсивно працюючих скелетних м'язах або в молочнокислих бактеріях) гліколітичний НАДН не віддає свої відновлювальні еквіваленти в дихальний ланцюг мітохондрій, а використовується для відновлення пірувату до L-лактату:



Реакція каталізується ферментом *лактатдегідрогеназою*, яка існує у вигляді п'яти різних ізоферментних форм (ЛДГ₁—ЛДГ₅), що відрізняються за своїми кінетичними властивостями (K_M , $V_{\max}$, ступенем алостеричного інгібування піруватом).

Загальну послідовність ферментативних реакцій гліколізу подано на рис. 11.3.

Таким чином, ферментативні реакції анаеробного гліколізу майже повністю співпадають із реакціями аеробного гліколізу, відрізняючись лише на етапі, що відбувається після утворення пірувату: при аеробному гліколізі піруват є субстратом перетворення на ацетилкоензим А та подальшого окислення (див: *Аеробне окислення глюкози*), а

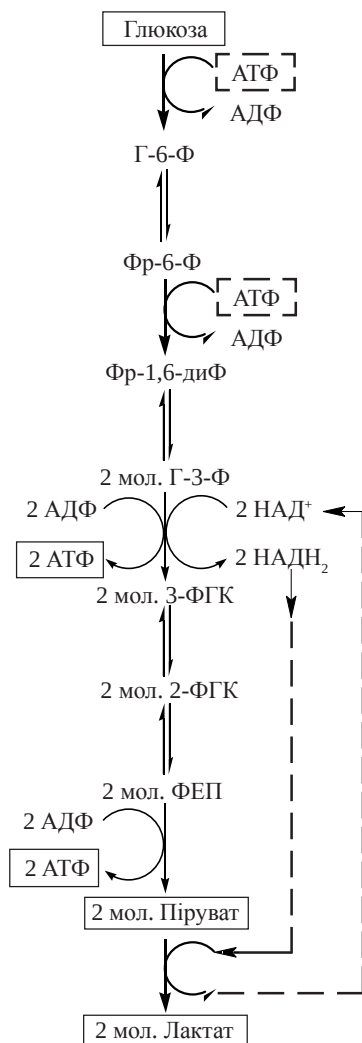


Рис. 11.3. Метаболічна карта гліколізу.

ність реакцій найбільш характерна для інтенсивно працюючих скелетних м'язів; крім скелетних м'язів та еритроцитів, клітини деяких інших органів та тканин (головного мозку, шлунково-кишкового тракту, мозкового шару нирок, сітківки та шкіри) частково задовольняють свої енергетичні потреби за рахунок анаеробного гліколізу, утворюючи молочну кислоту.

Взаємовідношення між аеробним окисненням глюкози, аеробним та анаеробним гліколізом подано на рис. 11.4.

при анаеробному гліколізі піруват відновлюється до лактату за рахунок НАДН, що утворився в реакціях гліколітичної оксидоредукції. Інакше кажучи, після утворення пірувату подальше його перетворення може відбуватися за одним із двох альтернативних шляхів, що залежать від стану окислювально-відновлювальних процесів у певній тканині:

— **в аеробних умовах** відбувається окисне декарбоксилювання пірувату до ацетил-КоА, який у подальшому окислюється до CO₂ та H₂O в циклі Кребса; НАДН, що утворився при окисненні гліцеральдегід-3-фосфату, віддає свої відновлювальні еквіваленти на дихальний ланцюг мітохондрій через спеціальні *човникові* механізми;

— **в анаеробних умовах** (або в умовах гіпоксії) реокислення гліколітичного НАДН відбувається за рахунок дії лактатдегідрогенази, яка відновлює піруват до лактату; течія лактатдегідрогеназної реакції в даному напрямку генерує НАД⁺, що знову використовується для окиснення гліцеральдегід-3-фосфату і подальшого накопичення лактату як продукту анаеробного гліколізу. Така послідов-

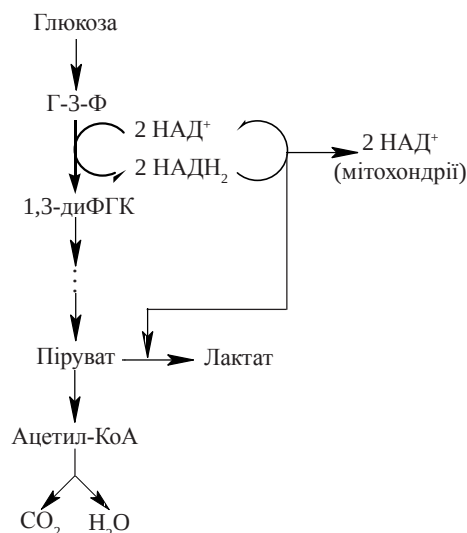


Рис. 11.4. Взаємовідношення між аеробним окисненням глюкози, аеробним та анаеробним гліколізом.

Човникові механізми окислення НАДН

Мембрани мітохондрій непроникні для НАДН, тому гліколітичний НАДН, що утворюється в цитозолі, не може безпосередньо окислюватися НАДН-дегідрогеназою мітохондріального електротранспортного ланцюга. Для окислення цитозольного НАДН існують човникові системи, що транспортують відновлювальні еквіваленти від цієї сполуки до мітохондрій непряним шляхом. Сутність цих процесів полягає в тому, що гліколітичний НАДН у цитозолі відновлює певний метаболіт, який здатний проникати через внутрішню мітохондріальну мембрану в матрикс мітохондрій, де він окислюється, відновлюючи внутрішньомітохондріальний НАД⁺, і знову повертається до цитозолу.

Транспорт цитозольного (гліколітичного) водню в мітохондрії здійснюється *малат-аспартатною* та *гліцерофосфатною* човниковими системами.

Малат-аспартатна човникова система — сутність її полягає у відновленні за рахунок водню системи (НАДН⁺ + Н⁺) оксалоацетату до малату (цитозольна реакція) з подальшим транспортом малату всередину мітохондрії і повторним його окисленням до оксалоацетату з відновленням НАД⁺ (мітохондріальна реакція); зворотний транспорт оксалоацетату в цитозоль здійснюється після його перетворення до аспартату (зворотна реакція трансамінування) — рис. 11.5.

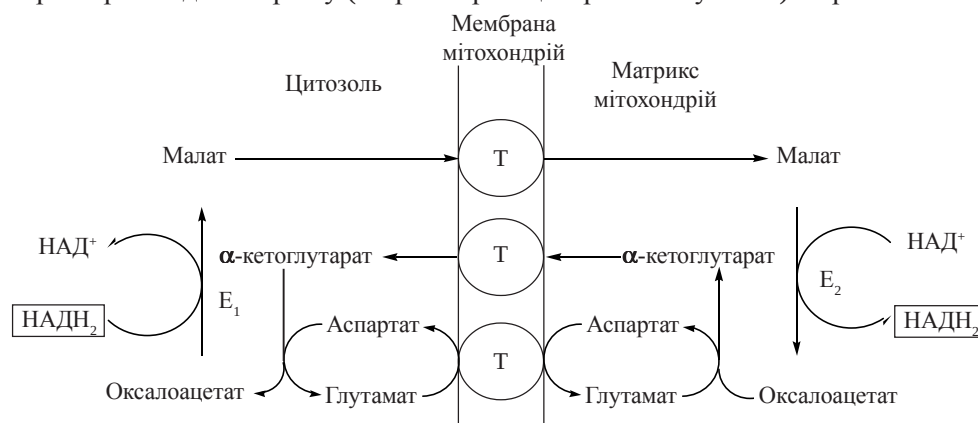


Рис. 11.5. **Малат-аспартатний шунт транспорту відновлювальних еквівалентів гліколітичного НАДН⁺ в мітохондрії.** E_1 , E_2 — мітохондріальний та цитоплазматичний ізоферменти малатдегідрогенази; T — транслокази мітохондріальних мембран.

Гліцерофосфатна човникова система функціонує шляхом відновлення (за рахунок гліколітичного водню) діоксіацетонфосфату до гліцерол-3-фосфату (цитозольний процес), транспорту гліцерол-3-фосфату всередину мітохондрії та його окислення в дихальному ланцюзі до діоксіацетонфосфату, який знову повертається в цитозоль.

Регуляція гліколізу

Регуляція гліколізу здійснюється за рахунок впливу негативних та позитивних модуляторів (інгібіторів, активаторів) на каталітичну активність регуляторних ферментів, що каталізують незворотні реакції гліколізу:

– *гексокінази* — для ферменту м'язів алостеричним інгібітором є продукт реакції глюкозо-6-фосфат;

– *фосфофруктокінази* — інгібіторами є метаболіт трикарбонового циклу цитрат та АТФ; активаторами — субстрат ферменту фруктозо-6-фосфат та АМФ; висока інтенсивність окислювальних процесів, що характеризується накопиченням у клітині субстратів ЦТК та АТФ, сприяє за рахунок даного механізму збереженню пулу глюкози; фосфофруктокіназа є *швидкість-лімітуючою* реакцією гліколізу;

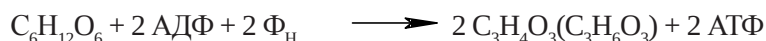
– *піруваткінази* — фермент інгібується АТФ, а також субстратами циклу лимонної кислоти — ацетил-КоА та жирними кислотами, що забезпечує гальмування гліколізу в умовах високої інтенсивності окислювальних процесів; печінкова ізоформа піруваткінази регулюється за допомогою ковалентної модифікації — цАМФ-залежного фосфорилування (дефосфорильована форма активна, фосфорильована — неактивна); крім того, піруваткіназа гепатоцитів є індукованим ферментом, синтез якого стимулюється в умовах підвищеного надходження з їжею вуглеводів та зростання рівня інсуліну.

Гальмування реакцій гліколізу за рахунок пригнічення в умовах активного клітинного дихання каталітичних активностей фосфофруктокінази та піруваткінази є молекулярною основою *ефекту Пастера*.

11.4. ЕНЕРГЕТИКА ГЛІКОЛІЗУ Й АЕРОБНОГО ОКИСЛЕННЯ ГЛЮКОЗИ

Енергетика гліколізу

Враховуючи дві молекули АТФ, що використовуються на першій стадії гліколізу (гексокіназна та фосфофруктокіназна реакції), та чотири молекули АТФ, що утворюються на другій стадії (фосфогліцераткіназна та піруваткіназна реакції), сумарний процес *аеробного та анаеробного* гліколізу можна подати таким рівнянням:



Утворення в реакціях гліколізу молекул АТФ за рахунок безпосереднього перенесення макроергічних фосфатних груп від 1,3-диФГК та ФЕП на АДФ отримало назву *субстратного фосфорилування* (“фосфорилування на рівні субстрату”).

Енергетика аеробного окислення глюкози

Для підрахунку загальної кількості молекул АТФ, що генеруються за умов повного окислення глюкози до двоокису вуглецю та води, враховують:

– кількість молекул АТФ, які утворились на етапі аеробного гліколізу (2 молекули АТФ);

- кількість молекул АТФ, які утворились за рахунок окислення в мітохондріях двох молекул гліколітичного НАДН ($2 \times 3 = 6$ молекул АТФ);
- кількість молекул АТФ, які утворились на етапі окисного декарбоксилювання двох молекул пірувату за рахунок окислення в мітохондріях НАДН, утвореного в піруватдегідрогеназній реакції ($2 \times 3 = 6$ молекул АТФ);
- кількість молекул АТФ, які утворились за рахунок окислення в циклі трикарбонових кислот двох молекул ацетил-КоА ($2 \times 12 = 24$ молекули АТФ).

Сумарне рівняння аеробного окислення глюкози, що враховує АТФ, генеровану при субстратному фосфорилуванні на гліколітичному етапі та за рахунок окисного фосфорилування в мітохондріях, таке:



У зв'язку зі значно більшою енергетичною ефективністю аеробного окислення глюкози, порівняно з гліколізом, останній процес розглядається як еволюційно більш прадавній шлях катаболізму глюкози, що мав першорядне значення в умовах відсутності в первісній земній атмосфері кисню.

ГЛАВА 12. МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ

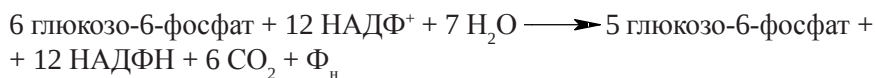
II. АЛЬТЕРНАТИВНІ ШЛЯХИ ОБМІНУ
МОНОСАХАРИДІВ. РЕГУЛЯЦІЯ ОБМІНУ ГЛЮКОЗИ12.1. ПЕНТОЗОФОСФАТНИЙ ШЛЯХ МЕТАБОЛІЗМУ
ГЛЮКОЗИ

Гліколітичний шлях окислення глюкози генерує НАДН та АТФ як джерела енергії для ендергонічних процесів у біологічних системах. Разом з тим, існує альтернативний механізм метаболізму глюкози — *пентозофосфатний (фосфо-глюконатний) шлях*, в результаті функціонування якого утворюється інший тип метаболічної енергії, а саме — відновлений НАДФ⁺ (НАДФН), що в подальшому використовується у різних реакціях відновлювального біосинтезу, зокрема синтезу ліпідів. Крім генерації НАДФН, пентозофосфатний шлях є постачальником пентоз, необхідних для синтезу багатьох важливих біомолекул.

Загальна характеристика пентозофосфатного шляху

Реакції та ферменти пентозофосфатного шляху (ПФШ) окислення глюкози локалізовані в цитозолі клітин.

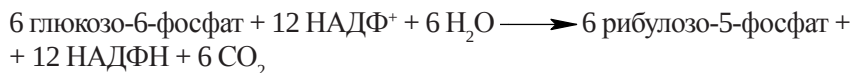
Сумарне рівняння процесу має вигляд:



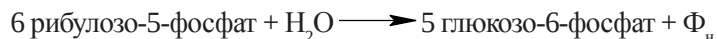
Як впливає з рівняння реакції, в результаті реакцій ПФШ одна (з шести) молекула глюкозо-6-фосфату повністю окислюється з вивільненням діоксиду вуглецю та акумуляцією відновлювальних еквівалентів (дванадцяти атомів водню) у вигляді НАДФН.

Загальний процес складається із двох стадій:

I стадія — *окислювальна*, в ході якої активована молекула глюкози (шість молекул глюкозо-6-фосфату) дегідрується та декарбоксилюється з утворенням фосфорильованої пентози — *рибулозо-5-фосфату* (шість молекул); на відміну від гліколізу, акцептором водню в реакціях дегідрування є НАДФ⁺:



II стадія — *стадія ізомерних перетворень*, в ході якої рибулозо-5-фосфат (шість молекул) знову перетворюється на глюкозо-6-фосфат (п'ять молекул):



Специфічними для цієї стадії є ферменти *транскетолаза* та *трансальдолаза*, що каталізують реакції міжмолекулярного переносу дво- та тривуглецевих карбонільних радикалів:

Завдяки дії транскетолази та трансальдолази утворюються численні проміжні метаболіти ПФЦ, а саме: фосфорильовані похідні вуглеводів — C_5 (ізомери рибулозо-5-фосфату — рибозо-5-фосфат, ксилулозо-5-фосфат), C_3 (тріозофосфати), C_7 (седогептулозо-7-фосфат), C_4 (еритрозо-4-фосфат), C_6 (фруктозо-6-фосфат).

Пентозофосфатний цикл окислення глюкози

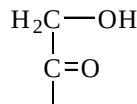
У результаті функціонування двох стадій пентозофосфатного шляху метаболізму глюкози відбувається послідовне перетворення гексоз на пентози та навпаки (пентоз на гексози), що дозволяє представити зазначені перетворення у вигляді метаболічного циклу — пентозофосфатного циклу (ПФЦ) окислення глюкози (рис. 12.1).

Як випливає з наведеної схеми, реакції ПФЦ шунтують гліколітичний шлях перетворення глюкози до пірувату, у зв'язку з чим одна з назв метаболічного шляху, що розглядається, — “гексозомонофосфатний шунт окислення глюкози”.

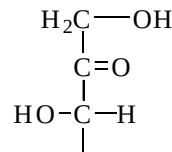
Враховуючи, що в ході пентозофосфатного циклу (ПФЦ) відбувається циклічне перетворення шести- та п'ятиуглецевих молекул, тобто гексоз (C_6) на пентози (C_5) з виділенням шести молекул C_1 (CO_2), можна подати таку формалізовану модель циклу:

Ферментативні реакції пентозофосфатного циклу

I стадія. Окислювальна стадія полягає в послідовному дегідруванні двох метаболітів ПФЦ — вихідного субстрату глюкозо-фосфату та інтермедіату 6-фосфоглюконату НАДФ-залежними дегідрогеназами.



Радикал, що транспортується транскетолазою (тіаміндіфосфатозалежним ферментом).



Радикал, що транспортується трансальдолазою.

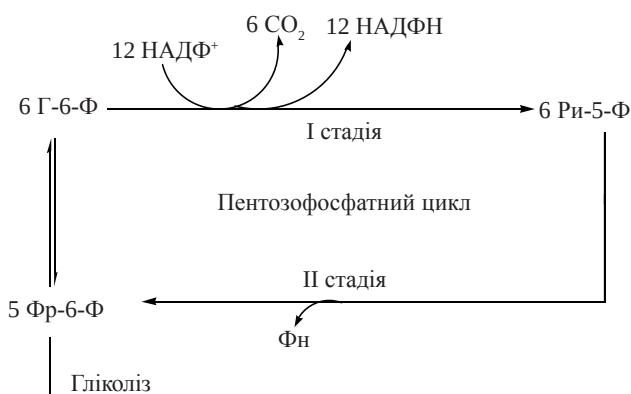
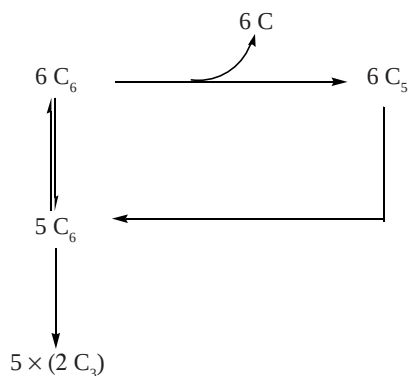
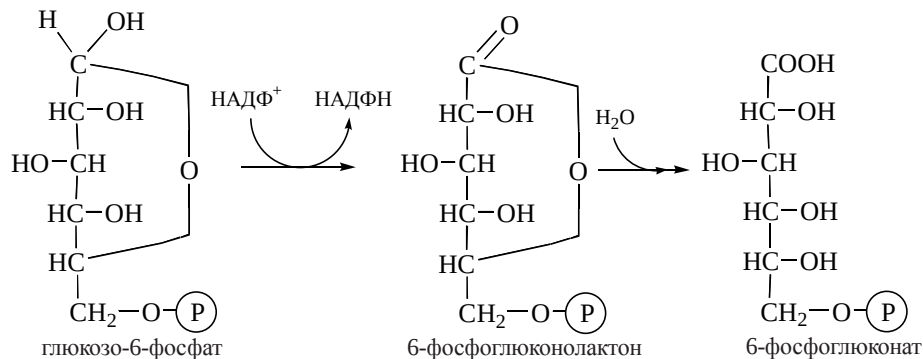


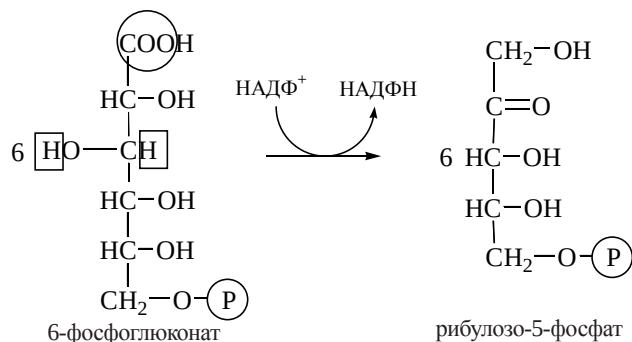
Рис. 12.1. Схема пентозофосфатного циклу окислення глюкози (Г-6-Ф — глюкозо-6-фосфат; Фр-6-Ф — фруктозо-6-фосфат; Ри-5-Ф — рибулозо-5-фосфат; ПВК — піруват).



I.1. Окислення глюкозо-6-фосфату (шести молекул) до 6-фосфоглюконолактону (фермент — НАДФ-залежна *глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа*) з подальшим гідролізом лактону до 6-фосфоглюконату (фермент — *лактоназа*):



I.2. Окислювальне декарбоксилювання 6-фосфоглюконату до кетопентози — D-рибулозо-5-фосфату (фермент — НАДФ-залежна *6-фосфоглюконатдегідрогеназа*):



Утворенням рибулозо-5-фосфату (який може легко перетворюватися в свій ізомер рибозо-5-фосфат), тобто *окислювальною стадією*, функціонування

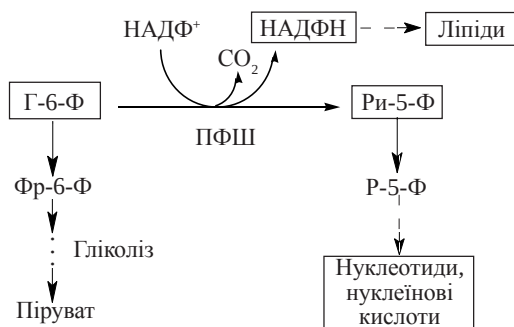


Рис. 12.2. **Схема функціонування пентозофосфатного шляху в клітинах тканин із збалансованими потребами в НАДФН та пентозофосфатах.**

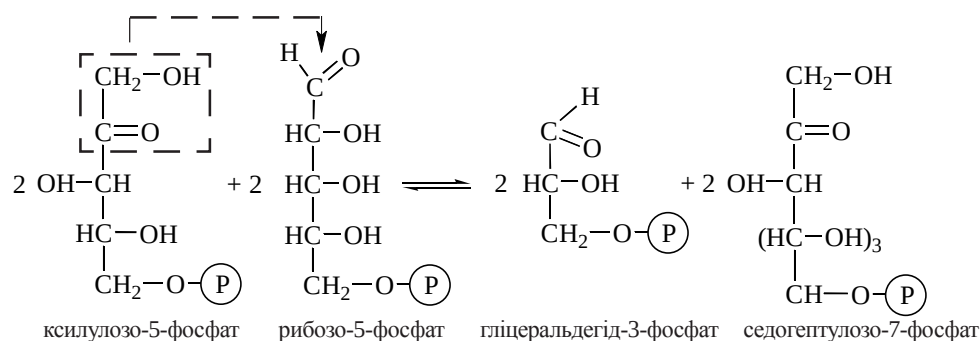
Позначення: див. рис.12.1; Р-5-Ф - *рибулозо-5-фосфат*.

пентозо-фосфатного шляху може завершуватися. Така метаболічна ситуація відбувається в печінці, надниркових, статевих залозах, лактуючій молочній залозі, тобто в тканинах з переважанням анаболічних процесів із збалансованою потребою в НАДФН (необхідному для синтезу жирних кислот, стероїдів) та рибозо-5-фосфаті (необхідному для синтезу нуклеотидів, нуклеїнових кислот) (рис. 12.2).

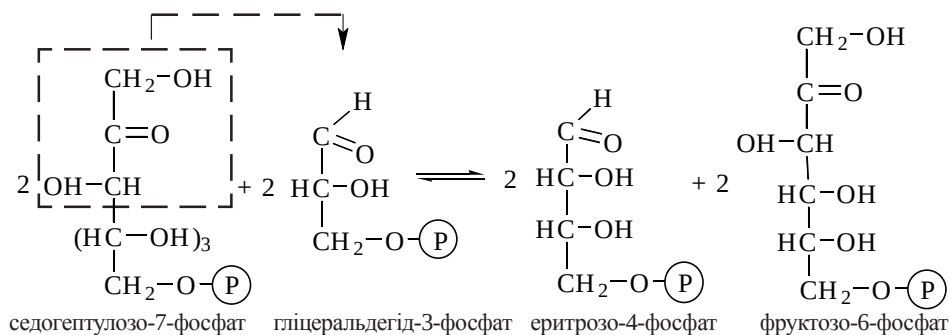
II стадія. Ця стадія починається з ізомеризації рибулозо-5-фосфату і полягає в ізомерних перетвореннях цукрофосфатів.

II.1. Ізомеризація шести молекул рибулозо-5-фосфату шляхом його перетворення в чотири молекули ксилулозо-5-фосфату (фермент — *фосфопентоепімераза*) та в дві молекули рибозо-5-фосфату (фермент — *фосфопентоізомераза*):

II.2. Перша *транскетолазна реакція* — взаємодія двох молекул ксилулозо-5-фосфату з двома молекулами рибозо-5-фосфатом з утворенням гліцеральдегід-3-фосфату та седогептулозо-7-фосфату (по дві молекули, відповідно):

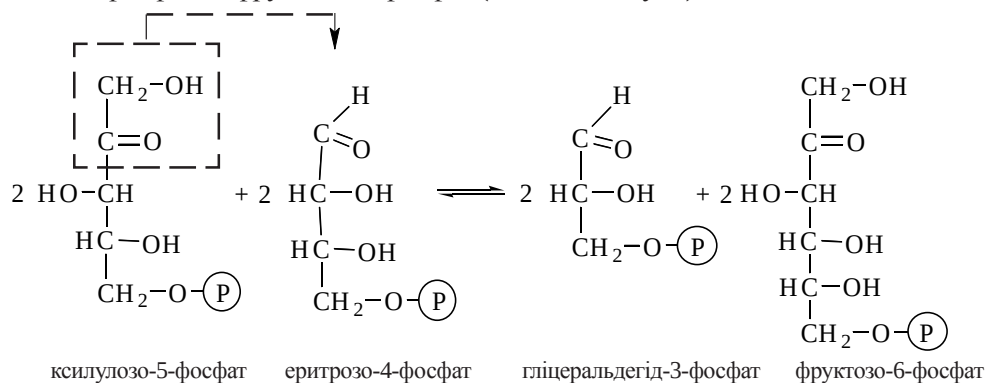


II.3. *Трансальдолазна реакція* — взаємодія двох молекул седогептулозо-7-фосфату з двома молекулами гліцеральдегід-3-фосфату з утворенням еритрозо-4-фосфату та фруктозо-6-фосфату (по дві молекули, відповідно):

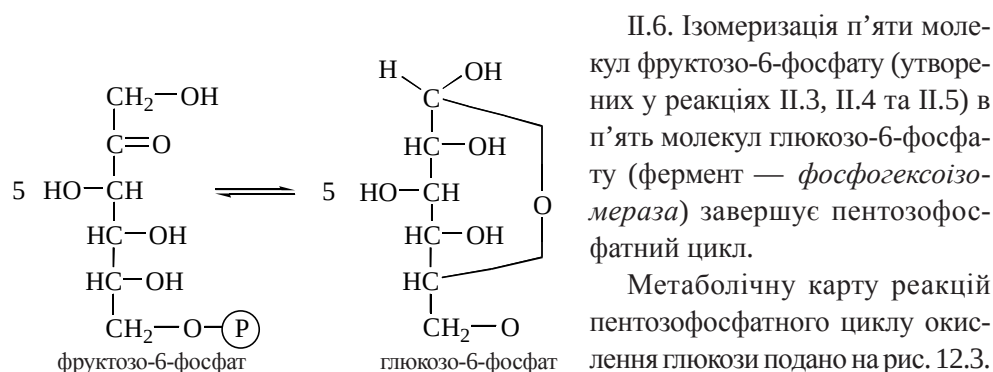
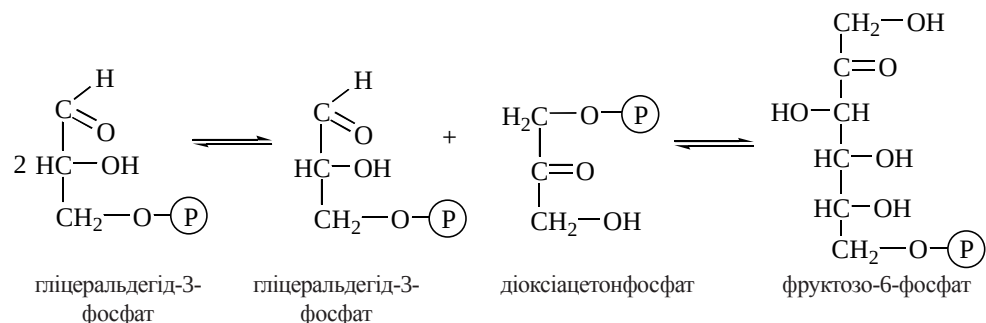


Ці етапи є перетином ПФШ із гліколізом: гліцеральдегід-3-фосфат, що утворився на етапі II.2., може надходити до фонду метаболітів гліколізу, або продукти реакції II.3. вступають в другу *транскетолазну реакцію*, тобто перетворюються по шляху ПФЦ.

II.4. Друга *транскетолазна реакція* полягає у взаємодії двох молекул ксилулозо-5-фосфату (утворених в реакції II.1.) із двома молекулами еритрозо-4-фосфату (утвореним у попередній реакції — II.3.); продукти реакції — гліцеральдегід-3-фосфат та фруктозо-6-фосфат (по дві молекули):



II.5. Дві молекули гліцеральдегід-3-фосфату, утворені в реакції II.4, можуть (через стадію ізомеризації в діоксіацетонфосфат) конденсуватися в молекулу фруктозо-6-фосфату:



II.6. Ізомеризація п'яти молекул фруктозо-6-фосфату (утворених у реакціях II.3, II.4 та II.5) в п'ять молекул глюкозо-6-фосфату (фермент — *фосфогексоізомераза*) завершує пентозофосфатний цикл.

Метаболічну карту реакцій пентозофосфатного циклу окислення глюкози подано на рис. 12.3.

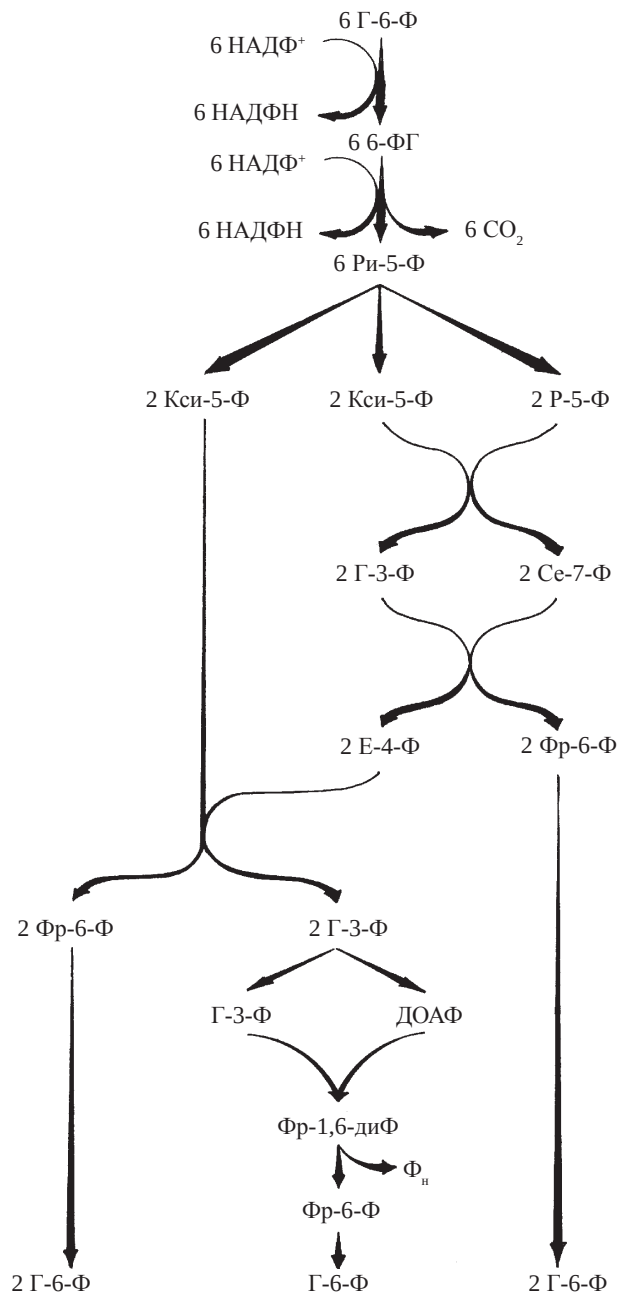


Рис. 12.3. **Схема реакцій пентозофосфатного циклу.** Позначення: Г-6-Ф — глюкозо-6-фосфат; 6-Ф-Г — 6-фосфоглюконат; Ри-5-Ф — рибулозо-5-фосфат; Кси-5-Ф — ксилулозо-5-фосфат; Р-5-Ф — рибозо-5-фосфат; Г-3-Ф — гліцеральдегід-3-фосфат; ДОАФ — діоксіацетонфосфат; Се-7-Ф — седугептулозо-7-фосфат; Е-4-Ф — еритрозо-4-фосфат; Фр-6-Ф — фруктозо-6-фосфат; Фр-1,6-диФ — фруктозо-1,6-дифосфат.

У результаті реакцій, що розглянуті, шість молекул глюкозо-6-фосфату перетворюються на п'ять молекул глюкозо-6-фосфату, тобто процес має вигляд метаболічного циклу, як було зазначено вище.

Фізіологічне значення пентозофосфатного шляху

Пентозофосфатний шлях окислення глюкози має важливе фізіологічне значення для функціонування інших анаболічних (біосинтетичних) механізмів, а саме:

1) за рахунок функціонування пентозофосфатного шляху метаболізму глюкози в організмі утворюється приблизно половина пулу НАДФН (решта — в результаті дії НАДФ-залежних ізоцитратдегідрогенази та малатдегідрогенази), що використовується у відновлювальних синтезах жирних кислот та стероїдів;

2) пентозо-фосфатний шлях є постачальником рибозо-5-фосфату, який використовується для утворення нуклеотидів нуклеїнових кислот ДНК та РНК, коферментних біомолекул НАД (НАДФ), ФАД, АТФ, КоА, циклічних нуклеотидів 3',5'-АМФ та 3',5'-ГМФ;

У зв'язку із зазначеними біохімічними функціями, реакції пентозофосфатного шляху найбільш активно перебігають у тканинах із вираженим анаболізмом, у клітинах яких найбільш інтенсивно відбуваються синтези ліпідів, вільних нуклеотидів та нуклеїнових кислот — у жировій тканині, печінці, молочній залозі в період лактації, корі надниркових залоз, сім'яниках. У тканинах з переважанням окислювального метаболізму, зокрема скелетних м'язів, реакції пентозофосфатного шляху перебігають на дуже низькому рівні.

Оскільки при циклічному функціонуванні пентозофосфатного шляху основним продуктом усього процесу є саме генерація НАДФН, ПФШ має характер метаболічного *циклу* (ПФЦ — рис. 12.1) в адипоцитах жирової тканини, де головною його функцією є саме генерація відновлювальних еквівалентів для синтезу ліпідів (тобто існує переважання потреб в НАДФН над потребами в пентозофосфатах). У решті клітин із високим анаболічним потенціалом (де відбувається активний синтез як ліпідів, так і нуклеотидів) — тканини із збалансованими потребами в НАДФН та пентозофосфатах — пентозофосфатний шлях або закінчується на окислювальній стадії (рис. 12.2), або переходить в гліколітичний шлях окислення глюкози на етапі утворення тріозофосфатів;

3) пентозофосфатний шлях активно функціонує в еритроцитах людини. Біологічне значення функціонування ПФЦ у цих клітинах полягає в генерації НАДФН, що необхідний для протидії *перекисному окисленню* ненасичених жирних кислот фосfolіпідів еритроцитарних мембран, тобто для попередження гемолізу еритроцитів.

Спадкова недостатність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази проявляється підвищеною схильністю еритроцитів хворих до гемолізу, особливо в разі прийому деяких лікарських засобів (аспірину, сульфаніламідів, протималярійного препарату *Примахіну*). Такі ж порушення у пацієнтів із дефектом глюкозо-6-фосфатдегідрогенази спричиняє споживання бобів *Vicia faba* ("фавізм") — захворювання, яким страждають мільйони населення в країнах Африки та Азії.

12.2. МЕТАБОЛІЗМ ФРУКТОЗИ ТА ГАЛАКТОЗИ

Важливими субстратами енергетичного обміну є моносахариди **D-фруктоза** та **D-галактоза**, які надходять до організму людини переважно з харчовими дисахаридами рослинного та тваринного походження: фруктоза — у складі сахарози, що гідролізується в кишечнику ферментом *сахарозою* до глюкози та фруктози, галактоза — у складі “молочного цукру” лактози, що розщеплюється кишковою *лактазою* (**β -галактозидазою**) до галактози та глюкози.

Після проникнення через плазматичні мембрани всередину клітин фруктоза і галактоза включаються в обмінні процеси шляхом їх перетворення в фосфорилювані ефіри глюкози або її метаболітів — інтермедіатів гліколізу.

Перетворення фруктози

Включення фруктози в обмін глюкози здійснюється при дії таких ферментів:

а) неспецифічної *гексокінази*, що каталізує фосфорилювання різних гексоз:



Продукт реакції — D-фруктозо-6-фосфат є метаболітом гліколітичного окислення глюкози. Цей шлях метаболізму фруктози реалізується в клітинах багатьох органів, особливо в м'язах і нирках;

б) специфічної *фруктокінази*, що каталізує фосфорилювання фруктози не за 6-м, а за 1-м вуглецевим атомом:



Фруктокіназний шлях перетворення фруктози функціонує в печінці. Продукт реакції — D-фруктозо-1-фосфат розщеплюється під дією *альдолази* (*фруктозо-1-фосфатальдлази*) на дві тріози:



Діоксіацетонфосфат, що утворився, є інтермедіатом гліколізу, який перетворюється в гліцеральдегід-3-фосфат при дії *тріозофосфатізомерази*. Другий продукт альдолазної реакції — гліцеральдегід фосфорилюється з утворенням також гліцеральдегід-3-фосфату (фермент — *тріозокіназа*):

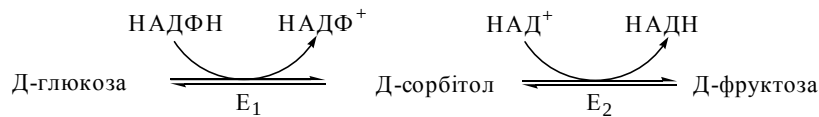


Таким чином, фруктокіназний шлях обміну фруктози перетинається з гліколізом на етапі утворення двох молекул фосфотріози — гліцеральдегід-3-фосфату.

Особливості обміну фруктози в організмі людини

Основним джерелом фруктози в організмі людини є її надходження з продуктами харчування, втім певна кількість цієї гексози синтезується в спеціалізованих тканинах із глюкози.

Синтез ендогенної фруктози відбувається через утворення з глюкози шести-атомного спирту *сорбітолу* за схемою:



E_1 — альдозоредуктаза; E_2 — сорбітолдегідрогеназа

1. В організмі людини фруктоза утворюється з глюкози в сім'яних везикулах; концентрація фруктози в сім'яній рідині досягає 10 мМ. Завдяки здатності мітохондрій сперматозоїдів окислювати фруктозу в процесі *фруктолізу*, вона є енергетичним джерелом для руху сперматозоїдів.

2. Фруктоза міститься в певних концентраціях у кристалику ока, де вона також утворюється з глюкози через сорбітол. Активність цього метаболічного шляху збільшується при цукровому діабеті; оскільки проникнення сорбітолу через клітинні мембрани є утрудненим, він, разом із фруктозою, накопичується в кристалику, що складає біохімічну основу розвитку діабетичної катаракти.

3. Існують спадкові ензимопатії, пов'язані з генетичними дефектами синтезу ферментів метаболізму фруктози:

а) *непереносимість фруктози* — захворювання, молекулярною основою якого є уроджена недостатність *фруктозо-1-фосфатальдолази*, що спричиняє накопичення в тканинах фруктозо-1-фосфату, який є інгібітором деяких ферментів вуглеводного обміну, зокрема фосфорилази глікогену. Патологія проявляється фруктоземією, фруктозурією та важкою гіпоглікемією, що розвиваються після споживання дієти, яка містить фруктозу;

б) *фруктоземія* — патологія обміну фруктози, спричинена недостатністю *фруктокінази*. Ензимопатія характеризується порушенням клітинної утилізації фруктози без суттєвих клінічних проявів.

Перетворення галактози

Включення галактози в метаболічні процеси відбувається за таким механізмом:

(1) фосфорилування D-галактози за 1-м вуглецевим атомом (фермент *галактокіназа*):



(2) перетворення D-галактозо-1-фосфату в епімерну молекулу D-глюкозо-1-фосфату. Реакція відбувається при участі нуклеотиду коферментного типу УДФ (уридиндифосфату), який виконує функцію переносника гексозних груп у формі нуклеотидцукру УДФ-1-гексози:



Реакція каталізується ферментом *галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазою* (УДФ-глюкоза: D-галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазою).

Регенерація УДФ-1-глюкози, тобто перетворення галактозного радикала в глюкозний (та зворотний епімерний процес) відбувається у складі молекули нуклеотидцукру УДФ-гексози при дії НАД-залежного ферменту *УДФ-галактозо-4-епімерази*.

(3) Глюкозо-1-фосфат, що є продуктом реакції (2), перетворюється в глюкозо-6-фосфат при дії *фосфоглюкомутази*.

Послідовність реакцій включення галактози в обмін глюкози подано на рис. 12.4:

Розглянута послідовність реакцій перетворення галактози в глюкозу використовується також для зворотного процесу — синтезу в молочних залозах галактози, де моносахарид використовується для утворення молочного цукру *лактози*.

Галактоземія

Спадковий дефект синтезу *галактозо-1-фосфат-уридилтрансферази* проявляється уродженою ензимопатією — *галактоземією*. Внаслідок неспроможності біохімічних систем організму перетворювати галактозу в глюкозу, в крові та внутрішніх органах хворих накопичуються галактоза та галактозо-1-фосфат, що проявляється збільшенням печінки, змутненням кристалика, затримкою розумового розвитку. Патологія виявляється в ранньому дитячому віці при споживанні молока, її розвиток може бути затриманий відповідними дієтичними обмеженнями.

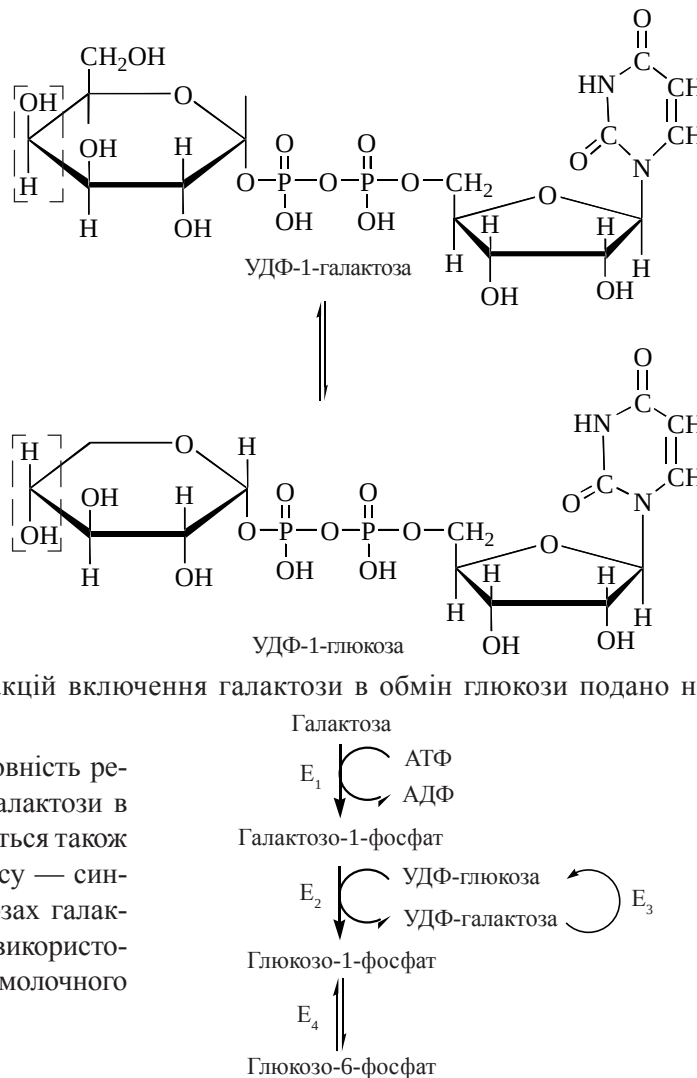


Рис. 12.4. **Схема включення галактози в метаболізм глюкози.** E_1 — галактокіназа; E_2 — галактозил-1-фосфат-уридилтрансфераза; E_3 — УДФ-галактозо-4-епімераза; E_4 — фосфоглюкомутаза.

12.3. БІОСИНТЕЗ ГЛЮКОЗИ ТА ЙОГО РЕГУЛЯЦІЯ

Головним джерелом глюкози як метаболічного палива для організму людини є її надходження з харчовими продуктами у вигляді полісахариду крохмалю та сахарози. Надлишок глюкози, що не використовується в окислювальних реакціях аеробного та анаеробного гліколізу, відкладається у вигляді енергетичних депо — глікогену та триацилгліцеролів. Втім, існують метаболічні шляхи, що забезпечують організм глюкозою за рахунок її синтезу з неуглеводних біомолекул.

Глюконеогенез (гліконеогенез) — синтез глюкози з неуглеводних метаболічних попередників, до яких належать: піруват (та лактат); деякі амінокислоти (глюкогенні амінокислоти); певна кількість глюкози може утворюватися з гліцеролу та продуктів катаболізму жирних кислот з непарною кількістю вуглецевих атомів у вуглеводневому ланцюзі.

Фізіологічне значення глюконеогенезу

Реакції глюконеогенезу відбуваються переважно в печінці та, в деякій мірі, в кірковому шарі нирок, оскільки в клітинах саме цих органів присутній повний набір необхідних ферментів.

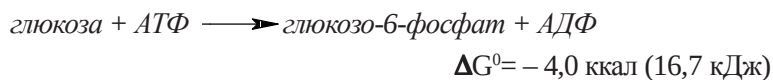
За добу в організмі дорослої людини синтезується до 80 г глюкози. Біосинтез глюкози забезпечує її нормальну концентрацію в умовах зменшеного надходження моносахариду із зовнішнього середовища та вичерпання головного акумуляованого джерела глюкози — глікогену печінки та м'язів. Така фізіологічна ситуація спостерігається через декілька годин після прийому їжі (*постабсорбтивний стан*, що відбувається зранку, натщесерце), в умовах тривалого голодування, після виснажливої фізичної роботи. Особливо чутливий до зменшення внутрішньоклітинної концентрації глюкози головний мозок людини, для якого глюкоза є основним субстратом енергетичного обміну, що споживається в кількості близько 120 г за добу.

Метаболічний шлях глюконеогенезу

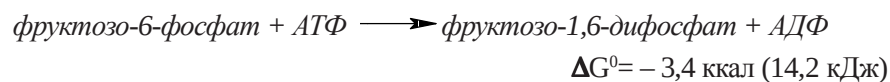
Метаболічний шлях глюконеогенезу є значною мірою оберненням гліколізу (що утворює з глюкози піруват та лактат) за виключенням трьох гліколітичних “кіназних” реакцій, які є термодинамічно незворотними і потребують обхідних (шунтових) механізмів.

Незворотними реакціями гліколізу є:

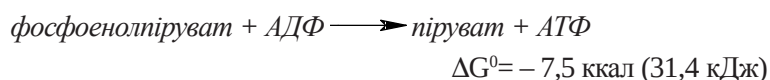
1) *гексокіназна (або глюкокіназна) реакція:*



2) *фосфофруктокіназна реакція:*



3) *піруваткіназна реакція:*



Виходячи з незворотності зазначених реакцій, для перетворення пірувату (або лактату) в глюкозу необхідні додаткові, **специфічні для глюконеогенезу** ферментативні реакції. Це реакції:

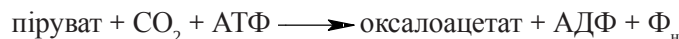
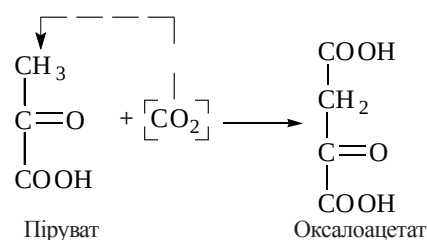
- перетворення глюкозо-6-фосфату в глюкозу;
- перетворення фруктозо-1,6-дифосфату в фруктозо-6-фосфат;
- перетворення пірувату в фосфоенолпіруват.

Реакції та ферменти глюконеогенезу

1. Перетворення пірувату в фосфоенолпіруват.

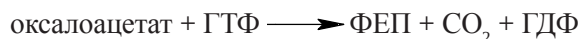
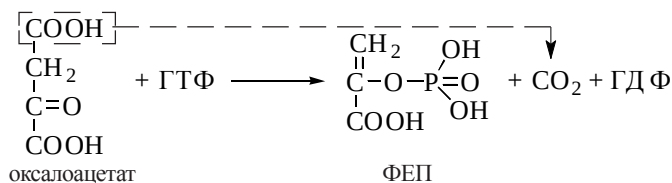
Реакція відбувається в дві послідовні стадії:

1). Перетворення пірувату в оксалоацетат (щавлевооцтову кислоту) за участю ферменту *піруваткарбоксилази*:



Піруваткарбоксилаза локалізована всередині мітохондрій. Простетичною групою ферменту є *карбоксибіотин* — коферментна форма CO_2 -транспортуючого вітаміну Н. Макроергічний зв'язок АТФ витрачається на карбоксилювання зв'язаного з ферментом біотину (див. главу 15, п. 15.1).

2). Перетворення оксалоацетату в фосфоенолпіруват (ФЕП) за участю ферменту *фосфоенолпіруваткарбоксикінази* (ФЕП-кінази):



У клітинах більшості тваринних організмів ФЕП-кіназа локалізована в цитозолі, у людини — в цитозолі, частково — в мітохондріях.

Компартменталізація перетворення пірувату в ФЕП

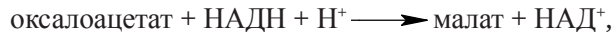
Піруваткарбоксилазна реакція є однією з *анаплеротичних* реакцій циклу трикарбонових кислот, що забезпечують підтримання високої концентрації певних метаболітів ЦТК — в даному випадку — оксалоацетату (див. главу 10, п.10.4). Реакція відбувається всередині мітохондрій, і для включення оксалоацетату в реакції глюконеогенезу (за рахунок дії цитозольної ФЕП-кінази та інших ферментів глюконеогенезу) необхідно транспортувати оксалоацетат через мембрани мітохондрій у цитозоль.

Транспортування оксалоацетату в цитозоль забезпечується за допомогою однієї з *човникових систем* (*шунтів* — *shuttles*, англ.), принцип дії яких полягає в перетворенні мітохондріального оксалоацетату, для якого внутрішні мембрани мітохондрій є непроникними, в сполуку, що може дифундувати в цитозоль і там

розщеплюватися з утворенням знову оксалоацетату. Човникові механізми використовуються для виходу з мітохондрій у цитозольний простір оксалоацетату, ацетил-КоА, надходження з цитозолу в мітохондрії гліколітичного НАДН.

Човникові системи транспорту оксалоацетату:

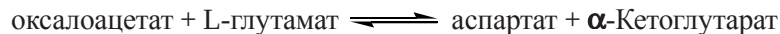
1) *малатна човникова система* — включає в себе: відновлення оксалоацетату до малату за участю мітохондріального ізоферменту *малатдегідрогенази*:



вихід малату через мембрани мітохондрій у цитозоль і подальше окислення малату до оксалоацетату цитозольним ізоферментом *малатдегідрогенази*:



2) *аспартатна човникова система* — функціонує шляхом внутрішньомітохондріального перетворення оксалоацетату в аспартат:

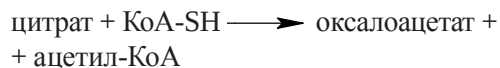


з подальшим виходом аспартату в цитозоль і зворотним його перетворенням знову в оксалоацетат; механізм забезпечується послідовною дією мітохондріального та цитозольного ізоферментів *аспартатамінотрансферази*.

3) *цитратна човникова система* — функціонує шляхом внутрішньомітохондріального утворення з оксалоацетату цитрату (за рахунок дії *цитратсинтази*):

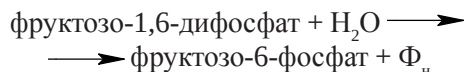


подальшого виходу цитрату в цитозоль і його розщеплення з вивільненням знову оксалоацетату за дії *цитратліази*:



Основним механізмом виходу оксалоацетату в цитозоль, що постачає цитозольний ФЕП, який далі використовується в реакціях глюконеогенезу, є малатний шунт, принципи функціонування якого подано на схемі (рис. 12.5):

2. *Перетворення фруктозо-1,6-дифосфату в фруктозо-6-фосфат:*



Реакція каталізується регуляторним ферментом *фруктозо-1,6-дифосфатазою* (*Фр-1,6-дифосфатазою*), що міститься в печінці (головним чином), а також у нирках і епітеліюцитах кишечника.

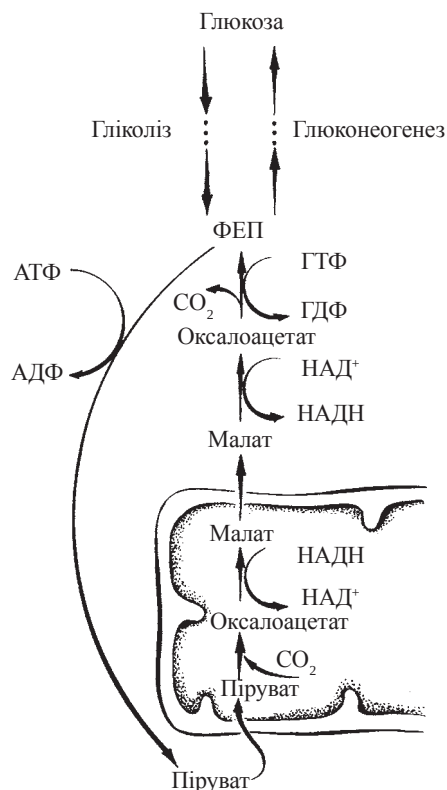
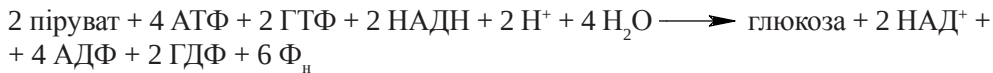


Рис. 12.5. Схема малатного шунта.

витрати 2 молекул АТФ та 2 молекул НАДН для зворотного перетворення 2 молекул 3-фосфогліцеринової кислоти на 2 молекули 3-фосфогліцеринового альдегіду) має вигляд:



Наведене рівняння доводить, що глюконеогенез є суттєво ендергонічним метаболічним шляхом: синтез однієї молекули глюкози з двох молекул пірувату потребує витрат *шести макроергічних зв'язків*; тому глюконеогенез, як і гліколіз, є незворотним біохімічним процесом.

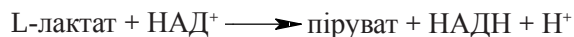
Загальну схему глюконеогенезу подано на рис. 12.6. Суцільними стрілками позначені реакції глюконеогенезу, перервними — реакції гліколізу та ЦТК. На схемі зазначені також місця входження в глюконеогенез основних глікогенних амінокислот (див. нижче).

Субстрати глюконеогенезу

Основними попередниками (субстратами) глюконеогенезу є піруват (лактат) та амінокислоти (переважно аланін), що утворюються, головним чином, у функціонуючих скелетних м'язах, еритроцитах та клітинах деяких інших тканин.

1. Утворення пірувату з лактату в печінці

Лактат, утворений з пірувату в анаеробному гліколізі, є кінцевим продуктом метаболізму; його включення в обмін речовин (окислення або використання в синтезі глюкози — глюконеогенезі) можливе лише через реокислення до пірувату в лактатдегідрогеназній реакції:



Реакція каталізується розглянутою вище (глава 11) *лактатдегідрогеназою* і є протилежною за напрямком відносно лактатдегідрогеназної реакції, яка утворює лактат із пірувату в умовах анаеробного гліколізу.

Напрямок ЛДГ-азної реакції в бік утворення пірувату наявний саме в *глюконеогенних тканинах* (печінка, нирки), де його спрямованість визначається відповідними відношеннями НАД⁺/НАДН, піруват/лактат, присутністю певного ізоферменту ЛДГ. При цьому джерелом лактату для печінкового глюконеогенезу є лактат, який надходить через плазму крові з місць його утворення — переважно скелетних м'язів.

Глюкозо-лактатний цикл

Таким чином, формується циклічний процес (глюкозо-лактатний цикл, або *цикл Корі*), що пов'язує процеси утворення лактату в клітинах м'язової тканини в ході анаеробного гліколізу, його вихід у кров через плазматичні мембрани м'язових клітин і використання лактату (після окислення в піруват) в гепатоцитах для глюконеогенезу (рис. 12.7). Частина пірувату (не зазначена на схемі) окислюється в піруватдегідрогеназній реакції до ацетил-КоА.

У скелетних м'язах ЛДГ-азна реакція перебігає переважно в бік утворення з пірувату лактату (глава 11). За рахунок відновлення пірувату в лактат та

подальшого його використання для глюконеогенезу в печінці (цикл Корі), скелетні м'язи не тільки втрачають “зайву” молочну кислоту, що утворюється в особливо значних кількостях при інтенсивній фізичній праці, а й підтримують високе співвідношення НАД⁺/НАДН, необхідне для активного функціонування гліколізу (використання НАД⁺ у процесі гліколітичної оксидоредукції).



Рис. 12.7. Глюкозо-лактатний цикл (цикл Корі).

2. Глюкогенні амінокислоти

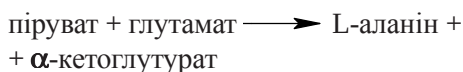
Безпосередніми попередниками глюкози при її синтезі (та, власне, метаболітами глюконеогенезу) є піруват, оксалоацетат та фосфоенолпіруват. Амінокислоти, які в результаті втрати аміногрупи (в реакціях дезамінування або трансамінування) перетворюються в зазначені безазотисті сполуки, можуть, таким чином, розглядатися як субстрати глюконеогенезу; такі амінокислоти отримали назву *глюкогенних амінокислот* (амінокислоти, вуглеводнева частина яких перетворюється в ацетоацетат або ацетил-КоА, з яких синтез глюкози за рахунок глюконеогенезу неможливий — *кетогенні амінокислоти*).

Окремі глюкогенні амінокислоти та ділянки їх включення в метаболічний шлях глюконеогенезу зазначені на рис. 12.6.

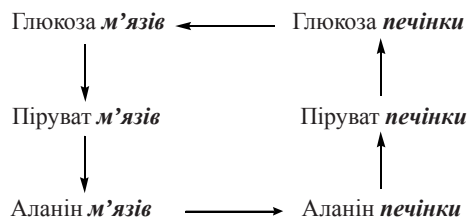
Глюконеогенез за участю амінокислот найбільш активний за умов повного голодування, коли підтримання рівня енергетичних процесів в організмі, зокрема нормальної концентрації глюкози крові та головного мозку, здійснюється за рахунок катаболізму власних тканинних білків.

Глюкозо-аланіновий цикл

Важливим субстратом глюконеогенезу в печінці є аланін, який може утворюватися в скелетних м'язах у зворотній реакції трансамінування пірувату з глутаматом:



Вивільняючись із працюючих м'язів у кров, аланін поглинається гепатоцитами і (після перетворення в піруват) використовується в глюконеогенезі (глюкозо-аланіновий цикл):



Регуляція гліюконеогенезу

Контроль швидкості процесів гліюконеогенезу забезпечується за рахунок метаболітної (алостеричної) регуляції, гормональної регуляції активності та синтезу певних гліюконеогенних ферментів.

1. Метаболітна регуляція гліюконеогенезу — реалізується на рівні таких регуляторних ферментів:

піруваткарбоксилази — ферменту, позитивним модулятором якого є ацетил-КоА; за відсутності ацетил-КоА піруваткарбоксилаза є практично неактивною;

фруктозо-1,6-дифосфатази — ферменту, активність якого залежить від співвідношення між концентраціями позитивного модулятора АТФ та негативного модулятора АМФ, який є інгібітором активності фруктозо-1,6-дифосфатази.

Таким чином, через регуляцію рівнів каталітичної активності зазначених алостеричних ферментів контролюється швидкість усього синтезу гліюкози, залежно від загальної метаболічної ситуації в клітині:

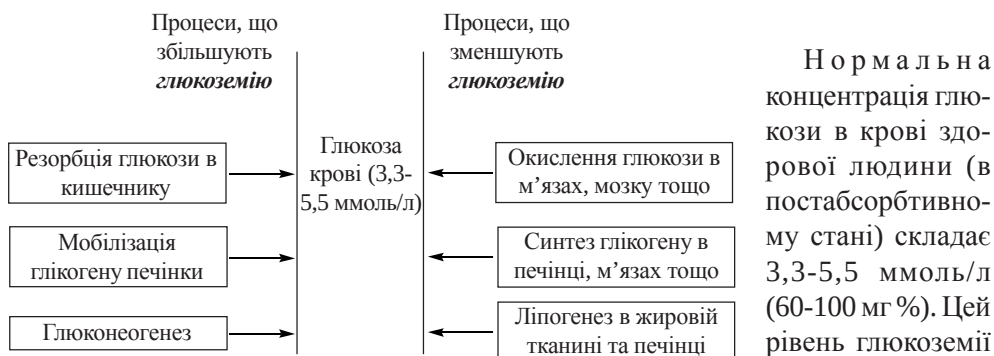
— гліюконеогенез активується в умовах зменшення внутрішньоклітинної концентрації гліюкози, про що свідчить накопичення ацетил-КоА (продукту аеробного гліюколізу), та за умов достатнього забезпечення джерелом хімічної енергії (у формі АТФ);

— гліюконеогенез гальмується при зменшенні концентрації ацетил-КоА (що відображує зменшення швидкості розщеплення гліюкози) та за умов недостатнього енергетичного забезпечення процесу (збільшення співвідношення АМФ/АТФ).

2. Гормональна регуляція гліюконеогенезу — здійснюється за участю гліюкагону, адреналіну (епінефрину), гліюкортикоїдних гормонів кори надниркових залоз та інсуліну.

2.1. Гліюкагон, адреналін та гліюкортикоїди підвищують швидкості синтезу в гепатоцитах шунтових ферментів гліюконеогенезу — *ФЕП-кінази*, *Фр-1,6-дифосфатази*, *Г-6-Ф-ази*.

2.1. Інсулін пригнічує синтез зазначених гліюконеогенних ферментів, що гальмує активність процесу гліюконеогенезу.

12.4. РЕГУЛЯЦІЯ ОБМІНУ ГЛЮКОЗИ. ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

є життєво необхідним для нормального енергетичного обміну головного мозку і підтримується за рахунок динамічної рівноваги між фізіологічними та біохімічними процесами, що поставляють глюкозу в кров, та відповідними процесами, що зменшують її кількість у плазмі крові за рахунок надходження у клітини внутрішніх органів.

Зміни концентрації глюкози в плазмі крові призводять до зсувів у біосинтезі та секреції в кров гормонів, які мають найбільше значення для регуляції процесів ферментативного контролю метаболізму глюкози, головним чином глюкагону, інсуліну, глюкортикоїдів та соматотропіну.

Глюкагон. Інсулін

Співвідношення глюкагон/інсулін має найбільше значення для регуляції взаємовідношення між активностями процесів гліюконеогенезу та гліколізу.

1. Зменшення рівня глюкоземії (*гіпоглюкоземія, гіпоглікемія*), що настає через декілька годин після останнього споживання їжі, супроводжується підвищенням рівня секреції α -клітинами острівкової частини підшлункової залози гормону *глюкагону*, який стимулює процеси гліюконеогенезу за розглянутими вище механізмами. За рахунок активації каскадної аденілатциклазної системи в мембранах гепатоцитів глюкагон стимулює фосфороліз глікогену, що також робить свій внесок у збільшення рівня вільної глюкози.

2. Збільшення рівня глюкоземії (*гіперглюкоземія, гіперглікемія*) стимулює секрецію β -клітинами підшлункової залози гормону *інсуліну*, який підвищує ступінь проникності плазматичних мембран багатьох клітин для глюкози (окрім головного мозку), сприяючи їх внутрішньоклітинному метаболізму. Інсулін зменшує швидкість синтезу ферментів гліюконеогенезу в печінці та, навпаки, стимулює синтез ключових регуляторних ферментів гліколізу — гексокінази, фосфофруктокінази, піруваткінази, переводячи, таким чином, обмін глюкози з гліюкогенного на гліколітичний шлях. Крім того, інсулін стимулює синтез у печінці та м'язах глікогену, що також є метаболічним процесом, спрямованим на зменшення концентрації вільної глюкози.

Адреналін — гормон мозкової частини надниркових залоз, збільшення секреції якого призводить до підвищення вмісту глюкози в крові за рахунок стимуляції фосфоролізу глікогену (детально – див. главу 13) в м'язах та частково в печінці, що, через Г-6-Ф-азну реакцію, супроводжується *гіперглюкоземією*.

Глюкокортикоїди, основним представником яких є *кортизол*, стимулюють гліюконеогенез (і, відповідно, підвищують рівень глюкоземії при тривалому введенні в організм) за рахунок стимуляції синтезу в печінці ферментів гліюконеогенезу — головним чином ФЕП-кінази, та ферментів, що перетворюють у субстрати гліюконеогенезу деякі гліюкогенні амінокислоти (серин, тирозин, триптофан).

Соматотропін — гормон аденогіпофіза, що, подібно до інсуліну, збільшує проникність плазматичних мембран клітин м'язової та жирової тканини для глюкози, але, на відміну від інсуліну, — активує гліюконеогенез в печінці.

Цукровий діабет

Цукровий діабет — ендокринна хвороба, що характеризується генетично детермінованим абсолютним або відносним дефіцитом гормону підшлункової залози *інсуліну*. В основі розвитку цукрового діабету лежить зниження продукції інсуліну в β -клітинах острівкового (інсулярного) апарату підшлункової залози або нездатність відповідних клітинних рецепторів реагувати на інсулін.

Відповідно до зазначеного розрізняють:

– *інсулінозалежний цукровий діабет (ІЗЦД)*, який розвивається внаслідок руйнування значної кількості (звичайно більше 90 %) секретуючих інсулін β -клітин. Причиною деструкції β -клітин є генетично зумовлений автоімунний процес. ІЗЦД складає 10-15 % всіх випадків цукрового діабету і проявляється гіперглікемією та схильністю до кетонемії та кетоацидозу. Ця форма цукрового діабету розвивається звичайно в ранньому віці (до 30 років), найчастіше у дітей та підлітків;

– *інсулінонезалежний цукровий діабет (ІНЗЦД)* — форма цукрового діабету, за якого у більшості хворих зберігаються β -клітини в інсулярній частині підшлункової залози, але порушені специфічні реакції клітин на дію інсуліну або регуляція його секреції під впливом збільшеної концентрації глюкози крові. ІНЗЦД розвивається звичайно у дорослих (старше 30 років) та осіб похилого віку і проявляється гіперглікемією та ожирінням.

Найбільш характерним клініко-біохімічним проявом цукрового діабету є збільшення (порівняно з нормою) рівня глюкози в крові в умовах натщесерце або після прийому їжі, який перевищує значення, характерні для фізіологічної, *аліментарної гіперглюкоземії*, досягаючи значень 500 мг % та більше. При легких формах захворювання *гіперглюкоземія* не спостерігається в постабсорбтивному стані і виявляється лише за умов визначення толерантності організму до глюкози, яке здійснюється шляхом “цукрового навантаження”.

Стандартним методом виявлення цукрового діабету є “оральний глюкозотолерантний тест”, що здійснюється шляхом надання пацієнту (після 10-14-годинного голодування) розчину, що містить 75 г глюкози; контрольні визначення глюкози крові проводять протягом 2 год з 15-хвилинним інтервалом (таблиця 12.1).

Таблиця 12.1. **Діагностичні критерії цукрового діабету у дорослих людей, запропоновані Національною діабетологічною групою США (за R.Berkow (Ed.): The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 1992)**

Показник	Глюкоза крові, мг%	
	здорові особи	цукровий діабет
ГПН ¹	нижче 115	не нижче 140
ОГТТ ²	нижче 140	не нижче 200

1 — глюкоза плазми натщесерце;

2 — оральний глюкозотолерантний тест (через 2 год).

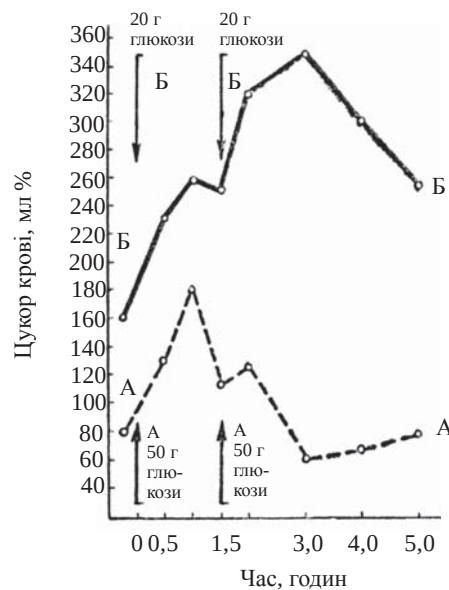


Рис. 12.8. “Цукрові криві” після подвійного навантаження глюкозою. А — здорова особа; Б — пацієнт із цукровим діабетом.

Крім зазначеного методу з одноразовим введенням пацієнту глюкози, використовують також “подвійні цукрові навантаження” (*проба Штауба-Трауготта*) (рис. 12.8).

У разі зростання рівнів глюкоземії більше 180 мг % (“нирковий поріг” для глюкози), остання починається виводитися із сечею — *глюкозурія*. Важкі форми некомпенсованого цукрового діабету супроводжуються значними зрушеннями ліпідного обміну — *кетонемією* та *кетонурією* (глава 16, п.16.4), а також підвищеним катаболізмом білків і амінокислот із розвитком *азотемії* та *азотурії*.

ГЛАВА 13. МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ

III. ОБМІН ГЛІКОГЕНУ ТА ГЛІКОКОН'ЮГАТИВ

Глікоген — тваринний гомополісахарид, що міститься в цитозолі клітин у вигляді мікроскопічних гранул і являє собою депо лабільного метаболічного палива. Глікоген є резервною формою глюкози, збереження надлишків якої у вигляді молекул мономерів неможливе у зв'язку з її високою осмотичною активністю. Основними органами, в яких депонується найбільша кількість глікогену, є печінка та скелетні м'язи, які можуть забезпечувати власні енергетичні потреби та рівень глікемії (печінка) в перервах між споживанням їжі.

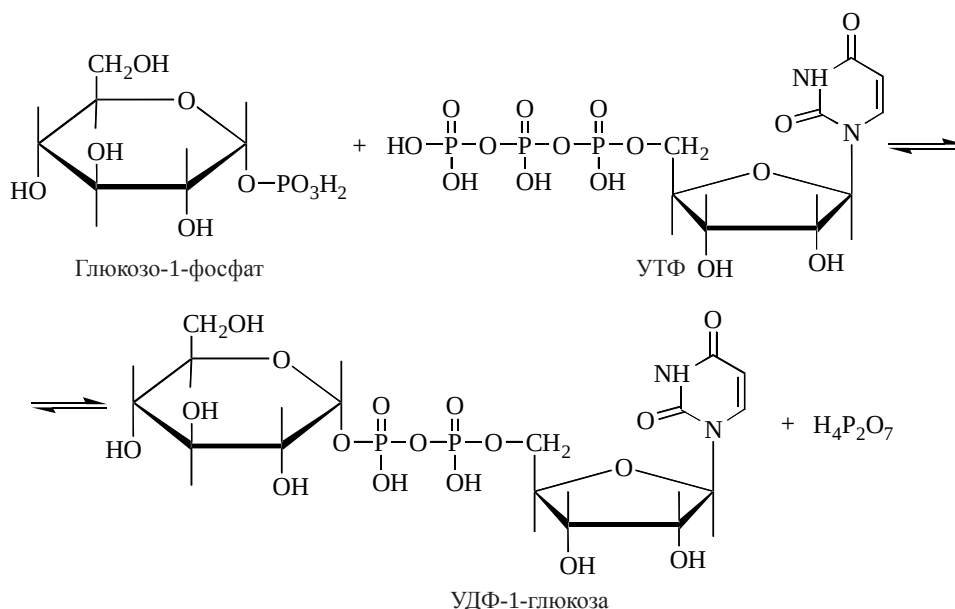
Глікокон'югати — складні молекули, що містять оліго- або полісахаридні ланцюги, сполучені з пептидним або ліпідним фрагментом. Нормальний біосинтез та розщеплення вуглеводної частини глікокон'югатів є важливою передумовою реалізації біологічних функцій протеогліканів, глікопротеїнів та гліколіпідів.

13.1. БІОСИНТЕЗ ТА РОЗЩЕПЛЕННЯ ГЛІКОГЕНУ

Реакції метаболізму молекул глікогену каталізуються ферментами, що структурно зв'язані з цитозольними гранулами полісахариду і забезпечують контроль швидкості його синтезу або мобілізації, залежно від рівня глікемії (глюкоземії) та стану регуляторних систем організму.

Ферментативні реакції синтезу глікогену (глікогенезу)

1. Утворення нуклеотидцукру-попередника.



Усі біохімічні реакції утворення складних вуглеводів — оліго- та полісахаридів потребують наявності метаболічно активних форм моносахаридів, у ролі яких виступають сполучені з цукрами нуклеотиди (див. також нижче — синтез глікопротеїнів та протеогліканів).

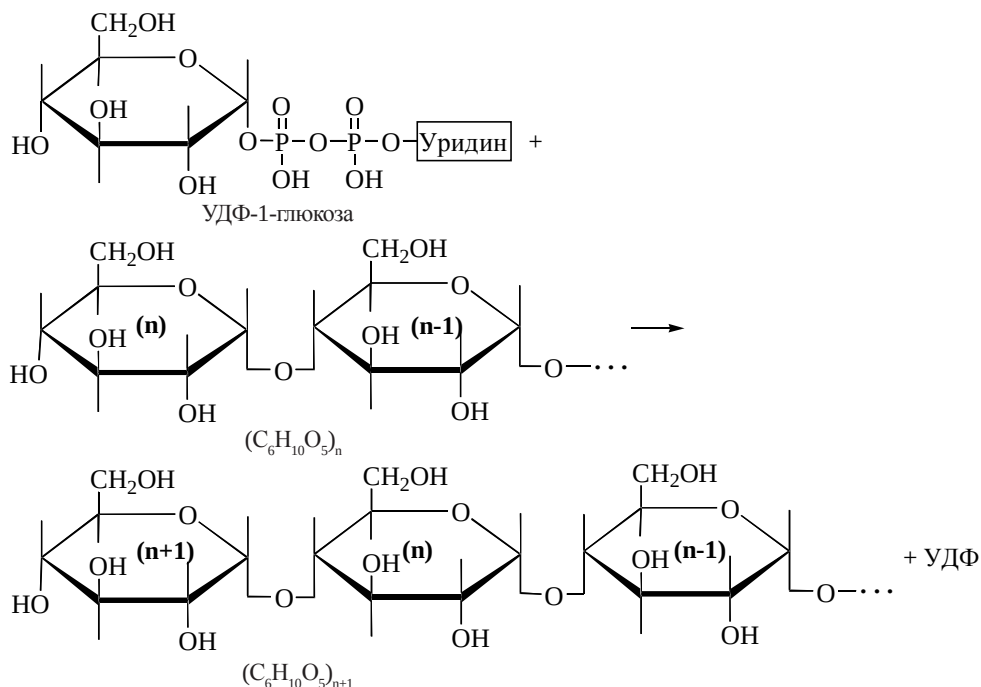
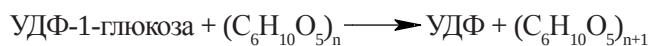
Метаболічно активною формою глюкози, що використовується у формуванні нерозгалужених гомополісахаридних ланцюгів глікогену, є УДФ-1-глюкоза, яка утворюється в реакції, наведеній на с.176.

Реакція каталізується ферментом *УДФ-глюкозопірофосфорилазою* і є оберненою, але у фізіологічних умовах її рівновага зсунута праворуч у зв'язку з постійним гідролізом пірофосфату, що утворюється ($\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$), *пірофосфатазою*.

Глюкозо-1-фосфат, який є субстратом реакції, утворюється з глюкозо-6-фосфату (див. главу 11) за рахунок дії *фосфоглюкомутази*.

2. Формування нерозгалужених ланцюгів глікогену.

При синтезі α -1,4-глікозидних (амілозних) ланцюгів глікогену в ролі акцепторів активованих залишків глюкози виступають нерозгалужені полісахаридні ланцюги вже наявних у клітині молекул глікогену (“затравочний” глікоген). Фермент *УДФ-глікогентрансфераза* (*глікогенсинтаза*) переносить молекули моносахариду від УДФ-1-глюкози на С-4-гідроксильні групи термінальних (n -их) залишків глюкози:



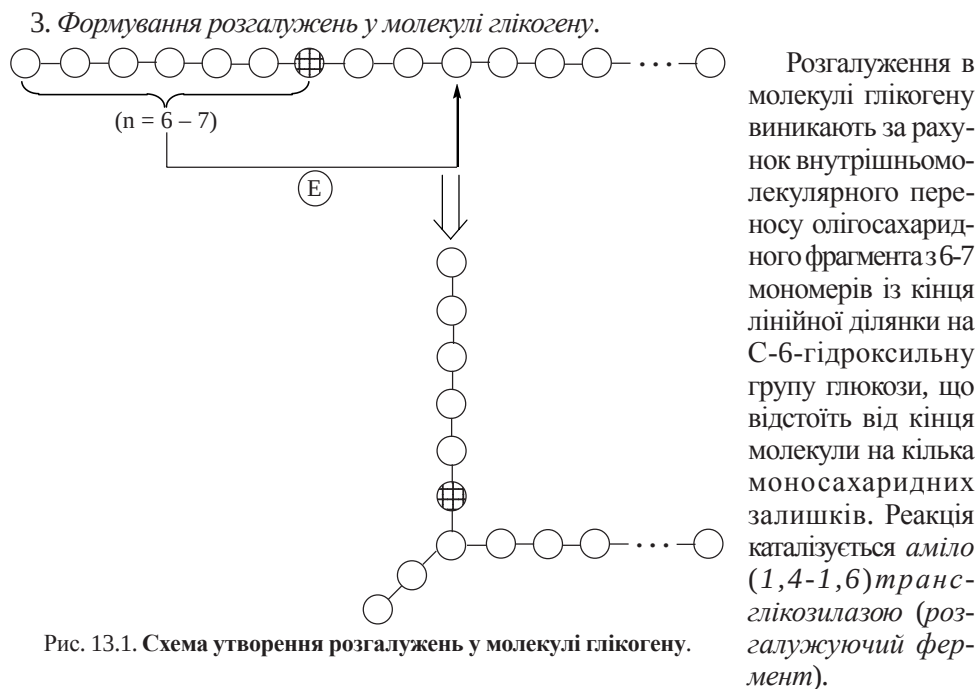
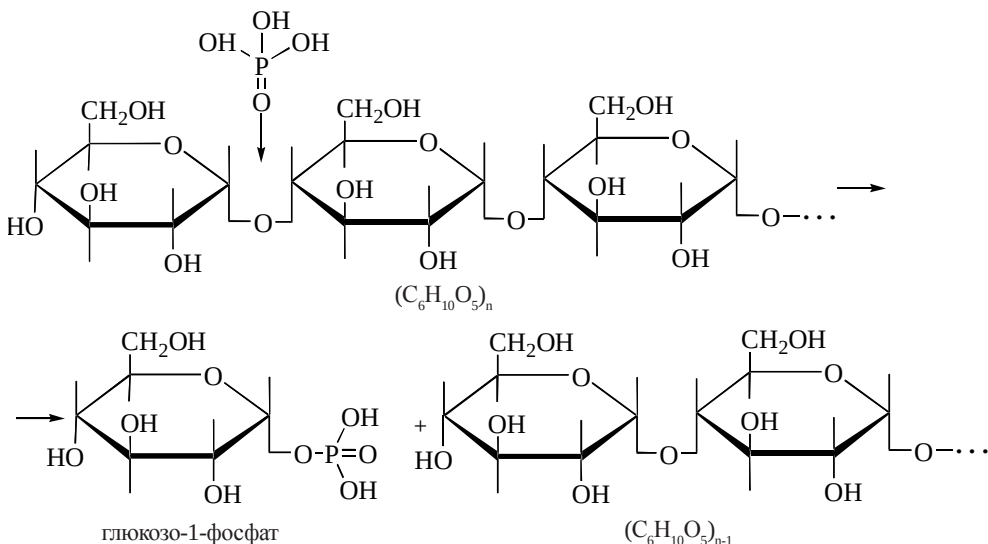


Рис. 13.1. Схема утворення розгалужень у молекулі глікогену.

За механізмом, що розглянутий, синтезуються макромолекули глікогену (м.м. $1 \cdot 10^6$ – $2 \cdot 10^8$), що містять від кількох тисяч до мільйона монозних залишків і формують гранули розміром 40–200 нм.

Ферментативні реакції розщеплення глікогену (глікогенолізу).

1. Процес глікогенолізу реалізується за механізмом *фосфоролітичного розщеплення*, яке полягає у фосфоролізі 1,4-глікозидного зв'язку на нередукуючому кінці молекули глікогену (такому, що містить вільну (С-4)-ОН-групу). В реакції



вивільнюється глюкозо-1-фосфат, а нерозгалужений фрагмент молекули глікогену скорочується на один моносахаридний залишок:



Фермент, що каталізує реакцію, — *глікогенфосфорилаза*.

2. Фосфорилаза відрізає моносахаридні залишки у вигляді глюкозо-1-фосфату від нерозгалужених амілозних ланцюгів глікогену. Розщеплення розгалужених фрагментів відбувається під дією *аміло-1,6-глікозидази* (*дерозгалужуючий фермент*).

Фермент каталізує *глікозилтрансферазну* та *аміло-1,6-глюкозидазну* реакції, а саме:

- переносить олігосахаридні залишки, що складаються із трьох моносахаридів, в кінець нерозгалужених ланцюгів, що експонує залишки глюкози, сполучені з основним ланцюгом $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -глікозидними зв'язками;

- розриває $(1 \rightarrow 6)$ -глікозидні зв'язки гідролітичним шляхом, вивільняючи молекули глюкози.

3. Глюкозо-1-фосфат, що утворюється при фосфоролізі глікогену, під дією *фосфоглюкомутази* перетворюється в глюкозо-6-фосфат.

4. Подальші метаболічні шляхи обміну глюкозо-6-фосфату відмінні в клітинах печінки і м'язів:

- в печінці глюкозо-6-фосфат при дії глюкозо-6-фосфатази перетворюється у вільну глюкозу, яка надходить у кров і використовується в інших органах і тканинах;

- у м'язах, які не містять глюкозо-6-фосфатази, глюкозо-6-фосфат використовується для власних енергетичних потреб, окислюючись аеробним або анаеробним шляхом.

Схему фосфоролізу глікогену в клітинах печінки та м'язів подано на рис. 13.2.

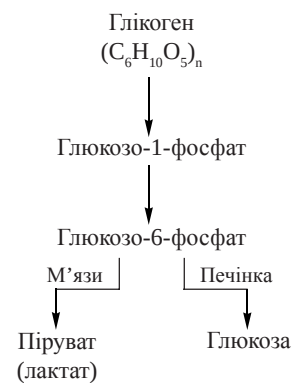


Рис. 13.2. **Метаболічна схема фосфоролізу глікогену в печінці та м'язах.**

13.2. РЕГУЛЯЦІЯ ГЛІКОГЕНОЛІЗУ ТА ГЛІКОГЕНЕЗУ

Глікоген є головною молекулярною формою запасання вуглеводів в організмі людини і тварин, що акумулюється у вигляді внутрішньоклітинних гранул, переважно в печінці та м'язах, під час травлення і витрачається в проміжках між прийомами їжі. Концентрація глікогену в гепатоцитах значно перевищує його концентрацію в клітинах м'язів, але, враховуючи загальну масу скелетних м'язів, в останніх зберігається більша частина тотального глікогену організму.

Кількісні показники вмісту глікогену в органах дорослої людини наведені в таблиці 13.1.

Т а б л и ц я 13.1. Вміст глікогену та глюкози в організмі людини (масою 70 кг, після споживання їжі)

<i>Пул вуглеводів</i>	<i>Концентрація</i>	<i>Загальна кількість</i>
Глікоген печінки ¹	4,0 %	72 г
Глікоген м'язів ²	0,7 %	245 г
Глюкоза екстрацелюлярна ³	0,1 %	10 г
Всього		327 г

¹ — маса печінки — 1,8 кг;² — маса м'язів — 35 кг;³ — загальний об'єм екстрацелюлярної рідини — 10 л.

Завдяки наявності глюкозо-6-фосфатази, мобілізація глікогену печінки призводить до утворення вільної глюкози, що визначає функцію гепатоцитів у підтриманні рівня глікемії в умовах зменшення або відсутності абсорбції глюкози з кишечника. Вичерпання резервів глікогену печінки спостерігається у людини через 12-18 год після прийняття їжі; в цих умовах рівень глюкози в крові, необхідний для нормального функціонування інших тканин, насамперед головного мозку, підтримується за рахунок глюконеогенезу в печінці та нирках.

На відміну від печінки, м'язи використовують глікогеноліз лише для покриття власних енергетичних потреб. Значне зменшення концентрації глікогену м'язів спостерігається лише після тривалої та виснажливої фізичної роботи.

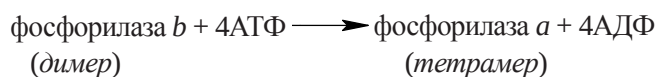
Виходячи із зазначеного, в організмі повинні існувати регуляторні механізми, що контролюють координовані зміни процесів синтезу та розпаду глікогену в умовах змін у режимі харчування, переходу організму від стану спокою до активної діяльності.

Ключову роль у регуляції реакцій глікогенолізу та глікогенезу відіграють ключові ферменти розщеплення та синтезу глікогену глікогенфосфорилаза та глікогенсинтаза. Контроль активностей *глікогенфосфорилази* та *глікогенсинтази* здійснюється шляхом їх ковалентної модифікації (фосфорилування — дефосфорилування) та частково — за механізмом алостеричної регуляції.

Регуляція активності глікогенфосфорилази

Глікогенфосфорилаза печінки та м'язів — це димер, який містить у своєму складі піридоксальфосфат. Фермент може перебувати в активній фосфорильованій формі (*фосфорилаза а*) та неактивній дефосфорильованій формі (*фосфорилаза б*).

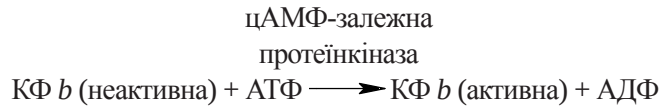
1. Перетворення неактивної *фосфорилази б* в активну *фосфорилазу а* відбувається шляхом фосфорилування серинових залишків у молекулі фосфорилази за рахунок макроергічних зв'язків АТФ:



Дефосфорилування фосфорилази *а* *протеїнфосфатазою* (*фосфатазою*) призводить до утворення неактивної фосфорилази *б*.

2. Фермент, що фосфорилює фосфорилазу *b*, — *кіназа фосфорилази b*. Кіназа фосфорилази *b* також існує в двох молекулярних формах — неактивній та активній, які взаємоперетворюються шляхом фосфорилювання — дефосфорилювання.

Фосфорилювання кінази фосфорилази *b* (КФ *b*) відбувається за участю АТФ під дією *цАМФ-залежної протеїнкінази*:



Дефосфорилювання кінази фосфорилази *b* *фосфатазою* супроводжується зворотним переходом ферменту в неактивну форму.

3. Каталітично активна протеїнкіназа формується за умов її взаємодії з 3',5'-АМФ (цАМФ), утворення якого в аденілатциклазній реакції є пусковою молекулярною подією, що включає *каскадний механізм* регуляції ферментних процесів у клітині (глава 7).

Активация аденілатциклази в гепатоцитах відбувається за умов взаємодії з мембранними рецепторами гормону α -клітин підшлункової залози *глюкагону*. В клітинах м'язів ферментний каскад глікогенолізу включається при взаємодії з β -адренорецепторами мембран міоцитів гормону мозкового шару надниркових залоз *адреналіну* (*епінефрину*).

Схему ферментного каскаду регуляції активності фосфоролізу глікогену подано на рис. 13.3:

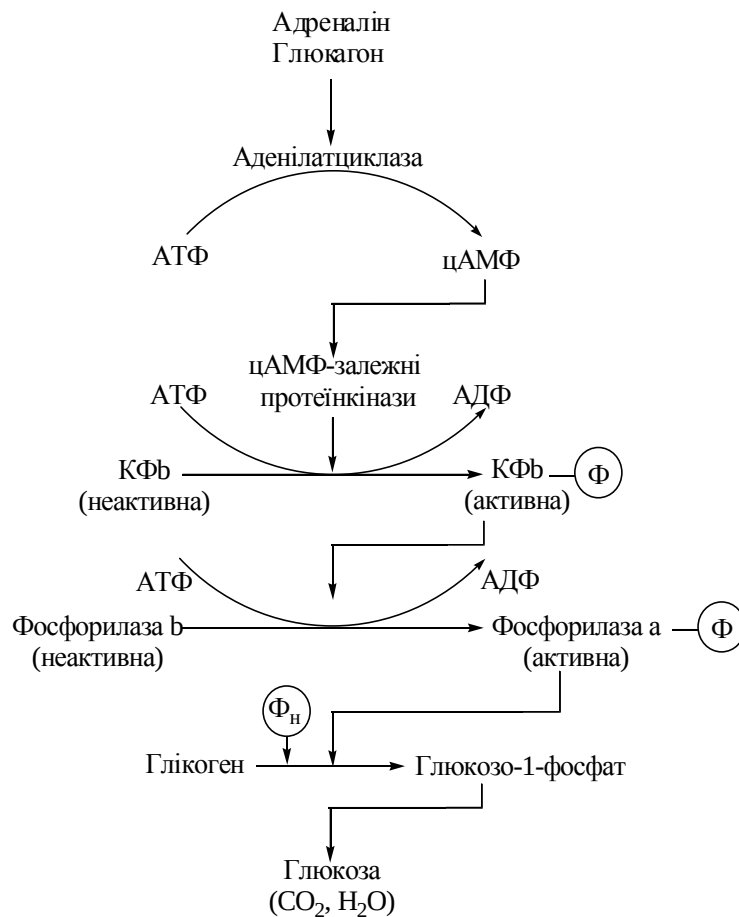


Рис. 13.3. Ферментний каскад фосфоролізу глікогену.

4. У м'язах існують також механізми стимуляції глікогенолізу шляхом алостеричної активації фосфорилази *b* та кінази фосфорилази *b* без фосфорилування цих білків ферментного каскаду:

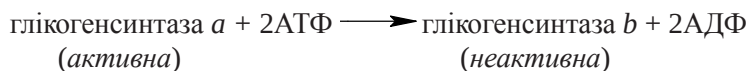
– до складу кінази фосфорилази *b* входить субодиниця, що є Ca^{2+} -зв'язуючим білком, за своїми властивостями ідентичним *кальмодуліну*. Зв'язування цією субодиницею чотирьох іонів кальцію активує каталітичний центр кінази фосфорилази *b*, хоча молекула ферменту залишається в дефосфорильованому стані. Цей процес має фізіологічне значення термінового механізму забезпечення енергією м'язового скорочення, який включається в результаті вивільнення Ca^{2+} з саркоплазматичного ретикулума після надходження нервового імпульсу;

– активація м'язової фосфорилази *b* м'язів може також відбуватися без її фосфорилування. Алостеричним активатором ферменту є АМФ, концентрація якого в м'язах значно зростає в умовах тривалого фізичного навантаження, що призводить до вичерпання резервів АТФ і накопичення АДФ та АМФ. Активована АМФ фосфорилаза *b* здатна забезпечити швидкість глікогенолізу, достатню для виконання м'язової роботи помірної інтенсивності.

Регуляція активності глікогенсинтази

Аналогічно до глікогенфосфорилази, *глікогенсинтаза* може існувати в двох молекулярних формах — фосфорильованій і дефосфорильованій. Але, на відміну від глікогенфосфорилази, каталітично активною є дефосфорильована форма ферменту — *глікогенсинтаза a*, а неактивною — фосфорильована форма — *глікогенсинтаза b*.

Фосфорилування глікоген-синтази здійснюється за сериновими залишками ферменту цАМФ-залежною протеїнкіназою за рахунок макроергічних фосфатів АТФ:



Зворотна реакція — дефосфорилування (активація) глікоген-синтази каталізується відповідною *фосфатазою*.

Із наведеного зрозуміло, що стимуляція каскаду фосфоролізу глікогену адреналіном або глюкагоном, яка супроводжується зростанням концентрації в клітинах цАМФ та активності цАМФ-залежних протеїнкіназ, призводить до фосфорилування глікогенсинтази і її інактивації, тобто до пригнічення реакцій синтезу глікогену.

Таким чином, **глікогенфосфорилаза і глікогенсинтаза регулюються реципрокно: активація глікогенфосфорилази (і фосфоролізу глікогену) відбувається в умовах інактивації глікогенсинтази (і синтезу глікогену)**. Ця реципрокна регуляція метаболізму є яскравим проявом *молекулярної логіки* живих організмів, які включають катаболічні ферментні системи при необхідності забезпечення клітин енергією (м'язова діяльність вимагає розщеплення резервних вуглеводів) і переключають біохімічні реакції на шляхи анаболізму (в даному випадку — синтезу глікогену) в період фізіологічного спокою (рис.13.4).

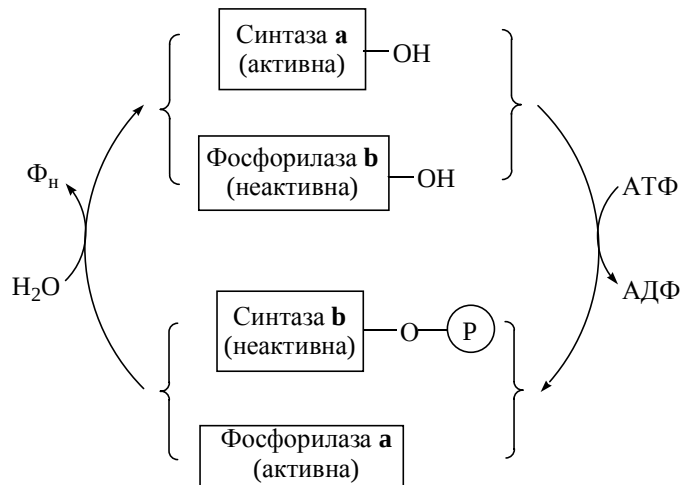


Рис.13.4. Схема реципрокної регуляції активностей глікогенфосфорилази та глікогенсинтази.

Гормональна регуляція метаболізму глікогену

Участь гормонів у регуляції глікогенолізу та глікогенезу в м'язах та печінці може бути підсумована таким чином:

А. У м'язах.

Адреналін — стимулює глікогеноліз та гальмує глікогенез шляхом:

- а) активації глікогенфосфорилази за рахунок її цАМФ-залежного фосфорилування;
- б) інгібування глікогенсинтази за рахунок її цАМФ-залежного фосфорилування.

Інсулін — стимулює глікогенез і гальмує глікогеноліз шляхом:

- а) підвищення проникності мембран м'язових клітин для глюкози, що використовується для синтезу глікогену;
- б) зменшення внутрішньоклітинного рівня цАМФ за рахунок активації її розщеплення фосфодіестеразою.

Б. У печінці.

Глюкагон — стимулює глікогеноліз та гальмує глікогенез за механізмом, аналогічним дії адреналізу в клітинах м'язів.

Інсулін — підвищує активність ферментативних реакцій синтезу глікогену за рахунок біохімічних механізмів, близьких до розглянутих вище.

Таким чином, співвідношення глюкагон/інсулін є важливим фізіологічним механізмом, що контролює глікогенну функцію печінки та рівень глюкози в крові після споживання їжі:

- переважання *інсуліну* сприяє утворенню в організмі резервів вуглеводів у формі глікогену печінки;
- переважання *глюкагону* сприяє мобілізації запасів глікогену печінки в умовах зниження рівня *глюкоземії*, яке спостерігається через кілька годин після споживання їжі.

13.3. ГЕНЕТИЧНІ ПОРУШЕННЯ МЕТАБОЛІЗМУ ГЛІКОГЕНУ

Спадкові порушення реакцій розщеплення або синтезу глікогену проявляються у вигляді ензимопатій — *хвороб накопичення глікогену — глікогенозів та аглікогенозів*.

Глікогенози

Глікогенози — спадкові хвороби, молекулярною основою виникнення яких є уроджена недостатність синтезу певних ферментів глікогенолізу, пов'язана з дефектами в генетичній системі клітин. При глікогенозах у внутрішніх органах та тканинах (здебільшого в печінці, м'язах, клітинах крові) спостерігається накопичення аномально надмірної кількості глікогену, іноді зі зміненою молекулярною структурою, який не може використовуватися у метаболічних процесах — таблиця 13.2.

Таблиця 13.2. Біохімічні характеристики глікогенозів (за R.Berkow (Ed.): The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 1992, із змінами)

Тип	Ферментна система, що порушена	Ушкоджені органи і тканини	Тривіальні (епонімічні) назви
0	Глікогенсинтаза	Печінка, м'язи	—
I	Глюкозо-6-фосфатаза	Печінка, нирки	Хвороба Гірке
II	Лізосомальні глікозидази	Всі органи	Хвороба Помпе
III	Аміло-1,6-глюкозидаза	Печінка, м'язи, міокард, лейкоцити	Хвороба Форбса
IV	Аміло(1,4 → 1,6)трансглікозилаза (розгалужуючий фермент)	Печінка, м'язи, міокард тощо	Хвороба Андерсена
V	Фосфорилаза м'язів	Хребцеві м'язи	Хвороба Мак-Ардля
VI	Фосфорилаза печінки	Печінка	Хвороба Херса
VII	Фосфофруктокіназа	Хребцеві м'язи, еритроцити	Хвороба Таруї

Клінічно глікогенози проявляються важкою гіпоглюкоземією внаслідок нездатності глікогену печінки розщеплюватися з вивільненням молекул глюкози. Глікогенози, при яких ушкоджені ферментні системи мобілізації глікогену печінки, характеризуються збільшенням маси органа, жировою дистрофією гепатоцитів та явищами цирозу. Недостатність ферментних систем глікогенолізу в м'язах супроводжується судомами за умов фізичних навантажень.

Аглікогенози

Аглікогенози — спадкові хвороби накопичення глікогену, молекулярною основою яких є генетичні дефекти, що призводять до порушення утворення ферменту глікогенсинтази.

Внаслідок недостатності глікогенсинтази гепатоцити не здатні утворювати резерви глікогену, концентрація якого всередині клітин значно зменшена. Внаслідок відсутності глікогенових резервів хворі при аглікогенозах, як і при глікогенозах, страждають від глибокої гіпоглюкоземії, особливо натщесерце, після значної перерви з часу надходження харчової глюкози. Гіпоглюкоземія при аглікогенозах може супроводжуватися важкою комою внаслідок енергетичного голодування головного мозку. Такі хворі звичайно вмирають у ранньому дитячому віці.

13.4. МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДНИХ КОМПОНЕНТІВ ГЛІКОКОН'ЮГАТІВ

Глікозилювання неуглеводних молекул є важливим класом біохімічних реакцій, що призводять до утворення гібридних молекул *глікокон'югатів*. У результаті реакцій глікозилювання олігосахаридні та полісахаридні ланцюги приєднуються ковалентними зв'язками до поліпептидів або ліпідів, утворюючи фізіологічно важливі глікопротеїни, гліколіпіди та протеоглікани.

Біосинтез глікокон'югатів

Процеси глікозилювання білків і ліпідів відбуваються в ендоплазматичному ретикулумі та апараті Гольджі і каталізуються специфічними *глікозилтрансферазами*. Біохімічні реакції синтезу олігосахаридних фрагментів глікопротеїнів, гліколіпідів та гетерополісахаридних фрагментів протеогліканів (глікозамінгліканів) в цілому співпадають і будуть розглянуті на прикладі більш детального вивченого процесу утворення вуглеводних компонентів глікопротеїнів. Проте існують суттєві відмінності в молекулярних механізмах біосинтезу О- та N-зв'язаних глікопротеїнів.

1. Синтез О-зв'язаних глікопротеїнів

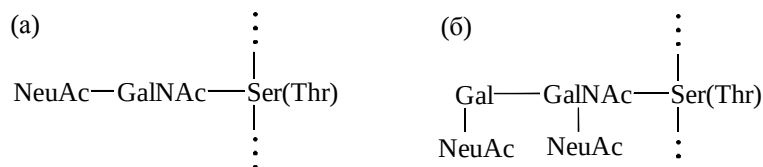
Олігосахаридні ланцюги глікопротеїнів О-глікозидного типу конструюються шляхом ступеневого приєднання моносахаридних залишків до ОН-груп серину або треоніну поліпептидної частини молекули. Донорами вуглеводних залишків у цих реакціях є нуклеотидцукри, зокрема УДФ-*N*-ацетилгалактозамін (UDP-GalNAc), УДФ-галактоза (UDP-Gal) та ЦМФ-*N*-ацетилнейрамінова (сіалова) кислота (CMP-NeuAc).

Ферменти, що каталізують перенос моносахаридного залишку від нуклеотидцукрів на ОН-Ser(Thr), — мембранозв'язані *глікопротеїн-глікозилтрансферази*.

Першим цукром в олігосахаридному ланцюзі глікопротеїну, що приєднується безпосередньо до ОН-групи серину (треоніну) поліпептидного компонента є, як правило, *N*-ацетилгалактозамін (GalNAc), **другим** — галактоза (Gal) або *N*-ацетилнейрамінова кислота (NeuAc):



Така послідовність реакцій глікозилювання призводять до утворення біомолекул, прикладами яких є О-зв'язані полісахариди глікопротеїнів слини (муцинів) (а) та сіалоглікопротеїнів еритроцитарних мембран людини (б):



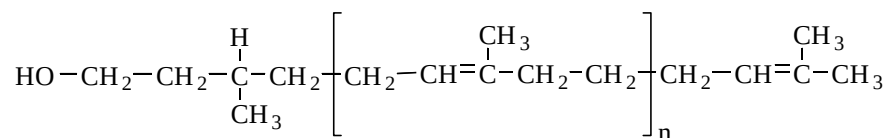
Початок процесу глікозилювання, тобто приєднання перших моносахаридних залишків до пептидного ланцюга, відбувається в ендоплазматичному ретикулумі,

тобто під час синтезу поліпептиду (трансляції), приєднання термінальних моносахаридів — в комплексі Гольджі.

2. Синтез N-зв'язаних глікопротеїнів

Особливістю синтезу N-зв'язаних глікопротеїнів є участь високомолекулярного спирту ізопреноїдної природи — *доліхолфосфату*, який виступає в ролі проміжного переносника олігосахаридних фрагментів.

За хімічною будовою доліхол є високомолекулярним спиртом, що, подібно до каучука, має найбільшу довжину з природних вуглеводнів. Гідрофобна основа доліхолу занурена в товщу ліпідного біслою біомембран, а ОН-група, що взаємодіє з водною фазою, здатна акцептувати моносахаридні фрагменти при послідовній дії специфічних глікозилтрансфераз.



Будова молекули доліхолу. $n = (17 - 20)$ — кількість ізопреноїдних залишків.

Включенню доліхолу (Dol) в реакції глікозилювання передують його фосфорильовання за участю ферменту *доліхолкінази* та АТФ як донору фосфату:

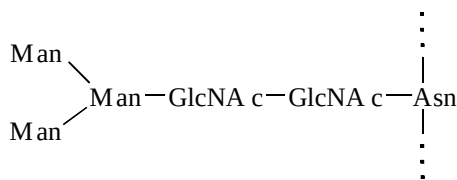


Фосфорильований доліхол взаємодіє з активованою молекулою N-ацетилглюкозаміну у формі UDP-GlcNAc в реакції, яка становить перший етап глікозилювання доліхолу:



За рахунок послідовної дії специфічних глікозилтрансфераз та за участю відповідних нуклеотидцукрів відбувається формування *олігосахарид-пірофосфорилдоліхолу* — молекулярної структури, що є донором олігосахаридних фрагментів у процесі N-глікозилювання глікопротеїнів. У подальшому олігосахариди, сполучені з молекулами доліхол-пірофосфату, в цілому вигляді переносяться на амідні групи одного або декількох залишків аспарагіну акцепторного білка. Реакція каталізується мембранозв'язаною *олігосахарид-трансферазою* і відбувається в ендоплазматичному ретикулумі та апараті Гольджі.

N-зв'язані глікопротеїни, що утворилися в результаті розглянутої послідовності реакцій, мають спільне для всіх глікопротеїнів пентасахаридне ядро $(\text{Man})_3(\text{GlcNAc})_2$, сполучене з NH-групою аспарагіну:



Пентасахаридне ядро, спільне для молекул N-зв'язаних глікопротеїнів.

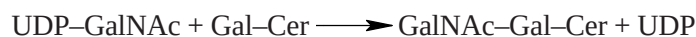
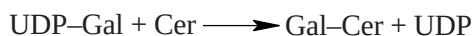
Із зазначеним пентасахаридом зв'язані різні за будовою зовнішні олігосахаридні ланцюги. Ці зовнішні розгалужені олігосахаридні фрагменти, залежно від складу моносахаридних залишків та будови ланцюгів, поділяються на *складні*, *гібридні* та *збагачені манозою* олігосахариди.

Глікопротеїни, що утворилися в результаті процесів О- та N-глікозилування, залишаються зв'язаними з мембранними структурами у вигляді інтегральних білків мембран або секретуються в екстрацелюлярний простір.

3. Синтез гліколіпідів

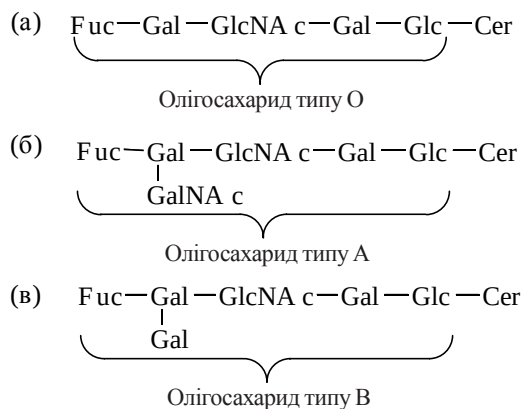
Гліколіпіди — важливі структурні компоненти біомембран, що визначають, разом із мембранними глікопротеїнами, антигенні властивості клітин.

Подібно до утворення глікопротеїнів, формування гліколіпідів, зокрема *гліко-сфінголіпідів*, відбувається за механізмом послідовного нарощування олігосахаридів за участю специфічних *глікозилтрансфераз*. Донорами моносахаридів та їх похідних є нуклеотидцукри, що переносять залишки цукрів на молекулярну основу, якою виступає *церамід* (ацилсфінгозин). Процес відбувається за схемою:



За розглянутим механізмом відбувається синтез гліколіпідів мембран еритроцитів, що складають антигенні детермінанти *груп крові* людини за системою АВО. Генетично детерміновані відмінності в групах крові визначаються особливостями молекулярної будови олігосахаридних компонентів мембранних гліколіпідів та глікопротеїнів, зокрема інтегрального білка мембран еритроцитів — *глікофорину*.

В осіб із групою крові О функціонує ген (H), експресія якого супроводжується наявністю в мембранах еритроцитів гліколіпиду, що містить у своєму складі базовий олігосахарид із термінальною фукозою — олігосахарид типу О, або так званий антиген Н. Особини з групами крові А та В мають алельні гени (I^A та I^B , відповідно), що відповідають за синтез глікозилтрансфераз, які здатні модифікувати базовий олігосахарид О, приєднуючи до нього залишки N-ацетилгалактозаміну (тип А) або галактози (тип В).



Олігосахаридні залишки, що присутні в гліколіпідах еритроцитів людей з групами крові О, А, В та АВ.

Гетерозиготні особини, в еритроцитах яких експресовані обидва типи олігосахаридів (А та В) мають групу крові АВ. Відомо більше 30 різних груп крові, що розрізняються антигенними детермінантами еритроцитів, тобто будовою мембранних гліколіпідів та глікопротеїнів.

Катаболізм глікокон'югатів

Розщеплення гетерополісахаридних фрагментів глікокон'югатів — протеогліканів, глікопротеїнів і гліколіпідів реалізується за участю *глікозидаз*, що локалізовані в лізосомах, та специфічні до різних типів глікозидних зв'язків.

Найбільш вивченими є лізосомальні ферменти, які беруть участь у деградації вуглеводних компонентів протеогліканів (глікозамінгліканів) та гліколіпідів. Уроджені порушення розщеплення цих сполук (ензимопатії) проявляються *глікозидозами*, за яких відбувається внутрішньоклітинне накопичення певних форм гетерополісахаридів.

Деградація гетерополісахаридних структур протеогліканів каталізується ферментами, які за своєю субстратною специфічністю поділяються на *ендоглікозидази*, *екзоглікозидази*, *сульфатази*. До глікозидаз, що беруть участь у катаболізмі глікозамінгліканів, належать:

Гіалуронідаза — широко розповсюджена в тканинах ендоглікозидаза, що діє на гіалуронову кислоту та хондроїтинсульфати, розщеплюючи їх до тетрасахаридних фрагментів.

β -Глюкуронідаза — екзоглікозидаза, що відщеплює глюкуронову та ідуонову кислоту від тетрасахаридів (див. вище) та таких гетерополісахаридів, як дерматансульфати, гепарансульфати, хондроїтинсульфати, гіалуронова кислота. При спадковій недостатності ферменту у хворих спостерігається виділення глікозамінгліканів із сечею.

β -Галактозидази — множинні ферменти, що розщеплюють внутрішні **β -галактозидні** зв'язки в олігосахаридних залишках протеогліканів, глікопротеїнів та гліколіпідів.

β -D-Ацетилгексозамінідаза — екзоглікозидаза, що відщеплює від вуглеводних компонентів глікокон'югатів термінальні N-ацетилгексозаміни GlcNAc та GalNAc. Спадкова недостатність ферменту спостерігається при таких гліколіпідозах, як хвороби Тея-Сакса та Зандхоффа.

α -L-Ідуронідаза — екзоглікозидаза, що відщеплює від полісахаридних ланцюгів термінальні залишки L-ідуранової кислоти. Відомо декілька форм спадкових порушень, пов'язаних із недостатністю цього ферменту.

Існує декілька лізосомальних сульфатаз, що відщеплюють сульфатні залишки від різних мономерних одиниць у складі глікозамінгліканів, зокрема *арилсульфатаза А*, *арилсульфатаза В* та *арилсульфатаза С*. Недостатність сульфатаз проявляється декількома формами глікозидозів.

**13.5. ГЛІКОЗИДОЗИ. ГЕНЕТИЧНІ ПОРУШЕННЯ
МЕТАБОЛІЗМУ ГЛІКОЗАМІНГЛІКАНІВ**

Глікозидози — генетичні порушення метаболізму гетерополісахаридів, що є структурними компонентами протеогліканів та гліколіпідів. Глікозидози, які

пов'язані із спадковою недостатністю ферментів розщеплення вуглеводних компонентів протеогліканів, мають назву *мукополісахаридозів*, гліколіпідів — *гліколіпідозів* (або *муколіпідозів* і *сфінголіпідозів*).

Глікозидози і, зокрема, мукополісахаридози, є тяжкими захворюваннями, які проявляються глибокими порушеннями з боку сполучної тканини багатьох внутрішніх органів, зокрема, помутнінням рогівки, патологією кісток та суглобів, затримкою розвитку дитини та скороченням тривалості життя. Діагностичне значення має надмірна екскреція певних глікозамінгліканів із сечею.

Біохімічні характеристики найбільш розповсюджених мукополісахаридозів (МПС) людини, тобто спадкових порушень катаболізму глікозамінгліканів, подані в таблиці 13.3.

Т а б л и ц я 13.3. Біохімічні характеристики мукополісахаридозів (за R.Berkow (Ed.): The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 1992, із змінами)

Форма МПС	Назва хвороби	Недостатність ферменту	Глікозамінглікани сечі
МПС I*	Синдром Гурлера Синдром Шейє Синдром Гурлера-Шейє	α -L-Идуронідаза	Дерматансульфати, гепарансульфати
МПС II	Синдром Гунтера	Идураносульфатсульфатаза	Дерматансульфати, гепарансульфати
МПС III	Синдром Санфіліппо	Гепараносульфатсульфатаза	Гепарансульфати
МПС IV	Синдром Моркіо IVA Синдром Моркіо типу A IVB Синдром Моркіо типу B	N-Ацетилгексозамін-6- сульфатсульфатаза β -Галактозидаза	Кератансульфати Кератансульфати
МПС VI	Синдром Марото-Ламі	Арилсульфатаза B	Дерматансульфати
МПС VII	Дефіцит β -глюкуронідази	β -Глюкуронідаза	Дерматансульфати

Примітка: * існують форми IH, IS, IH/S.

Катаболізм гліколіпідів та молекулярні механізми виникнення гліколіпідозів будуть розглянуті в главі 15.

ГЛАВА 14. МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ

I. КАТАБОЛІЗМ ТРИАЦИЛГЛІЦЕРОЛІВ ТА ЖИРНИХ КИСЛОТ

Ліпіди — нейтральні жири (триацилгліцероли), складні ліпіди (гліцерофосфоліпіди, сфінгофосфоліпіди, гліколіпіди) та стероїди потрапляють до організму людини з їжею і синтезуються внутрішньоклітинно, виконуючи енергетичні, структурні та регуляторні функції.

14.1. ШЛЯХИ МЕТАБОЛІЗМУ ЛІПІДІВ

Після перетворення в травному каналі та всмоктування ентероцитами кишечника ліпіди та продукти їх гідролізу транспортуються кров'ю до різних органів і тканин, де депонуються, утворюючи жирові резерви, які використовуються відповідно до фізіологічних потреб організму.

Внутрішньоклітинний метаболізм ліпідів — сукупність біохімічних ферментативних реакцій катаболізму й анаболізму різних класів ліпідів, що надходять в організм людини як компоненти харчових продуктів та синтезуються в ньому, виконуючи важливі енергетичні функції, виступаючи структурними компонентами клітин і біологічно активними сполуками.

Основні шляхи внутрішньоклітинного метаболізму ліпідів:

- гідроліз нейтральних жирів до жирних кислот та гліцеролу (ліполіз);
- окислення та біосинтез жирних кислот;
- біосинтез триацилгліцеролів та складних ліпідів;
- біосинтез холестерину та його перетворення в біологічно активні стероїди.

Найбільшу енергетичну роль в організмі людини та тварин відіграють нейтральні жири — **триацилгліцероли** (тригліцериди) — складні ефіри гліцеролу та вищих карбонових (жирних) кислот, що є, разом з вуглеводами, головними джерелами АТФ, необхідної для всіх ендергонічних функцій клітин та цілісного організму. Різні класи складних ліпідів та похідні стеринів виконують численні структурні та регуляторні функції.

14.2. КАТАБОЛІЗМ ТРИАЦИЛГЛІЦЕРОЛІВ

Триацилгліцероли (нейтральні жири, жири) потрапляють до організму людини як компоненти тваринної і рослинної їжі. Ліпіди цього класу розщеплюються в травному каналі до моногліцеридів, вільних жирних кислот та гліцеролу, які після всмоктування в кишечнику та складних біохімічних перетворень в ентероцитах, крові та печінці депонуються в жировій тканині. Накопичення резервів нейтральних жирів є найбільш ефективним механізмом акумулювання метаболічної енергії, оскільки завдяки високому ступеню відновлення жирнокислотних залишків, що входять до складу молекул триацилгліцеролів, при їх окисленні вивільняється значно більше хімічної енергії, ніж при катаболізмі вуглеводів та білків (глава 26).

Основне місце локалізації резервних тригліцеридів в організмі людини — *адипоцити* жирової тканини (*ліпоцити*), значна частина цитоплазми яких зайнята гігантською сферичною ліпідною краплею — рис.14.1. У значно меншій кількості тригліцериди наявні в клітинах інших органів, зокрема гепатоцитів печінки, де вони перебувають у вигляді жирових краплин у цитоплазмі.

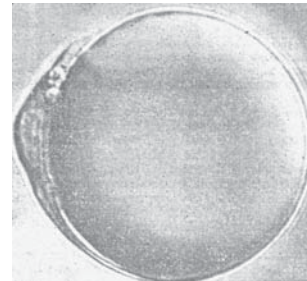


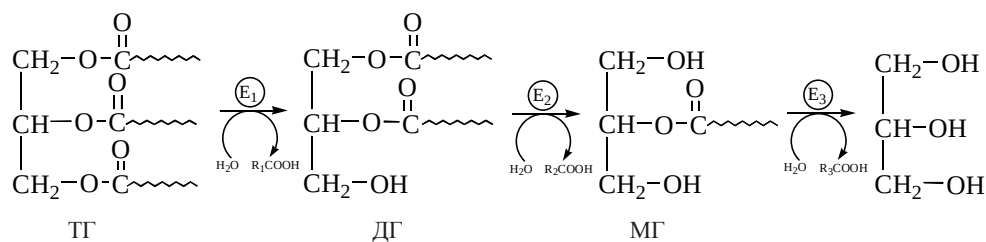
Рис. 14.1. Клітина жирової тканини (адипоцит).

Жирова тканина, до 65 % маси якої припадає на нейтральні жири, є високоспеціалізованою тканиною, що акумулює значні кількості метаболічного палива, енергетична цінність якого суттєво перевищує енергетичні резерви вуглеводів і білків. Маса жирової тканини у дорослої людини середньої ваги дорівнює в середньому 10 кг, і загальний вміст тригліцеридів у ній достатній для забезпечення енергетичних потреб організму протягом, принаймні, 40 днів голодування.

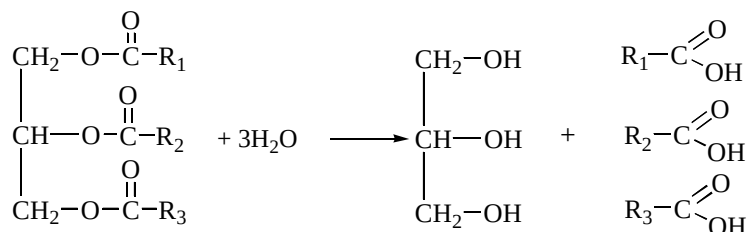
Реакції катаболізму триацилгліцеролів

Ферментативний гідроліз (*ліполіз*) триацилгліцеролів в адипоцитах та інших клітинах, де накопичуються нейтральні жири, є фізіологічним механізмом, що має суттєве значення як резервне джерело енергії, особливо в умовах вичерпання вуглеводних резервів та при стресових ситуаціях. Процес розщеплення триацилгліцеролів із вивільненням жирних кислот, які виходять у кров, отримав назву *мобілізації жирних кислот із жирової тканини*.

Внутрішньоклітинний ліполіз триацилгліцеролів (ТГ) здійснюється в декілька стадій, продуктами яких є діацилгліцероли (дигліцериди — ДГ), моноацилгліцероли (моногліцериди — МГ), гліцерол та вільні жирні кислоти:



Сумарне рівняння ліполізу:



Вільні жирні кислоти (*неестерифіковані жирні кислоти* — НЕЖК) є субстратами окислення для клітин багатьох тканин, зокрема міокарда, хребцевої, гладенької мускулатури тощо, крім головного мозку. Після надходження в плазму крові нерозчинні у водній фазі плазми крові високомолекулярні жирні кислоти транспортуються у зв'язаній з *сироватковим альбуміном* молекулярній формі.

Молекулярні механізми регуляції ліполізу

Зазначений ступеневий процес ліполізу, що відбувається в адипоцитах жирової тканини, каталізується трьома ферментами — *тригліцерид-, дигліцерид- та моногліцеридліпазою*. Активність двох останніх ферментів (E_2 та E_3) в декілька десятків разів перевищує активність першого ферменту (E_1). Звичайно загальна швидкість багатоступеневого метаболічного ланцюга контролюється активністю ферменту, що каталізує найбільш повільну (лімітуючу) стадію процесу. Тому такий фермент є *регуляторним*, і, дісно, активність тканинної *тригліцеридліпази* (*ТГ-ліпази*) регулюється багатьма гормонами, зокрема *адреналіном, глюкагоном, інсуліном, соматотропіном*.

Молекулярною основою регуляції активності тригліцеридліпази адипоцитів є її ковалентна модифікація шляхом оберненого фосфорилування — дефосфорилування.

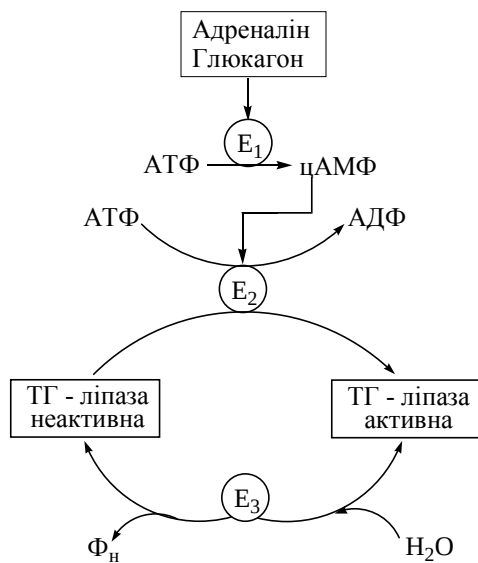


Рис. 14.2. Схема каскадної регуляції активності тригліцеридліпази адипоцитів.

E_1 — аденілатциклаза, E_2 — протеїнкіназа, E_3 — протеїнфосфатаза.

каскадного механізму гормональної регуляції біохімічних та фізіологічних функцій клітини, що був раніше розглянутий (глава 13) на прикладі фосфоролізу глікогену в печінці та м'язах.

Фосфорильована форма ТГ-ліпази є каталітично активною, дефосфорильована — неактивною. Фосфорилування відповідного білка здійснюється за рахунок АТФ при участі ферменту *цАМФ-залежної протеїнкінази*. У свою чергу, збільшення внутрішньоклітинної концентрації цАМФ є результатом взаємодії зі специфічними рецепторами плазматичних мембран адипоцитів адреналіну або глюкагону, що призводить до активації мембранозв'язаної *аденілатциклази*. Дефосфорилування каталітично активної ТГ-ліпази *фосфатазою* призводить до утворення неактивної молекулярної форми ферменту.

У цілому процес контролю активності ТГ-ліпази в жировій тканині є прикладом залежного від цАМФ кас-

Нейрогуморальна регуляція ліполізу

Регуляція метаболізму ліпідів здійснюється за рахунок впливу фізіологічних та біохімічних ефектів нейроендокринної системи відносно швидкістьлімітуючих реакцій обміну даного класу біомолекул. Певні гормони та нейромедіатори впливають на каталітичну активність і внутрішньоклітинну концентрацію ключових ферментів розщеплення й біосинтезу ліпідів. Найбільш вивченою є нейрогуморальна регуляція ліполізу — внутрішньоклітинного гідролізу резервних триацилгліцеролів.

Адреналін, норадреналін, глюкагон

Адреналін та норадреналін — *катехоламіни*, що активують ліполіз у жировій тканині за рахунок стимуляції цАМФ-залежного каскадного механізму регуляції активності ТГ-ліпази адипоцитів. Ліполітична дія цих гормонів реалізується за умов фізіологічних (фізичне напруження, зниження температури навколишнього середовища) та психологічних (страх, тривога) стресів, що супроводжуються вивільненням з мозкового шару наднирникових залоз *адреналіну*, а також стимуляцією симпатичної нервової системи та вивільненням у синапсах нейронів *норадреналіну*, що взаємодіють із адренергічними рецепторами мембран адипоцитів.

Глюкагон — панкреатичний гормон, що стимулює ліполітичну систему в жировій тканині за механізмом, подібним до дії катехоламінів, тобто за рахунок підвищення в адипоцитах вмісту цАМФ, пов'язаного з активацією аденілатциклази. Дія глюкагону проявляється в умовах зниження концентрації глюкози в крові через зменшення її надходження з кишечника або посиленого використання в тканинах.

У цілому за рахунок розглянутих біохімічних механізмів метаболічні ефекти катехоламінів та глюкагону призводять до швидкої стимуляції глікогенолізу в печінці і м'язах та ліполізу в жировій тканині, що забезпечує підвищені енергетичні потреби організму за умов стресу або голодування.

Інсулін

На відміну від зазначених гуморальних факторів, що активують ТГ-ліпазу адипоцитів, спричиняючи мобілізацію НЕЖК із жирової тканини, гормон *інсулін* гальмує процес ліполізу та вивільнення жирних кислот. Інгібіруюча дія інсуліну відносно ліполізу в адипоцитах реалізується за рахунок двох біохімічних механізмів:

а) зменшення концентрації цАМФ, що може бути пов'язаним з активацією фосфодіестерази цАМФ;

б) збільшення проникності мембран адипоцитів до глюкози, результатом чого є активація в жировій тканині гліколізу і, відповідно, накопичення гліколітичних метаболітів діоксіацетонфосфату та 3-фосфогліцеринальдегіду. Ці метаболіти, в свою чергу, є попередниками гліцерол-3-фосфату, що необхідний для реетерифікації жирних кислот при біосинтезі триацилгліцеролів. Таким чином, стимульоване інсуліном підвищене надходження в адипоцити глюкози переключає метаболізм жирних кислот на використання їх здебільшого в синтетичних реакціях і зменшує їх вихід у кров.

Розглянуті біохімічні особливості дії інсуліну пояснюють певні зміни вуглеводного та ліпідного обмінів, що спостерігаються при *голодуванні* та *цукровому діабеті*. Зазначені стани, для яких властиве зниження концентрації інсуліну в крові, характеризуються також зниженням надходження в адипоцити глюкози, що, зменшуючи глюкозозалежне гальмування мобілізації жирних кислот (див. вище), сприяє їх виходу в плазму крові та використанню іншими тканинами як енергетичного джерела. Введення глюкози та інсуліну хворим на цукровий діабет або експериментальним тваринам, що голодують, спричиняє інгібування ліполізу в адипоцитах і протидіє надмірному збільшенню НЕЖК у плазмі крові.

Соматотропін — гормон передньої частки гіпофіза, який також стимулює ліполіз у жировій тканині за умов голодування, але його ліполітична дія суттєво відрізняється від дії катехоламінів та глюкагону. Соматотропін спричиняє підвищення процесів ліполізу за рахунок підвищення синтезу відповідних ферментних білків. Метаболічні ефекти соматотропіну розвиваються повільно, що свідчить про його значення в поступовій адаптації до голодування.

Ліполіз в інших тканинах (м'язах, печінці) регулюється за подібними нейрогуморальними механізмами.

14.3. ОКИСЛЕННЯ ЖИРНИХ КИСЛОТ ТА ГЛІЦЕРОЛУ

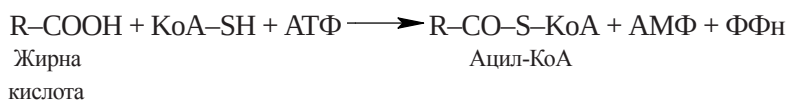
Продуктами ліполізу триацилгліцеролів та інших гліцеридів є жирні кислоти і гліцерол, що здатні до окислення з генерацією значної кількості АТФ.

Окислення жирних кислот

Окислення жирних кислот відбувається в матриксі мітохондрій у результаті циклічного процесу, який включає в себе послідовне відщеплення від довголанцюгових молекул насичених жирних кислот, що складаються з парної кількості вуглецевих атомів (пальмітинової — C_{16} , стеаринової — C_{18} тощо), двовуглецевих фрагментів — циклу **β -окислення**.

Як і в разі метаболізму глюкози, передумовою входження жирної кислоти на шлях окислення є її ферментативна *активація*, тобто перетворення в активне похідне в результаті реакції, що потребує використання молекули АТФ.

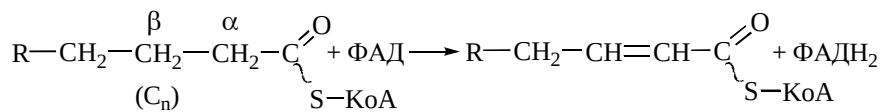
Активація жирних кислот відбувається в цитоплазмі за участю специфічних ферментів *ацил-КоА-синтетаз* (*тіокіназ*), що утворюють КоА-похідні жирних кислот:



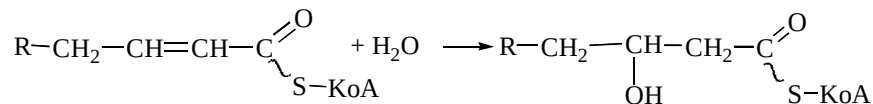
Ферментативні реакції β -окислення жирних кислот

1. Дегідрування КоА-похідних жирних кислот за участю ФАД-залежного ферменту *ацил-КоА-дегідрогенази*.

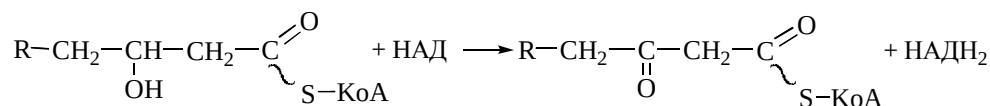
У результаті реакції утворюється трансненасичене (в положеннях 2,3, або **α , β**) КоА-похідне жирної кислоти:



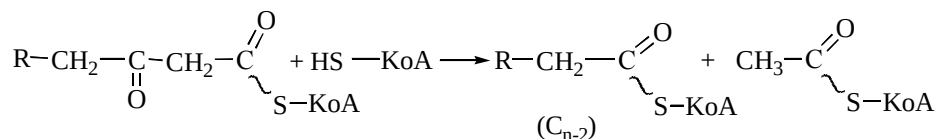
2. Гідратація ненасиченого КоА-ацилу ферментом *еноїл-КоА-гідратазою* з утворенням спиртового похідного ацил-КоА — *3-оксіацилу-КоА* (**β**-гідроксіацилу-КоА):



3. Дегідрування оксипохідного ацил-КоА НАД-залежним ферментом *3-оксіацил-КоА-дегідрогеназою*. Продукт реакції — *3-кетואцил-КоА* (**β**-кетואцил-КоА):

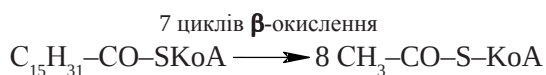


4. Тіолітичне розщеплення 3-кетואцил-КоА за рахунок взаємодії з молекулою КоА при участі ферменту **β**-кетואцил-КоА-тіолази. В результаті реакції утворюється молекула КоА-похідного жирної кислоти, скороченого на два вуглецеві атоми, та ацетил-КоА:



У результаті одного циклу **β**-окислення з молекули жирної кислоти вивільняється одна молекула ацетил-КоА і, відповідно, вихідна молекула ацил-КоА скорочується на два вуглецеві атоми. Легко зрозуміти, що для повного розщеплення до ацетил-КоА будь-якої молекули жирної кислоти з парною кількістю вуглецевих атомів (n) потрібно (n/2 – 1) циклів **β**-окислення.

Виходячи із зазначеного, сумарне рівняння **β**-окислення поширеної в природних триацилгліцеролах *пальмітинової кислоти* має вигляд:



Загальну схему циклу **β**-окислення насичених жирних кислот подано на рис.14.3.

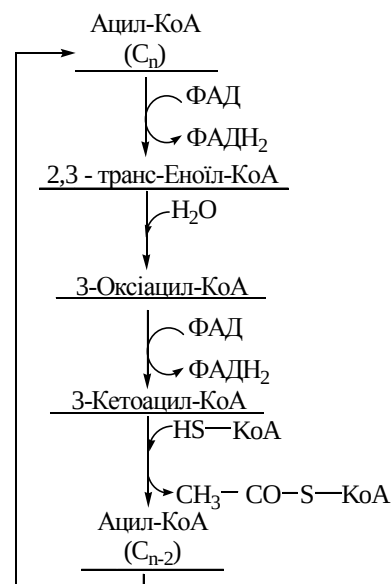


Рис. 14.3. Метаболічна карта процесу **β**-окислення жирних кислот.

Роль карнітину в окисленні жирних кислот

Ферменти β -окислення жирних кислот локалізовані всередині мітохондрій, але внутрішня мітохондріальна мембрана непроникна для довголанцюгових ацильних похідних КоА. Тому на внутрішній мітохондріальній мембрані функціонує спеціальна транспортна система, що включає аміноспирт *карнітин*, який бере участь у перенесенні молекул ацил-КоА до мітохондріального матриксу.

Транспортна функція карнітину реалізується за човниковим принципом (рис.14.4.):

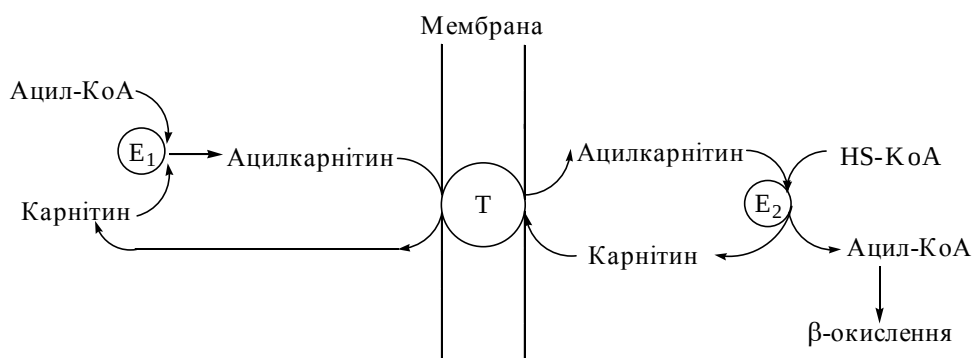
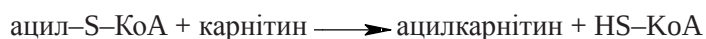


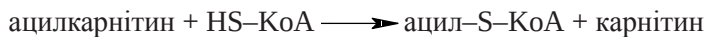
Рис. 14.4. Участь карнітину в перенесенні довголанцюгових жирних кислот через внутрішню мембрану мітохондрій. E_1 — карнітин-ацилтрансфераза I; E_2 — карнітин-ацилтрансфераза II; T — транслоказа.

а) на зовнішній поверхні внутрішньої мітохондріальної мембрани за участю ферменту *карнітин-ацилтрансферази I* відбувається утворення ефіру *ацилкарнітину*:



б) транспортний білок *карнітин-ацилкарнітин-транслоказа* переносить ацилкарнітин через мембрану мітохондрій;

в) на внутрішній поверхні мембрани фермент *карнітин-ацилтрансфераза II* розщеплює ацилкарнітин у наступній реакції:



Ацил-S-CoA вступає на шлях β -окислення, а вільний карнітин виходить з мітохондрій і бере участь у транспортуванні нової молекули жирної кислоти.

Енергетика β -окислення жирних кислот

1. У кожному циклі β -окислення вивільняється одна молекула ацетил-КоА, окислення якої в циклі трикарбонових кислот супроводжується утворенням 12 молекул АТФ (глава 10). β -Окислення пальмітату (див. вище) призводить до утворення 8 молекул ацетил-КоА, повне окислення яких до CO_2 та H_2O дасть 96 (12×8) молекул АТФ.

2. У кожному циклі β -окислення утворюються дві молекули відновлених коферментів — ФАДН_2 та НАДН , які можуть віддавати свої відновлювальні еквіваленти ланцюга електронного транспорту в мітохондріях, сприяючи генерації в результаті окисного фосфорилування 2 (ФАДН_2) та 3 (НАДН), тобто сумарно 5 молекул АТФ. У разі повного окислення пальмітату в 7 циклах β -окислення за рахунок даного механізму утвориться 35 (5×7) молекул АТФ.

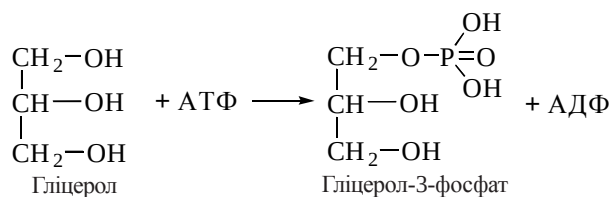
Враховуючи витрату 1 молекули АТФ на етапі активації жирної кислоти, загальна кількість молекул АТФ, що може синтезуватися в умовах повного окислення до діоксиду вуглецю та води молекули пальмітату, дорівнює 130 ($96 + 35 - 1$). Виходячи з цього, можна подати сумарне рівняння окислення пальмітинової кислоти в мітохондріях:



Окислення гліцеролу

Гліцерол, що утворюється при розщепленні триацилгліцеролів або гліцерофосфоліпідів, може вступати на шлях катаболізму (окислення) або знову використовуватися для біосинтезу різних класів гліцеридів (глава 15).

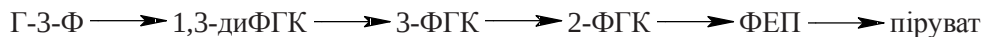
1. Включенню гліцеролу до метаболічних перетворень передують його активація, яка полягає в його трансформації за участю АТФ до *гліцерол-3-фосфату* (α -гліцерофосфату) при дії ферменту *гліцеролфосфокінази*.



2. α -Гліцерофосфат здатний до окислення мітохондріальним ферментом α -гліцерофосфатдегідрогеназою з утворенням гліцеральдегід-3-фосфату (Г-3-Ф).

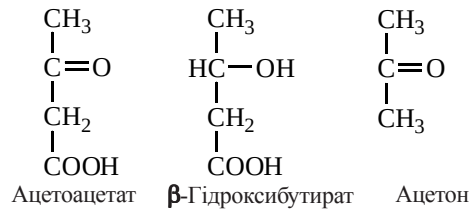


Гліцеральдегід-3-фосфат є одним з центральних метаболітів гліколітичного окислення глюкози. Подальше перетворення Г-3-Ф, утвореного при окисленні гліцеролу, співпадає з катаболізмом гліколітичного Г-3-Ф (глава 11):



14.4. БІОСИНТЕЗ ТА КАТАБОЛІЗМ КЕТОНОВИХ ТІЛ

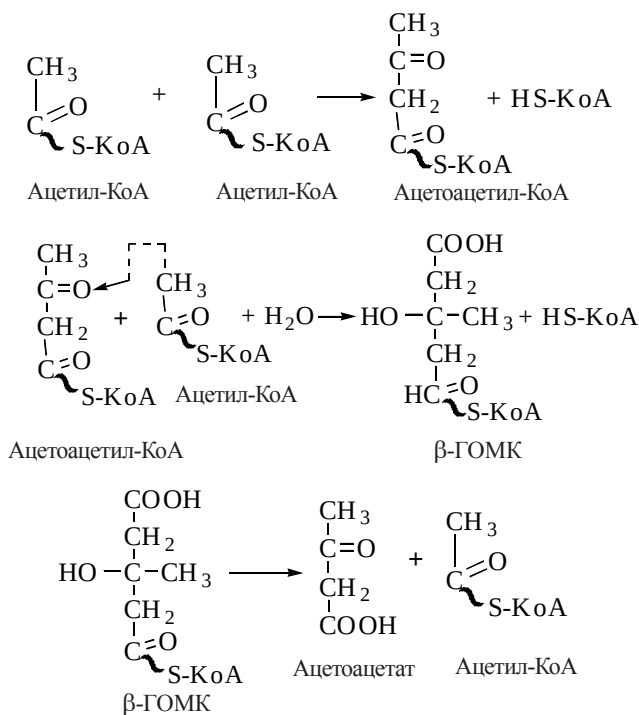
В умовах нормального метаболізму здорового організму основним шляхом використання ацетил-КоА, що утворюється при β -окисленні жирних кислот, є цикл трикарбонових кислот. В умовах переключення метаболізму на біосинтетичні шляхи цитоплазматичний ацетил-КоА знову використовується для формування жирних кислот, тобто утворення резервів ліпідів (глава 15).



Разом з тим, у печінці існує фізіологічно важливий шлях утилізації ацетил-КоА, що призводить до утворення молекул альтернативного метаболічного палива, які використовуються в інших тканинах — так званих *кетонів* (*ацетонових*) *тілах*. До кетонів тіл належать *ацетоацетат*, *β-гідроксибутират* та *ацетон*.

Ферментні реакції утворення кетонових тіл

Утворення кетонівих тіл відбувається в цитозолі (початкові етапи) та мітохондріях гепатоцитів за рахунок таких реакцій:



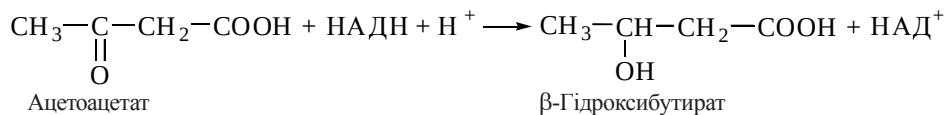
1. Конденсація двох молекул ацетил-КоА з утворенням *ацетоацетил-КоА*. Реакція каталізується цитозольним ферментом *тіолазою*.

2. Взаємодія ацетоацетил-КоА з новою молекулою ацетил-КоА з утворенням **β -гідрокси- β -метил-глутарил-КоА (β -ГОМК)**. При утворенні кетонівих тіл реакція відбувається в мітохондіях і каталізується ферментом **β -ГОМК-синтетазою**.

3. Розщеплення β -гидрокси- β -метилглутарил-КоА мітохондріальним ферментом β -ГОМК-ліазою з утворенням ацетоацетату та ацетил-КоА.

Необхідно зауважити, що утворення β -ГОМК із ацетоацетил-КоА є процесом, який може здійснюватися в цитозолі гепатоцитів; у цьому випадку β -ГОМК підлягає біохімічним перетворенням, які становлять метаболічний шлях біосинтезу холестерину (глава 15), що відбувається в клітинах печінки, кишечника та шкіри. Однак у гепатоцитах більша частина ацетил-КоА, що утворюється при окисленні вуглеводів, жирних кислот, амінокислот і не використовується в цитратному циклі, вступає на шлях утворення кетонів тіл.

β-Гідроксибутират утворюється з ацетоацетату шляхом відновлення НАД-залежною **β-гідроксибутиратдегідрогеназою**:



Реакція перебігає в напрямку утворення β -гідроксибутирату за умов високого співвідношення в гепатоцитах НАДН/НАД⁺, яке буває в умовах голодування.

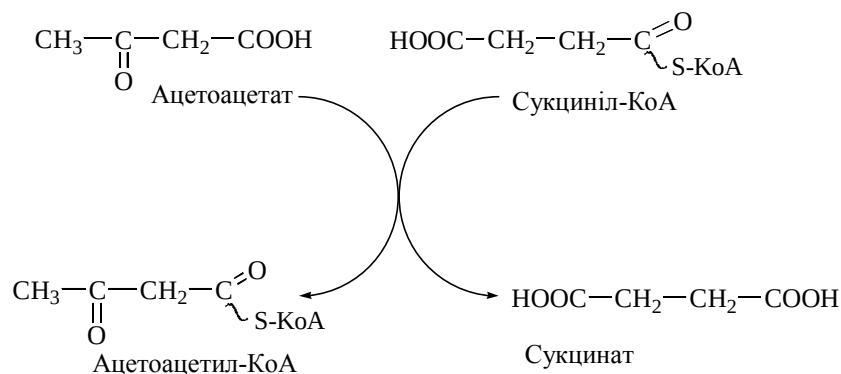
Ацетон утворюється в незначній кількості з ацетоацетату, що міститься в циркулюючій крові, за рахунок його неферментативного декарбоксилювання або дії ферменту *ацетоацетатдекарбоксилази*. Ацетон видаляється з організму легеньми; значне збільшення вмісту ацетону у видихуваному повітрі спостерігається в умовах декомпенсованого цукрового діабету.

Реакції утилізації кетонівих тіл

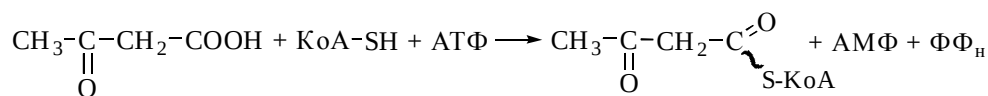
Після утворення в гепатоцитах кетонівих тіл (переважно ацетоацетат) виходять у кров і транспортуються в периферичні тканини, де вони виступають як важливі субстрати біологічного окислення.

Використання ацетоацетату як субстрату метаболічного палива передуює його активація з утворенням ацетоацетил-КоА. Існує два ферментативні механізми генерації ацетоацетил-КоА в гепатоцитах:

а) взаємодія ацетоацетату з сукциніл-КоА:



б) активація ацетоацетату HS-KoA за участю АТФ:



Ацетоацетил-КоА, що утворився за одним із зазначених механізмів, підлягає тіолітичному розщепленню за участю *тіолази* з утворенням двох молекул ацетил-КоА, які окислюються в циклі трикарбонових кислот:



Ацетоацетат є важливим джерелом енергетичного палива для міокарда, скелетних м'язів та коркового шару нирок, в клітинах яких катаболізм цієї сполуки перевищує

утилізацію глюкози. В умовах голодування ацетоацетат стає переважаючим субстратом окислення також для головного мозку, який в нормальних умовах використовує для енергетичних потреб виключно глюкозу.

Метаболізм кетонових тіл в умовах патології

У нормі концентрація кетонових тіл у крові та більшості тканин незначна (в середньому 10-20 мг/л). Проте, за умов голодування та цукрового діабету створюються метаболічні умови, за яких кількість кетонових тіл у тканинах різко підвищується за рахунок значної активації їх синтезу. При цьому значно зростають як концентрація кетонових тіл у крові (*кетонемія*), так і їх виділення з сечею (*кетонурія*).

Біохімічною основою зростання вмісту кетонових тіл в умовах патології є зменшення ступеня утилізації ацетил-КоА в циклі трикарбонових кислот внаслідок порушень вуглеводного обміну.

Справа в тому, що входження ацетил-КоА в ЦТК залежить від наявності в клітині достатньої кількості оксалоацетату, необхідного для утворення цитрату. В свою чергу, утворення оксалоацетату, необхідного для нормального функціонування трикарбонового циклу, залежить від кількості пірувату (глава 10, розділ 10.4), основним постачальником якого є гліколітичне розщеплення глюкози. В умовах зменшеного надходження в клітину глюкози (голодування, цукровий діабет) оксалоацетат спрямовується на шлях глюконеогенезу і стає недосяжним для взаємодії з ацетил-КоА в цитратсинтазній реакції. У зазначених метаболічних умовах ацетил-КоА в значній мірі використовується для утворення кетонових тіл — ацетоацетату та β -гідроксибутирату. Сприяє накопиченню в клітинах ацетил-КоА також його підвищене утворення при β -окисленні жирних кислот за рахунок стимуляції в умовах глюкозного голодування ліполізу в жировій тканині. Ці біохімічні закономірності пояснюють давній вислів “*Жири згоряють у полум’ї вуглеводів*”.

Введення в організм глюкози (при голодуванні), або глюкози з інсуліном (при цукровому діабеті) підвищує внутрішньоклітинний рівень моносахариду і нормалізує гліколіз, що призводить до активації утилізації ацетил-КоА в циклі трикарбонових кислот і зменшення утворення кетонових тіл. Проте, в умовах відсутності необхідної терапії концентрація ацетоацетату, β -гідроксибутирату та ацетону в організмі хворих на цукровий діабет може зростати в десятки разів, супроводжуючись порушенням кислотно-лужного балансу і розвитком метаболічного *кетоацидозу*, який є небезпечним для нормального функціонування клітин головного мозку.

ГЛАВА 15. МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ

II. БІОСИНТЕЗ ТРИАЦИЛГЛІЦЕРОЛІВ І СКЛАДНИХ ЛІПІДІВ

Біосинтез ліпідів різних класів є важливою складовою їх метаболізму, що забезпечує організм резервами метаболічного палива у вигляді акумульованих у жировій тканині та клітинах інших органів триацилгліцеролів і є необхідним для поновлення структурних компонентів біомембран (фосфогліцеридів, сфінголіпідів, гліколіпідів).

15.1. БІОСИНТЕЗ ВИЩИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ

Біосинтез вищих жирних кислот із подальшим їх включенням до складу триацилгліцеролів жирової та інших тканин — *ліпогенез* — є метаболічним шляхом, що дозволяє акумулювати в організмі людини та тварин значні енергетичні резерви метаболічного палива.

Фізіологічне значення цього процесу пояснюється тією обставиною, що здатність тваринних клітин до створення запасів полісахаридів у вигляді глікогену є досить обмеженою, і тому глюкоза, що надходить із їжею в кількостях, які перевищують безпосередні енергетичні потреби організму, перетворюється на жирні кислоти. Найбільш активно синтез жирних кислот відбувається в адипоцитах жирової тканини, гепатоцитах печінки, епітеліальних клітинах молочної залози під час лактації.

Метаболічні джерела синтезу жирних кислот

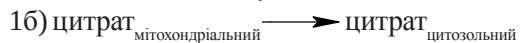
В організмі людини і тварин здійснюється синтез насичених жирних кислот із парною кількістю вуглецевих атомів (переважно пальмітату та стеарату); метаболічним джерелом для цього синтезу є ацетил-КоА, який утворюється за рахунок аеробного окислення глюкози. Активність процесу біосинтезу жирних кислот залежить від характеру дієти; їжа, що містить значну кількість жирів, пригнічує швидкість цього синтезу.

Ферментні реакції біосинтезу жирних кислот з ацетил-КоА, на відміну від їх окислення, відбуваються в цитоплазмі клітин; основним продуктом цього синтезу є пальмітинова кислота $C_{15}H_{31}COOH$.

Безпосереднім донором двовуглецевих фрагментів, що використовуються клітиною для синтезу довголанцюгових жирних кислот, є ацетил-КоА, утворюваний у реакції окислювального декарбоксилювання пірувату (глава 11), яка перебігає в матриксі мітохондрій. Оскільки внутрішня мембрана мітохондрій є непроникною для ацетил-КоА, то для використання ацетил-КоА в процесі біосинтезу жирних кислот застосовується спеціальна *човникова система*, яка транспортує мітохондріальний ацетил-КоА в цитозоль. Процес відбувається за таким механізмом:

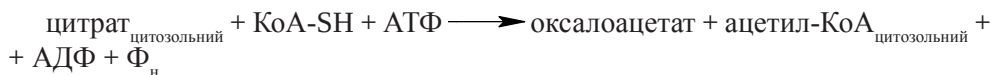
1. Усередині мітохондрій ацетил-КоА взаємодіє з оксалоацетатом, утворюючи лимонну кислоту (цитрат), яка є головним субстратом окислювального цитратного

циклу (ЦТК), але може частково залишати мітохондрії і виходити в цитозоль за допомогою спеціальної транспортної системи трикарбоксилатів:



Стимуляція виходу цитрату з мітохондрій у цитоплазму можлива в умовах, що сприяють активації анаболічних процесів в організмі, зокрема при посиленому харчуванні глюкозою та іншими цукрами, гліколітичне окислення яких спричиняє накопичення цитрату й інших метаболітів ЦТК у матриксі мітохондрій.

2. У цитозольному просторі цитрат розщеплюється спеціальною *ліазою* з утворенням оксалоацетату та цитозольного ацетил-КоА, який надходить у систему синтезу вищих жирних кислот:



Оксалоацетат повертається до матриксу мітохондрій за допомогою човникової системи, що включає його відновлення до малату, який може проникати через мітохондріальну мембрану. Альтернативним механізмом повернення вуглецевих атомів малату в цитозоль є його перетворення в піруват — шлях, який генерує відновлений НАДФ⁺, необхідний для синтезу жирних кислот (див. нижче) — рис.15.1.

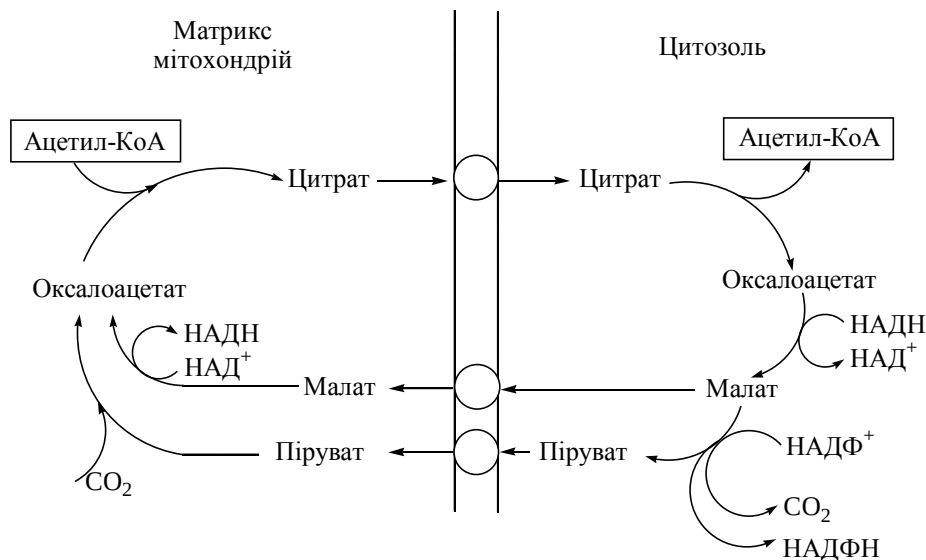
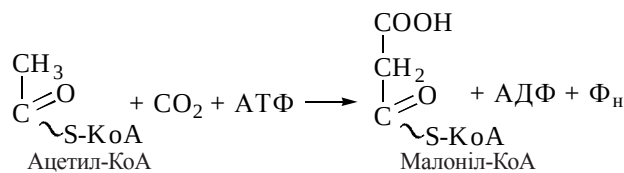


Рис. 15.1. Човникова система транспорту ацетильних радикалів із мітохондрій у цитозоль.

Синтез малоніл-КоА

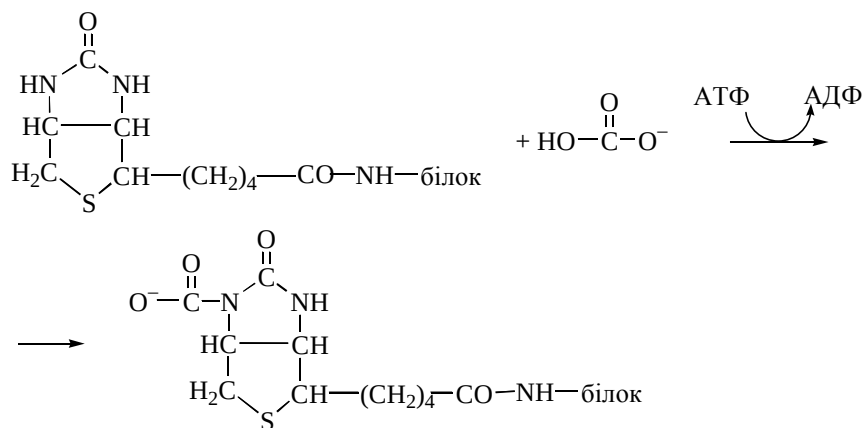
Ініціація росту вуглецевого ланцюга вищої жирної кислоти відбувається шляхом взаємодії ацетил-КоА з активною формою маленової кислоти — *малоніл-КоА*, який безпосередньо постачає двовуглецеві субстрати для цього синтезу. Таким чином, у разі біосинтезу пальмітату малоніл-КоА є метаболічним попередником, який стає джерелом 14 з 16 атомів вуглецю пальмітату.

Малоніл-КоА утворюється з цитоплазматичного ацетил-КоА та діоксиду вуглецю під дією біотинвмісного ферменту *ацетил-КоА-карбоксилази*.



Ацетил-КоА-карбоксилаза містить кофермент *біотин* (вітамін Н), що є простетичною групою ферменту. Карбоксильна група біотину зв'язана амідним зв'язком із ϵ -аміногрупою лізинового залишку, який розташований в активному центрі ферменту.

Активною формою вугільної кислоти, яка бере участь у карбоксилюванні ацетил-КоА, є *карбоксибіотин*, що утворюється в такій реакції:



Біохімічні стадії синтезу насичених жирних кислот

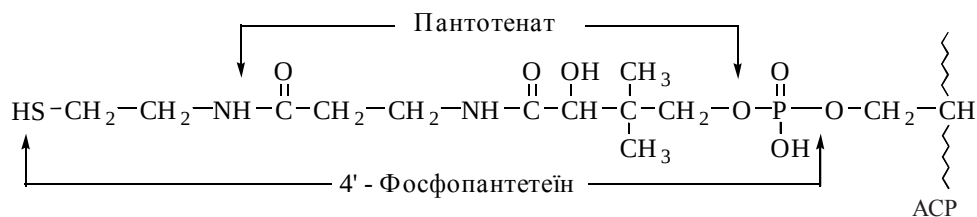
Синтетаза жирних кислот є мультиензимним комплексом, до складу якого входять декілька ферментних білків із каталітичною активністю, що забезпечує послідовне подовження вуглецевого ланцюга (C_2 , C_4 , C_6 ...) до утворення ацильного залишку з необхідною кількістю вуглецевих атомів (переважно C_{16}). Сукупність ферментних реакцій біосинтезу пальмітинової кислоти називається **циклом Лінена**.

Ацилтранспортуючий протеїн

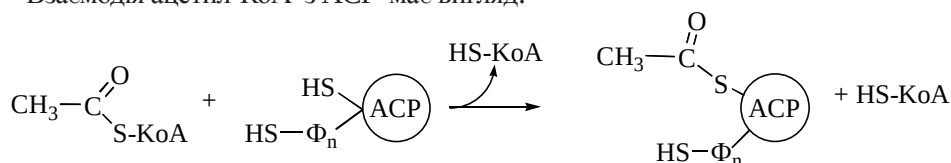
Центральне місце у ферментному комплексі синтетази жирних кислот посідає *ацилтранспортуючий протеїн* (*Acyl Carrier Protein, ACP*, англ.). Із молекулою ACP сполучені ферментні білки, що каталізують окремі реакції синтезу жирних кислот C_{16} та C_{18} . ACP має два SH-вмісних центри зв'язування:

1-й центр — залишок *цистеїну* поліпептидного ланцюга ACP, який служить для акцептування ацетильного радикалу ($\text{CH}_3\text{—CO—}$) від ацетил-КоА;

2-й центр — фосфорильоване похідне вітаміну *пантотенової кислоти* — *4'-фосфопантетеїн*, що є структурою, SH-групи якої акцептують малонільний радикал ($\text{HOOC—CH}_2\text{—CO—}$) від малоніл-КоА. 4'-Фосфопантетеїн (Фп) ковалентно сполучений із залишком серину в 36-му положенні поліпептидного ланцюга ACP.



Взаємодія ацетил-КоА з АСР має вигляд:

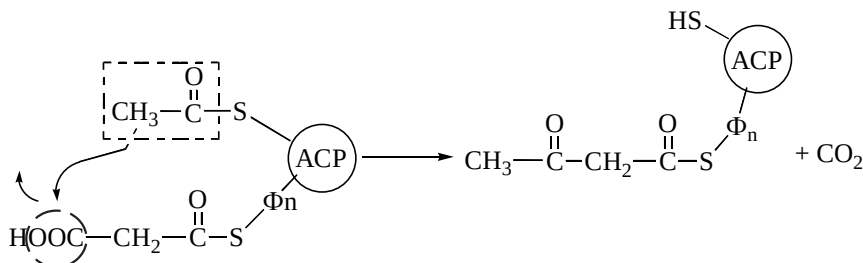


Подібним чином взаємодіє з АСР (HS-групою Фп) і малоніл-КоА.

Послідовність ферментативних реакцій

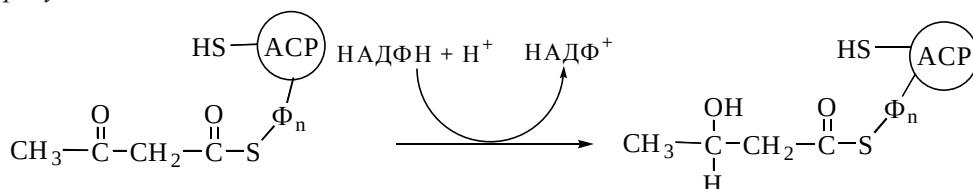
Після акцептування ацилтранспортуючим білком ацетильного й малонільного радикалів формування ланцюга вищої жирної кислоти може бути поданим у вигляді зазначеної нижче послідовності реакцій.

1. Перенесення ацетильного радикалу, зв'язаного з SH-групою цистеїну, на малонільний радикал, зв'язаний з SH-групою фосфопантетеїну, з утворенням ацетоацетильного радикала, що зв'язаний з SH-групою фосфопантетеїну. Ця реакція конденсації каталізується ферментом 3-кетואцил-АСР-синтазою:



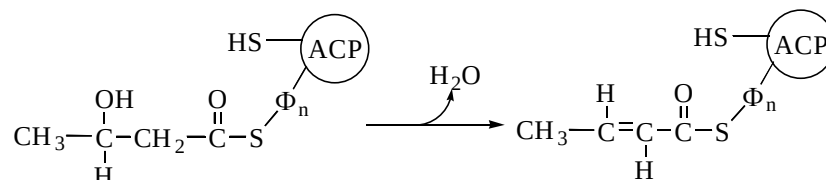
У результаті реакції утворюється ацетоацетил — АСР і виділяється (регенерує) молекула CO_2 , що була використана для синтезу малоніл-КоА.

2. Відновлення карбонільної групи в молекулі ацетоацетил-АСР з утворенням 3-гідроксибутирил-АСР. Реакція каталізується НАДФН-залежною 3-кетואцил-АСР-редуктазою:

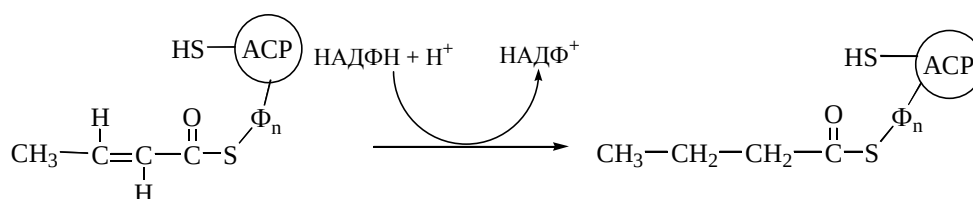


3. Дегідратація 3-гідроксибутирильного радикала за участю ферменту 3-гідроксиацил-АСР-дегідратази. Продукт реакції — ненасичене похідне масляної

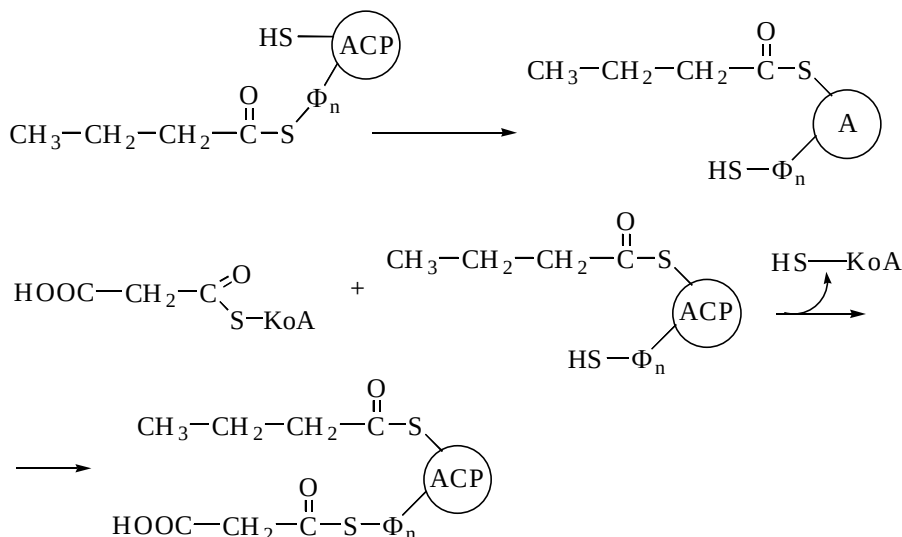
кислоти (бутирату), подвійний зв'язок в якому розміщений між 2-м і 3-м атомами вуглецю (Δ^2) та має *транс*-конфігурацію — *транс*-бутеноїл- Δ^2 -ACP:



4. Відновлення подвійного зв'язку в молекулі *транс*-бутеноїл- Δ^2 -ACP за участю ферменту *еноїл-ACP-редуктази*. Продукт реакції — бутирильний радикал, сполучений із ACP:

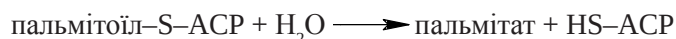


У результаті розглянутої послідовності чотирьох реакцій двовуглецевий ацетильний радикал (C_2) перетворився на чотиривуглецевий бутирильний радикал (C_4). Для продовження процесу елонгації вуглеводневих радикалів необхідне приведення ферментної системи синтетази жирних кислот у вихідний стан, що досягається перенесенням бутирилу від SH-групи фосфопантетеїну на SH-групу цистеїну та приєднанням до SH-групи фосфопантетеїну, що звільнилася, нового залишку малонілу:

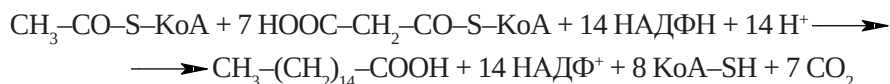


У подальшому починається новий цикл реакцій, що полягають у подовженні вуглеводневого радикала карбонової кислоти ще на один двовуглецевий фрагмент.

Продуктом семи зазначених циклів є утворення радикалу пальмітинової кислоти (C_{16}), який відщеплюється від АСР у результаті гідролітичної *тіоестеразної* реакції:



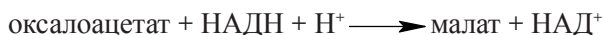
Сумарне рівняння біосинтезу пальмітату з ацетил-КоА в результаті дії синтетази вищих жирних кислот:



Джерела НАДФН, необхідного для біосинтезу жирних кислот

У кожному циклі біосинтезу пальмітату відбувається по дві відновлювальні реакції, донором водню ($2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$) в яких є НАДФН. Одним з основних поставальників молекул цитозольного НАДФН, відновлювальні еквіваленти яких використовуються при ліпогенезі, є реакція перетворення малату до пірувату, що спряжена з функціонуванням човникової системи транспорту ацетильних радикалів (див. рис. 15.1).

1. У першій реакції оксалоацетат відновлюється до малату за участю цитозольної *малатдегідрогенази*:



2. У другій реакції відбувається окислювальне декарбоксилювання малату до пірувату за допомогою НАДФ-залежного ферменту *малікензиму*:



НАДФН, що генерувався в реакції, використовується в ліпогенезі, а піруват перетворюється до оксалоацетату в піруваткарбоксилазній реакції.

Крім розглянутого механізму, поставальником НАДФН, що використовується в біосинтезі пальмітату, виступають також глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназна реакція пентозофосфатного циклу окислення глюкози та НАДФ-залежна ізоцитрат-дегідрогеназна реакція, що перебігає в цитозолі.

Регуляція біосинтезу насичених жирних кислот

Існують два пункти регуляції синтезу вищих насичених жирних кислот в організмі людини:

1. Регуляція на рівні ацетил-КоА-карбоксилази.

Ацетил-КоА-карбоксилазна реакція, в якій утворюється малоніл-КоА, є лімітуючою стадією в контролі швидкості біосинтезу жирних кислот. Регуляція перебігу реакції здійснюється за двома механізмами:

1.1. *Шляхом алостеричної регуляції* активності ацетил-КоА-карбоксилази позитивними та негативними модуляторами:

а) позитивним модулятором (активатором) ферменту є *цитрат*. Збільшення концентрації лимонної кислоти в мітохондріях внаслідок “перевантаження” ЦТК метаболічним паливом (після споживання вуглеводів, секреції в кров інсуліну тощо) означає створення біохімічних умов для активації анаболічних процесів,

тобто запасання надлишків ацетил-КоА у вигляді жирів. Підвищений у цих умовах вихід цитрату в цитозоль активує ацетил-КоА-карбоксилазу (малоактивну за відсутності позитивного модулятора) і спричиняє утворення малоніл-КоА — джерела двовуглецевих радикалів для біосинтезу жирних кислот;

б) негативними модуляторами (алостеричними інгібіторами) ацетил-КоА-карбоксилази є *пальмітоїл-КоА* та *стеароїл-КоА* — кінцеві метаболіти біосинтетичного шляху. Накопичення в цитозолі продуктів біосинтезу за принципом негативного зворотного зв'язку гальмує швидкість їх утворення.

1.2. Шляхом ковалентної модифікації ацетил-КоА-карбоксилази за рахунок її цАМФ-залежного фосфорилування (утворення неактивної форми ферменту) та дефосфорилування (утворення активної форми ферменту). Слід зауважити реципрокний характер зміни активності процесів ліпогенезу та ліполізу в умовах дії на клітини жирової тканини та печінки фізіологічних стимулів, що позитивно (адреналін, норадреналін, глюкагон) та негативно (інсулін) впливають на активність аденілатциклази і внутрішньоклітинний рівень цАМФ (див. главу 14; розділ 14.1).

1.3. Шляхом зміни активності синтезу ацетил-КоА-карбоксилази:

а) збільшення активності синтезу ферменту (ферментна індукція) спричиняється додатковим надходженням в організм та в клітини відповідних органів глюкози (споживання високовуглеводної дієти) та зменшенням вмісту в продуктах харчування жирів;

б) пригнічення активності синтезу ферменту спостерігається в умовах голодування або споживання дієти, збагаченої жирами.

2. Регуляція на рівні комплексу синтетази жирних кислот

Активність синтетазного комплексу (циклу Лінена) регулюється також як механізмами алостеричного контролю, так і механізмами ферментної індукції.

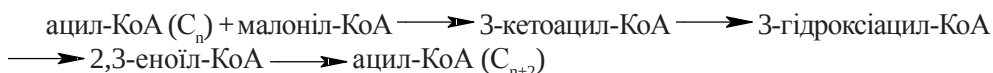
2.1. Аlostерична активація окремих ферментів мультиензимного комплексу здійснюється за рахунок позитивного впливу фосфорильованих моносахаридів. Збільшення концентрації цукрофосфатів є метаболічним сигналом, що свідчить про високу активність гліколізу та створює біохімічні умови для спрямування обміну речовин у напрямку анаболічних процесів.

2.2. Зміни в активності процесів синтезу окремих ферментів синтетазного комплексу відбуваються в напрямках і метаболічних умовах, зазначених для ацетил-КоА-карбоксилази.

Елонгація насичених жирних кислот

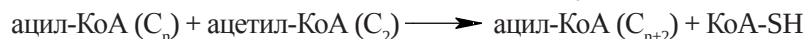
Пальмітинова кислота (C_{16}), що продукується в результаті дії синтетази вищих жирних кислот, є попередником в утворенні жирних кислот із більшою довжиною ланцюга — C_{18} , C_{20} , C_{22} , C_{24} . У клітинах функціонують дві *системи елонгації* жирних кислот, які забезпечують послідовне приєднання до вуглеводневих ацильних радикалів двовуглецевих фрагментів:

а) система елонгації ендоплазматичного ретикулума (“мікросомальна елонгаційна система”). Ця система використовує як джерело двовуглецевих фрагментів малоніл-КоА і діє за механізмом, близьким до розглянутого для синтетазної системи цитозолі:



Субстратами розглянутої послідовності реакцій є насичені жирні кислоти (ацили C_{10} та більшої довжини). У печінці при використанні як субстрат пальмітату утворюється переважно стеарат (C_{18}). Система елонгації жирних кислот у головному мозку синтезує C_{22} - та C_{24} -жирні кислоти, які входять до складу сфінголіпідів мієлінових нервових волокон;

б) мітохондріальна система елонгації жирних кислот — використовує як донори двовуглецевих фрагментів молекули ацетил-КоА. Система здатна подовжувати жирні кислоти, що мають 12-16 атомів вуглецю (C_{12} - C_{16}):

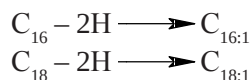


Утворення ненасичених жирних кислот

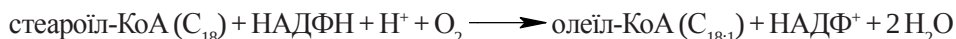
1. Мононенасичені жирні кислоти

Мононенасичені кислоти — пальмітоолеїнова $C_{16:1}$ та олеїнова $C_{18:1}$ містять подвійний зв'язок між 9-м та 10-м атомами вуглецю (Δ^9).

Ці жирні кислоти можуть утворюватися в організмі людини за рахунок дегідрування відповідних насичених кислот (пальмітинової C_{16} та стеаринової C_{18}):



Утворення зазначеного подвійного зв'язку здійснюється за участю *системи десатурації жирних кислот (ацил-КоА-оксигенази)*, що належить, за механізмом дії, до мікросомальних монооксигеназ (оксигеназ мішаної функції), які потребують для свого функціонування НАДФН (або НАДН) та включають цитохром b_5 електронтранспортного ланцюга, локалізованого в мембранах ендоплазматичного ретикулума гепатоцитів:



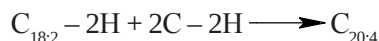
2. Поліненасичені жирні кислоти

Поліненасичені кислоти — лінолева $C_{18:2}(\Delta^{9,12})$ та α -ліноленова $C_{18:3}(\Delta^{9,12,15})$ — попередники в утворенні інших, життєво необхідних ацилів, не можуть синтезуватися в клітинах людського організму у зв'язку з відсутністю ферментних систем, що необхідні для утворення додаткових подвійних зв'язків між Δ^9 -подвійним зв'язком і метильним кінцем жирної кислоти.

Зазначені ферменти присутні в багатьох рослинних організмах, і тому існує потреба в постійному надходженні лінолевої та α -ліноленової кислот в організм як компонентів рослинної їжі, що є незамінними факторами харчування (“есенціальні жирні кислоти”).

У разі надходження цих жирних кислот у складі дієти, ферментні системи ендоплазматичного ретикулула гепатоцитів за розглянутими вище механізмами десатурації та елонгації можуть трансформувати лінолеву кислоту в такі поліненасичені кислоти, як γ -ліноленову $C_{18:3}(\Delta^{6,9,12})$ та арахідонову $C_{20:4}(\Delta^{5,8,11,14})$, а α -ліноленову — в докозангексенову ($C_{22:6}$) кислоту.

Арахідонова кислота — попередник біологічно активних *ейкозаноїдів* (*простагландинів, простациклінів, тромбоксанів*), утворюється з незамінної лінолевої кислоти $C_{18:2}$ шляхом подовження її вуглецевого ланцюга та утворення додаткових подвійних зв'язків:



Загальну схему формування в організмі людини насичених і ненасичених вищих жирних кислот подано на рис.15.2.

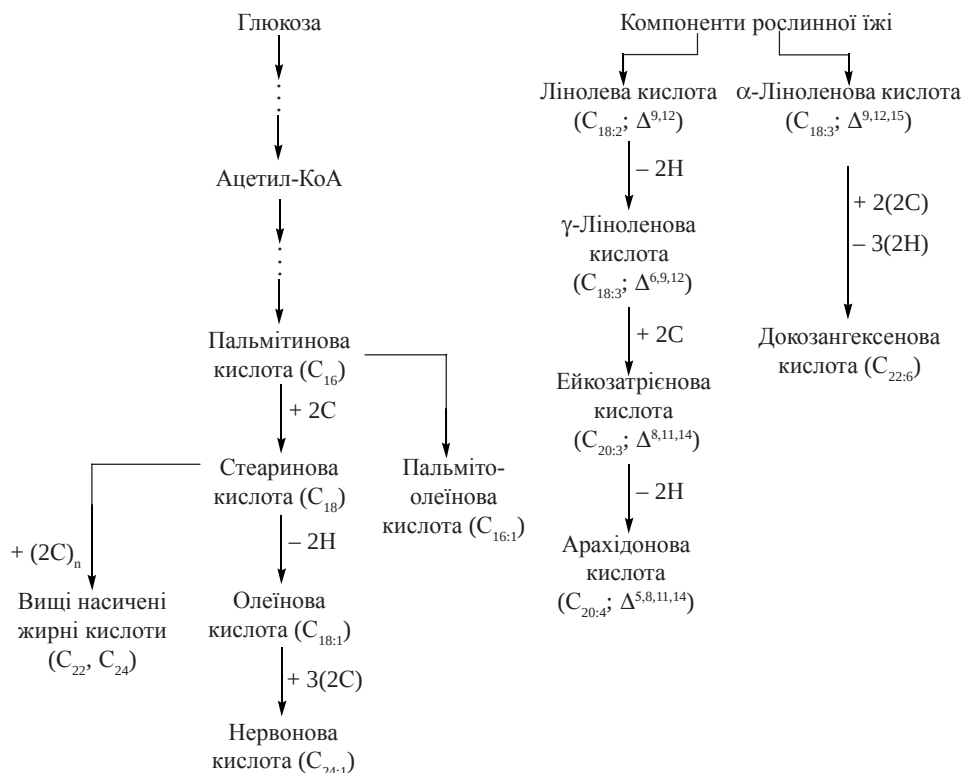


Рис. 15.2. Метаболічна карта біосинтезу насичених і ненасичених жирних кислот ферментними системами людського організму.

15.2. БІОСИНТЕЗ ТРИАЦИЛГЛІЦЕРОЛІВ

Триацилгліцероли (нейтральні жири) — ліпіди, що складають основну частину харчових ліпідів та в найбільшій кількості представлені в адипоцитах жирової тканини, де вони виконують функцію резерву метаболічного палива. Кількість нейтральних жирів в організмі дорослої людини масою 70 кг дорівнює в

середньому 10-15 кг. Крім жирової тканини, біосинтез триацилгліцеролів в обмеженій кількості відбувається також в інших тканинах, зокрема печінці, кишечнику, молочній залозі в період лактації.

Метаболічними попередниками в біосинтезі триацилгліцеролів є активовані жирні кислоти (ацил-КоА) та гліцерол-3-фосфат, що, в свою чергу, постачаються за рахунок окислення глюкози.

Ферментативні реакції синтезу триацилгліцеролів

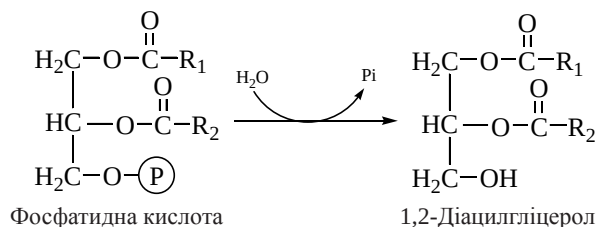
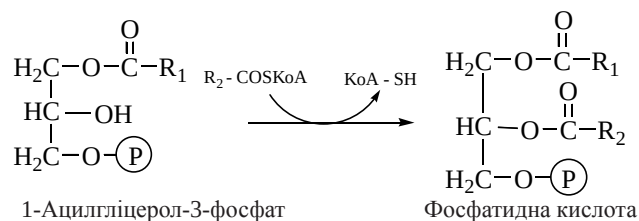
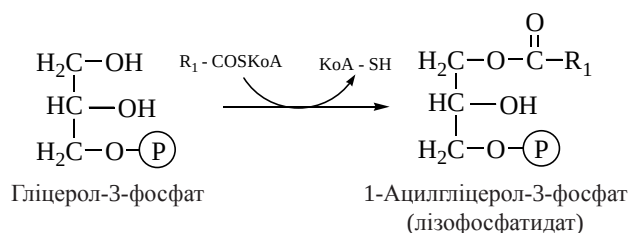
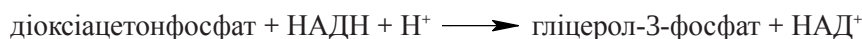
1. Утворення активованої форми гліцеролу — *гліцерол-3-фосфату* (α -гліцерофосфату).

Цей процес може відбуватися за одним із двох механізмів:

1.1. Шляхом фосфорилування гліцеролу за участю ферменту *гліцеролфосфокинази* (див. також главу 14, розділ 14.3):



1.2. Шляхом відновлення діоксіацетонфосфату — інтермедиату гліколітичного розщеплення глюкози. Реакція каталізується НАДН-залежною *гліцерол-3-фосфат-дегідрогеназою* (α -гліцерофосфатдегідрогеназою):



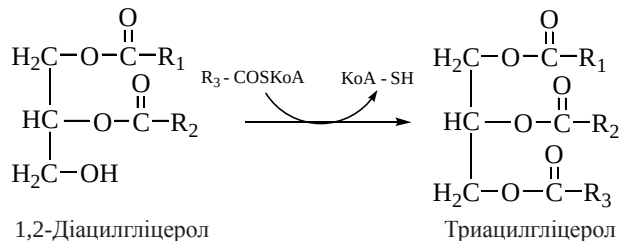
2. Ацилювання гліцерол-3-фосфату з утворенням *фосфатидної кислоти* за рахунок двох молекул активованих жирних кислот — ацил-КоА. Процес відбувається в два етапи:

2.1. Перше ацилювання за участю ферменту *гліцерол-3-фосфатацилтрансферази* з утворенням *1-ацилгліцерол-3-фосфату* (лізофосфатидату).

2.2. Друге ацилювання за участю ферменту *1-ацилгліцерол-3-фосфатацилтрансферази* з утворенням *1,2-діацилгліцерол-3-фосфату* (фосфатидної кислоти).

У цьому ацилюванні бере участь залишок ненасиченої жирної кислоти.

3. Гідроліз фосфатидної кислоти до 1,2-діацилгліцеролу (дигліцериду) за участю ферменту *фосфатидат-фосфогідролази*:



4. Ацилювання 1,2-діацилгліцеролу третьою молекулою ацил-КоА (фермент *діацилгліцерацилтрансфераза*) з утворенням триацилгліцеролу.

Особливості біосинтезу триацилгліцеролів в адипоцитах

У жировій тканині практично відсутній фермент *гліцеролфосфокіназа*, тому головним джерелом гліцерол-3-фосфату в адипоцитах є реакція відновлення діоксiacетонфосфату, що постачається за рахунок гліколітичного розщеплення глюкози.

Таким чином, ліпогенез у жировій тканині суттєво залежить від постачання адипоцитів глюкозою. Оскільки проникність мембран адипоцитів для глюкози є інсулін-залежною, нормальне вироблення підшлунковою залозою інсуліну є важливою передумовою біосинтезу триацилгліцеролів в адипоцитах.

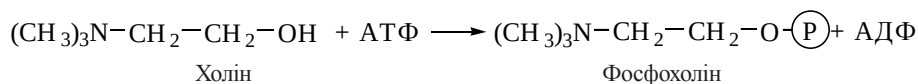
15.3. БІОСИНТЕЗ ФОСФОГЛІЦЕРИДІВ

Фосфогліцериди (гліцерофосфоліпіди) — фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін, фосфатидилсерин і кардіоліпін належать до структурних ліпідів, що складають ліпідний матрикс біологічних мембран. Це — складні ліпіди, побудовані на основі гліцеролу, тому перші етапи їх біосинтезу є однаковими з розглянутими вище ферментативними реакціями утворення триацилгліцеролів, а саме:

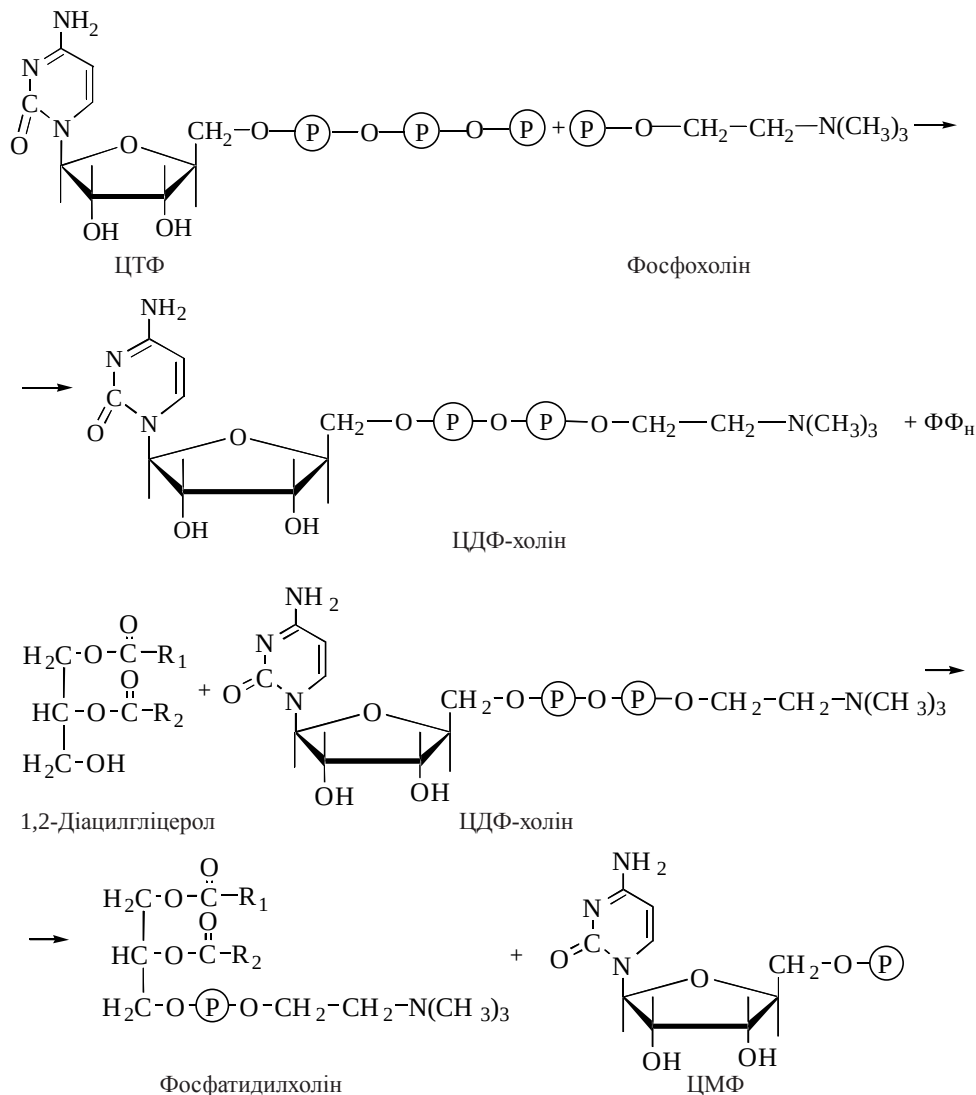


Після утворення фосфатидної кислоти реакції синтезу триацилгліцеролів та фосфогліцеридів дивергують. Розглянемо схему синтезу найбільш поширених мембранних фосфогліцеридів на прикладі утворення *фосфатидилхоліну* та *фосфатидилетаноламіну*.

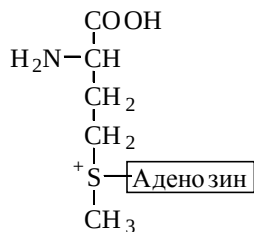
У разі біосинтезу зазначених фосфогліцеридів до 1,2-діацилгліцеролу, що утворюється в результаті гідролізу фосфатидної кислоти, приєднується гідрофільна голівка, яка містить аміноспирт (холін або етаноламін). Особливістю процесу є використання в реакції активованих форм аміноспиртів — комплексів холіну



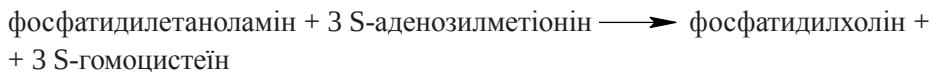
(етаноламіну) з нуклеозиддифосфатом ЦДФ, які утворюються за рахунок таких реакцій:



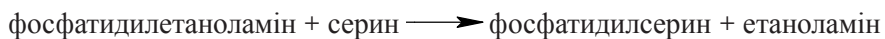
- 1) активації холіну (етаноламіну) шляхом АТФ-залежного фосфорилування аміноспирту;
- 2) взаємодії фосфохоліну (або фосфоетаноламіну) з нуклеозидтрифосфатом ЦТФ з утворенням ЦДФ-холіну (ЦДФ-етаноламіну);
- 3) взаємодії ЦДФ-холіну (ЦДФ-етаноламіну) з 1,2-діацилгліцеролом з утворенням фосфатидилхоліну (фосфатидилетаноламіну).



Альтернативним шляхом утворення фосфатидилхоліну є метилювання етаноламіну, що входить до складу фосфатидилетаноламіну. За донора метильних груп в реакції править амінокислота метіонін у формі S-аденозилметіоніну:



Фосфатидилсерин утворюється в реакції, що є обміном гідрофільних радикалів при взаємодії фосфатидилетаноламіну й серину:



Загальну схему біосинтезу триацилгліцеролів і фосфогліцеридів подано на рис. 15.3.

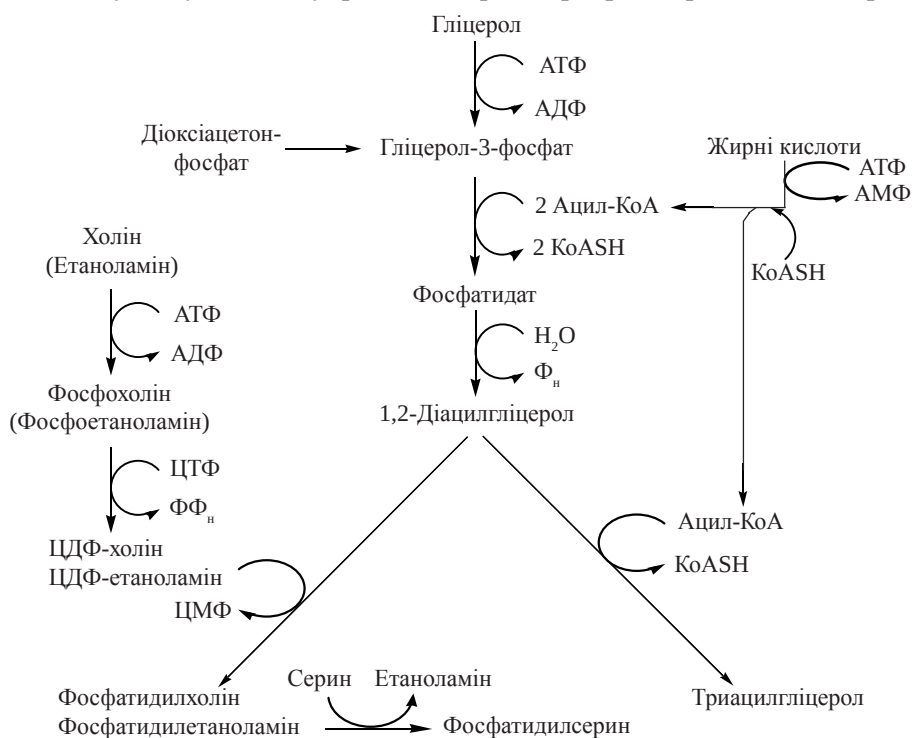
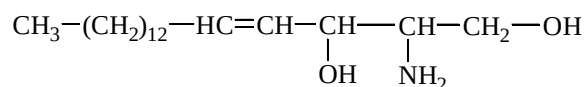


Рис. 15.3. Метаболічна карта шляхів синтезу триацилгліцеролів і фосфогліцеридів.

15.4. МЕТАБОЛІЗМ СФІНГОЛІПІДІВ. СФІНГОЛІПІДОЗИ

Сфінголіпіди — складні ліпіди біологічних мембран, що побудовані на основі високомолекулярного спирту *сфінгозину*. Ці ліпіди — *сфінгомієліни* та *гліко-сфінголіпіди* в найбільшій кількості наявні в структурах центральної та периферичної нервової системи, зокрема в мієлінових оболонках нервів.

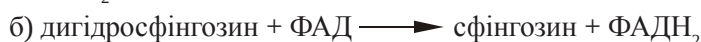
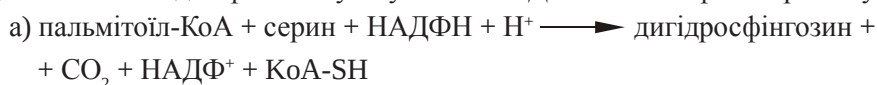


У даному розділі будуть висвітлені основні біохімічні етапи утворення сфінголіпідів та їх молекулярні порушення (ензимопатії), що мають надзвичайно важливе клінічне значення.

Біосинтез сфінголіпідів

Утворення сфінгозину

Для синтезу високомолекулярного аліфатичного аміноспирту сфінгозину використовуються вуглеводневий радикал пальмітату й залишок амінокислоти серину. Реакція каталізується ферментом, залежним від піридоксальфосфату (вітаміну B₆), і потребує дії НАДФН-залежної дегідрогенази; дигідросфінгозин, що утворюється, окислюється до сфінгозину за участю ФАД-залежного флавопротеїну:



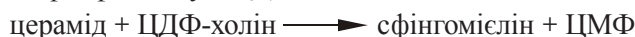
Утворення N-ацилсфінгозинів (церамідів)

Цераміди є базовою молекулярною структурою всіх сфінголіпідів. Вони утворюються шляхом N-ацилювання аміногрупи сфінгозину певною високомолекулярною жирною кислотою:



Утворення сфінгомієлінів

Сфінгомієліни — молекулярні структури, що утворюються шляхом приєднання фосфохоліну до керамідів, які містять у своєму складі залишки різних жирних кислот. Донором фосфохоліну є ЦДФ-холін:

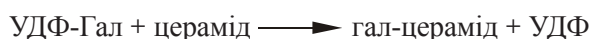


Утворення глікосфінголіпідів

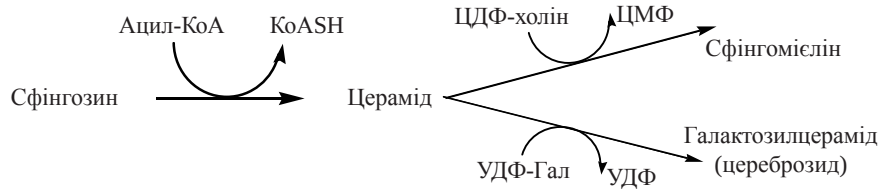
Глікосфінголіпіди — глікозильовані похідні керамідів, які, залежно від будови вуглеводної частини молекули, поділяються на: *цереброзиди* (моногексозиди керамідів), *сульфатиди* (сульфатовані похідні галактоцерамідів), *глобозиди* (олігогексозиди керамідів) та *гангліозиди* (олігосахаридні похідні керамідів, що містять у своєму складі N-ацетилнейрамінову кислоту) (глава 5). **Основною біологічною функцією глікосфінголіпідів як компонентів зовнішнього шару плазматичних мембран є участь у міжклітинних взаємодіях і контактах.**

Формування молекул *глікосфінголіпідів* здійснюється шляхом послідовного наросування залишків моносахаридів та їх похідних на CH₂OH-групи керамідів (N-ацилсфінгозинів).

Донорами вуглеводів у цих реакціях є нуклеотидцукри; ферменти, що каталізують глікозильовання керамідів — *глікозилтрансферази* мембран ендоплазматичного ретикулума й апарату Гольджі. Наприклад, утворення *галактозилцераміду* (*галактоцереброзиду*) відбувається згідно з реакцією (глава 13, розділ 13.4):



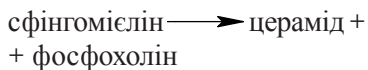
Послідовність реакцій біосинтезу сфінголіпідів можна подати у вигляді такої схеми:



Катаболізм сфінголіпідів

Катаболізм сфінголіпідів здійснюється шляхом послідовного розщеплення їх молекул за участю лізосомальних гідролаз.

1. Сфінгом'єліни розщеплюються до цераміду та фосфохоліну за участю *сфінгом'єлінази*:



2. Глікосфінголіпід. Розщеплення глікосфінголіпідів починається із поступового відщеплення моносахаридних залишків від олігосахаридного кінця молекул.

Схему гідролітичного розщеплення глікосфінголіпідів G_{M2} та G_{M1} подано на рис. 15.4. Конкретні послідовності реакцій можуть відрізнятися, залежно від особливостей будови олігосахаридної частини глікосфінголіпиду. Сфінгозин, що утворюється в результаті цих реакцій, розпадається до фосфоетаноламіну та довголанцюгового альдегіду.

На схемі подані сіаловані гангліозиди (тобто такі, що зв'язані з N-ацетилнейраміновою кислотою — NeuAc).

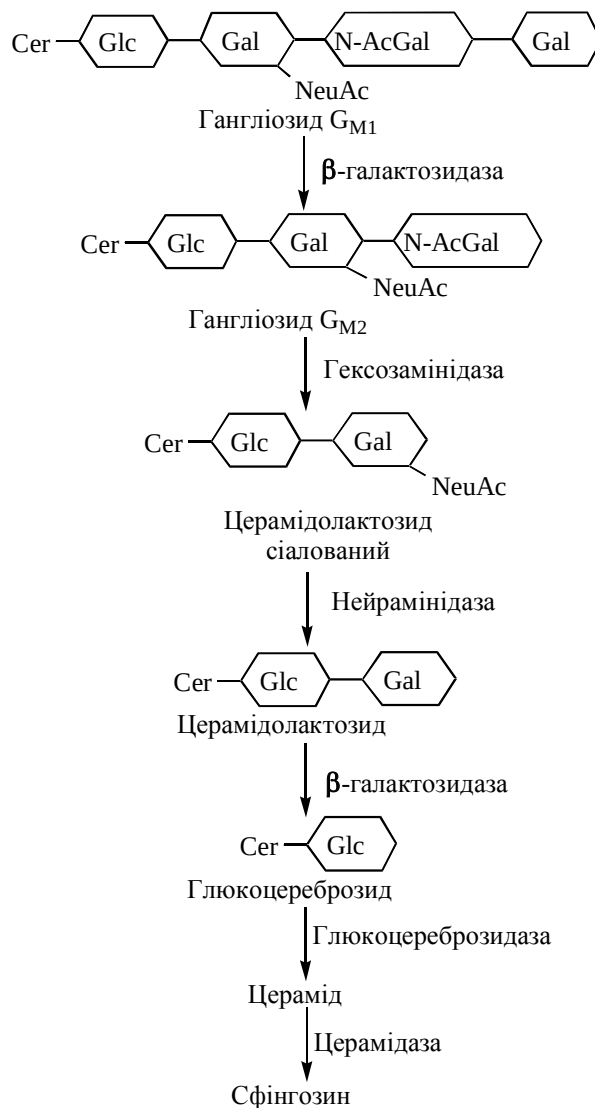


Рис. 15.4. Послідовність етапів катаболізму глікосфінголіпідів.

Генетичні аномалії метаболізму сфінголіпідів

Спадкові хвороби, пов'язані з аномальним накопиченням в головному мозку та інших тканинах сфінголіпідів та продуктів їх метаболізму, структурним компонентом яких є *цераміди*, отримали назву *сфінголіпідозів*. Сфінголіпідози є ензимопатіями з класу *ліпідозів*, що, подібно до *глікозидозів* (глава 13), належать до “лізосомальних хвороб”, спричинених генетичними дефектами в синтезі певних гідролітичних ферментів катаболізму складних біомолекул.

Найбільш поширеними є такі сфінголіпідози:

Хвороба Німана-Піка — сфінголіпідоз, спричинений порушенням синтезу *сфінгомієлінази*, що супроводжується накопиченням у головному мозку, селезінці та печінці хворих *сфінгомієліну*. Хвороба призводить до затримки психічного розвитку та смерті в ранньому дитячому віці.

Хвороба Тея-Сакса (гангліозидоз G_{M2}) — генетична хвороба, спричинена дефектом у синтезі *гексозамінідази*, що відщеплює термінальний N-ацетилгалактозамін від *гангліозиду G_{M2}* , який в аномальних кількостях накопичується в головному мозку. Хвороба проявляється затримкою розумового розвитку, сліпотю, неврологічними розладами, макроцефалією; смерть хворих дітей звичайно настає у віці 3-4 років. Цей сфінголіпідоз найбільш поширений серед етнічних євреїв — вихідців із Центральної та Східної Європи, де частота хвороби, зокрема в популяції єврейського населення США, досягає 1 випадку на 3600 новонароджених.

Гангліозидоз G_{M1} — сфінголіпідоз, що спричиняється порушенням синтезу лізосомальної β -*галактозидази*, яка відщеплює термінальний залишок галактози в гангліозиді G_{M1} і кератансульфатах (таблиця 13.3) із накопиченням у нервовій системі відповідних сполук. За клінічною картиною гангліозидоз — хвороба, близька до хвороби Тея-Сакса.

Хвороба Гоше (глюкоцереброзидний ліпідоз) — сфінголіпідоз, генетичний дефект при якому полягає в недостатньому синтезі *глюкоцереброзидази* — ферменту, що відщеплює залишок глюкози від молекул *глюкоцереброзидів*, які накопичуються в ретикулоендотеліальній системі. Патологія має поліморфну клінічну картину і проявляється спленомегалією, збільшенням печінки, ураженням кісткової тканини, нейропатіями.

ГЛАВА 16. МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ

ІІІ. ОБМІН ХОЛЕСТЕРИНУ. ТРАНСПОРТ ЛІПІДІВ

Важливе місце у фізіології та патології людини посідає метаболізм ліпідів із класу стероїдів. Холестерол (холестерин) — основний представник стеринів тваринного походження, транспорт та біотрансформація якого пов'язані з обміном інших стероїдів, є сполукою, необхідною для нормального функціонування клітин, підтримання фізичного стану біомембран, утворення речовин гормональної дії. Порушення транспорту холестерину та триацилгліцеролів є передумовою виникнення багатьох важких хвороб людини.

16.1. БІОСИНТЕЗ ХОЛЕСТЕРИНУ

Холестерин — стероїд, що виконує важливі структурні та регуляторні функції, входячи до складу біомембран та виступаючи попередником у синтезі фізіологічно активних сполук різних класів. Джерелами холестерину для організму людини є його біосинтез і надходження з продуктами харчування тваринного походження.

Усього за добу в організмі дорослої людини синтезується в середньому від 0,5 до 1,0 г холестерину, з їжею надходить 0,3-0,5 г (в деяких випадках — до 1,0-1,2 г) холестерину. Здатність до синтезу холестерину мають усі клітини тваринного походження, за винятком зрілих еритроцитів. Проте найбільша кількість ендогенного холестерину (від 50 до 80 %) синтезується в печінці, решта стеролу утворюється в кишечнику (10-15 %) та в шкірі (близько 5 %). Саме в клітинах печінки та слизової оболонки кишечника стерол синтезується не тільки для власних потреб, а й “на експорт”.

Попередником у біосинтезі холестерину є ацетил-КоА, який утворюється при окисленні глюкози за рахунок окислювального декарбоксилювання пірувату або при β -окисленні жирних кислот.

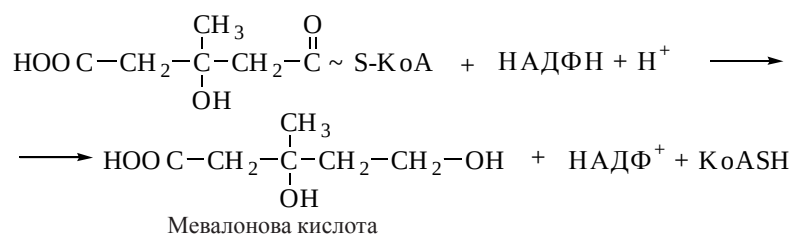
Ферментативні реакції синтезу холестерину

Біосинтез холестерину відбувається в цитозолі клітин і його перші етапи полягають в утворенні з ацетил-КоА β -гідрокси- β -метилглутарил-КоА (β -ГОМК) за механізмами, що були розглянуті в главі 14:



При спрямованості процесу в бік біосинтезу кетонів тіл β -ГОМК розщеплюється мітохондріальною ліазою з утворенням ацетоацетату. В разі вступу β -ГОМК на метаболічний шлях біосинтезу холестерину відбуваються такі біохімічні реакції:

1. Відновлення β -ГОМК з утворенням *мевалонової кислоти*. Реакція каталізується НАДФН-залежною β -ГОМК-редуктазою:

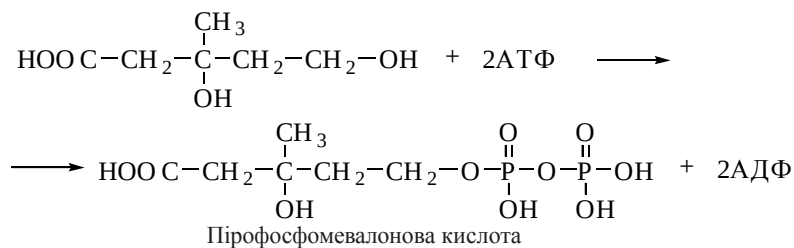


β-ГОМК-редуктаза є регуляторним ферментом, активність якого гальмується кінцевим продуктом цього біосинтетичного шляху — холестерином (ендогенного або екзогенного, дієтарного походження).

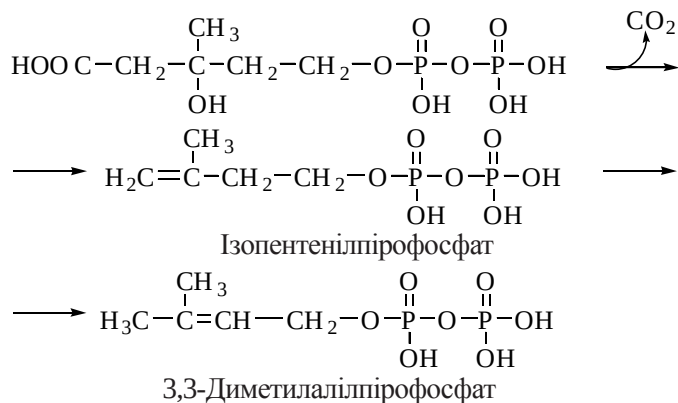
2. Утворення з мевалонової кислоти ізопреноїдних одиниць.

Процес відбувається в декілька стадій і включає в себе:

2.1. Активацію мевалонату за участю АТФ з утворенням *пірофосфомевалонової кислоти*:



2.2. Декарбоксилування пірофосфомевалонату з утворенням *ізопентеніл-пірофосфату* (“активного ізопрену”) та його ізомерної форми — *3,3-диметилалілпірофосфату*:



3. Конденсація п’ятиуглецевих (5 С) пірофосфорильованих ізопренів з утворенням тридцятиуглецевого (30 С) вуглеводню терпенової структури — *сквалену* (C₃₀H₅₀).

Цей багатостадійний процес включає в себе утворення проміжних метаболітів поліізопреноїдної структури і перебігає за такою схемою:

3.1. 3,3-диметилалілпірофосфат (5 C) + ізопентенілпірофосфат (5 C) $\longrightarrow$ геранілпірофосфат (10 C);

3.2. геранілпірофосфат (10 C) + ізопентенілпірофосфат (5 C) $\longrightarrow$ фарнезилпірофосфат (15 C);

3.3. 2 фарнезилпірофосфат (2 x 15 C) + НАДФН + H⁺ $\longrightarrow$ сквален (30 C)

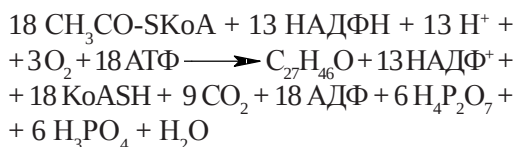
4. Циклізація ізопреноїдного лінійного вуглеводня сквалену з утворенням стероїдних молекул (похідних циклопентанпергідрофенантрени). Попередником холестерину є циклічний вуглеводень *ланостерин*:

4.1. сквален $\longrightarrow$ сквален-2,3-епоксид $\longrightarrow$ ланостерол (ланостерин)

4.2. ланостерол (30 C) $\longrightarrow$ холестерол (27 C)

Зазначені реакції включають у себе процеси епоксидзації, окисного гідроксилування, деметилювання і каталізуються ферментами з класу *монооксигеназ (мікросомальними оксигеназами мішаної функції)*, що включають у себе цитохром Р-450 і потребують наявності НАДФН та кисню.

Сумарне рівняння біосинтезу холестерину (C₂₇H₄₆O) з ацетил-КоА можна подати таким чином:



Загальна схема синтезу холестерину подана на рис. 16.1.

Регуляція біосинтезу холестерину

Лімітуючим етапом у процесі біосинтезу холестерину є реакція утворення мевалонату з β -ГОМК, що каталізується β -ГОМК-редуктазою. Гальмування швидкості процесу здійснюється за принципом негативного зворотного зв'язку, коли накопичення кінцевого продукту анаболічного шляху — холестерину зменшує швидкість його утворення.

Інгібітором ферменту є холестерин або холестериновмісний ліпопротеїн ЛПНЩ (див. нижче). Відповідно до таких механізмів, споживання холестерину з їжею гальмує його утворення в печінці, а безхолестеринова дієта, навпаки, активує ендогенний синтез холестерину в гепатоцитах.

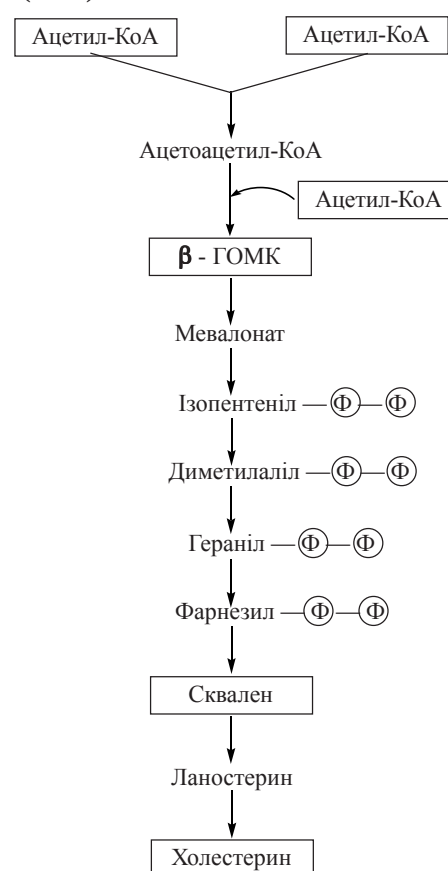


Рис. 16.1. **Метаболічна карта біосинтезу холестерину.**

Молекулярні механізми регуляції β -ГОМК-редуктазної реакції включають у себе як ковалентну модифікацію ферменту (фосфорильована форма — неактивна, а дефосфорильована — активна), так і вплив біохімічних модуляторів на швидкість синтезу (ферментна індукція) або деградацію ферменту.

Інсулін та гормони щитовидної залози збільшують активність β -ГОМК-редуктази, а глюкагон та глюкокортикоїди — зменшують.

16.2. БІОТРАНСФОРМАЦІЯ ХОЛЕСТЕРИНУ

Холестерин, що синтезувався в організмі, або надійшов із продуктами харчування, підлягає численним метаболічним перетворенням — *біотрансформації*, в результаті чого утворюються біологічно активні сполуки стероїдної природи, а також створюються умови для екскреції надлишків стеролу.

Першим етапом перетворення вільного холестерину є утворення його ефірів — холестеридів; збільшення активності реакцій біосинтезу холестерину супроводжується зростанням швидкості його етерифікації.

Етерифікація холестерину

Переважає частина холестерину тканин і близько 65 % холестерину плазми етерифіковано вищими жирними кислотами в положенні С-3. Синтез ефірів холестерину в плазмі крові та в клітинах відбувається за різними механізмами.

1. Зовнішньоклітинна етерифікація холестерину здійснюється ферментом *лецитин (фосфатидилхолін)-холестерин-ацилтрансферазою (ЛХАТ)* плазми. ЛХАТ каталізує реакцію перенесення ацильного залишку з 2-го (β -) положення фосфатидилхоліну на гідроксильну групу холестерину:

холестерол + фосфатидилхолін $\longrightarrow$ холестерол-ефір + лізофосфатидилхолін

Для етерифікації холестерину використовуються ненасичені жирні кислоти: лінолева $C_{18:2}$ (переважно) та олеїнова $C_{18:1}$. Найбільш активно реакція відбувається в ліпопротеїнах крові ЛПВЩ (див. розділ 16.3).

2. Внутрішньоклітинна етерифікація холестерину перебігає за участю *ацил-КоА-холестерин-ацилтрансферази (АХАТ)*:

холестерол + ацил-КоА $\longrightarrow$ холестерол-ефір + КоА-SH

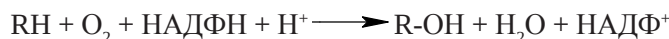
АХАТ використовує для етерифікації холестерину ацил-КоА різної природи, найбільш активно — залишки олеїнової кислоти. Фермент локалізований у мембранах ендоплазматичного ретикулума (мікросомній фракції) клітин печінки та інших органів — надниркових залоз, кишечника, шкіри тощо. Фізіологічною функцією АХАТ є створення внутрішньоклітинних резервів холестерину, який після деетерифікації спеціальними естеразами, може використовуватися для синтезу жовчних кислот, стероїдних гормонів надниркових залоз, секс-гормонів, вітаміну D_3 та його похідних.

Шляхи біотрансформації холестерину

Біотрансформація холестерину в інші біологічно активні сполуки стероїдної природи здійснюється за рахунок введення в молекулу стеролу додаткових

гідроксильних груп та реакцій модифікації в бічному ланцюзі. Реакції окисного гідроксилювання стероїдів каталізуються ферментами *монооксигеназами* (*оксигеназами мішаної функції*).

Сумарне рівняння процесу окисного гідроксилювання холестерину (RH), який відбувається при синтезі його біологічно активних похідних, має вигляд:



Процес перебігає за участю цитохрому Р-450 у мембранах ендоплазматичного ретикулу гепатоцитів (“мікросомальне окислення”) або в мітохондріях наднирникових залоз та клітин статевих залоз.

1. Біосинтез жовчних кислот.

У гепатоцитах холестерин перетворюється на *жовчні кислоти* — важливі компоненти жовчі, що беруть участь у перетравленні харчових жирів у кишечнику людини і тварин.

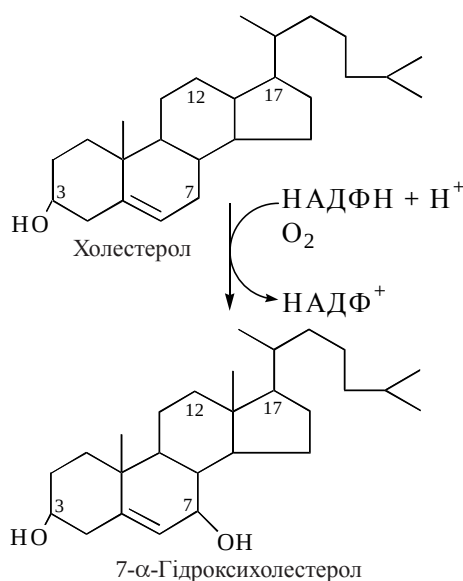
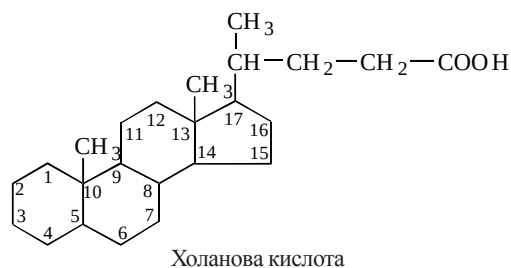
Жовчні кислоти є гідроксильованими похідними *холанової кислоти*; до них належать такі сполуки: *холева* (3,7,12-триоксихоланова), *дезоксихолева* (3,12-діоксихоланова), *хенодезоксихолева* (3,7-діоксихоланова) та *літохолева* (3-оксихоланова) кислоти.

Холева та хенодезоксихолева кислоти (*первинні жовчні кислоти*) утворюються в печінці при гідроксилюванні циклопентанпергідрофенантренового циклу та частковому окисненні в боковому ланцюзі молекули холестерину.

Першим етапом у біосинтезі жовчних кислот є **7 α -гідроксилювання** холестерину, що каталізується ферментом мембран ендоплазматичного ретикулу **7 α -гідроксилазою**, який є однією з ізоформ цитохрому Р-450 та функціонує за участю НАДФН, кисню та вітаміну С (аскорбінової кислоти).

7 α -Гідроксилаза — регуляторний фермент, що є активним у фосфорильованій і малоактивним — в дефосфорильованій формі. Жовчні кислоти — кінцеві продукти цього метаболічного шляху — пригнічують активність ферменту за принципом негативного зворотного зв'язку.

Після утворення **7 α -гідроксихолестеролу** шлях біосинтезу жовчних кислот дихотомічно розгалужується: одна з гілок веде до утворення холевої кислоти,



друга — хенодезоксихолевої. Ці сполуки надходять із гепатоцитів у жовчні капіляри і депонуються в жовчному міхурі, надходячи з нього до порожнини дванадцятипалої кишки. При дії ферментів мікроорганізмів, що містяться в кишечнику, утворюються *вторинні* жовчні кислоти — дезоксихолева та літохолева (рис. 16.2):

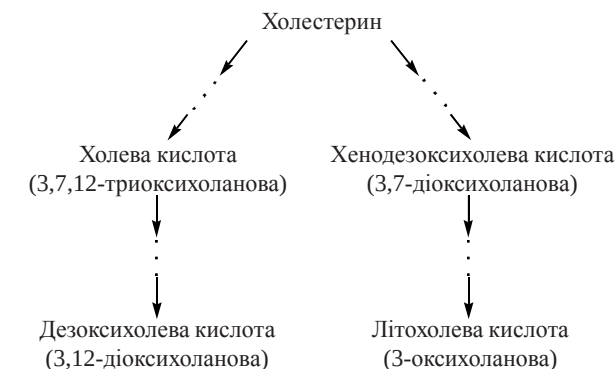
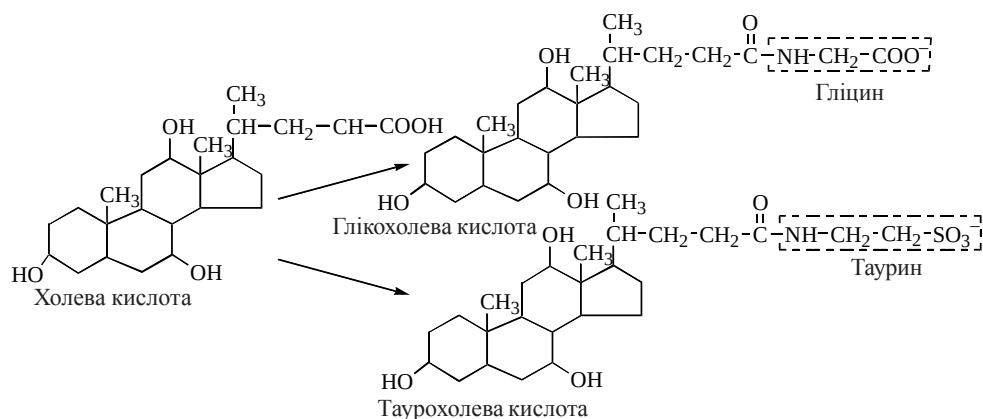


Рис. 16.2. Схема утворення жовчних кислот із холестерину.

Основним, щодо кількості, представником жовчних кислот у жовчі людини є холева кислота, яка бере участь в емульгуванні жирів у кишечнику у вигляді натрієвої та калієвої солей її кон'югованих форм — *глікохолевої* та *таурохолевої* кислот. Глікохолат і таурохолат містять в своїй структурі гідрофільні (радикали гліцину та таурину) та гідрофобні (стероїдне ядро) молекулярні групи, і завдяки своїй амфіпатичній будові є високоактивними детергентами, що необхідні для емульгування жирів у кишечнику.



Холева кислота та її кон'юговані форми — глікохолат і таурохолат.

2. Біосинтез стероїдних гормонів

Стероїдні гормони містять у своєму складі 21 (кортикоїди, прогестерон) і менше (19 — андрогени, 18 — естрогени) атомів вуглецю, тому їх утворення з C_{27} -стероїду холестерину включає, крім окисного гідроксилування, і розщеплення вуглеводного бічного ланцюга, реакції окислення, відновлення та ізомеризації.

Першим етапом на шляху синтезу з холестерину стероїдних гормонів надниркових залоз (кортикостероїдів) є утворення C_{21} -стероїду *прегненолону* — безпосереднього попередника прогестагену *прогестерону* (C_{21}), який у клітинах надниркових залоз перетворюється на кортикостероїди (C_{21}): глюкокортикоїд *кортизол* та мінералокортикоїд *альдостерон*.

Гормони чоловічих та жіночих статевих залоз також утворюються з холестерину через стадію прегненолону та прогестерону, який у цих органах перетворюється в *17- α -гідроксипрогестерон* — попередник андрогену (C_{19}) — *тестостерону* та естрогенів (C_{18}) — *естрону* та *естрадіолу*.

3. Біосинтез вітаміну D_3 .

Перетворення холестерину у вітамін D_3 — холекальциферол — потребує розщеплення кільця циклопентанпергідрофенантрени з утворенням провітаміну D_3 , який підлягає реакціям окисного гідроксилювання з утворенням біологічно активної форми вітаміну — *1,25-дигідроксихолекальциферолу* (*кальцитріолу*). Більш детально процес біосинтезу вітаміну D_3 та його активних форм буде розглянутий у главі 25.

Схему біотрансформації холестерину з утворенням жовчних кислот та біологічно активних стероїдів подано на рис.16.3.

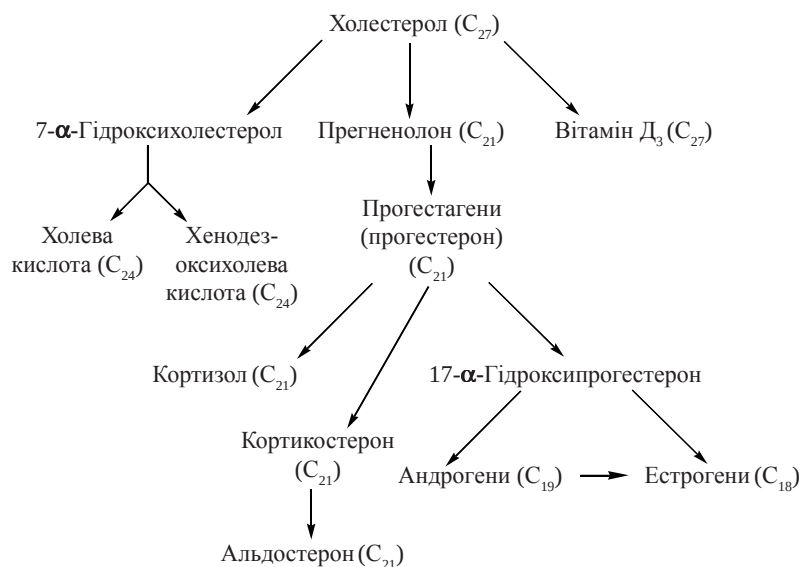


Рис. 16.3. Метаболічна карта біотрансформації холестерину.

Екскреція холестерину з організму

За рахунок ендогенного синтезу та всмоктування з кишечника пул холестерину в організмі міг би щодобово збільшуватися приблизно на 1 г. Цьому протидіють реакції виведення холестерину з обміну шляхом його перетворення в інші стероїди та екскреції з організму з фекаліями.

Шляхи екскреції холестерину:

1. Виведення у формі жовчних кислот. В організмі постійно циркулює (в процесі enteroгепатичної циркуляції) близько 3-5 г жовчних кислот; певна частина цієї кількості (до 500 мг/добу) не всмоктується і виводиться з організму.

2. Виведення у формі *копростанолу* — продукту, що утворюється з холестерину в нижньому відділі кишечника під дією ферментів кишкової мікрофлори. Цим шляхом екскретується та частина холестерину, яка не абсорбується в кишечнику.

3. Виведення у формі нейтральних стероїдів — кінцевих метаболітів стероїдних гормонів.

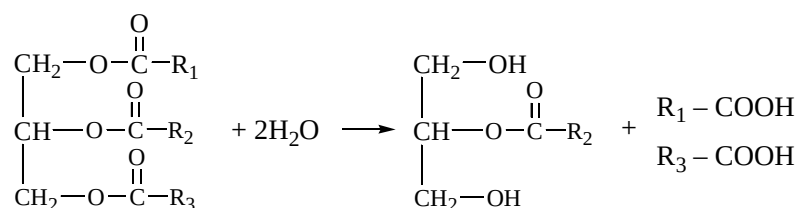
Порушення динамічної рівноваги між процесами, що постачають холестерин та виводять його з організму, призводить до надмірного накопичення стеролу в клітинах та екстрацелюлярних просторах — клініко-біохімічного синдрому *холестеринозу* (Ю.М.Лопухин, 1983), проявами якого є сімейні (спадкові) гіперхолестеринемії та атеросклероз.

16.3. ТРАНСПОРТ ТА ДЕПОНУВАННЯ ЛІПІДІВ. ЛІПОПРОТЕЇНИ ПЛАЗМИ. ГІПЕРЛІПОПРОТЕЇНЕМІЇ

Із продуктами харчування до організму людини надходять ліпіди різних класів, а саме: триацилгліцероли (що складають основну масу харчових жирів); вільний холестерин та його ефіри з жирними кислотами (холестеридами); складні ліпіди (переважно гліцерофосфоліпіди).

Детально біохімічні механізми перетравлення ліпідів різних класів у шлунково-кишковому тракті людини будуть подані в главі 26. У даному розділі розглянемо основні процеси, що стосуються біотранспорту триацилгліцеролів та холестерину, який починається з абсорбції цих ліпідів слизовою оболонкою кишечника.

Під дією панкреатичної *ліпази* та за участю *жовчних кислот*, які виробляються в печінці, триацилгліцероли продуктів харчування розщеплюються з утворенням *2-моноацилгліцеролів* (моногліцеридів) та двох молекул вільних жирних кислот, що можна подати таким сумарним рівнянням:



Зазначені продукти гідролізу (вищі жирні кислоти, моногліцериди) абсорбуються клітинами слизової оболонки тонкої кишки (ентероцитами). Холестерин продуктів харчування всмоктується у вільному стану, холестериди — після відповідного гідролізу *холестеролестеразою*.

Усередині ентероцитів продукти гідролізу триацилгліцеролів, що всмокталися, беруть участь у двох біохімічних процесах, які є передумовою подальшого

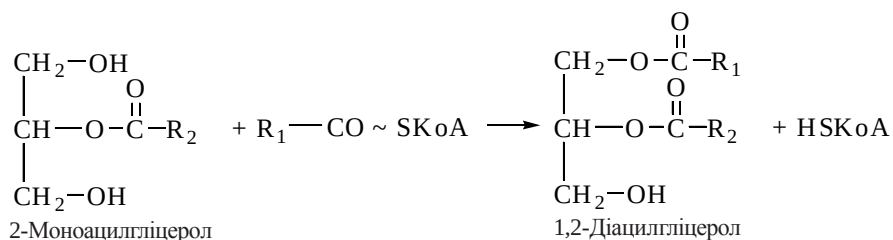
надходження нейтральних жирів у кров, біотранспорту та їх тканинного депо-
нування, а саме:

- реестерифікації вищих жирних кислот з утворенням нових молекул триацилгліцеролів;
- формування транспортних форм триацилгліцеролів — *хіломікронів*.

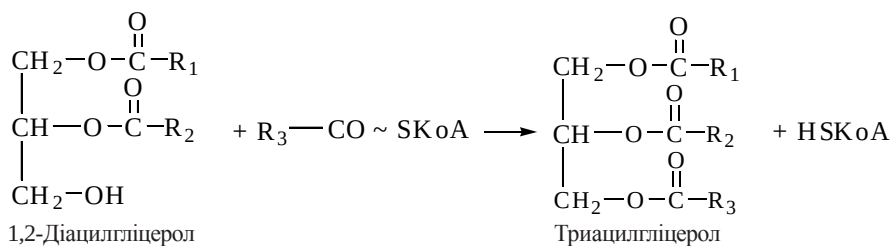
Ресинтез триацилгліцеролів в ентероцитах

Оскільки 2-моноацилгліцероли є основними продуктами гідролізу триацилгліцеролів, що абсорбуються епітеліоцитами кишечника, реестерифікація жирних кислот усередині цих клітин перебігає *моногліцеридним шляхом*, що включає такі реакції:

1. Утворення 1,2-моноацилгліцеролів (реакція каталізується кишковим ферментом *моноацилгліцерол-ацилтрансферазою*):



- ## 2. Утворення триацилгліцеролів за участю діацилгліцерол-ацилтрансферази:



Утворення хіломікронів

Триацилгліцероли ресинтезуються в ендоплазматичному ретикулумі мукозних клітин тонкої кишки. Вони утворюють ультрамікроскопічні краплинки, вкриті шаром поверхнево активних білків та фосфоліпідів. Ці структури отримали назву *хіломікронів*. До складу хіломікронів входять також вільний і етерифікований холестерин.

Хіломікрони є основною молекулярною формою, у вигляді якої нейтральні жири (триацилгліцероли) проходять через латеральну мембрану ентероцитів і через систему лімфатичних судин (*лактеалей*) потрапляють у лімфатичний протік, а потім — у кров (через v.subclavia sin.).

Ліпопротеїни плазми крові

Крім хіломікронів, кров людини містить декілька класів комплексів ліпідів із білками, що виконують функції міжорганного транспорту ліпідів — транспортні

ліпопротеїни плазми крові. Транспортні ліпопротеїни є фізико-хімічною формою, за допомогою якої гідрофобні молекули ліпідів утримуються в стабільному стані у гідрофільному (водно-сольовому) середовищі плазми крові.

Фракціонування ліпопротеїнів крові людини здійснюється за допомогою методу ультрацентрифугування плазми в сольових розчинах, під час якого відбувається диференційоване спливання — *флотація* різних класів ліпопротеїнів, залежно від розмірів їх часточок та щільності. Ліпопротеїни можна також розділити методом електрофорезу, при якому вони пересуваються разом із певними класами глобулінів (α -, β -ліпопротеїни тощо).

За основу сучасної клініко-біохімічної класифікації ліпопротеїнів плазми крові людини взято їх розділення за умов ультрацентрифугування. Існує певна відповідність між класами ліпопротеїнів, що розділяються при застосуванні зазначених двох методів фракціонування.

Основні класи ліпопротеїнів плазми крові:

- хіломікрони (ХМ);
- ліпопротеїни дуже низької щільності (ЛПДНЩ), або *пре- β -ліпопротеїни*;
- ліпопротеїни проміжної щільності (ЛППЩ);
- ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ), або β -ліпопротеїни;
- ліпопротеїни високої щільності (ЛПВЩ), або α -ліпопротеїни.

Зазначені класи ліпопротеїнів розрізняються за своїми фізико-хімічними характеристиками (табл. 16.1), біохімічним (ліпідним, білковим) складом та фізіологічними функціями.

Таблиця 16.1. Фізичні властивості ліпопротеїнів плазми крові людини

Клас ліпопротеїнів	Щільність (г/мл)	Діаметр часточок (нм)
Хіломікрони	< 0,95	100-1 000
ЛПДНЩ	0,95-1,006	25-75
ЛППЩ	1,006-1,019	25
ЛПНЩ	1,019-1,063	20-28
ЛПВЩ	1,063-1,210	5-13

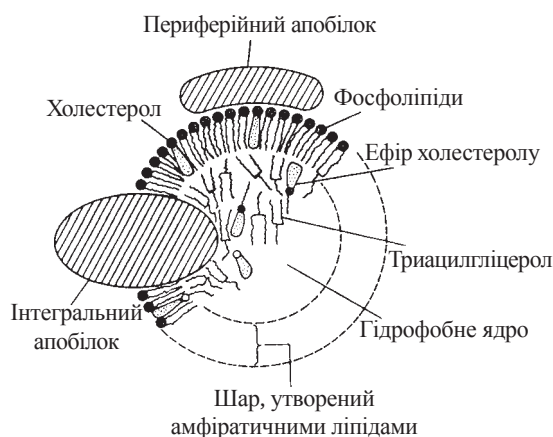


Рис.16.4. Схема будови ліпопротеїнів плазми крові.

За своєю молекулярною будовою ліпопротеїни плазми крові — це кулеподібні структури — міцели, всередині яких міститься гідрофобна ліпідна серцевина (ядро), що складається переважно з триацилгліцеролів та ефірів холестерину. Гідрофобне ядро вкрите шаром полярних амфіпатичних фосфоліпідів, периферичних та інтегральних білків. Схему молекулярної будови ліпопротеїнів подано на рис. 16.4.

Окремі класи ліпопротеїнів розрізняються також за складом білків, що входять до них. Білки, які входять до складу ліпопротеїнів плазми крові людини, отримали назву *аполіпопротеїнів* (*апопротеїнів*, *апобілків*, *Апо*). Існує п'ять основних сімейств таких білків (А, В, С, D, Е), до яких належать десять основних апопротеїнів: А-1, А-2, А-4, В-48, В-100, С-1, С-2, С-3, D та Е, що входять до складу певних ліпопротеїнів у різних кількісних співвідношеннях (таблиця 16.2).

Таблиця 16.2. Аполіпопротеїни плазми крові людини

<i>Апопротеїн</i>	<i>Класи ліпопротеїнів, до складу яких входять певні апобілки</i>
А-1	ЛПВЩ
А-2	ЛПВЩ
В	ЛПНЩ, ЛПДНЩ
С-1, С-2, С-3	ЛПВЩ, ЛПНЩ, ЛПДНЩ
Д	ЛПВЩ
Е	ЛПВЩ, ЛПНЩ, ЛПДНЩ

Ліпопротеїни певних класів (ЛП) містять у собі різні кількості окремих фракцій ліпідів крові — триацилгліцеролів (ТГ), вільного (X_v) та етерифікованого (X_e) холестерину, фосфоліпідів (ФЛ) — в міжорганному транспорті яких вони беруть активну участь (таблиця 16.3). Ці ліпопротеїни формуються в різних органах, і їх метаболізм має надзвичайне значення в нормальному розподілі та депонуванні нейтральних жирів та холестерину.

Таблиця 16.3. Хімічний склад основних ліпопротеїнів плазми крові людини (%)
(за R.Murray т.і., 1988, L.Stryer, 1995)

ЛП	Білки	Ліпіди (всього)	Фракції ліпідів(% від загальної кількості ліпідів)			Апобілки	
			ТГ	Х			ФЛ
				Всього	Х _в /Х _е		
ХМ	1-2	98-99	88	4	1/3	8	В-48,С,Е
ЛПДНЩ	7-10	90-93	57	23	8/15	20	В-100,С,Е
ЛПНЩ	21	79	14	58	10/48	28	В-100
ЛПВЩ	45	55	18	38	8/30	44	А

Хіломікрони — ліпопротеїни, що утворюються в слизовій оболонці тонкої кишки після внутрішньоклітинного ресинтезу триацилгліцеролів. Вони є молекулярною формою, в якій нейтральні жири та холестерин надходять із ентероцитів у кров через систему лімфатичних судин.

ЛПДНЩ — ліпопротеїни, що також містять значну кількість нейтральних жирів. ЛПДНЩ синтезуються в гепатоцитах і є основною молекулярною формою, в якій триацилгліцероли виходять із печінки у кров та транспортуються в інші органи. Деяка кількість ЛПДНЩ утворюється, подібно до хіломікронів, в ентероцитах під час перетравлення харчових ліпідів і з кишечника надходить у кров.

Хіломікрони та ЛПДНЩ щодобово переносять із кишечника та печінки в різні тканини (жирову та ін.) в середньому 70-150 г нейтральних жирів. У тканинному депонуванні триацилгліцеролів, що транспортуються ліпопротеїнами плазми крові, бере участь *ліпопротеїніліаза* судинного ендотелію різних органів, яка гідролізує нейтральні жири, які входять до складу ХМ та ЛПДНЩ.

Ліпопротеїнліпаза — ферментний білок, адсорбований на глікозамінгліканах поверхні ендотелію і має центр зв'язування ліпопротеїнів крові та каталітичний центр гідролізу триацилгліцеролів. Під дією ліпопротеїнліпази утворюються вільні жирні кислоти та гліцерин, що проникають через судинну стінку всередину клітин, де окислюються з вивільненням енергії (в міоцитах тощо) або депонуються у вигляді резервних триацилгліцеролів (в адипоцитах жирової тканини). Ліпопротеїни, що утворюються внаслідок деліпідизації ХМ та ЛПДНЩ — *залишкові*, або *ремнантні* (remnant — залишок, англ.) *ліпопротеїни*, збагачені (порівняно з ХМ та ЛПДНЩ) вільним та етерифікованим холестерином.

Ремнанти ХМ поглинаються з крові клітинами печінки, які використовують більшість холестерину цих ліпопротеїнів для синтезу жовчних кислот. Ремнанти ЛПДНЩ отримали назву ЛППЩ і є безпосередніми попередниками в утворенні ЛПНЩ.

ЛПНЩ — ліпопротеїни, що утворюються з ЛППЩ (ремнантів ЛПДНЩ) під дією *печінкової ліпази*, локалізованої на люмінальній поверхні ендотеліальних клітин печінки. ЛПНЩ, що утворюються внаслідок цього процесу, містять, на відміну від своїх попередників — ЛПДНЩ та ЛППЩ, значно меншу кількість триацилгліцеролів і відрізняються складом апопротеїнів. Разом з тим, до складу ЛПНЩ входить найбільша кількість холестерину (здебільшого в етерифікованій формі), і вони є **основним класом ліпопротеїнів плазми крові людини, що переносять холестерин**.

ЛПНЩ поглинаються клітинами різних органів за механізмом піноцитозу після взаємодії цих ліпопротеїнів з ЛПНЩ-специфічними рецепторами на плазматичних мембранах. Завдяки наявності означених рецепторів, ЛПНЩ виконують свою функцію основної молекулярної форми транспорту холестерину в тканини.

Біологічна роль рецепторів ЛПНЩ полягає в забезпеченні всіх клітин організму достатньою кількістю холестерину, необхідного для побудови біологічних мембран та синтезу фізіологічно активних продуктів біотрансформації холестерину — жовчних кислот, статевих гормонів, кортикостероїдів. Відповідно до зазначеного, найбільша кількість рецепторів ЛПНЩ міститься на плазматичних мембранах клітин печінки, статевих та надниркових залоз.

Порушення обміну ЛПНЩ є біохімічною основою ряду важких порушень ліпідного обміну. Оскільки холестерин може проникати в судинну стінку саме у складі ЛПНЩ, висока концентрація цих ліпопротеїнів у плазмі крові людини розглядається як фактор, що сприяє розвитку атеросклерозу (див. нижче). Генетично спадковане порушення синтезу рецепторів ЛПНЩ призводить до розвитку *сімейної гіперхолестеринемії (СГХ)*, яка проявляється накопиченням ЛПНЩ у плазмі та вираженою гіперхолестеринемією вже в ранньому дитячому віці. За відкриття рецепторів ЛПНЩ та розв'язання молекулярних механізмів виникнення СГХ американським ученим М. Брауну та Дж. Гольдштейну (M. Brown, J. Goldstein) було присуджено Нобелівську премію 1985 р. в галузі фізіології та медицини.

ЛПВЩ — ліпопротеїни, що утворюються в печінці й, частково, у тонкій кишці у вигляді бішарових ліпідних дисків, що складаються, переважно, з фосфоліпідів, вільного холестерину та апобілків Апо Е та Апо С. Дозрівання ліпопротеїнів відбувається в крові, де Апо Е та Апо С замінюються на Апо А, холестерин

етерифікується за участю *лецитин-холестерол-ацилтрансферази*, і ліпопротеїнові часточки набувають сферичної форми. За особливостями свого хімічного складу ЛПВЩ поділяються на підкласи — ЛПВЩ₂ та ЛПВЩ₃.

Подібно до ЛПНЩ, ЛПВЩ здатні до активного обміну свого холестерину з холестерином, що входить до складу біомембран. При цьому виникають протилежно спрямовані потоки холестерину: тоді як ЛПНЩ постачають холестерин у клітинні мембрани, ЛПВЩ, навпаки, — витягують на себе мембранний холестерин. Таким чином, за допомогою ЛПВЩ забезпечується протидія надмірному накопиченню холестерину в клітинах, у зв'язку з чим ЛПВЩ розглядаються як *антиатерогенні* ліпопротеїни. Катаболізм ЛПВЩ також відбувається в печінці.

Гіперліпопротеїнемії

Гіперліпопротеїнемія — клініко-біохімічний синдром, при якому в плазмі крові людини спостерігається підвищення (порівняно з нормою для певної популяції) концентрації певних класів ліпопротеїнів, а також триацилгліцеролів та холестерину.

За механізмом походження виділяють:

— *первинні (спадкові) гіперліпопротеїнемії*, тобто такі, що спричинені генетичними дефектами в синтезі певних ферментів обміну ліпідів крові (зокрема, ліпопротеїнілази, холестерол-ацилтрансферази) або неферментних білків — порушеннями в синтезі певних апопротеїнів, рецепторів для апобілків та ліпопротеїнів (зокрема ЛПНЩ);

— *вторинні (набуті) гіперліпопротеїнемії* — гіперліпопротеїнемії, що розвиваються внаслідок певних хвороб внутрішніх органів (гепатит, цироз печінки, нефроз), ендокринопатій (порушення функції щитовидної залози, статевих залоз, цукровий діабет), дії пошкоджуючих факторів середовища (хронічний алкоголізм).

Сучасна класифікація гіперліпопротеїнемій, запропонована ВООЗ, бере до уваги клініко-біохімічні характеристики порушень ліпідного обміну у людини (зокрема концентрації ЛПНЩ, ЛПДНЩ, триацилгліцеролів та холестерину) без врахування причин їх розвитку (первинних (генетичних) або вторинних). Згідно з класифікацією ВООЗ, виділяють п'ять основних типів гіперліпопротеїнемій (I, II, III, IV, V) та два субтипи (IIa та IIb) — таблиця 16.4.

Т а б л и ц я 16.4. Класифікація гіперліпопротеїнемій за ВООЗ (за G.Thompson, 1991)

Тип	Ліпопротеїни	Холестерин плазми	Холестерин ЛПНЩ	Триацилгліцероли плазми
I	Надлишок ХМ	Підвищений	Підвищений або в нормі	Підвищені
IIa	Надлишок ЛПНЩ	Підвищений або в нормі	Підвищений	В нормі
IIb	Надлишок ЛПНЩ та ЛПДНЩ	Підвищений	Підвищений	Підвищені
III	Надлишок ремнантів ХМ та ЛПНЩ	Підвищений	Підвищений або в нормі	Підвищені
IV	Надлишок ЛПДНЩ	Підвищений або в нормі	В нормі	Підвищені
V	Надлишок ХМ та ЛПДНЩ	Підвищений	В нормі	Підвищені

Прикладами первинних гіперліпопротеїнемій, що можуть бути віднесені до певних типів порушень обміну ліпопротеїнів, за класифікацією ВООЗ, є:

- сімейна гіпертригліцеридемія (сімейна хіломікронемія) — тип I;
- сімейна гіперхолестеринемія (сімейна гіпербеталіпопротеїнемія) — тип II;
- сімейна дисбеталіпопротеїнемія — тип III;
- сімейна гіперпребеталіпопротеїнемія — тип IV.

16.4. ПАТОЛОГІЯ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ: АТЕРОСКЛЕРОЗ, ОЖИРІННЯ, ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

Первинні гіперліпопротеїнемії є молекулярними хворобами, що пов'язані з дефектами біосинтезу специфічних білків неферментної дії — аполіпопротеїнів — і мають чітко окреслене генетичне походження. Як такі, спадкові гіперліпопротеїнемії мають відносно низьку частоту в людських популяціях. Поряд із цим, існує поширена група порушень ліпідного обміну, що також характеризуються гіперліпемією, але розвиток яких визначається складними і недостатньо з'ясованими взаємовідносинами між факторами спадковості і умов життя людини, і які є основною причиною захворюваності та смертності більшості населення земної кулі. Це — *атеросклероз, ожиріння та цукровий діабет*, що складають найбільший відсоток так званих “головних хвороб” сучасної людини (В.М.Дильман, 1987).

Атеросклероз

Атеросклероз — хвороба, головним проявом якої є відкладання в судинних стінках ліпідних утворень — “бляшок”, основними біохімічними компонентами яких є холестерин та його ефіри. Навкруги ліпідних бляшок в інтимі судин виникає клітинна реакція, що включає в себе утворення фіброзної тканини та проліферацію гладенько-м'язових клітин. Атеросклеротичні бляшки спричиняють звуження кровоносних судин, посиленне згортання крові в ділянках їх локалізації та, як результат, порушення кровопостачання відповідних органів і тканин. Як наслідок атеросклерозу розвиваються ішемічна хвороба серця, інфаркт міокарда й порушення церебрального кровообігу, що стають важливою причиною смерті людей дорослого та похилого віку.

Соціально-медичне значення в сучасному суспільстві захворюваності на атеросклероз і споріднені хвороби серцево-судинної системи ілюструє таблиця 16.5.

Т а б л и ц я 16.5. Хвороби серцево-судинної системи як причина смерті людей на початку і в середині XX сторіччя (за B.Strehler, 1966, із змінами)

	1900 р. — % *	1959 р. — %
Хвороби серця і судин	8,0	38,6
Крововиливи в мозок	6,2	11,5
В с ь о г о % від загальної смертності (100%) *	14,2	50,1

Біохімічною основою розвитку атеросклерозу є підвищена концентрація в крові людини холестерину — *гіперхолестеринемія*, спричинена різними факторами — дієтичними, ендокринними, генетичними.

Добре відоме вікове підвищення рівня холестерину, триацилгліцеролів та деяких інших метаболітів ліпідного та вуглеводного обміну, що корелює із зростанням рівня смертності людей похилого та старечого віку.

Проте *гіперхолестеринемія* сама по собі є необхідним, але недостатнім фактором для розвитку атеросклерозу. Критичним фактором у прояві захворювання є розвиток процесу накопичення холестерину в інтимі судин, який залежить від співвідношення процесів надходження стеролу в судинну стінку та його зворотного виходу в плазму крові. Як уже зазначалось, різні класи ліпопротеїнів плазми по-різному впливають на цей процес: ЛПНЩ сприяють проникненню в клітини кровоносних судин холестерину, тоді як ЛПВЩ протидіють цьому процесу, у зв'язку з чим ЛПНЩ отримали назву *атерогенних*, а ЛПВЩ — *антиатерогенних* ліпопротеїнів. Таким чином, співвідношення ЛПНЩ/ЛПВЩ має значення “фактора ризику” для розвитку атеросклерозу: найбільша вірогідність розвитку захворювання має місце в особин із високим значенням цього співвідношення.

Антиатеросклеротичні препарати, що застосовуються з метою профілактики та лікування атеросклерозу, спрямовані на зниження рівня гіперхолестеринемії шляхом впливу на різні боки метаболізму стеролу:

- а) шляхом пригнічення всмоктування холестерину в кишечнику (застосуванням рослинних стеринів);
- б) шляхом гальмування реакцій його біосинтезу (застосуванням інгібіторів β -ГОМК-редуктази; препарати *Гемфіброзил*, *Фенфібрат*, *Ловастатин*);
- в) шляхом активації метаболізму холестерину оксигеназами мішаної функції з утворенням гідроксильованих похідних (препарати *Фенобарбітал*, *Зиксорин*);
- г) шляхом стимулювання його екскреції з організму (застосуванням ентеросорбентів — препарати *Квестран*, *Гуарем*).

Ожиріння

Ожиріння — стан, що характеризується надмірним накопиченням у жировій тканині триацилгліцеролів. При ожирінні збільшується кількість жирових клітин (адипоцитів) або їх розмір. Загальна маса нейтральних жирів в організмі людини за умов ожиріння може досягати значних кількостей. За даними американських лікарів, надлишкова вага, спричинена ожирінням, спостерігається в США у 24 % чоловіків та 27 % жінок. Порушення ліпідного обміну, що відбувається при ожирінні, часто поєднуються з наявністю у хворого атеросклерозу та/або цукрового діабету.

Ожиріння розвивається внаслідок перевищення надходження та біосинтезу в тканинах нейтральних жирів (та інших біомолекул, які можуть перетворюватися в жири) над реальними енергетичними потребами організму в цих видах метаболічного палива. Найбільш несприятливе значення для розвитку ожиріння має постійне надмірне надходження з продуктами харчування вуглеводів (особливо глюкози та фруктози) в кількостях, більших за ті, що безпосередньо окислюються в клітинах і можуть депонуватися у вигляді резервів глікогену. Уявлення про енергетичні резерви людини у вигляді триацилгліцеролів та глікогену дає таблиця 16.6.

Т а б л и ц я 16.6. **Енергетичні резерви організму людини** (розрахунок на дорослу людину масою 70 кг) (за Е.Ньюсхолм, К.Старт, 1977)

Метаболічне паливо	Тканина, орган	Кількість акумульованого палива		
		г	ккал	кДж
Триацилгліцероли	Жирова тканина	15 000	10 0000	419 500
Глікоген	Печінка	70	200	839
	М'язи	120	400	1 678

Підвищене перетворення простих вуглеводів та продуктів їх метаболізму в ліпіди (ліпогенез) відбувається внаслідок дії таких біохімічних факторів:

- а) можливості активації синтезу вищих жирних кислот з ацетил-КоА, що утворюється з глюкози як продукт окислювального декарбоксилювання пірувату;
- б) використання у реакціях синтезу жирних кислот відновленого НАДФ, одним з головних джерел якого є пентозофосфатний цикл окислення глюкози;
- в) використання в жировій тканині гліколітичного діоксіацетонфосфату як попередника в біосинтезі триацилгліцеролів.

Ожиріння розвивається в умовах стимулювання зазначених біохімічних процесів внаслідок надмірного надходження в організм жирів, білків та моносахаридів (особливо на тлі обмеженої фізичної активності), а також при генетично детермінованому підвищенні ферментних систем, що беруть участь у ліпогенезі або порушенні їх ендокринного контролю.

Важливу роль в контролі гіпоталамічної регуляції споживання їжі та енергетичного катаболізму відіграє гормон білкової природи *лептин*, що секретується адипоцитами.

При важких формах ожиріння, особливо спричинених порушеннями гормональної регуляції ліпідного обміну на рівні гіпоталамуса, маса триацилгліцеролів у жировій тканині людини може досягати 50-80 кг.

Цукровий діабет

Цукровий діабет традиційно розглядається як патологія, що первинно пов'язана з порушеннями вуглеводного обміну. Дійсно, найбільш характерним біохімічним проявом різних типів цукрового діабету в клініці є *гіперглікемія* (*гіперглюкоземія*), яка розвивається внаслідок втрати специфічного впливу інсуліну на проникність клітинних мембран для глюкози. Але метаболічні ефекти інсуліну розповсюджуються на багато аспектів обміну глюкози, ліпідів та амінокислот, у зв'язку з чим цукровий діабет є хворобою, при якому відбуваються глибокі порушення не тільки вуглеводного, але й ліпідного та білкового обмінів.

Як уже зазначалось (глава 12), розрізняють *інсулінозалежний цукровий діабет* (діабет I типу, ювенільний діабет) та *інсулінонезалежний цукровий діабет* (діабет II типу, діабет похилого віку).

Найбільш виражені порушення ліпідного обміну спостерігаються при діабеті II типу, який, як правило, поєднується з ожирінням.

При цьому спостерігаються:

1. Гіпертригліцеридемія, яку можна віднести до гіперліпопротеїнемій I типу, пов'язану із значною активацією синтезу ЛПДНЩ в гепатоцитах. У свою чергу, біохімічною передумовою стимуляції біосинтезу ЛПДНЩ є підвищений притік у печінку неетерифікованих жирних кислот, тобто субстратів для утворення триацилгліцеролів.

2. Значна стимуляція ліполізу в жировій тканині, що розвивається внаслідок послаблення гальмуючої дії інсуліну відносно активації адреналіном та глюкагоном ТГ-ліпази адипоцитів. Внаслідок зазначеного, в крові хворих на цукровий діабет підвищена концентрація вільних жирних кислот (НЕЖК), які стають додатковим субстратом енергетичного катаболізму тканин в умовах їх вуглеводного голодування.

3. Активація синтезу кетонових тіл, біохімічні механізми якої були детально розглянуті вище (глава 14). Розвиток *кетозу* (тобто кетонемії та кетонурії) може призводити до порушень у функціонуванні буферних систем організму і розвитку *кетоацидозу* та діабетичної коми.

4. Зменшення концентрації холестерину ЛПВЩ, що відіграє певну роль у розвитку атеросклерозу — часте ускладнення інсулінонезалежного цукрового діабету в осіб похилого віку.

ГЛАВА 17. МЕТАБОЛІЗМ АМІНОКИСЛОТ

І. ЗАГАЛЬНІ ШЛЯХИ ПЕРЕТВОРЕННЯ

У тілі дорослої людини міститься в середньому 12-15 кг білків, що виконують численні каталітичні, регуляторні, структурні функції. Приблизно половину цієї маси (6-7 кг) складають екстрацелюлярні білки опорних тканин, серед яких перше місце за кількістю займає *колаген*. Другу половину білків тіла складають інтрацелюлярні білки тканин та білки крові з високою швидкістю обміну. Завдяки обміну білків у катаболічних та анаболічних реакціях, тобто безперервному перебігу процесів протеолізу та білкового синтезу, в організмі існує постійний фонд (пул) вільних амінокислот, які підлягають різноманітним біохімічним перетворенням.

17.1. ШЛЯХИ ПЕРЕТВОРЕННЯ АМІНОКИСЛОТ У ТКАНИНАХ

Подібно до інших біомолекул, білки, які входять до складу живого організму, знаходяться в стаціонарному стані постійного оновлення відбуваються розщеплення їх тканинними протеазами та синтез нових поліпептидних молекул.

Загальний пул амінокислот у тілі людини складається з потоків, які забезпечують **надходження** вільних амінокислот та їх **використання** в різноманітних анаболічних та катаболічних процесах. Сумарна кількість амінокислот, що перетворюються за добу, складає в організмі дорослої здорової людини в стані *азотистої рівноваги* 300-500 г, а стаціонарна їх концентрація дорівнює близько 50-100 г на масу тіла.

Потік амінокислот, що входить до амінокислотного пулу, складається з таких джерел:

1. Амінокислот, які всмоктуються ентероцитами кишечника внаслідок гідролізу харчових білків у травному каналі (шлунку, тонкому кишечнику); біохімічні процеси протеолізу білків у травному каналі будуть розглянуті окремо. Кількісне значення цієї складової становить (залежно від характеру харчування) 60-100 г на добу. Додаткову компоненту в цей потік (від 35 до 200 г білка) вносить протеоліз ендогенних білків з епітелію ентероцитів, що злущується (*I.Halkerston, 1988*).

2. Амінокислот, які вивільняються в результаті розщеплення власних клітинних і позаклітинних білків. Середня тривалість напівжиття ($T_{1/2}$) в індивідуальних білків значно варіює, становлячи від декількох годин для певних ферментів гепатоцитів до декількох років для структурного білка колагену.

У здорової дорослої людини середнє добове оновлення тканинних білків складає 1-2 % від загальної маси білків тіла і відбувається переважно за рахунок деградації до амінокислот білків м'язів (30-40 г білків за добу). Розщеплення тканинних білків каталізується протеазами лізосом і значно збільшується за умов білкового та повного голодування, під час виснажливих хвороб (особливо інфекційних, онкологічних захворювань), що порушують процеси біосинтезу білків і спричиняють переважання катаболічних процесів над анаболічними.

3. Амінокислот, які синтезуються в організмі. Організм людини має обмежені можливості щодо утворення амінокислот *de novo*: його ферментні системи здатні синтезувати з інших інтермедіатів в кількості, достатній для синтезу власних білків, лише вісім “замінних” (“ненеобхідних”, “несуттєвих” — *nonessential*, англ.) L-амінокислот. Амінокислоти, які в організмі людини не синтезуються, надходять тільки з продуктами харчування, є “незамінними” (“необхідними”, “суттєвими” — *essential*, англ.).

До замінних амінокислот належать: аланін, аспарагінова кислота, аспарагін, глутамінова кислота, глутамін, пролін, гліцин, серин. При біосинтезі замінних амінокислот їх вуглецева частина утворюється з інтермедіатів окислення глюкози та цитратного циклу, а аміногрупа постачається з інших амінокислот у реакціях трансамінування. “Умовно замінними” є амінокислоти цистеїн та тирозин, які можуть синтезуватися із незамінних — метіоніну та фенілаланіну, відповідно; “частково замінні” амінокислоти (гістидин, аргінін) синтезуються в недостатній кількості.

Потік амінокислот, що виходить з амінокислотного пулу, включає анаболічні і катаболічні шляхи перетворення вільних амінокислот і складається з таких компонентів:

1. Використання амінокислот для синтезу білків організму. Цей потік у дорослих людей, що споживають збалансовану дієту, забезпечує покриття протеолізу власних білків — стан *азотистого рівноваги*. Для синтезу власних ферментних, структурних білків та фізіологічно активних сполук білкової і пептидної природи (на анаболічні потреби) використовується близько 75-80 % амінокислот, що вивільняються при розщепленні тканинних білків, та амінокислот, які надходять із кишечника.

2. Використання амінокислот, які не включені в анаболічні процеси, в катаболічних реакціях. При цьому молекули амінокислот розщеплюються з утворенням діоксиду вуглецю, води (через цикл лимонної кислоти) та кінцевих продуктів азотистого обміну (у людини — переважно *сечовини*). Певна частина безазотистого вуглецевого скелета амінокислот використовується для утворення глюкози (глюконеогенезу) та кетонових тіл (кетогенезу).

Розщепленню підлягають усі амінокислоти, що не використовуються для синтезу білків або фізіологічно активних сполук (ФАС) незалежно від джерела походження, оскільки **резерви білків у тваринних організмах не утворюються (на відміну від вуглеводів та ліпідів)**. Разом з тим, біоенергетичне значення катаболізму амінокислот у здорової людини незначне, порівняно з вуглеводами та ліпідами (близько 10 % від загальних енергетичних потреб), суттєво збільшуючись лише за умов голодування.

Першим етапом катаболізму вільних L-амінокислот є відщеплення α -аміногрупи в реакціях *трансамінування* та *дезамінування*. Деякі амінокислоти використовуються в реакціях *декарбоксилювання* з утворенням амінів гормональної та нейромедіаторної дії, які в подальшому також розщеплюються шляхом *дезамінування*.

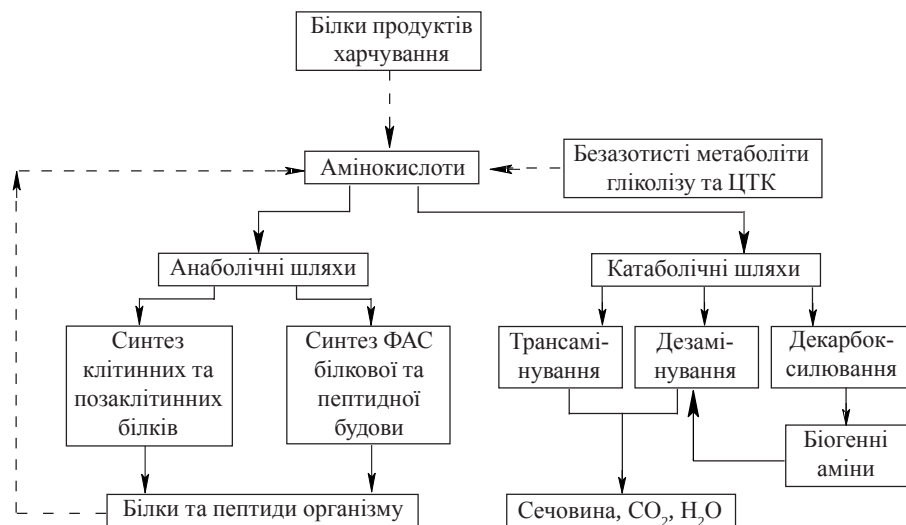


Рис. 17.1. *Схема загальних шляхів перетворення амінокислот. Суцільні стрілки — реакції використання амінокислот в анаболічних та катаболічних процесах; перервні стрілки — реакції надходження амінокислот в загальний амінокислотний пул.*

17.2. ТРАНСАМІНУВАННЯ АМІНОКИСЛОТ

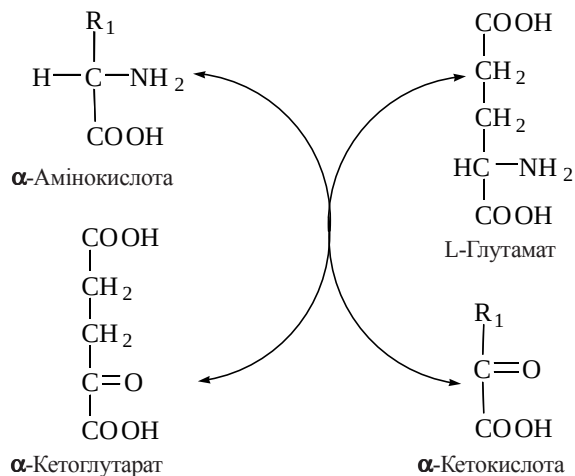


Рис. 17.2. *Загальна схема реакцій трансамінування.*

Реакції трансамінування полягають у переносі α -аміногрупи від амінокислоти на α -вуглецевий атом α -кетокислоти — акцептора аміногрупи (здебільшого — α -кетоглутарату); в результаті реакції утворюється α -кетоаналог вихідної амінокислоти та нова амінокислота (в разі використання як акцептора α -кетоглутарату — L-глутамат):

Ферменти, що каталізують реакції трансамінування, — *аміотрансферази* (*трансамінази*).

Аміотрансферазні реакції

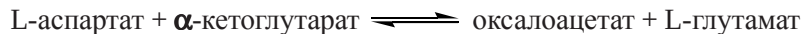
У різних тканинах організму людини і тварин міститься більше десяти різних аміотрансфераз, що розрізняються за своєю субстратною специфічністю.

Найбільш поширеними є такі аміотрансферази:

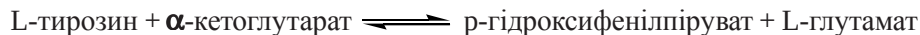
(1) *аланінамінотрансфераза* (*глутамат-піруваттрансаміназа* — ГПТ):



(2) *аспартатамінотрансфераза* (*глутамат-оксалоацетаттрансаміназа* — ГОТ):



(3) *тирозиनाмінотрансфераза*:



(4) *лейцинамінотрансфераза*:



Реакції трансамінування, що каталізуються амінотрансферазами, активно перебігають в багатьох органах, найактивніше — в печінці, скелетних м'язах, міокарді, головному мозку, нирках. Визначення активності *аланінамінотрансферази* (*аланінової трансамінази* — АлТ) та *аспартатамінотрансферази* (*аспарагінової трансамінази* — АсТ) широко застосовується в медичній практиці з метою діагностики пошкоджень внутрішніх органів. Внаслідок виходу цих ферментних білків через ушкоджені клітинні мембрани в кров при інфаркті міокарда спостерігається значне підвищення активності в сироватці крові АсТ, при вірусних та токсичних пошкодженнях печінки — АлТ.

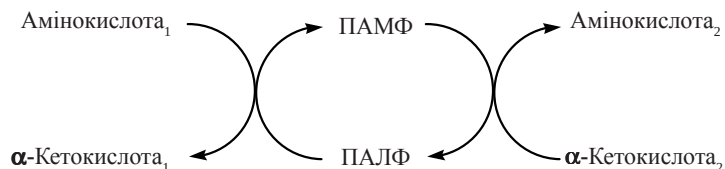
Механізм дії амінотрансфераз

Амінотрансферази є складними білками-ферментами, простетичною групою в яких є коферментні форми вітаміну В₆ (піридоксину, піридоксолу) — *піридоксальфосфат* (ПАЛФ) та *піридоксамінфосфат* (ПAMФ), що утворюється з ПАЛФ у процесі переносу аміногрупи.

Утворення коферменту з вітаміну В₆, що надходить в організм із продуктами харчування, відбувається шляхом фосфорилування піридоксолу до піридоксолфосфату (ПОЛФ) за дії АТФ-залежної *кінази* з подальшим окисленням ПОЛФ до ПАЛФ специфічним флавопротеїном.

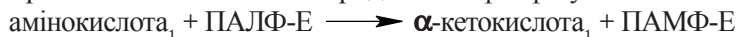
У складі ферменту амінотрансферази кофермент (ПАЛФ) сполучений з поліпептидним ланцюгом за рахунок утворення *альдімінного зв'язку* (основи Шиффа) з ϵ -аміногрупою залишку лізину (Lys-258).

У процесі каталітичного акту трансамінування відбувається циклічне перетворення ПАЛФ на ПAMФ:

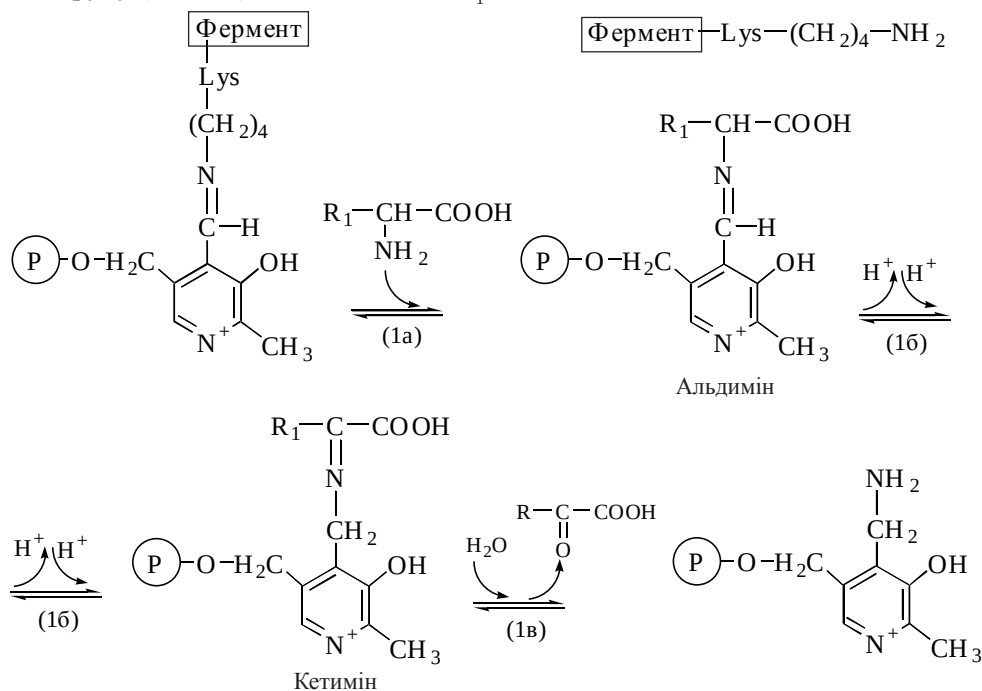


Процес складається з двох напівреакцій:

1) взаємодія амінокислоти, що втрачає аміногрупу, з піридоксальфосфатом з утворенням кетокислоти та піридоксамінфосфату:



Механізм реакції полягає у взаємодії амінокислоти з ПАЛФ-Е із заміною альдимінного зв'язку у складі ПАЛФ-Е на альдимінний зв'язок між коферментом та амінокислотою (1а); після внутрішньомолекулярного перегрупування (1б) відбувається гідроліз кетиміну (1в) з утворенням коферментної форми, що містить аміногрупу (ПАМФ), та α -кетокислоти₁:



2) взаємодія α -кетокислоти₂, що акцептує аміногрупу, з піридоксамінфосфатом з утворенням нової амінокислоти та регенерацією піридоксальфосфату:



Рис. 17.3. **Браунштейн Олександр Овсійович** (1902-1986) — академік АН та АМН СРСР.

Механізм цієї напівреакції аналогічний розглянутому для першої напівреакції (при її течії в зворотному напрямку); ПАЛФ, що регенерує в результаті другої напівреакції, знову сполучається альдимінним зв'язком з білковою частиною ферменту.

Процес трансамінування та ферменти, що його каталізують, були вперше описані в 1937 р. А.О.Браунштейном та М.Г.Крицман; пізніше А.О.Браунштейном та М.М.Шемякіним була запропонована теорія піридоксалевого каталізу. А.О.Браунштейн народився в м. Харкові, закінчив Харківський медичний інститут, працював в Інституті біологічної і медичної хімії АМН СРСР, Інституті молекулярної біології АН СРСР.

Біохімічне значення реакцій трансамінування

Як випливає з наведеного, в реакціях трансамінування не відбувається дезамінування, тобто вивільнення аміаку, оскільки аміногрупа, що відщеплюється від α -L-амінокислоти, акцептується відповідною α -кетокислотою, здебільшого — α -кетоглутаровою.

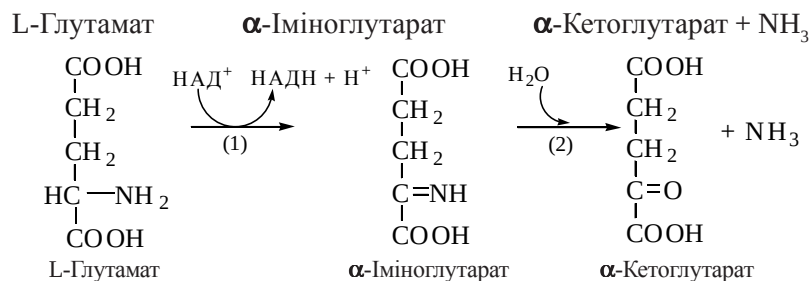
Біохімічне значення трансамінування суттєво відрізняється в різних органах.

У печінці роль трансамінування полягає в його *колекторній функції*, тобто збиранні аміногруп від різних амінокислот переважно в одній молекулярній формі — у вигляді L-глутамінової кислоти. Біохімічний сенс такого процесу полягає в тому, що саме L-глутамат є основним субстратом реакцій *дезамінування*, тобто постачальником аміногруп на метаболічний шлях утворення сечовини — кінцевого продукту азотистого катаболізму.

У м'язах спрямованість реакцій трансамінування призводить до утворення значної кількості *аланіну* (за рахунок переамінування амінокислот з піруватом), що виділяється в кров'яне русло і поглинається гепатоцитами; в печінці аланін знову перетворюється на піруват, який використовується в гліюко-аланіновий цикл — див. главу 12).

17.3. ДЕЗАМІНУВАННЯ АМІНОКИСЛОТ

У клітинах людини і тварин найбільш активно дезамінується L-глутамінова кислота; процес відбувається за механізмом *окислювального дезамінування*, згідно з рівнянням:



Перший етап — утворення α -іміноглутарату — каталізується ферментом НАД-залежною *глутаматдегідрогеназою*, що локалізована в мітохондріях; другий етап — утворення α -кетоглутарату — є неферментативним. α -Кетоглутарат, що утворився, окислюється в циклі трикарбонових кислот, а аміак поглинається ферментативною системою синтезу сечовини.

Зворотний процес — відновлювальне амінування α -кетоглутарату до L-глутамату — може перебігати в цитозолі при участі цитозольної НАДФ-залежної глутаматдегідрогенази і бути допоміжним механізмом зв'язування аміаку.

Непряме дезамінування L-амінокислот

Оскільки L-глутамат є амінокислотою, що утворюється при трансамінуванні більшості L-амінокислот, течія L-глутаматдегідрогеназної реакції є центральним біохімічним механізмом, завдяки якому здійснюється дезамінування більшості вільних амінокислот і утворюється основна кількість аміаку в тваринному організмі.

Таке дезамінування вільних L-амінокислот за механізмом спряження реакцій трансамінування з α -кетоглутаратом і окислювального дезамінування L-глутамату отримало назву *непрямого дезамінування*:

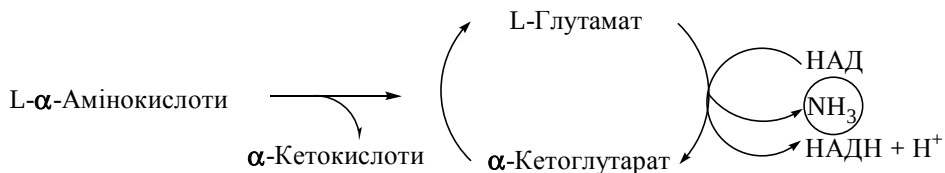
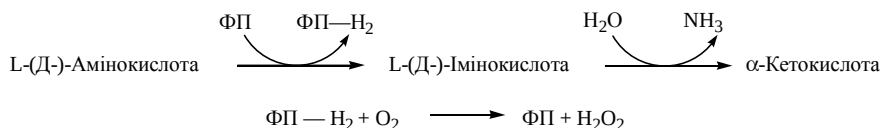


Рис. 17.4. Схема непрямого дезамінування L-амінокислот.

Найбільш активно непряме дезамінування амінокислот за участю глутамат-дегідрогенази відбувається в печінці, де аміак, що звільнюється, надходить у цикл сечовиноутворення.

Оксидази L- та D-амінокислот

У печінці і нирках містяться ферменти — оксидази амінокислот. Це флавопротеїни (ФП), що каталізують реакції окислювального дезамінування L- та D-амінокислот з утворенням перекису водню:



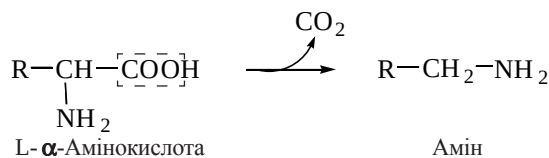
Оксидази L-амінокислот є ФМН-залежними, оксидази D-амінокислот — ФАД-залежними ферментами. Перекис водню є токсичним метаболітом, що ініціює перекисне окислення мембранних фосфоліпідів клітини. Знешкодження перекису водню досягається його розщепленням *каталазою* пероксисом:



Оксидази L- та D-амінокислот за фізіологічних умов є малоактивними ферментами, і їх біохімічне значення остаточно нез'ясоване.

17.4. ДЕКАРБОКСИЛЮВАННЯ АМІНОКИСЛОТ

Реакція декарбоксилювання амінокислот полягає у відщепленні діоксиду вуглецю від молекули амінокислоти з утворенням амінів (*біогенних амінів*), значна частина яких має високу фізіологічну активність як гормони, нейромедіатори, є їх попередниками або метаболітами:



Реакція каталізується ферментами — *декарбоксилазами амінокислот*, коферментом яких є піридоксальфосфат, що в ході каталітичного акту утворює з

амінокислотами шифові основи, подібні до розглянутих в реакціях транс-амінування. Декарбоксилази амінокислот є стереоспецифічними ферментами, що діють тільки на L-стереоізомери.

Декарбоксилюванню можуть підлягати як ациклічні, так і циклічні амінокислоти; в сечі людини знайдено близько сорока біогенних амінів.

Фізіологічне значення декарбоксилювання амінокислот

1. Утворення фізіологічно активних сполук — гормонів, медіаторів.

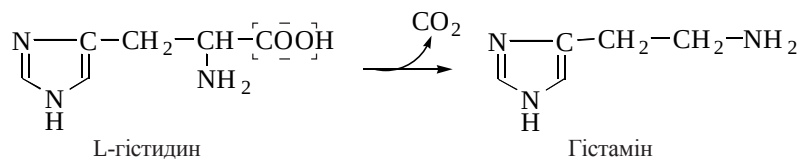
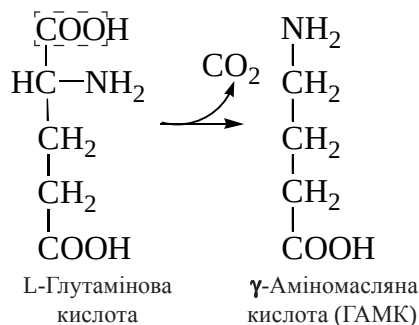
Прикладами утворення фізіологічно активних сполук в результаті декарбоксилювання амінокислот є такі реакції:

(1) утворення γ -(гамма)-аміномасляної кислоти (ГАМК, γ -амінобутирату) з L-глутамату:

L-глутамінова кислота $\longrightarrow$
 $\longrightarrow$ γ -аміномасляна кислота (ГАМК)

(2) утворення гістаміну з L-гістидину:

L-гістидин $\longrightarrow$ гістамін



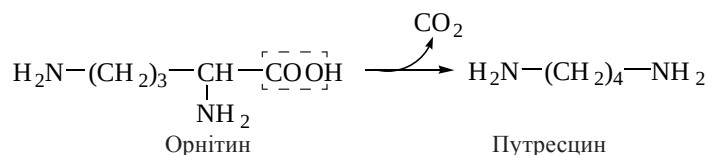
2. Катаболізм амінокислот у процесі гниття білків у кишечнику.

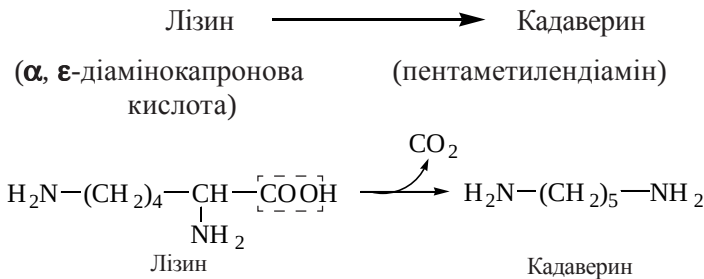
Процеси декарбоксилювання амінокислот активно перебігають у порожнині товстої кишки під дією ферментів мікроорганізмів, що є компонентами нормальної мікрофлори травного тракту людини (“бактеріальне гниття білків у кишечнику”).

Прикладами реакцій декарбоксилювання амінокислот у кишечнику є утворення з діаміномонакарбонових кислот *птомаїнів* (“трупних отру”):

Орнітин $\longrightarrow$ Путресцин

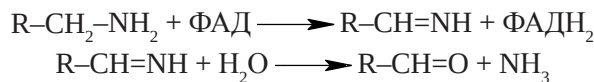
(α , δ -діаміновалеріанова кислота) (тетраметилендіамін)





Окислення біогенних амінів

Накопичення біогенних амінів в організмі спричиняє несприятливі патофізіологічні зміни з боку серцево-судинної системи, кишечника, інших гладеньком'язових органів. Знешкодження (детоксикація) фізіологічно активних амінів відбувається в клітинах печінки при участі *моноамінооксидази* мітохондрій — ФАД-залежного ферменту, що спричиняє окислювальне дезамінування амінів до альдегідів:



Альдегіди — продукти дезамінування біогенних амінів окислюються до відповідних кислот і підлягають подальшій окислювальній деградації або екскретуються з організму із сечею. Аміак надходить у систему синтезу сечовини.

17.5. ОБМІН АМІАКУ. БІОСИНТЕЗ СЕЧОВИНИ

Шляхи утворення аміаку в організмі людини

1. Головним у кількісному відношенні джерелом накопичення аміаку в організмі людини є окислювальне дезамінування амінокислот, тобто білковий катаболізм: азот сечовини — кінцевого азотовмісного продукту деградацію білків — складає близько 90 % всього азоту, що екскретується. Додатковими джерелами ендogenous аміаку є реакції дезамінування біогенних амінів, азотистих основ, які утворюються при катаболізмі нуклеотидів. Значна кількість вільного аміаку всмоктується в кров із системи ворітної вени (*v. porta*) внаслідок його утворення при катаболізмі азотовмісних біоорганічних сполук (головним чином, білків продуктів харчування) кишковими бактеріями.

2. Утворення аміаку в головному мозку

Основним джерелом утворення аміаку в тканині головного мозку є реакція гідролітичного дезамінування АМФ до інозинмонофосфату (ІМФ), що каталізується ферментом *аденозиндезаміназою*:



Аміак, що вивільняється, знешкоджується в результаті *глутамінсинтезної реакції*, утворюючи з L-глутамату *глутамін*, який виводиться з головного мозку (див. нижче).

Токсичність аміаку

Аміак є токсичною речовиною, особливо небезпечною для головного мозку; нормальна концентрація вільного аміаку в плазмі крові (у вигляді іону амонію NH_4^+) незначна, складає 25-40 мкмоль/л (0,4-0,7 мг/л). Надмірне накопичення в організмі аміаку спостерігається при порушенні сечовиноутворювальної функції печінки (вірусні та токсичні гепатити, цирози печінки), азотовидільної функції нирок (гостра або хронічна ниркова недостатність), спадкових (уроджених) гіперамонієміях, що спричинені генетичними дефектами ферментів синтезу сечовини. Клінічно *гіперамоніємія* характеризується глибокими порушеннями функції центральної нервової системи, аж до розвитку коматозного стану.

Токсичність аміаку пов'язують із його здатністю порушувати функціонування трикарбонового циклу в мітохондріях нейронів головного мозку внаслідок виведення із ЦТК α -кетоглутарату:



Ця реакція (*відновлювальне амінування α -кетоглутарату*), яка є НАДФН-залежним оберненням глутаматдегідрогеназної реакції, виводить α -кетоглутарат з пулу метаболітів трикарбонового циклу, що, в підсумковому етапі, знижує активність аеробного окислення глюкози — головного енергетичного джерела головного мозку. Альтернативна теорія нейротоксичності аміаку пов'язує його негативні ефекти з пошкоджувальною дією на нейрони високих концентрацій глутаміну, який утворюється в надмірній кількості з аміаку та L-глутамату (див. нижче).

Механізми знешкодження аміаку

Висока токсичність аміаку призвела до формування в еволюції тваринних організмів спеціальних біохімічних механізмів його знешкодження. Залежно від молекулярної форми, у вигляді якої екскретуються кінцеві продукти азотистого (амінного) катаболізму, існує три типи тваринних організмів:

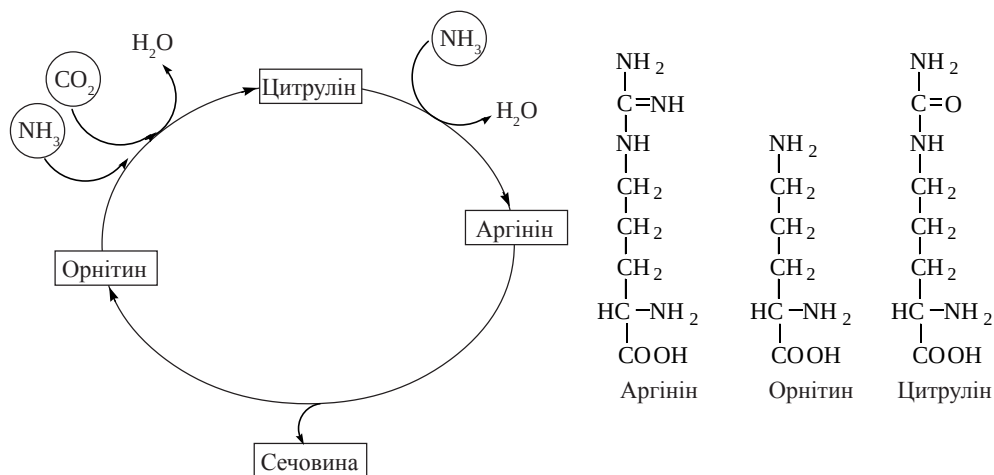
- 1) *амоніотелічні організми* — такі, що виводять амінний азот у вигляді розчинного іону амонію (до них належить більшість хребетних, що мешкають у воді);
- 2) *урикотелічні організми* — такі, що виводять амінний азот у вигляді *сечової кислоти* (птахи, наземні рептилії);
- 3) *уреотелічні організми* — основним продуктом знешкодження та екскретування аміаку у яких є *сечовина* (більшість наземних хребетних, включаючи ссавців, зокрема організм людини).

Біосинтез сечовини відбувається виключно в печінці. Додатковим механізмом детоксикації аміаку у місцях утворення є його зв'язування у формі *глутаміну* за участю *глутамінсинтетази*.

Біосинтез сечовини

Згідно з дослідженнями Г.Кребса (H.Krebs) та К.Хензелейта (K.Henseleit) (1932), синтез сечовини відбувається з аміаку та вугільної кислоти в результаті

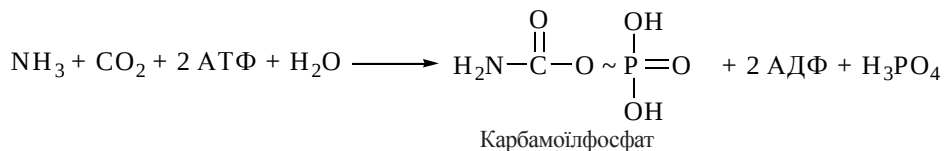
циклічного процесу, в якому каталітичну роль відіграють амінокислоти аргінін, орнітин та цитрулін (*орнітиновий цикл Кребса-Хензелейта*):



Як впливає з наступного, джерелами двох аміногруп, що використовуються для утворення молекули сечовини, є аміак, який вивільняється при окислювальному дезамінуванні L-глутамату, та аміногрупа амінокислоти L-аспартату.

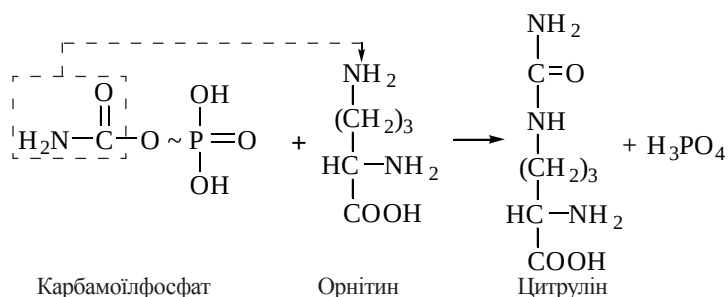
Ферментативні реакції синтезу сечовини

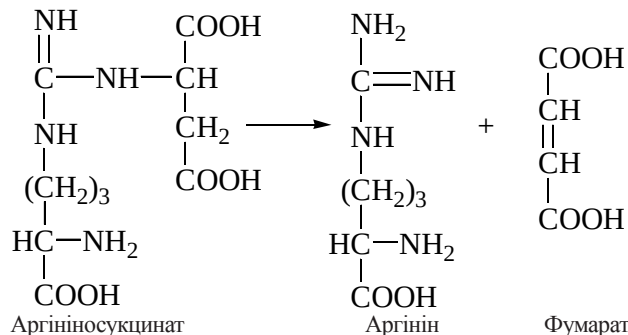
1. Утворення з аміаку та діоксиду вуглецю за участю АТФ карбамоїлфосфату:



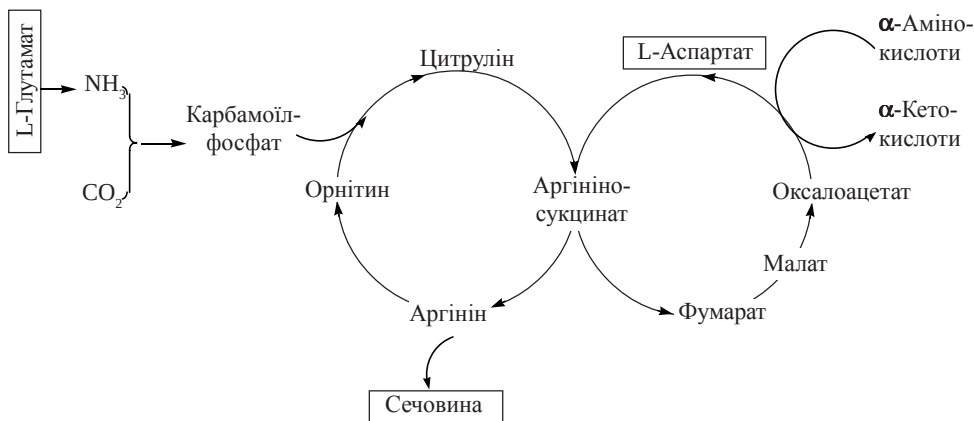
Реакція каталізується *карбамоїлфосфатсинтетазою*. Джерелом аміногрупи (у вигляді молекули аміаку) є глутаматдегідрогеназна реакція.

2. Перенесення карбамоїльної групи на орнітин з утворенням цитруліну (фермент — *орнітин-карбамоїлтрансфераза*):



$$\text{Цитрулін} + \text{L-Аспартат} + \text{АТФ} \longrightarrow \text{Аргініносукцинат} + \text{АМФ} + \text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$$

$$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ | \\ \text{C}=\text{NH} \\ | \\ \text{NH} \\ | \\ (\text{CH}_2)_3 \\ | \\ \text{HC}-\text{NH}_2 \\ | \\ \text{COOH} \\ \text{Аргінін} \end{array} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ | \\ (\text{CH}_2)_3 \\ | \\ \text{HC}-\text{NH}_2 \\ | \\ \text{COOH} \\ \text{Орнітин} \end{array} + \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ / \\ \text{C}=\text{O} \\ \backslash \\ \text{NH}_2 \\ \text{Сечовина} \end{array}$$

Фумарат, що утворюється в *аргініно-сукцинатліазній* реакції (4), є субстратом трикарбонового циклу і може перетворюватися до малату та оксалоацетату; оксалоацетат, у свою чергу, здатен в реакції трансамінування утворювати *аспартат* — донор другої аміногрупи в молекулі сечовини:



Метаболічний цикл синтезу сечовини.

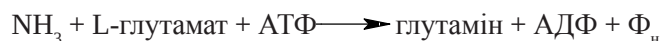
Генетичні дефекти ферментів синтезу сечовини

Існують спадкові ензимопатії, спричинені повним або частковим дефектом утворення в печінці окремих ферментів циклу сечовиноутворення. Найбільш важкими клінічними проявами характеризуються порушення синтезу *карбамоїл-фосфатсинтетази* та *орнітинкарбамоїлтрансферази*. Діти з такими генетичними дефектами страждають вираженою енцефалопатією, прояви якої дещо послаблюються в умовах повного виключення споживання харчових білків.

Транспорт аміаку в печінку

Молекулярними формами транспорту аміаку з органів і тканин, де він утворюється (м'язів, головного мозку, кишечника тощо), є *глутамін* (амід глутамінової кислоти) та *аланін*. Концентрація глутаміну та аланіну в плазмі крові людини значно перевищує вміст інших амінокислот.

Глутамін — синтезується з L-глутамату в АТФ-залежній реакції, що каталізується *глутамінсинтетазою*:

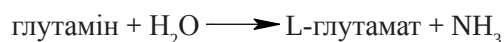


Синтез глутаміну в найбільшій мірі відбувається в клітинах головного мозку (де глутамінсинтетазна реакція є основним механізмом знешкодження аміаку) та м'язів. Із цих та інших органів амід з током крові надходить у кишечник, печінку та нирки:

(1) **клітини кишечника поглинають найбільшу кількість глутаміну крові;** в цьому органі глутамін (за рахунок реакцій трансамінування) перетворюється в аланін, який, у свою чергу, виходить у кров і захоплюється гепатоцитами; в

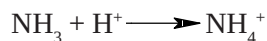
клітинах печінки вуглецевий скелет аланіну використовується в процесі гліюко-неогенезу (*гліюкозо-аланіновий цикл*), а аміногрупа — в синтезі сечовини;

(2) в печінці глутамін розщеплюється до L-глутамату та аміаку при дії ферменту *глутамінази*:



Аміак, що вивільняється, включається в реакції синтезу сечовини.

(3) в нирках — глутаміназна реакція є основним джерелом утворення іону амонію (NH_4^+), який екскретується з сечею в кількості близько 0,5 г на добу. Синтез глутамінази в клітинах епітелію ниркових каналців стимулюється в умовах *ацидозу*, становлячи механізм нейтралізації та екскреції з організму надлишкових кислих еквівалентів:



Аланін — утворюється переважно в м'язах у реакціях трансамінування з іншими амінокислотами і відіграє основну роль в транспортуванні його в печінку; **клітини печінки поглинають найбільшу кількість аланіну крові**, використовуючи цю амінокислоту в реакціях гліюконеогенезу та синтезу сечовини.

ГЛАВА 18. МЕТАБОЛІЗМ АМІНОКИСЛОТ

II. СПЕЦІАЛІЗОВАНІ ШЛЯХИ ОБМІНУ

18.1. ШЛЯХИ МЕТАБОЛІЗМУ БЕЗАЗОТИСТОГО СКЕЛЕТА АМІНОКИСЛОТ. ГЛЮКОГЕННІ ТА КЕТОГЕННІ АМІНОКИСЛОТИ

Двадцять L-амінокислот, що розрізняються за своєю хімічною структурою, біологічною роллю та особливостями метаболізму входять до складу білків організму та є присутніми в клітинах і екстрацелюлярних просторах у вільному стані. Безазотисті скелети вільних амінокислот, які утворюються в результаті трансамінування та дезамінування, — це метаболіти гліколізу, цитратного циклу, β -окислення жирних кислот, або речовини, що можуть перетворюватися в інтермедіати цих головних катаболічних шляхів організму.

Пункти окислення амінокислот у цитратному циклі

Завдяки *економічності* біологічного обміну речовин, специфічні біохімічні шляхи катаболізму окремих двадцяти природних амінокислот конвергують з утворенням лише п'яти молекулярних продуктів — біомолекул, що вступають у цикл трикарбонових кислот, повністю окислюючись до діоксиду вуглецю та води. Цими продуктами є: *ацетил-КоА*, *α -кетоглутарат*, *сукциніл-КоА*, *фумарат*, *оксалоацетат* (рис. 18.1).

1. *Ацетил-КоА* — утворюється при катаболізмі десяти амінокислот, серед яких:

- п'ять амінокислот (аланін, цистеїн, серин, треонін, гліцин) розщеплюються до ацетил-КоА через *піруват*;
- п'ять амінокислот (фенілаланін, тирозин, лейцин, лізин, триптофан) розщеплюються до ацетил-КоА через *ацетоацетил-КоА*.

Частина вуглецевого скелета лейцину та триптофану, а також ізолейцину перетворюється на ацетил-КоА безпосередньо; частина молекули ізолейцину перетворюється на сукциніл-КоА.

2. *α -Кетоглутарат* — утворюється при катаболізмі п'яти амінокислот — глутамату, глутаміну, аргініну, гістидину, проліну.

Вступ чотирьох із цих амінокислот в ЦТК відбувається через їх перетворення на глутамат.

3. *Сукциніл-КоА* — утворюється при катаболізмі трьох амінокислот — ізолейцину, валіну, метіоніну (частина молекули ізолейцину, як зазначено вище, перетворюється в ацетил-КоА).

4. *Фумарат* — утворюється при катаболізмі фенілаланіну та тирозину; вуглецеві скелети цих амінокислот утворюють два метаболіти ЦТК — ацетил-КоА (через ацетоацетил-КоА) та фумарат.

5. *Оксалоацетат* — утворюється при катаболізмі аспартату та аспарагіну; аспартат перетворюється в оксалоацетат через реакцію трансамінування.

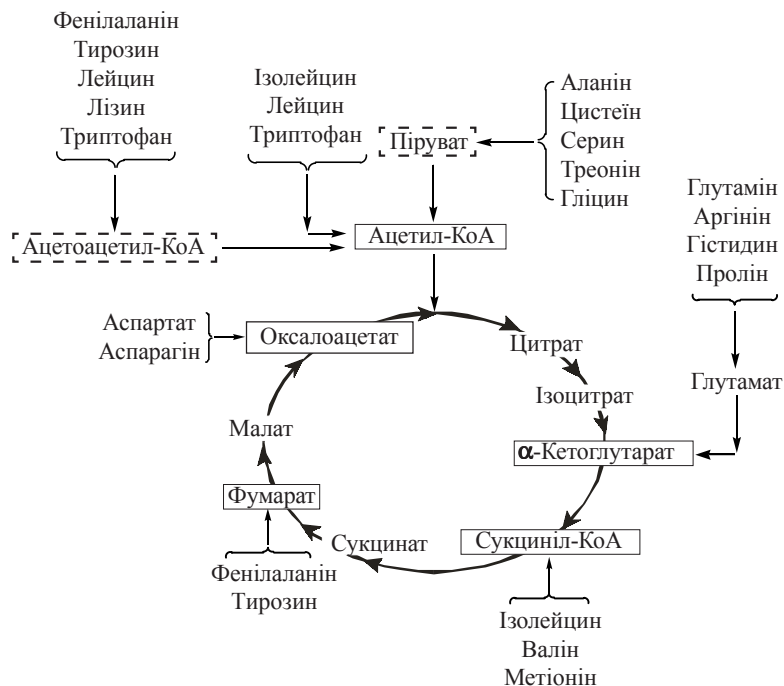


Рис. 18.1. Схема включення вуглецевих скелетів природних L-амінокислот у цикл лимонної кислоти.

Глюкогенні та кетогенні амінокислоти

Глюкогенні амінокислоти

L-Амінокислоти, що метаболізуються в циклі трикарбонових кислот (рис. 18.1), можуть включати свої вуглецеві скелети в молекули глюкози. Ці амінокислоти, використання яких у синтезі глюкози реалізується після їх входження в ЦТК через ацетил-КоА, α -кетоглутарат, сукциніл-КоА та фумарат, отримали назву *глюкогенних амінокислот*.

Кетогенні амінокислоти

Дві L-амінокислоти включаються в катаболізм тільки через ацетоацетил-КоА, який у клітинах печінки може перетворюватися на *кетонові тіла* ацетоацетат та β -гідроксибутират. Це — *кетогенні амінокислоти*. Деякі амінокислоти віддають свої вуглецеві фрагменти на утворення як глюкози, так і кетонових тіл (таблиця 18.1).

Таблиця 18.1. Глюкогенні та кетогенні амінокислоти

Глюкогенні		Кетогенні	Глюко- та кетогенні
Аланін	Гліцин	Лейцин	Ізолейцин
Аргінін	Гістидин	Лізин	Тирозин
Аспарагін	Метіонін		Триптофан
Аспартат	Пролін		Фенілаланін
Валін	Серин		
Глутамат	Треонін		
Глутамін	Цистеїн		

Кетогенез із амінокислот має особливе негативне значення при деяких порушеннях ферментних процесів, зокрема при некомпенсованому цукровому діабеті, у зв'язку з чим таким хворим рекомендується обмежувати надходження кетогенних амінокислот у складі продуктів харчування.

Жироподібні та нежироподібні амінокислоти

Залежно від особливостей шляхів перетворення, L-амінокислоти поділяються також на *нежироподібні* (*nonfat-like*, англ.) та *жироподібні* (*fat-like*, англ.).

Нежироподібні — амінокислоти, що розщеплюються за шляхами катаболізму вуглеводів. До них належать: гістидин та замінні (*nonessential*) амінокислоти, окрім тирозину. Всі амінокислоти цієї групи є *глюкогенними*.

Жироподібні — амінокислоти, перетворення яких включає інтермедіати, що є спільними зі шляхами окислення жирних кислот. До жироподібних належать тирозин та незамінні амінокислоти (*essential*), крім гістидину. Частина з амінокислот цієї групи є *глюкогенними*, частина — *кетогенними*, деякі — *глюко-* та *кетогенними*.

Амінокислоти як попередники інших біомолекул

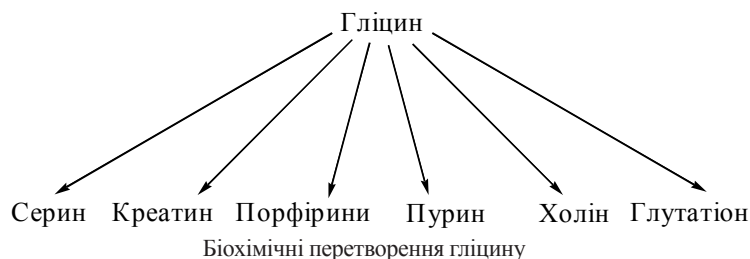
Біологічне значення амінокислот не вичерпується їх участю в синтезі білків організму. Вільні амінокислоти виступають попередниками в утворенні багатьох сполук, що виконують спеціалізовані функції: нуклеотидів, коферментів, порфіринів, вітамінів, гормонів, нейромедіаторів та інших структурних та регуляторних біомолекул.

У зв'язку із складнощами індивідуальних шляхів перетворень в організмі вуглецевого скелета більшості природних амінокислот, в подальшому будуть розглянуті лише особливості метаболізму та участі в синтезі фізіологічно активних сполук ациклічних та циклічних L-амінокислот, які мають найбільше біомедичне значення.

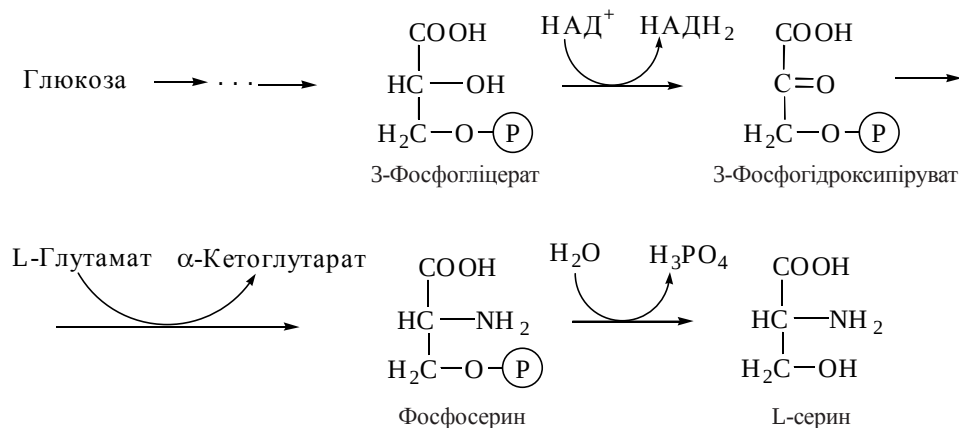
18.2. СПЕЦІАЛІЗОВАНІ ШЛЯХИ ОБМІНУ АЦИКЛІЧНИХ АМІНОКИСЛОТ

Обмін гліцину та серину

Гліцин — α -амінооцтова кислота — важливий учасник багатьох біохімічних процесів. Двовуглецевий скелет гліцину використовується в різноманітних синтетичних реакціях утворення інших біомолекул, в тому числі фізіологічно активних сполук.

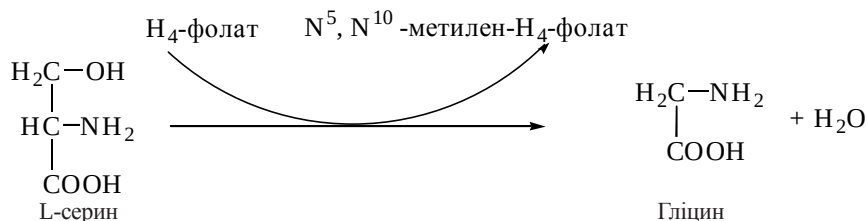


Гліцин у тваринному організмі синтезується з L-серину — замінної амінокислоти, вуглецевий скелет якої утворюється з глюкози за такою схемою:

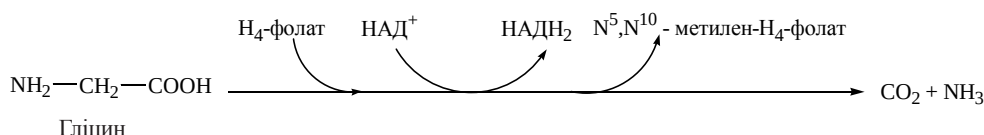


У біохімічних перетвореннях гліцину важливе місце займає коферментна форма вітаміну В_с — *тетрагідрофолієва кислота (H₄-фолат)*.

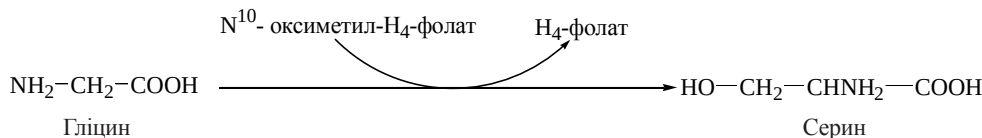
1. Утворення гліцину із серину:



2. Окислення гліцину до діоксиду вуглецю та аміаку:

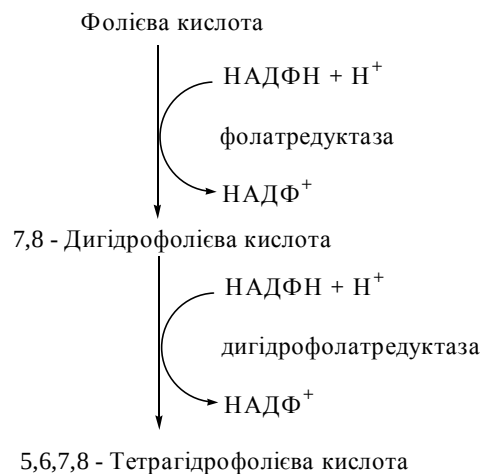


3. Зворотнє перетворення гліцину до серину:



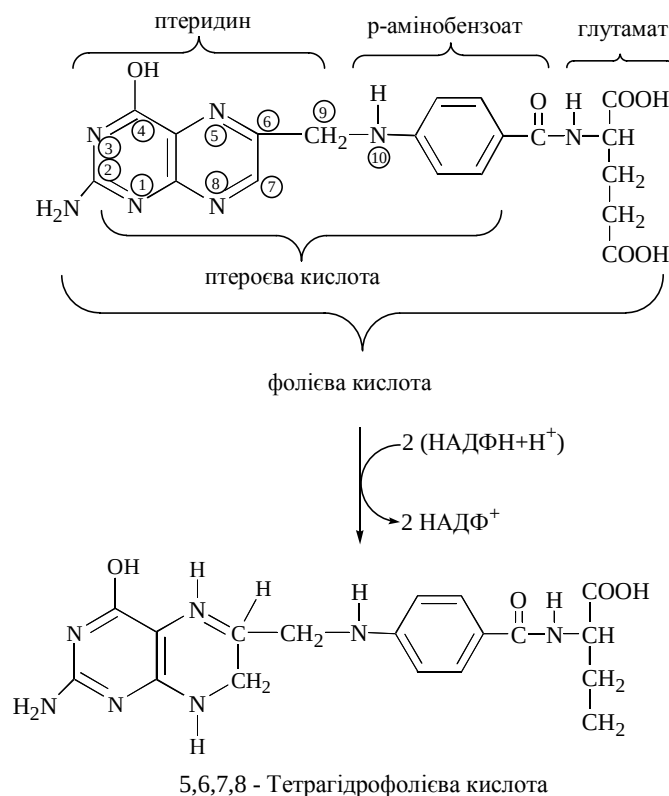
Тетрагідрофолат як переносник одноуглецевих радикалів

Розглянуті реакції метаболізму гліцину — це головне джерело *одноуглецевих радикалів*, що беруть участь у різноманітних реакціях синтезу амінокислот, нуклеотидів, фізіологічно активних сполук.



дигідрофолатредуктази, при дії якої генерується 5,6,7,8-тетрагідрофолієва кислота (H₄-фолат).

Міжмолекулярне транспортування одновуглецевих радикалів забезпечується коферментною формою *фолієвої кислоти* (птероїлглутамінової кислоти, вітаміну В₉) — 5,6,7,8-тетрагідрофолієвою кислотою (H₄-фолатом). Тетрагідрофолат утворюється в організмі з фолату, що надходить із продуктами харчування. Перетворення фолієвої кислоти на тетрагідрофолієву (акцептор та переносник одновуглецевих груп) відбувається при участі НАДФН-залежних редуктаз — *фолатредуктази*, що утворює 7,8-дигідрофолієву кислоту (H₂-фолат) та



Перетворення фолату на тетрагідрофолат відбувається за рахунок приєднання атомів водню до атомів вуглецю і азоту птеридинового циклу в положеннях С-6, С-7 та N-5, N-8, відповідно.

Тетрагідрофолат виконує біохімічну функцію коферменту в міжмолекулярному транспорті одновуглецевих груп різного ступеня окислення: *метильних* (–CH₃), *метиленових* (–CH₂–), *метенільних* (–CH=), *оксиметильних* (–CH₂OH), *формільних* (–CHO), *форміліно* (CHNH)–груп.

Транспорт одно-
вуглецевих радикалів
молекулою тетрагідро-
фолату здійснюється за
рахунок приєднання їх
у положеннях N⁵ та
N¹⁰ птеройлглютамату з
утворенням взаємопе-
ретворюваних кофер-
ментних форм:

Фізіологічно активні сполуки, що є інгібіторами *дигідрофолат-редуктази*, пригнічують біосинтетичні реакції, в яких беруть участь коферментні форми H_4 -фолату, і можуть застосовуватися як протипухлинні засоби (глава 19).

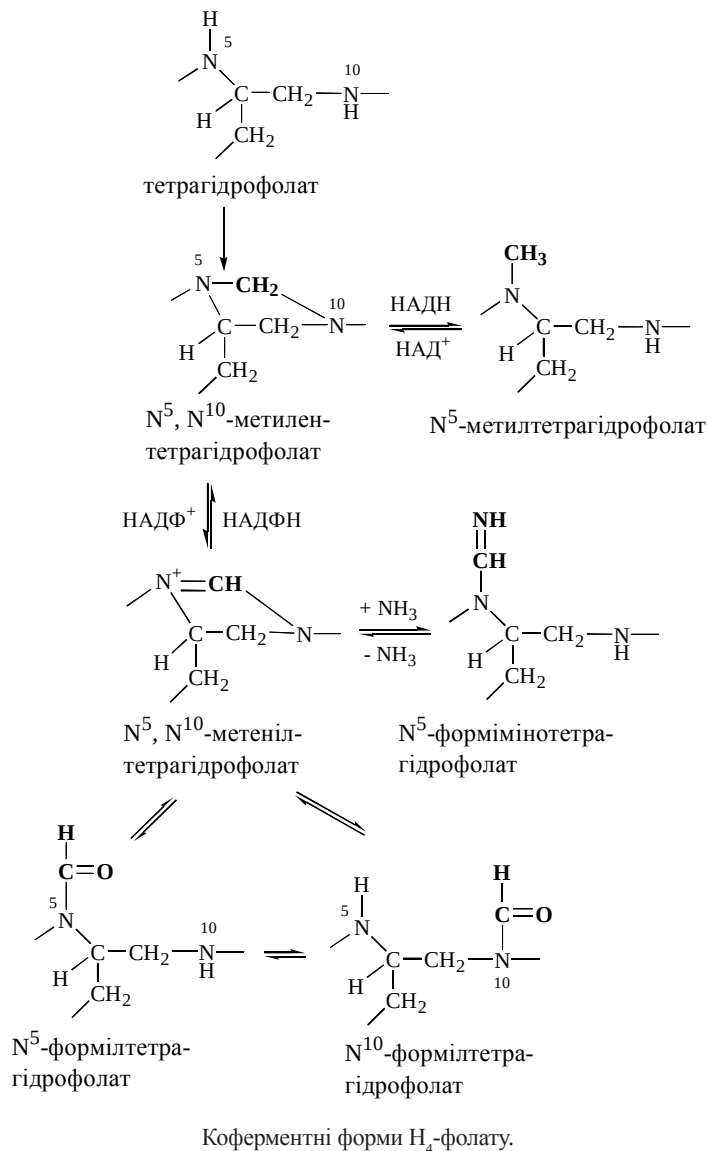
Слід зазначити, що тетрагідрофолат бере участь здебільшого в міжмолекулярному транспортуванні окислених одновуглецевих радикалів, а в переносі метильних груп, крім тетрагідрофолату, значну роль посідає активна форма амінокислоти метіоніну – S-аденозилметіонін (див. нижче).

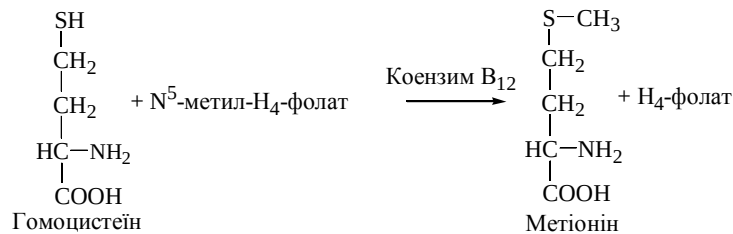
Обмін сірковмісних амінокислот

Метіонін та реакції метилювання

L-Метіонін — амінокислота, що є важливим учасником внутрішньоклітинного метаболізму і донором метильної ($-\text{CH}_3$) групи в численних реакціях метилювання.

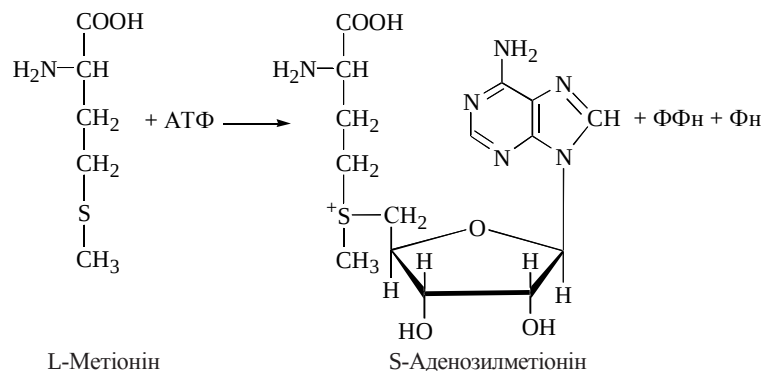
Метіонін синтезується в організмі з амінокислоти L-гомоцистеїну: донором метильної групи в цій реакції є N⁵-метилтетрагідрофолат:





Фермент, що каталізує цю реакцію — *гомоцистеїн-метилтрансфераза*; коензимом в цій реакції (проміжним переносником метильної групи) є коферментна форма вітаміну B₁₂ — *метилкобаламін*.

Реакції метилювання



Біохімічно активною формою метіоніну, тобто безпосереднім донором $-\text{CH}_3$ -групи в реакціях трансметилювання, є S-аденозилметіонін, який синтезується в організмі людини з метіоніну при дії ферменту *метіонінаденозилтрансферази*.

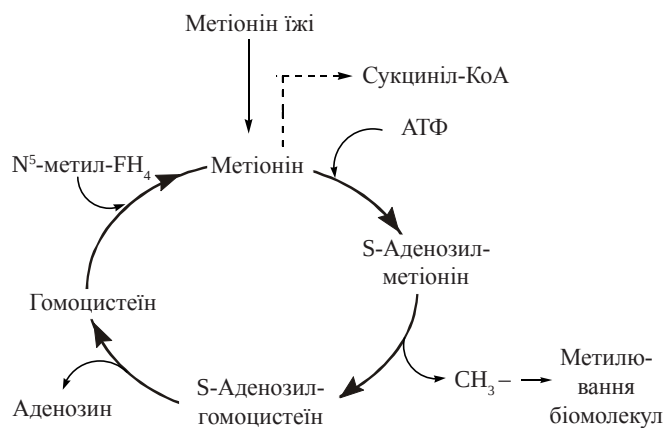


Рис. 18.2. Цикл активного метилу.

S-Аденозилметіонін, що втрачає активну метильну групу в реакціях метилювання біомолекул, перетворюється на S-аденозилгомоцистеїн, а далі — на гомоцистеїн і знову на метіонін. Оскільки відбувається втрата метіоніну в катаболічних реакціях (через утворення сукциніл-КоА), функціонування цього *циклу активного метилу* (рис. 18.2) залежить від постійного надходження

метіоніну з їжею, як незамінної амінокислоти.

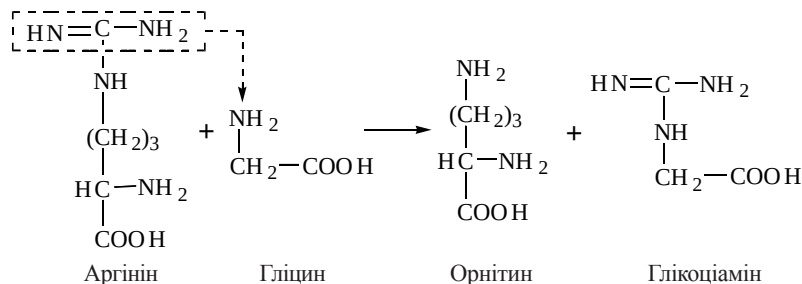
Реакціями, що перебігають за участю S-аденозилметіоніну, є синтез креатину, утворення холіну з аміноспирту етаноламіну, адреналіну з норадреналіну, метилювання азотистих основ нуклеотидів тощо.

Синтез креатину

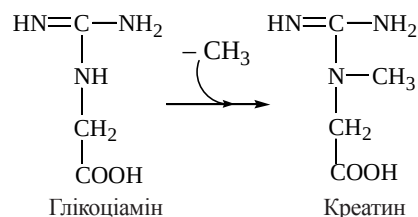
Креатин — азотиста сполука, яка у вигляді *креатинфосфату* має важливе значення в енергозабезпеченні функції м'язів.

Біосинтез креатину відбувається за участю амінокислот гліцину, аргініну та метіоніну. Процес синтезу складається з двох стадій:

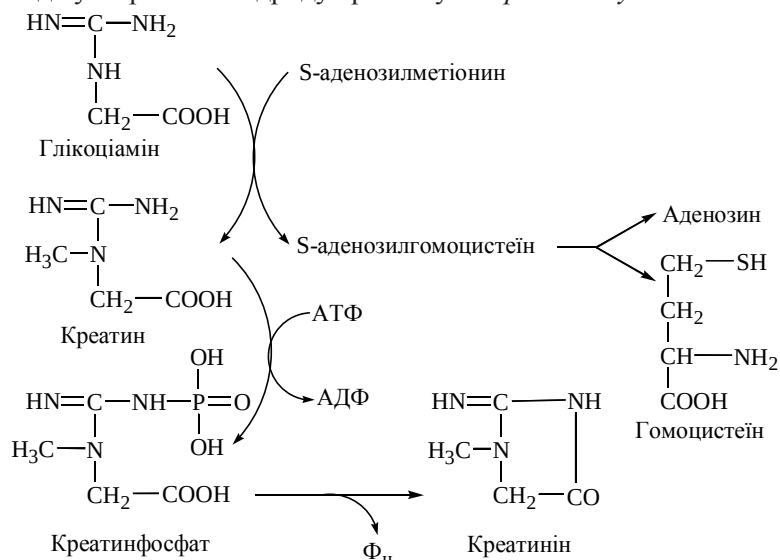
1-ша стадія — відбувається в нирках і полягає в утворенні глікоціаміну (гуанідинацетату) із аргініну та гліцину (фермент *гліцинамідинотрансфераза*):



2-а стадія — відбувається в печінці, куди глікоціамін надходить з током крові, і полягає в метилюванні глікоціаміну до креатину за участю S-аденозилметіоніну (фермент *гуанідинацетатметилтрансфераза*):



Фосфорилювання креатину при дії *креатинфосфокінази* генерує *креатинфосфат* — джерело термінової регенерації АТФ при м'язовому скороченні. Незворотна неферментативна дегідратація і дефосфорилювання креатинфосфату призводить до утворення ангідриду креатину — *креатиніну*:

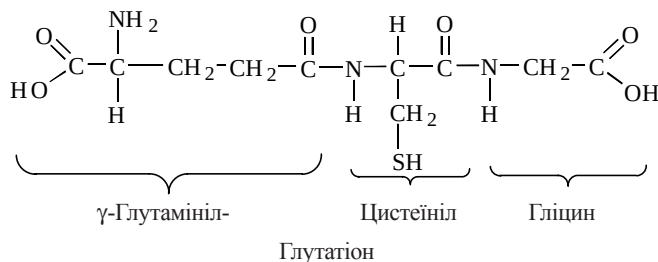


У формі креатиніну з організму людини виділяється із сечею значна частина азоту амінокислот; у здорової людини виділення креатиніну пропорційне масі м'язової тканини і значно збільшується за умов травматичних пошкоджень м'язів.

Цистеїн і глутатіон

L-Цистеїн — амінокислота, біологічні функції якої полягають, переважно, в підтриманні у відновленому стані SH-груп багатьох біорегуляторів та ферментів, зокрема, за рахунок синтезу *глутатіону*.

Глутатіон — трипептид γ -глутамініл-цистеїніл-гліцин, що має в своєму складі вільну сульфгідрильну групу:

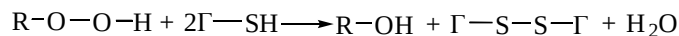


Глутатіон міститься в клітинах тваринного організму у високій концентрації (близько 5 мМ). Глутатіон зворотно перетворюється з відновленої (Г-SH) до окисленої (Г-S-S-Г) форми, відіграючи роль буфера SH-груп.

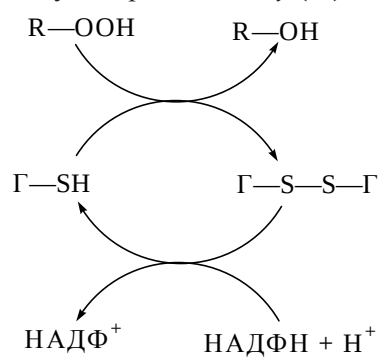
Біохімічна функція глутатіону в організмі пов'язана з відновленням і детоксикацією органічних пероксидів — похідних перексиду водню HO-OH, у молекулі якого один (гідропероксиди) або обидва атоми водню (алкілпероксиди) заміщені на алкільні радикали:



При взаємодії глутатіону з гідропероксидом утворюються нешкідливі органічні спирти, що підлягають подальшому окисленню:



Реакція каталізується ферментом *глутатіонпероксидазою*, що містить в активному центрі атом селену (Se).



Зворотне відновлення Г-S-S-Г до Г-SH каталізується НАДФН-залежною *глутатіонредуктазою*:

Гідропероксиди та алкілпероксиди утворюються внаслідок *діоксигеназних реакцій* безпосереднього включення атома кисню в біомолекули. Виникнення органічних пероксидів є результатом активації в біологічних системах реакцій вільно-радикального окислення; головним субстратом таких реакцій є ненасичені жирні кислоти мембранних фосфоліпідів — *перекисне окислення ліпідів* біологічних мембран.

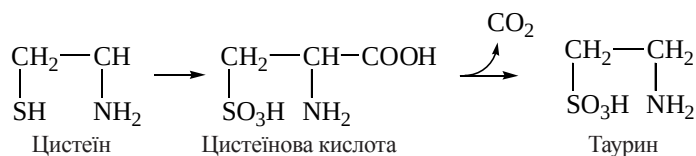
Активация реакцій перекисного окислення ліпідів є одним з фундаментальних біологічних механізмів пошкодження біоструктур і розвитку клітинної патології при дії пошкоджуючих факторів різного генезу, особливо за умов дії іонізуючої

радіації, чужорідних хімічних сполук — *ксенобіотиків*. Прикладом пошкодження клітинних мембран внаслідок утворення продуктів ліпопереокислення є також перекишний гемоліз еритроцитів, що настає в результаті спадкової недостатності *глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази* — генератора НАДФН, необхідного для функціонування *глутатіонредуктази* і підтримання глутатіону у відновленій формі.

Сполуки, подібні глутатіону, що знешкоджують органічні пероксиди або протидіють їх утворенню, дістали назву *антиоксидантів*. Біологічно важливими антиоксидантами є **α -токоферол** (вітамін E), *аскорбінова кислота*, *урати*.

Таурин

Фізіологічно важливою реакцією обміну цистеїну є утворення *таурину* — аміноетанолсульфату, що, поряд із гліцином, використовується в організмі для утворення кон'югованих форм жовчних кислот — *глікохолевої* та *таурохолевої*, відповідно.



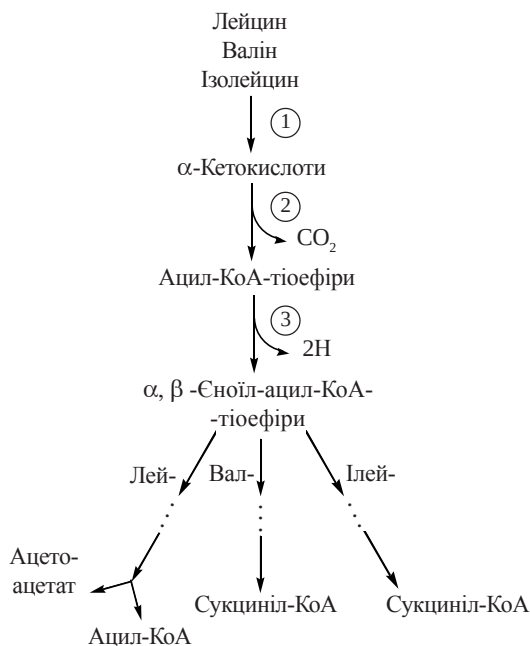
Обмін амінокислот з розгалуженими ланцюгами

Відповідно до структурної подібності амінокислот L-валіну, L-лейцину та L-ізолейцину, перші етапи їх катаболізму відбуваються за подібними шляхами і мають спільні механізми:

Як впливає з наведеної схеми, загальними реакціями для перетворення амінокислот з розгалуженими ланцюгами є:

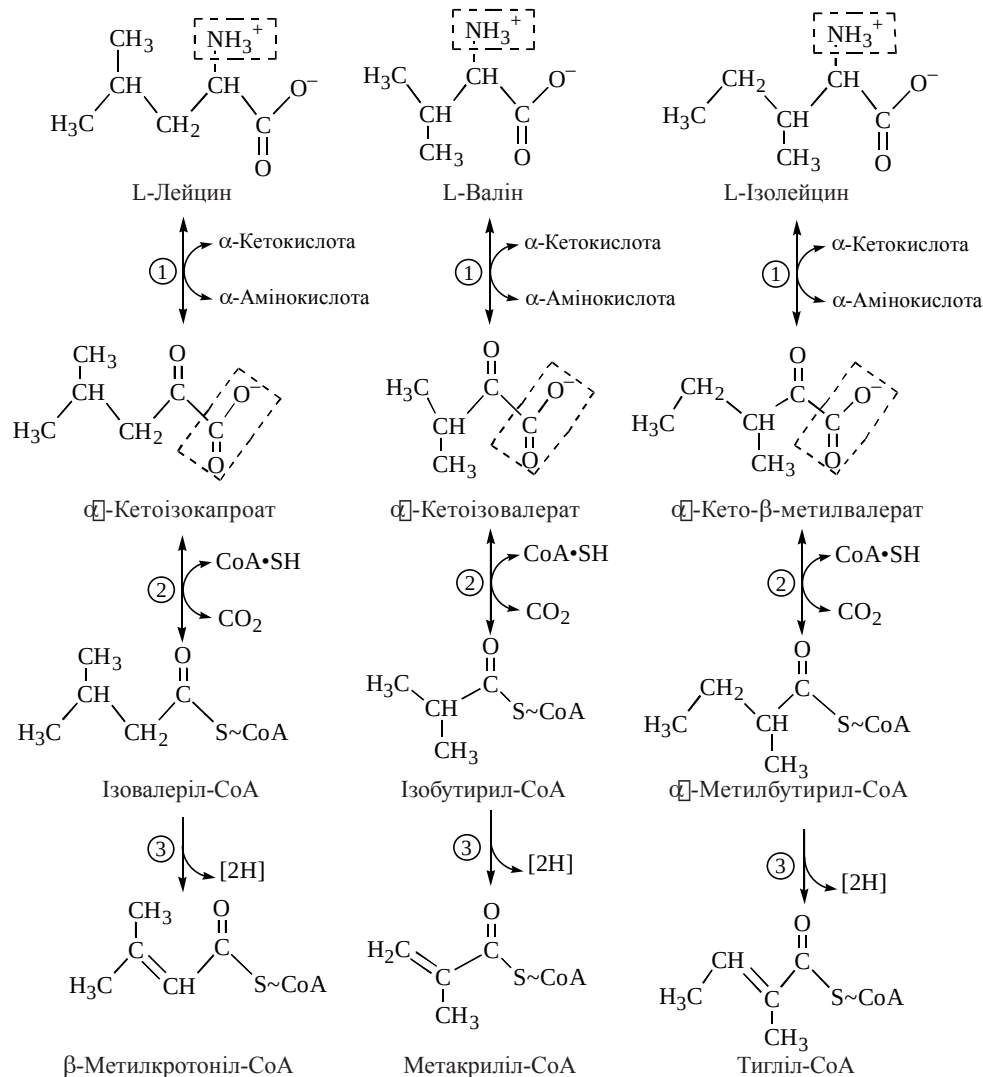
(1) трансамінування до відповідних α -кетокислот з розгалуженим ланцюгом; реакція каталізується *амінотрансферазою*, що може трансамінувати будь-яку з розгалужених L-амінокислот;

(2) окислювальне декарбоксилювання з утворенням ацил-КоА-тіоефірів; реакція каталізується мультиферментним комплексом мітохондрій *дегідрогеназою розгалужених α -кетокислот*; дегідрогеназний комплекс за структурою та молекулярними механізмами каталітичної дії є аналогічним мітохондріальним дегідрогеназам піровиноградної та α -кетоглутарової кислот;



(3) дегідрогенування з утворенням α,β -ненасичених тіоефірів ацил-КоА; реакція каталізується ферментом (або ферментами), подібними до ФАД-залежної ацил-КоА дегідрогенази лінійних жирних кислот.

Подібність перших етапів катаболізму L-валіну, L-лейцину та L-ізолейцину впливає з механізмів зазначених трьох реакцій їх перетворення:



Хвороба кленового сиропу (лейциноз) — спадкова ензимопатія метаболізму амінокислот із розгалуженим ланцюгом.

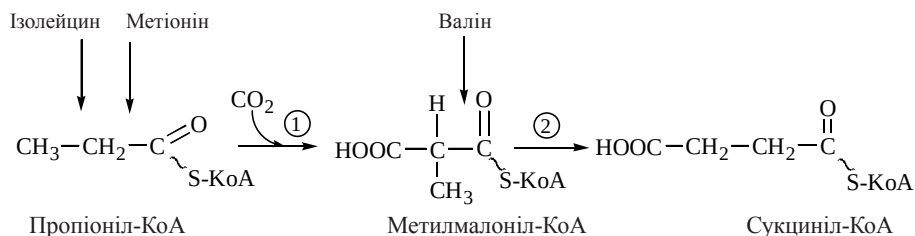
Захворювання спричиняється дефектом гена, що контролює синтез *дегідрогенази розгалужених α -кетокислот*. У зв'язку з блоком ферментної реакції (2) окислювального декарбоксилювання лейцину, валіну та ізолейцину, ці амінокислоти та відповідні їм α -кетокислоти накопичуються в крові та внутрішніх органах хворих (інша

назва ензимопатії — *кетацидурія кислот із розгалуженим ланцюгом*); сеча хворих має специфічний запах кленового сиропу (maple syrup urine disease, англ.). В разі, якщо хвора дитина з раннього віку не буде переведена на спеціальну дієту з низьким вмістом розгалужених амінокислот, патологія призводить до затримки загального розвитку, важких психічних зрушень.

Коензими вітамінів Н та В₁₂ у метаболізмі амінокислот

Сукциніл-КоА є пунктом вступу в цитратний цикл двох розгалужених амінокислот — валіну, ізолейцину та переносника метильних груп амінокислоти метіоніну (рис. 18.1).

Катаболізм цих трьох амінокислот дивергує шляхом утворення спільних інтермедіатів *пропіоніл-КоА* та *метилмалоніл-КоА*. Перетворення пропіоніл-КоА, який також утворюється при β -окисленні жирних кислот з непарною кількістю атомів вуглецю, складають значний біохімічний інтерес:



– реакція (1) каталізується *пропіоніл-КоА-карбоксилазою* — біотин (вітамін Н)-залежним ферментом, механізм дії якого є аналогічним для каталітичної дії карбоксилаз, що приєднують CO_2 до ацетил-КоА (в реакції утворення малоніл-КоА) та пірувату (в реакції утворення оксалоацетату);

– реакція (2) каталізується ферментом *метилмалоніл-КоА-мутазою*, коензимом якого є коферментна форма вітаміну В₁₂ — *дезоксиденозилкобаламін*.

Як уже зазначалося (глава 6, п. 6.3.) вітамін В₁₂ утворює два коензими: *метилкобаламін* та *дезоксиденозилкобаламін*. У тканинах ссавців ці коферментні форми вітаміну В₁₂ беруть участь у двох ферментних реакціях:

1) метилюванні гомоцистеїну з утворенням метіоніну — коферментом є *метилкобаламін* як переносник метильної групи в реакції метіоніну з N⁵-метил-Н₄-фолатом (див. вище);

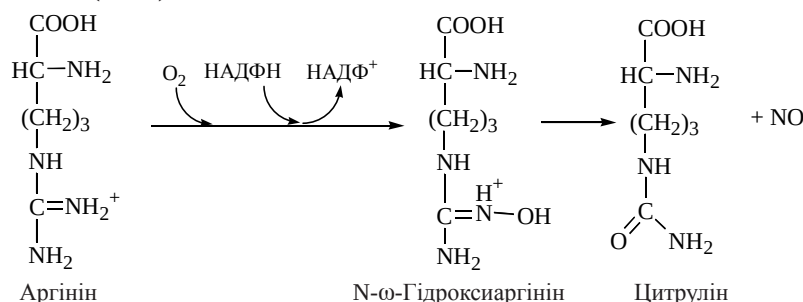
2) ізомеризації метил-малоніл-КоА до сукциніл-КоА — каталітичну функцію виконує *дезоксиденозилкобаламін* як коензим *метилмалоніл-КоА-мутази*; механізм реакції полягає у внутрішньомолекулярному обміні двох хімічних груп, що сполучені із сусідніми атомами вуглецю — атомами водню та радикалу, який може бути заміщений вуглеводнем, гідроксильною або аміногрупою:



Обмін аргініну

Участь аргініну в утворенні сечовини як кінцевого продукту амінного метаболізму у ссавців була розглянута вище. В останні роки значну увагу привернула метаболічна роль аргініну як попередника в генерації *оксида азоту* (NO) — короткоживучої молекули, яка виконує функцію *внутрішньоклітинного месенджера* сигналів фізіологічно активних сполук.

Утворення оксиду азоту з аргініну відбувається в реакції, що каталізується *NO-синтазою* (NOS):



Ідентифіковано три ізоформи NO-синтази, які названі за типом клітин, де вони були вперше виявлені: NOS-1 — нейрональна, або мозкова, NOS-2 — макрофагальна, NOS-3 — ендотеліальна ізоформа.

Біологічна роль NO в організмі реалізується шляхом його участі в модуляції таких фізіологічних функцій, як регуляція тонуусу гладких м'язів, зокрема вазодилатація, імунні процеси, нейротрансмісія тощо.

18.3. СПЕЦІАЛІЗОВАНІ ШЛЯХИ ОБМІНУ ЦИКЛІЧНИХ АМІНОКИСЛОТ

Обмін фенілаланіну та тирозину

Особливістю метаболізму в тваринних організмах циклічних амінокислот фенілаланіну та тирозину є утворення з них численних фізіологічно активних сполук гормональної та медіаторної дії, а саме: катехоламінів (адреналіну, норадреналіну), тиреоїдних гормонів, меланінів (рис. 18.3).

1. Шляхи метаболізму фенілаланіну

1.1. Катаболічний шлях обміну полягає у втраті фенілаланіном аміногрупи (в реакції трансамінування) з утворенням фенілпірувату та кінцевого метаболіту фенілацетату, що екскретується з організму.

1.2. Шлях синтезу фізіологічно активних сполук починається з перетворення фенілаланіну на тирозин при дії ферменту *фенілаланінгідроксилази* з подальшим перетворенням тирозину (див. нижче).

2. Шляхи метаболізму тирозину

2.1. Катаболічний шлях обміну полягає у трансамінуванні тирозину і перетворенні на р-оксифенілпіруват, який окислюється до гомогентизинової кислоти у складній реакції, коферментну роль у якій виконує аскорбінова кислота

(вітамін С); подальші перетворення полягають в окисленні гомогентизату до фумарилацетоацетату (фермент *оксидаза гомогентизинової кислоти*) та розщепленні фумарилацетоацетату до фумарату та ацетоацетату.

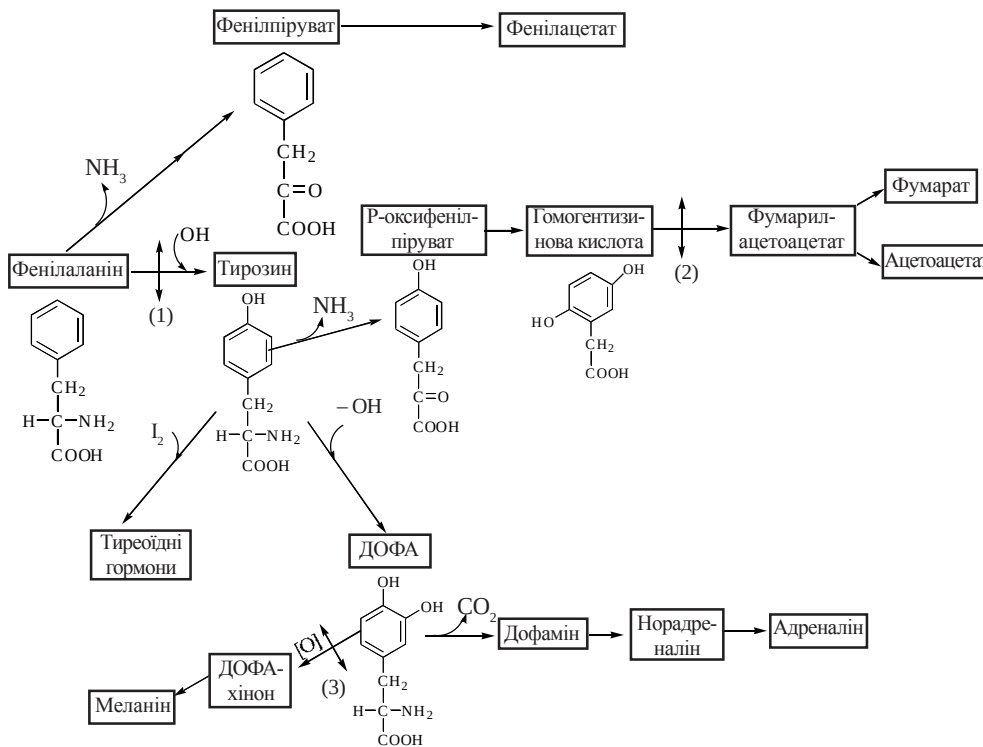


Рис. 18.3. Шляхи метаболізму циклічних амінокислот.

↑ — пункти метаболічного блоку: (1) — фенілкетонурія; (2) — алкаптонурія; (3) — альбінізм.

2.2. Шлях синтезу катехоламінів та меланінів (пігментів шкіри). Шлях починається з окислення тирозину за участю специфічної гідроксилази до 3,4-діоксифеніلالаніну (ДОФА), на рівні якого відбувається дивергенція двох обмінних шляхів: утворення катехоламінів (через декарбоксилювання до дофаміну) та меланінів (через окислення *тирозиназою* до дофахінону).

2.3. Шлях синтезу тиреоїдних гормонів — реалізується в клітинах щитовидної залози і полягає в утворенні йодованих тиронінів.

Спадкові порушення обміну циклічних амінокислот

Вперше уроджене порушення обміну циклічних амінокислот — *алкаптонурія* — була виявлена англійським лікарем А.Геродом (A.Garrod) в 1902 р., який до того ж довів генетичне походження захворювання, що стало вирішальною подією в становленні уявлення про спадкові порушення метаболізму.

Фенілкетонурія — ензимопатія, спричинена генетичним дефектом синтезу *феніلالанінгідроксилази*. Внаслідок блокування утворення тирозину з феніلالаніну останній в збільшеній кількості надходить на шлях утворення фенілпірувату

та фенілацетату, які в надмірних концентраціях накопичуються в організмі хворих. Концентрація фенілаланіну в крові хворих зростає в десятки разів, досягаючи 100-800 мг/л (норма — 10-40 мг/л). Патологія проявляє себе ранніми порушеннями психічного розвитку дитини — *фенілпіровиноградна олигофренія (oligophrenia phenylpyruvica)*.

Алкаптонурія — ензимопатія, що викликана генетично детермінованою недостатністю ферменту *оксидази гомогентизинової кислоти*. Характерним проявом захворювання є надмірне виділення гомогентизинової кислоти із сечею, яка при додаванні лугів набуває темного забарвлення; акумуляція гомогентизату в тканинах суглобів призводить до розвитку артритів.

Альбінізм — ензимопатія, біохімічною основою якої є спадкова недостатність ферменту *тирозинази*, що каталізує реакції, необхідні для утворення чорних пігментів меланінів. Відсутність меланінів у меланоцитах шкіри проявляється недостатньою (або відсутньою) пігментацією шкіри та волосся, підвищеною чутливістю шкіри до сонячного світла, порушенням зору.

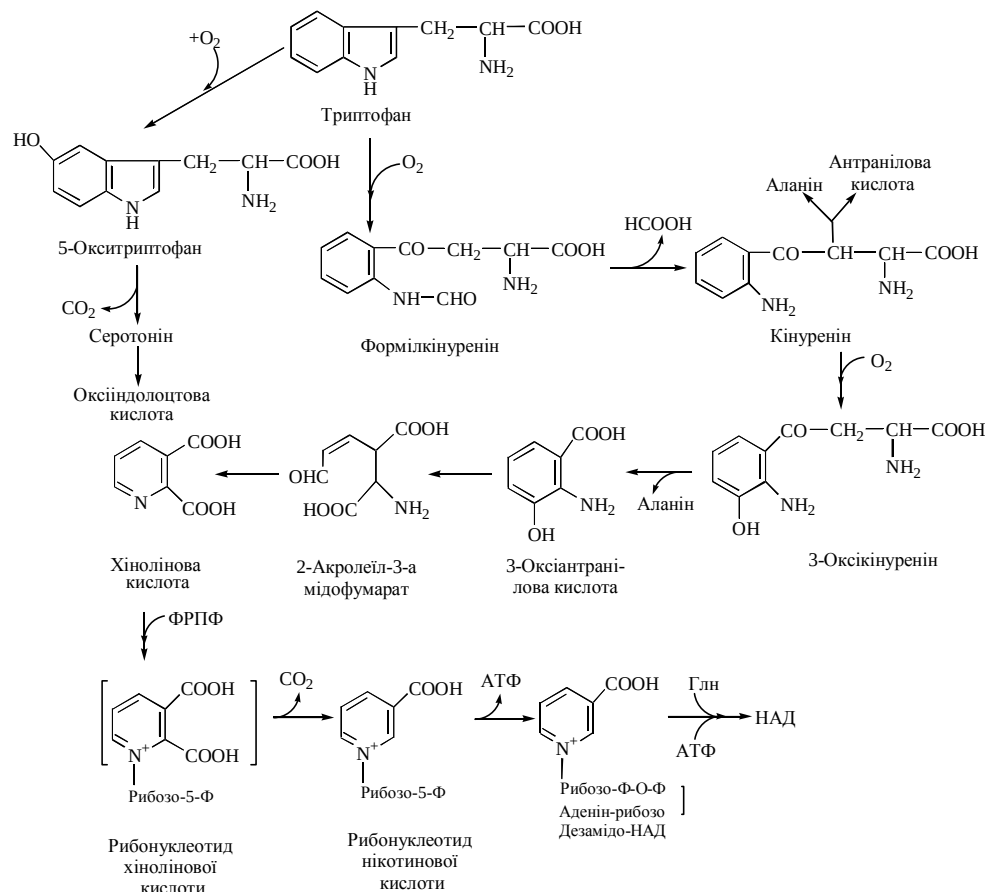


Рис. 18.4. Метаболічні перетворення триптофану.

Обмін триптофану

L-Триптофан є незамінною амінокислотою для організму людини та вищих тварин у зв'язку з відсутністю ферментних систем синтезу його вуглецевого скелета. Разом з тим, триптофан є попередником у біосинтезі таких фізіологічно активних сполук, як речовина гормональної і медіаторної дії *серотонін* та *нікотинова кислота (вітамін PP)*, який синтезується в тваринному організмі у формі НАД. Існують два основні біохімічні шляхи перетворення триптофану (рис. 18.4):

- *кінуреніновий шлях*, за яким метаболізується понад 95 % ендogenous триптофану;
- *серотоніновий шлях*, що складає в кількісному відношенні близько 1% загальної кількості триптофану в організмі.

1. Вступ триптофану на *серотоніновий шлях* починається з гідроксилювання амінокислоти до 5-окситриптофану, який після декарбоксилювання перетворюється на серотонін.

В організмі людини серотонін підлягає окислювальному дезамінуванню з утворенням оксііндолацетової кислоти, яка виділяється з сечею. Екскреція оксііндолацетату значно збільшена при карциноїдному синдромі, коли за серотоніновим шляхом перетворюється до 60 % триптофану.

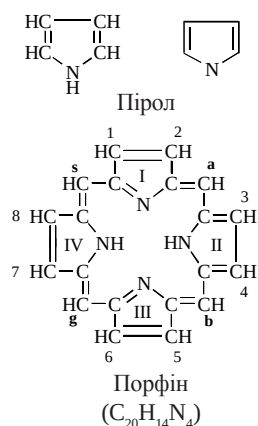
2. Катаболізм триптофану *кінуреніновим шляхом* починається з окислення триптофану при дії гемвмісного ферменту *триптофанпіролази* до формілкінуреніну, який після відщеплення мурашиної кислоти перетворюється на кінуренін та 3-оксикінуренін. Подальші перетворення 3-оксикінуреніну пов'язані з дією ПАЛФ-залежного ферменту *кінуренінази*, яка розщеплює цей інтермедіат до аланіну та 3-оксіантранілової кислоти. 3-Оксіантранілова кислота — метаболіт, що після складних багатоступеневих перетворень призводить до хінолінової кислоти — попередника в синтезі нікотинамід у формі коферменту НАД.

18.4. МЕТАБОЛІЗМ ПОРФІРИНІВ

Порфірини та їх комплекси з металами — металопорфірини — є простетичними групами багатьох *гемопротейнів* — білків, які беруть участь в окислювально-відновлювальних реакціях у тваринних та рослинних клітинах. Представниками гемопротейнів, що містять металопорфіринові групи, є Fe^{2+} -вмісні *гемоглобін* (O_2 — транспортує білок еритроцитів) і *міоглобін* (O_2 — запасуючий білок м'язів), $(\text{Fe}^{2+}\text{-Fe}^{3+})$ - та $(\text{Cu}^{1+}\text{-Cu}^{2+})$ -вмісні *цитохроми*, $(\text{Fe}^{2+}\text{-Fe}^{3+})$ -вмісні ферменти *каталаза*, *пероксидази*, *триптофанпіролаза*, Mg^{2+} -вмісний *хлорофіл* рослин.

Структура порфіринів

Порфірини — сполуки циклічної будови, основою структури яких є ароматична гетероциклічна система — *порфін*. *Порфін*, в свою чергу, є тетрапіролом, який утворюється при сполученні між собою метенільними ($-\text{CH}=\text{}$) містками чотирьох кілець азотистого гетероциклу *піролу*.



Будова піролу та порфіну.
Порфірини — похідні порфіну, заміщені в положеннях 1,2,3,4,5,6,7,8.

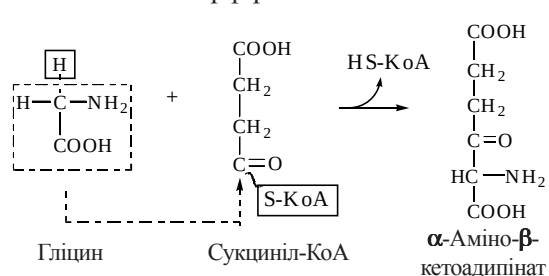
Природні порфірини, що в комплексі з металами входять до складу багатьох фізіологічно важливих гемопротеїнів, — це сполуки, в яких вісім атомів водню порфіринового ядра заміщені різними вуглеводневими радикалами. Залежно від будови бічних радикалів, розрізняють декілька класів порфіринів: *уропорфірини*, *копропорфірини*, *протопорфірини*, *етіопорфірини*, *гематопорфірини*, *мезопорфірини*, *дейтеропорфірини*. Кожен клас порфіринів містить декілька ізомерів, що позначаються літерами латинського алфавіту.

Метаболічні попередники порфіринів мають назву *порфіриногенів* (*уропорфіриногени*, *копропорфіриногени* тощо). На відміну від порфіринів, порфіриногени не містять спряжених метенільних структур (в їх молекулах піроли сполучені насиченими метиленовими (—CH₂—) містками); вони є безбарвними сполуками і перетворюються на забарвлені *порфірини* при ферментативному або неферментативному (під дією кисню повітря) окисленні.

До складу *гему* кисеньзв'язуючих білків організму людини — *гемоглобіну*, *міоглобіну* та *цитохромів* дихальних ланцюгів входить порфін, що позначається як *протопорфін* III (за старою номенклатурою Фішера цей порфін класифікувався як *протопорфін IX* — номенклатурне позначення, що використовується і в даний час).

Синтез порфіринів

Біосинтез порфіринів тісно пов'язаний з амінокислотним метаболізмом:

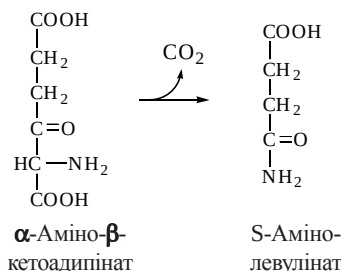


попередниками в утворенні піролових кілець порфіринів є гліцин та сукциніл-КоА. Послідовність реакцій синтезу така:

1. Взаємодія гліцину з сукцинілом-КоА з утворенням α -аміно- β -кетoadипінової кислоти:

2. Декарбоксілювання α -аміно- β -кетoadипінової кислоти з утворенням δ -амінолевулінової кислоти (ДАЛК):

Обидві зазначені реакції, що призводять до утворення ДАЛК, каталізуються ферментом δ -амінолевулінатсинтазою (*ДАЛК-синтазою*). ДАЛК-синтаза є ПАЛФ-вмісним ферментом, що локалізований у мітохондріях та ендоплазматичному ретикулумі, в найбільшій кількості — в клітинах печінки (де він бере участь в синтезі простетичних груп мітохондріальних цитохромів та мікросомального цитохрому P-450), кісткового мозку та незрілих еритроцитах (ретикулоцитах).



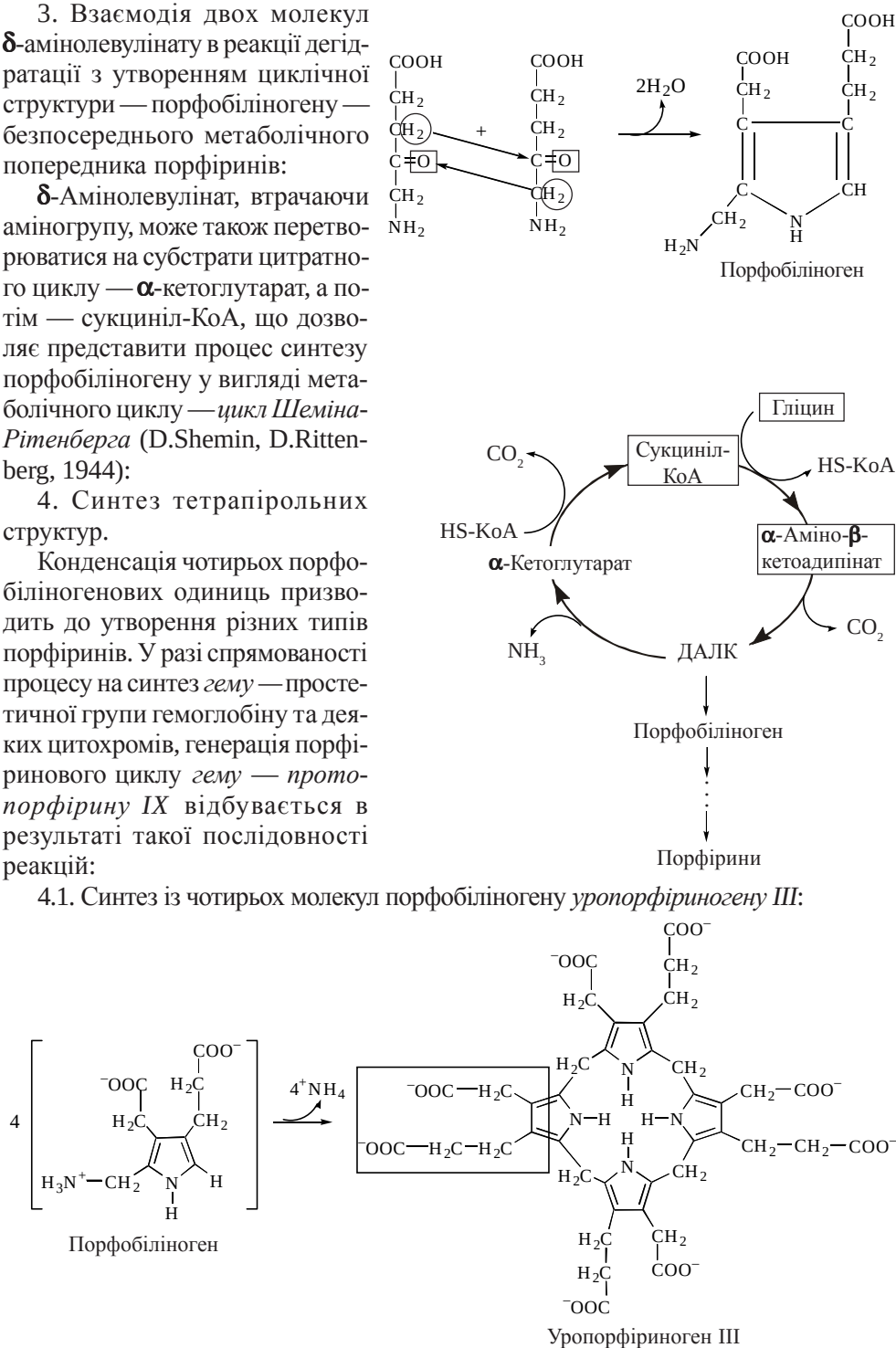
3. Взаємодія двох молекул δ -амінолевуліату в реакції дегідратації з утворенням циклічної структури — порфобіліногену — безпосереднього метаболічного попередника порфіринів:

δ -Амінолевуліат, втрачаючи аміногрупу, може також перетворюватися на субстрати цитратного циклу — α -кетоглутарат, а потім — сукциніл-КоА, що дозволяє представити процес синтезу порфобіліногену у вигляді метаболічного циклу — *цикл Шеміна-Ріттенберга* (D.Shemin, D.Rittenberg, 1944):

4. Синтез тетрапірольних структур.

Конденсація чотирьох порфобіліногенових одиниць призводить до утворення різних типів порфіринів. У разі спрямованості процесу на синтез *гему* — простетичної групи гемоглобіну та деяких цитохромів, генерація порфіринового циклу *гему* — *протопорфірину IX* відбувається в результаті такої послідовності реакцій:

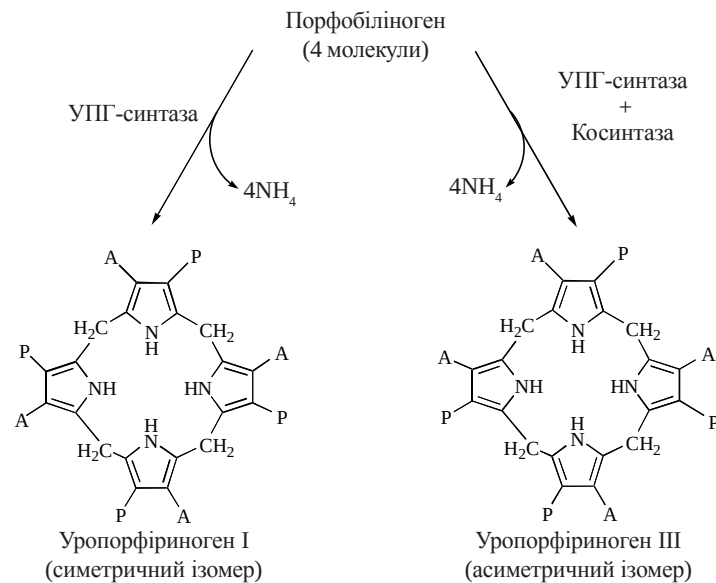
4.1. Синтез із чотирьох молекул порфобіліногену *уропорфіриногену III*:



Реакція відбувається за участю двох білків:

- ферменту *уропорфіриноген-синтази* (*порфобіліногендезамінази*);
- білка *уропорфіриноген III-косинтази*.

Каталітична дія самого по собі ферменту уропорфіриноген-синтази, тобто у відсутності косинтази, призводить до утворення нефізіологічного ізомерного порфірину — *уропорфіриногену I* (така ситуація можлива при одній із форм спадкового порушення синтезу порфіринів). Наявність косинтази спрямовує конденсацію молекул порфобіліногену в бік утворення саме *уропорфіриногену III*.



УПП-синтаза — уропорфіриногенсинтаза; А — ацетат ($-\text{CH}_2\text{COOH}$); Р — пропіонат ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$)

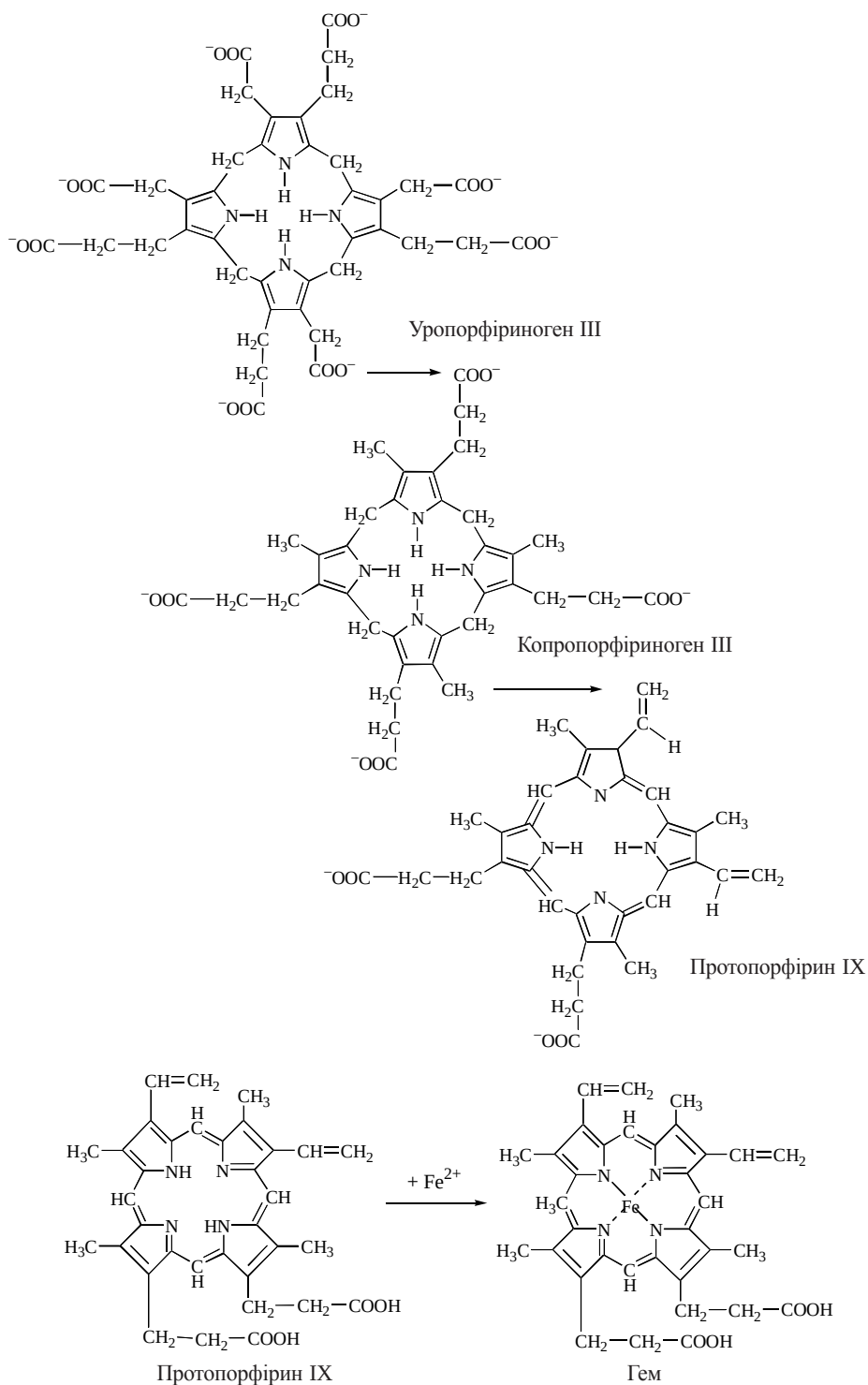
Уропорфіриноген III є також метаболічним попередником у синтезі вітаміну B₁₂ бактеріями та хлорофілу рослинами і бактеріями.

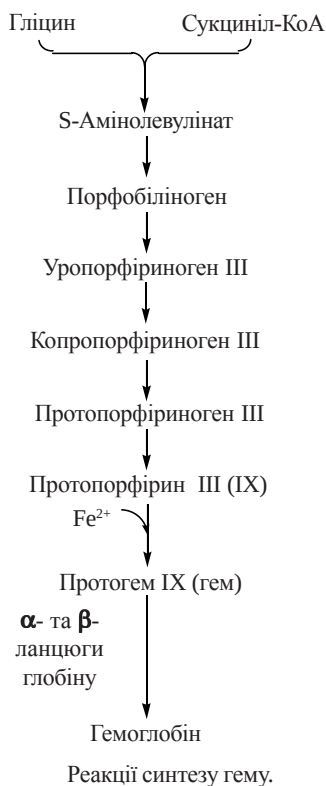
4.2. Перетворення уропорфіриногену III на *копропорфіриноген III*. Механізм реакції полягає у декарбоксилюванні бічних ацетатних ланцюгів (фермент *уропорфіриноген-декарбоксилаза*).

4.3. Перетворення копропорфіриногену III на *протопорфіриноген III* та *протопорфірин III (IX)*. Процес включає в себе окислювальне декарбоксилювання бічних ланцюгів та окислення метиленових мостиків і каталізується специфічними оксидазами мітохондрій — *копропорфіриногеноксидазою* та *протопорфіриногеноксидазою*, відповідно.

Включення в молекулу протопорфірину IX атома двовалентного заліза, що каталізується ферментом *ферро-хелатазою* (*гем-синтазою*) мітохондрій завершує синтез *гему* (*протогему IX*). Сполучення гему з білком глобіном призводить до утворення гемоглобіну.

Реакції перетворення уропорфіриногену III на молекулу протопорфірину IX та синтез гему:





Джерелом іонів заліза гему є залізовмісний тканинний білок *феритин*, одна молекула якого може зв'язувати 4500 іонів Fe^{3+} . В свою чергу, феритин отримує залізо від білка *трансферину*, що в плазмі крові транспортує залізо, яке надходить за рахунок розщеплення гемоглобіну еритроцитів та всмоктування іонів заліза в кишечнику.

Загальну послідовність реакцій синтезу гему з гліцину та сукциніл-КоА подано на схемі:

Регуляція синтезу порфіринів здійснюється на рівні ДАЛК-синтази за механізмом негативного зворотного зв'язку таким чином, що в умовах накопичення гему його власний біосинтез гальмується. Кінцевий продукт біосинтетичного шляху — гем — править за *корепресор*, що разом із білком *апорепресором* утворює негативний модулятор, який протидіє трансляції в рибосомах мРНК для ДАЛК-синтази, призводячи до блокування синтезу ферменту.

Спадкові порушення обміну порфіринів

Спадкові порушення біосинтезу порфіринів (*порфірії*) — дефекти метаболізму (ензимопатії), за яких порфірини та їх попередники в надмірних кількостях накопичуються в тканинах людського організму, зокрема в шкірі і підшкірній клітковині, та екскретуються з сечею і фекаліями.

Існують декілька найбільш поширених клініко-біохімічних типів порфірій, що відрізняються типом дефектного гена та характером прояву ензимопатії. Описані порфірії, які розвиваються в результаті дефектів майже всіх ферментів синтезу гему. Успадковуються порфірії як автосомно-рецесивні або автосомно-домінантні хвороби.

Основними клінічними проявами порфірій є підвищення чутливості до світла та неврологічні порушення.

Світлочутливість

Аномальне відкладення порфіринів різної молекулярної структури в шкірі призводить до її фотосенсибілізації та розвитку фотодерматитів. Молекулярною основою таких патологічних проявів є утворення під дією сонячного світла з довжиною хвилі близько 400 нм активних форм кисню типу синглетного кисню $^1\text{O}_2$ та перекисних радикалів порфіринів типу $\text{RO}_2\cdot$, які пошкоджують клітинні мембрани і призводять до загибелі клітин.

Неврологічні порушення

Неврологічні порушення при порфіріях проявляються патологічними симптомами з боку як периферичної (дизестезії, порушення моторики кишечника, нерво-м'язової провідності, параліч дихальних м'язів тощо), так і центральної нервової системи.

Залежно від основного місця прояву специфічного ферментного дефекту, розрізняють *еритропоетичні* та *печінкові* порфірії.

Еритропоетична порфірія (*хвороба Гюнтера*) — патологія, зумовлена порушенням синтезу *уропорфіриноген III-косинтази*. В результаті цього біохімічного дефекту відбувається утворення нефізіологічного ізомера уропорфіриногену — *уропорфіриногену I*. Для захворювання характерна забарвленість в червоний колір сечі (в деяких випадках також кісток та зубів), зумовлена накопиченням нирками уропорфіриногену I, який у сечі перетворюється на уропорфірин I.

Печінкові порфірії. Розрізняють декілька типів печінкових порфірій, характерними проявами яких є неврологічні порушення, пов'язані з надмірним накопиченням в організмі *серотоніну* внаслідок зниження синтезу гемвмісного ферменту *триптофанпіролази*.

До найбільш поширених клінічних форм печінкових порфірій належать:

- *гостра мінлива порфірія (піролопорфірія)* — захворювання, зумовлене дефектом ферменту *уропорфіриноген-синтази (порфобіліногендезамінази)*;
- *спадкова копропорфірія* — ензимопатія, спричинена дефектом ферменту *копропорфіриногеноксидази*.

Розділ IV. МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ СПАДКОВОСТІ ТА РЕАЛІЗАЦІЇ ГЕНЕТИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ

ГЛАВА 19. БІОСИНТЕЗ НУКЛЕОТИДІВ

Структурними компонентами інформаційних нуклеїнових кислот — ДНК та РНК є нуклеотиди пуринового та піримідинового ряду (дезоксирибонуклеотиди та рибонуклеотиди). Біосинтез моонуклеотидів є життєво важливим процесом, оскільки він забезпечує утворення біомолекул нуклеїнових кислот та нуклеотидних коферментів, необхідних для реалізації всієї сукупності генетичної інформації, що міститься в живих клітинах.

19.1. БІОСИНТЕЗ ПУРИНОВИХ НУКЛЕОТИДІВ

Ферментні системи організму людини і тварин здатні до синтезу нуклеотидних структур на основі біомолекул-попередників. У процесі біосинтезу пуринових нуклеотидів беруть участь молекули амінокислот (гліцину, аспартату та глутаміну) та каталітично активні одновуглецеві групи у формі похідних тетрагідрофолату (H_4 -фолату) і активного CO_2 , що приєднуються безпосередньо до пентозної частини нуклеотиду - рибозо-5-фосфату.

Організм людини і тварин може також в обмеженій кількості синтезувати пуринові та піримідинові нуклеотиди шляхом використання готових молекул азотистих основ, що вивільняються при катаболізмі нуклеїнових кислот і потрапляють в організм із їжею, але основним механізмом поповнення внутрішньоклітинного пулу нуклеотидів є їх синтез *de novo*, тобто з більш простих метаболічних попередників.

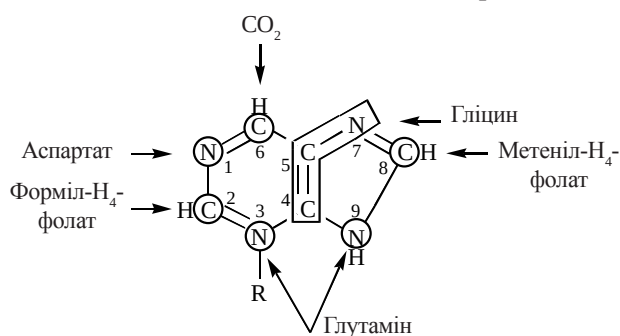


Схема походження окремих атомів С та N у молекулі пурину.

Походження окремих атомів С та N у молекулі пурину, що входить до складу пуриннуклеотидів, подано на схемі:

Пуриновим рибонуклеотидом, який синтезується *de novo* в результаті послідовного приєднання атомів вуглецю та азоту до молекули рибозо-5-фосфату,

є інозин-5'-монофосфат (ІМФ), який у подальшому перетворюється на аденозин-5'-монофосфат (АМФ) та гуанозин-5'-монофосфат (ГМФ).

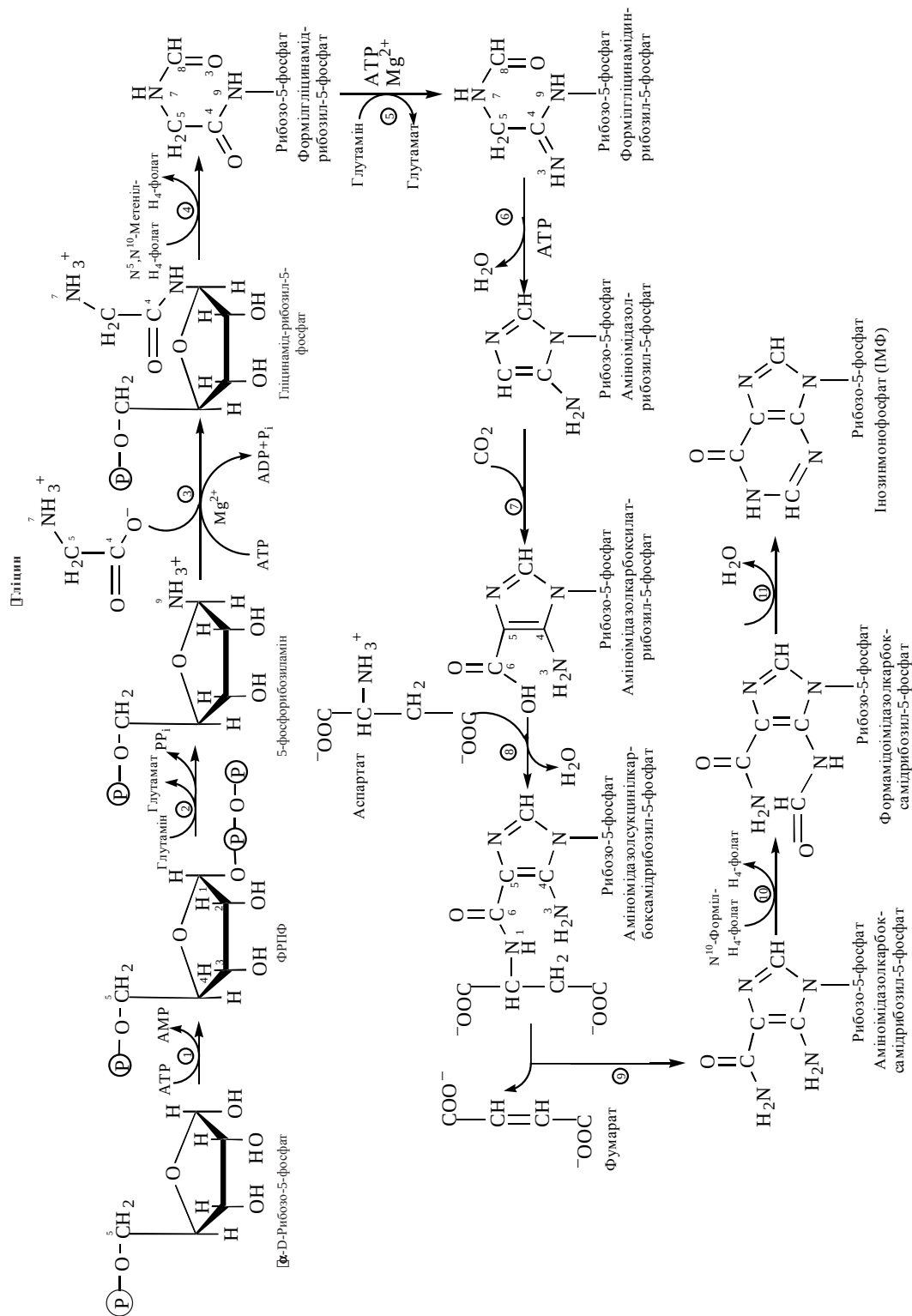


Рис. 19.1.1. Метаболічна карта біосинтезу пуринових нуклеотидів.

Реакції біосинтезу ІМФ

Послідовність ферментативних реакцій, що призводять до утворення ІМФ, є такою (рис. 19.1):

(1) взаємодія α -D-рибозо-5-фосфату з АТФ з утворенням 5-фосфорибозил-1-пірофосфату (ФРПФ);

(2) взаємодія ФРПФ із глутаміном з утворенням 5-фосфорибозиламіну;

(3) взаємодія 5-фосфорибозиламіну з гліцином з утворенням гліцинамід-рибозил-5-фосфату (ГАР);

(4) взаємодія ГАР з активною формою форміату ($\text{—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C—H}$) ($\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -метеніл- H_4 -фолатом) з утворенням форміл-ГАР;

(5) взаємодія форміл-ГАР з глутаміном (донором аміногрупи) з утворенням формілгліцинамідно-рибозил-5-фосфату (форміл-ГАМ);

(6) взаємодія форміл-ГАМ з АТФ із замиканням імідазольного кільця, тобто утворенням сполуки, що містить п'ятичленне кільце пуринового циклу — аміноімідазол-рибозил-5-фосфату (АІР);

(7) карбоксилювання АІР з утворенням аміноімідазолкарбоксилат-рибозил-5-фосфату (АІКР);

(8) взаємодія АІКР із аспартатом (донором аміногрупи) з утворенням проміжної сполуки — аміноімідазолсукцинілкарбоксамід-рибозил-5-фосфату (АІСКР);

(9) розщеплення АІСКР з елімінацією fumarату та утворенням аміноімідазолкарбоксамід-рибозил-5-фосфату (АІКАР);

(10) формілювання АІКАР за рахунок ($\text{—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C—H}$)-групи N^{10} -форміл- H_4 -фолату з утворенням формамідоімідазолкарбоксамід-рибозил-5-фосфату (ФАІКАР);

(11) дегідратація та циклізація ФАІКАР з утворенням першого пуринового нуклеотиду — інозинмонофосфору (інозинові кислоти, ІМФ).

Уся послідовність біохімічних реакцій — блискучий приклад складності “молекулярної логіки живого”!

Утворення АМФ та ГМФ

Інозинмонофосфат є попередником в утворенні інших пуринових рибонуклеотидів — аденозинмонофосфату (АМФ) та гуанозинмонофосфату (ГМФ).

Синтез АМФ здійснюється шляхом таких реакцій:

1) заміщення кисню при С-6 пурину на аміногрупу, донором якої є аспарагінова кислота; проміжний продукт реакції — аденілосукцинат, утворення якого потребує хімічної енергії у формі макроергічного зв'язку ГТФ;

2) розщеплення аденілосукцинату з вивільненням fumarату та утворенням аденозин-5'-монофосфату.

Синтез ГМФ відбувається також у дві стадії:

1) окислення вуглецю (С-2) в кільці пурину з утворенням ксантилової кислоти (ксантозин-5'-монофосфату); реакція потребує наявності НАД⁺ як акцептора водню;

2) заміщення кисню при С-2 на аміногрупу, донором якої є амідна група глутаміну; амідкування спряжене з розщепленням двох макроергічних зв'язків АТФ — в результаті реакції утворюється гуанозин-5'-монофосфат.

Утворення АТФ та ГТФ

Оскільки біосинтез полінуклеотидів РНК і ДНК вимагає наявності нуклеозидтрифосфатів (НТФ) та дезоксирибонуклеозидтрифосфатів (дНТФ) (глава 20), важливою метаболічною ланкою є фосфорилювання відповідних пуринових та піримідинових (див. нижче) нуклеозидмонофосфатів.

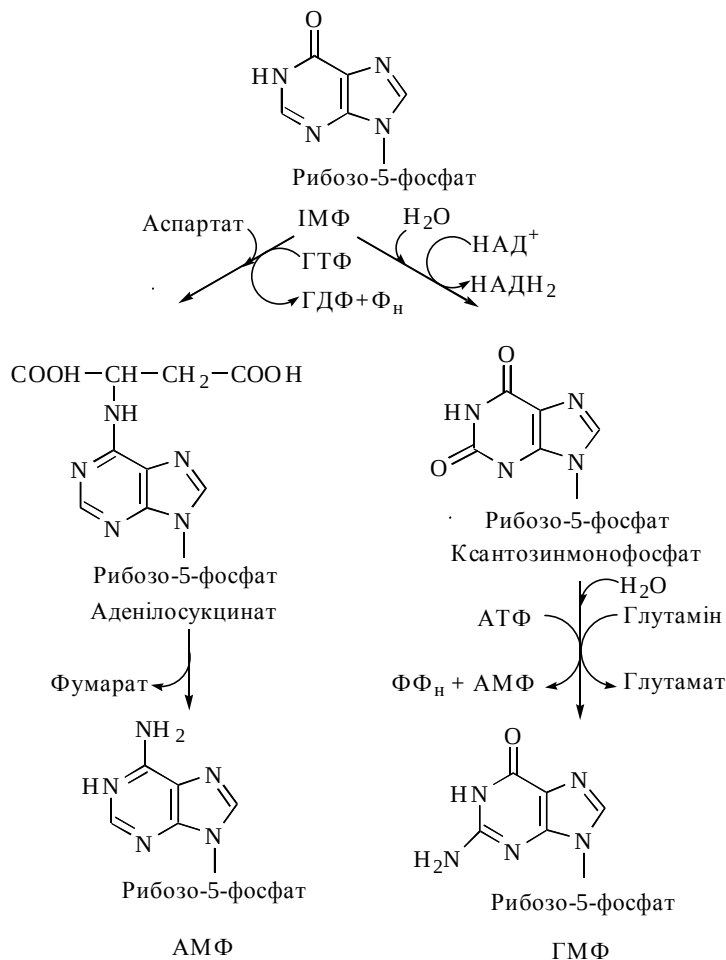
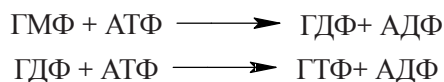


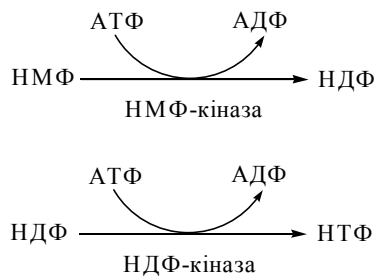
Схема утворення аденілової (АМФ) та гуанілової (ГМФ) кислот з ІМФ.

Перетворення нуклеозидмонофосфатів на нуклеозиддифосфати та нуклеозидтрифосфати реалізується за рахунок макроергічних зв'язків АТФ і каталізується послідовною дією ферментів *нуклеозидмонофосфокіназ* та *нуклеозиддифосфокіназ*:

Зокрема, утворення ГТФ з ГМФ реалізується таким шляхом:



Перетворення АМФ на АДФ відбувається в результаті дії *аденілаткінази*:



АТФ, макроергічні зв'язки якої витрачаються в зазначених кіназних реакціях, регенерується в результаті окисного фосфорилювання.

Регуляція синтезу пуринових нуклеотидів

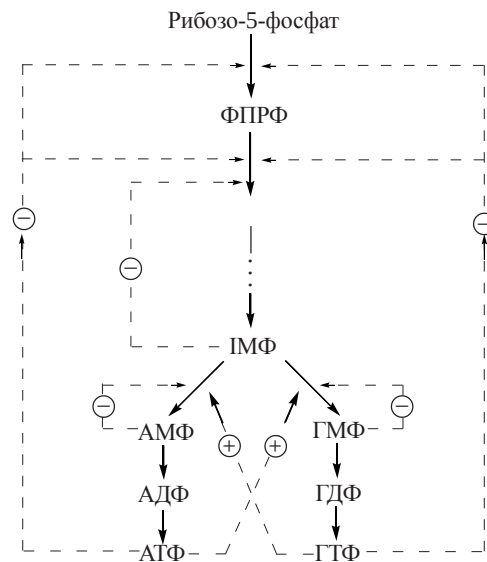


Рис. 19.2. Пункти контролю синтезу пуринових нуклеотидів.

Синтез пуринових нуклеотидів регулюється за принципом негативного зворотного зв'язку — кінцеві продукти біосинтетичного шляху (АМФ, ГМФ, АТФ, ГТФ) гальмують певні ферментативні реакції їх утворення. Враховуючи біологічну важливість для самого існування клітини координованого синтезу нуклеотидів як попередників в утворенні ДНК і РНК, контроль їх кількісного складу здійснюється на декількох регуляторних ділянках (рис. 19.2).

1. Контроль ранньої стадії синтезу пуринових нуклеотидів реалізується двома механізмами:

1.1. Шляхом зменшення при дії АМФ та ГМФ активності ферменту, що перетворює α -D-рибозо-5-фосфат

на 5-фосфорибозил-1-пірофосфат (ФРПФ) — 5-фосфорибозил-1-пірофосфат-синтетази.

1.2. Шляхом інгібування при дії ІМФ, АМФ та ГМФ активності регуляторного алостеричного ферменту, що перетворює ФРПФ на 5-фосфорибозиламін — глутамін-ФРПФ-амідотрансферази; це — найважливіший пункт контролю швидкості всього біосинтетичного шляху.

2. Контроль пункту розгалуження в синтезі пуринових нуклеотидів, тобто перетворення ІМФ на АМФ та ГМФ відбувається за такими механізмами:

2.1. АМФ гальмує власне утворення з ІМФ шляхом інгібування активності ферменту *аденілозуцинатсинтетази*, який перетворює ІМФ на аденілозуцинат;

2.2. ГМФ гальмує власне утворення з ІМФ шляхом інгібування ферменту *ІМФ-дегідрогенази*, який перетворює ІМФ на ксантозинмонофосфат.

2.3. АТФ та ГТФ є джерелами метаболічної енергії для синтезу один одного: АТФ необхідний для перетворення ІМФ на ГМФ (та ГТФ), тоді як ГТФ необхідний для перетворення ІМФ на АМФ (та АТФ); тому збільшення (зменшення) концентрації кожного з нуклеозидтрифосфатів призводить до відповідних змін у швидкості утворення іншого нуклеозидтрифосфату, що забезпечує їх координований синтез.

Біосинтез пуринових нуклеотидів із азотистих основ

Розглянутий біосинтез пуринових нуклеотидів із простих попередників — синтез *de novo* — потребує значних витрат метаболічної енергії у формі макроергічних зв'язків АТФ і ГТФ і відбувається не у всіх тканинах. Цей складний метаболічний шлях має місце переважно в печінці, тоді як в інших тканинах, зокрема в еритроцитах, лейкоцитах, клітинах головного мозку відбувається утворення нуклеотидів із “готових” вільних пуринових основ — аденіну, гуаніну та 6-оксипурину (гіпоксантину).

Джерелом пуринових основ для такого синтезу є пурини, які утворюються з нуклеотидів, синтезованих у печінці, та нуклеотидів, які постійно вивільняються в результаті катаболізму (гідролітичного розщеплення) нуклеїнових кислот і нуклеотидів власних тканин та таких, що надходять у складі харчових продуктів.

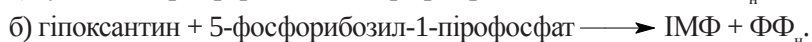
Цей механізм більш швидкого біосинтезу пуриннуклеотидів шляхом повторного вкlopenня в метаболізм вільних азотистих основ отримав назву “шляху реутилізації” (salvage reactions — англ.).

Реакції повторного використання пуринів для синтезу нуклеотидів перебігають за участю таких ферментів:

(1) *аденінфосфорибозилтрансферази*, що каталізує реакцію:



(2) *гіпоксантингуанінфосфорибозилтрансферази*, що каталізує реакції:



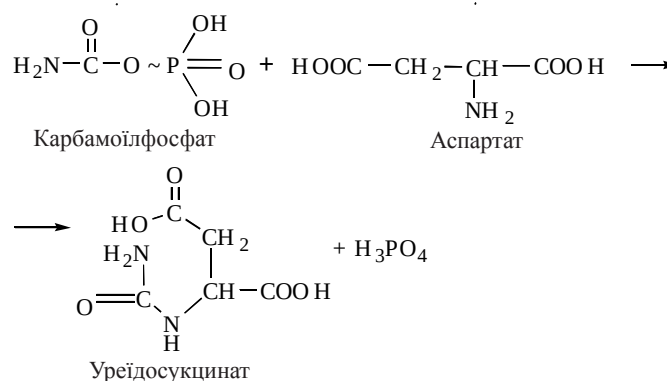
19.2. БІОСИНТЕЗ ПІРИМІДИНОВИХ НУКЛЕОТИДІВ

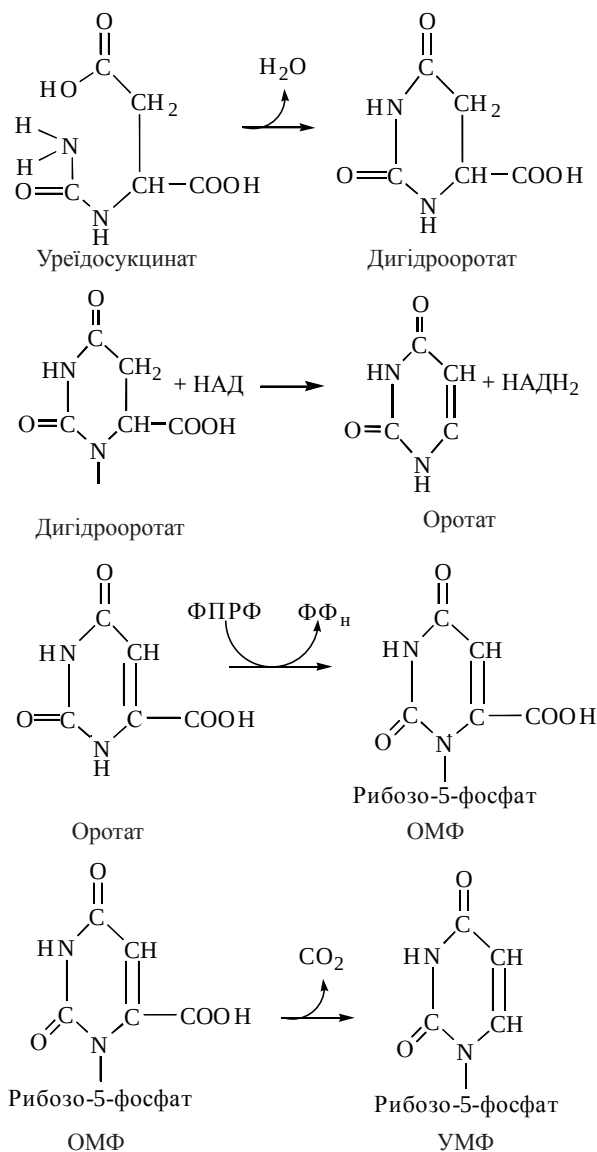
На відміну від біосинтезу пуринових нуклеотидів, синтез піримідинових нуклеотидів відбувається шляхом приєднання пентози у формі 5-фосфорибозил-1-пірофосфату вже після утворення піримідинового циклу з попередників із лінійним ланцюгом. Метаболічними попередниками атомів вуглецю та азоту в молекулах піримідинів є амінокислота L-аспартат та карбамоїлфосфат.

Реакції біосинтезу піримідиннуклеотидів

Утворення УМФ

1. Утворення уреїдо-янтраної кислоти з аспартату та карбамоїлфосфату; реакція каталізується регуляторним ферментом *аспартат-карбамоїлтрансферазою*:





2. Утворення дигідрооротової кислоти в результаті дегідратації уреїдосукцинату (фермент — *дигідрооротаза*):

3. Утворення оротової кислоти в результаті дегідрування дигідрооротату (фермент — НАД-залежна *дигідрооротатдегідрогеназа*):

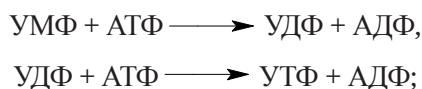
4. Сполучення оротової кислоти з 5-фосфорибозил-1-пірофосфатом з утворенням оротидилової кислоти (оротидин-5'-монофосфату, ОМФ); фермент, що каталізує реакцію, — *оротатфосфорибозилтрансфераза*:

5. Декарбоксілювання оротидилової кислоти до уриділової кислоти (уридин-5'-монофосфату, УМФ) — фермент *ОМФ-декарбоксилаза*:

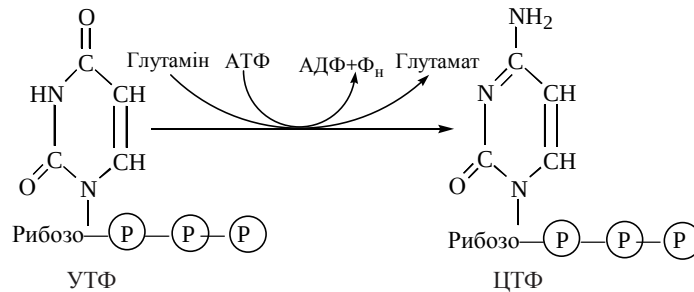
Утворення УДФ, УТФ та ЦТФ

Уридинмонофосфат (УМФ), що синтезувався внаслідок розглянутої послідовності реакцій, використовується для утворення інших піримідиннуклеотидів, зокрема піримідинових нуклеозидтрифосфатів (УТФ, ЦТФ) та дезоксирибонуклеозидтрифосфатів (дЦТФ, ТТФ), що використовуються в синтезі РНК і ДНК:

(1) утворення УДФ та УТФ відбувається в результаті послідовного фосфорилювання УМФ *нуклеозидмонофосфокіназами* та *нуклеозиддифосфокіназами* (аналогічно розглянутому вище фосфорилюванню пуринових нуклеотидів):



(2) утворення ЦТФ відбувається в результаті амінування УТФ — реакції, в якій беруть участь глутамін (донор аміногрупи) та АТФ:



Регуляція синтезу піримідинових нуклеотидів

Контроль швидкості біосинтезу піримідинових нуклеотидів забезпечується на рівні двох регуляторних ферментів (рис. 19.3):

(1) *карбамоїлфосфатсинтетази*, яка забезпечує постачання біосинтетичного шляху одним із перших субстратів — карбамоїлфосфатом (цей пункт регуляції є основним у вищих тварин (ссавців), включаючи організм людини); алостеричним інгібітором ферменту є УТФ — кінцевий продукт біосинтетичного шляху; разом з тим, ФРПФ — інтермедіат пуринового синтезу — збільшує активність ферменту, що є одним з механізмів забезпечення координованого синтезу пуринів та піримідинів;

(2) *аспартаткарбамоїлтрансферази*, яка каталізує синтез уреїдоантарної кислоти (цей механізм регуляції має місце переважно у *E. coli* та інших бактерій); алостеричним інгібітором ферменту є ЦТФ, активатором — АТФ; молекулярні механізми регуляції активності ферменту розглянуті в главі 7.

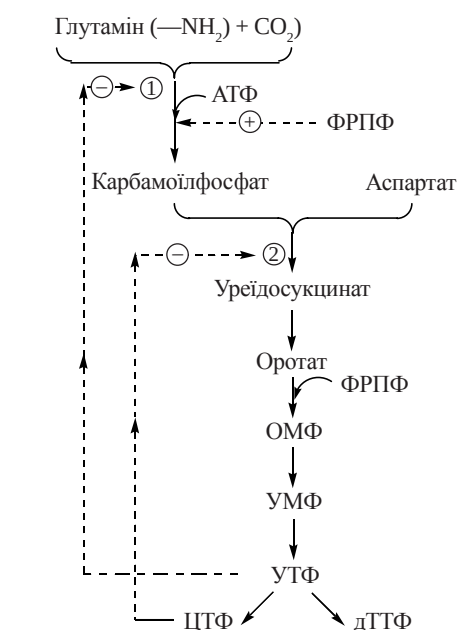


Рис. 19.3. Схема регуляції синтезу піримідинових нуклеотидів.

19.3. БІОСИНТЕЗ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДІВ

Біосинтез РНК різних класів вимагає наявності пуринових (АТФ, ГТФ) та піримідинових (ЦТФ, УТФ) рибонуклеотидів, тоді як для біосинтезу генетичних ДНК необхідні дезоксирибонуклеотиди пуринового — дАТФ, дГТФ — та піримідинового — дЦТФ, дТТФ (ТТФ) ряду.

Попередниками дезоксирибонуклеотидів у клітинах є рибонуклеотиди у формі нуклеозиддифосфатів (НДФ) (переважно) та нуклеозидтрифосфатів (НТФ).

Механізм перетворення рибонуклеотидів на дезоксирибонуклеотиди

Перетворення НДФ на відповідні дНДФ досягається шляхом відновлення гідроксильної групи при С-2' рибози з утворенням 2'-дезоксирибози. Донором відновлювальних еквівалентів у цьому процесі є відновлений НАДФ (НАДФН + Н⁺):

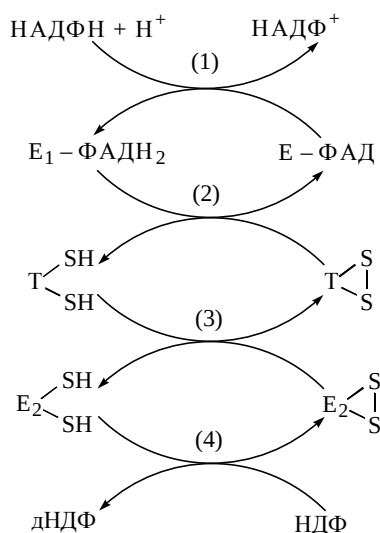
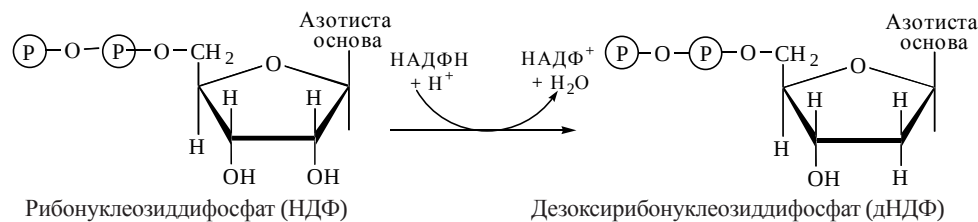


Рис. 19.4. Схема переносу відновлювальних еквівалентів від (НАДФН + Н⁺) на рибонуклеозиддифосфат:

E₁ — ФАДН₂ — тіоредоксинредуктаза;

E₂ — рибонуклеотидредуктаза;

T — тіоредоксин.

Вказана реакція є, в дійсності, складним біохімічним процесом, в якому беруть участь: низькомолекулярний (м.м. — 12 кД) SH-вмісний білок *тіоредоксин* і два окислювально-відновлювальні ферменти (редуктази) — *тіоредоксинредуктаза* та *рибонуклеотидредуктаза*, що складають в сукупності електронотransпортний ланцюг відновлення НДФ до дНДФ (рис. 19.4).

Процес відновлення НДФ до дНДФ за рахунок протонів та електронів (НАДФН + Н⁺) складається з таких реакцій:

(1) переносу водню від (НАДФН + Н⁺) на ФАД флавінового ферменту *тіоредоксинредуктази*;

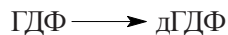
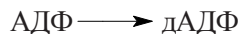
(2) переносу водню від відновленої *тіоредоксинредуктази* на SH-групи *тіоредоксину*;

(3) переносу водню від відновленого *тіоредоксину* на SH-групи *рибонуклеотидредуктази*;

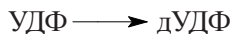
(4) переносу водню від відновлених сульфгідрильних груп *рибонуклеотидредуктази* на НДФ з утворенням дНДФ.

Утворення дАТФ, дГТФ та дУТФ

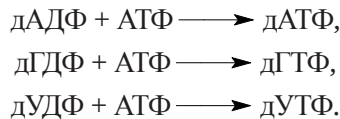
За розглянутим механізмом іде утворення пуринових дезоксирибонуклеотидів:



та піримідинового дезоксирибонуклеотиду дУДФ:

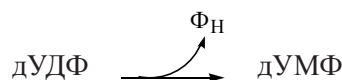


дНДФ, які утворилися в цих реакціях, перетворюються на відповідні дНТФ (попередники в біосинтезі ДНК) в реакціях, що каталізуються *нуклеозиддифосфокіназами*:

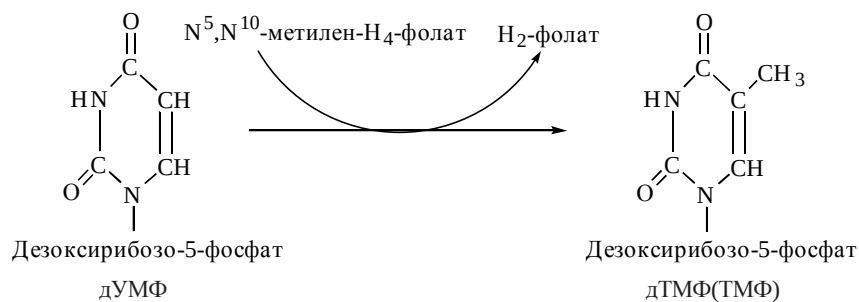


Утворення тимідилових нуклеотидів

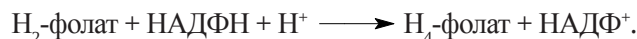
Біосинтез тимідилових нуклеотидів, що також містять 2'-дезоксирибозу, починається з тимідилату (тимідин-5'-монофосфату, дТМФ, ТМФ). Безпосереднім попередником дТМФ є дезоксиуридин-5'-монофосфат (дУМФ), який утворюється з дезоксиуридин-5'-дифосфату (дУДФ) внаслідок його дефосфорилювання:



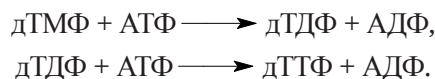
Перетворення дУМФ на дТМФ — заключний крок в утворенні нуклеотиду, що потрібний для біосинтезу ДНК — відбувається шляхом метилювання дУМФ у такій реакції:



Процес каталізується ферментом *тимідилатсинтазою*, коферментом якої є $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -метилєн- H_4 -фолат, що в результаті реакції окислюється до дигідрофолату. Подальше функціонування фолату як коферменту вимагає регенерації тетрагідрофолату в реакції, що каталізується *дигідрофолатредуктазою*:



Утворення тимідилових нуклеозидди- і трифосфатів — дТДФ(ТДФ), дТТФ(ТТФ) відбувається за рахунок їх фосфорилювання АТФ у кіназних реакціях:

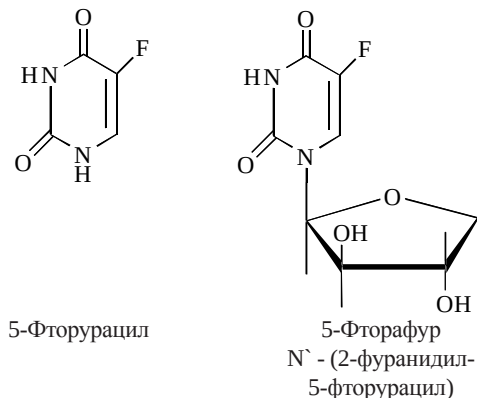


Інгібітори синтезу дТМФ як протипухлинні засоби

Біосинтез нових молекул чотирьох дезоксирибонуклеозидтрифосфатів (дАТФ, дГТФ, дЦТФ та дТТФ), що необхідні для реплікації ДНК, практично не відбувається

у фазі мітотичного (репродуктивного) спокою клітини (G_0) і активується на стадіях клітинного циклу, що передують мітозу (глава 20). У зв'язку з цим, хімічні сполуки, які блокують синтез *de novo* зазначених дНТФ, унеможливають подвоєння (реплікацію) геномної ДНК та поділ клітин — концепція, що покладена в основу фармакологічної дії багатьох протипухлинних лікарських засобів.

Саме за таким механізмом реалізується затримка поділу клітин злоякісних пухлин, яка відбувається під впливом препаратів, що блокують синтез тимідилату дТМФ (рис. 19.5), а саме:



1) структурних аналогів дУМФ, що здатні до взаємодії з *тимідилатсинтазою*, блокуючи її каталітичну дію за механізмом конкурентного інгібування; прикладом такого механізму є ефект протипухлинних засобів антиметаболітної дії *5-Фторурацилу* (аналога урацилу) та *Фторафуру* (аналога уридину, що в організмі людини також утворює вільний 5-фторурацил):

Після надходження в організм 5-фторурацил перетворюється на 5-фтордезоксисуридин-5'-монофосфат (5-фтор-дУМФ), тобто безпосередній структурний аналог дУМФ — субстрату *тимідилатсинтази*; сполучення 5-фтор-дУМФ з ферментом протидіє зв'язуванню активного центру останнього із справжнім субстратом (дУМФ), що блокує утворення дТМФ;

2) похідних птерину *Аміноптерину* та *Метотрексату*, що, маючи подібність до частини молекули фолієвої кислоти, діють у біохімічних реакціях як її структурні аналоги і, у зв'язку

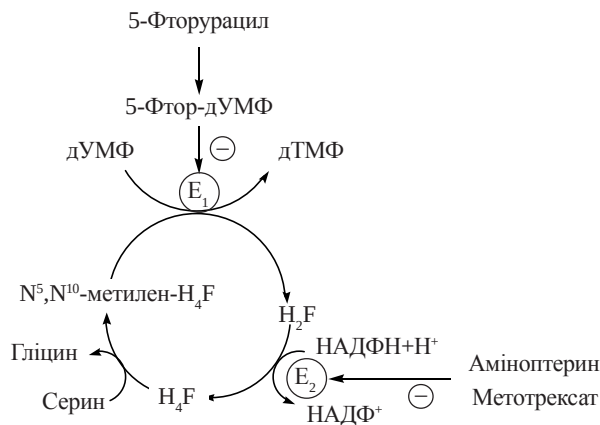


Рис. 19.5. Механізми антипухлинної дії сполук, що блокують синтез дТМФ (E_1 — тимідилатсинтаза; E_2 — дигідрофолатредуктаза; H_4F — тетрагідрофолат; H_2F — дигідрофолат).

з цим, виступають як конкурентні інгібітори *дигідрофолатредуктази*; гальмування каталітичної дії цього ферменту протидіє регенерації H_4 -фолату з H_2 -фолату і, таким чином, порушує біосинтез дТМФ.

19.4. КАТАБОЛІЗМ НУКЛЕОТИДІВ

Джерелом вільних пуринових та піримідинових нуклеотидів є розщеплення власних нуклеїнових кислот гідролітичними ферментами ДНК-азами та РНК-азами та біосинтез нуклеотидів, що відбувається в тканинах. Вільні нуклеотиди, які не використовуються для синтезу нуклеїнових кислот, підлягають розщепленню з утворенням кінцевих продуктів азотистого (нуклеїнового) обміну.

Розщеплення пуринових нуклеотидів

Розщеплення пуринових нуклеотидів (АМФ та ГМФ) включає реакції:

– відщеплення фосфатної групи з утворенням нуклеозидів аденозину та гуанозину (фермент - 5'-нуклеотидаза);

– дезамінування (на рівні аденозину — фермент *аденозиндезаміназа* або на рівні гуаніну — фермент *гуаніндезаміназа*);

– відщеплення від нуклеозидів пентозного залишку D-рибози (фермент *нуклеозидаза*) або пентозофосфату в цілому (ферменти — *фосфорилази*);

– подальший катаболізм *гіпоксантину* (що утворився з АМФ) або *ксантину* (що утворився з ГМФ) з утворенням кінцевого продукту *сечової кислоти* (2,6,8-триоксипурину):

Окислення гіпоксантину до ксантину та ксантину до сечової кислоти каталізується ферментом *ксантиноксидазою*:

Ксантиноксидаза — ФАД-залежний флавопротеїн, що містить у своєму складі також іони заліза та молібдену. В ксантиноксидазних реакціях як окисник використовується молекулярний кисень O_2 , який відновлюється до перекису водню:

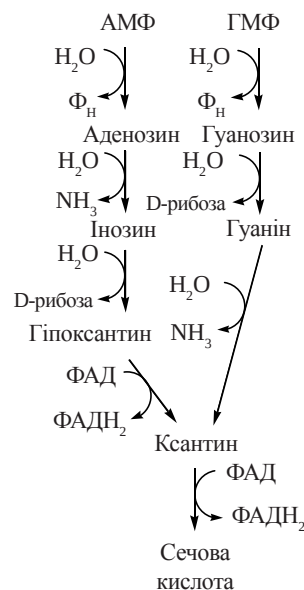
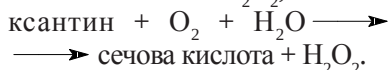
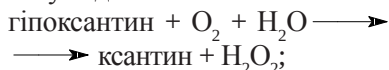
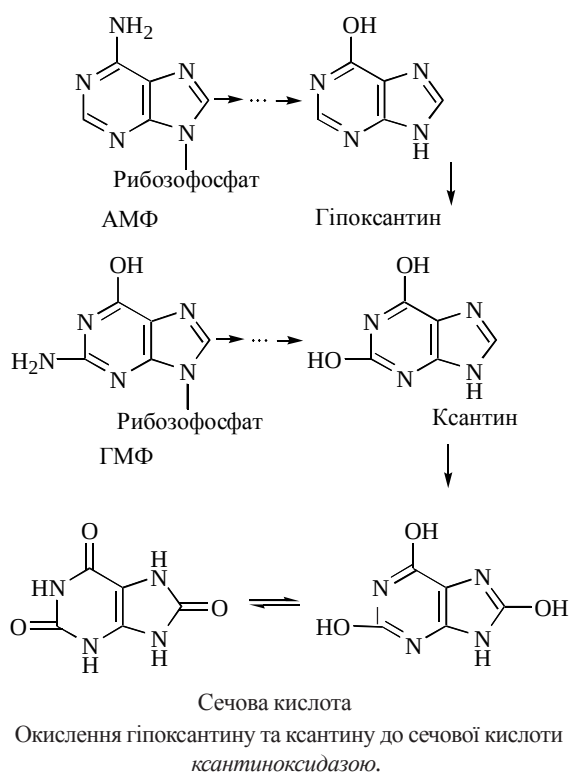


Схема перетворення пуринових нуклеотидів на сечову кислоту.



Спадкові порушення обміну сечової кислоти



Рис. 19.6. Горбачевський І.Я. (1884-1942), український біохімік. Професор медичної хімії Чеського ун-ту, професор та ректор Українського ун-ту в Празі та Відні. Вперше синтезував сечову кислоту, відкрив фермент ксантиноксидазу.

Сечова кислота є сполукою, погано розчинною у воді. Межа розчинності урату натрію — молекулярної форми, в якій сечова кислота знаходиться в плазмі крові, — складає 7 мг/дл (70 мг/л), що є верхньою межею нормальної концентрації цієї сполуки в крові (30-70 мг/л). Вважають, що біологічне значення наявності в організмі людини значної кількості уратів зумовлене їх високою *антиоксидантною* активністю як сполук, що знешкоджують цитотоксичні хімічно активні радикали кисню (L. Stryer, 1995).

Подагра

Підтриманню розчинного стану уратів в організмі людини сприяє їх зв'язування з білками крові; разом з тим, щонайменше збільшення вмісту сечової кислоти в крові — *гіперурикемія* — супроводжується випадінням у тканинах кристалів уратів, що клінічно проявляється розвитком *подагри*.

Подагра — захворювання, основним проявом якого є розвиток важкого больового синдрому внаслідок відкладення кристалів уратів у порожнинах суглобів та розвитку процесу запалення. З метою зменшення гіперурикемії при подагрі запропоновано препарат *Алопуринол*, що за механізмом дії є незворотним інгібітором *ксантиноксидази*; застосування препарату значно зменшує вміст сечової кислоти в крові, що сприяє полегшенню клінічних проявів захворювання.

Синдром Леша-Ніхана

Ця хвороба є зчепленою з Х-хромосомою спадковою формою гіперурикемії, що розвивається у дитячому віці (у хлопчиків) і, крім симптомів, властивих для подагри, проявляється також тяжкими нервово-психічними порушеннями.

Біохімічною основою ензимопатії є генетичний дефект синтезу *гіпоксантин-гуанінфосфорибозилтрансферази* — ферменту, що забезпечує повторне використання в метаболічних реакціях вільних гіпоксантину та гуаніну (“шлях реутилізації”). Внаслідок дефіциту ферменту в організмі відбувається аномальне накопичення гіпоксантину та гуаніну, які, перетворюючись на сечову кислоту, спричиняють розвиток гіперурикемії.

Розщеплення піримідинових нуклеотидів

Початкові етапи катаболізму піримідинових нуклеотидів, як і в разі пуринових нуклеотидів, полягають у відщепленні рибозофосфату з подальшим окисненням піримідинів, що утворюються.

Катаболізм азотистих основ (урацилу, цитозину, тиміну) полягає в розриві піримідинових циклів з утворенням в якості продуктів похідних амінокислот —

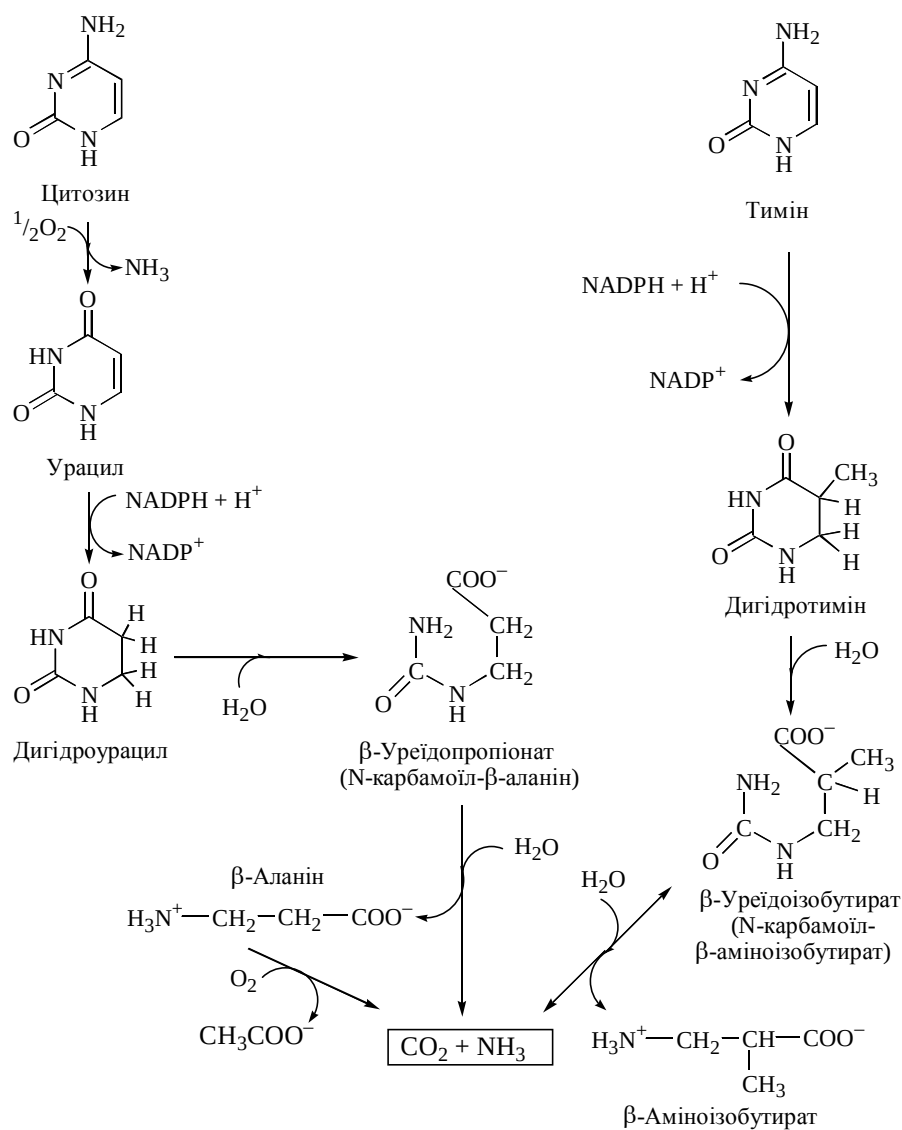


Схема катаболізму піримідинових азотистих основ.

β -аланін та **β -аміноізобутирату**. В свою чергу, **β -аланін** розщеплюється до дво-окису вуглецю та аміаку, тоді як **β -аміноізобутират** може метаболізуватися подібно до інших розгалужених амінокислот з утворенням сукциніл-КоА.

ГЛАВА 20. МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ РЕПЛІКАЦІЇ ДНК ТА ТРАНСКРИПЦІЇ РНК

20.1. БІОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ РЕПЛІКАЦІЇ ДНК. НАПІВКОНСЕРВАТИВНИЙ МЕХАНІЗМ РЕПЛІКАЦІЇ



Рис. 20.1. Уотсон (Watson) Джеймс Д. (народ. 1928 р.), американський біохімік, один із фундаторів молекулярної біології. Нобелівська премія (1962).



Рис. 20.2. Крік (Crick) Френсис (народ. 1916 р.), англійський фізик, один із фундаторів молекулярної біології. Нобелівська премія (1962).

Значення відкриття в 1953 р. Дж.Уотсоном та Ф.Кріком будови молекули ДНК як подвійної спіралі полягало не тільки в розшифровці геометричної структури молекули. Модель, що була запропонована, розкривала можливості для створення чітких наукових уявлень про механізм подвоєння — *реплікації* молекули ДНК, **тобто рівного розподілу між дочірніми клітинами генетичного матеріалу**, що становило чи не найбільшу біологічну таємницю протягом усього існування людства.

Як зазначав пізніше Дж.Уотсон, “існування двох перепланих ланцюгів з однаковою послідовністю основ не могло бути випадковим. Навпаки, це дає право вважати, що один із ланцюгів кожної молекули на певній стадії править за матрицю для синтезу іншого ланцюга. За такою схемою реплікація гена починалася б із його розділення на два однакові ланцюги. Потім на обох материнських матрицях могли б утворюватися два дочірні ланцюги, в результаті чого формувалися б дві молекули ДНК, ідентичні першій” (J.Watson, 1968).

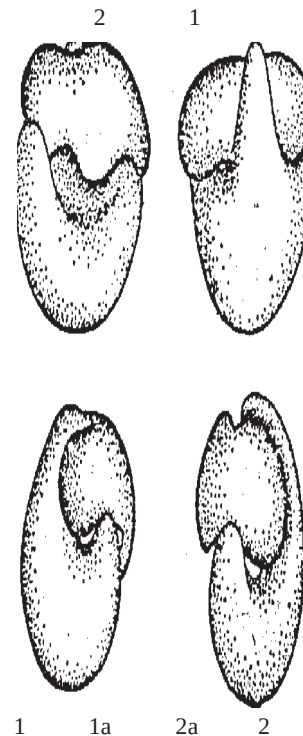


Рис. 20.3. Модель реплікації ДНК за механізмом Уотсона та Кріка. 1, 2 — материнські ланцюги ДНК; 1a, 2a — дочірні ланцюги ДНК.

Напівконсервативний та консервативний механізми реплікації

Модель подвоєння (реплікації) молекули ДНК, що була первинно запропонована Дж. Уотсоном та Ф. Кріком, отримала назву *напівконсервативного механізму реплікації*. Згідно з цим механізмом, “материнська” молекула ДНК в процесі реплікації розділяється на два ланцюги, кожен з яких править за матрицю для синтезу за принципом *комплементарності* другого ланцюга з утворенням ідентичних “дочірніх” молекул.

Поряд із зазначеною моделлю Уотсона-Кріка, як теоретично можливий розглядався також *консервативний механізм реплікації*, відповідно до якого при подвоєнні клітини “стара” материнська молекула ДНК залишається незайманою, а з вільних мононуклеотидів складаються повністю нові молекули ДНК:

Експериментальне обґрунтування напівконсервативного механізму реплікації ДНК було

здійснено в досліджах М. Мезелсона та Ф. Сталя (M. Meselson, F. W. Stahl; 1957). Головна ідея експерименту М. Мезелсона та Ф. Сталя ґрунтувалася на різній питомій щільності і, відповідно, можливості фракціонування методом ультрацентрифугування в градієнті щільності CsCl молекул ДНК, що відрізняються за вмістом легкого (N^{14}) або важкого (N^{15}) ізотопів азоту. Схему експерименту можна розділити на такі етапи:

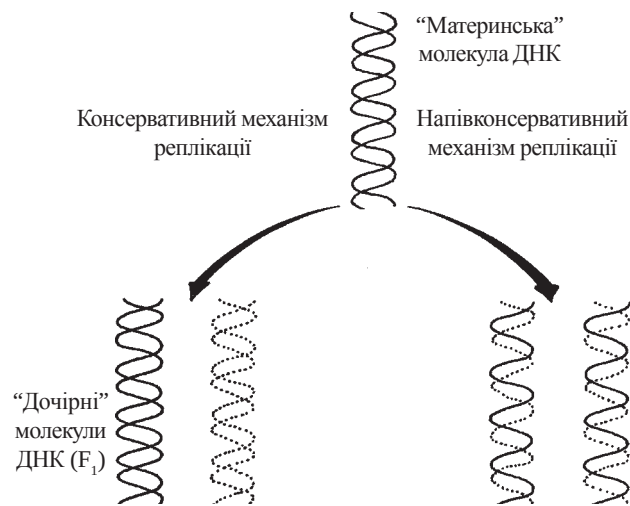


Рис. 20.4. Теоретично можливі механізми реплікації ДНК.

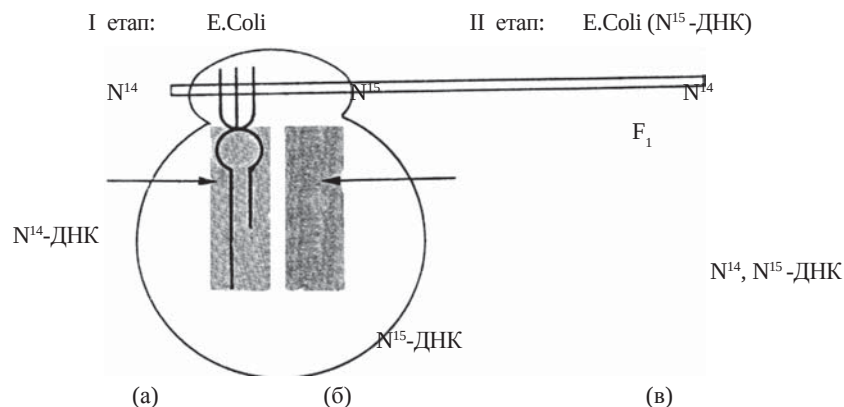


Рис. 20.5. Схema експерименту М. Мезелсона та Ф. Сталя.

1) вирощування клітин *E. Coli* на середовищі, що містило як джерело азоту NH_4Cl з легким ізотопом (N^{14}); була встановлена щільність “легких” молекул ДНК, що містилися в таких клітинах (рис. 20.5а);

2) вирощування клітин *E. Coli* протягом декількох поколінь на середовищі, що містило як джерело азоту NH_4Cl з важким ізотопом (N^{15}); була встановлена щільність “важких” молекул ДНК, що містилися в таких клітинах (рис. 20.5б);

3) клітини *E. Coli*, що містили у своєму складі “повністю важкі” молекули ДНК (N^{15} -ДНК) знову були перенесені на середовище з легким (N^{14}) ізотопом азоту; після першої реплікації дочірні клітини (F_1) збиралися, з них екстрагувалася ДНК і методом ультрацентрифугування визначалася її щільність. Було встановлено, що щільність цієї ДНК з покоління F_1 була *проміжною* між щільністю “легких” (N^{14}) та “важких” (N^{15}) молекул ДНК, тобто складалася наполовину з “легких” і наполовину з “важких” ланцюгів, що відповідало будові (N^{14} , N^{15} -ДНК) (рис. 20.5в), підтверджуючи тим самим напівконсервативний механізм реплікації.

20.2. ФЕРМЕНТИ РЕПЛІКАЦІЇ ДНК У ПРОКАРІОТІВ ТА ЕУКАРІОТІВ

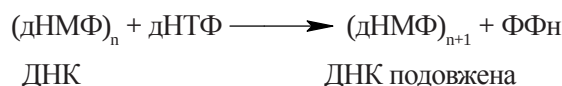
Дослідження А.Корнберга (відкриття ДНК-полімерази I)

Загальна схема біосинтезу ДНК у системі А.Корнберга

А.Корнберг та співавт. (Kornberg Artur, 1956) інкубували екстракти *E. Coli*, що містили ферменти та деяку кількість ДНК, із сумішшю дезоксинуклеозидтрифосфатів (дНТФ), а саме: дАТФ, дТТФ, дГТФ та дЦТФ.

Було встановлено, що в цих умовах синтезується певна кількість нової ДНК (точніше, *полідезоксирибонуклеотиду*), до складу якого входили дезоксинуклеозидмонофосфати (дНМФ) із складу дНТФ, що були використані для біосинтезу. **При цьому новий ланцюг ДНК утворювався за рахунок приєднання дНМФ до кінця одного з ланцюгів ДНК, що вже існувала (передіснуючої ДНК).**

Рівняння реакції в найпростішій формі має вигляд:



Фермент, що каталізував зазначену реакцію, отримав назву *ДНК-полімерази I*, і його вивчення дозволило з'ясувати деякі принципові особливості біосинтезу ДНК як у прокаріотів, так і в еукаріотів, хоча, як з'ясувалося, він не є основним ензимом в реплікації ДНК, а виконує в цьому процесі певні допоміжні функції.

Необхідність вихідної (передіснуючої) ДНК в системі Корнберга

ДНК-полімераза I, що здійснювала утворення 3'-5'-фосфодіефірних зв'язків в системі Корнберга, могла функціонувати тільки в присутності вже існуючої (“передіснуючої”) ДНК. Передіснуюча ДНК, що необхідна для утворення нового *полідезоксирибонуклеотиду*, виконує дві функції (рис. 20.6). Вона служить:

- (1) *затравкою* для подовження ланцюга полідезоксирибонуклеотиду;
- (2) *матрицею*, що визначає (програмує) послідовність включення в ланцюг, що синтезується, нових нуклеотидів.

Пізніше було встановлено, що ДНК-полімераза I (“фермент Корнберга”) не є основним ферментом в реплікації ДНК у прокаріотів. Проте, певні особливості цього синтезу виявилися справедливими і для функціонування інших полімераз.

Особливості синтезу ДНК в ДНК-полімеразній системі:

– ДНК-полімераза не може синтезувати повністю новий ланцюг ДНК, а спроможна лише **приєднувати** дНМФ до вже **існуючого** ланцюга;

– **синтез нового ланцюга ДНК відбувається в напрямку 5'-3'**, тобто ДНК-полімераза послідовно приєднує нуклеотиди (дНМФ з наявних дНТФ) до 3'-кінця одного з ланцюгів ДНК (ланцюга-”затравки”);

– для синтезу нового ланцюга ДНК необхідний також ланцюг-матриця; нуклеотиди сполучаються з 3'-кінцем ланцюга-”затравки” відповідно до нуклеотидної послідовності в ланцюгу-”матриці” (тобто, за принципом *комплементарності*).

Механізм подовження (*елонгації*) ланцюга ДНК полягає в утворенні нових 3'-5'-фосфодієфірних зв'язків, що синтезуються в напрямку 5'→3'. При цьому відбувається *нуклеофільна атака* з боку вільної 3'-гідроксильної групи кінцевого нуклеотиду ланцюга, що вже існує, на α -фосфат дНТФ, який вступає в реакцію:

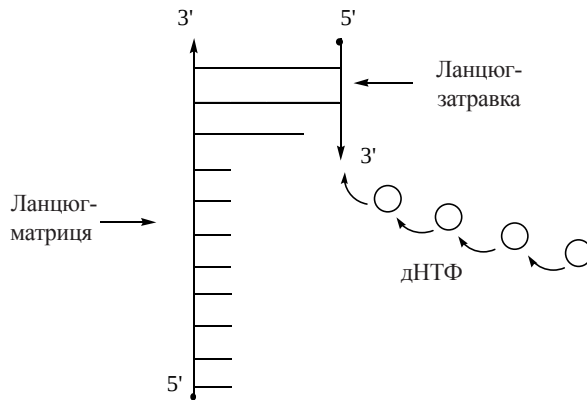
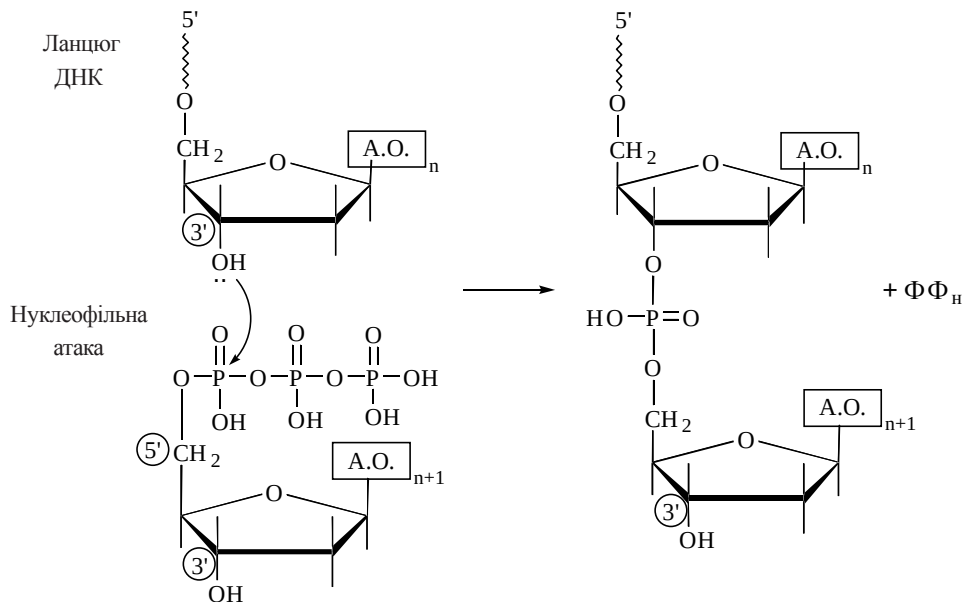


Рис. 20.6. **Схема синтезу нового ланцюга ДНК при наявності ланцюга-затравки та ланцюга-матриці.**



Ферменти біосинтезу ДНК у прокаріотів

1) ДНК-полімераза I — білок з м.м. 103 кД.

Біохімічні функції:

5'→3' — полімеразна активність (розглянута вище);

5'→3' — екзонуклеазна активність (тобто спроможність видаляти нуклеотиди **вище** від напрямку синтезу);

3'→5' — екзонуклеазна активність (“коригуюча” активність, або спроможність видаляти вже включений нуклеотид, якщо він включений *помилково*, тобто не є комплементарним ланцюга-матриці);

2) ДНК-полімераза II (білок з м.м. 120 кД) не є основним в реплікації ДНК у прокаріотів; за уявленнями, що існують, переважною функцією цього ферменту є участь у репарації ДНК;

3) ДНК-полімераза III — головний фермент, що реалізує процес елонгації ДНК у E.Coli.

За своєю молекулярною будовою ДНК-полімераза III є асиметричним димером з м.м. близько 900 кД. Це мультисубодиничний фермент, ціла молекула якого (*холофермент*) містить у своєму складі 10 типів субодиниць — поліпептидних ланцюгів.

Фермент має 5'→3' -полімеразну, 3'→5' -екзонуклеазну та АТФ-азну активності. ДНК-полімераза III є *високопроцесійним ферментом*, що може, не залишаючи матрицю, каталізувати сполучення в ланцюг багатьох тисяч мононуклеотидів (на відміну від 15-20 нуклеотидів при дії ДНК-полімерази I). Швидкість полімеразної реакції складає близько 1000 нуклеотидів за секунду.

АТФ-азна активність є передумовою утворення комплексу холоферменту ДНК-полімерази з матрицею: спочатку АТФ взаємодіє з β -субодиницею холоферменту, а потім активований холофермент сполучається з матричним ланцюгом ДНК, що супроводжується гідролізом АТФ.

Ферменти біосинтезу ДНК в еукаріотів

У клітинах еукаріотів знайдено декілька типів ДНК-полімераз (табл. 20.1).

Т а б л и ц я 20.1. ДНК-полімерази еукаріотів

Тип	Молекулярна маса, кД	Локалізація в клітині
α	250	Ядро
β	39	Ядро
γ	200	Мітохондрії
δ	170	Ядро
ϵ	260	Ядро

Ферментами, що відіграють основну роль у реплікації ДНК в еукаріотів, є ДНК-полімерази α та δ , які є високопроцесійними ферментами з 5'→3'-полімеразною активністю. Полімерази β та ϵ беруть участь в репарації ядерної ДНК, а γ -полімераза відповідає за реплікацію мітохондріальної ДНК.

Вміст ферменту ДНК-полімерази α помітно зростає під час S-фази клітинного циклу, коли відбувається активний синтез ДНК. Активність ДНК-полімераз α , δ та ϵ специфічно блокується *афідиколіном* — дитерпеноїдом з грибів, що діє як потужний антипухлинний антибіотик.

20.3. МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ РЕПЛІКАЦІЇ ДНК

Загальна схема процесу біосинтезу ДНК, що була вивчена в системі А.Корнберга, залишилася правильною до даного часу. Але, враховуючи, що молекула ДНК є подвійною спіраллю із закрученими один навколо одного антипаралельними ланцюгами, існують певні геометричні — *топологічні* складності, що виникають при реплікації молекул ДНК прокаріотів та еукаріотів.

Топологічні проблеми реплікації ДНК

1. Спіралізація та суперспіралізація подвійної спіралі ДНК. Топоізомерази.

Нативні ДНК є двоспіральними молекулами, тому реплікації материнської молекули повинно передувати її *розплетення* з утворенням *реплікативної вилки*, що складається з двох розведених матричних ланцюгів (відповідно до напівконсервативного механізму реплікації). Структурні складності цього процесу полягають також у тому, що у прокаріотів (зокрема у *E. Coli*) двоспіральні молекули ДНК є *кільцевими, зачіпленими* — тобто вони не мають вільних кінців, і їх неможливо розділити без розриву одного з ланцюгів.

Розплетення та відокремлення двох ланцюгів ДНК, що передуює синтезу дочірніх ланцюгів, реалізується при дії спеціальних типів білків:

– ферментів *топоізомераз*, які забезпечують зміну кількості супервитків у кільцевих замкнутих молекулах ДНК. Топоізомерази, і, зокрема *ДНК-гіраза* прокаріотів (*gyration* — обертання, англ.), здійснюють у зачіплених нитках ДНК розриви полінуклеотидних ланцюгів, що створює механічні передумови для їх розкручування. Топоізомерази присутні також у хроматиновому апараті еукаріотів: вони вносять дволанцюгові розриви в довгі лінійні ДНК хромосом, забезпечуючи підготовку останніх до реплікації;

– ферментів *хеліказ* (*helix* — спіраль, англ.), що в АТФ-залежному процесі розкручують, розплітають короткі ділянки ДНК, утворюючи *реплікативні вилки* (*replication fork* — англ.) — місця послідовного розплетення подвійного ланцюга та синтезу нових ниток ДНК;

– білків, що зв'язують одностанкові ДНК (*SSB-білки* — *single strand binding proteins*, англ.), протидіючи їх повторному об'єднанню (ренатурації).

Утворення реплікативної вилки в кільцевих дволанцюгових молекулах ДНК *E. Coli* призводить до формування *тета-структур* (таких, що нагадують грецьку літеру “тета”), які містять реплікативну вилку, що пересягається у міру синтезу дочірніх ланцюгів ДНК:

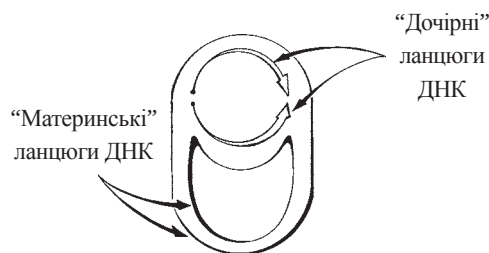


Рис. 20.7. Кільцева хромосома *E. Coli* в період реплікації ДНК. Геометрична структура, що утворилася, нагадує грецьку літеру θ (“тета”) (за L. Stryer, 1995; модифіковано).

У ДНК еукаріотів, що організовані у вигляді лінійних дволанцюгових молекул у складі ядерного хроматину, утворюється водночас багато (ймовірно, від сотень до декількох тисяч) реплікативних вилок, що сприяє ефективній реплікації цілої еукаріотичної хромосоми. Одночасна реплікація ДНК в багатьох точках морфологічно виявляється утворенням упродовж хромосоми “реплікаційних бульбашок” (рис. 20.8).

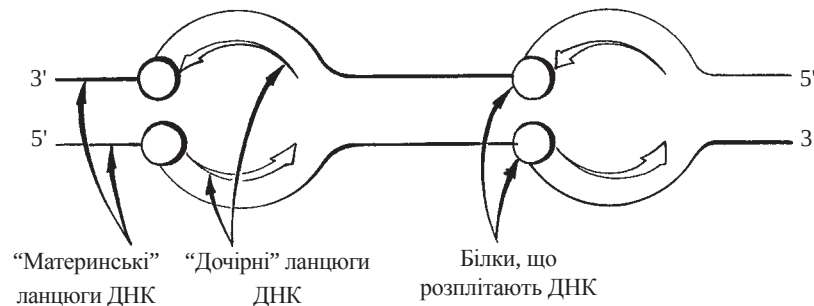


Рис. 20.8. Утворення реплікаційних “бульбашок” у процесі подвоєння хромосом еукаріотів (за D.Granner, 1988; модифіковано).

Ділянки геному еукаріот, де формуються реплікативні вилки, мають назву “точок огі” (origin — початок, англ.). Завдяки багатоцентровій реплікації хромосоми, повне подвоєння генетичного матеріалу клітин вищих організмів (зокрема, ссавців) займає близько 9 год.

2. Значення антипаралельності ланцюгів ДНК. Фрагменти Оказакі



Рис. 20.9. Оказакі (Okazaki) Реджі (1930-1975).

У зв’язку з антипаралельністю двох ланцюгів ДНК (один — $5' \rightarrow 3'$, а другий — $3' \rightarrow 5'$), одночасна реплікація комплементарних їм ланцюгів повинна була б йти також у протилежних напрямках (тобто $3' \rightarrow 5'$ та $5' \rightarrow 3'$, відповідно). Але, як уже наголошувалося, ДНК-полімерази можуть синтезувати полідезоксирибонуклеотидні ланцюги лише в напрямку $5' \rightarrow 3'$. Це протиріччя було усунуте завдяки дослідженням японського вченого Реджі Оказакі (Okazaki), який встановив, що синтез одного з дочірніх ланцюгів ДНК є *перерваним* і здійснюється у вигляді коротких (1-2 тис. нуклеотидів) ланцюгів, які пізніше з’єднуються між собою.

Таким чином, синтез двох дочірніх ланцюгів ДНК здійснюється за різними механізмами. Розрізняють (рис. 20.10):

лідуючий (leading — англ.) ланцюг — який утворюється шляхом безперервного нарощування нуклеотидного ланцюга в напрямку $5' \rightarrow 3'$;

відстаючий (lagging — англ.) ланцюг — який утворюється з фрагментів Оказакі, що синтезуються в ДНК-полімеразних реакціях в напрямку $5' \rightarrow 3'$.

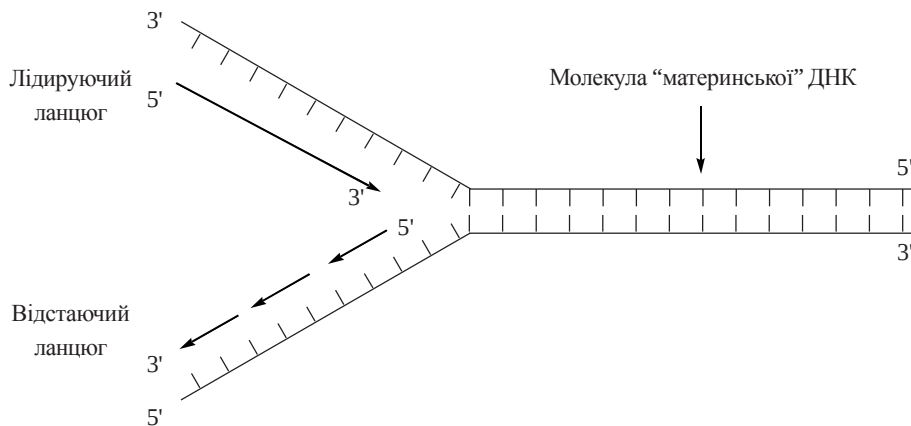


Рис. 20.10. Схема подвоєння ланцюгів ДНК за Р.Оказакі.

Етапи синтезу дочірніх ланцюгів молекул ДНК

1. *Ініціація синтезу полідезоксирибонуклеотидних ланцюгів ДНК*, якій передують утворення "затравних" (праймерних) ланцюгів РНК (*РНК-праймерів*), до 3'-ОН-груп яких здатні приєднуватися дНМФ, що утворюють нові (дочірні) ланцюги ДНК. Довжина цих праймерних ланцюгів складає в середньому від 10 до 200 нуклеотидів. Синтез РНК-праймерів відбувається за участю ферментів РНК-полімераза — так званих *праймаз*.

2. *Елонгація синтезу ДНК*, яка відбувається за різними механізмами на *лідируючому* та *відстаючому* ланцюгах.

2.1. На *лідируючому ланцюгу* нарощування дНМФ здійснюється ДНК-полімеразою III, що функціонує безперервно, утворюючи ланцюг ДНК від РНК-праймера до реплікативної вилки.

2.2. На *відстаючому ланцюгу*:

а) спочатку при дії ДНК-полімерази III синтезуються окремі *фрагменти Оказакі*, кожен з яких починається з відповідного РНК-праймера і закінчується перед початком передуючого йому РНК-праймера;

б) після формування фрагментів Оказакі ДНК-полімераза I, за рахунок своєї 5'→3'-екзонуклеазної активності видаляє РНК-праймери і (за рахунок 5'→3'-полімеразної активності) заміщує їх фрагментами ДНК;

в) розриви між окремими фрагментами Оказакі зшиваються спеціальним ферментом *ДНК-лігазою*.

Зазначені етапи реплікації ДНК подані на рис. 20.11.

Таким чином, в результаті дії комплексу реплікативних білків, зчитування інформації з двох *материнських* ланцюгів ДНК з антипаралельною спрямованістю (5'→3' та 3'→5') супроводжується утворенням двох *дочірніх* ланцюгів з відповідними антипаралельними напрямками фосфодієфірних зв'язків (3'→5' та 5'→3', відповідно). Взаємодія комплементарних одного материнського та одного дочірнього ланцюгів призводить до формування двох молекул ДНК, як це передбачено напівконсервативним механізмом реплікації.

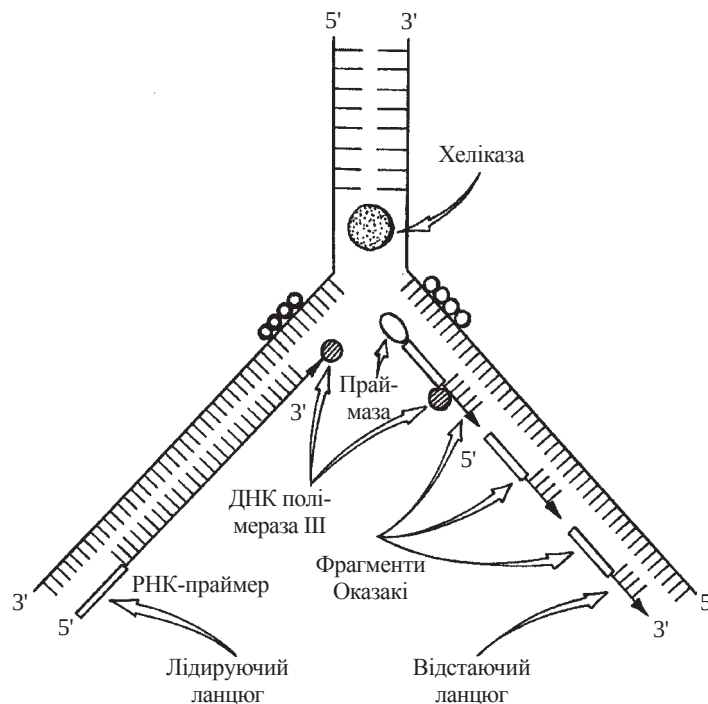


Рис. 20.11. Участь ферментів в реплікації ДНК шляхом синтезу лідируючого та відстаючого ланцюгів.

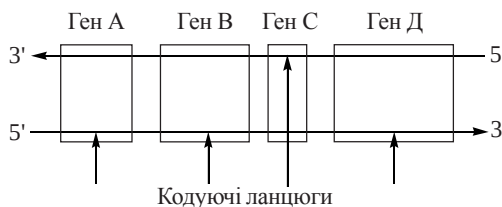
δ, а перервний на відстаючому ланцюгу — полімеразою **α**. Праймази утворюють тимчасові “затравні” РНК-ланцюги, які пізніше видаляються.

Розглянута схема реплікації ДНК, що була первинно досліджена на прокаріотах, є справедливою також і для еукаріотичних клітин. У цьому випадку також відбувається диференційований та протилежно спрямований синтез двох дочірніх ланцюгів — лідируючого та відстаючого. Безперервний синтез полідезоксирибонуклеотиду на лідируючому ланцюгу каталізується ДНК-полімеразою

20.4. ФЕРМЕНТИ ТА МЕХАНІЗМИ ТРАНСКРИПЦІЇ РНК

Біосинтез РНК на ДНК-матриці отримав назву *транскрипції* (transcription — переписування, англ.). Загальні закономірності цього процесу близькі у прокаріотів та еукаріотів.

Послідовність включення рибонуклеотидів у полірибонуклеотидний ланцюг у процесі транскрипції програмується послідовністю нуклеотидів в матричній ДНК. Розрізняють *кодуючий* ланцюг ДНК — тобто такий, з якого зчитується генетична інформація, та *некодуючий* ланцюг. У дволанцюговій ДНК, що містить багато генів, для деяких генів кодуючою може бути один з ланцюгів, для інших генів — другий ланцюг:



Транскрипція РНК різних класів на матричній ДНК каталізується ферментами *ДНК-залежними РНК-полімеразами* (РНК-полімеразами), які розрізняються у прокаріотичних та еукаріотичних організмів. На відміну від ДНК-полімераз,

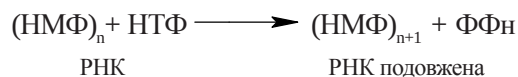
РНК-полімерази здатні до самостійної ініціації синтезу полінуклеотидного ланцюга, зв'язуючись у певних ділянках (*сайтах*) з матричною ДНК.

Ферменти та механізми транскрипції у прокаріотів

У прокаріотичних клітинах, на відміну від еукаріотичних (див. нижче), єдиним ферментом, що синтезує всі три класи РНК (матричні, транспортні та рибосомальні) є *ДНК-залежна РНК-полімераза (РНК-полімераза)*.

РНК-полімераза *E. Coli* (м.м. 465 кД) є олігомерним білком, що складається з декількох типів субодиниць: двох α -субодиниць, однієї β - та однієї β' -субодиниці. Ці чотири протомери складають так званий “*кор-фермент*” (*core* — серцевина, ядро; англ.) $\alpha_2\beta\beta'$, що утворює цілий *холофермент* при взаємодії з додатковою — σ -(сигма)-субодиницею, яка зворотно зв'язується з комплексом $\alpha_2\beta\beta'$ та дисоціює на певних стадіях транскрипції.

Система транскрипції у *E. Coli* потребує наявності РНК-полімерази (*холоферменту*), чотирьох нуклеозидтрифосфатів (АТФ, ГТФ, УТФ, ЦТФ) та ДНК-матриці. Загальна схема РНК-полімеразної реакції може бути подана таким рівнянням:



Напрямок синтезу полірибонуклеотидного ланцюга: 5'→3'. Подібно до ДНК-полімеразних реакцій, РНК-полімеразна реакція здійснюється шляхом нуклеофільної атаки 3'-ОН-групи кінцевої рибози полірибонуклеотидного ланцюга на α -фосфат нуклеозидтрифосфату, що вступає в реакцію подовження ланцюга. Каталітичний сайт, що утворює 3'-5'-фосфодіефірні зв'язки між рибонуклеозидмонофосфатами, локалізований на β -субодиниці РНК-полімерази.

Етапи синтезу РНК у прокаріотів

- а) зв'язування РНК-полімерази з ДНК-матрицею;
- б) ініціація синтезу полірибонуклеотидного ланцюга;
- в) елонгація (подовження) синтезу РНК;
- г) термінація, тобто закінчення синтезу РНК (так званого “первинного РНК-транскрипту”).

Взаємодія РНК-полімерази з ДНК-матрицею та ініціація транскрипції

Промотори транскрипції

Зв'язування РНК-полімерази з ДНК-матрицею відбувається в специфічних ділянках геному — *промоторах*. Ця взаємодія реалізується за участю σ -субодиниці РНК-полімерази, яка в подальшому (після ініціації синтезу полірибонуклеотиду) дисоціює від *кор-ферменту*. Бактеріальні клітини продукують значну кількість σ -факторів, що необхідні для ініціації синтезу різних РНК.

Промоторні ділянки ДНК — послідовності, що складаються приблизно з 40 нуклеотидів. Важливими для ініціації транскрипції є такі короткі (6-нуклеотидні) послідовності, що містяться в складі різних промоторів (рис. 20.12):

Елонгація та термінація транскрипції

Як уже зазначалося, *елонгація* синтезу РНК відбувається в напрямку 5'→3' **анти-паралельно** кодуєчному (матричному) ланцюгу ДНК:

У ході *елонгації* відбувається розплітання ділянок двоспінальної ДНК, які передують РНК-полімеразі, і утворення 3'-5'-фосфодіефірних зв'язків у полірибонуклеотидному ланцюгу. Вибір чергового НМФ в ланцюгу РНК, що синтезується, визначається будовою *комплементарного* дНМФ в кодуєчному ланцюгу ДНК таким чином, що азотисті основи А, G, T, C ланцюга ДНК кодують включення в ланцюг РНК, відповідно, основ U, C, A та G (рис. 20.13).

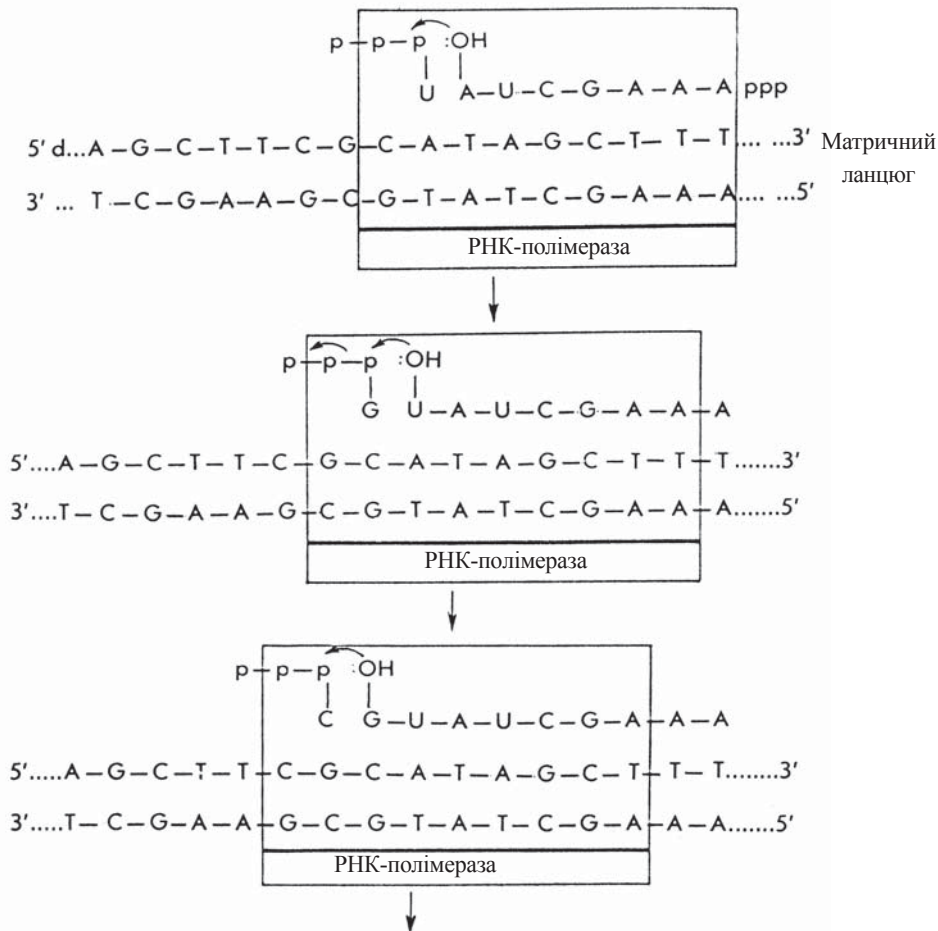
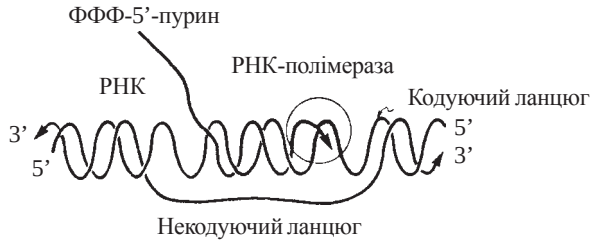


Рис. 20.13. Послідовне копіювання кодуєчного ланцюга ДНК у процесі транскрипції (Ю.А.Овчинников, 1987).

У результаті елонгації утворюється ДНК-РНК-гібрид, що складається з кодуючого ланцюга ДНК та РНК-транскрипту.

Термінація транскрипції відбувається за умов:

(1) досягнення РНК-полімеразою в її просуванні впродовж ДНК-матриці певних *термінуючих ділянок*. Специфічними для термінуючих ділянок є наявність **зворотних повторів (“паліндромів”)***, тобто нуклеотидних послідовностей, що читаються однаково у прямому і зворотному напрямках, та наступних полі-АТ-пар. Ділянка РНК, що транскрибується з такої паліндромної послідовності, має будову типу “шпильки” з наступною (кінцевою) UUU...-послідовністю. Утворення РНК з такою структурою є передумовою дисоціації ДНК-РНК-гібриду (рис. 20.14).

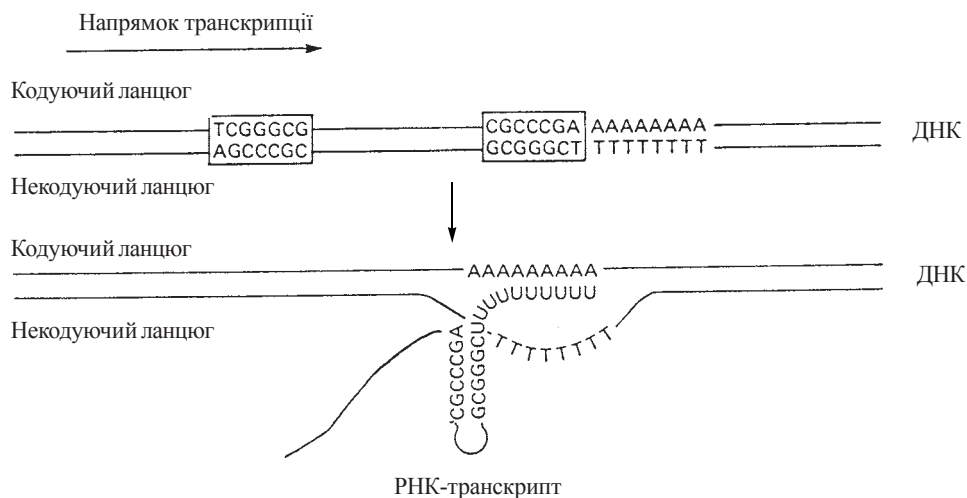


Рис. 20.14. Термінуюча ділянка гена, до складу якої входять зворотні повтори (TCGGGCG)-(GCGGGCT) та (CGCCCGA)-(AGCCCGC), відповідно.

Транскрипція кодуючого ланцюга термінуючої ділянки призводить до утворення РНК-транскрипту, в складі якого містяться комплементарні послідовності (AGCCCGC) та (UCGGGCG), що утворюють шпилькоподібні структури.

(2) допоміжної дії специфічного білка-термінатора, так званого **ρ**-(ро)-фактора. Взаємодія **ρ**-фактора з полімеразним комплексом призводить до дисоціації комплексу “ДНК — фермент — РНК” і вивільнення первинного транскрипту.

Послідовність процесів, що складають ДНК-залежну транскрипцію РНК у еукаріотів, подано на рис. 20.15.

* Термін “паліндром” (“бігти назад” — грецьк.) означає слово або речення, яке читається однаково як справа наліво, так і зліва направо (наприклад: “Madam, I’m Adam” — англ.). В молекулярній генетиці під *паліндромами* розуміють ділянки полінуклеотидів (ДНК або РНК), які містять зворотні повтори нуклеотидних послідовностей з осьовою симетрією другого порядку.

У молекулах ДНК такі паліндроми можуть утворювати вторинні структури типу “хрестів” або “шпильок”, які відіграють роль ділянок розпізнавання для певних ферментів (зокрема, *рестриктаз* — глава 23), сигналів термінації транскрипції. При транскрипції паліндромних ділянок утворюються РНК-транскрипти, що мають взаємокомплементарні послідовності, схильні до утворення “шпильок”(рис. 20.16).

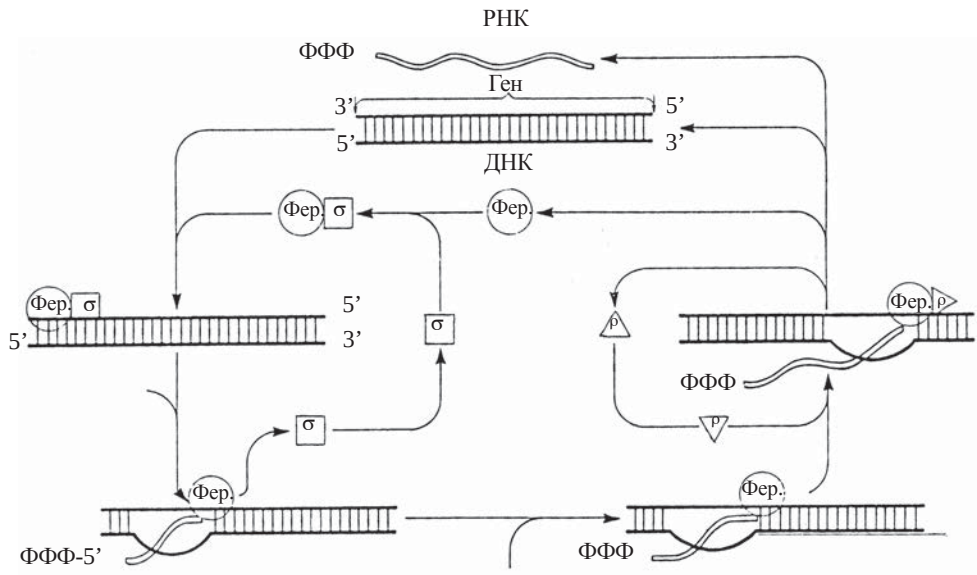


Рис. 20.15. Схема послідовних етапів транскрипції за участю РНК-полімерази (Фер.).

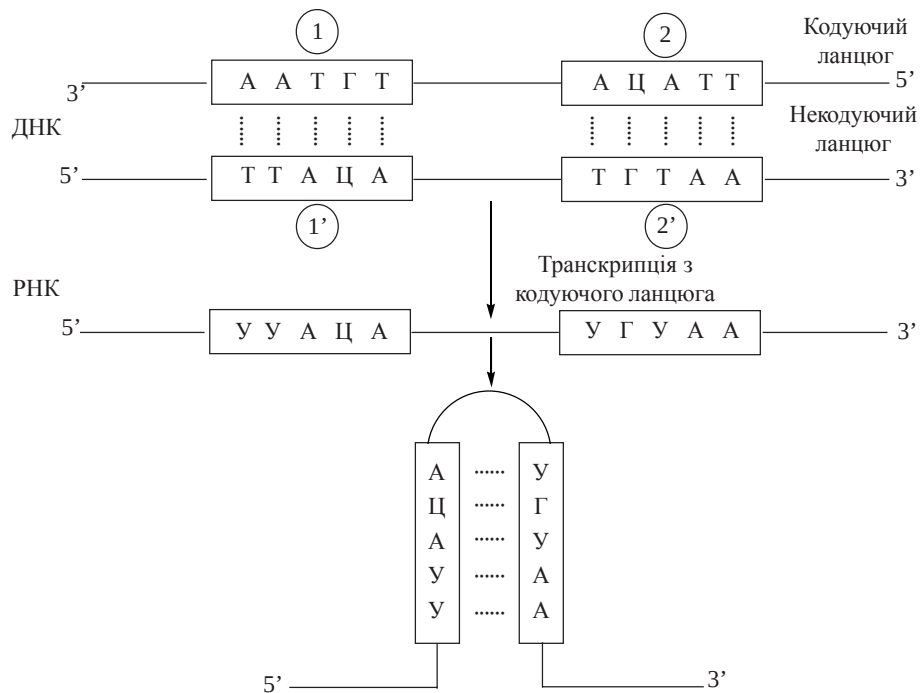


Рис. 20.16. Схема утворення “шпильок” в РНК-транскрипті. Послідовності (1) і (2') та (2) і (1') в ланцюгах ДНК є парними паліндромами. Послідовності УУАЦА та УГУАА в РНК-транскрипті взаємокомплементарні.

Ферменти та механізми транскрипції в еукаріотів***РНК-полімерази вищих організмів***

Еукаріотичні клітини містять три основних класи РНК-полімераз, кожен з яких відповідає за транскрипцію різних наборів генів і синтез певного типу РНК. Молекулярна маса РНК-полімераз з клітин ссавців складає 500-600 кД.

Т а б л и ц я 20.2. Ядерні РНК-полімерази клітин тваринних організмів

Клас РНК-полімераз	Продукти транскрипції	Локалізація
I (А)	Рибосомальна РНК (рРНК)	Ядерце
II (В)	Гетерогенна ядерна РНК (гяРНК)	Нуклеоплазма
III (С)	Транспортна РНК (тРНК), 5s РНК	Нуклеоплазма

Крім зазначених РНК-полімераз, що розташовані в ядрі еукаріотичної клітини, в мітохондріях функціонує власна РНК-полімераза, яка забезпечує транскрипцію генів більшості мітохондріальних білків, відповідно до інформації, що закладена в автономному мітохондріальному геномі.

Ядерним ферментом, що забезпечує транскрипцію генів, які програмують синтез більшості клітинних білків, є РНК-полімераза II, яка забезпечує утворення гетерогенних за розміром та нуклеотидною послідовністю попередників мРНК — гяРНК. РНК-полімераза II специфічно блокується α -аманітином — токсином, що продукується грибом *Amantia phaloides*.

При дії РНК-полімерази II в клітинах еукаріотів утворюється *моноцистронна* РНК, тобто така, що є матрицею для синтезу в рибосомах одного поліпептидного ланцюга — на відміну від *поліцистронної* РНК прокаріотів.

Сигнали транскрипції

Особливістю синтезу РНК у вищих організмів є більш складна, порівняно з прокаріотами, *система сигналів транскрипції*, яка складається з певних послідовностей ДНК у складі промотора та регуляторних білків, що контролюють активність транскрипції.

Сигналом *ініціації транскрипції* в генах ссавців є гомологічна блоку Прибнова (ТАТААТ) послідовність ТАТААААГА, яка розміщена на відстані –32 від точки початку синтезу полірибонуклеотиду. З цією послідовністю взаємодіє РНК-полімераза II.

Система транскрипційних сигналів у еукаріотів включає також сигнали, які не лише вказують на **місце** початку синтезу РНК, а й регулюють його **активність**. Більш детально ці питання будуть розглянуті в главі 23.

Посттранскрипційна модифікація РНК

У клітинах прокаріотів, зокрема, в найбільш вивченій бактеріальній клітині — *E. Coli*, молекули мРНК синтезуються одразу у “зрілому” вигляді, тобто готовими до виконання своїх біохімічних функцій. На відміну від цього, в результаті процесів біосинтезу полірибонуклеотиду, що відбуваються в еукаріотичних клітинах, утворюється *первинний транскрипт* (гетерогенна ядерна РНК, або пре-мРНК),

який здатний до перетворення у функціональну повноцінну молекулу в результаті реакцій постратранскрипційної модифікації — *процесингу* (дозрівання).

Процесинг первинного транскрипту включає в себе:

– приєднання до 5'-кінця молекули специфічної нуклеотидної структури — так званого “кепу”; як “кеп” виступає сполучений трифосфатним зв'язком з 5'-кінцевим нуклеотидом 7-метилгуанозин (глава 3, п. 3.4);

– приєднання до 3'-кінця первинного транскрипту поліаденілатного “хвоста” — poly(A)-послідовності довжиною в 20-250 нуклеотидів; значення кепування та поліаденілування полягає у підсиленні трансляційної активності зрілої мРНК та протидії руйнуючому впливу клітинних РНК-аз;

– вирізання неінформативних послідовностей нуклеотидів з молекул пре-мРНК та зшивання внутрішніх кінців молекул — *сплайсинг* (splicing — англ.). Оскільки геноми (ДНК) вищих організмів мають, поряд з генами, що трансклюються у відповідні білки — *екзонами*, значну кількість нуклеотидних послідовностей, які не несуть генетичної інформації — *інтронів*, процес *сплайсингу* забезпечує видалення з первинних транскриптів саме *інтронів*, тобто послідовностей, що не трансклюються:

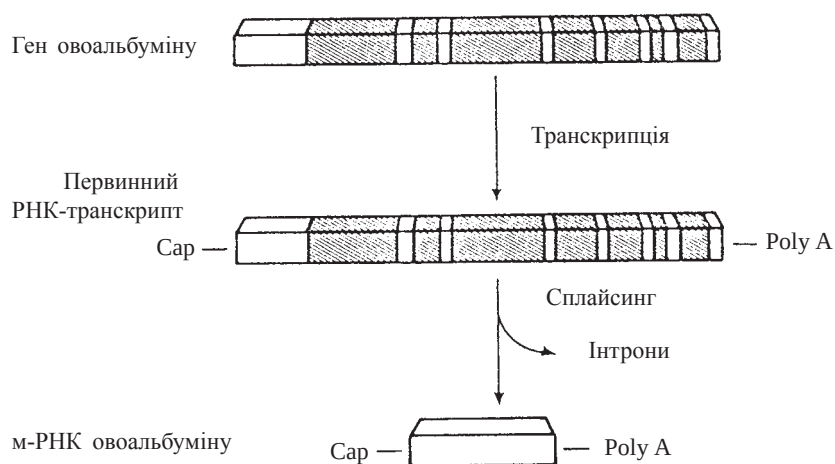


Рис. 20.17. Сплайсинг пре-мРНК гена яєчного альбуміну (Halkerston I.D.K., 1988).

Зріла мРНК, тобто така, що була піддана реакціям кепування на 5'-кінці, поліаденілування на 3'-кінці, сплайсингу та метилуванню окремих нуклеотидів, надходить з ядра в цитоплазму у вигляді рибонуклеопротейдних комплексів, що здатні взаємодіяти з рибосомами в процесі *трансляції*.

ГЛАВА 21. БІОСИНТЕЗ БІЛКІВ У РИБОСОМАХ

21.1. ГЕНЕТИЧНИЙ КОД ТА ЙОГО ВЛАСТИВОСТІ

Для кожного живого організму властива *біохімічна індивідуальність*, що визначається генетично запрограмованим специфічним набором притаманних тільки йому білкових молекул. Разом з тим, потік інформації, який детермінує структуру індивідуальних білків організму, починається, згідно з постулатами молекулярної біології, від генетичних нуклеїнових кислот і складається з *реплікації* ДНК, *транскрипції* РНК та *трансляції*, тобто перекладу інформації з “мови нуклеотидів” на “мову амінокислот”.

Інакше кажучи, встановлення ролі ДНК як носія та зберігача генетичної інформації, ролі РНК як переносника цієї інформації до білків, що синтезуються, поставило на порядок денний проблему **генетичного (біологічного) коду**, тобто сукупності знаків, символів та системи правил, алгоритмів, згідно з якими структурна інформація, що міститься в нуклеїнових кислотах, може бути трансформованою в специфічну первинну структуру поліпептидів, яка, в свою чергу, визначає всі біологічні властивості білкових молекул.

Структура генетичного коду

Вперше гіпотезу про те, що певні сполучення з декількох різних нуклеотидів (трьох із чотирьох можливих) в молекулах ДНК відповідають одній амінокислоті в молекулах білків та пептидів, було висунуто в 1954 р. фізиком Георгієм (Джорджем) Гамовим (G.Gamow). Згідно з цією *триплетною* теорією, три послідовні нуклеотиди (*триплетти*) в полінуклеотидних ланцюгах ДНК кодують включення в поліпептидний ланцюг одного специфічного амінокислотного залишку. Оскільки з 4 нуклеотидів (або азотистих основ) можна отримати 64 (4^3) різних комбінацій по 3 нуклеотиди (або азотистих основи, відповідно), був зроблений висновок про існування щонайменше 64 “кодових слів” для 20 амінокислот.



Рис. 21.1. **Ніренберг (Nirenberg) Маршал У.** (народ.1927 р.), американський біохімік. Зробив найзначніший внесок у розшифровку генетичного коду. Нобелівська премія (1968).

Структуру генетичного коду було розшифровано завдяки безпосереднім біохімічним та молекулярно-генетичним дослідженням, що були виконані на початку 60-х років. Оскільки переносником генетичної інформації від ДНК до білків є інформаційні (матричні) РНК, проблему розшифровки генетичного коду було зосереджено на розв’язанні кодових слів — *триплетів*, або *кодонів*, у нуклеотидних послідовностях мРНК. Найбільш визначний внесок у розв’язання цієї проблеми зробив в 1961 р. американський біохімік М.Ніренберг (M.Nirenberg).

В експериментах М.Ніренберга використовувалась безклітинна система з *E.Coli*, яка містила в собі необхідні для білкового синтезу рибосоми, амінокислоти, тРНК, цитозольні ферменти та кофактори. Виявилось, **що при внесенні в систему як матриці синтетичної мРНК поліуридилової кислоти відбувався синтез монотонного**

(такого, що складався з одного амінокислотного залишку) **поліпептиду** — **поліфенілаланіну**. Відповідно, використання поліаденілової кислоти (полі-А) призводило до синтезу полілізину, поліцитидилової кислоти (полі-С) — поліпроліну тощо. Виходячи з уявлень про кодони як триплети нуклеотидів (або азотистих основ), зазначені експерименти означали розшифровку відповідних кодонів, а саме:

UUU —————> Phe,
 AAA —————> Lys,
 CCC —————> Pro.

Було встановлено, що з 64 комбінацій нуклеотидів 61 кодон є змістовним, тобто таким, що визначає включення до складу білка певної амінокислоти, а 3 кодони — беззмістовними, тобто такими, що не кодують жодної з амінокислот. Ці *нонсенс-кодони* (UAA, UAG, UGA) виконують роль сигналів *термінації* трансляції (таблиця 21.1).

Таблиця 21.1. Таблиця генетичного коду

Перший нуклеотид	Другий нуклеотид				Третій нуклеотид
	U	C	A	G	
U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U
	UUC } Phe	UCC } Ser	UAC } Tyr	UGC } Cys	C
	UUA } Leu	UCA } Ser	UAA } Терм.	UGA } Терм.	A
	UUG } Leu	UCG } Ser	UAG } Терм.	UGG } Trp	G
C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U
	CUC } Leu	CCC } Pro	CAC } His	CGC } Arg	C
	CUA } Leu	CCA } Pro	CAA } Gln	CGA } Arg	A
	CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Gln	CGG } Arg	G
A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	U
	AUC } Ile	ACC } Thr	AAC } Asn	AGC } Ser	C
	AUA } Met	ACA } Thr	AAA } Lys	AGA } Arg	A
	AUG } Met	ACG } Thr	AAG } Lys	AGG } Arg	G
G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	U
	GUC } Val	GCC } Ala	GAC } Asp	GGC } Gly	C
	GUA } Val	GCA } Ala	GAA } Glu	GGA } Gly	A
	GUG } Val	GCG } Ala	GAG } Glu	GGG } Gly	G

Властивості генетичного коду:

- (1) код є *універсальним* для всіх біологічних систем — вірусів, бактерій, вищих організмів;
- (2) код є *однонаправленим*, тобто інформативним тільки в тому випадку, коли зчитується “зліва направо” (в напрямку 5'→3');
- (3) код є *безперервним*, тобто має лінійний безперервний порядок зчитування — між кодонами немає “розділових знаків”;
- (4) код є *таким, що не перекривається* — після зчитування інформації з одного триплета “рамка зчитування” переміщується вправо відразу на три нуклеотиди;
- (5) код є “*виродженим*”, тобто кожна амінокислота кодується не одним, а декількома кодонами.

21.2. РИБОСОМАЛЬНА БІЛОКСИНТЕЗУЮЧА СИСТЕМА

Сучасна ера у розумінні клітинних та молекулярних механізмів трансляції почалася з досліджень П.Замечніка (P.Zamecnik) та його колег, які використали C^{14} -мічені амінокислоти для з'ясування внутрішньоклітинної локалізації білкового синтезу. Було показано, що синтез радіоактивних (C^{14}) білків в печінці експериментальних щурів відбувається в *мікросомальній фракції*, а саме — в рибосомах. Включення амінокислот у поліпептидні ланцюги *in vitro* вимагало наявності матричних (інформаційних) РНК — мРНК (іРНК) та транспортних (тРНК) як переносників амінокислот у ділянки білкового синтезу (P.Zamecnik, F.Lipmann, 1960).

Компоненти білоксинтезуючої системи рибосом

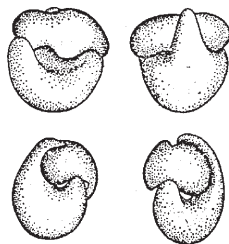


Рис. 21.2. Модель будови 70s-рибосом (вигляд з чотирьох боків). Тривимірне зображення малої субодиниці рибосоми порівнюють з телефонною трубкою, великої — з ковшем.

Компонентами білоксинтезуючої системи, що реалізують процес трансляції в прокаріотичних та еукаріотичних клітинах, є:

рибосоми — рибонуклеопротейдні структури з константами седиментації 70s та 80s у прокаріотів та еукаріотів (відповідно), що взаємодіють у процесі трансляції з іншими компонентами системи білкового синтезу; тривимірна будова рибосом має вигляд, поданий на рис. 21.2;

мРНК (іРНК), або інший матричний полірибонуклеотид, що програмує послідовність включення амінокислот у поліпептидний ланцюг згідно з інформацією, яка міститься в генетичній ДНК;

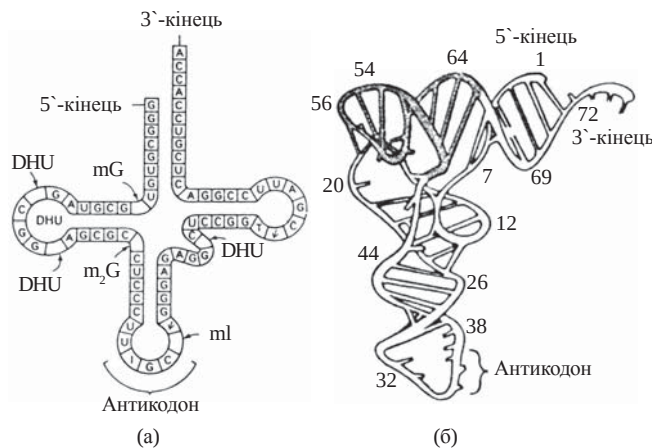


Рис. 21.3. Вторинна (а) та третинна (б) структура аланінової тРНК дріжджів (DHU — дигідроуридин; mG, mI — метильовані гуанозин та інозин).

α -L-амінокислоти в кількості, що відповідає амінокислотному складу повноцінних функціональних білків (звичайно, близько 20 амінокислот);

тРНК, що виконують функцію адапторів у процесі трансляції, взаємодіючи з кодонами мРНК та певними амінокислотами — близько 20 типів різних тРНК, відповідно до кількості амінокислот, що вони акцептують (рис. 21.3);

аміноацил-тРНК-синтетази (АРС-ази) —

ферменти, що активують амінокислоти та сполучають амінокислотні залишки з 3'-кінцями акцепторних гілок тРНК. АРС-ази є ферментами з високою специфічністю як відносно певної амінокислоти, так і тРНК, що їй відповідає;

регуляторні білки — білкові фактори ініціації (IF), елонгації (EF) та термінації, або релізінг-фактори (RF); білкові фактори еукаріотів мають позначення eIF, eEF та eRF, відповідно;

коферменти — ГТФ, АТФ.

Рибосоми еукаріотів

У клітинах ядерних організмів рибосоми мають дещо складніші, ніж у прокаріотів, біохімічний склад та молекулярну організацію (рис. 3.10).

Рибосоми здатні до зворотної дисоціації на дві субодиниці:



В умовах *in vitro* дисоціація рибосом за субодиниці відбувається за умов зменшення концентрації іонів Mg^{2+} . У клітині існує динамічна рівновага між субодиницями та цілими рибосомами: останні утворюються переважно на період трансляції. В період трансляції певна кількість рибосом (від одиниць до декількох десятків) можуть взаємодіяти з однією молекулою мРНК, утворюючи *полірибосоми*, або *полісоми*.

В еукаріотичних клітинах рибосоми можуть функціонувати у вигляді рибосом, зв'язаних з мембранами ендоплазматичного ретикулума ("шорсткого ендоплазматичного ретикулума" — ШЕР) або вільних, не зв'язаних з мембранами ШЕР, рибосом. Співвідношення між вільними та мембранозв'язаними рибосомами змінюється при різних фізіологічних станах; в умовах патології клітин суттєво збільшується кількість рибосом, не зв'язаних з мембранами (Ю.І.Губський, 1989).

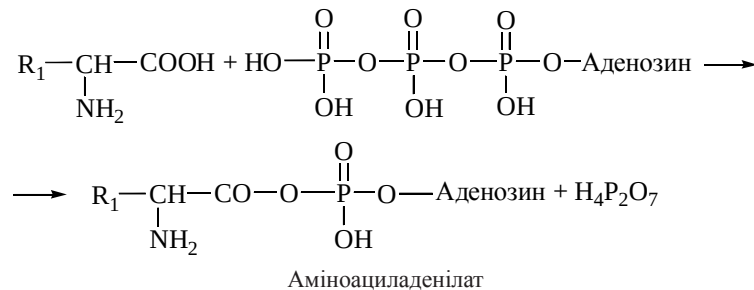
Транспортні РНК та активація амінокислот

Загальні риси будови різних тРНК були детально розглянуті вище (глава 3, п. 3.4). Для кожної з 20 α -L-амінокислот існує щонайменше один специфічний для неї тип тРНК. Разом з тим, різні молекули тРНК відзначаються схожістю у вторинній та третинній структурі, що пояснюється загальним характером біохімічної функції. Важливою структурною особливістю тРНК є наявність у складі антикодонової петлі специфічного триплету нуклеотидів — *антикодону*, який є комплементарним *кодону* мРНК і забезпечує сполучення між тРНК та мРНК (кодон-антикодонову взаємодію) під час утворення *ініціюючого комплексу*. Саме ці дві біохімічні властивості тРНК — здатність до взаємодії з певною амінокислотою, по-перше, і здатність до взаємодії із специфічним кодоном мРНК, по-друге, є молекулярною основою **адапторної функції тРНК**, тобто можливості сполучати два інформаційні потоки — "нуклеотидний" та "амінокислотний" в процесі фенотипічної експресії генетичної інформації.

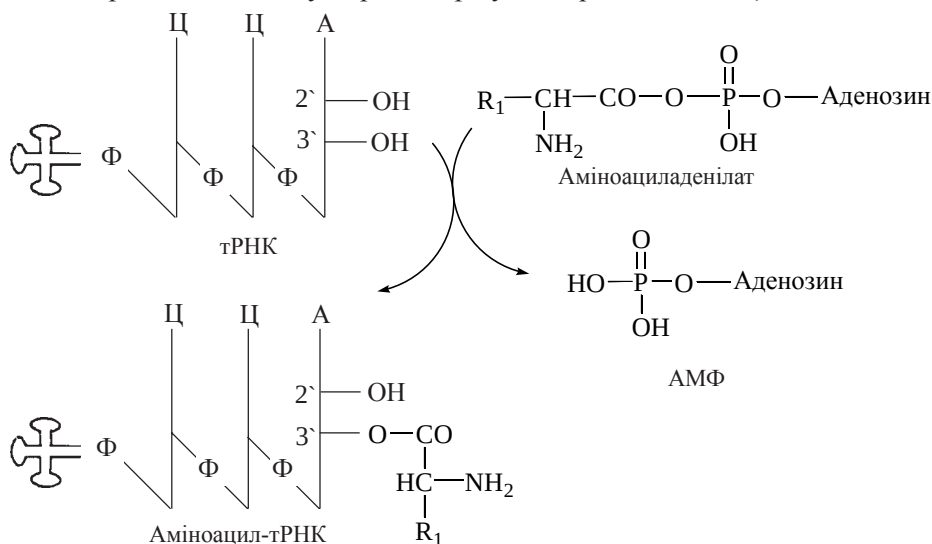
Взаємодія між тРНК та відповідною їй амінокислотою вимагає взаємного *розпізнавання (рекогніції)* цих молекул, що здійснюється лише за умов наявності спеціальних білків, які мають специфічні сайти для рекогніції як тРНК, так і α -L-амінокислоти. Цей процес розпізнавання та наступного приєднання двох біомолекул різних класів відбувається в два етапи і каталізується *аміноацил-тРНК-синтетазами*.

Схема взаємодії тРНК з амінокислотами

1. Активація амінокислоти за участю АТФ з утворенням аміноациладенілату:



2. Взаємодія аміноациладенілату з 3'-ОН-групою кінцевого аденозильного залишку на акцепторній гілці тРНК; утворення в результаті реакції *аміноацил-тРНК*:

**21.3. ЕТАПИ ТА МЕХАНІЗМИ ТРАНСЛЯЦІЇ**

Молекулярні механізми рибосомальної трансляції у прокаріотів та еукаріотів мають подібні риси і поділяються, як і при синтезі інших біополімерів, на етапи *ініціації*, *елонгації* та *термінації*.

Процес трансляції в клітинах еукаріотів**1. Ініціація трансляції.**

Передумовою для початку функціонування рибосомальної білоксинтезуючої системи є утворення *ініціюючого комплексу*, до складу якого входять:

– субодиниці 40s та 60s, сполучені між собою у 80s-рибосому; цілісна рибосома має дві структурні ділянки для зв'язування в процесі трансляції молекул тРНК, навантажених аміноацильними залишками: *аміноацильну (А-) ділянку (А-сайт)* та *пептидильну (П-) ділянку (П-сайт)*, перша з яких в ході трансляції є сполученою з аміноацил-тРНК, а друга — з пептидил-тРНК;

– мРНК, що має обов'язково 7-метилгуанозиновий “кеп” на 5'-кінці; мРНК зв'язується з рибосомою таким чином, що напроти її п-ділянки розміщується *ініціюючий кодон* — AUG, який відповідає, за таблицею генетичного коду, амінокислоті *метіоніну* — *ініціюючій амінокислоті* (та взаємодіє з антикодоном мет-тРНК);

– мет-тРНКі — особливий тип тРНК, що акцептує та поставляє в рибосому (спочатку — на П-сайт) першу, *ініціюючу, амінокислоту* — *метіонін* (включення метіоніну в середину пептидного ланцюга вимагає присутності іншої тРНК — спеціальної тРНК_{мет}); зв'язування мет-тРНКі з 40s-субодиницею рибосом вимагає участі фактора ініціації eIF-2.

Таким чином, метіонін стає N-кінцевою амінокислотою для більшості еукаріотичних білків, його відщеплення з N-кінця можливе на стадії посттрансляційної модифікації пептиду. У прокаріотів першою, *ініціюючою, амінокислотою* є модифікований метіонін — *формілметіонін*, що надходить у рибосому у вигляді *формілметіоніл-тРНК*;

– білкові фактори ініціації (eIF-1, eIF-2, eIF-3 тощо — всього на даний час відомо до десяти факторів ініціації); зокрема, утворення цілісної 80s-рибосоми з субодиниць та її стабілізація вимагають присутності факторів ініціації eIF-3, eIF-4C та eIF-6;

– коферменти ГТФ та АТФ, що забезпечують енергією різні етапи ініціації.

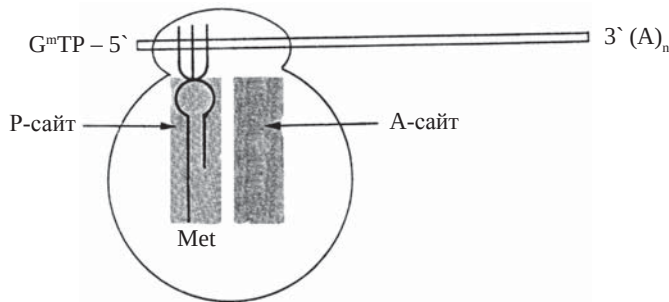


Рис. 21.4. Ініціюючий комплекс, що складається з двох субодиниць рибосоми, м-РНК, мет-тРНК, білкових факторів ініціації. G^mTP — 7-метилгуанозинтрифосфат (кеп); $(A)_n$ — поліаденілатний хвіст мРНК.

Схему будови ініціюючого комплексу подано на рис. 21.4.

2. Елонгація поліпептидного ланцюга.

Суто *елонгація* полягає в утворенні пептидних зв'язків між амінокислотними залишками, що зв'язані через відповідні тРНК з А- та П-ділянками транслуючої рибосоми. Етапи елонгації схематично подано на рис. 21.5.

Передумовою початку елонгації є зв'язування з А-сайтом рибосоми (який на даному етапі є вільним) 2-ї (в загальному випадку — $(n + 1)$ -ї, рахуючи з N-кінця пептиду, що синтезується) амінокислоти, сполученої з тРНК (рис. 21.5а). Ця $(n + 1)$ -ша амінокислота відповідає (за генетичним кодом) кодону мРНК, який послідовно йде за ініціюючим (тобто AUG) кодоном.

Пептидилтрансферазна реакція

Утворення пептидного зв'язку між 1-ю (ініціюючою — метіоніном) та 2-ю амінокислотою, що зв'язані через свої тРНК з П- та А-сайтами рибосоми, відповідно) каталізується ферментом *пептидилтрансферазою*. Пептидилтрансферазна активність пов'язана з 50s-субодиницею прокаріотів та 60s-субодиницею еукаріотів.

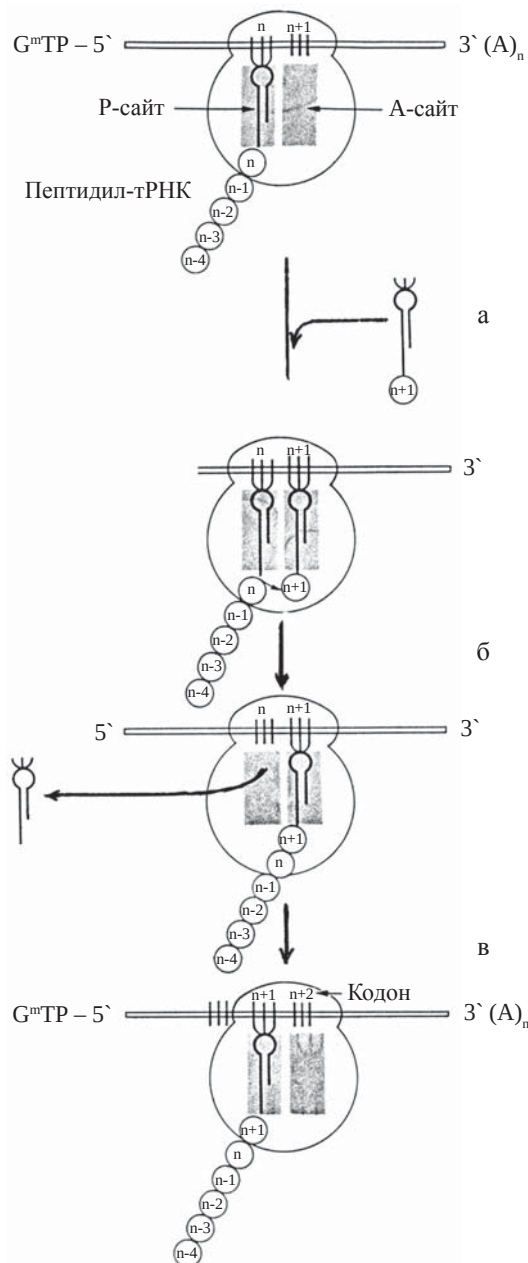


Рис. 21.5. Процес елонгації пептидного ланцюга.

3. Термінація трансляції.

Термінація трансляції відбувається, коли транслуюча рибосома у своєму переміщенні впродовж ланцюга мРНК досягає одного з *термінуючих кодонів* — UAA, UAG або UGA.

Ця ж пептидилтрансферазна реакція реалізує і подальші етапи елонгації, коли з П- та А-сайтами рибосоми сполучені, відповідно, пептидил-тРНК (містить “n” амінокислотних залишків) та певна наступна (“n + 1”) амінокислота.

У ході пептидилтрансферазної реакції відбувається перенос пептидного фрагменту (що зв’язаний через відповідну тРНК з П-сайтом) на амінокислоту (що зв’язана через тРНК з А-сайтом) таким чином, що в результаті реакції новий пептид, який утворився, стає зв’язаним з А-сайтом рибосоми. тРНК, що була первинно сполучена з П-сайтом, вивільняється (рис. 21.5б).

Реакція транслокації

Після утворення пептидного зв’язку відбувається переміщення подовженого пептиду, сполученого з тРНК (пептидил-тРНК), з А-сайту в П-сайт — процес транслокації.

Водночас відбувається переміщення рибосоми впродовж ланцюга мРНК *вправо*. У результаті цього навпроти А-сайта рибосоми розміщується новий (n + 2)-й кодон мРНК, який відповідає наступній — (n + 2)-й амінокислоті, що у вигляді тРНК-комплексу може займати відповідне місце на рибосомі (рис. 21.5в).

У транслокації бере участь білковий фактор елонгації eEF-2. Енергетичні потреби транслокації забезпечуються ГТФ-азною реакцією розщеплення ГТФ до ГДФ.

Поява в А-сайті термінуючого кодону розпізнається білковими релізінг-факторами, які спричиняють гідроліз зв'язку між пептидом та молекулою тРНК, що займає П-сайт рибосоми. У результаті цього процесу відбувається вивільнення пептиду, що синтезувався, та дисоціація 80s-рибосоми на 40s- та 60s-субодиниці.

Посттрансляційна модифікація пептидних ланцюгів

Поліпептидний ланцюг, що є продуктом рибосомальної трансляції, набуває своїх біологічних властивостей після утворення притаманної йому унікальної просторової конформації білкової молекули, чому в багатьох випадках передують його *посттрансляційна модифікація (процесинг)*.

Реакції посттрансляційної модифікації пептидів:

а) модифікація N-та С-кінців — видалення N-кінцевих формілметіоніну (у прокаріотів) та метіоніну (у еукаріотів); ацетилювання N- та С-кінців;

б) модифікація гідроксильних, аміних та карбоксильних груп у бічних радикалах пептидів шляхом їх фосфорилування, карбоксилування, метилювання, ацетилювання тощо;

в) приєднання до пептидів простетичних груп — вуглеводів (глікозилювання), гему, коферментів (флавінових нуклеотидів, біотину, порфіринів тощо);

г) хімічна модифікація ковалентної основи амінокислотних залишків; прикладом може бути перетворення у складі фактора ініціації еукаріотів eEF-2 залишку гістидину в залишок незвичайної амінокислоти *дифталамід*у.

21.4. РЕГУЛЯЦІЯ ТРАНСЛЯЦІЇ. АНТИБІОТИКИ — ІНГІБІТОРИ ТРАНСЛЯЦІЇ

Становлячи кінцевий етап багатоступеневого процесу генної експресії, рибосомальний синтез поліпептидного ланцюга є об'єктом контролю з боку регуляторних систем клітини та впливу різних фізіологічно активних сполук.

Молекулярні механізми контролю трансляції

Механізмом контролю процесів трансляції в клітинах еукаріотів є ковалентна модифікація білкового фактора ініціації трансляції eIF-2, який може бути в дефосфорильованій (активній) та фосфорильованій (неактивній) формах.

Шляхом зворотного фосфорилування — дефосфорилування фактора ініціації eIF-2 за участю цАМФ-залежного регуляторного каскаду відбувається контроль синтезу в рибосомах ретикулоцитів білкової частини гемоглобіну — *глобіну*, залежно від адекватного постачання простетичної групи — *гему*.

Регуляція здійснюється за такою схемою (рис. 21.6):

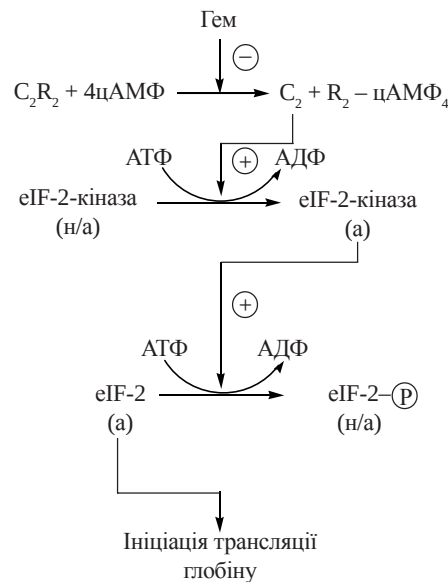


Рис. 21.6. цАМФ-залежна каскадна система регуляції трансляції глобіну (а — активні, н/а — неактивні форми відповідних білків).

(1) в ініціації синтезу глобіну бере участь фактор ініціації eIF-2, який може бути в дефосфорильованій (активній) та фосфорильованій (неактивній) формах;

(2) фосфорилування α -субодиниці фактора ініціації синтезу глобіну eIF-2 специфічною eIF-2-протеїнкіназою інактивує фактор і тим самим блокує процес ініціації трансляції;

(3) активність eIF-2-кінази, що фосфорилує фактор eIF-2, контролюється (також шляхом фосфорилування-дефосфорилування) іншою протеїнкіназою, яка є цАМФ-залежною;

(4) у свою чергу, каталітична активність цАМФ-залежної протеїнкінази негативно контролюється гемом, який є інгібітором цієї кінази, що блокує вивільнення її каталітичної субодиниці.

Механізм, що розглянутий, забезпечує взаємну координацію кількості гему та глобіну: в умовах високої концентрації гему активність протеїнкінази, яка фосфорилує фактор eIF-2, блокується, що призводить до накопичення дефосфорильованої, тобто активної молекулярної форми фактора ініціації і, відповідно, — стимуляції синтезу глобіну; вичерпавши внутрішньоклітинний резерв гему, рибосомальна система синтезу глобіну переходить у неактивний стан, і утворення гемоглобіну гальмується.

Вплив фізіологічно активних сполук на процеси трансляції

Процеси рибосомальної трансляції, що складають кінцевий етап багатоступеневого процесу експресії генетичної інформації, є мішенню для дії багатьох фізіологічно активних сполук, зокрема лікарських засобів і токсинів.

1. У клінічній практиці, а також в експериментальній біології і медицині, знайшли широке застосування *антибіотики*, що є інгібіторами біосинтезу білка у прокаріотичних та еукаріотичних організмів на різних етапах трансляції:

(1) інгібітори ініціації: *стрептоміцин, ауриINTRикарбоксилова кислота*;

(2) інгібітори елонгації: *аміцетин, хлорамфенікол, еритроміцин, циклогексимід, пуроміцин, тетрацикліни*;

(3) інгібітори термінації: *анізоміцин, хлорамфенікол, еритроміцин, лінкоцин, стрептоміцин*.

Вплив деяких найбільш поширених антибіотиків на процес трансляції поданий в таблиці 21.2:

Антибіотики, що є інгібіторами процесів трансляції у прокаріотів, застосовуються як антибактеріальні лікарські засоби в терапії інфекційних хвороб та інших захворювань, що спричинені мікробним фактором.

Антибіотики, які інгібують трансляцію в еукаріотичних клітинах вищих організмів, зокрема ссавців, застосовуються як протипухлинні засоби. Гальмуючи біосинтез білка в клітинах злоякісних пухлин, ці антибіотики спричиняють регресію росту пухлини.

2. Шляхом впливу на процес ініціації трансляції в еукаріотичних клітинах реалізуються захисні ефекти *інтерферонів* — білків, що синтезуються в організмі людини і тварин (в лімфоїдній та інших тканинах) і мають властивості противірусних антибіотиків та природних протипухлинних факторів.

Механізм антивірусної дії інтерферонів здійснюється за рахунок фосфорилування клітинних факторів ініціації eIF-2, що, як зазначено вище, можуть бути в дефосфорильованій (активній) та фосфорильованій (неактивній) формах.

Таблиця 21.2. Властивості антибіотиків — інгібіторів трансляції

Антибіотик	Чутливі організми	Механізми дії
Стрептоміцин	Прокаріоти	Інгібує ініціацію за рахунок протидії зв'язуванню з рибосомою форміл-метіоніл-тРНК; крім того, спричиняє правильне зчитування кодонів мРНК
Тетрацикліни	Прокаріоти	Зв'язуються з 30s-субодиницею та гальмують зв'язування з нею різних аміноацил-тРНК
Хлорамфенікол	Прокаріоти	Інгібує пептидилтрансферазну активність 50s-субодиниці рибосоми
Циклогексимід	Еукаріоти	Інгібує пептидилтрансферазну активність 60s-субодиниці рибосоми
Еритроміцин	Прокаріоти	Зв'язується з 50s-субодиницею та блокує процес транслокації
Пуроміцин	Прокаріоти, еукаріоти	Спричиняє передчасну термінацію незрілого пептидного ланцюга за рахунок структурної подібності до аміноацил-тРНК

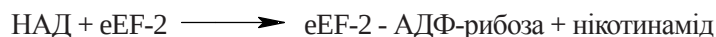
Синтез інтерферонів стимулюється вірусами, що проникають у клітини організму людини. В свою чергу, інтерферони індукують синтез протеїнкіназ, які фосфорилують фактори ініціації трансляції eIF-2, що, за розглянутою вище схемою, гальмує біосинтез як вірусних білків, так і всіх білків клітини, в яку потрапив вірус. У результаті зазначеного спричиняється загибель клітини макроорганізму, і тим самим запобігається розмноження часточок віріонів.

Крім антивірусної дії, деякі інтерферони гальмують розмноження клітин злоякісних пухлин, у зв'язку з чим ці сполуки розглядаються як перспективні антипухлинні засоби.

3. Потужним інгібітором трансляції в еукаріотів є *дифтерійний токсин*, що виробляється клітинами *Corynebacterium diphtheriae* і спричиняє небезпечну хворобу дітей та дорослих, яка до введення специфічної імунізації призводила до високої смертності хворих.

Токсин — це білок з молекулярною масою 61 кД, який після проникнення в організм людини розщеплюється протеолітичним шляхом на два поліпептидні ланцюги: активний А-фрагмент (м.м. 21 кД) та неактивний В-фрагмент (м.м. 40 кД).

Молекулярний механізм токсичної дії дифтерійного токсину полягає в каталітичній активності А-фрагменту, який є ферментом *АДФ-рибозилтрансферазою*, що переносить *АДФ-рибозу* з молекули НАД на фактор елонгації eEF-2:



Залишок АДФ-рибози сполучається з амінокислотним залишком *дифталамідом* в молекулі фактора елонгації eEF-2, що призводить до втрати останнім його властивості здійснювати процес транслокації пептидного залишку з А- на П-сайт рибосоми (див. п. 21.3). Таким чином, процес елонгації трансляції в клітині блокується, що призводить до загального припинення білкового синтезу.

А-фрагмент дифтерійного токсину є біологічним токсином з надзвичайно високою летальною дією: однієї молекули цього пептиду достатньо для загибелі цілої клітини-мішені, в яку він потрапив.

ГЛАВА 22. РЕГУЛЯЦІЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ. ГЕНЕТИЧНІ РЕКОМБІНАЦІЇ

Регуляція експресії генів є одним із фундаментальних механізмів адаптації живих організмів до умов навколишнього середовища, що змінюються. Враховуючи принципово різний ступінь складності та молекулярної організації геному у без'ядерних *прокаріотів* та вищих ядерних організмів — *еукаріотів*, механізми експресії генів у них значно відмінні.

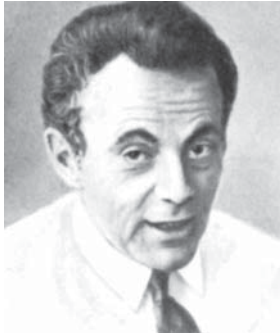


Рис. 22.1. **Жакоб (Jakob) Франсуа** (народ. 1920 р.), французький мікробіолог та генетик, професор кафедри генетики клітини в Колеж де Франс. Нобелівська премія (1965).



Рис. 22.2. **Моно (Monod) Жак** (1910–1976), французький біохімік та мікробіолог, професор Паризького ун-ту, Колеж де Франс. Нобелівська премія (1965).

22.1. РЕГУЛЯЦІЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ У ПРОКАРІОТІВ

Процес регуляції експресії генів у *прокаріотів* полягає у специфічній взаємодії певних білкових регуляторів з різними ділянками ДНК, що розміщені поряд із сайтами ініціації транскрипції. Такі взаємодії супроводжуються позитивним (індукуючим, активуючим) або негативним (гальмуючим, репресивним) впливом на рівень транскрипції, що, зрештою, впливає на швидкість синтезу відповідних ферментних та структурних білків.

Сучасна теорія регуляції експресії генів у прокаріотів була запропонована в 1961 р. французькими дослідниками Ф.Жакобом та Ж.Моно (F.Jacob, J.Monod) на підставі вивчення механізмів регуляції процесів транскрипції у *E.Coli* — улюбленого об'єкта молекулярної генетики.

Ф.Жакобом та Ж.Моно вивчалися молекулярно-генетичні механізми контролю в клітинах *E.Coli* біосинтезу **β -галактозидази** — ферменту, який розщеплює дисахарид лактозу на поживні моносахариди глюкозу та галактозу, що далі (переважно глюкоза) використовуються бактеріями як джерело вуглецю та метаболічної енергії:



При достатньому постачанні бактеріальних клітин глюкозою синтез **β -галактозидази** практично не відбувається, і в клітині міститься всього декілька молекул ферменту; після вичерпання глюкози як енергетичного субстрату додавання в культуральне середовище лактози спричиняє (*індукує*) різкий спалах синтезу **β -галактозидази** та ще двох ферментів, що беруть участь у метаболізмі лактози: **β -галактозидпермеази** та **β -галактозидтрансацетилази**.

Для пояснення механізмів контролю функції генів у *E.Coli*, які відповідають за метаболізм в клітинах енергетичного субстрату дисахариду лактози, Ф.Жакоб та Ж.Моно

висунули теорію *оперона* (operon — працюю, дію; лат.), яка набула загальнобіологічного значення як модель, що розкриває молекулярні механізми індукції та репресії білкового синтезу на етапі транскрипції.

Оперон — комплекс генетичних елементів, що відповідає за координований синтез групи функціонально зв'язаних ферментних білків. Так, зокрема, у разі Лас-оперона *E. Coli* це — ферменти метаболізму лактози: β -галактозидаза, β -галактозидпермеаза та β -галактозидтрансацилаза; Нис-оперон містить гени, що контролюють експресію дев'яти ферментів, які каталізують синтез необхідної для бактеріальної клітини амінокислоти гістидину тощо.

До складу *оперона* входять (рис. 22.4):

(1) *структурні гени* (Z, Y, A), що містять інформацію відносно первинної структури поліпептидів, які транскрибуються з даного оперона; в Лас-опероні *E. Coli* — це гени зазначених вище трьох ферментів метаболізму лактози;

(2) *контрольні сайти*, до яких належать:

а) *промотор* (p) — ділянка ДНК, що первинно взаємодіє з РНК-полімеразою; в промоторах *E. Coli* міститься також особлива ділянка, з якою взаємодіє білок-активатор кatabолітних генів (CAP-білок — *catabolite gene activator protein*, англ.), що контролює зв'язування РНК-полімерази з промотором;

б) *оператор* (o) — ділянка ДНК, з якою може специфічно зв'язуватися білок-репресор. Оператор безпосередньо прилягає до структурних генів, і його зв'язування з репресором протидіє зчитуванню РНК-полімеразою інформації із структурних генів.

Регуляторний ген (I), експресія якого призводить до продукування білкових регуляторів (*репресорів*), що блокують зчитування інформації із структурних генів оперону, не розглядається як інтегральна складова останнього, оскільки він може бути локалізований на певній відстані від оперону, функцію якого він контролює.

Схема діяльності Лас-оперону

Активність Лас-оперона є об'єктом подвійної — негативної та позитивної регуляції.

А. Репресія Лас-оперону.

У цьому стані синтез β -галактозидази та інших ферментів метаболізму лактози практично не відбувається — відповідні гени репресовані. Цей стан має місце в умовах

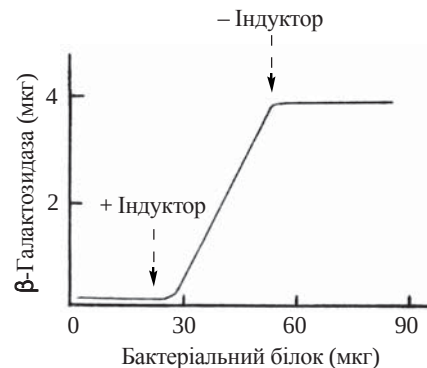


Рис. 22.3. Індукція синтезу β -галактозидази у *E. Coli* в умовах внесення в інкубаційне середовище лактози. Концентрація бактеріального білка (вісь абсцис) відображає активність поділу клітин у культурі.

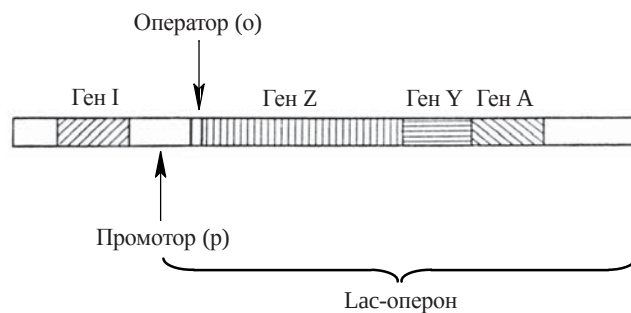


Рис. 22.4. Схематична будова Лас-оперону *E. Coli*.

присутності достатньої кількості глюкози; оскільки глюкоза є *катаболітом* лактози, стан гальмування синтезу ферментів метаболізму лактози в присутності глюкози отримав назву *стану катаболітної репресії*, хоча насправді глюкоза не є безпосереднім репресором, а впливає на синтез зазначених ферментів іншим, більш складним шляхом (див. нижче).

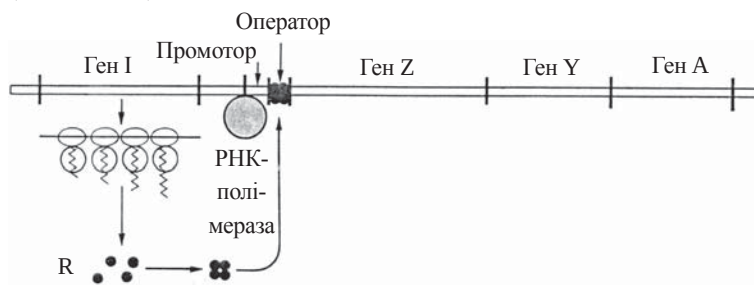


Рис. 22.5. Механізм репресії Лас-оперону.

зв'язуючись із оператором (певною послідовністю нуклеотидів ДНК) блокує транскрипцію структурних генів РНК-полімеразою (рис. 22.5).

Зв'язування репресора (R) з оператором протидіє просуванню РНК-полімерази впродовж оперону і транскрипції дистально розташованих структурних генів Z, Y, A.

Лас-репресор — це білок тетрамерної будови з м.м. 38 кД; сполучаючись з ДНК операторного локусу, який локалізований між промотором (з яким первинно зв'язується РНК-полімераза) та початком структурних генів, репресор протидіє зчитуванню інформації з генів Z, Y, A.

За розглянутим механізмом здійснюється *негативна регуляція* функції Лас-оперону *E. Coli*.

Б. Індукція Лас-оперону.

Це стан активного синтезу ферментів метаболізму лактози, що спостерігається за умов вичерпання глюкози як енергетичного субстрату та внесення в культуральне середовище лактози (рис. 22.3).

1. Одним із механізмів активованого синтезу ферментів метаболізму лактози в умовах, що розглядаються, є безпосередня взаємодія *індуктора* (лактози або деяких її структурних аналогів) з *репресором* (як вільним, цитоплазматичним, так і зв'язаним з операторним локусом).

Зв'язування індуктора з Лас-репресором спричиняє конформаційні зміни в молекулі останнього і втрату ним властивості взаємодіяти з ділянкою ДНК операторного локусу, що розгальмовує транскрипцію із структурних генів — рис. 22.6.

Найбільш активним фізіологічним індуктором Лас-оперону є *алолактоза* — дисахарид, що утворюється внутрішньоклітинно з лактози в реакції трансглікозилювання; синтетичним індуктором є сполука *ізонпропілтіогаляктозид*.

2. Крім залежності від зняття індуктором репресорного блока, синтез ферментів Лас-оперону контролюється також особливим білком, що має назву білка-активатора катаболітичних генів (CAP). Встановлено, що зв'язування РНК-полімерази з промотором і ініціація транскрипції можливі лише за умов утворення комплексу CAP з циклічним аденозинмонофосфатом (3',5'-цАМФ, сАМР) та сполучення цього комплексу з певною ділянкою ДНК промотора (рис. 22.6).

Блокування (репресія) структурних генів Лас-оперону здійснюється за рахунок продукування регуляторним геном спеціального білкового *репресора*, який,

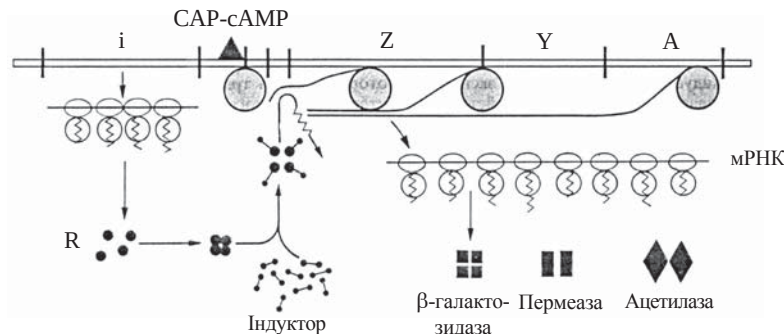


Рис. 22. 6. Механізм індукції Лас-оперону. Присутність індуктора інактивує репресор, який втрачає здатність до блокування гена-оператора; в разі інактивації репресора (а також за умов сполучення промотору з комплексом CAP-cAMP) РНК-полімераза починає транскрибувати структурні гени.

Фізіологічне значення цього феномена полягає в можливості позитивного контролю зчитування інформації із структурних генів Лас-оперону під впливом 3',5'-цАМФ, концентрація якого в клітині, в свою чергу, визначається активністю метаболізму глюкози. Активація аденілатциклази, що призводить до генерації 3',5'-цАМФ, відбувається в умовах зменшення в культуральному середовищі джерел вуглецю (глюкози або гліцеролу), що через утворення комплексу CAP-cAMP стимулює початок транскрипції РНК-полімеразою генів Z, Y, A.

Таким чином, при дії комплексу CAP-cAMP реалізується механізм *позитивної регуляції* експресії генів Лас-оперону.

22.2. ОСОБЛИВОСТІ МОЛЕКУЛЯРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ТА ЕКСПРЕСІЇ ГЕНОМУ В ЕУКАРІОТІВ

Як свідчать дані сучасної біохімії і молекулярної біології, склад та субклітинна архітектура еукаріотичної клітини суттєво відрізняються від прокаріотів: так, кількість індивідуальних білків в організмі людини перевищує 50 000, порівняно з приблизно 3 000 різних білків у E. Coli. Відповідно, і геном ядерних організмів є більш складною системою за своєю структурою та молекулярною організацією, порівняно з прокаріотами, зокрема значна різниця існує в кількісних показниках і структурній організації ДНК.

Відповідно до особливостей структурної організації геному, контроль експресії генів у *еукаріотів* також значно складніший. Окрім механізмів, близьких до існуючих у прокаріотів, в контролі генної експресії в еукаріотичних клітинах беруть участь такі специфічні молекулярні процеси, що реалізують регуляторну дію на різних рівнях генної експресії:

(1) **на рівні структурної організації геному** — регуляція здійснюється за рахунок наявності специфічних послідовностей нуклеотидів, генних перебудов (рекомбінації генів), ампліфікації генів;

(2) **на рівні транскрипції** — регуляторними механізмами є вплив сигналів посилення та послаблення транскрипції (енхансерів та атенюаторів, відповідно), постратранскрипційна модифікація мРНК;

(3) на рівні трансляції — основним механізмом регуляції є ковалентна модифікація білкових факторів трансляції шляхом їх зворотного фосфорилування — дефосфорилування.

Молекулярна організація ДНК еукаріотів



Рис. 22.7. Будова 12-ї хромосоми каріотипу людини (× 27850).

Гаплоїдний геном кожної клітини організму *Homo sapiens* містить $3,5 \cdot 10^9$ пар азотистих основ і складається з 23 пар хромосом (рис. 22.7), що є достатнім для утворення близько 1,5 млн. пар генів. Разом з тим, реально в організмі людини синтезується не більше 100 000 різних білків, тобто **більша частина ядерної ДНК, що складає геном людини, не транслується в амінокислотну послідовність білкових молекул.**

Наявність (крім регуляторних і сигнальних нуклеотидних послідовностей, присутніх також у прокаріотів) значної кількості ділянок, що не транскрибуються, є специфічною особливістю структури геному еукаріотичних клітин. Такі “мовчазні” фрагменти геному отримали назву *інтронів*, на відміну від *екзонів* — ділянок геному, які транскрибуються з утворенням мРНК, що несуть інформацію для синтезу специфічних клітинних білків.

Згідно з сучасними оцінками, **тільки 2 % ДНК клітин ссавців містять інформацію для кодування білків організму** (L.Stryer, 1995).

Послідовності ДНК, що повторюються

Вивчення нуклеотидних послідовностей ДНК вищих організмів виявило, крім *унікальних* за нуклеотидним складом послідовностей, розповсюдженість фрагментів, що присутні, зокрема в ДНК ссавців, у вигляді багатьох копій — від 2 до 10^7 повторів на клітину. В геномі людини повтори складають 20-30 % від його загальної довжини.

Залежно від кількості нуклеотидів і кратності їх повторення *послідовності нуклеотидів, що повторюються*, підрозділяються на такі класи:

(а) *високоповторні послідовності*, які є ділянками з довжиною від 5 до 500 пар нуклеотидів, розташованими один за одним (“тандемно”). Такі послідовності утворюють кластери, що містять від 1 до 10 млн. копій і складають фракцію “сателітної ДНК”. Ці високоповторні послідовності транскрипційно неактивні, і їх функціональну роль остаточно не з’ясовано;

(б) *помірноповторні послідовності*, які мають не більше ніж 10^6 копій і не утворюють тандемних кластерів, а чергуються з унікальними нуклеотидними послідовностями (“дисперговані повтори”). Ці послідовності мають різну довжину і можуть бути як короткими, так і довгими (в 5-7 тис. пар нуклеотидів).

Короткі дисперговані повтори — це фрагменти ДНК довжиною від одиниць (декількох пар) до декількох сотень пар нуклеотидів. До цього класу належать поширені в клітинах організму людини повтори *сімейства Alu*, які мають довжину 300 пар нуклеотидів і повторюються в кількості близько 500 000 копій, складаючи в цілому 3-6 % від загального розміру геному гаплоїдної клітини. Ці повтори можуть транскрибуватися у вигляді компонентів гРНК та індивідуальних клітинних РНК — 4,5s- і 7s-РНК.

За своєю нуклеотидною структурою повтори Alu близькі до кінцевих послідовностей ретровірусів LTR і, ймовірно, мають з ними генетичний зв'язок. Вважають, що ці послідовності є мобільними елементами геному, що здатні до *транспозиції*, тобто вирізування і вбудови в різні ділянки геному.

Ядерний хроматин еукаріотів

Як уже зазначалося, структурною особливістю просторової будови ДНК еукаріотів є її компактизація у вигляді суперспіралей, які, в комплексі з гістонами та негістоновими білками — НГБ (до їх складу входять регуляторні, структурні білки, ферменти реплікації тощо) утворюють ядерний *хроматин*, що на етапі мітозу організується у вигляді хроматинових тілець — *хромосом*.

У клітинах тварин та людини реплікація ДНК відбувається тільки в певний період клітинного циклу — S-фазу, яка відокремлена від *мітозу* (M) пресинтетичною (G_1) та постсинтетичною (G_2) фазами; фази S, G_1 та G_2 складають “інтермітотичний період” — *інтерфазу*, G_0 — період *репродуктивного спокою* (рис. 22.8).

Контрольні механізми, що регулюють перехід клітини з G_1 до S-фази залишаються недостатньо з'ясованими. Разом з тим, пускові реакції, які визначають початок мітозу, і полягають в зворотному фосфорилуванні певних ядерних та цитоплазматичних білків, протягом останніх років в достатній мірі розшифровані (див. нижче).

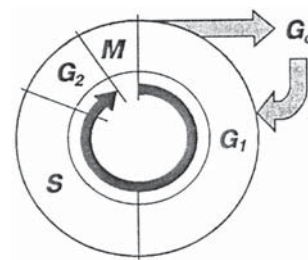


Рис. 22.8. Фази клітинного циклу.

Нуклеосомна організація ядерного хроматину та біохімічні характеристики гістонів були розглянуті в главі 3. В інтерфазному ядрі хроматин диференціюється на *транскрипційно активний хроматин* (ТАХ), або “*еухроматин*” та *транскрипційно неактивний, репресований хроматин* (РХ), або “*гетерохроматин*”. Ці два типи хроматину розрізняють за біохімічними та морфологічними (електронно-мікроскопічними) характеристиками: ТАХ менш щільно компактизований, ніж РХ, його нуклеосомна структура змінена, а в транскрипційно найбільш активних регіонах взагалі відсутня.

Ковалентна модифікація гістонів та НГБ

Гістони та НГБ, що входять до складу нуклеосом хроматину, підлягають процесам посттрансляційної ковалентної модифікації, яка змінює їх хімічні властивості, зокрема здатність до взаємодії з певними ділянками ДНК, і може бути одним з біохімічних механізмів контролю ступеня експресії певних генів.

До реакцій ковалентної модифікації білків ядерного хроматину належать їх *ацетилювання*, *фосфорилування*, *метилування*, *глікозилювання*, *АДФ-рибозилування*. Негістонові білки підлягають постсинтетичним модифікаціям в значно більшому ступені, ніж гістони. Відповідні радикали (ацетильні, фосфорильні, метильні, глікозильні, АДФ-рибозильні) сполучаються з боковими ланцюгами амінокислотних залишків в поліпептидних ланцюгах гістонів та НГБ.

Слід визнати, що регуляторне значення в реалізації конкретних молекулярно-генетичних процесів точно не встановлене ні для одного із зазначених шляхів

ковалентної модифікації ядерних білків. Певні функціональні кореляції з активністю геному виявлені лише для реакцій ацетилювання та фосфорилювання.

Ацетилювання гістонів — процес, що починається вже в цитоплазмі (ацетилювання N-кінцевого серину гістону H4) і завершується в ядрі, де ацетилюються переважно бокові радикали лізинових залишків, що призводить до зменшення позитивного заряду гістонів і розрихлення комплексів гістон-ДНК у складі нуклеосом. Ацетилювання передуює активації геному і зростанню швидкості транскрипції.

Фосфорилювання - дефосфорилювання білків хроматину (гідроксильних груп залишків серину та треоніну) — клас реакцій, що відбуваються як у цитоплазмі (безпосередньо після їх трансляції), так і в ядрі. Встановлено, що протягом різних фаз клітинного циклу зворотно фосфорилюються як гістони (H1, H3), так і окремі НГБ, проте для індивідуальних білків ці закономірності можуть бути різними.

Генетичні рекомбінації

Важливе місце в організації геному різних клітин посідають генні перебудови (реаранжування — *rearrangements*, англ.), або *генетичні рекомбінації* (*рекомбінації генів*), під якими розуміють обмін фрагментами ДНК між різними генами або об'єднання генів з різних біологічних джерел з утворенням нових хромосомних структур, здатних до реплікації і генетичної експресії (транскрипції та трансляції).

Генетичні рекомбінації мають місце в біологічних системах різного ступеня складності — від вірусів і бактеріофагів до вищих еукаріотичних організмів. Перебудови структури генів є рушійною силою мінливості і мають велике значення як у формуванні біохімічної індивідуальності на рівні окремих особин в межах біологічного виду, так і в утворенні видів у процесі еволюції.

Молекулярні механізми генетичних рекомбінацій складні і суттєво відрізняються у різних організмів та при різних типах рекомбінацій. Вони включають у себе ферментативні процеси “розрізання” молекул реципієнтних ДНК (за участю специфічних ДНК-аз) та включення в молекулу ДНК чужорідних полінуклеотидних фрагментів з

іншої хромосоми, або з іншого локусу тієї ж хромосоми — так званих транспозонів (*transpose* — переміщати, англ.). Здатність *транспозонів* бути вбудованими в молекули інших ДНК залежить від присутності на кінцях транспозонів особливих нуклеотидних фрагментів — так званих *інсерційних послідовностей* (*insert* — вставляти, включати, англ.); наступне зшивання фрагментів ДНК-лігазами завершує процес перенесення гена (рис. 22.9).

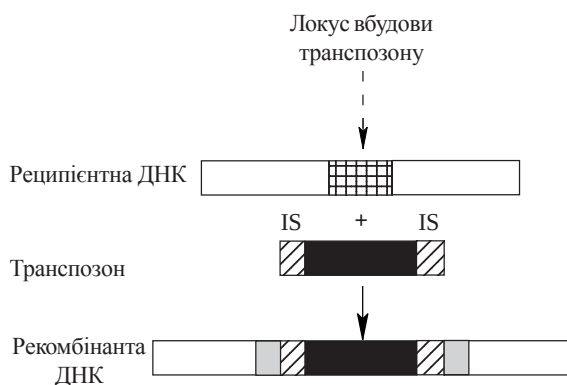


Рис. 22.9. Вбудова транспозону в реципієнтну ДНК. На обох кінцях транспозону розміщені інсерційні послідовності (IS-елементи).

Рекомбінації у прокаріотів

Рекомбінації є поширеним процесом у прокаріотичних організмів, завдяки якому клітини останніх включають до складу свого геному фрагменти ДНК (генетичні елементи) з інших клітин. До генетичних рекомбінацій у прокаріотів належать:

а) *трансформація* — процес включення в геном реципієнтного мікроорганізму ДНК з донорної загиблої клітини того ж виду;

б) *трансдукція* — перенос бактеріофагом фрагмента ДНК інфікованої клітини в склад геному іншого реципієнтного мікроорганізму;

в) *кон'югація* — процес статевого розмноження, що має місце у деяких видів бактерій і полягає в перенесенні фрагмента ДНК з донорної (F^+) до реципієнтної (F^-) клітини.

Рекомбінації в еукаріотів

У вищих організмів генетичні рекомбінації є важливим елементом утворення гаплоїдних яйцеклітин та сперматозоїдів в процесі *мейозу*. Перед вступом клітин до редукційного поділу гомологічні хромосоми обмінюються ділянками ДНК (*кросинговер*), що є молекулярно-генетичним механізмом надбання нащадками властивостей обох батьківських особин.

Рекомбінації генів імуноглобулінів

У зрілих особин процеси переміщення (*транслокації, транспозиції*) окремих генів або груп генів в інше місце геному (в межах тієї ж хромосоми або в іншу хромосому) мають місце в генах В-лімфоцитів, що кодують утворення *імуноглобулінів*. Ці генетичні рекомбінації є механізмом, завдяки якому в організмі людини та тварин забезпечується синтез мільйонів різних антитіл у відповідь на проникнення в організм чужорідних антигенів (глава 30).

Імуноглобуліни є білками тетрамерної будови, що складаються з чотирьох поліпептидних ланцюгів: двох Н- (“важких”) ланцюгів та двох L- (“легких”) ланцюгів, які є попарно однаковими. Розрізняють п'ять типів Н-ланцюгів (α — альфа, γ — гамма, μ — мію, δ — дельта, ϵ — епсилон) та два типи L-ланцюгів (κ — каппа та λ — лямбда). Залежно від типу легкого та важкого ланцюгів, розрізняють п'ять класів імуноглобулінів (IgG, IgA, IgM, IgD та IgE), у складі кожного з яких певний тип Н-ланцюга сполучається з одним із двох типів L-ланцюга.

У свою чергу, в кожному з Н- та L-ланцюгів молекул імуноглобулінів можна виділити окремі структурні домени: константні (C-) ділянки, що розміщуються з С-кінців Н- та L-ланцюгів і характеризуються сталістю амінокислотного складу в різних класів імуноглобулінів та варіабельні (V-) ділянки, що розміщуються з N-кінців Н- та L-ланцюгів, і характеризуються мінливістю амінокислотного складу, утворюючи конформації, комплементарні детермінантним групам анти-

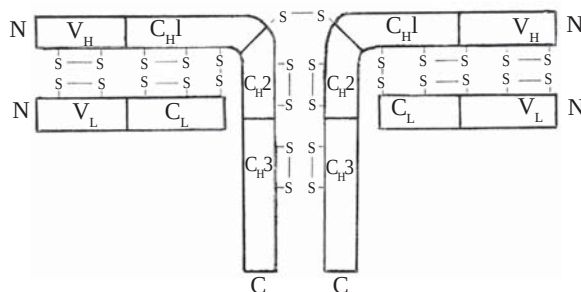


Рис. 22.10. Схема будови молекули імуноглобуліну.

генів, тобто забезпечуючи їх зв'язування з антитілами.

Саме завдяки наявності на кінцях L- та H-ланцюгів імуноглобулінів варіабельних ділянок забезпечується можливість синтезу надзвичайно великої кількості індивідуальних імуноглобулінів (антитіл) відповідно до надходження чужорідних білкових молекул. У свою чергу, синтез такої значної кількості молекул з різною первинною структурою визначається множинними рекомбінаціями генів, що кодують окремі частини молекул імуноглобулінів.

Розглянемо основні закономірності генетичних рекомбінацій, що існують при формуванні в зрілих лімфоцитах генів, які кодують синтез L- та H-ланцюгів імуноглобулінів.

L-ланцюги — синтез легких ланцюгів відбувається за рахунок експресії трьох сімейств генів, що утворюють варіабельний (V_L), з'єднувальний (J_L) та константний (C_L) сегменти; до того ж, зазначені три сімейства, що кодують синтез легких ланцюгів типу *каппа*, локалізовані в 2-й хромосомі, ланцюгів типу *лямбда* — в 22-й хромосомі.

У гапліодному хромосомному наборі міститься близько 500 генів сімейства V_L , 5-6 генів типу J_L та 10-20 генів типу C_L . Ці генні сімейства локалізовані на відстані одне від одного в різних ділянках хромосом (2-ї та 22-ї, відповідно) і зближуються між собою в період утворення зрілого В-лімфоцита за рахунок перебудови (rearrangement) ДНК і транслокації гена типу V_L з дистальної ділянки хромосоми ближче до J_L - та C_L -сегментів. За рахунок такої перебудови утворюється єдиний генний локус, що має будову $V_{L(i)}J_{L(i)}C_{L(i)}$ і транскрибується у вигляді єдиної полі- цистронної мРНК-попередника (первинного транскрипту), який після відповідного процесингу утворює зрілу мРНК для легкого ланцюга імуноглобулінів.

H-ланцюги — синтез важких ланцюгів імуноглобулінів кодується генами чотирьох

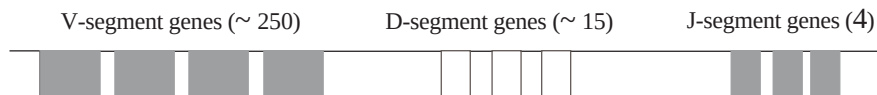
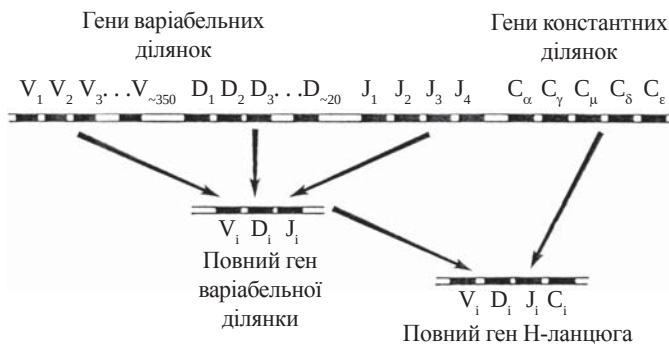


Рис. 22.11. Генні сімейства, що утворюють H-ланцюги імуноглобулінів (Stryer L., 1995).

сімейств, що утворюють V_H -, D-, J_H - та C_H -сегменти у складі 14-ї хромосоми:

Генетичний локус, що кодує варіабельну ділянку важкого ланцюга, формується за рахунок зближення генів із сімейств V_H (250-350 генів), D (15-20 генів) та J_H (4 гени). Генна детермінація синтезу цілісного важкого ланцюга відбувається за рахунок взаємодії локусу будови $V_{H(i)}D_{(i)}J_{H(i)}$ (що кодує варіабельну ділянку) з одним з восьми генів сімейства C_H (що кодують константну ділянку).



Синтез лімфоцитами імуноглобулінів певних класів (G, A, M, D, E), що розрізняються за типом будови важкого ланцюга, забезпечується за рахунок функціонування механізму “переключення

класів важких імуноглобулінів”, який здійснюється шляхом фіксації в структурі геному певного з обраних V_H -генів з певним C_H -геном. Такі генні перебудови і лежать в основі синтезу важких ланцюгів імуноглобулінів під час диференціювання ембріональних лімфоцитів (А.Я. Николаев, 1998).

Таким чином, завдяки можливостям утворення різних сполучень трьох генів сімейств V_L , J_L та C_L при синтезі легких ланцюгів та чотирьох генів сімейств V_H , D , J_H та C_H при синтезі важких ланцюгів, в імунній системі формуються клони лімфоцитів з різноманітною бібліотекою генів, які забезпечують експресію величезної кількості імуноглобулінів (до 10^7 - 10^8) з різною антигенною специфічністю та функціональними властивостями.

Ампліфікація генів

Ампліфікація генів — процес збільшення кількості копій відповідних генів.

Молекулярною основою ампліфікації є багаторазова (“вибухоподібна”) ініціація синтезу ДНК (реплікації) в тому ж самому реплікаційному сайті (рис. 22.12).

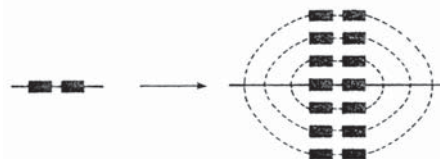


Рис. 22.12. Схема процесу ампліфікації генів.

Прикладами ампліфікації генів вищих організмів є:

(1) ампліфікація генів *металотіонеїну* — білка, що зв’язує токсичні для організмів ссавців іони важких металів, зокрема ртуті, міді, цинку та кадмію. При надходженні в організм зазначених іонів відбувається збільшення частоти транскрипції металотіонеїнового гена в десятки разів, що є фізіологічним механізмом детоксикації важких металів;

(2) ампліфікація гена *дигідрофолатредуктази* — ферменту, що перетворює фолієву кислоту до її коферментних форм — дигідрофолатів, які є коферментами в синтезі пуринів та тиміну.

Ампліфікація гена дигідрофолатредуктази і збільшення в сотні разів рівня синтезу ферменту спостерігаються в умовах введення в організм онкологічних хворих препарату *метотрексату*. В основі антипухлинної дії метотрексату лежить інгібування активності дигідрофолатредуктази, що призводить до порушення синтезу нуклеїнових кислот у клітинах злоякісних пухлин. Результатом такого активованого синтезу ферменту внаслідок ампліфікації гена є втрата чутливості клітин-мішеней до протипухлинного лікарського засобу.

Ланцюгова полімеразна реакція

Явище ампліфікації генів набуло важливого практичного застосування в методі *ланцюгової полімеразної реакції* (ЛПР), що був запропонований в 1983 р. американським дослідником К.Мюллісом (K.Mullis), і дістав поширення в сучасних біомедичних дослідженнях.

Метод ЛПР дозволяє отримати в чистому вигляді і в значній кількості (достатній для проведення досліджень) певні фрагменти (послідовності) ДНК складного геному людини та ідентифікувати їх за нуклеотидним складом. Принцип методу полягає в застосуванні РНК-праймерів, специфічних до певних ділянок ДНК, що аналізується, та подальшому використанні ДНК-полімерази, яка здатна реплікувати нуклеотидні послідовності в обох комплементарних ланцюгах, утворюючи значну кількість копій саме досліджуваного полінуклеотидного фрагмента. Ампліфіковані фрагменти ДНК виділяють з реакційного середовища і досліджують за допомогою існуючих біохімічних методів.

За допомогою ЛПР здійснюється так звана “ДНК-діагностика”, тобто аналіз певних послідовностей ДНК в клітинах людини, що має першорядне значення в діагностиці спадкових хвороб, виявленні присутності в організмі людини певних вірусів (в тому числі ВІЛ), ідентифікації особистості. Так, зокрема, саме за цим методом був здійснений судово-медичний аналіз залишків царської сім’ї та ідентифіковані залишки тіла російського царя Миколи II.

Регуляція експресії генів еукаріотів на рівні транскрипції

Гени вищих організмів мають розвинену систему сигналів регуляції транскрипції, які не лише вказують на **місце** початку синтезу РНК, а й регулюють його **активність**. До складу системи транскрипційних сигналів у еукаріотів входять:

(1) промотори, специфічні для різних РНК-полімераз, але такі, що мають спільну нуклеотидну послідовність (ТАТА...), яка гомологічна блоку Прибнова у прокаріотів; з цим нуклеотидним блоком взаємодіє РНК-полімераза II;

(2) специфічні послідовності матричної ДНК, які підсилюють або послаблюють рівень експресії структурних генів, впливаючи на активність транскрипції, тобто на кількість молекул мРНК, що синтезуються, та швидкість їх утворення — “*енхансери*” (підсилювальні), “*аттенюаторні*” (послаблювальні), “*сайленсери*” (заглушувальні), “*адапторні*” елементи геному.

Енхансери

Найбільш вивченими на даний час є активуючі елементи системи регуляції транскрипції — позитивні регулятори *енхансери* (*enhancers* — посилювачі, англ.). Енхансери — це ділянки ДНК, які можуть складатися з нуклеотидних послідовностей (довжиною в декілька десятків пар азотистих основ — “модулей”, або “мотивів” — *motifs*, англ.), що тандемно повторюються.

Енхансери збільшують ефективність транскрипції генів, на які вони впливають, в десятки і сотні разів. Встановлені нуклеотидні послідовності енхансерів для багатьох ферментних білків (хімотрипсину, алкогольдегідрогенази тощо), гормонів (інсуліну, плацентарного лактогену людини), імуноглобулінів.

Енхансери здатні впливати на активність відповідних генів навіть за умов віддаленості від їх промоторів на декілька тисяч азотистих основ. Активуюча дія енхансерів опосередкована регуляторними білками (див. нижче), що взаємодіють з ними і можуть впливати на транскрипцію віддалених ділянок ДНК. Разом з тим, при взаємодії з певними білковими факторами деякі енхансери можуть отримувати якості негативних регуляторів — *сайленсерів* (*заглушувачів* — англ.), що гальмують експресію відповідних генів.

(3) численні регуляторні білки, що є компонентами системи транскрипційних сигналів, контролюючи активність синтезу мРНК різних класів. На даний час виділені білки, що здатні до специфічної дії з певними енхансерами. Ці білки можуть взаємодіяти з регуляторними послідовностями ДНК, що розташовані на відстані в декілька тисяч азотистих основ від сайтів взаємодії з РНК-полімеразою та ініціації транскрипції. Вважають, що такий дистантний вплив регуляторних білків реалізується за рахунок змін у просторовій конформації ланцюгів ДНК і утворення внутрішніх петель, що зближують регуляторні елементи геному з ділянками, які транскрибуються.

В адаптації організму вищих тварин до умов середовища, що змінюються, важливу участь беруть стероїдні гормони кори наднирникових залоз. Встановлено, що дія цих фізіологічно активних сполук опосередкована специфічними білками — рецепторами, які в комплексі з гормонами взаємодіють з певними енхансерними ділянками геному, активуючи транскрипцію ДНК з певних генів.

Регуляція експресії генів еукаріотів на рівні трансляції

Механізмом регуляції біосинтезу білка на рівні трансляції є ковалентна модифікація білкових факторів трансляції шляхом зворотного фосфорилування — дефосфорилування за участю цАМФ-залежного регуляторного каскаду клітини.

Контроль трансляції шляхом фосфорилування (інактивації) та дефосфорилування (активації) фактора ініціації трансляції eIF-2 (на прикладі регуляції синтезу гемоглобіну) був розглянутий в главі 21.

Контроль вступу клітин до мітозу

Реплікація ДНК у еукаріотів відбувається протягом S-фази клітинного циклу, а мітоз, тобто розподіл подвоєного хромосомного матеріалу між дочірніми клітинами, починається тільки після підготовчої G₂-фази. Вступу в М-фазу передують складна перебудова клітинної архітектури, що полягає в конденсації хроматину, розщепленні ядерної мембрани, реорганізації цитоскелета з формуванням мітотичного веретена тощо.

Ключовою подією в переході клітини до М-фази є активація специфічної протеїнкінази (cdc2-білка), яка, після взаємодії з білком цикліном утворює каталітично активний комплекс, що фосфорилує численні клітинні білки, необхідні для реалізації мітотичного процесу.

Послідовність біохімічних реакцій включення мітозу є такою:

1. Утворення комплексу кінази *cdc2* з цикліном.

Cdc2-кіназа — фермент з м.м. 34 кД; назва походить від гена, що кодує цей білок — *cell-division-cycle gene* (*ген клітинного поділу* — англ.).

Циклін — білок з м.м. 45 кД, концентрація якого поступово зростає протягом інтерфази і різко падає в кінці мітозу.

2. Фосфорилування cdc2-кінази, що знаходиться в комплексі з цикліном; фосфорилування відбувається за залишками Tyr-15 та Thr-161 ферменту. Двічі фосфорильована кіназа є неактивною, але готовою до включення своєї каталітичної активності.

3. Дефосфорилування в молекулі cdc2-кінази залишку Tyr-15 з утворенням молекулярної форми ферменту, що фосфорильована тільки за Thr-161 і є каталітично активною.

Це дефосфорилування спричиняється специфічною *протеїнофосфатазою* (білком *cdc25*) і є *пусковою реакцією* у всьому каскаді біохімічних реакцій, що реалізують перехід клітини до М-фази. Активація cdc25-фосфатази починається після завершення синтезу ДНК і відбувається протягом усього часу підготовки клітини до мітозу.

4. Каталітично активна cdc2-кіназа спричиняє фосфорилування клітинних білків, які беруть участь у запуску мітотичної фази: *ламінінів* ядерної мембрани, що призводить до її розщеплення; білків мікротрубочок, що формують мітотичне веретено; H1-гістонів, фосфорилування яких веде до конденсації ядерного хроматину.

Викликає значний інтерес, що cdc2-кіназа включає ферментативний механізм, який призводить до обмеження її власної каталітичної активності і, як наслідок, виключення мітозу.

Обмеження активності cdc2-кінази досягається за рахунок розщеплення зв'язаного з нею цикліну. Молекулярний комплекс “циклін — монофосфорильована

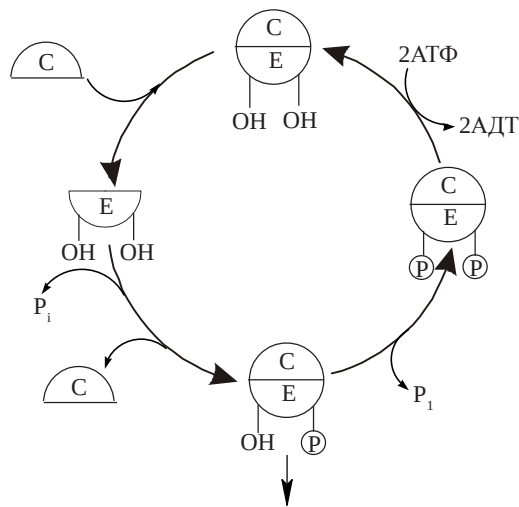


Рис. 22.13. Схема активзації білків ініціації мітозу комплексом cdc-2-кінази (E) з цикліном (C).

(за Thr-161) cdc2-кіназа” є субстратом для взаємодії з *убіквітином* (*ubiquitin* — англ.) — низькомолекулярним (8,5 кД) протеїном, що є універсальним лігандом для “мічення” білків, які підлягають подальшій деструкції під дією протеаз. Сполучення убіквітину з комплексом “циклін-cdc2-кіназа” призводить до обмеженого протеолізу цикліну і припинення клітинних реакцій, що реалізують процес мітозу.

Реакції біохімічного циклу, який контролює вступ еукаріотичної клітини у фазу мітозу, подані на схемі (рис. 22.13).

22.3. МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ МУТАЦІЙ. РЕПАРАЦІЯ ДНК

Мутації — зміни спадкових властивостей внаслідок кількісних та якісних змін у генотипі організму. В процесі реплікації ДНК мутації передаються від клітини до клітини і від покоління до покоління.

Разом з генетичними рекомбінаціями (див. вище), мутації складають основу спадкової мінливості живих організмів. Мутації можуть бути спричинені певними природними — *спонтанні мутації* або штучними факторами — *індуковані мутації*.

За характером змін у структурі генетичного апарату організму мутації поділяють на:

(1) **геномні мутації** — такі, що полягають у змінах кількості повного набору хромосом або окремих хромосом у диплоїдному наборі; такі мутації спричиняють найбільш поширені та важкі форми хромосомних хвороб людини;

(2) **хромосомні мутації** — мутації, що пов’язані із структурними змінами певних хромосом (*хромосомні аберації*) внаслідок переміщення, втрати або дуплікації окремих фрагментів хромосомної ДНК. Розрізняють такі типи хромосомних мутацій:

транспозиції — перенесення фрагмента ДНК в іншу ділянку тієї ж хромосоми;

транслокації — перенесення ділянки однієї хромосоми на іншу, негомлогічну їй, хромосому;

інверсії — зміна в певній ділянці хромосоми послідовності генів (азотистих основ) на іншу, зворотну послідовність;

делеції — випадіння певних ділянок хромосоми (фрагментів ДНК);

дуплікації — подвоєння певних ділянок хромосом.

(3) **генні (точкові) мутації** — зміни в структурі геному, що полягають в порушеннях послідовності азотистих основ (нуклеотидів), які складають первинну структуру ДНК. Генні мутації поділяють на такі типи:

а) заміни нуклеотидів — найбільш поширені генні мутації, до яких належать такі субтипи, як:

транзиції — заміна однієї пуринової основи на пуринову або піримідинової на піримідинову;

трансверзії — заміна одного типу азотистих основ на інший, тобто пурину на піримідин або навпаки;

б) випадіння (делеції) в ланцюгу ДНК однієї або декількох азотистих основ (і відповідних нуклеотидів);

в) вставки (вбудовування) в ланцюг ДНК додаткових азотистих основ (однієї або більшої кількості).

Генні мутації, якщо вони не репаровані спеціальними ферментними системами клітини, призводять до припинення синтезу білка, що кодується відповідним геном, або до утворення білка із зміненою, “неправильною” первинною структурою.

Агенти, що спричиняють мутації (мутагени)

Мутації (найчастіше генні мутації) виникають внаслідок пошкоджень, спричинених несприятливою дією на геном хімічних, фізичних та біологічних факторів навколишнього середовища, або похибок у функціонуванні ДНК-полімераз на етапі реплікації ДНК.

Найбільш поширеними мутагенами є:

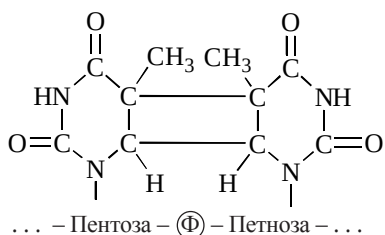
(1) *аналоги азотистих основ* — сполуки, що заміщують нормальні азотисті основи в полідезоксирибонуклеотидному ланцюгу. Найбільш поширеними речовинами цього класу є 5-бромурацил та 2-амінопурин;

(2) *хімічні мутагени* — сполуки, що призводять до змін ковалентної структури нормальних азотистих основ; до найпоширеніших хімічних мутагенів належать:

а) дезамінуючі агенти — азотиста кислота (HNO_2) та речовини, що в процесі метаболізму можуть перетворюватися на нітрити, зокрема органічні сполуки — *нітрозаміни*. Під дією азотистої кислоти відбувається дезамінування цитозину (з утворенням урацилу), аденіну і гуаніну (з утворенням гіпоксантину та ксантину, відповідно). Заміна одного нуклеотиду в ланцюгу ДНК супроводжується зміною змісту певного кодону (*місенс-мутація*) та синтезу білка із зміненою амінокислотною послідовністю. Вважають, що за рахунок мутації такого типу виникли аномальні форми гемоглобінів із зміненою первинною структурою в β -ланцюгах;

б) алкілюючі агенти — сполуки, що призводять до метилювання (в загальному випадку — алкілювання) звичайних азотистих основ. До алкілюючих агентів належать: алкілсульфонати (диметилсульфонат, етилметансульфонат тощо), азотисті та сірчанисті біс-(β -хлоретил)аміни (*іприти*), алкілнітрозаміни тощо; багато з цих сполук мають протипухлинну (антибластомну) активність і застосовуються в клінічній та експериментальній онкології;

(3) *ультрафіолетове (УФ-) та іонізуюче опромінення* — фізичні фактори, висока мутагенна активність яких пояснюється вільно-радикальною деструкцією азотистих основ ДНК з утворенням їх аналогів із зміненою хімічною будовою.



Димер тиміну в ланцюгу ДНК.

Поширеною мутацією, що спостерігається при дії УФ-випромінювання є утворення ковалентних зв'язків між сусідніми (розташованими в одному ланцюгу) залишками тиміну. Такі тимінові димери протидіють нормальному просуванню ДНК-полімераз в ході реплікації і синтез ДНК припиняється.

Механізми репарації ДНК

Усі живі організми на Землі підлягають постійній дії фізичних мутагенних факторів, зокрема опроміненню УФ-променями (з довжиною хвилі 200-400 нм), що складають значну частину сонячного спектра, та іонізуючою радіацією, джерелом якої є космічне випромінювання та радіоактивні ізомери радію, плутонію, вуглецю тощо, що містяться в неорганічних об'єктах навколишнього середовища. За оцінками фахівців, вплив УФ- та іонізуючого опромінення є відповідальним за приблизно 10 % усіх пошкоджень ДНК, що спричиняються небіологічними факторами. Наступним важливим компонентом мутагенного впливу навколишнього середовища на геном живих організмів є дія численних хімічних сполук, зокрема речовин чужорідного походження — *ксенобіотиків*, які постійно впливають на ядерну генетичну ДНК. Як і в разі дії розглянутих фізичних чинників, механізм ушкоджуючої дії хімічних мутагенів значною мірою залежить від утворення в клітині вільних радикалів кисню та води, що спричиняють зміни в ковалентній структурі азотистих основ ДНК (Ю.І.Губский, 1993).

Вплив на геном живих організмів розглянутих фізичних та хімічних чинників супроводжується нестабільністю ДНК, що зазнає постійних точкових мутацій, найчастішими з яких є відщеплення пуринових основ (*депуринізація ДНК*), дезамінування цитозину та депіримідинізація. У зв'язку із зазначеним, в еволюції живих організмів виникли спеціальні молекулярні механізми, що протидіють постійним ушкодженням молекул ДНК та репарують зміни в молекулярній будові ДНК, що вже відбулися.

1. Репарація пошкоджень, спричинених УФ-опроміненням.

Пошкодження ДНК, спричинені УФ-променями, найбільш часто спостерігаються в бактеріальних клітинах та в незахищеній від сонячного опромінення шкірі людини. Відновлення нормальної структури ДНК, порушеної утворенням димерів тиміну, реалізується шляхом дії механізмів, позначених на рис. 22.14 (етапи I-IV):

I. Розщеплення (“розрізання”) ланцюга ДНК “зліва” (в напрямку $5' \rightarrow 3'$) від димера і відведення вбік вільного кінця, що містить тиміновий димер; реакція каталізується особливим ферментом — *УФ-специфічною ендонуклеазою*.

II. Формування полідезоксирибонуклеотидної “латки” на фрагмент ділянки ДНК, що містить димер; реакція каталізується ДНК-полімеразою (у прокаріотів — *ДНК-полімеразою I*) і полягає в приєднанні мононуклеотидів до вільного $3'$ -кінця “розрізаного” ланцюга ДНК в напрямку $5' \rightarrow 3'$.

III. Відщеплення пошкодженої (такої, що містить тиміновий димер) ділянки ДНК (у прокаріотів — за рахунок 5'→3' екзонуклеазної активності ДНК-полімерази I).

IV. “Зшивання” 3'-кінця новосинтезованої “латки” з 5'-кінцем розрізаного основного ланцюга ДНК.

Порушення ферментативного процесу репарації УФ-індукованих пошкоджень ДНК призводить у людини до важкого спадкового захворювання — пігментної ксеродерми (рис. 22.15)

Пігментна ксеродерма успадковується як аutosомальна рецесивна хвороба; при цій патології шкіра пацієнтів є надзвичайно чутливою до пошкоджуючої дії сонячного світла, яке може спричинити розвиток раку шкіри. Найбільш поширена форма пігментної ксеродерми зумовлена спадковим порушенням синтезу УФ-специфічної ендонуклеази, що призводить до порушення всього механізму репарації ДНК.

2. Репарація дезамінування цитозину.

Дезамінування цитозину (2-окси-4-амінопіримідину) призводить до утворення урацилу (2,4-діоксипіримідину) — реакція, що спонтанно проходить у водних розчинах цитозину. В результаті цього процесу (заміни С на U) в комплементарному ланцюгу ДНК при реплікації також відбувається заміна відповідної пуринової основи (замість гуаніну включається аденін). У кінцевому підсумку дочірня дволанцюгова ДНК в тому положенні, де повинна була б бути пара G-C буде містити пару A-T, тобто відбудеться мутація типу *заміни*. Репарація такої мутації включає в себе:

а) видалення з ланцюга ДНК “неправильної” основи за рахунок відщеплення урацилу урацил-ДНК-глікозидазою. Фермент гідролітичним шляхом розриває N-глікозидний зв'язок між азотистою основою (урацилом) та дезоксирибозою, утворюючи пентозо-фосфатний ланцюг без азотистої основи. За аналогічним механізмом діють і інші ДНК-глікозидази, що формують апіримідинові та апуринові ділянки в пошкодженій молекулі ДНК;

б) розщеплення ендонуклеазою 3',5'-фосфодіефірного зв'язку “зліва” від депіримідинізованого пентозофосфатного залишку;

в) вбудова “правильної” азотистої основи (в даному випадку — цитозину) на місце видаленої основи за рахунок дії ДНК-полімерази;

г) зшивання розриву в ланцюгу ДНК-лігазою.

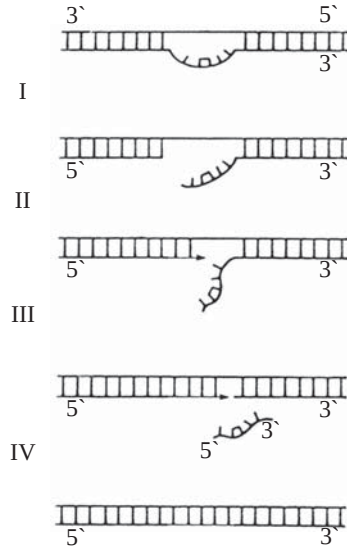


Рис. 22.14. Схема репарації фрагмента ДНК з тиміновим димером.



Рис. 22.15. Пігментна ксеродерма — сублетальне спадкове захворювання шкіри (A. Muntzing, 1967).

22.4. ГЕННА ІНЖЕНЕРІЯ. РЕКОМБІНАНТНІ ДНК

Рекомбінації генів, що були розглянуті вище, є природним процесом, який реалізується *in vivo* і є біологічним механізмом, спрямованим на збільшення різноманітності генетичного матеріалу в клітинах різних організмів.

Генна інженерія, або *технологія рекомбінантних ДНК* — науково-практичний напрямок сучасної біомедичної науки, основою методології якого є виділення з клітин індивідуальної ДНК та спрямоване маніпулювання з її молекулами, зокрема отримання *молекулярних химер*, тобто молекул, сформованих із фрагментів ДНК різних біологічних видів.

Біомедичне значення методів генної інженерії

Біотехнологічні методи генної інженерії мають на меті:

1) отримання нових генотипів (та фенотипів) організмів шляхом трансплантації гена одного організму в генотип іншого. Конкретними досягненнями цього біотехнологічного напрямку є створення химерних форм мікроорганізмів, що містять в собі гени, які спроможні спрямовувати синтез корисних для людини білкових продуктів, зокрема лікарських засобів (інтерферонів, гормонів (інсуліну тощо), ферментів, імунобіологічних препаратів (зокрема, вакцини проти вірусу гепатиту В) тощо;

2) застосування “генних трансплантацій” для лікування спадкових хвороб людини та тварин — *генна терапія*. Цей напрямок біотехнологічних досліджень знаходиться на початку свого розвитку і обіцяє в майбутньому створити принципово нові медичні технології терапії практично невиліковних в наш час спадкових хвороб та значної кількості найбільш поширених хвороб, у патогенезі яких певне місце займають спадкові фактори (атеросклероз, цукровий діабет, нервово-психічні хвороби тощо). Такий підхід був уже реалізований у терапії спадкового гіпогонадізму у мишей, в запліднену яйцеклітину яких був імплантований ген гонадоліберину.

Технологія трансплантації генів:

1) отримання в чистому вигляді, тобто у формі ізолизованого фрагмента ДНК, гена з певними властивостями (тобто такого, що кодує синтез необхідного ферменту, гормону тощо);

2) конструювання рекомбінантної (гібридної, химерної) молекули ДНК;

3) введення рекомбінантної ДНК всередину реципієнтної бактеріальної клітини (тобто такої, в якій буде здійснюватися реплікація, *клонування* необхідного гена);

4) клонування рекомбінантної ДНК.

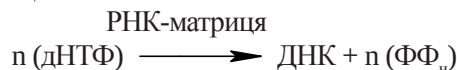
1. Отримання необхідного гена.

Отримання гена (молекули ДНК), що буде підлягати реплікації (клонуванню) з виходом значної кількості реплік, може бути здійснено такими методами:

— хімічним синтезом гена (можливо тільки для коротких генів, що складаються з декількох десятків азотистих основ);

— виділенням необхідного гена (фрагмента ДНК) з цілісного геному клітини (проблема утруднена у зв'язку із значною складністю геномів еукаріотів, у складі яких значна кількість інтронів та повторів, які не транскрибуються — див. вище);

– конструюванням на мРНК (що кодує синтез білка, який бажано отримати в результаті біотехнологічної процедури) комплементарної відносно неї ДНК (кДНК). Цей метод потребує застосування *зворотної транскриптази* — ферменту, що присутній в деяких РНК-вмісних вірусах і забезпечує синтез ДНК на РНК матриці згідно з рівнянням реакції:



Метод широко використовується для отримання кДНК і включає в себе виділення з тотальної мРНК тканини мРНК, що кодує трансляцію певного білка (наприклад, інтерферону, інсуліну) з подальшим синтезом на цій мРНК як на матриці необхідної кДНК за допомогою зворотної транскриптази.

2. Конструювання рекомбінантної ДНК.

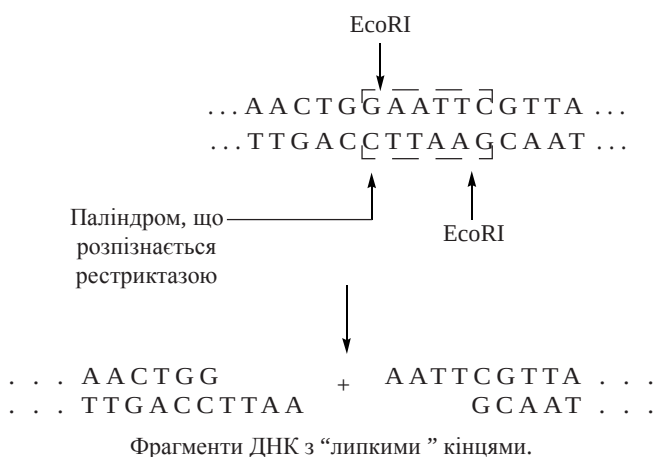
Ген, що був отриманий за допомогою вищерозглянутої процедури (кДНК), необхідно ввести в бактеріальну клітину таким чином, щоб він інтегрувався в її геном. Для цього формують рекомбінантну ДНК, що складається з кДНК та особливої молекули ДНК, яка править за провідник, або *вектор*, здатний до проникнення в реципієнтну клітину.

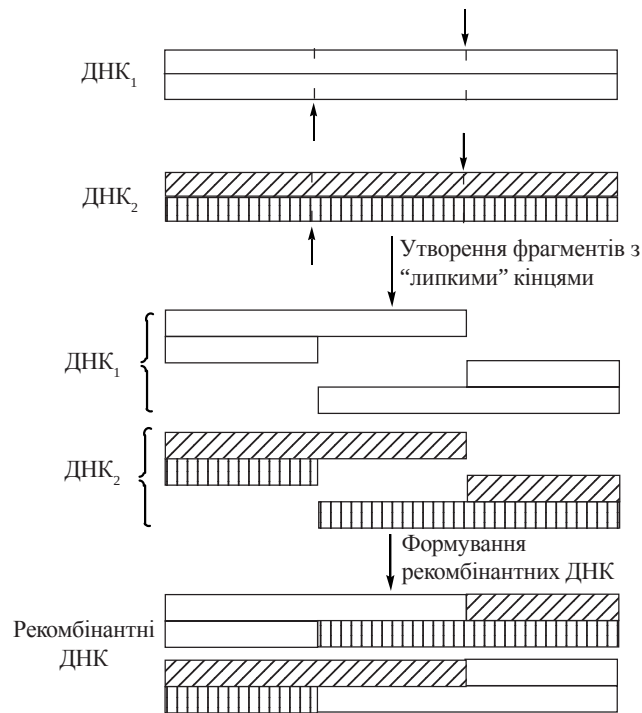
У ролі векторів для кДНК застосовують віруси або *плазмід*и. Плазмід — це невеличкі кільцеві молекули ДНК, які розташовані окремо від нуклеоїду бактеріальної клітини (зокрема, *E. Coli*), містять у своєму складі декілька важливих для функції всієї клітини генів (наприклад, гени стійкості до антибіотиків) і можуть реплікуватися незалежно від основного геному (ДНК) клітини. Біологічно важливими і практично корисними для генної інженерії властивостями плазмід є їх здатність до переходу з однієї клітини в іншу за механізмом трансформації або кон'югації, а також спроможність включатися в бактеріальну хромосому та реплікуватися разом з нею.

Для конструювання рекомбінантної ДНК як кільцеву ДНК плазмід, так і лінійну кДНК розщеплюють за допомогою високоспецифічних до певних нуклеотидних послідовностей ендонуклеаз — так званих *рестриктаз*.

Рестриктази (рестрикційні ендонуклеази) — ферменти, присутність яких в бактеріальній клітині “обмежує” (restriction — обмеження, англ.) можливість розмноження в них певних бактеріофагів за рахунок розщеплення рестриктазами фагових ДНК. Назви рестриктаз ґрунтуються на назвах штамів бактерій, з яких їх виділяють: наприклад, рестриктази *Eco RI* та *Eco RII* походять з R-штаму *E. Coli*, рестриктаза *Bam HI* — з H-штаму мікроорганізму *Bacillus amyloliquefaciens*.

Рестриктази (яких на даний час відомо більше 200 типів) розщеплюють дволанцюгову ДНК лише в ділянках певних нуклеотидних послідовностей (звичайно, довжиною в 4-7 азотистих основ, які мають структуру *паліндромів*), що дозволяє використовувати ці ендонуклеази для “розрізання” молекул ДНК в суворо визначених





цями. При взаємодії *in vitro* "розрізаних" плазмиди та гена їх полінуклеотидні ланцюги, що складають "липкі" кінці, взаємодіють із утворенням водневих зв'язків між комплементарними основами, як це зображено вище. Застосування ДНК-лігази, яка утворює 3'-5'-фосфодієфірні зв'язки між кінцевими нуклеотидами, призводить до "зшивання" плазмиди та гена і завершує утворення рекомбінантної ДНК (рис. 22.16):

сайтах. Наприклад, рестриктаза *Eco RI* гідролізує зв'язки між G та A в таких послідовностях:

...GAATTC...
...CTTAAG...

Розщеплення рестриктазою G-A - зв'язків у зазначених сайтах дволанцюгової ДНК, як видно із наведеної нижче схеми, супроводжується утворенням в молекулі "кінців, що стирчать".

Одноланцюгові кінці молекули ДНК, "що стирчать", називають також "липкими" кінцями, оскільки вони є ділянками неспарених нуклеотидів, що можуть легко сполучатися з комплементарними їм полінуклеотидними ланцюгами:

Розщеплення ДНК плазмиди та κДНК (гена) специфічними рестриктазами призводить до утворення розрізаних в певних сайтах молекул ДНК з "липкими" кінцями.

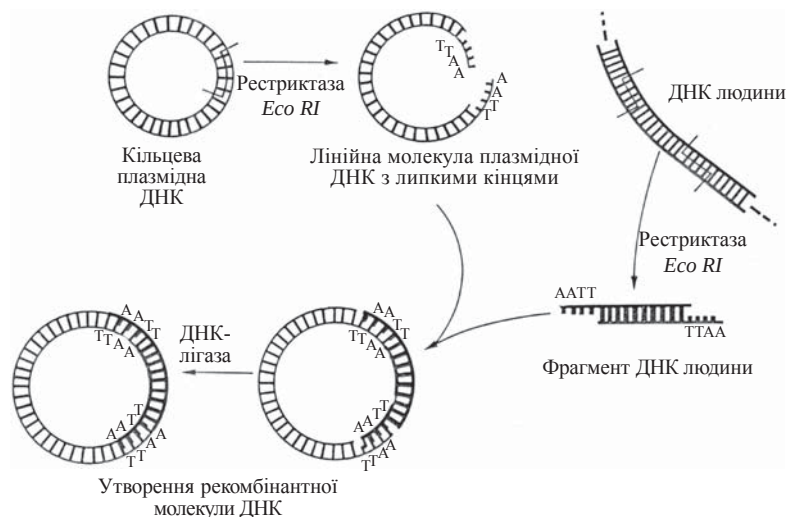


Рис. 22.16. Схема утворення рекомбінантної ДНК з плазмиди та фрагмента ДНК людини.

3. Введення рекомбінантної ДНК всередину реципієнтної клітини та клонування необхідного гена.

Рекомбінантні ДНК, що складаються з плазмідної ДНК та ДНК гена, що трансплантується (наприклад, гена, який кодує синтез певного білка організму людини) при взаємодії з бактеріальними клітинами (що є нормальними хазяїнами для даної плазміди), можуть проникати всередину останніх.

Усередині клітини хазяїна відбувається реплікація (клонування) рекомбінантної ДНК з утворенням багатьох тисяч копій. У подальшому ці клоновані ДНК виходять з бактеріальної клітини, і з них можливо (знову ж таки за допомогою рестриктаз) виділити велику кількість копій шуканого гена.

У наш час для клонування генів, крім бактерій, використовують клітини дріжджів, грибів, рослин і навіть вищих тварин. За технологією, що розглянута, здійснено генно-інженерний синтез інтерферону людини, людських інсуліну, гормону росту, соматостатину, активатора плазміногену, білкових препаратів для діагностики СНІДу тощо.

Розділ V. ГОРМОНИ В СИСТЕМІ МІЖКЛІТИННОЇ ІНТЕГРАЦІЇ ФУНКЦІЙ ОРГАНІЗМУ

ГЛАВА 23. ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ ТА БІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ КЛІТИНИ

I. БІОХІМІЧНІ СИСТЕМИ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОЇ ТРАНСДУКЦІЇ ГОРМОНАЛЬНИХ СИГНАЛІВ

Визначальною особливістю багатоклітинних організмів є диференціація клітин з утворенням тканинних структур та органів, що виконують спеціалізовані фізіологічні функції, які забезпечують виживання цілісної особини. Координація клітинних та тканинних реакцій на зміни умов внутрішнього та зовнішнього середовища забезпечується механізмами міжклітинних комунікацій. У процесі еволюції вищих тваринних організмів було сформовано дві фізіолого-біохімічні системи, що забезпечують зв'язок та координацію між окремими клітинними угрупованнями: *нервова система*, що функціонує шляхом електрохімічного проведення сигналів, та *ендокринна*, дія якої реалізується за рахунок секреції і транспортування специфічних гуморальних факторів дистантної дії — *гормонів*.



Рис. 23.1. Старлінг (Starling) Ернест Г. (1866-1927), англійський фізіолог, біохімік. Професор фізіології Лондонського ун-ту. Один із засновників вчення про гормони.

23.1. ГОРМОНИ ТА БІОРЕГУЛЯТОРИ: ВИЗНАЧЕННЯ, КЛАСИФІКАЦІЯ

Гормони — фізіологічно активні сполуки (ФАС), біорегулятори, що продукуються залозами внутрішньої секреції (ендокринними залозами) або іншими спеціалізованими клітинами і діють як регулятори метаболічних процесів та фізіологічних функцій в організмі. Біологічні ефекти гормонів здійснюються в надзвичайно низьких концентраціях — 10^{-11} - 10^{-6} моль/л.

Вперше термін *гормон* (hormao — збуджую, стимулюю, грецьк.) був запропонований у 1905 р. Е.Старлінгом для позначення *секретину* — гуморального фактора, що продукується дванадцятипалою кишкою і збуджує екзокринну секрецію підшлункової залози. В подальшому термін був поширений стосовно фізіологічно активних сполук, які виробляються в спеціалізованих залозах внутрішньої секреції.

Класи гормонів та інших біорегуляторів

Гормони, що синтезуються в ендокринних залозах (“справжні”, істинні гормони), секретуються в кров’яне русло і після перенесення спеціалізованими транспортними

білками здійснюють свої біологічні ефекти, як правило, на відстані, тобто діють на віддалений чутливий орган або органи.

До “справжніх” гормонів належать:

- гормони гіпоталамуса та гіпофіза;
- гормони щитовидної залози;
- гормони паращитовидної залози;
- гормони ендокринних клітин підшлункової залози;
- гормони коркової частини наднирникових залоз;
- гормони чоловічих та жіночих статевих залоз;
- гормони епіфіза.

Близькі за біологічними функціями до гормонів фізіологічно активні сполуки, що є гуморальними регуляторними факторами неендокринного походження. Ці біорегулятори виробляються не в ендокринних залозах, а в спеціалізованих клітинах, які містяться в інших тканинних елементах, зокрема, в лімфоїдній системі, лейкоцитах, сполучній тканині, шлунку, кишечнику, нервовій системі, нирках, міокарді тощо, і мають назву *гормоноподібних сполук (гормоноїдів)*, або *тканинних гормонів (гістогормонів)*. На відміну від “справжніх” гормонів, що характеризуються *дистантністю дії*, гістогормони можуть справляти свій регулювальний вплив на чутливі до них клітини-мішені на місці свого утворення (“ізокринна”, місцева дія).

Загальною рисою у *біорегуляторів* різного походження є їх інформаційна функція, спрямована на контроль, регуляцію, модуляцію метаболічних і фізіологічних функцій чутливих біоструктур (*інформони, інформофери*).

Найбільш вивченими на даний час є такі класи біорегуляторів:

- гормони (“справжні” гормони);
- нейромедіатори та опіоїдні пептиди;
- фізіологічно активні ейкозаноїди;
- гормони та медіатори імунної системи;
- пептидні фактори росту (цитомедини, інтермедини);
- гастроінтестинальні гормони;
- пептиди кінінової системи;
- натрійуретичні пептиди серця та мозку.

Хімічна структура гормонів

За хімічною будовою всі гормони поділяють на такі класи:

(1) *білково-пептидні гормони* (прості білки; глікопротеїни; пептиди): гіпоталамо-гіпофізарні гормони; гормони паращитовидної залози; гормони острівкової частини підшлункової залози; гастроінтестинальні гормони; нейропептиди; численні тканинні біорегулятори пептидної природи;

(2) *гормони — похідні амінокислот*: гормони щитовидної залози; гормоноїди мозкової частини наднирникових залоз (катехоламіни); інші нейромедіатори з властивостями гістогормонів (серотонін, дофамін, гістамін); гормон епіфіза — мелатонін;

(3) *гормони стероїдної природи*: глюкокортикоїди та мінералокортикоїди кори наднирникових залоз; чоловічі та жіночі статеві гормони; похідні вітаміну D;

(4) *біорегулятори — похідні арахідонової кислоти* (ейкозаноїди): простагландини, простацикліни, тромбосани, лейкотрієни.

Синтез гормонів здійснюється в спеціалізованих клітинах (“справжніх” гормонів — у залозах внутрішньої секреції). Багато гормонів продукуються первісно у вигляді біологічних попередників — *препрогормонів* та *прогормонів*, які поступово трансформуються в біологічно активний гормон. У разі білково-пептидних гормонів така активація здійснюється шляхом посттрансляційної модифікації (*процесингу*) за механізмом обмеженого протеолізу первинних продуктів рибосомальної трансляції.

Мішені гормональної дії

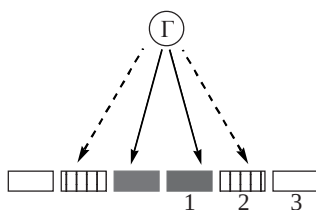


Рис. 23.2. Типи реакцій клітин на дію гормонів (В.Б.Розен, 1984): 1— гормонозалежні клітини-мішені; 2 — гормоночутливі клітини-мішені; 3 — клітини-немішені.

Реалізація фізіологічного ефекту гормонів та інших біорегуляторів здійснюється в клітинах- (тканинах-, органах-) *мішенях*.

Мішені (клітини, тканини, органи), або *гормонокомпетентні структури* — чутливі до гормону біоструктури, які вибірково відповідають на взаємодію з гормоном специфічною фізіологічною та біохімічною реакцією; відповідно до ступеня впливу гормону на їх біологічні властивості, виділяють *гормонозалежні* та *гормоночутливі* клітини (рис. 23.2).

Прикладами гормонозалежних структур є тканини периферійних ендокринних залоз (щитовидної, кори наднирникових залоз) відносно дії тропних гормонів гіпофіза (ТТГ та АКТГ, відповідно) або клітини чоловічої та жіночої статеві сфери стосовно присутності та ефектів відповідних статевих гормонів. Гормоночутливими є клітини органів, що реагують на дію інсуліну, який контролює в них обмін глюкози, ліпідів та амінокислот (клітини м’язів, жирової тканини, лімфоїдної системи).

Здатність клітин-(тканин-) *мішеней* специфічним чином реагувати на певний гормон визначається наявністю рецепторних молекул, що сполучаються з гормоном або хімічно близькими до нього сполуками. З іншого боку, взаємодія з рецептором відбувається за рахунок певного домену молекули гормону — “активного центру”, що за молекулярною будовою, конформацією є комплементарним відповідному сайту рецептора.

23.2. МОЛЕКУЛЯРНО-КЛІТИННІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ ПЕПТИДНИХ ГОРМОНІВ ТА БІОГЕННИХ АМІНІВ

Гормони здійснюють свої ефекти відносно контролю метаболічних процесів у клітинах-мішенях шляхом комплексування із специфічними *рецепторами* — білковими молекулами, які взаємодіють з біорегулятором з утворенням ліганд-рецепторних комплексів і здійснюють трансформацію хімічного гормонального сигналу у відповідну, генетично запрограмовану для даного типу клітин, реакцію ефекторних систем.

Залежно від клітинної локалізації рецептора, характеру його взаємодії з гормоном та механізмами реалізації гормонального сигналу, всі гормони поділяють на дві великі групи:

1. Гормони, що не проникають всередину клітин і взаємодіють зі своїми рецепторами, локалізованими в плазматичних мембранах клітини; до цієї групи належить більшість гормонів білково-пептидної природи та похідні амінокислот.

2. Гормони, які для реалізації своєї специфічної дії проникають всередину клітин, де вони взаємодіють з внутрішньоклітинними цитозольними (в деяких випадках — ядерними) рецепторами; до цієї групи належать ліпофільні стероїди, а також тиреоїдні гормони.

Гормони першої групи здійснюють трансформацію регуляторного сигналу в специфічну функціональну активність клітини-мішені за рахунок таких молекулярних подій (рис. 23.3):

(1) взаємодії гормону на поверхні плазматичної мембрани з білковим *рецептором*;

(2) передачі хімічного сигналу з рецептора, модифікованого за рахунок взаємодії з лігандом (гормоном, іншим біорегулятором), через трансформуючі *білки-трансдуктори* (G-білки) на внутрішньоклітинні сигнальні системи;

(3) утворення (або вивільнення) внутрішньоклітинних сигнальних молекул — *вторинних посередників* (циклічних нуклеотидів цАМФ, цГМФ, фосфоінозитидів, іонів Ca^{2+});

(4) взаємодії вторинних посередників з ферментними білками клітини з включенням (як правило, через активацію специфічних *протеїнкіназ*) *ефекторних систем* клітини, тобто послідовних стадій розвитку клітинної біохімічної реакції на гормональний стимул.



Рис. 23.3. Послідовність трансформації гормонального (біорегуляторного) сигналу в реакцію ефекторних систем клітини через внутрішньоклітинні сигнальні системи.

Рецептори білково-пептидних гормонів та нейромедіаторів

Рецептори для фізіологічно активних сполук — гормонів та інших біорегуляторів — поділяють на два класи, що розрізняються за своєю молекулярною організацією та послідовністю біохімічних реакцій, які включаються після взаємодії ФАС із специфічними рецепторними білками:

1) *рецептори I класу* — **іонотропні рецептори** — такі, що в результаті взаємодії з ФАС спричиняють відкриття іонних каналів на плазматичній мембрані і генерують розвиток надзвичайно швидких (мілісекундних) іонних струмів (Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Cl^-). Фізіологічними лігандами для іонотропних рецепторів є нейротрансміттери (ацетилхолін, адреналін, медіаторні амінокислоти тощо), що локалізовані в синапсах нейронів і в нервово-м'язових пластинках.

2) *рецептори II класу* — **метаботропні рецептори** — такі, що після взаємодії з ФАС призводять до активації біохімічних ефекторних систем клітини через трансдукуючий G-білок. Реакція ефекторних систем клітини на дію сполук, що взаємодіють з метаботропними рецепторами, є більш повільною і розвивається

протягом декількох секунд. Фізіологічними лігандами метаботропних рецепторів є гормони й інші біорегулятори білково-пептидної природи та біогенні аміни — похідні амінокислот (адреналін, дофамін, серотонін, гістамін); до метаботропних належать також *м-холінорецептори* нейромедіатора ацетилхоліну.

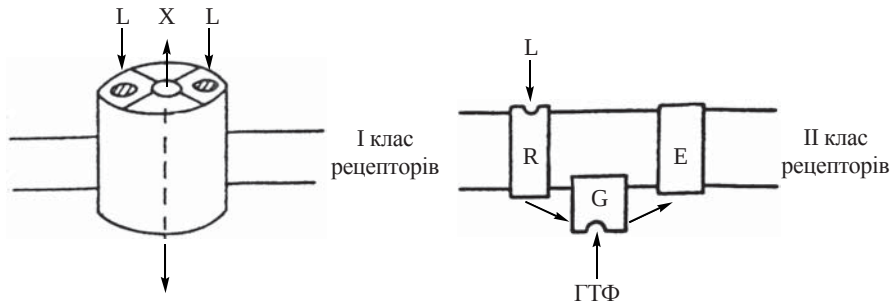


Рис. 23.4. Іонотропні (І клас) та метаботропні (ІІ) рецептори ФАС. Позначення: L — ліганд (біорегулятор); X — іон; R — рецептор; G — білок-трансдуктор; E — ефекторна молекула (В.Б.Долго-Сабуров та ін., 1989).

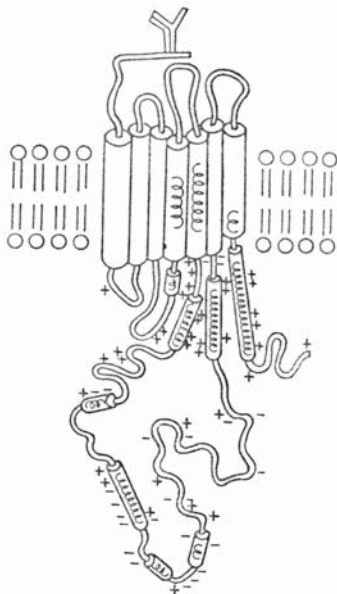


Рис. 23.5. Структура метаботропного рецептора біорегуляторів (на прикладі *м-холінорецептора ацетилхоліну*).

Молекулярна організація метаботропних рецепторів

Метаботропні рецептори для гормонів є білковими молекулами (в деяких випадках — глікопротеїнами), поліпептидний ланцюг яких пронизує товщу мембрани з утворенням, як правило, **семи трансмембранних спіральних сегментів (петель)**; N-кінець рецепторного поліпептиду розташований в екстрацелюлярному просторі і може бути глікозильованим, С-кінець — занурений у цитозоль.

Білки-трансдуктори та вторинні месенджери

Система трансдукції хімічного сигналу, що його сприймає клітина від біорегулятора, включає взаємодію модифікованого гормон-рецепторного комплексу з білками-трансдукторами, які здійснюють трансформацію та подальшу передачу регуляторного сигналу.

Білки-трансдуктори — G-білки (або N-білки) — внутрішньомембранні білки, які сприймають хімічний сигнал від рецептора, модифікованого за рахунок взаємодії з гормоном або медіатором, та спричиняють зміни функціональної активності ефекторних систем клітини. За молекулярною будовою G-білки є тримерами, що складаються з трьох субодиниць (α , β , γ); α -субодиниця має ГТФ-азну активність — активація G-білка при взаємодії з модифікованим рецептором та передача регуляторного сигналу на каталітичну субодиницю ферменту аденілатциклази супроводжується гідролізом ГТФ до ГДФ та P_i .

Існує декілька типів G-білків:

G_s -білки (стимулюючі) — такі, що активують аденілатциклазу — фермент, що утворює головний вторинний посередник — цАМФ;

G_i -білки (інгібіруючі) — такі, що інгібують аденілатциклазу;

G_q -білки — такі, що активують фосфоліпазу C — фермент, який спричиняє активацію фосфоінозитидного циклу — ферментної системи, яка призводить до збільшення концентрації Ca^{2+} в цитозолі за рахунок його вивільнення з внутрішньоклітинних депо.

Вторинні месенджери

Сигнал на подальше включення каскаду біохімічних реакцій передається вторинними посередниками, або месенджерами (*messenger* — посланець, вісник, англ.) — біомолекулами, що передають інформацію від гормону (*первинного месенджеру*) на ефекторні системи клітини.

До вторинних месенджерів належать: циклічні нуклеотиди — циклічний аденозинмонофосфат (3',5'-АМФ; цАМФ) і циклічний гуанозинмонофосфат (3',5'-ГМФ, цГМФ), фосфоінозитиди та іони Ca^{2+} .

Зростання внутрішньоклітинної (цитозольної) концентрації зазначених вторинних посередників здійснюється шляхом:

- (1) активації аденілатциклази, що утворює циклічний АМФ;
- (2) активації гуанілатциклази, що утворює циклічний ГМФ;
- (3) активації фосфоліпази C, що призводить до включення фосфоінозитидного каскаду — механізму мобілізації внутрішньоклітинного Ca^{2+} ;
- (4) надходження Ca^{2+} з екстрацелюлярного простору за рахунок відкриття кальцієвих каналів на плазматичній мембрані (механізм, більш притаманний іонотропним рецепторам).

Протеїнкінази та ефекторні системи клітини

Основними тригерами, що включають ефекторні системи клітини у відповідь на дію гормонів, є ферменти протеїнкінази, дія яких призводить до зміни каталітичної активності певних регуляторних ферментів шляхом їх ковалентної модифікації (АТФ-залежного фосфорилування) — див. главу 7.

Таким чином, ефекторними механізмами, які реалізують трансформацію гормонального (регуляторного сигналу) через систему вторинних посередників у послідовність специфічних біохімічних реакцій клітини, є:

- (1) цАМФ-залежне фосфорилування ферментних білків (здійснюється через цАМФ-залежні протеїнкінази);
- (2) цГМФ-залежне фосфорилування ферментних білків (здійснюється через цГМФ-залежні протеїнкінази);
- (3) Ca^{2+} /кальмодулінзалежне фосфорилування ферментних білків (здійснюється Са/кальмодулін-залежними протеїнкіназами);
- (4) Ca^{2+} /фосфоліпідзалежне фосфорилування ферментних білків (здійснюється Са/фосфоліпідзалежними протеїнкіназами);
- (5) фосфорилування ферментних білків через тирозинзалежні кінази; на відміну від вищезазначених протеїнкіназ, що фосфорилують у ферментних білках залишки

серину або треоніну; цей особливий клас кіназ фосфорилує залишки *тирозину*. Даний тип активації ферментних білків (реалізується при дії на клітині *інсуліну, епідермального, тромбоцитарного* та інших *факторів росту*) не потребує наявності вторинних посередників і здійснюється безпосередньо в результаті взаємодії біорегулятора з мембранним рецептором.

Розглянемо детальніше основні з ефекторних механізмів, які реалізуються при дії на клітині *гормонів першої групи*.

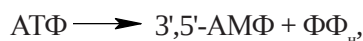
цАМФ та аденілатциклаза



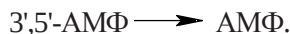
Рис. 23.6. Сазерленд (Sutherland) Ерл У. (1915-1974), американський біохімік, фармаколог. Встановив будову та роль цАМФ у передачі гормонального сигналу. Нобелівська премія (1971).

Циклічний аденозинмонофосфат (3',5'-АМФ; цАМФ) був відкритий американським дослідником Е.Сазерлендом при вивченні біохімічних механізмів глікогенолізу в печінці та м'язах, що стимулюється адреналіном і глюкагоном. Подальші дослідження встановили **універсальність цАМФ як вторинного посередника в передачі сигналів фізіологічно активних сполук на клітину**.

Утворення цАМФ з АТФ відбувається при дії мембранної аденілатциклази:

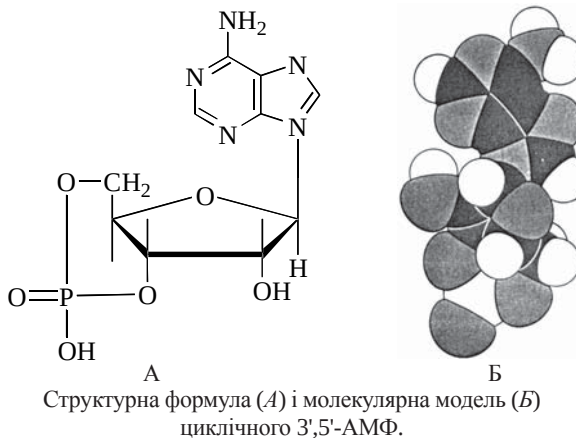


його розщеплення з утворенням неактивного продукту — нециклічного аденозин-5'-монофосфату — при дії *фосфодіестерази циклічних нуклеотидів*:



Взаємодія цАМФ з цАМФ-залежною протеїнкіназою — *кіназою А* з подальшим фосфорилуванням ключових ферментних та структурних білків є внутрішньоклітинною молекулярною подією, що дозволяє цьому месенджеру виконувати функцію унікального посередника в гормональному контролі клітинних функцій.

До гормонів, що використовують цАМФ як вторинний посередник, належать: *адреналін, вазопресин, глюкагон, гонадотропін хоріонічний, дофамін* (при взаємодії з D_1 -рецепторами), *кальцитонін, кортикотропін, ліпотропін, лютеїнізуючий гормон, меланоцитостимулюючий гормон, норадреналін* (при взаємодії з β -рецепторами), *тиротропний гормон, фолікулоstimулюючий гормон*.



Поряд з гормонами та медіаторами, що активують аденілатциклазну каскадну систему (діють через трансдуктор G_s), існує певна група біорегуляторів, що гальмують аденілатциклазу і зменшують внутрішньоклітинний рівень цАМФ (діють через G_i -білок). До біорегуляторів, що інгібують аденілатциклазу, належать: *ангіотензин II*, *ацетилхолін* (при взаємодії з м-холінорецепторами), *дофамін* (при взаємодії з D_2 -рецепторами), *норадреналін* (при взаємодії з α_2 -адренорецепторами), *опіюїдні пептиди*, *соматостатин*.

Загальну схему передачі гормональних сигналів на аденілатциклазну систему через трансдуктори G_s та G_i подано на рис. 23.7.

Ca^{2+} як внутрішньоклітинний месенджер та система фосфоінозитидів

Іони кальцію — еволюційно прадавні внутрішньоклітинні месенджери та регулятори багатьох ферментних систем і фізіологічних функцій клітин, зокрема клітинного росту, поділу клітин, скорочення м'язових та інших скоротливих білків, згортання крові, секреції гормонів та нейромедіаторів, передачі нервового імпульсу тощо.

Регуляторна функція Ca^{2+} (передавання сигналу від гормону, медіатора та активація ефекторних біохімічних систем) здійснюється шляхом зростання внутрішньоклітинної (цитозольної) концентрації іона (звичайно, від 10^{-8} - 10^{-9} до 10^{-6} М). Це значне зростання концентрації вільного Ca^{2+} здійснюється шляхом включення зовнішньоклітинним біорегулятором одного з таких механізмів:

— відкриття кальцієвих каналів (*рецепторчутливих каналів*) на плазматичній мембрані і входу в клітину екстрацелюлярного Ca^{2+} (механізм, що реалізується здебільшого при взаємодії нейромедіаторів з іонотропними рецепторами);

— виходу іонів кальцію в цитозоль з його внутрішніх депо — мітохондрій та цистерн (каналців) ендоплазматичного (саркоплазматичного) ретикулула (*мобілізація кальцію з внутрішніх депо*); включення цього механізму потребує стимуляції гормоном чи іншим біорегулятором *фосфоінозитидної системи*, інтермедіати якої і спричиняють вихід кальцію з органел.

Перехід клітини із стану активації до функціонального спокою відбувається в результаті зменшення цитозольної концентрації кальцію до вихідної, що забезпечується “викачуванням” Ca^{2+} з цитозолі в екстрацелюлярний простір та “закачуванням” іона у внутрішньоклітинні депо. Цей процес є енергозалежним транспортом проти градієнта концентрації і досягається за рахунок функціонування Ca^{2+} -АТФаз плазматичних мембран та мембран внутрішньоклітинних органел.

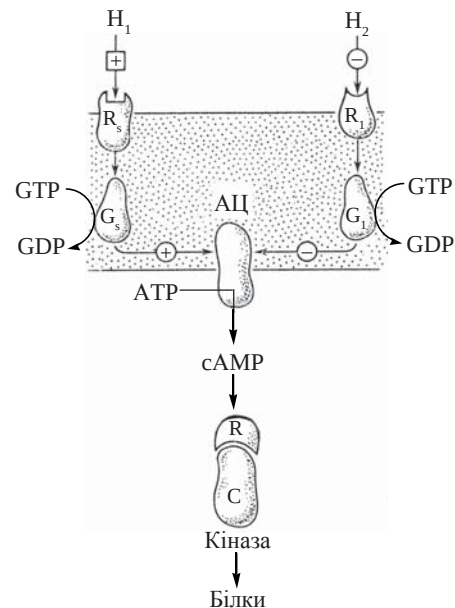
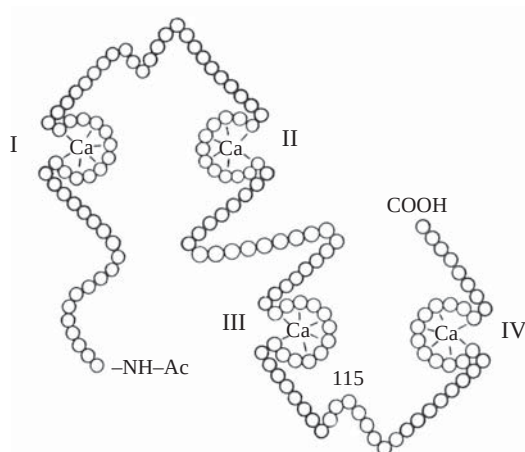


Рис. 23.7. Схема гормональної регуляції клітинних функцій через аденілатциклазну систему. Позначення: H — гормон; R — рецептор; G — трансдуктор.

Кальмодулін

Будова кальмодуліну з головного мозку. I-IV — сайти зв'язування Ca^{2+} .

Універсальним акцептором хімічного регуляторного сигналу від іонів Ca^{2+} є кальмодулін (КМ) — білок з молекулярною масою близько 17 кД, який може зв'язувати чотири іони кальцію:

Специфічне зв'язування Ca^{2+} з молекулою КМ призводить до змін конформації білка, який набуває властивості взаємодіяти з чутливими до КМ білками, в тому числі протеїнкіназами (*Ca/КМ-залежними протеїнкіназами*), які регулюють функції багатьох важливих ферментів, збільшуючи їх каталітичну активність (табл. 23.1).

Таблиця 23.1. Ферменти, що регулюються комплексом Ca/КМ

Назва ферменту	
Аденілатциклаза	Кіназа фосфорилази b
Гуанілатциклаза	Піруваткарбоксилаза
Фосфодіестераза циклічних нуклеотидів	Піруватдегідрогеназа
$\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФаза	Піруваткіназа
Глікогенсинтаза	Фосфоліпаза A_2
Гліцерол-3-фосфат-дегідрогеназа	

Фосфоінозитидна система та мобілізація Ca^{2+}

Встановлення біологічної ролі деяких фосфоінозитидів як агентів, що спричиняють вихід іонів Ca^{2+} з внутрішньоклітинних резервуарів, відкрило додаткову сигнальну систему, що пов'язує гормонорецепторну взаємодію на плазматичній мембрані із стимуляцією біохімічних ефекторних систем клітини.

Головною подією у включенні фосфоінозитидного циклу (каскаду, системи) є активація ферменту фосфоліпази С, яка відбувається в результаті взаємодії деяких екзогенних біорегуляторів з мембранними рецепторами та подальшої передачі хімічного сигналу через трансдукторний G_q -білок. Субстратом фосфоліпази С є мембранний фосфоліпід фосфатидил-інозитол-4,5-дифосфат (PIF_2), що в цій реакції розщеплюється до інозитол-1,4,5-трифосфату (IP_3) та 1,2-діацилгліцеролу (ДАГ).

Подальші метаболічні перетворення IP_3 та ДАГ призводять до ресинтезу фосфатидил-інозитол-4,5-дифосфату (PIF_2), тобто замикання фосфоінозитидного циклу (рис. 23.8).

взаємодії з іонами Ca^{2+} та фосфоліпідом *фосфатидилсерином*. *Протеїнкіназа С* є ферментом, що виявлений практично у всіх клітинах організмів вищих тварин, за виключенням зрілих без'ядерних еритроцитів; найбільша кількість ферменту знаходиться в головному мозку, селезінці, клітинах лейкозів людини. Згідно з сучасними уявленнями, *протеїнкіназа С* активує (шляхом фосфорилування за залишками серину та треоніну) клітинні білки, що визначають швидкість процесів клітинної проліферації, нормального та пухлинного тканинного росту, реакцію клітин на ростостимулюючі фізіологічно активні сполуки та онкогени.

Біохімічне значення діацилгліцеролу полягає також у наявності в його 2-му (β -) положенні залишку *арахідонової кислоти* ($\text{C}_{20:4}$); гідроліз ДАГ із вивільненням арахідонату поставляє субстрат для біосинтезу важливого класу біорегуляторів — *ейкозаноїдів* (глава 25).

Фізіологічно активні сполуки, які спричиняють запуск циклу фосфоінозитидів через *фосфоліпазу С*:

вазопресин, *ацетилхолін* (при взаємодії з м-холінорецепторами), *норадреналін* (при взаємодії з α_1 -адренорецепторами), *серотонін* (при взаємодії з 5-НТ₁-рецепторами), *сполука Р*, *тироліберин*.

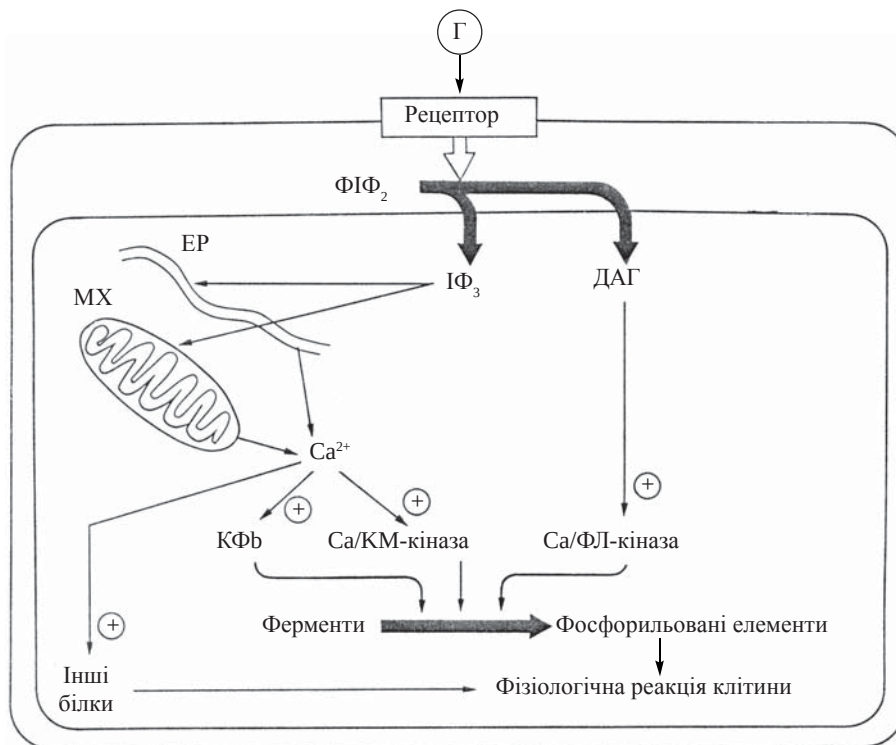


Рис. 23.9. **Фосфоінозитидзалежна регуляція клітинних функцій.** Позначення: ФІФ₂ — фосфатидил-інозитол-4,5-дифосфат; ІФ₃ — інозитол-1,4,5-трифосфату; ДАГ — діацилгліцерол; КФb — кінза фосфорилази b; Са/КМ-кіназа — Са/кальмодулін-кіназа; Са/ФЛ-кіназа — Са/фосфоліпід-кіназа; ЕР — ендоплазматичний ретикулум; МХ — мітохондрії.

Прикладами клітинних функцій, залежних від функціонування фосфоінозитидного каскаду, є: глікогеноліз в гепатоцитах; скорочення м'язів; агрегація тромбоцитів та вивільнення ними серотоніну; секреція інсуліну острівковими клітинами підшлункової залози; секреція адреналіну хромафінними клітинами наднирникових залоз, секреція гістаміну мастоцитами.

Схему гормональної регуляції біохімічних та фізіологічних функцій клітини за участю фосфоінозитидів та іонів Ca^{2+} подано на рис. 23.9.

23.3. МОЛЕКУЛЯРНО-КЛІТИННІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ СТЕРОЇДНИХ ТА ТИРЕОЇДНИХ ГОРМОНІВ

Гормони другої групи — стероїди (кортикостероїди, гормони статевих залоз, похідні вітамінів групи D), тиреоїдні гормони.

Подібно до гормонів білково-пептидної групи та біогенних амінів — похідних амінокислот, необхідною умовою здійснення біологічних ефектів гормонами цієї групи також є їх зв'язування в тканинах-мішенях із специфічними рецепторними молекулами. Справедливість висловлювання засновника вчення про клітинні рецептори Пауля Ерліха (P.Ehrlich) — “*Corpora non agunt nisi fixata*” (“Речовини не діють, якщо не фіксуються” — пер. з лат.) яскраво ілюструють експериментальні результати, подані на рис. 23.10.

Але на відміну від гормонів — пептидів та біогенних амінів, рецептори для гормонів цієї групи локалізовані *внутрішньоклітинно* — в цитозолі, звідки гормонорецепторні комплекси транслокуються в ядро, де і взаємодіють з чутливими сайтами ДНК ядерного хроматину, спричиняючи активацію генів для відповідних ферментних білків. Тоді як гормони першої групи спричиняють активацію вже існуючих ферментних молекул, дія на клітини-мішені стероїдів та тиреоїдних гормонів призводить до стимуляції біосинтезу нових ферментних молекул за рахунок активації процесів транскрипції їх мРНК (рис. 23.11).

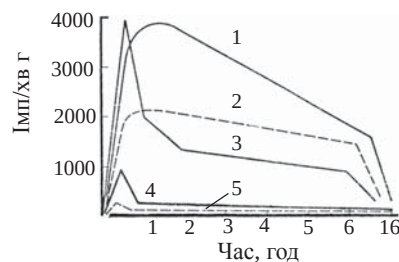


Рис. 23.10. Динаміка розподілу H^3 -естрадіолу в тканинах щура-самки (вісь абсцис — ступінь зв'язування гормону в тканині, імп./хв г тканини; вісь ординат — час після введення гормону, год) 1 — матка; 2 — вагіна; 3 — печінка; 4 — кров; 5 — м'язи.

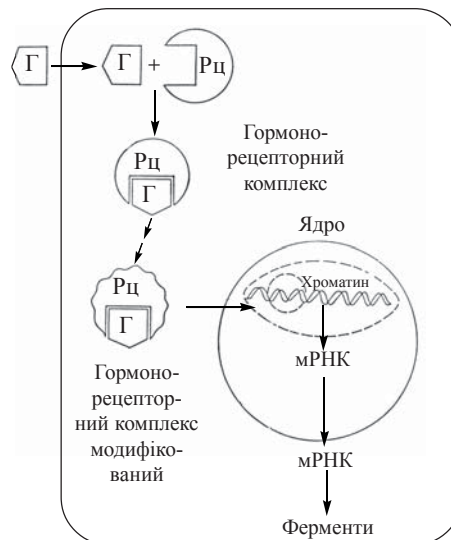


Рис. 23.11. Схema біохімічних механізмів дії стероїдних та тиреоїдних гормонів.

Згідно із зазначеним, білково-пептидні гормони та біогенні аміни контролюють процеси швидкої адаптації організму, які потребують термінового включення певного біохімічного процесу або фізіологічної функції (глікогенолізу, ліполізу, м'язового скорочення), тоді як біологічна дія гормонів другої групи повільніша (потребує для свого проявлення декількох годин), вони відповідають за процеси довготривалої адаптації організму.

Будова стероїдних та тиреоїдних рецепторів

Нетрансформовані взаємодією з гормоном рецептори є димерними білками з молекулярною масою, що коливається від 50 до 190 кД, і константами седиментації від 3,5 до 4,5 s (табл. 23.2).

Т а б л и ц я 23.2. Фізико-хімічні властивості цитозольних рецепторів стероїдних гормонів (В.Б.Розен, 1984)

Рецептори гормонів	М. м., кД	Константа седиментації, s
Естрогенів	80 – 120	4,0 – 4,5
Андрогенів	80 – 100	3,5 – 4,0
Прогестагенів	50 – 100	3,6 – 4,0
Глюкокортикоїдів	70 – 190	3,5 – 4,0
Альдостерону	60 – 150	4,0 – 4,5

Молекулярні механізми дії

Послідовність клітинних та біохімічних реакцій, за рахунок якої стероїдні та тиреоїдні гормони реалізують свої біологічні ефекти, має вигляд:

проникнення гормону всередину клітини → сполучення гормону з цитозольним рецептором → модифікація (активація) рецептора у складі гормонорецепторного комплексу → транслокація модифікованого гормонорецепторного комплексу в ядро → взаємодія комплексу зі специфічною ділянкою ДНК хроматину → активація специфічних генів → транскрипція мРНК → синтез ферментних білків, що реалізують біологічні ефекти гормону.

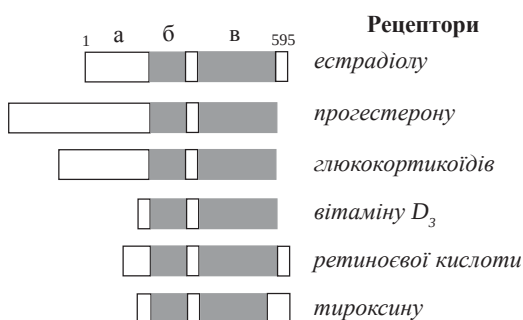


Рис. 23.12. Доменна організація білкових рецепторів гормонів: а — домен, що зв'язує регулятори транскрипції; б — домен, що взаємодіє з ДНК; в — домен, що зв'язує гормон.

— домену, що зв'язується з додатковими регуляторами транскрипції (N-термінальний домен).

Взаємодія рецепторів стероїдних та тиреоїдних гормонів із своїми специфічними лігандами зумовлена їх молекулярною будовою, що складається з окремих структурно-функціональних доменів, які відрізняються первинною структурою та конформацією (рис. 23.12):

— домену, що сполучається з гормоном (складається з 240 амінокислотних залишків);

— домену, що сполучається з певними послідовностями ДНК (складається з 66 амінокислотних залишків);

Взаємодія білкових рецепторів гормонів — активаторів транскрипції з ДНК відбувається в певних місцях промоторних ділянок геному, що знаходяться “зліва” від сайтів ініціації транскрипції (приблизно, в регіоні “-250 нуклеотидів”) і регулюють експресію розташованих на відстані генів (“справа” від промотора та сайта ініціації транскрипції “+1”) (рис. 23.13).

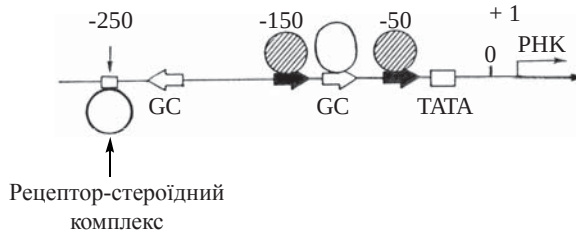
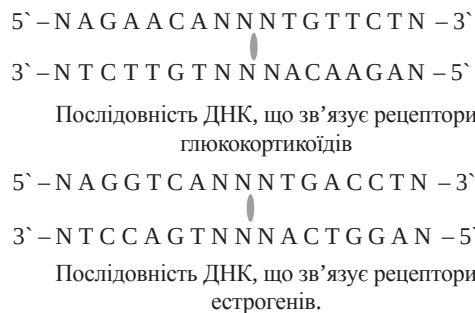


Рис. 23.13. Ділянки промотору, з якими взаємодіють стероїд-рецепторні комплекси (сайт -250) та інші білки-активатори транскрипції (стрессорні білки, активатори синтезу металотіонеїну).

Здатність домена гормонального рецептора взаємодіяти з певними ділянками ДНК визначається особливостями структури як рецептора, так і відповідних сайтів ДНК. Ці рецепторчутливі ділянки ДНК мають структуру паліндромів і складаються із специфічних (для кожного рецептора) нуклеотидних послідовностей з симетричних 6 пар нуклеотидів, розташованих зліва та справа від проміжної 3-нуклеотидної послідовності (—NNN—) — “спейсера”:



У взаємодії активованих гормонами стероїдних та тиреоїдних рецепторів зі специфічними ділянками ДНК беруть участь також певні ділянки рецепторних білків, що мають будову цинкових пальців та глобулярних Zn-вмісних доменів (рис. 23.14) — унікальних просторових утворень, які властиві всім різновидам

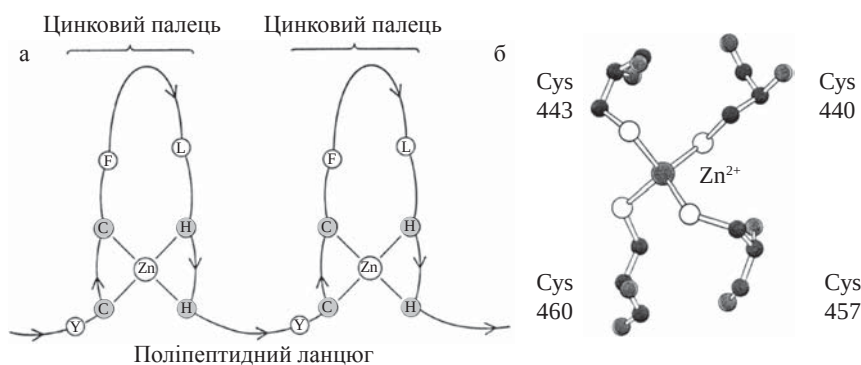


Рис. 23.14. Утворення цинкових пальців у білках (а) та будова Zn-вмісного домену глюкокортикоїдного рецептора, що розпізнає специфічну паліндромну послідовність у молекулі ДНК (б).

білків, що виступають як регулятори транскрипції (гормональним рецепторам, білкам — активаторам синтезу металотіонеїну тощо).

Молекулярна модель зв'язування Zn-вмісних доменів димерного рецептора глюкокортикоїдів з паліндромними ділянками молекули ДНК подана на рис. 23.15.

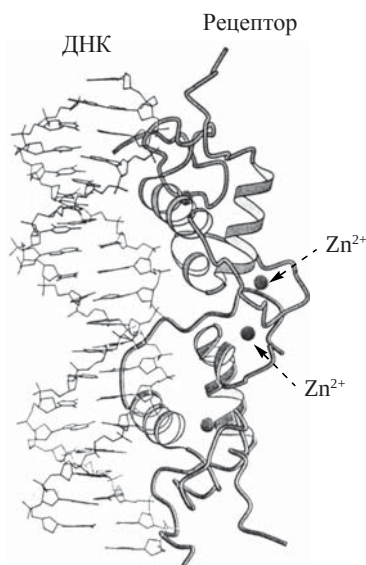


Рис. 23.15. Взаємодія димерного білка — рецептора глюкокортикоїдів із специфічними сайтами ДНК.

ГЛАВА 24. ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ ТА БІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ КЛІТИНИ

II. ГОРМОНИ — ПОХІДНІ ПЕПТИДІВ ТА АМІНОКИСЛОТ

Білково-пептидні гормони — численна група фізіологічно активних сполук із гормональними та нейромедіаторними властивостями, що продукуються в різних органах і тканинах та за своєю хімічною природою є поліпептидами (простими білками, глікопротеїнами, низькомолекулярними пептидами).

Основні класи білково-пептидних гормонів, що синтезуються в ендокринній системі: гормони гіпофіза, гіпоталамуса, підшлункової залози. Близькими за механізмами дії до білково-пептидних гормонів є **біорегулятори — похідні амінокислот** (біогенні аміни) — катехоламіни, серотонін, гістамін, мелатонін.

Простими пептидами є також біорегулятори, що належать до *гістогормонів*:

- опіюїдні пептиди головного мозку;
- пептиди гастроінтестинальної системи;
- компоненти кінінової та ренін-ангіотензинової систем;
- гормони та медіатори імунної системи і функціонально близькі до них пептидні фактори росту, цитомедини;
- натрійуретичні пептиди серця, мозку тощо.

24.1. ГІПОТАЛАМО-ГІПОФІЗАРНА СИСТЕМА

Центральною ендокринною залозою організму людини та вищих тварин є *гіпофіз* — орган, що контролює ендокринну діяльність більшості підпорядкованих їй (периферійних) залоз внутрішньої секреції. В свою чергу, функціональна активність гіпофіза регулюється нейроендокринними клітинами спеціальних ядер *гіпоталамуса*. Гормони та/або нейромедіатори (чи модуляторні нейропептиди) гіпоталамічних та інших підкіркових ядер головного мозку контролюють секрецію (а в деяких випадках — біосинтез, продукування) гіпофізарних гормонів.

А. Гормони гіпоталамуса

Гіпоталамус є зоною головного мозку, яка регулює активність гіпофіза і периферійних ендокринних залоз шляхом продукції в *нейросекреторних клітинах* специфічних гіпоталамічних, гіпофізотропних гормонів та дії нейротрансмітерів, що контролюють функції підпорядкованих залоз внутрішньої секреції через симпатичну та парасимпатичну нервову систему.

Згідно з рекомендаціями Комісії з біохімічної номенклатури Міжнародного біохімічного союзу (1974), гормони гіпоталамуса, що сприяють вивільненню (release — *англ.*) певних гормонів гіпофіза, позначають як “*ліберини*” (*релізінг-гормони*), а біорегулятори, які гальмують вивільнення гіпофізарних гормонів — “*статини*” (*інгібіруючі гормони*).

На даний час встановлені утворення та секреція в гіпоталамусі таких пептидних гіпофізотропних гормонів:

Соматоліберин (*соматотропін-релізінг-гормон, СТГ-РГ*) — під впливом СТГ-РГ стимулюється продукція і вивільнення в гіпофізі *гормону росту*.

Соматостатин (*СС; гормон, що інгібує виділення гормону росту*) — гормон, під впливом якого гальмуються продукція і вивільнення *гормону росту*; крім гіпоталамуса, соматостатин синтезується також в острівках підшлункової залози та інших клітинних утвореннях шлунково-кишкового тракту, де виконує специфічні фізіологічні функції.

Пролактостатин (*пролактин-інгібуючий гормон, ППГ*) — пептид, що гальмує продукцію *пролактину* та має гонадоліберинову активність.

Тироліберин (*тиротропін-релізінг-гормон; ТРГ*) — гормон, під впливом якого стимулюється продукція і вивільнення *тиреотропного гормону* гіпофіза.

Гонадоліберин (*гонадотропін-релізінг-гормон; ГнРГ; ліоліберин*) — під впливом ГнРГ стимулюється синтез і вивільнення *гонадотропних гормонів* ФСГ та ЛГ.

Кортиколіберин (*кортикотропін-релізінг-гормон*) — гормон, що стимулює вивільнення *кортикотропіну*.

За хімічною природою ліберини та статини є поліпептидами, що секретуються певними нейронами гіпоталамуса, та, надходячи разом із біогенними амінами (дофаміном, серотоніном, норадреналіном) і іншими нейромедіаторами через систему портального кровообігу або нейрональні аксони в аденогіпофіз, регулюють його специфічні гормональні функції. Продукція гіпоталамічних гормонів є об'єктом складної регуляції з боку центральної нервової системи, нейромедіатори якої (біогенні аміни, нейропептиди, медіаторні амінокислоти) здійснюють модулюючий вплив на функціональну активність ядер гіпоталамуса.

Б. Гормони передньої частки гіпофіза

Передня частка гіпофіза (*аденогіпофіз*) продукує значну кількість гормонів, які стимулюють фізіологічні та біохімічні процеси в різних тканинах-мішенях, в тому числі активують дію інших ендокринних залоз (*тропна функція* гіпофізарних гормонів). Виходячи з особливостей молекулярної генетики, біосинтезу та структурно-функціональних властивостей, гормони аденогіпофіза утворюють три групи:

I група — “гормон росту-пролактин-хоріонічний соматоматотропін”;

II група — глікопротеїни — “тропні гормони гіпофіза”;

III група — похідні “проопіомеланокортину”.

I. Група гормону росту — є біохімічним угрупованням (“сімейством”) білкових гормонів, які мають значну гомологію первинної структури (амінокислотних послідовностей) та близькість функціонально-біохімічних ефектів. Це гормони, що складаються у більшості тваринних видів із 190-199 амінокислотних залишків і мають ростостимулюючу та лактогенну активності.

1. Гормон росту (*соматотропін, соматотропний гормон, СТГ*) — простий блок, що складається з одного поліпептидного ланцюга (191 амінокислотний залишок; м.м. — 21,5 кД) і має два внутрішньомолекулярні дисульфідні зв'язки. Гормон синтезується в *соматотрофних клітинах*, що складають близько 50 % клітин

аденогіпофіза. Ген, який контролює експресію СТГ, знаходиться в 17-й хромосомі каріотипу людини. СТГ синтезується у вигляді декількох *прогормонів*, що відповідають за наявність певної молекулярної гетерогенності гормону росту.

Біологічні властивості СТГ

Головна функція СТГ — стимуляція постнатального росту організму; ця складна біологічна функція реалізується за рахунок різноманітного спектра впливу гормону на біосинтез білка, вуглеводний та ліпідний метаболізм:

а) *вплив на біосинтез білка* — характеризується анаболічною спрямованістю: СТГ стимулює транспорт амінокислот у клітини та процеси транскрипції і трансляції в гормон-чутливих тканинах (переважно в м'язах, хрящах, кістках, печінці, сполучній тканині тощо); в цілому вплив СТГ на організм призводить до *позитивного азотистого балансу*, тобто переважання процесів синтезу над катаболізмом білків та амінокислот;

б) *вплив на обмін вуглеводів та ліпідів* — визначається “контраінсулярними ефектами” гормону: введення СТГ супроводжується *гіперглікемією (гіперглюкоземією)*, яка є результатом як зменшення утилізації глюкози клітинами (гальмування транспорту глюкози з екстрацелюлярного простору та інгібування її гліколітичного окислення), так і активації її продукції в ході глюконеогенезу; в адипоцитах жирової тканини СТГ активує реакції ліполізу, що призводить до стимуляції виходу НЕЖК та гліцеролу в плазму крові.

Лактогенні властивості СТГ пов'язані з його здатністю до взаємодії з лактогенними рецепторами молочної залози; в здоровому організмі ці ефекти СТГ не мають суттєвого значення і проявляють себе в умовах патології гіпофіза.

Соматомедини

Особливістю біологічної дії СТГ є її опосередкованість через синтез у печінці та біологічні ефекти двох поліпептидних факторів росту (*соматомединів*) — ІФР-1 та ІФР-2 (“інсуліноподібних факторів росту 1 та 2” — пептидів, що складаються з 70 та 67 амінокислотних залишків, відповідно).

Первинна структура соматомединів нагадує будову молекули *проінсуліну*. Ген, що кодує синтез ІФР-1, локалізується в 12-й хромосомі людини, ген ІФР-2 — в 11-й хромосомі, в безпосередній близькості до гена, який кодує інсулін. Обидва фактори росту стимулюють реплікацію ДНК, що проявляється підсиленням включення в ДНК тимідину, транскрипцію та трансляцію в тканинах-мішенях СТГ.

Стимуляція росту тканин під впливом соматомединів виражена в 50-100 разів сильніше, порівняно з інсуліном, при цьому ростостимулюючі властивості СТГ в найбільшій мірі корелюють з ефектами ІФР-1: особини з дефіцитом цього соматомедину позбавлені здатності до нормального росту. Ефекти ІФР реалізуються через рецептори, локалізовані на плазматичних мембранах клітин-мішеней — рецептори 1-го типу, що мають тирозин-кіназну активність та рецептори 2-го типу, активація яких призводить до включення ефекторних систем клітини через G-білки.

Регуляція секреції СТГ

Продукція та секреція гормону росту знаходяться під позитивним та негативним нейрогуморальним контролем: виділення СТГ з гіпофіза стимулюється *соматоліберином* та гальмується *соматостатином*. Крім того, активуючий вплив на виділення

СТГ гіпофізом справляють такі фізіологічно активні сполуки, як дофамін, серотонін, вазопресин, естрогени, агоністи α -адренергічних рецепторів та γ -аміномасляної кислоти.

Вивільнення СТГ (подібно до інших гормонів гіпоталамо-гіпофізарної системи) відбувається в пульсуючому режимі — максимум синтезу гормону спостерігається через 60-90 хв від початку сну (ранні стадії фази глибокого, “повільнохвильового” сну); процес сну вважається фізіологічним стимулятором секреції соматотропіну (“Діти ростуть під час сну”!).

Патологія, пов’язана з гормоном росту:

акромегалія — захворювання, розвиток якого спричиняється збільшеною продукцією гормону росту у дорослих осіб; захворювання характеризується патологічно диспропорційним збільшенням кісток скелета (особливо кінцівок, щелеп та інших компонентів черепа), м’яких тканин, внутрішніх органів; у жінок молодого віку захворювання проявляє себе *галактореєю*, що спричинена збільшеною продукцією пролактину або власною лактогенною активністю СТГ. Етіологія захворювання пов’язана з наявністю пухлини — аденоми гіпофіза (*соматотропіноми*);

гігантизм — прояв надмірної секреції гормону росту в дитячому та підлітковому віці, що призводить до збільшеного росту людини (умовно — вище 190 см); пролонгування в дорослому віці аномально високої продукції СТГ призводить у таких пацієнтів до розвитку *акромегалії*;

карликовість (нанізм, дварфізм) — затримка росту (у чоловіків — нижче 130 см, у жінок — нижче 120 см), яка спричиняється гетерогенними факторами, пов’язаними як із зменшенням синтезу СТГ та, відповідно, ІФР-1 (“карлики з дефіцитом СТГ”), так і з порушеннями реактивності тканин на дію гормону: “карлики Ларона” — особини з відсутністю рецепторів СТГ в печінці та пігмеї, у яких має місце молекулярна патологія в пострецепторній трансдукції гормонального сигналу.

2. Пролактин (*лактогенний гормон, мамотропін, лютеотропний гормон*) — простий білок, що складається з одного поліпептидного ланцюга (м.м. 23 кД). Гормон продукується в ацидофільних клітинах аденогіпофіза — *лактотрофах*, кількість і розміри яких збільшуються під час вагітності.

Пролактин бере участь в ініціації та стимуляції лактації у жінок, причому дія гормону проявляється лише на тлі сенсibiлізації клітин молочної залози жіночими статевими гормонами.

Пухлини, що складаються з пролактинсинтезуючих клітин гіпофіза, призводять у жінок до *аменореї* та *галактореї*, у чоловіків — до деяких видів безплідності.

Синтез та секреція пролактину гальмуються дофаміном та специфічним інгiбіруючим нейропептидом гіпоталамуса — *пролактостатином*, що має також властивості гонадоліберину (*гонадоліберинасоційований пептид, ГАП*).

3. Хоріонічний соматомамотропін (ХС; плацентарний лактоген) — гормон, що проявляє лактогенну та лютеотропну активності, а за метаболічними ефектами близький до соматотропіну. Істинна фізіологічна роль ХС в організмі людини не з’ясована.

II. Група тропних гормонів гіпофіза — включає в себе сполуки глікопротеїнової природи: тиреотропний та гонадотропний гормони гіпофіза і плаценти (фолікулостимулювальний гормон, лютеїнізуючий гормон, хоріонічний гонадотропін).

Кожен із гормонів групи, що розглядається, є димером і складається з двох субодиниць — α та β , які сполучені між собою нековалентними зв'язками. Молекулярна маса цих гормонів — близько 30 кД, вуглеводні (олігосахаридні) групи складають 15-30 % маси молекули; до складу олігосахаридних радикалів входять залишки галактози, манози, фукози, галактозаміну, глюкозаміну, сіалових кислот.

У всіх чотирьох глікопротеїнових гормонів α -субодиниці однакові, а β -субодиниці різні і визначають біологічну специфічність гормону. α -Субодиниці є коротшими (містять у собі 89-96 залишків амінокислот) і сполучені з 2 вуглеводними радикалами, а β -субодиниці — довші і варіабельні за складом (містять 113-119 амінокислотних залишків і декілька вуглеводних радикалів):

Гени, що кодують α - і β -субодиниці глікопротеїнових гормонів, розміщуються на різних хромосомах — 6-й та 1-й, відповідно.

Тиреотропний гормон (ТТГ; тиротропін) — подібно до інших глікопротеїнових гормонів гіпофіза є димером типу $\alpha\beta$ (м.м. близько 30 кД). Гормон синтезується базифільними клітинами передньої частки — *тиротрофами*, які складають 3-5 % клітинного складу аденогіпофіза.

Основна біологічна функція ТТГ — підтримка функціональної активності (синтезу тиреоїдних гормонів) та структури щитовидної залози. Ефекти ТТГ щодо *тиреоцитів* реалізуються за мембранним механізмом: взаємодія гормону з мембранними рецепторами через посередництво різних G-білків призводить до активації *аденілатциклази* та *фосфоліпази С*. Таким чином, активація ТТГ гормонопродукуючої функції щитовидної залози досягається через декілька вторинних месенджерів: *цАМФ*, *інозитол-1,4,5-трифосфату* та *діацилгліцеролу*.

Вивільнення гіпофізом ТТГ позитивно модулюється специфічним гіпоталамічним гормоном *тироліберин*. З іншого боку, гормони щитовидної залози тироксин та трийодтиронін гальмують тиреотропну функцію гіпофіза шляхом гальмування секреції гіпоталамусом тироліберина.

Патологія продукції ТТГ можлива за умов виникнення аденом гіпофіза, що секретують тиротропін, і проявляється симптомами *тиреотоксикозу* (див. нижче).

Гонадотропні гормони

Гонадотропіни є гормонами, що забезпечують нормальний гаметогенез та продукцію відповідних статевих гормонів у чоловічому та жіночому організмі. Це глікопротеїни, які за молекулярною будовою є також димерами типу $\alpha\beta$. Синтез гонадотропнів відбувається в базифільних клітинах гіпофіза — *гонадотрофах*, які складають 10-15 % від загальної кількості клітин аденогіпофіза. В період вагітності відбувається фізіологічна гіперплазія гонадотрофів.

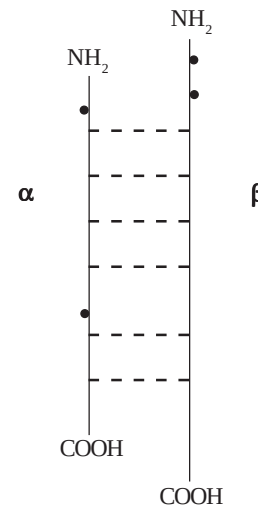


Схема будови глікопротеїнових гормонів (жирними точками позначені вуглеводні залишки).

1. Фолікулостимулюючий гормон (ФСГ; фолітропін) — білок з м.м. 33 кД. Мішенями для ФСГ є фолікулярні клітини яєчників та клітини Сертолі сім'яників. Передача хімічного сигналу при дії ФСГ здійснюється за рахунок активації *аденілат-циклази*.

2. Лютеїнізуючий гормон (ЛГ; лютропін; гормон, що стимулює інтерстиціальні клітини Лейдига — ГСІК) — білок з м.м. 29 кД. Рецептори для ЛГ локалізовані на плазматичних мембранах клітин яєчників (у жіночому організмі) та клітин Лейдига сім'яників (у чоловічому організмі). Як і в разі ФСГ, вторинним месенджером в дії ЛГ на ефекторні системи клітин є цАМФ.

3. Хоріонічний гонадотропін (ХГ) — білок з м.м. близько 37 кД; синтезується трофобластом плаценти.

Біологічна роль гонадотропінів — полягає в регуляції функцій статеві сфери людини як в препубертатному, пубертатному періодах, так і у дорослих особин, процесів як гаметогенезу, так і продукції статевих гормонів.

У жіночому організмі — ФСГ та ЛГ контролюють функціонування менструального циклу (див. главу 25), стимулюючи ріст фолікулів, синтез у них естрогенів (переважна дія ФСГ), овуляцію та утворення жовтого тіла (дія ФСГ на тлі присутності ЛГ), персистенцію жовтого тіла і продукцію прогестерону (дія ЛГ та/або ХГ — в умовах вагітності).

У чоловічому організмі — ФСГ сприяє активації процесів сперматогенезу: спричиняє проліферацію клітин Сертолі та сперматогенного епітелію, підвищує чутливість клітин Лейдига до дії ЛГ (за рахунок збільшення в них кількості ЛГ-чутливих рецепторів). Мішенню для дії ЛГ (ГСІК) є інтерстиціальні клітини Лейдига, в яких гормон стимулює біосинтез із холестерину тестостерону — основного статевих гормону чоловічого організму.

Регуляція секреції гонадотропних гормонів здійснюється гіпоталамусом за рахунок виділення *гонадоліберину*, що стимулює синтез та секрецію аденогіпофізом як ФСГ, так і ЛГ. Властивості гонадоліберину має також пролактостатин (гонадоліберинасоційований пептид, ГАП). Подібно до інших тропних гормонів аденогіпофіза, продукція ФСГ та ЛГ контролюється за принципом негативного зворотного зв'язку концентраціями статевих гормонів: збільшення рівнів естрогенів та андрогенів у крові гальмує виділення ЛГ, тоді як секреція ФСГ пригнічується прогестероном. Зменшення функціональної активності статевих залоз (менопауза, хірургічна або променева кастрація) супроводжується стимуляцією секреції гонадотропінів.

Порушення синтезу, секреції та/або рецепції гонадотропінів спостерігаються при численних спадкових і набутих захворюваннях, що можуть призводити до різних клінічних форм ураження репродуктивної функції організму людини.

III. Група проопіомеланокортину — гормони, що входять до цієї групи (сімейства) є продуктами посттрансляційного процесингу біологічного попередника — прогормону *проопіомеланокортину (ПОМК)*.

ПОМК синтезується в базофільних клітинах гіпофіза; це глікопротеїн, що складається з 239 амінокислотних залишків (м.м. близько 30 кД) і є попередником багатьох фізіологічно активних пептидів гормональної та нейромедіаторної дії, які

утворюються з ПОМК за рахунок обмеженого протеолізу та реакцій ковалентної модифікації (глікозилювання, ацетилювання).

Процесинг ПОМК відбувається в передній та проміжній частках гіпофіза (проміжна частка активна лише в ембріональний період та у жінок на пізніх стадіях вагітності) і деяких периферійних тканинах: плаценті, кишечнику, чоловічому статевому тракті. Основними продуктами цього процесингу є:

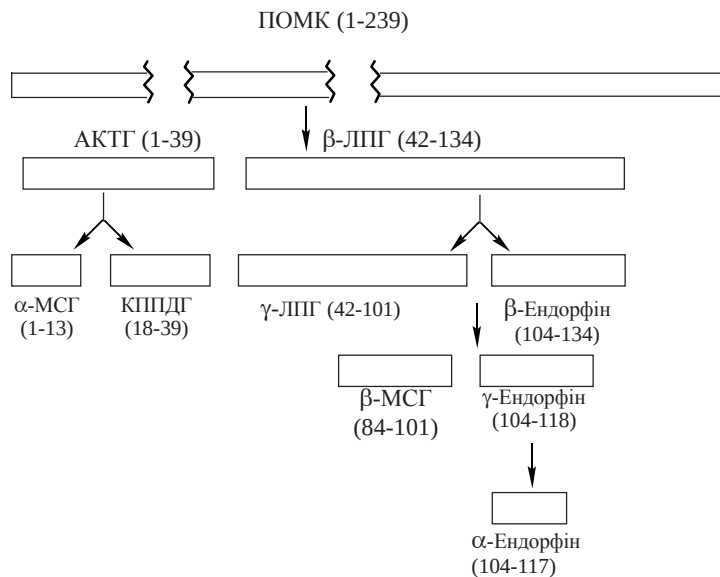
- *адrenокортикотропний гормон (АКТГ)*, що в свою чергу є попередником *меланоцитостимулюючого гормону (α -МСГ)* та кортикотропіноподібного пептиду проміжної частки гіпофіза (КППДГ);
- *β -ліпотропний гормон (β -ЛПГ)*, що є попередником *γ -ліпотропіну (γ -ЛПГ)*, *β -МСГ* та *ендорфінів (β , γ , α)*.

1. Адrenокортикотропний гормон (АКТГ; кортикотропін) — однolанцюговий пептид, що складається з 39 амінокислотних залишків (м.м. 4,5 кД).

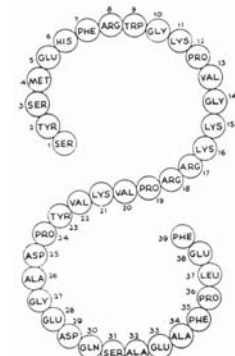
Головними мішенями АКТГ є клітини кори наднирникових залоз, відносно яких гормон проявляє два типи біологічної активності: стимуляцію стероїдогенезу та підтримання маси наднирникових залоз.

(1) Вплив АКТГ на біосинтез наднирникових гормонів зумовлений активацією цАМФ-залежних *протеїнкіназ*, що каталізують ключові реакції перетворення холестерину на *прегненолон* — попередник C_{21} -стероїдів *кортикостероїдів*. Основним ефектом такої дії АКТГ є стимуляція синтезу *глюкокортикоїдів* (головним чином, *кортизолу*), проте в умовах тривалої стимуляції кори наднирникових залоз кортикотропіном (хвороба Іценко-Кушинга, введення фармакологічних препаратів АКТГ) відбувається також активація синтезу *мінералокортикоїдів* та *андрогенів*.

(2) Збільшення маси кори наднирникових залоз при дії АКТГ (переважно сітчастої та пучкової зон) здійснюється також через стимуляцію цАМФ-залежних



Утворення фізіологічно активних пептидів із проопіомеланокортину.



Первинна структура АКТГ людини.

протеїнкіназ, які активують шляхом фосфорилювання певні рибосомальні білки та стимулюють синтез ДНК та РНК, необхідних для утворення нових клітин.

Позанаднирниковозалозні ефекти АКТГ полягають у стимуляції ліполізу в жировій тканині, активації поглинання амінокислот та глюкози м'язами. АКТГ має також певну меланоцитостимулюючу дію (збільшення пігментації шкіри), яка зумовлена наявністю в його первинній структурі тетрапептидного угруповання, загального з МСГ (див. нижче).

Вивільнення гіпофізом АКТГ є об'єктом складного нейрогуморального контролю, в якому беруть участь як прямі, так і зворотні регуляторні зв'язки: позитивними регуляторами є гормон гіпоталамуса *кортиколіберин*, а також вазопресин, адреналін, ангіотензин II; негативним регулятором — глюкокортикоїд кортизол.

2. Ліпотропний гормон (ЛПГ; *lipotropin*) — група пептидів, що мають властивості активувати ліполіз в адипоцитах жирової тканини і мобілізацію жирних кислот.

У гіпофізі людини знайдені β - та γ -ліпотропіни; оскільки специфічна ліполітична активність цих пептидів незначна у порівнянні з дією інших гормонів та біорегуляторів, існує думка, що їх фізіологічне значення полягає в утворенні *ендорфінів*.

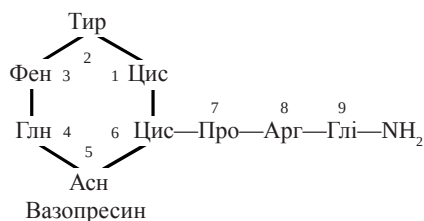
3. Ендорфіни — представники групи *опіоїдних нейропептидів* (α -, β -, γ - та δ -ендорфіни), що виконують функції нейромедіаторів, ендогенних знеболювальних факторів та модуляторів певних важливих психофізіологічних процесів у пептидергічних структурах головного мозку (глава 33).

4. Меланоцитостимулюючий гормон (МСГ) — група пептидів (α -, β -, γ -МСГ), які продукуються в проміжній частці гіпофіза і стимулюють функціональну активність меланоцитів шкіри, збільшуючи її пігментацію. Біохімічні механізми дії МСГ полягають у підвищенні активності *тирозинази* — ферменту, що бере участь у перетворенні тирозину на пігменти *меланіни*. Ця специфічна біологічна активність різних МСГ зумовлена наявністю в первинній структурі гормону характерного тетрапептиду — His-Phe-Arg-Trp-, що присутній також у молекулі АКТГ.

У гіпофізах ссавців присутні різні типи МСГ; фізіологічна функція гормону в людини недостатньо з'ясована у зв'язку з редукцією проміжної частки гіпофіза у дорослої людини — α -МСГ виявляється у людини лише в гіпофізах плода, при пухлинах гіпофіза та іноді в період вагітності.

В. Гормони задньої частки гіпофіза

Гормонами задньої частки гіпофіза є *вазопресин* та *окситоцин*. Це нейрогіпофізарні гормони, оскільки задня частка гіпофіза є лише місцем їх накопичення, а біосинтез відбувається в супраоптичному та паравентрикулярному ядрах гіпоталамуса. Гормони,



що синтезовані в гіпоталамічних нейросекреторних клітинах, транспортуються в задню частку гіпофіза по аксонах нейрогіпофізарного тракту; транспортною формою гормонів є їх гранули в комплексі з білком *нейрофізином*.

Вазопресин та *окситоцин* є циклічними пептидами, що складаються з 9 амінокислотних залишків (нонапептиди); первинна

структура двох гормонів розрізняється лише залишками амінокислот, які містяться в 3-му та 8-му положеннях.

(1) Вазопресин

Біологічні функції вазопресину (антидіуретичного гормону, АДГ) пов'язані з регуляцією осмоларності та осмотичного тиску рідин організму.

Біохімічна основа фізіологічних ефектів вазопресину полягає в стимуляції реабсорбції води в дистальних канальцях нирок. Крім того, гормон сприяє підтриманню артеріального тиску за рахунок прямого впливу на судинну стінку, підсилює глікогеноліз у печінці та м'язах, спричиняє агрегацію тромбоцитів та виділення ними факторів коагуляції.

Молекулярні механізми дії вазопресину ґрунтуються на наявності двох типів рецепторів цього активного пептиду:

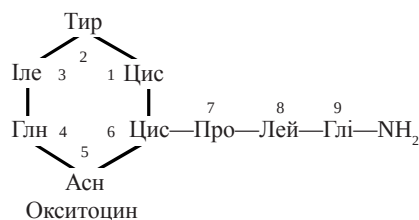
V₁-рецепторів (локалізовані на мембранах гепатоцитів, гладеньких м'язів судин, тромбоцитів), що спряжені з фосфоліпазою С, активація якої включає фосфоінозитидний цикл (утворення ІФ₃, ДАГ) та збільшує концентрацію в клітинах іонів Ca²⁺;

V₂-рецептори (локалізовані на мембранах епітеліальних клітин трубчок та петель Генле нефронів), що спряжені з активацією аденілатциклази та утворенням цАМФ; послідовна дія цього біохімічного каскаду призводить до збільшення проникності мембран клітин-мішеней для води.

Порушення синтезу, транспортування та вивільнення в гіпоталамусі або зниження чутливості рецепторів нефронів до вазопресину призводять до розвитку важкого захворювання — *нецукрового діабету*, клінічними проявами якого є виділення значної кількості сечі (декількох літрів на добу) з низькою щільністю та постійне відчуття спраги.

(2) Окситоцин

Фізіологічна дія окситоцину полягає в активації скорочення м'язів матки (стимуляції пологової діяльності) та скорочення міоепітеліальних клітин, що оточують альвеоли молочної залози (забезпеченні надходження молока з альвеол у вивідні протоки під час лактації). Ефекти гормону на чутливі клітини реалізуються через аденілатциклазну систему за обов'язковою участю іонів Ca²⁺.



24.2. ГОРМОНИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ТА ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ

А. Гормони підшлункової залози

Підшлункова залоза — орган мішаної секреції, ацинарна частина якої виконує екзокринну функцію, секретуючи в дванадцятипалу кишку травні ферменти та іони, а ендокринна (*острівці Лангерганса*) — продукує декілька гормональних факторів пептидної природи. Синтез та секреція пептидних гормонів забезпечують різні типи клітин острівкового апарату:

А (α)-клітини — глюкагон;

В (β)-клітини — інсулін;

D (δ)-клітини — соматостатин;

F-клітини — панкреатичний поліпептид.

1. Інсулін — поліпептидний гормон (м.м. 5,7 кД), молекула якого складається з двох ланцюгів — А та В, що мають, відповідно, 21 та 30 амінокислотних залишків. Пептидні ланцюги сполучені між собою дисульфідними зв'язками, що з'єднують залишок А₇ із залишком В₇ та залишок А₂₀ із залишком В₁₉; крім того, третій дисульфідний місток зв'язує між собою залишки 6 та 11 А-ланцюга.

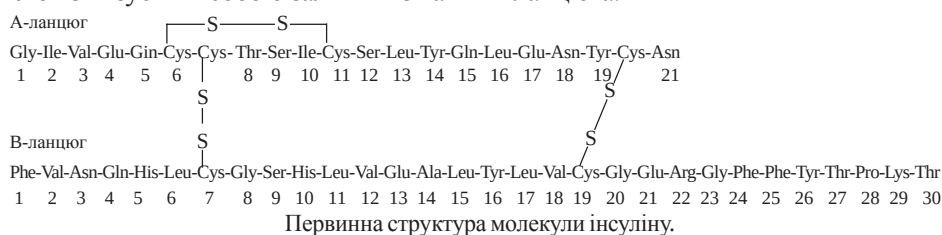


Рис. 24.1. Сенгер (Sanger) Фредерік (народ. 1918 р.), видатний англійський біохімік. Професор Кембріджського ун-ту. Винайшов метод визначення первинної структури білків, розшифрував первинну структуру інсуліну. Двічі лауреат Нобелівської премії (1958, 1980).

Інсулін був першим білком, для якого була встановлена повна амінокислотна послідовність (Ф.Сенгер, 1955). Враховуючи важливе медико-біологічне значення гормону для лікування цукрового діабету, інсулін був також першим білком, отриманим для фармацевтичних цілей біотехнологічним методом з використанням рекомбінантних ДНК.

Вивчення третинної структури інсуліну дозволило сформулювати уявлення про будову його активного центру, який визначає взаємодію білка з мембранним рецептором та реалізацію гормональної активності (рис. 24.2).

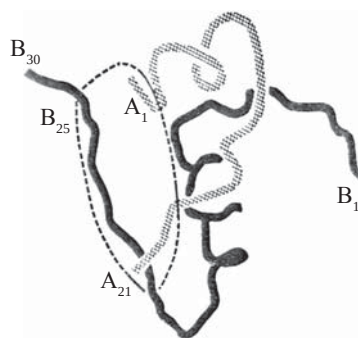


Рис. 24.2. Просторове розміщення А- та В-ланцюгів у молекулі інсуліну. Пунктиром позначений домен, що взаємодіє з рецептором.

Біосинтез та секреція інсуліну

Інсулін синтезується в рибосомах В- (β -) клітин підшлункової залози у вигляді препрогогормону — білка з м.м. 11,5 кД, який у результаті обмеженого протеолізу послідовно перетворюється в ендоплазматичному ретикулумі та апараті Гольджі на прогормон (м.м. 9 кД) та зрілий інсулін.

Молекули інсуліну спаковуються в секреторні гранули, де вони утворюють комплекси з іонами цинку. Секреція інсуліну з клітини відбувається шляхом *еміоцитозу*, який полягає в міграції гранул до плазматичної мембрани, злитті гранул з мембраною,

розчиненні мембрани та “екструзії” — викиду вмісту мембрани в екстрацелюлярний простір. Секреція інсуліну є енергозалежним процесом, головним фізіологічним стимулом секреції є збільшення концентрації глюкози в крові понад рівень фізіологічної норми (3,3–5,5 ммоль/л).

Характеристика гормональної активності

Інсулін позначають як “гормон засвоєння та депонування вуглеводів” (В.Б.Розен, 1984). Відповідно, *цукровий діабет* (хвороба, що пов’язана з порушеннями в синтезі, секреції інсуліну та/або реактивності інсулінових рецепторів — глава 12) характеризується стійкою *гіперглікоземією*, порушеннями вуглеводного обміну та метаболічно зв’язаних з обміном глюкози перетворень ліпідів і амінокислот. Ця гормональна дія інсуліну зумовлена такими біохімічними механізмами:

(1) Вплив на обмін вуглеводів:

(1.1.) стимуляцією **транспорту глюкози** з екстрацелюлярного простору через плазматичні мембрани всередину клітин — ефект спостерігається здебільшого в клітинах м’язів, адипоцитах жирової тканини, лімфоцитах і є основною причиною швидкого (протягом декількох секунд) зниження рівня *глюкоземії* після ін’єкції інсуліну. Разом з тим, інсулін не впливає на мембранний транспорт глюкози в гепатоцитах, клітинах головного мозку, нирок; стимуляція поглинання глюкози цими тканинами при дії інсуліну спричиняється активацією гормоном швидкості внутрішньоклітинної утилізації глюкози (див. нижче);

(1.2.) сприянням *утилізації* глюкози в м’язах, печінці, жировій тканині тощо шляхами **гліколізу**, **пентозофосфатного шляху** (ПФШ) та **синтезу глікогену**:

(1.2.1.) стимуляція гліколізу в гепатоцитах відбувається за рахунок активації інсуліном синтезу (індукції) *глюкокінази* — ферменту, що перетворює глюкозу на глюкозо-6-фосфат, а також *фосфофруктокінази* та *піруваткінази*;

(1.2.2.) стимуляція ПФШ обміну глюкози відбувається за рахунок активації глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназної реакції (цей ефект інсуліну особливо важливий для жирової тканини та печінки, оскільки створює метаболічні умови, сприятливі для ліпогенезу);

(1.2.3.) інсулінзалежна стимуляція глікогенезу зумовлюється такими ферментативними механізмами:

(а) збільшенням *глюкокіназної* активності, що призводить до додаткового утворення глюкозо-6-фосфату, який може перетворюватися на глюкозо-1-фосфат — безпосередній субстрат глікогенезу;

(б) активацією *глікогенсинтази*: інсулін сприяє переходу ферменту в дефосфорильовану — активну форму (ефект зумовлений **зниженням під впливом інсуліну рівня цАМФ** внаслідок активації *фосфодіестерази* циклонуклеотидів і, відповідно, зменшенням активності *протеїнкінази*, що фосфорилує *глікогенсинтазу*);

(в) зменшенням активності *глікогенфосфорилази* (що також зумовлено падінням концентрації цАМФ і активності відповідної *протеїнкінази*); сукупність цих (б, в) метаболічних ефектів інсуліну спрямована на запасання глікогену в тканинах (анаболічна дія гормону);

(1.3.) гальмуванням процесів **глюконеогенезу** в печінці;

інсулін призводить до інгібування синтезу глюконеогенних ферментів *ФЕП-кінази*, *Фр-1,6-дифосфатази*, *Г-6-Ф-ази* — цей процес є більш повільним (порівняно з впливом інсуліну на транспорт глюкози, гліколіз та глікогенез) і вимагає для свого прояву декількох годин.

(2) Вплив на *обмін ліпідів*.

Характеризується стимуляцією анаболічних шляхів ліпідного обміну і збільшеним депонуванням нейтральних жирів в клітинах, що проявляється здебільшого в жировій тканині та в печінці. Ліпогенні ефекти інсуліну зумовлені такими біохімічними механізмами:

(2.1.) активацією синтезу вищих жирних кислот за рахунок збільшення притоку відповідних субстратів: ацетил-КоА та НАДФН, що утворюються при метаболізмі глюкози (див. вище);

(2.2.) активацією синтезу триацилгліцеролів із жирних кислот та гліцерол-3-фосфату, який також постачається у збільшеній кількості при гліколітичному розщепленні глюкози (утворюється з діоксіацетонфосфату в гліцерол-3-фосфатдегідрогеназній реакції);

(2.3.) гальмуванням ліполізу в адипоцитах, що зумовлено зменшенням концентрації цАМФ, необхідного для активації *ТГ-ліпази* та протидією ліполітичному впливу катехоламінів та глюкагону.

Згідно із зазначеним, *цукровий діабет* характеризується активацією *ТГ-ліпази* жирової тканини із збільшеним надходженням НЕЖК у плазму крові, стимуляцією їх перетворення в кетонів тіла (кетогенезом) та виникненням при некомпенсованій течії захворювання *кетоацидозу*. Крім того, оскільки інсулін зменшує утворення в печінці основних транспортерів триацилгліцеролів та холестерину — ЛПДНЩ та ЛПНЩ — "атерогенних ліпопротеїнів", цукровий діабет II типу (глава 16) характеризується додатковим розвитком атеросклерозу та ожиріння.

(3) Вплив на *обмін амінокислот та білків*.

Дія інсуліну на амінокислотний та білковий обмін найбільш виражена в м'язах, печінці, нирках, сполучній тканині, має анаболічний характер і характеризується:

(3.1.) стимуляцією транспорту нейтральних амінокислот через плазматичні мембрани (ефект, найбільш виражений у м'язах);

(3.2.) активацією процесів рибосомальної трансляції, синтезу рРНК та деяких мРНК (у м'язах, печінці, нирках, сполучній тканині).

(4) Вплив на *процеси клітинного росту та проліферації*.

Інсулін має виражені ростостимулюючі ефекти, що пов'язані як із стимуляцією надходження в клітини енергетичних та пластичних субстратів для росту (глюкози, жирних кислот, амінокислот), так і з безпосереднім активуючим впливом на біосинтез (реплікацію) ДНК, прискоренням переходу клітин у S-фазу. Інсулін здійснює позитивний вплив на проліферацію тваринних клітин у культурі, подібний до дії пептидних *факторів росту* — *фактора росту епідермісу (ФРЕ)*, *фактора росту фібробластів (ФРФ)*, *тромбоцитарного фактора росту (ТФР)*, біологічні ефекти яких також підсилюються інсуліном.

Молекулярні механізми дії інсуліну

Незважаючи на численні багаторічні дослідження кращих наукових центрів світу, молекулярні основи біохімічних та фізіологічних ефектів інсуліну, зокрема механізми трансформації його рецептор-лігандної взаємодії в специфічні реакції ефektorних систем клітини, залишаються не повністю розшифрованими.

Рецепторні тирозин-кінази

Рецептори для інсуліну, що локалізовані в мембранах гормоночутливих клітин, суттєво відрізняються від розглянутих вище рецепторів для білково-пептидних гормонів як за структурною організацією, так і за механізмами трансдукції гормонального сигналу. Ці інсулінові рецептори мають спільні принципи біохімічної організації та функціонування з рецепторами пептидних факторів росту (ФРЕ, ФРФ, ТФР) і отримали назву *рецепторних тирозин-кіназ*. Клас рецепторів, що розглядається, поєднує в собі функції як власне *рецептора* (тобто молекулярної структури, що специфічно сполучається з біорегулятором), так і *трансдуктора*, а також *ферменту*, тобто ініціаторного компонента *ефektorної системи*, яка реалізує біологічну реакцію клітини на дію гормону.

Характеристика будови та механізмів функціонування *рецепторних тирозин-кіназ*:

1) рецептори — інтегральні білки, що пронизують плазматичні мембрани; вони складаються із зовнішнього (екстрацелюлярного) домену, який послуговує для взаємодії з лігандом (гормоном, фактором росту), внутрішньомембранної частини та цитозольного компонента, що виконує каталітичні функції *тирозин-кінази* (рис. 24.3);

2) за своєю молекулярною організацією рецептори інсуліну є гетеродимерами, що складаються із субодиниць двох типів, сполучених дисульфідними містками з утворенням олігомерів $\alpha_2\beta_2$; обидві субодиниці глікозильовані. α -Субодиниця (м.м. 135 кД) розташована ззовні клітини і містить інсулін-зв'язуючі ділянки; β -субодиниця (м.м. 95 кД) — трансмембранний білок, цитозольний домен якого має тирозинкіназну активність (рис. 24.4);

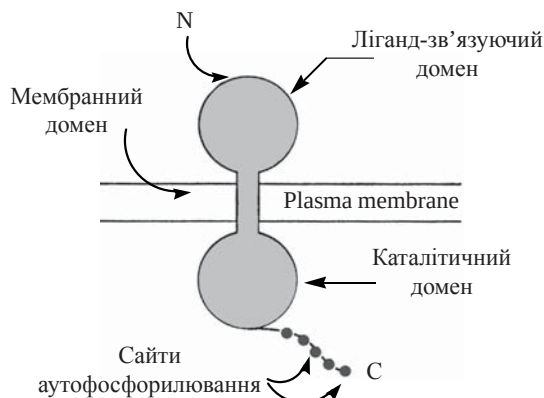


Рис. 24.3. Модель трансмембранної організації рецепторної тирозин-кінази.

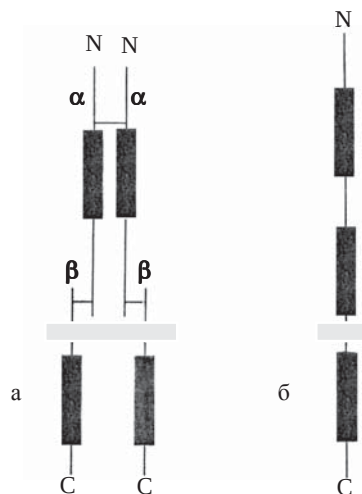
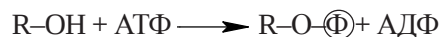
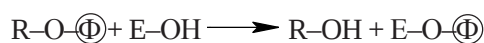


Рис. 24.4. Схема молекулярної організації рецепторів (рецепторних тирозин-кіназ) для інсуліну (а) та епідермального фактора росту (б).

З) зв'язування ліганда-біорегулятора з екстрацелюлярним доменом призводить до активації *протеїнкіназної* активності цитозольного домену *рецепторної тирозин-кінази*, який починає фосфорилувати власні тирозинові залишки (R–OH), розташовані близько С-кінця молекули (процес *аутофосфорилування*):



В свою чергу, аутофосфорильовані сайти взаємодіють з певними ферментними білками-мішенями (E–OH) і здійснюють їх фосфорилування (та модифікацію каталітичної активності), тобто подальше передавання хімічного регуляторного сигналу:

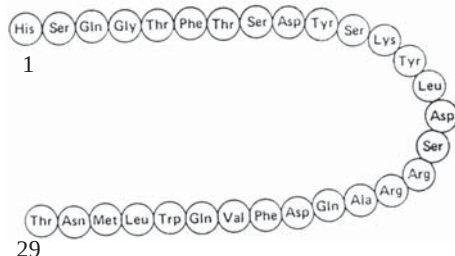


Важливим ферментом, що фосфорилується в такому процесі, є *фосфоліпаза С* — ключовий фермент стимуляції фосфоінозитидного циклу, що спричиняє активацію *протеїнкінази С* та мобілізацію іонів інтрацелюлярного Ca^{2+} . Проте, розглянута послідовність реакцій є остаточно встановленою лише для пептидних факторів росту (зокрема ФРЕ), а питання про вторинні месенджери для інсуліну і подальшу послідовність ферментативних реакцій, що реалізують множинні клітинні ефекти цього гормону, остаточно не з'ясовано.

Фактори росту та онкобілки

Значний біомедичний інтерес становить та обставина, що тирозин-кіназну активність мають деякі *онкобілки* — продукти експресії в клітинах ссавців *онкогенів*. Так, зокрема, *тирозин-кіназами* є онкобілки — продукти генів *src*, *erbB*, *abl* тощо, що спричиняють розвиток різних видів злоякісних пухлин.

Більше того, певні онкобілки близькі за будовою (мають гомологічні амінокислотні послідовності) з тирозин-кіназними рецепторами біорегуляторів: онкоген *erbB* (що спричиняє еритробластоз у птахів) кодує онкобілок, який має властивості рецептора ЕФР, онкоген *sis* (спричиняє саркому у мавп) структурно подібний до ТФР тощо. За цими даними можна припустити, що онкогени геному людини (і відповідні онкобілки) також можуть утворюватися в результаті мутацій генів, які відповідають за експресію білкових (тирозин-кіназних) рецепторів для біорегуляторів (в тому числі інсуліну), що контролюють ріст і проліферацію нормальних клітин (Ю.І.Губський, 1999).



Первинна структура глюкагону.

прогормону (*проглюкагону*), який перетворюється на молекули зрілого глюкагону.

2. Глюкагон — одноланцюговий поліпептид (м.м. 3,5 кД), що складається з 29 амінокислотних залишків. Основним місцем синтезу гормону є А (α)-клітини острівкової частини підшлункової залози, проте значна кількість глюкагону може утворюватися і в інших клітинних елементах дифузної ендокринної системи шлунково-кишкового тракту. Глюкагон синтезується у вигляді

Біологічні функції глюкагону полягають у регуляції вуглеводного та ліпідного обміну; за спрямованістю своєї метаболічної дії глюкагон є *контрінсулярним* гормоном, тобто його ефекти на обмін вуглеводів та жирів здебільшого протилежні ефектам інсуліну. Основною мішенню гормональної дії глюкагону є гепатоцити печінки.

(1) *Вплив глюкагону на обмін вуглеводів* характеризується:

а) стимуляцією глікогенолізу (без впливу на відповідний процес у м'язах) за рахунок активації *глікоген-фосфорилази*; молекулярний механізм дії гормону полягає в активації мембранної *аденілатциклази* з подальшим включенням цАМФ-залежного фосфоролітичного каскаду (глава 13);

б) гальмуванням глікогенезу шляхом інгібування активності *глікогенсинтази* за рахунок її цАМФ-залежного фосфорилування;

в) стимуляцією синтезу глюкози з амінокислот; активуючи синтез ферменту *ФЕП-кінази* (через підвищення швидкості транскрипції гена *ФЕП-кінази*), **глюкагон виступає як найбільш потужний активатор глюконеогенезу** в печінці.

Сума зазначених ефектів (а, б, в) проявляється гіперглікоземічною дією глюкагону.

(2) *Вплив глюкагону на обмін ліпідів* характеризується ліполітичною дією глюкагону. За рахунок збільшення концентрації цАМФ в адипоцитах глюкагон активує *ТГ-ліпазу* жирової тканини, що супроводжується виходом НЕЖК в плазму крові; вільні жирні кислоти виступають як енергетичні субстрати в ході β -окислення та частково перетворюються на кетонові тіла. За умов інсулінової недостатності глюкагон-залежне утворення ацетоацетату робить суттєвий внесок в розвиток кетонемії, що спостерігається при цукровому діабеті.

Б. Гормони шлунково-кишкового тракту

Клітинна організація шлунково-кишкового тракту характеризується наявністю дифузної ендокринної системи, що нараховує до 16 типів гормонопродукуючих клітин. На даний час виділено та охарактеризовано більше 20 біорегуляторних пептидів, які синтезуються цими клітинами.

За хімічною будовою гастроінтестинальні гормони (*ентерогормони*) є коротколанцюговими пептидами та поліпептидами, що складаються з декількох або декількох десятків амінокислотних залишків. Більшість сполук гормональної та медіаторної дії, які належать до гастроінтестинальних пептидів, синтезуються також у центральній нервовій системі, гіпоталамусі, інших залозах внутрішньої секреції.

Біохімічно ідентифікованими гормонами шлунково-кишкового тракту є: *гастрин*, *холецистокінін*, *секретин*, *шлунковий інгібіторний пептид*, *вазоактивний інтестинальний пептид*, *мотилін*, *соматостатин*, *панкреатичний поліпептид*, *ентероглюкагон*, *енкефаліни*, *сполука Р*, *бомбезин* (*гастрин-релізінг-пептид*).

Гастрин — ентоерогормон, що синтезується G-клітинами антральної частини шлунка, а також клітинами слизової оболонки дванадцятипалої кишки.

Властивості *гастрину* притаманні декільком сполукам, що мають однакові чотирнадцять С-кінцевих амінокислот, але розрізняються довжиною поліпептидного ланцюга (містять 14; 17 або 34 амінокислотні залишки). Кожна з молекулярних форм гастрину може існувати в сульфатованому або нессульфатованому вигляді.

Фізіологічно найбільш активним є пептид антральних G-клітин — *гастрин 17*; цей гормон стимулює функціональну активність обкладинних та головних клітин слизової

оболонки шлунка, виступаючи головним стимулятором секреції шлунком соляної кислоти та пепсину.

Гормонально активні пухлини шлунка — *гастрономи* призводять до аномально збільшеної секреції соляної кислоти та супроводжуються виникненням виразок шлунка, що є резистентними до звичайної антацидної фармакотерапії.

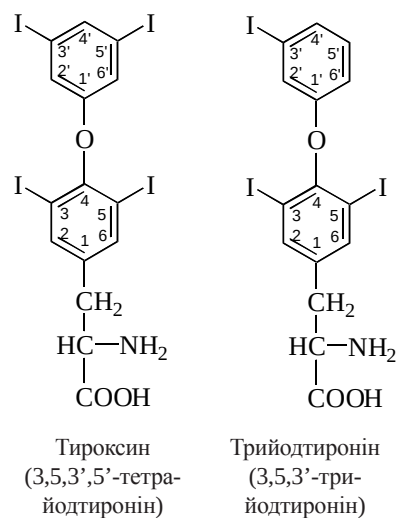
Холецистокінін — гормон, що продукується І-клітинами слизової оболонки дванадцятипалої кишки та проксимального відділу порожньої кишки.

Холецистокінін є сполукою з надзвичайною молекулярною гетерогенністю: властивості холецистокініну мають, принаймні, п'ять пептидів, що складаються з 4, 8, 12, 33 та 39 амінокислотних залишків!

Фізіологічна активність цього ентоерогормону полягає в стимуляції скорочень жовчного міхура та секреції панкреатичних ферментів; секреція холецистокініну стимулюється при надходженні в кишечник пептидів, амінокислот, довголанцюгових жирних кислот, кальцію, кислих еквівалентів. Найбільш активним є *холецистокінін 8*; цей пептид виявлений також у головному мозку, його унікальна центральна дія полягає в розвитку почуття ситості.

Секретин — гормон, який секретується S-клітинами дванадцятипалої кишки та проксимального відділу порожньої кишки. Є пептидом, що складається з 27 амінокислотних залишків.

Секретин стимулює секрецію бікарбонату та води підшлунковою залозою у відповідь на надходження в кишечник кислих продуктів шлунка.



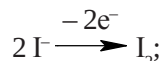
24.3. ТИРЕОЇДНІ ГОРМОНИ

Тиреоїдні гормони є істинними гормонами, що синтезуються в спеціалізованих епітеліальних клітинах фолікулів щитовидної залози — *тиреоцитах*. До цієї групи належать похідні амінокислоти L-тирози́ну — 3,5,3',5'-тетрайодтиронін (*тироксин*) та 3,5,3'-трийодтиронін:

Біосинтез тиреоїдних гормонів потребує наявності йодидів, що вибірково накопичуються в щитовидній залозі, яка поглинає їх із крові; із загальних 20-30 мг йоду, що містяться в тілі людини, 10-15 мг акумулюється в колоїді фолікулів щитовидної залози.

Біосинтез тиреоїдних гормонів складається з таких етапів (рис. 24.5):

1) акумуляція щитовидною залозою йодидів крові (I^-) за допомогою “йодидного насосу” та їх окислення *йодидпероксидазою* до молекулярного йоду:



2) синтез специфічного білка колоїду щитовидної залози *тиреоглобуліну* та йодування його тирозинових залишків з утворенням *монойодтирозинів (MIT)* та

дийодтирозинів (ДІТ). Тиреоглобулін — глікопротеїн з м.м. 660 кД, що має олігомерну структуру (складається з двох субодиниць); у складі білка — 115 залишків тирозину, 15-20 % яких підлягають йодуванню;

3) перетворення йодованих тирозилових залишків на йодовані тироніни (у складі молекули тиреоглобуліну);

4) секреція йодованого тиреоглобуліну в порожнину фолікула, де цей високомолекулярний попередник тиреоїдних гормонів зберігається у складі колоїду;

5) поглинання (за умов фізіологічних потреб та стимуляції тиреотропіном) йодованого білка тиреоцитами, включення його в фаголізосоми, розщеплення молекули йодованого тиреоглобуліну (лізосомальними тиреокапсинами) з утворенням вільних молекул трийодтироніну (T_3) та тетрайодтироніну (T_4) і вихід їх через базальні мембрани клітин у кров.

Із двох йодованих тиронінів більш активним є T_3 , специфічна гормональна активність якого перевищує відповідну активність T_4 у 4-5 разів; у периферійних тканинах більша частина T_4 перетворюється на T_3 , і сумарна біологічна дія тиреоїдних гормонів в організмі на 90-95 % забезпечується саме T_3 .

Біологічні функції тиреоїдних гормонів — полягають у контролі процесів енергетичного обміну, біосинтезу білка та морфогенезу:

1. Стимуляція біоенергетичних процесів у тканинах при дії гормонів щитовидної залози позначається збільшенням швидкості тканинного дихання (поглинання O_2), активності мітохондріальних ферментів електронотransпортного ланцюга, підвищенням рівня катаболізму вуглеводів, ліпідів, амінокислот. Разом з тим, збільшення поглинання тканинами кисню в умовах дії тиреоїдних гормонів не супроводжується адекватним зростанням фосфорилування АДФ до АТФ, в результаті чого коефіцієнт окисного фосфорилування (P_i/O) зменшується, тобто відбувається роз'єднання дихання та окисного фосфорилування.

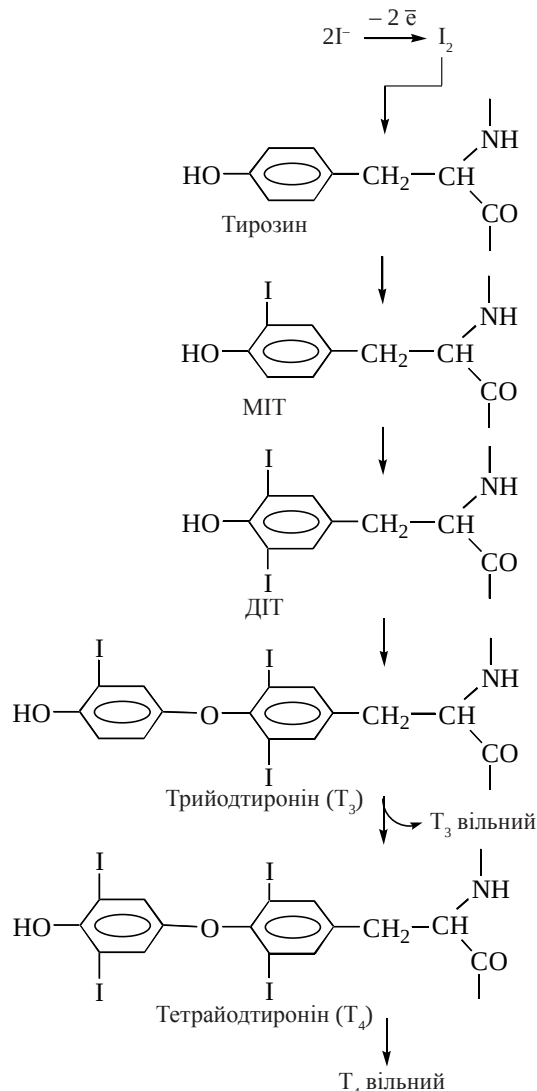


Рис. 24.5. Схема біосинтезу тиреоїдних гормонів.

2. Тиреоїдні гормони є потужними стимуляторами процесів морфогенезу, неонатального закладення, формування і розвитку тканинних структур та органів; уроджений гіпотиреоз у людини супроводжується важкою затримкою психічного розвитку новонароджених дітей. В основі позитивного впливу гормонів щитовидної залози на морфогенез та розвиток тканин лежить їх специфічний активуючий вплив на процеси транскрипції генів, що контролюють зазначені процеси.

Молекулярні механізми дії

Рецептори тиреоїдних гормонів локалізовані в ядрах клітин-мішеней. У взаємодії з гормонами беруть участь специфічні рецептори α -1 та β -1, які є білками з м.м. 47 і 52 кД, відповідно. Спорідненість цих рецепторів до T_3 значно більша, ніж до T_4 .

Молекули тиреоїдних рецепторів мають три структурних домени: N-термінальний домен; центральний ДНК-зв'язуючий домен з двома *цинковими пальцями*; C-термінальний домен, що сполучається з гормоном (глава 23). Утворення комплексу *гормон-рецептор* призводить до конформаційних змін у молекулі рецептора; при цьому ДНК-зв'язуючий домен рецептора стає спроможним до взаємодії із специфічними сайтами на промоторах генів, які контролюють транскрипцію мРНК та синтез білків, що відповідають за прояви біологічних ефектів тиреоїдних гормонів.

Патологія щитовидної залози

Численні клінічні форми патологічних процесів, що стосуються щитовидної залози, призводять у кінцевому підсумку до зменшення або збільшення її функціональної активності (*гіпотиреоз* або *гіпертиреоз*, відповідно).

а) *Гіпотиреоз* — патологічний стан, який розвивається внаслідок дефіциту в організмі вільних T_3 та T_4 або неадекватної реакції тканин-мішеней на дію гормонів. Така ситуація може бути спричиненою дефектами синтезу тиреоїдних гормонів на різних його стадіях внаслідок:

- порушення акумуляції йодидів залозою (внаслідок йодного дефіциту або неспроможності залози накопичувати мікроелемент);
- порушень у ферментних системах, що використовують йодиди для утворення гормонально активних молекул T_3 та T_4 ;
- порушень у рецепторних та трансдукуючих системах, які трансформують гормональний сигнал в специфічні ефекти тиреоїдних гормонів.

Поширеною формою гіпотиреозу є *ендемичний зоб* — хвороба, яка часто зустрічається в місцевостях, де наявний екзогенний дефіцит йоду в питній воді та продуктах харчування. Захворювання характеризується збільшенням розміру залози — “зобом”, спричиненим компенсаторною активацією виділення ТТГ; специфічними проявами хвороби є *мікседема* (слизистий набряк), загальмованість нейро-психічних процесів, рухова млявість, апатичність, у разі прояву патології в ранньому дитячому віці — значна затримка розумового та фізичного розвитку.

б) *Гіпертиреоз* — патологічний стан, що пов'язаний із надлишковим утворенням залозою тиреоїдних гормонів. Різні за механізмами походження клінічні форми *гіпертиреозу* (базедова хвороба, хвороба Грейвса тощо) супроводжуються *тиреотоксикозом* (“токсичний зоб”), характерними проявами якого є збільшення основного обміну (поглинання організмом кисню в стані спокою), підвищена збудливість нервової системи, психічна дратівливість, тахікардія, схуднення хворих внаслідок переважання катаболічних процесів.

24.4. КАТЕХОЛАМІНИ ТА ІНШІ БІОГЕННІ АМІНИ

На відміну від тиреоїдних гормонів, значна група похідних амінокислот — біорегуляторів із властивостями гормонів та нейромедiatorів — реалізують свою регуляторну дію на клітини через мембранні рецептори, спряжені з внутрішньоклітинними сигнальними системами. До цього класу біорегуляторів належать біогенні аміни:

- похідні L-тирози́ну *катехоламіни*: адреналін, норадреналін, дофамін;
- похідні L-триптофану *індоламіни*: серотонін та мелатонін;
- похідне L-гістидину (*імідазоламін*) *гістамін*.

1. Катехоламіни

Катехоламіни *адреналін* (*епінефрин*) та *норадреналін* (*норепінефрин*) синтезуються в хромафінних клітинах мозкового шару наднирникових залоз, гангліях симпатичної нервової системи та адренергічних структурах центральної нервової системи.

Обидва катехоламіни мають властивості як гормонів, так і нейромедiatorів, проте в *адреналіну* переважає “гормональна” дія, а в *норадреналіну* — “медіаторна”. Згідно з такими функціональними відмінностями, основним місцем синтезу та локалізації в організмі *адреналіну* є мозковий шар наднирникових залоз (на його частку припадає близько 80 % усіх катехоламінів цієї структури), тоді як *норадреналін* міститься переважно в нейронах, його концентрація в головному мозку людини перевищує відповідний рівень *адреналіну* в десятки разів.

Попередниками в біосинтезі катехоламінів є циклічні амінокислоти *фенілаланін* та *тирозин*; ферментативні реакції синтезу включають процеси гідроксилювання в ядрі та бічному ланцюзі, декарбоксилювання з утворенням аміну та метилювання норадреналіну до адреналіну (рис. 24.6).

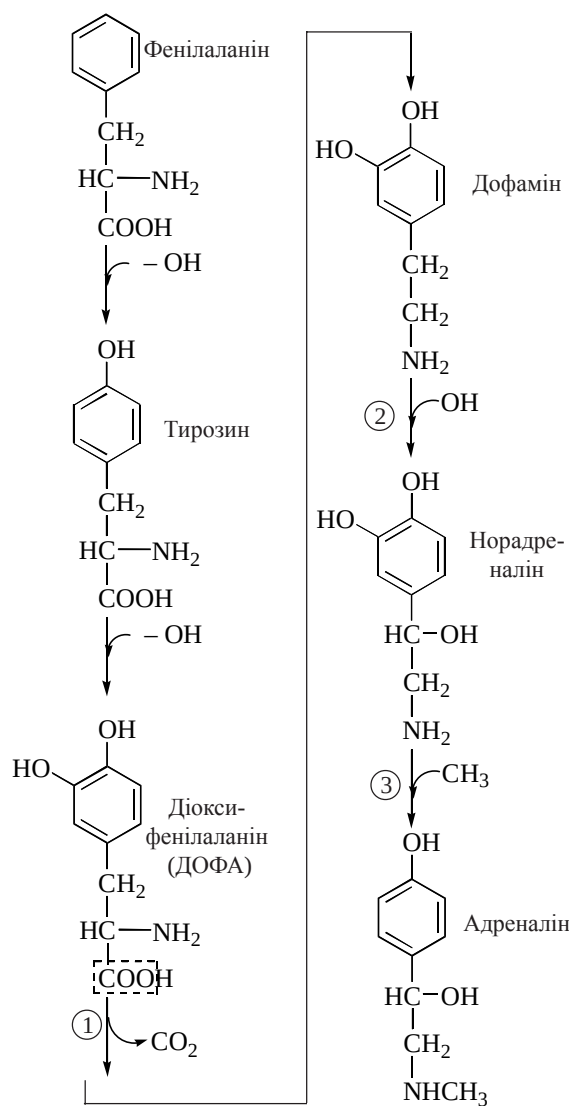


Рис. 24.6. Схема біосинтезу катехоламінів.

Адреналін

Ефекти *адреналіну* пов'язані з його взаємодією з різними класами *адренорецепторів* (α , β), що локалізовані як в центральній нервовій системі (глава 33), так і в численних ефекторних системах організму.

Фізіологічні прояви дії адреналіну характеризуються тонізуючим впливом на міокард (збільшення сили та частоти серцевих скорочень), загальне судинне русло (гіпертензивна дія), гладенькі м'язи судин різних внутрішніх органів, зокрема шлунково-кишкового тракту, нирок, бронхів, матки, ока тощо.

Біохімічні ефекти адреналіну проявляються, в основному, в катаболічній дії гормону на вуглеводний та ліпідний (жировий) обмін, опосередкований мембранними рецепторами, сполученими з *аденілатциклазними* ферментними каскадами.

1. Вплив адреналіну на *обмін вуглеводів* (глава 13) проявляється активацією *глікогенфосфорилази*, тобто глікогенолітичною дією (переважно в м'язах і частково — в печінці та інших органах), що призводить до активації глікогенолізу в м'язах і забезпеченні енергією м'язового скорочення; гіперглюкоземія, що розвивається в умовах збільшеного виділення адреналіну (звичайно, разом із стимуляцією секреції глюкагону), має значення для забезпечення метаболічною енергією інших тканин (особливо головного мозку).

2. Вплив адреналіну на *обмін ліпідів* (глава 14) характеризується ліполітичним ефектом, спричиненим стимулювальною дією гормону на активність *ТГ-ліпази* адипоцитів жирової тканини. Вихід у кров'яне русло вільних жирних кислот (мобілізація НЕЖК, в якій бере участь також глюкагон) є також біохімічним механізмом забезпечення інших тканин (зокрема, міокарда) додатковими енергетичними субстратами.

Таким чином, сумарний підсумок фізіологічних та біохімічних ефектів катехоламінів (*адреналіну* та *норадреналіну*) має на меті підготовку організму до максимального використання енергетичних ресурсів та їх реалізацію в умовах стресових реакцій — ситуаціях типу “боротьба або втікання”, спрямованих на фізичне виживання особини. Вивільнення адреналіну з хромафінних клітин та норадреналіну із закінчень симпатичних нейронів є біохімічним уособленням термінової активації *симпатикоадреналової системи* (У.Кеннон) у відповідь на вплив стресових факторів. Процеси довгострокової адаптації організму до дії пошкоджувальних агентів реалізуються глюкокортикоїдами кори наднирникових залоз (глава 25).

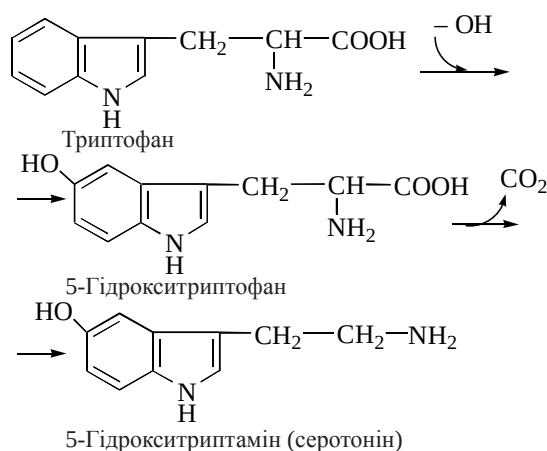
Розщеплення адреналіну та норадреналіну каталізується *моноамінооксидазами* мітохондрій з утворенням гормонально неактивних альдегідів та ванілілмигдальної кислоти.

Дофамін — біогенний амін, що є інтермедіатом у синтезі катехоламінів адреналіну та норадреналіну. Синтез цього аміну та чутливі до нього рецепторні структури локалізуються переважно в гіпоталамусі, мезокортикальній, лімбічній, екстрапірамідній системах головного мозку. Окрім нейромедіаторних властивостей у центральній нервовій системі, дофамін має близькі до інших катехоламінів симпатоміметичні

властивості. Разом з тим, дофамін здійснює специфічний саме для нього вплив на функцію серцево-судинної системи, спричиняє дилатацію судин нирок, збільшує діурез та натрійурез, стимулює екзокринну функцію підшлункової залози.

2. Індоламіни

Серотонін (5-гідрокситриптамін) — біогенний амін, попередником якого є гідроксильований триптофан (5-гідрокситриптофан), що підлягає декарбоксилюванню за участю ПАЛФ-залежної *декарбоксилази* з утворенням біологічно активного аміну:



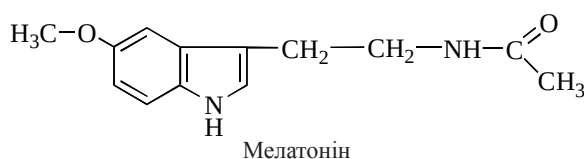
Біологічні функції серотоніну в організмі людини різноманітні. Крім нейро-медіаторної дії в спеціальних (*серотонінергічних*) ділянках центральної нервової системи та участі в реалізації складних інтегративних психічних функцій, серотонін здійснює регуляторні ефекти щодо діяльності гладеньких м'язів та, відповідно, функцій серцево-судинної системи, шлунково-кишкового тракту, бронхів, модулює розвиток запальних та алергічних реакцій, процесів згортання крові. Характеристику серотонінергічних метаботропних рецепторів нервової системи та молекулярних механізмів дії серотоніну подано в главі 33.

Найвищий вміст серотоніну знайдено в *ентерохромафінних клітинах* дванадцятипалої кишки, тромбоцитах, тучних клітинах сполучної тканини, центральній нервовій системі. В головному мозку людини серотонін розподілений нерівномірно: найбільша його кількість міститься в гіпоталамічній ділянці та середньому мозку.

Катаболізм серотоніну в організмі, як і інших фізіологічно активних амінів, відбувається за участю мітохондріальної *моноамінооксидази*; в результаті реакції утворюється 5-оксііндолацетальдегід, який окислюється до кінцевого катаболіту — 5-оксііндолоцтової кислоти, що виділяється із сечею.

Мелатонін

Похідним триптофану є також **мелатонін** (N-ацетил-5-метокситриптамін) — біогенний амін, що утворюється в результаті N-ацетилювання та O-метиловання серотоніну.



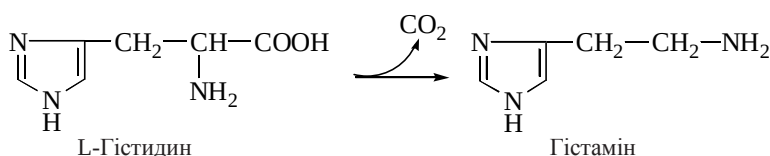
Біосинтез мелатоніну відбувається в *нінеалоцитах* епіфіза та деяких периферійних тканинах: шлунково-кишковому тракті, сітківці, ціліарному тілі ока тощо. Продукція мелатоніну в епіфізі має циклічний циркадний характер, вона збільшується у темряві і гальмується яскравим світлом.

Біологічні ефекти мелатоніну охоплюють широкий спектр фізіологічних функцій: він є універсальним синхронізатором ендогенних біоритмів в організмі людини,

одним із регуляторів циклу “сон-неспанн” (прискорює процес засинання, модулює структуру сну), гальмує секрецію гонадотропних гормонів гіпофіза, соматотропіну, тиреоїдних гормонів та кортикостероїдів, стимулює деякі імунні реакції тощо.

Вважають, що синтез мелатоніну в епіфізі є важливим компонентом системи регуляції статевих функцій у людини: так, зокрема, значне падіння рівня мелатоніну в крові у хлопчиків в період статевого дозрівання може бути регуляторним сигналом, що запускає початок пубертатного періоду.

Мелатонін має високі антиоксидантні властивості як інгібітор реакцій вільнорадикального окислення, що за деякими параметрами перевищують відповідні характеристики вітаміну Е (α -токоферолу). У нижчих тварин мелатонін є регулятором пігментації покривних тканин.



3. Гістамін — похідне L-гістидину, що утворюється в реакції декарбоксилювання амінокислоти.

Найбільша кількість гістаміну міститься в центральній нервовій системі та *тканинних базофілах* сполучної тканини. Фізіологічні ефекти гістаміну пов’язані з його дією на гладенькі м’язи периферійних судин (дилатаційні ефекти), регуляцією функцій жовчного та сечового міхурів, стимулювальним впливом на секрецію соляної кислоти в шлунку, звуженням бронхів, нейротрансмітерною функцією, участю в імунологічних реакціях. Надлишкове накопичення гістаміну в зонах запалення та ділянках взаємодії *антиген-антитіло* є одним із патогенетичних механізмів розвитку алергічних та анафілактичних реакцій.

Молекулярні механізми дії гістаміну на чутливі клітини реалізуються через мембранні H_1 - та H_2 -рецептори:

H_1 -рецептори спряжені із функціонуванням фосфоінозитидного циклу, вивільненням цитозольного Ca^{2+} , активацією *гуанілатциклази* та накопиченням цГМФ;

H_2 -рецептори спряжені з активацією *аденілатциклази* та накопиченням цАМФ.

Фармакологічні препарати, що є антагоністами гістамінових рецепторів:

антагоністи H_1 -рецепторів — застосовуються при алергічних станах різного генезу, бронхіальній астмі (*Димедрол*, *Тавегіл*, *Кларитин*, *Кетотифен*);

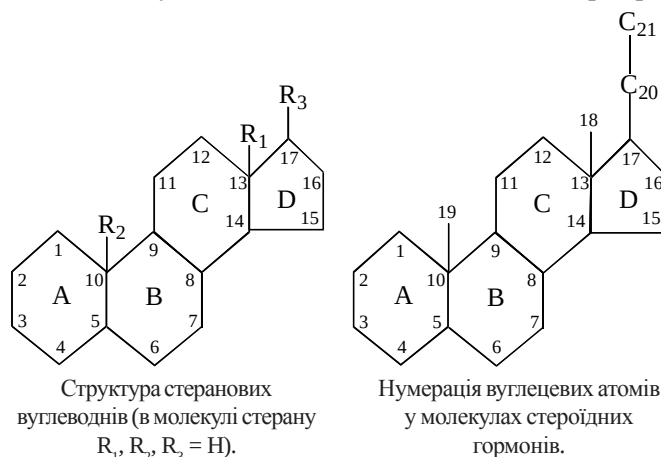
антагоністи H_2 -рецепторів — застосовуються для зменшення секреції соляної кислоти при виразковій хворобі (*Ранітидин*, *Фамотидин*).

ГЛАВА 25. ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ ТА БІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ КЛІТИНИ

III. ГОРМОНИ ТА ІНШІ БІОРЕГУЛЯТОРИ ЛІПІДНОГО ПОХОДЖЕННЯ

25.1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТЕРОЇДНИХ ГОРМОНІВ

Стероїдні гормони — широка група біологічно активних похідних вуглеводню *стерану*, що за хімічною будовою є заміщеним циклопентанпергідрофенантеном:



Залежно від хімічної природи радикалів R_1, R_2, R_3 , стероїдні гормони поділяють на декілька класів:

Вуглеводень	R_1	R_2	R_3	Кількість C-атомів
Стеран	-H	-H	-H	17
Прегнан	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₂ -CH ₃	21
Естран	-CH ₃	-H	-H	18
Андростан	-CH ₃	-CH ₃	-H	19

Виходячи із зазначеної хімічної номенклатури, *стероїдні гормони* поділяють на такі групи:

- Група **прегнану** (C_{21} -стероїди), до яких належать:
 - 1.1. *кортикостероїди*, що за біологічною активністю диференціюються на:
 - 1.1.1. *глюкокортикоїди*;
 - 1.1.2. *мінералокортикоїди*;
 - 1.2. *прогестагени*.
- Група **естрану** (C_{18} -стероїди) — *естрогени*.
- Група **андростану** (C_{19} -стероїди) — *андрогени*;

Усі ці групи стероїдних гормонів синтезуються в організмі з поліциклічного спирту — C_{27} - Δ^5 -стероїду — *холестеролу* (*холестерину*) (див. главу 16). Загальну схему хімічного генезису стероїдних гормонів подано на рис. 25.1.

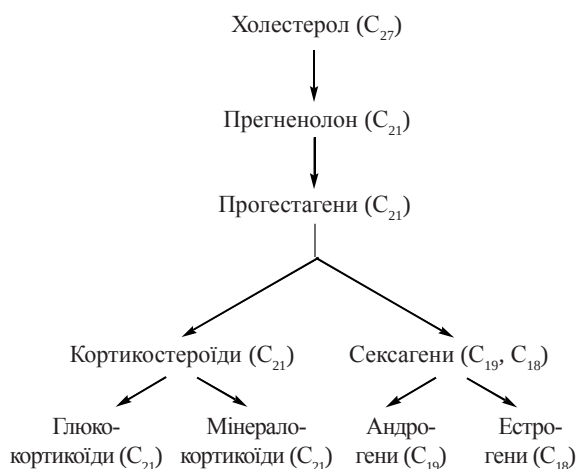
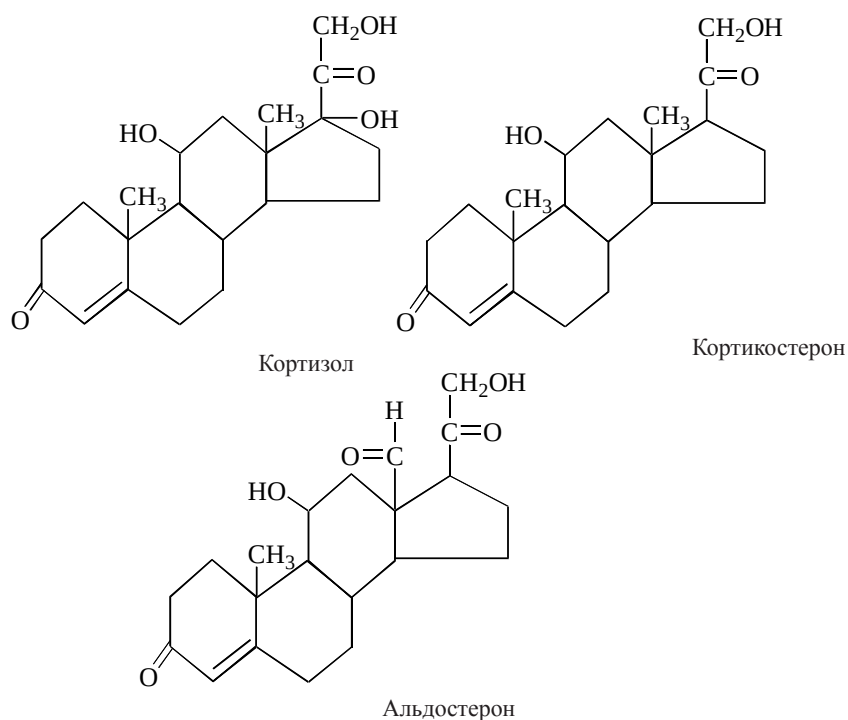


Рис. 25.1. Генезис стероїдних гормонів з холестеролу.

Окремий клас фізіологічно активних сполук стероїдного походження — *вітаміни групи D* (D_2 , D_3 та їх похідні). Ці сполуки з властивостями як гормонів, так і вітамінів, є за хімічною будовою C_{27} -стероїдами (див. нижче — п. 25.4).

25.2. СТЕРОЇДНІ ГОРМОНИ КОРИ НАДНИРНИКОВИХ ЗАЛОЗ



C_{21} -стероїди кори наднирникових залоз (кортикостероїди).

Стероїдні гормони кори наднирникових залоз — *кортикостероїди* — належать до C_{21} -стероїдів.

У корі наднирникових залоз людини синтезується близько 30 стероїдів із різними рівнями фізіологічної активності. “Справжніми” стероїдними гормонами кори наднирникових залоз (тобто такими, що синтезуються в кров та впливають на чутливі периферійні тканини) є *кортизол (гідрокортизон)*, *кортикостерон* та *альдостерон*.

Усі три гормони мають як глюкокортикоїдну, так і мінералокортикоїдну активність, проте виражену в різній мірі: кортизол є переважно глюкокортикоїдом, альдостерон — переважно мінералокортикоїдом, кортикостерону властиві обидва типи активності, але в меншому ступені, ніж у кортизолу та альдостерону, відповідно.

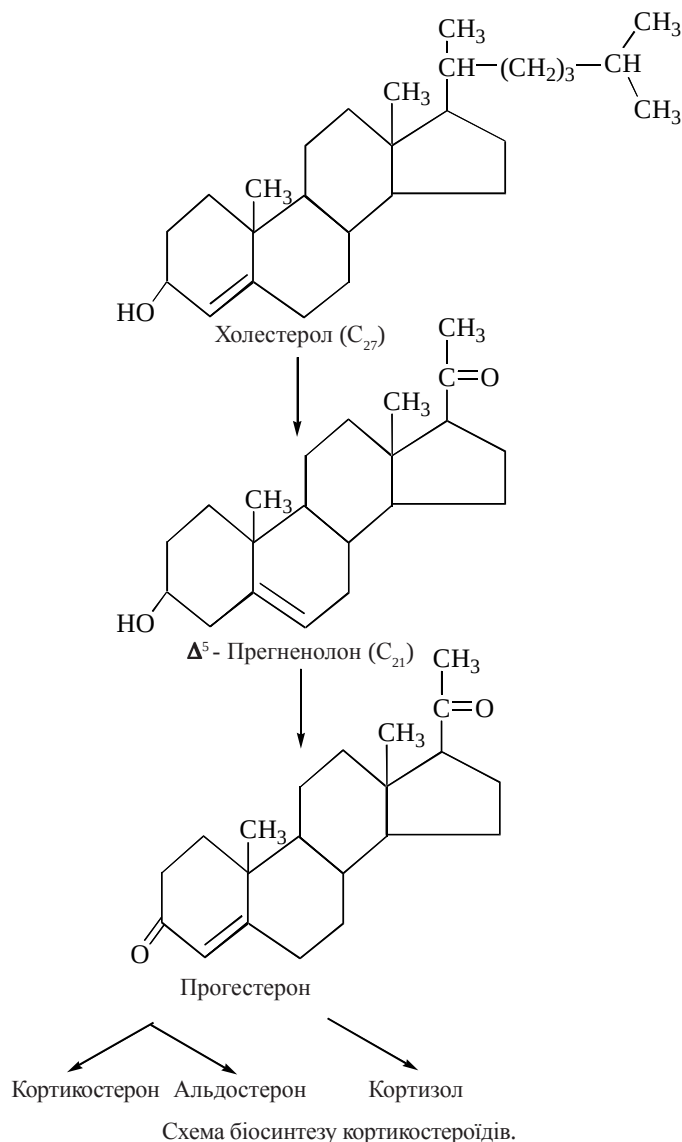
Біосинтез кортикостероїдів відбувається в клітинах наднирникових залоз із загального для всіх стероїдних гормонів попередника — C_{27} - Δ^5 -стероїду холестерину, який надходить в стероїдогенні клітини з кров’ю з печінки або синтезується *in situ* з ацетил-КоА.

Ключовими етапами в синтезі кортикостероїдів, як і інших біологічно активних стероїдів, що проходять стадії утворення прегненолону та прогестагенів, є:

- вивільнення *холестеролу* з цитозольних ліпідних крапель та надходження в мітохондрії, де відбувається його біотрансформація;

- скорочення бічного ланцюга холестеролу на шість вуглецевих атомів (перетворення $C_{27} \rightarrow C_{21}$) з утворенням C_{21} - Δ^5 -стероїду *прегненолону*;

- перетворення прегненолону (шляхом реакцій окислення та ізомеризації) на Δ^4 -3-кетостероїд *прогестерон*;



— перетворення прогестерону на глюкокортикоїди та мінералокортикоїди (за рахунок реакцій гідроксилювання стероїдів цитохром-Р-450-залежними оксигеназами мішаної функції).

Біосинтез певних представників стероїдних гормонів відбувається в різних зонах кори наднирникових залоз: в зовнішній, клубочковій зоні синтезуються альдостерон та кортикостерон; в середній, пучковій зоні — кортизол та кортикостерон; у внутрішній, сітчастій — андрогени та частково кортизол.

Біологічні властивості кортикостероїдів

Фізіологічна функція кортикостероїдних гормонів полягає в регулюванні процесів адаптації цілісного організму до змін умов навколишнього середовища та підтриманні внутрішнього гомеостазу, особливо в умовах дії стресорних факторів.

Глюкокортикоїди — кортикостероїди, основним біологічним ефектом дії яких є регуляція вуглеводного обміну, спрямована на стимуляцію синтезу глюкози в печінці, тобто глюконеогенезу. До глюкокортикоїдів належать: *кортизол (гідрокортизон)*, *кортизон (11-дегідрокортизол)*, *кортикостерон*, *11-дегідрокортикостерон*. Головним (таким, що секретується в кров та найбільш активним) представником глюкокортикоїдів є *кортизол*.

Активация синтезу глюкози при дії кортизолу досягається за рахунок координованої дії таких біохімічних механізмів:

у *печінці* — активації експресії генів, які відповідають за синтез ферментів глюконеогенезу (*ФЕП-карбоксикінази*, *аміотрансфераз* — зокрема, *тирозин-аміотрансферази*, *триптофанпіролази*), що постачають субстрати — попередники в синтезі глюкози;

у *м'язах* — пригнічення біосинтезу білка, що призводить до збільшення концентрації вільних амінокислот, які надходять в гепатоцити, де виступають в якості субстратів глюконеогенезу; подібний *катаболічний* ефект кортизолу спостерігається також у *лімфоїдній тканині*.

Вплив кортизолу на ліпідний обмін проявляється, переважно, в контраінсулярній дії, тобто стимуляції процесів ліполізу в жировій тканині із збільшенням вмісту жирних кислот (НЕЖК) в плазмі крові; в основі такого впливу глюкокортикоїдів на обмін триацилгліцеролів лежить їх здатність збільшувати ліполітичну дію катехоламінів та соматотропіну — “пермісивний ефект глюкокортикоїдів”.

Крім контролю зазначених метаболічних шляхів, кортизол та інші глюкокортикоїди регулюють течію багатьох фізіологічних процесів в організмі, змінюючи реактивність клітин відносно інших гормонів та нейромедіаторів. Особливо важливими є ефекти глюкокортикоїдів (разом з ефектами катехоламінів), спрямовані на мобілізацію захисних реакцій організму в умовах стресу, зокрема при хірургічних втручаннях, травмах, інфекціях. У високих *фармакологічних дозах* глюкокортикоїди та їх синтетичні похідні мають виражені протизапальні властивості, пов'язані з гальмуванням *фосфоліпази A₂*, необхідної для вивільнення арахідонової кислоти — попередника в синтезі *простагландинів* (див. нижче); цей протизапальний ефект сполук із властивостями глюкокортикоїдів знайшов широке застосування в клінічній практиці (препарати *Преднізолон*, *Дексаметазон*, *Тріамсинолон* тощо).

Регуляція синтезу та секреції кортизолу

Біохімічним сигналом, що стимулює синтез та надходження в кров кортизолу, є зменшення концентрації в крові глюкози. Гіпоглікемія спричиняє включення процесів кортизолзалежного глюконеогенезу через чутливі структури гіпоталамуса, що секретують кортиколіберин (кортикотропін-релізінг-гормон), який, у свою чергу, активує виділення кортикотропіну (АКТГ) і, відповідно, утворення в корі наднирникових залоз кортизолу.

Добова секреція в організмі людини кортизолу та гіпофізарного кортикотропіну має ритмічний характер із максимумом у ранкові години, тобто в *постабсорбтивний період* вичерпання внутрішніх резервів глюкози: найбільше зростання рівня АКТГ у сироватці крові спостерігається о 6-й-8-й годині ранку, дещо передуючи росту кортизолу (рис. 25.2)

Хвороба Іценко-Кушинга — патологічний стан, який характеризується аномальним збільшенням продукції в організмі людини глюкокортикоїдів, зокрема кортизолу. Ця патологія виникає внаслідок наявності гормонопродукуючої пухлини наднирникових залоз або гіпофіза (із відповідним збільшенням секреції кортикотропіну). Головними проявами захворювання є зменшення толерантності до глюкози, наявність стійкої гіперглікемії та глюкозурії, навіть у постабсорбтивному стані, тобто через декілька годин після останнього прийому їжі, порушення жирового обміну; оскільки для природних глюкокортикоїдів властиві також мінералокортикоїдні ефекти (див. нижче), при хворобі Іценко-Кушинга розвиваються затримка в організмі Na^+ і важка гіпертензія.

Мінералокортикоїди — кортикостероїди, біологічна дія яких полягає в регуляції водно-сольового обміну в тканинах: мінералокортикоїди спричиняють затримку в організмі іонів Na^+ та виведення K^+ і H^+ . Мінералокортикоїдну активність мають такі стероїди, що синтезуються в наднирникових залозах: *альдостерон*, *18-оксикортикостерон*, *11-дезоксикортикостерон (ДОК)* та деякі інші сполуки. Серед них найбільш активний *альдостерон* (єдиний мінералокортикоїд, що секретується в кров), мінералокортикоїдний ефект якого перевищує дію інших стероїдів приблизно в 100 разів.

Альдостерон — основний мінералокортикоїд, який синтезується в клітинах клубочкової зони кори наднирникових залоз; головний біохімічний ефект дії альдостерону полягає в стимуляції реабсорбції Na^+ (а разом з ним і Cl^-) в дистальній частині каналців нефронів.

Молекулярні механізми дії альдостерону, як і інших стероїдних гормонів, полягають у взаємодії в цитозолі клітин-мішеней із специфічним рецептором, що в комплексі з мінералокортикоїдом переноситься в ядро клітини; активований

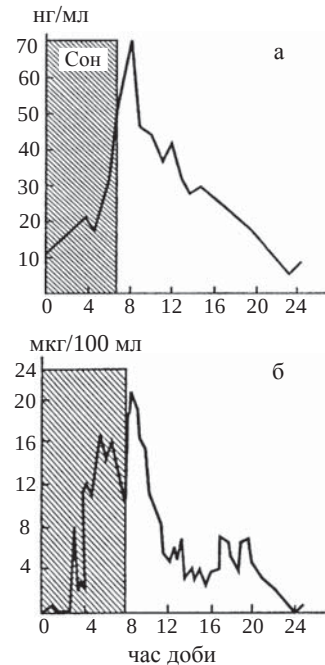
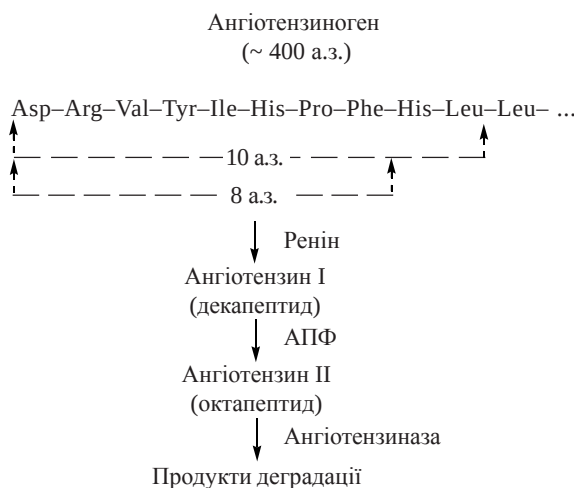


Рис. 25.2. Добовий ритм секреції АКТГ (а) та кортизолу (б) (за М.І.Балаболкіним, 1998).

альдостероном рецептор спричиняє активацію генів, що необхідні для синтезу білків, які реалізують транспорт Na^+ через апікальну та базальну мембрани чутливих клітин нефронів.

Альдостеронізм

У нормі клубочкова зона кори наднирникових залоз продукує 60-90 мкг альдостерону на добу. Стан збільшення концентрації гормону внаслідок підвищеного його утворення в корі наднирникових залоз або зменшення швидкості катаболізму гормону в печінці при порушенні функції гепатоцитів (наприклад, при цирозі печінки) отримав назву синдрому *альдостеронізму*; патологія проявляється гіпертензією та розвитком набряків внаслідок збільшеної затримки в організмі іонів натрію та води. Первинний альдостеронізм (синдром Кона) — захворювання, спричинене аденомою кори наднирникових залоз, що секретується в системі ренін-ангіотензин.



При дії протеолітичного ферменту *реніну*, який синтезується в юктагломерулярних клітинах аферентних артеріол нефронів, відбувається відщеплення від *ангіотензиногену* декапептиду *ангіотензину I*, який, е свою чергу (за дії протеїнази *ангіотензинперетворюючого ферменту*, АПФ), перетворюється на судинозвужувальний пептид *ангіотензин II*. Фізіологічним стимулом для продукування *реніну* і запуску протеолітичного каскаду утворення *ангіотензину II* є зниження артеріального тиску.

Ангіотензин II є найбільш потужним судинозвужувальним фактором; його біологічні ефекти реалізуються також за рахунок стимуляції секреції *альдостерону* та *вазопресину* (*антидіуретичного гормону*), що в цілому призводить до затримки в організмі іонів Na^+ та води. Інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту спричиняють зниження артеріального тиску і мають діуретичну (і натрійуретичну) фармакологічну дію; ці сполуки — інгібітори АПФ — застосовують як ефективні засоби для терапії гіпертонічної хвороби (препарати *Каптоприл*, *Еналаприл* тощо).

Натрійуретична система

Фізіологічним антагоністом альдостерону та ангіотензину II є *натрійуретична система*, що складається з пептидів, які синтезуються, переважно, в міокарді

Система ренін-ангіотензин — система вазоактивних пептидів, яка є регулятором артеріального тиску та водно-електролітного обміну в організмі людини. Основним компонентом системи є октапептид *ангіотензин II*, що утворюється шляхом ступеневого обмеженого протеолізу з білка α_2 -глобулінової фракції сироватки крові — *ангіотензиногену*:

(міоцитах передсердя) та головному мозку. Натрійуретичний фактор (гормон), що продукується в передсерді, — це пептид (126 амінокислотних залишків), який має натрійуретичні, діуретичні та калійуретичні властивості; при дії протеаз крові та тканин вихідний пептид (прогормон) розщеплюється на окремі пептиди із зазначеними активностями. Натрійуретичні пептиди виявлені (хоча і в значно менших концентраціях) також у наднирникових залозах, нирках, матці.

25.3. СТЕРОЇДНІ ГОРМОНИ СТАТЕВИХ ЗАЛОЗ

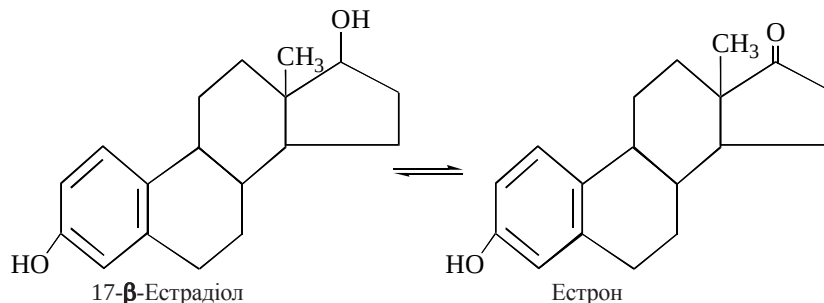
Статеві гормони людини — *сексагени, сексгормони* — синтезуються в жіночих і чоловічих статевих залозах, плаценті та частково — в корі наднирникових залоз. Статеві гормони забезпечують статеву диференціацію людини на чоловічу та жіночу особини, контролюють комплекс біологічних функцій, пов'язаних із розмноженням, тобто збереженням виду *Homo sapiens* як такого.

Жіночі статеві гормони

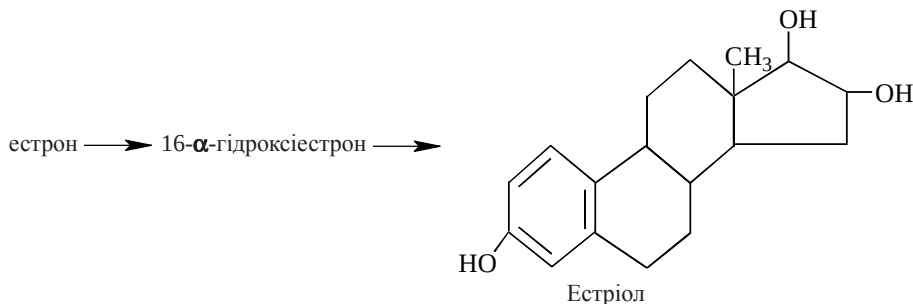
До жіночих статевих гормонів належать:
естрогени — *похідні естрану* (C_{18} -стероїди);
прогестагени — *похідні прегнану* (C_{21} -стероїди).

Естрогени

Естрогени — гормони, що синтезуються у фолікулах яєчників жінок. Основним найбільш активним представником естрогенів є гормон **17- β -естрадіол** (*естрадіол*), який зворотно перетворюється на *естрон*:



Значно меншу біологічну естрогенну активність має *естріол*, який є продуктом незворотної біотрансформації *естрону* в печінці:



Естрон утворюється також у плаценті як плацентарний гормон під час вагітності; в цьому разі попередником естрону є стероїд *дегідроепіандростерон*, що надходить у плаценту з надниркових залоз плода.

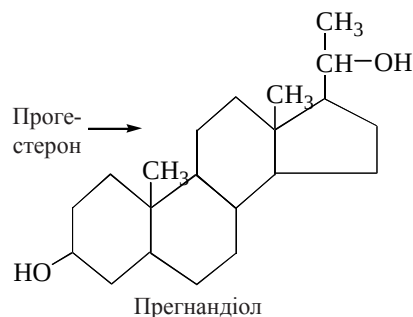
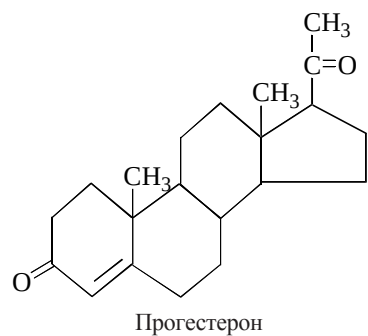
Біосинтез естрадіолу — процес, який відбувається, головним чином (на 95 % від його загального пулу), в клітинах внутрішньої оболонки (theca interna) фолікулів яєчників під час *фолікулярної фази* менструального циклу; концентрація естрадіолу в крові є показником ступеня дозрівання фолікула. В значно меншій мірі естрадіол утворюється в жовтому тілі, плаценті і частково — в корі надниркових залоз.

Вихідною сполукою для біогенезу естрогенних гормонів, як і інших стероїдів, є холестерин, який через прегненолон перетворюється, послідовно, на 17- α -гідроксипрогестерон та **андрогени** — **головні найближчі попередники естрадіолу** (як дотепно зауважує А.Ленінджер (1982), — “Справді, не тільки з ребра Адама була створена Єва!”); частково естрогени можуть утворюватися з 17- α -гідроксипрогестерону, мінаючи стадію андрогенів (рис. 16.3).

Біологічні властивості естрогенів

Естрогени (переважно естрадіол) стимулюють розвиток тканин, що беруть участь у реалізації репродуктивної функції жіночого організму: зумовлюють проліферацію та диференціювання епітелію піхви, проліферацію та гіпертрофію ендометрію, появу власної ритмічної рухомості міометрію. Під час пубертатного періоду естрогени забезпечують становлення вторинних статевих ознак жінки: ріст і дозрівання геніталій, проток молочних залоз, кісток скелета, відкладання характерної для жіночого організму підшкірної жирової тканини.

Прогестагени



Прогестагени — гормони жовтого тіла яєчників та плаценти, основним представником яких є *прогестерон*.

Утворення прогестерону з холестерину є спільним етапом у біосинтезі C_{21} -стероїдів і було розглянуто вище (див. **Біосинтез кортико-стероїдів**).

Біотрансформація прогестерону в організмі призводить до утворення *прегнандіолу*, що екскретується із сечею:

Біологічні властивості прогестерону

Прогестерон — гормон, що синтезується переважно в жовтому тілі яєчників у *лютеїнову фазу* менструального циклу. Фізіологічна функція прогестерону полягає у підготовці матки та інших статевих органів до імплантації заплідненої яйцеклітини та розвитку вагітності: гормон сприяє переходу ендометрію з проліферативної до секреторної фази, зменшує тонус м'язів матки, спричиняє проліферацію та розвиток молочних залоз, а в разі настання вагітності сприяє гальмуванню овуляції.

Менструальний цикл

Жіноча репродуктивна сфера у людини та приматів зазнає циклічних змін, які зумовлені складними фізіологічними і біохімічними взаємовідносинами між гіпоталамусом, гіпофізом та яєчниками. Менструальний цикл у жінок складається з таких фаз: фолікулярної фази, лютеїнової фази та власне менструації.

Циклічна секреція естрогенів та прогестерону, що забезпечує зміни в жіночих статевих органах протягом менструального циклу, контролюється гонадотропінами гіпофіза — *фолікулостимулюючим гормоном (ФСГ)* та *лютеїнізуючим гормоном (ЛГ)*. ФСГ та ЛГ стимулюють визрівання фолікула, його розрив та трансформацію в жовте тіло. Утворення естрогенів у фолікулах стимулюється переважно ФСГ, проте при наявності певної концентрації ЛГ; функції жовтого тіла контролюються, в основному, ЛГ. Значне зростання (пік) концентрацій ФСГ та ЛГ передують овуляції (рис. 25.3).

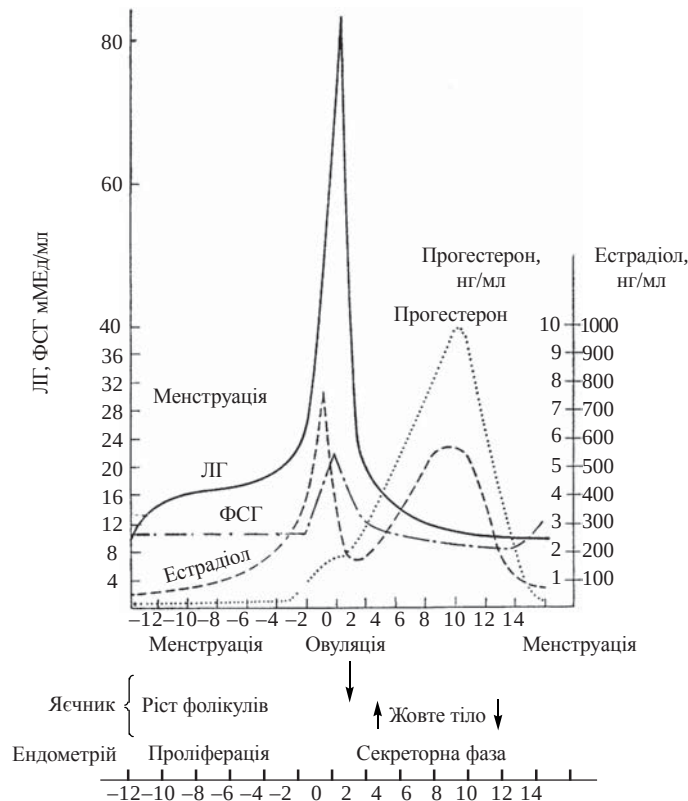
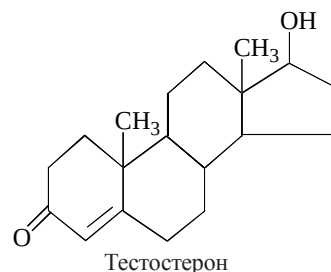


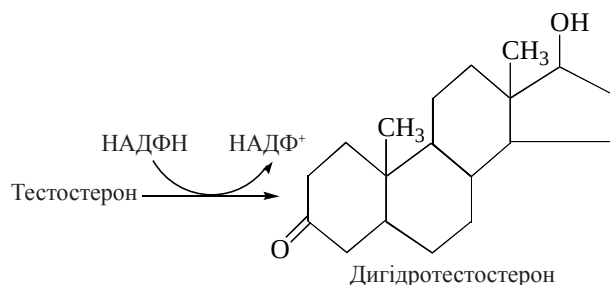
Рис. 25.3. Циклічні зміни концентрацій жіночих статевих гормонів та гонадотропнів протягом менструального циклу (за J. Terperman, H.M. Terperman, 1987).

Чоловічі статеві гормони

Чоловічі статеві гормони — *андрогени* — є похідними *андростану* (C_{19} -стероїди). Основним андрогеном є *тестостерон*, що синтезується в інтерстиціальних клітинах сім'яників (клітинах Лейдига). Добова секреція тестостерону у чоловіків складає в нормі близько 5 мг.

У клітинах-мішенях тестостерон конвертується в більш активний метаболіт — *дигідротестостерон (ДГТ)*, для якого тестостерон є, по суті,





прогормоном. Наявність ДГТ виявляється в сім'яних везикулах, передміхуровій залозі, зовнішніх статевих органах та деяких ділянках шкіри.

Перетворення тестостерону на ДГТ каталізується НАДФН-залежною 5- α -редуктазою:

Біотрансформація тестостерону в печінці та інших тканинах супроводжується утворенням метаболітів із значно зменшеною або відсутньою андрогенною активністю; основними представниками продуктів такого перетворення тестостерону є 17-кето- (або 17-оксо) стероїди — андростерон та етіохоланолон.

Біологічні властивості тестостерону полягають у забезпеченні репродуктивної функції чоловічого організму шляхом контролю сперматогенезу та стимуляції розвитку в пубертатний період первинних та вторинних статевих ознак. Крім того, характерною особливістю біохімічної дії андрогенів (тестостерону, його похідних та синтетичних андрогенів) є виражений **анаболічний ефект**, що проявляється стимуляцією синтезу білка в багатьох тканинах, особливо у м'язах; ця властивість андрогенів використовується при створенні *синтетичних анаболічних препаратів*.

Фізіологічні функції чоловічих статевих залоз знаходяться під контролем гонадотропних гормонів ФСГ та ЛГ: ФСГ стимулює сперматогенний епітелій яєчок, а ЛГ (гормон, що стимулює інтерстиціальні клітини — ГСІК) активує синтез та секрецію тестостерону. Концентрація тестостерону в сироватці крові, як і глюкокортикоїду кортизолу, циклічно змінюється протягом доби з максимумом о 7-й-9-й год ранку та мінімумом — о 24 год та 3 год ранку.

Молекулярні механізми дії статевих гормонів, як і кортикостероїдів, полягають у взаємодії відповідного гормону в клітинах-мішенях із специфічним цитозольним рецептором, транслокації комплексу стероїд-рецептор в ядро та стимуляції експресії генів, що контролюють синтез білків, які реалізують фізіологічну функцію даного гормону.

25.4. ГОРМОНИ — РЕГУЛЯТОРИ ГОМЕОСТАЗУ КАЛЬЦІЮ

Іони Ca^{2+} є інтегральними компонентами багатьох біоструктур та еволюційно прадавними внутрішньоклітинними месенджерами, що регулюють множинні метаболічні процеси і фізіологічні функції.

Шляхом зміни своєї внутрішньоклітинної концентрації кальцій контролює перебіг життєво важливих біохімічних реакцій і бере участь у реалізації ефектів більшості фізіологічно активних сполук, які спричиняють активацію фізіологічних функцій різноманітних клітин, що дозволило образно назвати цей макроелемент “королем месенджерів” (H.Rasmussen, B.Goodman, 1977).

Розподіл кальцію в організмі

Загальна кількість кальцію в тілі дорослої людини досягає 1 кг, близько 99 % якого локалізовано в кістках, де кальцій разом із фосфатами утворює кристали *гідроксіапатиту*, що складають основу неорганічної структури скелета. Зовнішньоклітинна концентрація іонів кальцію (Ca^{2+}) є величиною порядку 10^{-3} М, внутрішньоклітинна — 10^{-6} – 10^{-8} М. Всередині клітин Ca^{2+} локалізований (“секвестрований”) переважно в мітохондріях та структурах ендоплазматичного (саркоплазматичного) ретикулума; біологічно активні сполуки (гормони, медіатори, лікарські засоби тощо) спричиняють зростання концентрації іону в цитозолі (та активацію фізіологічних функцій клітини) за рахунок його входу ззовні через канали плазматичних мембран та (або) вихід Ca^{2+} із внутрішньоклітинних депо (мобілізація внутрішньоклітинного кальцію).

Концентрація кальцію в плазмі крові є однією з гомеостатичних констант організму людини, складаючи в нормі 2,25–2,85 ммоль/л (Є.М.Нейко, В.І.Боцюрко, 1998). Кальцій у плазмі крові знаходиться у вигляді трьох молекулярних форм:

- в іонізованому вигляді (1,05–1,20 ммоль/л) — біологічно найбільш активний кальцій;
- у вигляді кальцію, зв’язаного з білками, переважно з сироватковим альбуміном (приблизно половина всього кальцію плазми);
- у вигляді слабко дисоціюючих солей з аніонами органічних та неорганічних кислот, зокрема цитратами, фосфатами тощо (близько 6 % загального вмісту кальцію в плазмі).

Гомеостаз кальцію

Як загальна кількість кальцію в організмі, так і концентрація його іонізованої форми в екстрацелюлярних просторах та всередині клітин, тобто гомеостаз кальцію, визначається функціонуванням таких анатомо-фізіологічних систем:

1. Кісток скелета — резервуара кальцію.

Клітинні елементи кісткової тканини здійснюють не тільки утворення кісток, але й виконують найважливішу функцію контролю кальцієвого гомеостазу в організмі:

а) завдяки діяльності клітин, що утворюють кісткову тканину (*остеобластів*) відбувається як біосинтез компонентів *остеоїду* — органічного матриксу кісткової тканини (містить колаген І типу — близько 90 % всіх білків кісткового матриксу, глікопротеїни та протеоглікани), так і відкладення впродовж колагенових фібрил кристалів гідроксіапатиту кальцію, тобто *мінералізація остеоїду*;

б) завдяки функціонуванню *остеокластів* (похідних моноцитів) — клітин, що здійснюють резорбцію (*resorptio* — лат.) кісткової тканини, відбувається звільнення кальцію, що зв’язаний з органічним матриксом кісток, та вихід Ca^{2+} в кров.

2. Тонкої кишки, у верхніх відділах якої здійснюється всмоктування (абсорбція та реабсорбція) кальцію і фосфатів, які споживаються у складі продуктів харчування або надходять у порожнину кишечника внаслідок звільнення цих іонів у процесі метаболізму.

3. Нирок, уздовж каналців яких відбувається реабсорбція іонів кальцію та фосфатів.

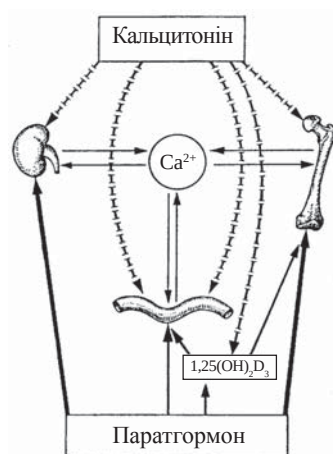


Рис. 25.4. Шляхи контролю гомеостазу кальцію з боку паратгормону, кальцитріолу та кальцитоніну. (В.Б. Розен, 1984).

У свою чергу, ефекторна функція кісток, кишечника та нирок відносно обміну та гомеостазу кальцію є об'єктом гуморального контролю з боку трьох фізіологічно активних сполук, які є головними регуляторами кальцієвого балансу в організмі: паратгормону, кальцитріолу (вітаміну D_3) та кальцитоніну (рис. 25.4).

Паратгормон

Паратгормон (паратиреоїдний гормон) — сполука, що синтезується в головних і ацидофільних клітинах паращитовидних залоз.

За хімічною природою є простим білком (м.м. = 9,5 кД), який має один поліпептидний ланцюг, що складається з 84 амінокислотних залишків. Паратгормон синтезується на рибосомах у формі *препропаратгормону* (115 амінокислотних залишків), який підлягає процесингу в ендоплазматичному ретикулумі та апараті Гольджі з утворенням спочатку *пропаратгормону* (90 амінокислотних залишків), а потім — паратгормону.

Паратгормон має *гіперкальціємічний* ефект, водночас зменшуючи концентрацію в крові фосфатів, що є результатом його впливу на обмін цих сполук в таких ефекторних системах:

— у **кістковій тканині** паратгормон стимулює функціональну активність *остеокластів*, що призводить до резорбції як органічного матриксу, так і неорганічних структур кістки із звільненням кальцію та фосфатів і виходом їх у екстрацелюлярний простір та в кров. Внутрішньоклітинними посередниками в дії паратгормону на остеокласти виступають іони кальцію, які надходять у клітини внаслідок взаємодії гормону з мембранними рецепторами і, після сполучення з кальмодуліном спричиняють активацію синтезу ферментів, що беруть участь у резорбції кісткової тканини.

— в **нирках** паратгормон збільшує реабсорбцію Ca^{2+} в дистальних відділах канальців та, навпаки, пригнічує реабсорбцію фосфатів, що може призводити при аномальному зростанні кількості гормону в організмі (див. нижче) до фосфатурії та гіпофосфатемії;

— в **кишечнику** дія паратгормону призводить до стимуляції всмоктування Ca^{2+} в кров через апікальні мембрани ентероцитів; цей ефект гормону є опосередкованим за рахунок його позитивного впливу на біосинтез *кальцитріолу*, який є справжнім активатором абсорбції кальцію в кишечнику.

Кальцитріол ($1,25(OH)_2D_3$)

Кальцитріол — сполука гормонального типу дії, що утворюється в організмі з біологічного попередника, яким в організмі людини та вищих тварин є жиророзчинний вітамін D_3 (*холекальциферол*).

Біологічна функція кальцитріолу полягає в стимуляції всмоктування Ca^{2+} та фосфатів в кишечнику. Кальцитріол є єдиною природною фізіологічно активною

сполукою, ефект якої полягає в транспортуванні Ca^{2+} проти концентраційного градієнта, що існує на мембрані ентероцитів; тим самим кальцитріол підтримує фізіологічні концентрації кальцію і фосфатів у плазмі крові, що забезпечує умови для нормальної побудови кісткової тканини.

Молекулярні механізми дії кальцитріолу принципово аналогічні таким для інших стероїдних гормонів: в цитозолі клітин кишечника гормон сполучається з білковим рецептором (м.м. близько 9-10 кД), який (у комплексі з кальцитріолом) транслокується в ядро, де, взаємодіючи з ядерним хроматином, активує експресію генів, що контролюють синтез Са-зв'язуючих білків. Кальцитріолзалежні Са-зв'язуючі білки ентероцитів і є біохімічними ефекторами, необхідними для транспорту кальцію в кишечнику через апікальні мембрани ентероцитів. В умовах D-авітамінозу — клінічно проявляється, як *рахіт*, Са-зв'язуючі білки в клітинах кишечника відсутні, що визначає комплекс біохімічних та патофізіологічних змін, властивих цій патології.

Біосинтез кальцитріолу

Кальцитріол синтезується із 7-дегідрохолестерину (продукту дегідрування холестерину) в результаті складної послідовності біохімічних реакцій, що включають міжорганный перенос кров'ю певних молекул-попередників (рис. 25.5); деяка кількість вітаміну D_3 надходить в організм з продуктами харчування (тваринні жири, печінка риб, жовток курячого яйця тощо).

Як впливає із схеми, що наведена, біосинтез фізіологічно активних похідних вітаміну D_3 включає такі етапи:

(1) утворення вітаміну D_3 (кальціолу, холекальциферолу) в шкірі (мальпігієвому шарі епідермісу) з 7-дегідрохолестерину в результаті

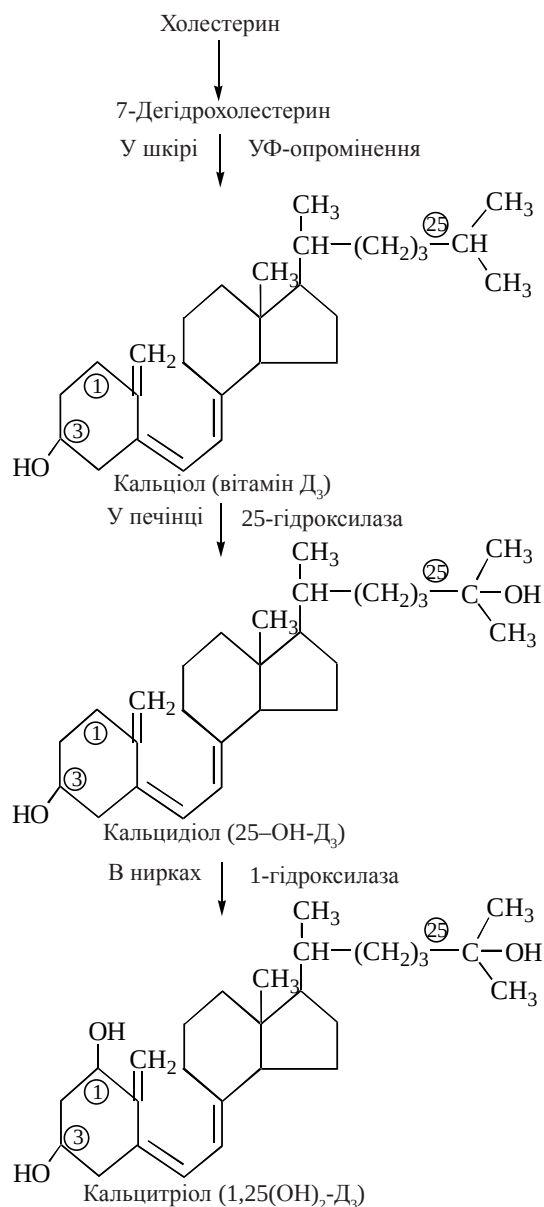


Рис. 25.5. Схема біосинтезу кальцитріолу.

неферментативного *фотолізу*, що спричиняється променями ультрафіолетової ділянки сонячного світла;

(2) транспорт вітаміну D_3 ендogenous або екзогенного походження (із шкіри або кишечника) в печінку за допомогою *D-зв'язуючого білка* крові;

(3) перетворення в гепатоцитах вітаміну D_3 (*кальціолу*) на *кальцидіол* ($25\text{-OH-}D_3$); цей процес (*25-гідроксильовання*) відбувається в мембранах ендоплазматичного ретикулума і каталізується (як і інші реакції гідроксильовання стероїдів) специфічною *монооксигеназою* (*мікросомальною оксигеназою мішаної функції*), що є однією з ізоформ цитохрому P-450;

(4) $25\text{-OH-}D_3$, що утворився в печінці, має певні кальційзв'язуючі властивості, але для його повної активації необхідне додаткове гідроксильовання, яке відбувається в нирках, куди *кальцидіол* надходить із гепатоцитів, транспортуючись кров'ю у комплексі з *D-зв'язуючим білком*;

(5) перетворення в мітохондріях ниркових каналців *кальцидіолу* ($25\text{-OH-}D_3$) на *кальцитріол* — $1,25(\text{OH})_2D_3$. Процес каталізується *1-гідроксилазою* — ферментним комплексом, до складу якого входять електронотransпортний білок *фередоксин*, нирковий флавопротеїн *фередоксин-редуктаза* та одна з ізоформ цитохрому P-450. У результаті реакції утворюється $1,25(\text{OH})_2D_3$ — найбільш біологічно активне похідне вітаміну D_3 . Синтез вітаміну D_3 в нирках здійснюється за участю паратгормону, який необхідний для нормального перебігу ферментних реакцій окислювального гідроксильовання.

Кальцитонін

Кальцитонін — гормон, який синтезується в парафолікулярних (С-клітинах) щитовидної залози. Це поліпептид (м.м. 3 кД), що складається з 32 амінокислотних залишків і синтезується у вигляді *препрокальцитоніну* (м.м. — близько 13 кД), який у результаті посттрансляційного процесингу послідовно перетворюється на *прокальцитонін* і *кальцитонін*.

На відміну від паратгормону та кальцитріолу, кальцитонін є гормоном *гіпокальціємійної дії*, що зменшує концентрацію в плазмі крові Ca^{2+} та неорганічних фосфатів. Механізм дії кальцитоніну полягає в пригніченні функції остеокластів та зменшенні їх утворення з клітин попередників; у результаті цих клітинних ефектів резорбція як органічної, так і неорганічної складової кісткового матриксу гальмуються, що призводить до зменшення надходження в кров кальцію та фосфатів. Фізіологічним стимулятором секреції кальцитоніну є зростання концентрації Ca^{2+} в плазмі крові.

Порушення кальцієвого гомеостазу

Найбільш поширеними клінічно окресленими порушеннями гомеостазу кальцію є патологічні синдроми, пов'язані з дефіцитом вітаміну D_3 (які проявляються як *рахіт* у дітей і різні форми *остеопорозу* в дорослому та похилому віці) та захворювання, спричинені первинною патологією паращитовидних залоз — *гіпер-* та *гіпопаратиреоз*.

Рахіт — захворювання дитячого віку, яке спричиняється зменшенням надходження та (або) синтезом в організмі вітамінів групи D — тваринного D_3 (холекальциферолу) та рослинного D_2 (ергокальциферолу). Вірогідність захворювання значно зростає в умовах недостатнього опромінення шкіри дитини сонячним світлом,

що є необхідним для утворення вітаміну D₃ з 7-дегідрохолестерину. Основними проявами рахіту є гіпокальціємія та гіпофосфатемія, які призводять до глибоких порушень кальцифікації кісткової тканини та специфічних змін скелета.

Гіперпаратиреоз — група захворювань, розвиток яких пов'язаний із надлишковою секрецією паратгормону, аномальним збільшенням внаслідок цього концентрації кальцію в сироватці крові і гіпофосфатемією. Первинний гіперпаратиреоз — патологія, що спричиняється наявністю в паращитовидних залозах гормонально активних пухлин — аденоми, карциноми або гіперплазії залози. Провідними симптомами захворювань цієї групи є ураження кісткової системи (проявляється демінералізацією кісток — *остеопорозом*) та нирок із розвитком сечокам'яної хвороби (внаслідок відкладання солей та утворення каменів, що складаються з оксалату та фосфату кальцію) і нефрокальцинозу.

25.5. ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНІ ЕЙКОЗАНОЇДИ

Ейкозаноїди — сполуки, що належать до біорегуляторів клітинних функцій ліпідної природи. Ейкозаноїди є фізіологічно активними похідними арахідонової (ейкозатетраєн-5,8,11,14-ової, C_{20:4}) кислоти.

Залежно від особливостей хімічної структури, *ейкозаноїди* поділяються на: *простагландини*, *тромбоксани* та *лейкотрієни* — сполуки, що розрізняються будовою та спектрами біологічної дії. Окрім похідних арахідонової кислоти, деякі сполуки з класу простагландинів є похідними α - та γ -ліноленової кислоти.

Ейкозаноїди, як і гормони, належать до *сигнальних молекул*, що контролюють течію внутрішньоклітинних процесів, але, на відміну від справжніх гормонів, вони утворюються не в залозах внутрішньої секреції, а безпосередньо в тканинах і в багатьох випадках виступають посередниками в реалізації певних ефектів інших гормонів та медіаторів на клітину. Біологічні функції простагландинів та інших ейкозаноїдів реалізуються в надзвичайно низьких концентраціях — близько 10⁻¹¹ моль/л.

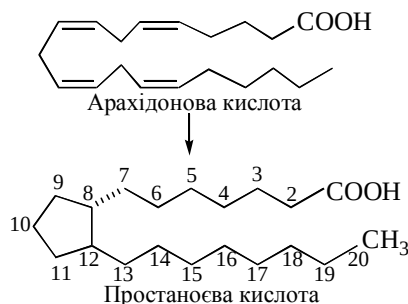
Наявність у сім'яній рідині фізіологічно активних сполук, що впливають на тонус гладенької мускулатури матки та інших органів, зокрема зменшують артеріальний тиск, була вперше встановлена в 1935 р. У. Ейлером, який запропонував термін — *простагландини*. Питання хімічної будови та синтезу з арахідонової кислоти простагландинів і структурно близьких до них сполук були вивчені в 70-х роках С. Бергстромом (S. Bergstrom), Дж. Вейном (J. Vane) та Б. Самуельсоном (B. Samuelsson).

Номенклатура ейкозаноїдів

Ейкозаноїди поділяються на декілька класів фізіологічно активних сполук: *простагландини* та структурно близькі до них *простацикліни*; *тромбоксани*; *лейкотрієни*.

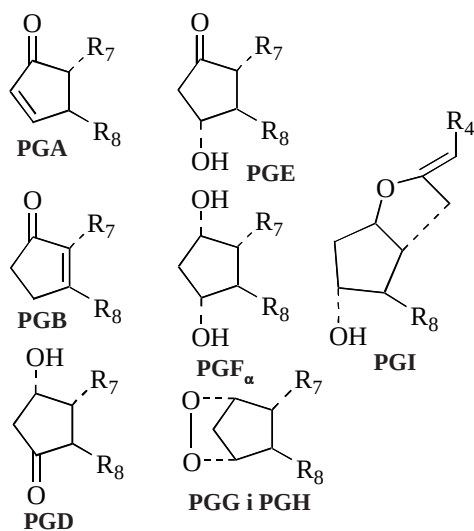


Рис. 25.6. **Ейлер (Euler) Ульф** (1905-1983), шведський фізіолог, професор Каролінського ун-ту. Першовідкривач простагландинів, норадреналіну, сполуки Р. Нобелівська премія (1970).



1. Простагландини — гідроксипохідні 20-вуглецевих жирних кислот, що містять у своїй структурі 5-членний цикл.

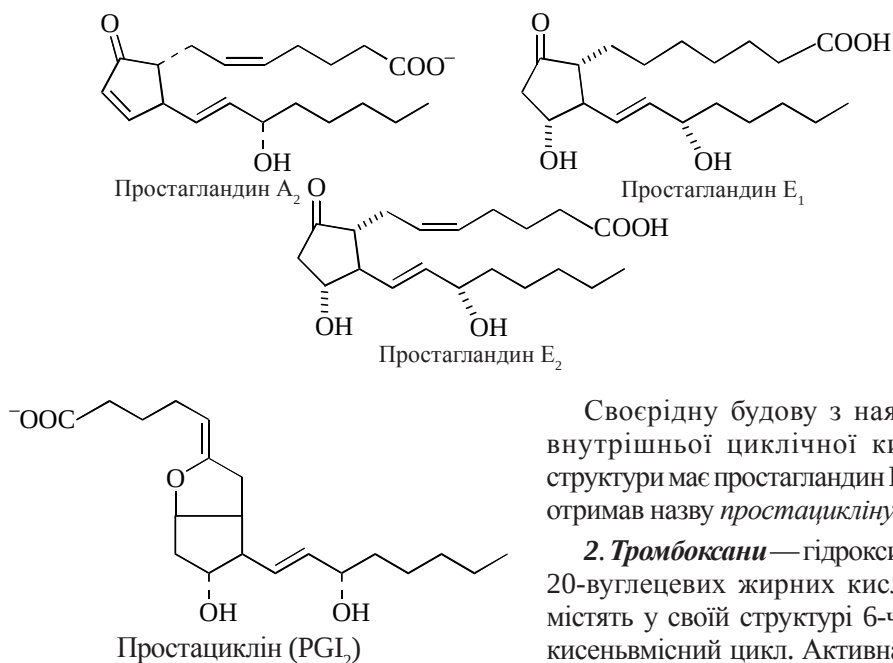
Простагландини та простацикліни разом складають клас *простаноїдів* — похідних *простаноевої кислоти*, яка утворюється за рахунок замикання зв'язку між 8-м та 12-м вуглецевими атомами в молекулі арахідонової кислоти:



Простагландини позначаються скорочено ПГ (PG — англ.) з додаванням заголовної літери латинського алфавіту (A, B, D, E, F, G, H, I), цифрового індексу, що вказує на кількість подвійних зв'язків у бічному ланцюзі, та (в деяких випадках) — літер і грецького алфавіту (позначає певний ізомер). Довжина бічних ланцюгів в більшості простагландинів складає 7 або 8 вуглецевих атомів:

Окремі представники простагландинів розрізняються наявністю та розташуванням кето- або гідроксильної групи в кільці або бічному ланцюзі, будовою бічних ланцюгів (R_7 , R_8 , R_4), наявністю в них подвійних зв'язків.

Приклади структури деяких поширених простагландинів:



Своєрідну будову з наявністю внутрішньої циклічної кисневої структури має простагландин PGI_2 , що отримав назву *простацикліну*:

2. Тромбоксани — гідроксипохідні 20-вуглецевих жирних кислот, що містять у своїй структурі 6-членний кисеньвмісний цикл. Активна форма

тромбоксанів — *тромбоксани А* мають внутрішній атом кисню в гетероциклічному кільці:

Біосинтез простагландинів та тромбоксанів

Метаболічне джерело в синтезі всіх ейкозаноїдів — арахідонова кислота ($C_{20:4}$) утворюється за рахунок дії на мембранні гліцерофосфоліпіди ферменту *фосфоліпази A_2* .

Ключовою подією у вступі вільної арахідонової кислоти на шлях біосинтезу простагландинів і тромбоксанів є дія *простагландин-синтазного комплексу*, який за рахунок *циклооксигенази* та *пероксидази* послідовно перетворює арахідонат на простагландин G_2 та простагландин H_2 — безпосередній попередник протанойдів та тромбоксанів:

3. Лейкотрієни — гідроксипохідні арахідонової кислоти, спряжені трієни, що, на відміну від інших ейкозаноїдів, не містять у собі циклічної структури. Залежно від особливостей хімічної будови, розрізняють декілька типів лейкотрієнів (LT — англ.), найпоширенішими з яких є LTA_4 , LTB_4 , LTC_4 , LTD_4 , LTE_4 .

Біосинтез лейкотрієнів здійснюється шляхом введення атомів кисню в молекулу арахідонової кислоти; окиснення арахідонату в 5-му положенні призводить до утворення гідропероксиду *5-гідроперокси-ейкозатетрасної кислоти* — 5-ГПЕТЕ (5-НРЕТЕ — англ.) — метаболічного попередника біологічно активних лейкотрієнів.

Реакція синтезу 5-ГПЕТЕ каталізується ферментом діоксигеназного типу дії — *5-ліпоксигеназою* (ліпоксигеназою). Утворення 5-ГПЕТЕ та активних лейкотрієнів відбувається переважно в клітинах крові — у лейкоцитах різних класів, тромбоцитах, макрофагах, що відображає провідну роль лейкотрієнів у реакціях запалення, згортанні крові, алергічних, імунних процесах.

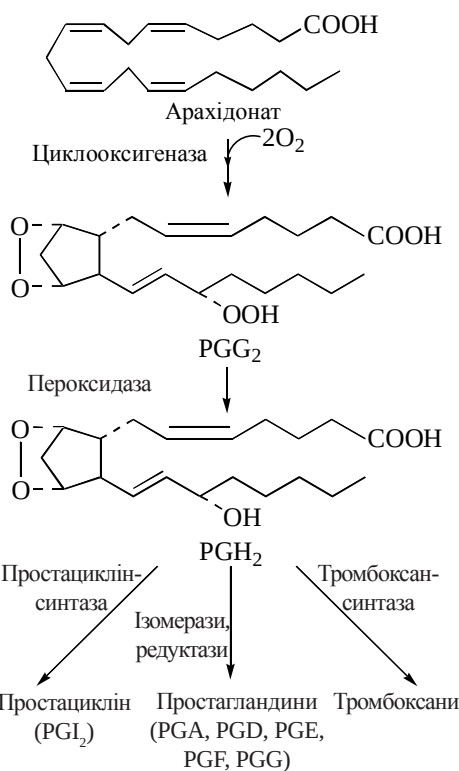
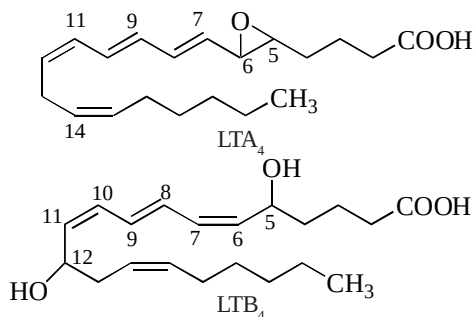


Схема біосинтезу протанойдів та тромбоксанів.



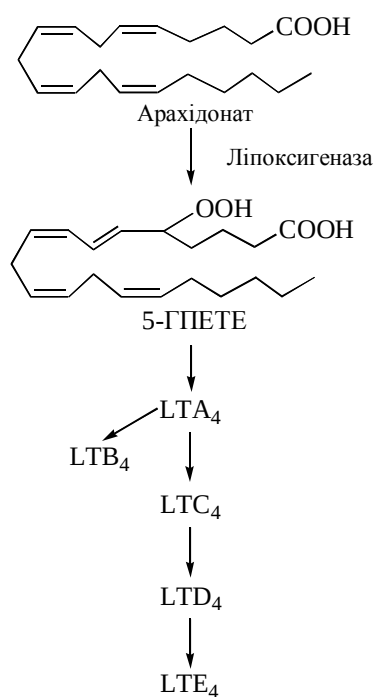


Схема біосинтезу лейкотрієнів.

Фізіологічні та фармакологічні властивості ейкозаноїдів

1. Біологічні функції *простагландинів* здебільшого пов'язані з багатобічним впливом на скорочувальну функцію гладеньких м'язів, проте окремі простагландини мають різні фізіологічні ефекти, які, до того ж, відрізняються в певних тканинах-мішенях. Такі властивості простагландинів дозволяють розглядати порушення їх обміну як важливі фактори патогенезу гіпертонічної хвороби, бронхіальної астми, слабкості пологової діяльності тощо і застосовувати препарати ейкозаноїдів у фармакотерапії.

Так, наприклад, простагландини сімейств А та Е знижують артеріальний тиск у нормотензивних тварин та у пацієнтів, хворих на гіпертонічну хворобу; простагландини сімейства Е спричиняють розслаблення гладеньких м'язів бронхів та трахеї, тоді як простагландини Е, навпаки, викликають їх скорочення. Характерною особливістю простагландинів Е₂ та F₂ (які містяться в сім'яній рідині) є їх унікальний

стимулюючий ефект стосовно м'язів матки, що сприяє переміщенню сперматозоїдів у порожнину фаллопієвих труб, де відбувається запліднення; похідні цих простагландинів (PGE₂ та PGF₂) в більш високих (фармакологічних) дозах використовуються як засоби для індукції пологів та протизапліднюючі засоби (препарати *Динопрост*, *Динопростон*).

Клінічно важливою властивістю простагландину Е₁ є його вплив на слизову оболонку шлунка: у фармакологічних дозах PGE₁ гальмує базальну та стимульовану секрецію соляної кислоти, захищає клітини слизової оболонки від пошкоджуючих хімічних подразників (цитопротекторна, антиульцеровгенна дія); у зв'язку із зазначеним, препарати простагландину Е₁ (*Мізопростол*, *Цитотек*) є ефективними засобами сучасної терапії виразкової хвороби.

Біологічні ефекти простагландинів проявляються, здебільшого, в тих гормоночутливих тканинах, де вторинним посередником в дії гормонів на клітину є цАМФ; активація мембранної аденілатциклази доведена, зокрема, для дії таких простаноїдів, як PGE та простациклін.

2. *Простациклін* є простаноїдом, що продукується ендотеліальними клітинами судин. Його фізіологічні ефекти полягають у вазодилатації, особливо стосовно коронарних артерій, та в протизгортальній дії — PGI₂ протидіє агрегації тромбоцитів та їх адгезії з поверхнею ендотелію, що є найбільш потужним з відомих у наш час інгібіторів коагуляції крові і тромбоутворення.

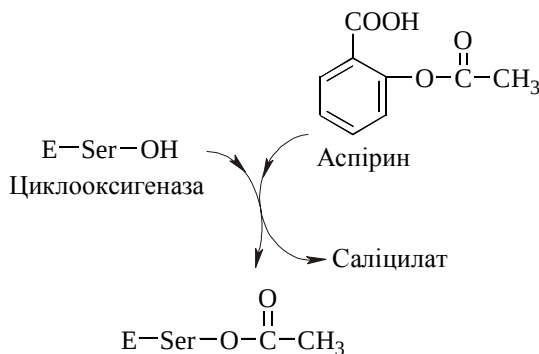
3. *Тромбоксани* є фізіологічними антагоністами антитромботичних ефектів *простацикліну*. На відміну від простацикліну, тромбоксани, особливо тромбоксан А₂, що

також утворюється в інтимі кровоносних судин, спричиняє скорочення гладеньких м'язів судин та сприяє агрегації тромбоцитів. Біохімічні механізми проагрегантної дії тромбоксану полягають у його позитивному впливі на мобілізацію з внутрішньоклітинних депо іонів Ca^{2+} , які спричиняють активацію скорочувальних білків тромбоцитів і їх адгезію на поверхні ендотелію.

4. Важливою функцією ейкозаноїдів різних класів, особливо *простагландинів* та *лейкотрієнів*, є їх участь у розвитку і регуляції такого загальнопатологічного процесу, як *запалення*, яке є біологічним захистом тканин на дію пошкоджувальних факторів.

Було встановлено, що в ділянках запалення продукується значна кількість простагландинів, особливо PGE_2 , які стимулюють розвиток запального процесу, зокрема за рахунок посилення ефектів гістаміну, брадикініну, серотоніну та інших медіаторів запалення; до того ж, простагландини самі по собі можуть спричиняти проявлення певних компонентів запальної реакції. Важливими факторами хемотаксису поліморфноядерних лейкоцитів у вогнищі запалення є лейкотрієни LTB_4 ; комплекс лейкотрієнів (LTC_4 , LTD_4 , LTE_4) входить до складу "повільно реагуючої субстанції анафілаксії". Таким чином, зазначені ейкозаноїди можна розглядати як справжні *медіатори запалення*, що продукуються клітинами ретикулоендотеліальної системи, разом з амінами та пептидами, у відповідь на механічне, хімічне, термічне та інші пошкодження тканин.

Відповідно до розглянутих властивостей ейкозаноїдів, біологічно активні сполуки природного та синтетичного походження, що гальмують продукцію простагландинів, можуть застосовуватися як протизапальні засоби. Такий механізм дії мають давно відомий ефективний фармакологічний засіб *Аспірин* та близькі до нього лікарські засоби. Як було встановлено в 1971-1973 рр. англійським фармакологом Дж.Вейном (J.Vane), в основі протизапальної дії аспірину (ацетилсаліцилової кислоти) знаходиться гальмування синтезу простагландинів за рахунок незворотного блокування *простагландин-синтази* (циклооксигенази). Ацетилсаліцилова кислота, що є хімічним субстратом фармакологічного препарату *Аспірину*, інгібує *циклооксигеназу* шляхом ацетилювання серинової OH-групи в активному центрі ферменту:



Подібний механізм фармакологічної дії мають інші *нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ)*, які є в наш час найбільш широко розповсюдженими у всьому світі лікарськими засобами, що вживає населення.

Здатність ацетилсаліцилової кислоти блокувати циклооксигеназний шлях біосинтезу ейкозаноїдів, в тому числі утворення тромбоксану A_2 , є біохімічною основою антиагрегантної, антитромботичної дії тривалого профілактичного застосування невеликих доз Аспірину.

протеаз, що послідовно активуються після утворення комплексу антиген-антитіло і спричиняють розщеплення мембранних структур клітин, які підлягають руйнації в процесі імунної реакції.

Існує дев'ять основних компонентів (білкових субодиниць) системи комплементу, які позначають C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9. Субодиниця C1 є комплексом, що складається з трьох білків: C1q, C1r, C1s. У фізіологічних умовах білкові компоненти системи комплементу знаходяться в плазмі крові в неактивному стані. Активовані форми білків комплементу позначаються рискою над відповідною латинською цифрою: C1, C2 тощо. Біохімічні характеристики білків системи комплементу людини подано в таблиці 30.2.

Т а б л и ц я 30.2. Білки системи комплементу людини

Білок комплементу	Молекулярна маса, кД	Фракція глобулінів крові	Концентрація в плазмі крові*, г/л $\times 10^{-3}$
C1	900	α_2, β, γ	
C1q	400	γ	60
C1r	168	β	50
C1s	79	α_2	40
C4	230	β_1	600
C2	117	β_2	25
C3	185	β_1	1300
C5	170	β_1	80
C6	125	β_2	80
C7	130	β_2	60
C8	150	γ	60
C9	79	α_2	60

* Э.Н. Шляхов, Л.П. Андриеш, 1985

Активация системы комплемента реализуется за одним из механизмов — классическим или альтернативным (рис. 30.2). За умов дії будь-якого з означених механізмів ключовою подією в активації системи комплементу є активація компоненту C3, який має аутокаталітичні властивості, запускаючи каскад ферментативних реакцій за участю термінальних компонентів C7, C8 та C9.

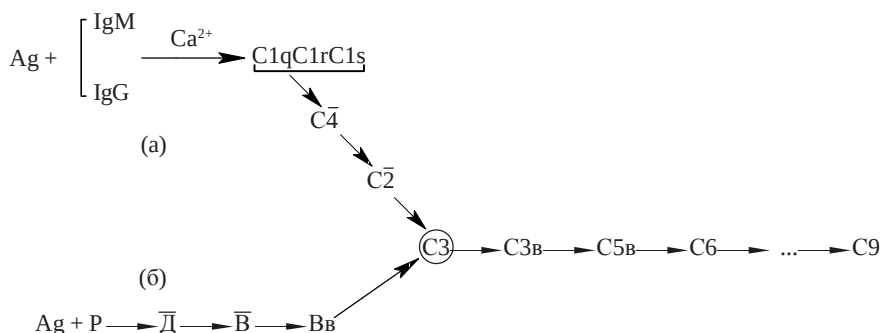


Рис. 30.2. Активация комплемента за классическим (а) та альтернативним — пропердиновим (б) механізмами (Ag — антиген).

Розділ VI. БІОХІМІЯ ФІЗІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ ТА СПЕЦІАЛІЗОВАНИХ ТКАНИН

ГЛАВА 26. БІОХІМІЯ ХАРЧУВАННЯ ЛЮДИНИ І. КОМПОНЕНТИ ХАРЧУВАННЯ. ТРАВЛЕННЯ ПОЖИВНИХ РЕЧОВИН

Харчування, тобто постійне надходження в організм з їжею певної кількості поживних сполук, є необхідною передумовою життєдіяльності людини, яка забезпечує нормальний обмін речовин, динамічний стан усіх біомолекул, клітинних та позаклітинних структур.

26.1. КОМПОНЕНТИ НОРМАЛЬНОГО ХАРЧУВАННЯ ЛЮДИНИ

До складу раціону харчування здорової людини повинні входити, насамперед, *поживні сполуки*, що виконують енергетичну, структурну (пластичну) функції або необхідні для функціонування певних ферментних систем, входячи до їх складу.

Поживні сполуки (нутриєнти), що входять як складові компоненти до нормального харчування людини, поділяються на:

- **макрокомпоненти** — вуглеводи, жири, білки;
- **мікрокомпоненти** — вітаміни і неорганічні елементи, що потрібні для життєдіяльності в незначних кількостях (звичайно, менше 1 г/добу).

Вуглеводи, жири (нейтральні жири) та білки, що надходять в організм із їжею, в шлунково-кишковому тракті розщеплюються до глюкози (яка утворюється, в основному, з крохмалю їжі) та деяких інших моносахаридів, гліцеролу, жирних кислот, амінокислот та пептидів, які всмоктуються в травному каналі і надходять у кров. Вуглеводи та жири (і, відповідно, продукти їх травлення) мають енергетичну функцію, забезпечуючи добову потребу організму людини в макроергічних фосфатах (головним чином, АТФ) та відновних еквівалентах. Білки (та амінокислоти, що з них утворюються) також виконують певну енергетичну роль, але більшість амінокислот (переважно, незамінні амінокислоти) використовуються для побудови власних біомолекул та структурних елементів організму. Значну енергетичну цінність має також етанол, що в певних умовах може бути суттєвим компонентом раціону.

Макрокомпоненти їжі — це значною мірою взаємозамінні джерела енергії,

необхідної для життєдіяльності людини; їх енергетичну цінність подано в табл.

Поживні сполуки	Енергетична цінність	
	ккал/г	кДж/г
Вуглеводи	4,1	17,2
Жири	9,3	38,9
Білки	4,2	17,6
Етанол	7,1	29,7

26.1.

Таблиця 26.1. Енергетична цінність основних поживних сполук харчування людини

Здорова доросла людина знаходиться в умовах енергетичної рівноваги, тобто споживання енергетичних матеріалів з продуктами харчування повинно дорівнювати витратам енергії в процесах життєдіяльності. У зв'язку з цією обставиною, нормування харчового раціону людини ґрунтується на:

- індивідуальних витратах енергії певним організмом;
- зазначеній вище енергетичній цінності поживних сполук.

Індивідуальні енергетичні витрати людини визначаються такими фізіологічними факторами:

- *основним обміном*, тобто витратами енергії на підтримання основних фізіологічних функцій організму в умовах спокою;
- *фізичною активністю*, що найбільш суттєво впливає на показники енергетичного обміну; так, зокрема, коливання енерговитрат у стані спокою та максимальної фізичної активності у спортсменів досягають 10-кратних значень;
- *температурою навколишнього середовища*, яка впливає на характер енерговитрат, що спрямовані на зігрівання або охолодження організму.

Рівні енергетичних потреб при помірній фізичній активності та теплового комфорту (і відповідних енерговитрат в умовах енергетичної рівноваги) для чоловіків і жінок, що рекомендовані Науковою радою з їжі та харчування Національної

Стать	Вік, роки	Маса тіла, кг	Енергетичні потреби		
			ккал		кДж
			середні значення	межі коливань	
Чоловіки	23-50	70	2700	(2300-3100)	11300
Жінки	23-50	55	2000	(1600-2400)	8400

академії наук США (Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences, 1980), подано в табл. 26.2.

Таблиця 26.2. Рекомендовані потреби в енергії для дорослих чоловіків і жінок

26.2. ПОТРЕБИ ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ В ПОЖИВНИХ СПОЛУКАХ

Поживні сполуки, що надходять в організм людини з їжею, повинні відповідати зазначеним вище енергетичним потребам та (в разі білків) покривати добові витрати в структурних і каталітичних елементах організму.

Вуглеводи

Вуглеводи є головним джерелом енергії в харчуванні людини. Добова потреба організму здорової людини у вуглеводах дорівнює в середньому 450-500 г. Враховуючи енергетичну цінність вуглеводів (табл. 26.1), така кількість вуглеводів відповідає приблизно 70 (65-75) % потреб у добовій калорійності продуктів харчування.

Оскільки вуглеводи є основним енергетичним джерелом у харчуванні, добова потреба в них прямо пропорційна фізичній активності людини, складаючи для дорослих людей (за Ф.Ф.Босчко, Л.О.Босчко, 1993):

- при розумовій праці — 430 г;
- при фізичній праці:
 - легкій — 490 г,
 - середній — 560 г,
 - важкій — 630 г.

Головним джерелом вуглеводів для організму людини є крохмаль рослинних продуктів (400-450 г/добу). Зерна пшениці, жита, рису, кукурудзи містять 60-80 % крохмалю, бульба картоплі — 15-20 %. Джерелами харчового цукру, який складається переважно із сахарози, є цукровий буряк та цукрова тростина. Рекомендована добова норма харчового цукру для дорослої людини складає близько 50 г, хоча реальні величини його споживання коливаються від 20 до 100 і більше г/добу, залежно від харчових звичок та соціально-економічного стану населення.

Харчові волокна — складаються з полісахаридів — компонентів стінок та екстрацелюлярного матриксу рослинних клітин, що потрапляють до організму людини з фруктами і овочами і не розщеплюються ферментами шлунково-кишкового каналу. До складу харчових волокон входять целюлоза, геміцелюлоза, лігніни, смоли, пектини, пентозани.

У жуйних тварин целюлоза харчових волокон розщеплюється ферментами мікроорганізмів і складає головне джерело метаболічної енергії. Організм людини не містить ферментів, необхідних для перетравлювання зазначених речовин; проте, харчові волокна відіграють значну позитивну роль у фізіології травлення. Вони стимулюють моторну функцію кишечника, сприяють затримці води в товстій кишці і формуванню фекальних мас, адсорбують надлишок холестерину і жовчних кислот, ендогенні та екзогенні токсичні речовини, обмежують приріст аліментарної глюкози в крові після їжі, що має терапевтичне значення в харчуванні хворих на атеросклероз і цукровий діабет.

Важливим фактором раціонального харчування є збалансованість окремих видів вуглеводів у добовому раціоні, які повинні складати (в середньому, відносно загальної маси харчових вуглеводів): полісахариди (крохмаль) — 75 %, цукор (буряковий, тростинний) — 20 %, пектинові речовини — 3 %, клітковина — 2 %.

В умовах нормального раціону харчування близько 75 % вуглеводів, які надходять в організм, окислюються до кінцевих продуктів — діоксиду вуглецю та води, що становить головне джерело утворення АТФ, 20-25 % перетворюються в жири і 2-5 % депонуються у вигляді глікогену. Надмірне споживання вуглеводів, що перевищує безпосередні енергетичні потреби організму, супроводжується актива-

цією ліпогенезу, тобто перетворенням надлишку глюкози та фруктози через ацетил-КоА в жирні кислоти і тригліцериди та холестерин. Із кожних 100 г надлишкових вуглеводів, особливо тих, що надходять в організм у вигляді сахарози — головного компонента харчового цукру синтезується близько 30 г жирів.

Перевищення фізіологічних потреб у простих вуглеводах, зокрема харчовому цукрі, є одним із факторів ризику розвитку таких хвороб, як атеросклероз, гіпертонічна хвороба, цукровий діабет, ожиріння. Разом з тим, споживання цукру (здебільшого у вигляді бурякового та тростинного цукрів, що складаються переважно з сахарози) в економічно розвинених країнах постійно збільшується. У зв'язку з цим, все більшого значення набуває використання харчових замінників цукру, що мають високу солодкість: *сахарину*, *аспартаму* (метилату L-аспартил-L-фенілаланіну) та рослинного білка *монеліну*. Солодкості (в умовних одиницях) природних цукрів та цукрозамінників відносяться як: сахароза : глюкоза : фруктоза : лактоза : сахарин : аспартам : монелін = 1,0 : 0,5 : 1,7 : 0,2 : 400 : 180 : 2 000.

Ліпіди (жири)

Нейтральні жири (жири) — друге за вуглеводами джерело енергії в харчовому раціоні людини, яке отримують, в основному, з тваринними продуктами харчування. Потреба в харчових жирах складає в середньому 60-90 г/добу, що забезпечує близько 30 (від 25 до 35) % потреб у добовій калорійності для дорослої людини.

В умовах звичайного харчування змішаною (тваринною та рослинною) їжею нейтральні жири (триацилгліцероли) складають найбільшу частину (більше 90 %) із сумарної кількості ліпідів, що містяться в продуктах харчування. З їжею людина отримує також декілька грамів складних ліпідів і близько 0,5 г холестерину (в складі тваринних ліпідів).

Крім тваринних жирів, які мають, переважно, енергетичну цінність, людина повинна одержувати 20-25 г рослинних жирів, в тому числі 2-6 г незамінних поліненасичених жирних кислот — лінолевої та ліноленової (А.А.Покровский, 1974), що служать попередниками у синтезі біологічно активних ейкозаноїдів. Незамінні жирні кислоти в значній кількості містяться у жирах рослинного походження, а також у рибі та птиці; вміст цих сполук в інших м'ясних та молочних продуктах значно нижчий. Достатнє споживання жирів із високим вмістом поліненасичених жирних кислот розглядається в наш час як важлива передумова профілактики атеросклерозу, ішемічної хвороби серця та порушень мозкового кровообігу у насе-

Харчовий жир	Насичені жирні кислоти	Ненасичені жирні кислоти:		
		мононенасичені	поліненасичені	сума
Вершкове масло	60	36	4	40
Свиний жир	59	39	2	41
Яловичий жир	52	45	3	48
Курячий жир	38	44	18	62
Кукурудзяна олія	15	31	54	85
Соева олія	14	34	52	86

лення промислово розвинених країн. Середній жирнокислотний склад найбільш поширених харчових жирів подано в табл. 26.3:

Т а б л и ц я 26.3. Вміст насичених та ненасичених жирних кислот (% від загального вмісту) у поширених тваринних і рослинних жирах

Білки

Білки — поживні речовини, які мають насамперед пластичну цінність для

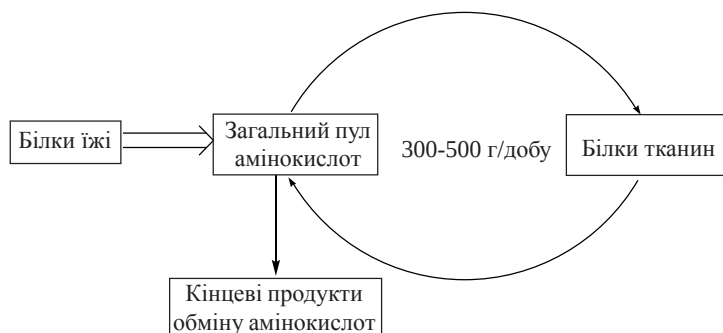


Рис. 26.1. Схема використання білків продуктів харчування в організмі людини.

організму людини; амінокислоти, що входять до їх складу, є джерелом для побудови клітинних та тканинних білків власних біоструктур — рис. 26.1. Енергетичне значення білків в умовах нормального харчування невелике; при достатній забезпеченості вуглеводами та жирами безазотисті залишки амінокислот використовуються в загальному пулі метаболічного палива незначною мірою.

Для визначення потреби організму людини в білках користуються поняттям *азотистого рівноваги*, яка визначається як стан, при якому кількість азоту, що надходить в організм (в основному, у складі білкових компонентів продуктів харчування) дорівнює кількості азоту, що виділяється з організму (головним чином, у вигляді сечовини та солей амонію). В умовах фізіологічного спокою та відсутності фізичного навантаження азотиста рівновага встановлюється за умов надходження до організму близько 23 г білків. Але враховуючи різну біологічну цінність білків змішаного раціону харчування в реальних умовах існування, істинні потреби людини в білках значно вищі.

Реальна добова потреба в білках залежить від віку, статі людини та біологічної цінності білків, становлячи в середньому (за R.Berkow (Ed.): The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 1992):

- для чоловіків: віком 19-24 роки — 58 г;
віком 25-50 років — 63 г;
- для жінок: віком 19-24 роки — 46 г;
віком 25-50 років — 50 г.

Біологічна цінність білків залежить від таких факторів:

- а) амінокислотного складу білків, що входять до складу продуктів харчування;
- б) здатності організму людини, зокрема ферментних систем травного каналу, засвоювати певні білки.

Амінокислотний склад харчового білка є визначальним фактором у спроможності організму людини до його засвоєння. Серед двадцяти L-амінокислот, що входять до складу природних білків, ферментні системи людського організму здатні синтезувати *de novo* з інших інтермедіатів у достатній кількості лише вісім амінокислот, а саме: *аланін, аспарагінову кислоту, аспарагін, глутамінову кислоту, глутамін, пролін, гліцин, серин*.

Решта амінокислот ферментними системами організму людини не синтезуються — так звані *незамінні амінокислоти*, до яких належать: *валін, лейцин, ізолейцин, треонін, метіонін, фенілаланін, триптофан, лізин*. Дві амінокислоти (*аргінін, гістидин*) синтезуються в організмі у недостатній кількості — *частково замінні амінокислоти*. Організм людини залежить від постійного надходження цих десяти амінокислот у складі харчових білків — при відсутності хоча б однієї з незамінних амінокислот синтез білка припиняється. Рекомендовані такі добові потреби в незамінних амінокислотах для молодих дорослих людей — чоловіків (А.Ленінджер, 1985):

<i>Валін</i>	— 1,50 г	<i>Метіонін</i>	— 2,02 г
<i>Лейцин</i>	— 2,02 г	<i>Фенілаланін</i>	— 2,02 г
<i>Ізолейцин</i>	— 1,30 г	<i>Триптофан</i>	— 0,46 г
<i>Треонін</i>	— 0,91 г	<i>Лізин</i>	— 1,50 г

Крім амінокислотного складу, біологічна цінність білків залежить також від здатності до їх перетравлення ферментами шлунково-кишкового тракту з утворенням вільних амінокислот, що утилізуються клітинами. Білки тваринного походження, порівняно з рослинними, містять більше незамінних амінокислот та легше (за винятком деяких структурних білків) гідролізуються протеазами шлунка й кишечника.

Якщо прийняти біологічну цінність умовного білка, що повністю засвоюється в організмі людини, за 100, то біологічну цінність сумарних білків деяких найпоширеніших продуктів харчування можна розмістити в такий ряд:

умовний білок (100) > білки жіночого молока (95) > білки яловичини (93) > > білки курячих яєць (87) > білки коров'ячого молока (81) > білки очищеного рису (63) > білки кукурудзи (36) > білки білого хлібу (30).

Раціональне харчування

Розглянуті норми потреби організму здорової людини в поживних речовинах є передумовою *раціонального харчування*. Проте, реальна структура харчування людей значною мірою залежить від соціальних умов, зокрема економічного стану населення, та етнонаціональних і релігійних факторів. Зазначений вище високий відсоток вуглеводів у добовому раціоні (близько 70 %, а в деяких країнах — до 90 % калорійності) відповідає умовам харчування приблизно 80 % населення земної кулі, яке споживає переважно рослинну їжу. В харчуванні населення економічно високорозвинених країн частка вуглеводів значно менша (близько 45 % добової калорійності), і більшу частину раціону займають високопоживні білки м'яса та молока.

Згідно з рекомендаціями Національної академії наук США, **оптимальне співвідношення внесків окремих поживних речовин у добову калорійність харчо-**

вого раціону повинно складати: вуглеводів — 58 % (крохмаль — 48 %, цукор — 10 %), жирів — 30 % (в тому числі по 10 % — насичених, мононенасичених та поліненасичених), білків — 12 %. Біохімічний склад найбільш поширених продуктів харчування подано в табл. 25.4.

Необхідною умовою раціонального харчування є також збалансованість у

<i>Продукти харчування</i>	<i>Білки</i>	<i>Вуглеводи</i>	<i>Ліпіди (жири тощо)</i>
М'ясо (яловичина)	16-25	1-2	10-20
Риба	15-25	до 1	1-5
Яйця курячі	11-14	1	12
Печінка	20	4-5	3-5
Хліб	6-8	50	1-3
Картопля	2	20	до 1

надходженні в складі їжі вітамінів та життєво необхідних мінеральних елементів, що буде розглянуто в главі 27. З цієї точки зору надзвичайно важливим продуктом харчування, особливо для дитячого організму, є молоко, яке містить значну кількість поживних речовин, необхідних для перебігу метаболізму вітамінів та мікроелементів.

Т а б л и ц я 26.4. Середній вміст поживних речовин у поширених продуктах харчування (% маси продукту)

26.3. МЕХАНІЗМИ ПЕРЕТВОРЕННЯ ПОЖИВНИХ РЕЧОВИН У ТРАВНОМУ ТРАКТІ

Перетравлення поживних речовин (білків, вуглеводів, ліпідів) — це процес гідролізу відповідних сполук у складі продуктів харчування, що відбувається в травному каналі і призводить до утворення простих біомолекул, які за рахунок дії спеціальних механізмів мембранного транспорту всмоктуються у кров.

Початкові процеси травлення відбуваються в ротовій порожнині за участю слини, яка є біологічною рідиною з рН 6,8, що на 99,5 % складається з води і містить різноманітні білки (ферменти, муцини, імуноглобуліни, лізоцим тощо) та неорганічні солі. Слина має змашувальну дію відносно сухих продуктів харчування, під її впливом полегшується процес жування та створюються умови для подальшого перетворення компонентів харчування під впливом специфічних ферментів.

До ферментів слини належать глікозидази, що каталізують певні процеси гідролізу вуглеводів — α -амілаза та мальтаза. Під дією цих ферментів можливе розщеплення крохмалю до високомолекулярних декстринів і мальтози до глюкози, але, оскільки час впливу слини на харчову грудку незначний, — відповідні продукти утворюються в порожнині рота лише в незначній кількості.

Основні процеси травлення поживних речовин їжі відбуваються в шлунку — розщеплення білків до пептидних молекул та в різних відділах тонкого кишечника — розщеплення пептидів, вуглеводів, жирів (ліпідів). Шлунок виробляє власні протеолітичні ферменти (пепсиноген, ренін); кишечник (залози Брунера та Ліберкюна) синтезує деякі пептидази, дисахаридази, фосфоліпази та полінуклеотидази. Травлення в кишечнику неможливе без участі гідролітичних ферментів, які надходять сюди з підшлункової залози — протеаз (трипсину, хімотрипсину,

еластази), карбоксипептидази, амілаз, ліпаз. У процесі травлення жирів беруть участь біохімічні компоненти жовчі, що синтезуються в гепатоцитах печінки.

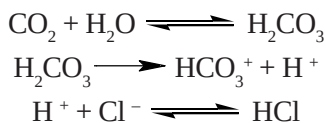
Перетравлення білків

Біохімічні процеси перетравлення білків та пептидів, що надходять до організму людини з їжею, відбуваються в шлунку й тонкій кишці. Гідроліз цих компонентів відбувається під дією ферментів, які виробляються клітинами слизової оболонки травного каналу й екзокринної частини підшлункової залози. Протеази шлунка, кишечника та підшлункової залози гідролізують певні пептидні зв'язки в молекулах білків і пептидів їжі, і в результаті їх послідовної дії утворюється суміш вільних L-амінокислот та найпростіших пептидів, що транспортуються всередину ентероцитів і далі — в кров'яне русло.

Перетравлення білків у порожнині шлунка

Шлунковий сік, під дією якого відбувається гідроліз білків, — це кисла рідина з рН 1,5-2,5. Основними біохімічними компонентами шлункового соку, що беруть участь в перетворенні білків продуктів харчування, є соляна кислота та протеолітичний фермент *пепсин*. Крім того, до складу шлункового соку входять кислі фосфати (переважно NaH_2PO_4) та деякі органічні кислоти, складаючи загальну кислотність шлунка.

Соляна кислота виробляється в спеціальних обкладинних (оксинтних) клітинах слизової оболонки шлунка за участю хлоридів, які надходять із крові. Донором протонів, необхідних для утворення HCl , є вугільна кислота, що утворюється з H_2O та CO_2 за участю карбоангідази:



Секреція іонів H^+ в порожнину шлунка відбувається при дії протонної помпи мембран оксинтних клітин — H^+ , K^+ -АТФази (рис. 26.2).

Концентрація HCl у шлунковому соку складає 0,45-0,60 %. Соляна кислота необхідна для утворення активного ферменту пепсину і прояву максимуму його каталітичної активності.

Пепсин — протеаза з м.м. 42 кД, що синтезується головними клітинами слизової оболонки шлунка у вигляді проферменту *пепсиногену* (м.м. 35 кД). Початкові етапи перетворення пепсиногену в пепсин здійснюються за участю іонів H^+ , які сприяють

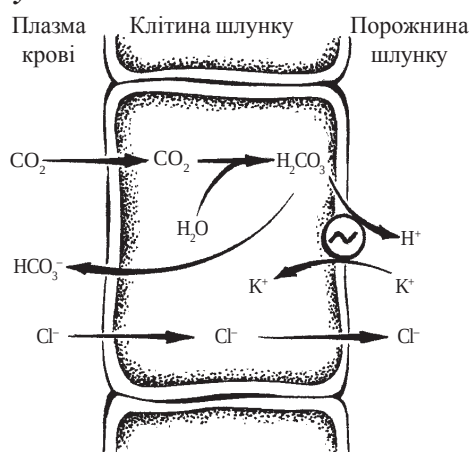
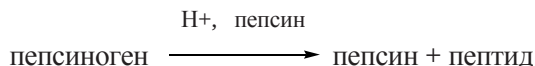


Рис. 26.2. Схема утворення соляної кислоти в шлунку, $\sim \text{H}^+$, K^+ -АТФаза.

відщепленню від молекули проферменту N-кінцевого захисного пептиду, що супроводжується розкриттям активного центру; в подальшому процес стає автокаталітичним — молекули пепсину спричиняють власне утворення з проферменту:



За механізмом дії пепсин є *ендопептидазою*, що специфічно атакує пептидні зв'язки, в утворенні яких беруть участь залишки ароматичних (фенілаланіну, тирозину), а також дикарбонових (глутамату, аспартату) амінокислот. Під дією пепсину білки розщеплюються на великі поліпептидні фрагменти — *пептони*, гідроліз яких завершується в тонкій кишці.

Реннін (*хімозин, сичужний фермент*) — протеаза, що міститься в шлунковому соку новонароджених дітей. Реннін є ферментом, який за участю іонів Ca^{2+} спричиняє перетворення розчинних білків молока — казеїнів у нерозчинні — *параказеїни*, які підлягають протеолітичній дії пепсину (“створожування молока”).

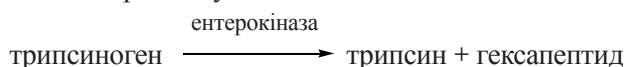
Перетравлення білків в кишечнику

Частково перетравлена напіврідка маса поживних сполук, що утворюється в шлунку (*хімус*) періодично надходить через пілоричний клапан у дванадцятипалу кишку. В цю ж частину травного каналу надходять із підшлункової залози протеолітичні ферменти та пептидази, які діють на пептиди, що надходять зі шлунка. Каталітична дія цих ферментів відбувається в слабколужному середовищі (рН 7,5-8,0), яке утворюється наявними в кишковому соку бікарбонатами NaHCO_3 .

Більшість ферментів протеолітичної дії, що функціонують у тонкій кишці, синтезуються в екзокринних клітинах підшлункової залози у вигляді проферментів, які активуються після їх надходження в дванадцятипалу кишку (*трипсиноген, хімотрипсиноген, проеластаза, прокарибоксипептидази А і В*).

Гідроліз білків та пептидів, що надходять із шлунка, відбувається як у порожнині тонкої кишки, так і на поверхні ентероцитів — *пристінкове, або мембранне травлення*.

Трипсин — протеолітичний фермент з м.м. 24,7 кД, що утворюється в порожнині кишечника з неактивного проферменту трипсиногену під дією *ентерокінази*, яка відщеплює від молекули проферменту N-кінцевий гексапептид з утворенням каталітично активного трипсину:



Трипсин є ендопептидазою, яка найбільш активна відносно пептидних зв'язків, утворених основними амінокислотами аргініном та лізином.

Хімотрипсин — протеолітичний фермент (м.м. 29 кД), який утворюється з проферменту хімотрипсиногену за каталітичної дії трипсину, що відщеплює від молекули проферменту декілька інгібіторних пептидів:



Хімотрипсин є ендопептидазою, яка розщеплює до 50 % пептидних зв'язків в молекулах білків та пептидів їжі, в тому числі зв'язків, нечутливих до дії пепсину

та трипсину.

Еластаза — ендопептидаза, що також має широку субстратну специфічність, розщеплюючи пептидні зв'язки, що утворюються залишками амінокислот малого розміру — гліцину, аланіну, серину.

Утворені при дії зазначених вище ендопептидаз короткі пептиди підлягають дії *екзопептидаз* кишечника — *карбоксипептидаз А і В, амінопептидаз та дипептидаз*.

Карбоксипептидази — пептидази, що гідролізують пептидні зв'язки, утворені С-кінцевими амінокислотами: карбоксипептидаза А відщеплює від С-кінця амінокислоти з гідрофобними радикалами, а карбоксипептидаза В — С-кінцеві залишки лізину й аргініну.

Амінопептидази — ферменти ентероцитів, що відщеплюють від коротких пептидів N-кінцеві амінокислотні залишки.

Дипептидази — пептидогідролази, що розщеплюють дипептиди до вільних амінокислот.

Послідовна дія всього набору шлункових, панкреатичних і кишечних пептидогідролаз забезпечує повне розщеплення білків та пептидів продуктів харчування до амінокислот. У кровотік слизовою оболонкою кишечника всмоктуються тільки вільні амінокислоти.

Перетравлення вуглеводів

Основні реакції розщеплення вуглеводів відбуваються в тонкому кишечнику за рахунок дії ферментів підшлункової залози, що потрапляють у порожнину дванадцятипалої кишки, і власних ферментів кишкового соку. Подібно до перетворення білків та пептидів, поряд з порожнинним травленням, у кишечнику відбувається пристінкове (на поверхні мембран ентероцитів) травлення вуглеводів.

Амілази, що діють у кишечнику — це ферменти α -амілаза (переважно) та β -амілаза, які синтезуються в підшлунковій залозі. Панкреатична α -амілаза — це ендоглікозидаза, подібна до ферменту слини, яка гідролізує крохмаль та глікоген з утворенням суміші розгалужених і нерозгалужених олігосахаридів і деякої кількості мальтози і мальтотріози. β -Амілаза — панкреатична екзоглікозидаза, яка відщеплює від нерозгалужених гомополісахаридних ланцюгів залишки мальтози. Гідроліз гомополісахаридів у точках розгалуження (1 $\rightarrow$ 6) каталізується α (1 $\rightarrow$ 6)-глікозидазою.

Дисахаридози та олігосахаридози — ферменти, що синтезуються в тонкій кишці і спричиняють розщеплення до моносахаридів відповідних цукрів, які утворюються як продукти дії амілаз або надходять до травного каналу в складі рослинних продуктів харчування:

мальтаза (α -глюкозидаза) — фермент, що гідролізує мальтозу та відщеплює термінальні глюкозні залишки з нередукуючих кінців α (1 $\rightarrow$ 4)-зв'язаних олігосахаридів; мальтаза та *ізомальтаза (α (1 $\rightarrow$ 6)-глікозидаза)* завершують розщеплення гомополісахаридів, розпочате амілазами;

лактаза (β -галактозидаза) — фермент, що розщеплює лактозу (молочний цукор) до двох моносахаридів — галактози та глюкози; надзвичайно велике фізіологічне

Перетравлення ліпідів харчових продуктів здійснюється в дванадцятипалій кишці під впливом ферментів, що синтезуються в неактивній формі в екзокринних клітинах підшлункової залози, а саме — *ліпази, фосфоліпази A₂, холестеролестерази* та власних ферментів кишечника.

1. Гідроліз нейтральних жирів відбувається за рахунок дії *ліпази* підшлункової залози. Пankреатична ліпаза специфічна до складноефірних зв'язків в положеннях 1 та 3 триацилгліцеролів, тому продуктами дії ферменту є вільні жирні кислоти та 2-моноацилгліцерол:

Активне функціонування пankреатичної ліпази реалізується за умов оптимальної лужності (рН пankреатичного секрету = 7,5-8,0) та наявності амфіпатичних молекул *жовчних кислот* (головним чином — *глікохолевої* і *таурохолевої*), які необхідні для емульгування харчових жирів і утворення міцел триацилгліцеролів. Процес взаємодії ферментного білка ліпази з поверхнею розподілу фаз у системі *жовчна-кисла сіль/триацилгліцерол* потребує також наявності додаткового фактора — білка *коліпази*, який міститься в секреті підшлункової залози.

Крім емульгування харчових жирів, що є передумовою дії пankреатичної ліпази, жовчні кислоти беруть також участь у формуванні і всмоктуванні міцелярних структур (вільні жирні кислоти, моногліцериди), що формуються після гідролізу триацилгліцеролів.

Основна маса жовчних кислот (90-95 % їх загальної кількості) всмоктується з кров'ю v. porta в нижніх відділах тонкої кишки і надходить у печінку, де повторно використовується для формування жовчі — процес *ентерогепатичної циркуляції*. Таким чином, з каловими масами щодобово виводиться лише до 0,5 г жовчних кислот; їх втрата компенсується за рахунок синтезу в гепатоцитах нових молекул первинних жовчних кислот (холевої та хенодезоксихолевої) з холестерину.

2. Гідроліз фосфоліпідів (гліцерофосфоліпідів) каталізується *фосфоліпазою A₂*, яка синтезується в підшлунковій залозі у вигляді проферменту та перетворюється в активну форму шляхом триптичного гідролізу певних пептидних зв'язків у молекулі каталітично неактивного білка.

Панкреатична фосфоліпаза A₂ гідролізує складноефірні зв'язки в положенні 2 фосфогліцеридів з утворенням лізофосфоліпідів. Інші фосфоліпази, що містяться в кишковому соку, розщеплюють гліцерофосфоліпіди до гліцерину, вищих жирних кислот, азотистих основ та фосфорної кислоти:

3. Гідроліз ефірів холестерину відбувається під дією *холестеролестерази* (гідролази холестерилових ефірів) з утворенням холестеролу, який всмоктується ентероцитами у вільній формі.

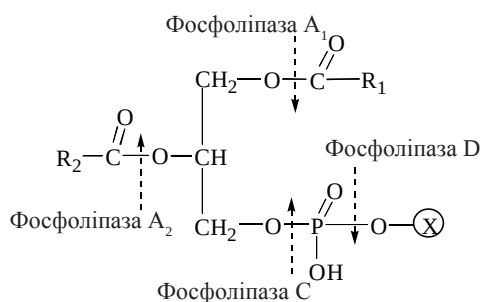


Рис. 26.4. Схема гідролізу молекули гліцерофосфоліпиду (X – азотиста основа).

У результаті розглянутих біохімічних процесів, що відбуваються з харчовими ліпідами в порожнині кишечника, утворюється складна суміш продуктів, основними компонентами якої є:

- вільні вищі жирні кислоти (у вигляді Na^+ та K^+ -солей);
- 2-моноацилгліцероли;
- вільний (неестерифікований) холестерин;
- продукти гідролізу гліцерофосфоліпідів (гліцерин, аміноспирти, солі фосфорної кислоти);
- триацилгліцероли, що містять залишки коротколанцюгових (переважно C_8 - C_{10}) жирних кислот. Такі триацилгліцероли складають до 10 % від загальної кількості нейтральних жирів їжі; вони можуть всмоктуватися епітелієм слизової оболонки тонкої кишки в негідролізованій формі і розщеплюються до гліцерину та жирних кислот всередині ентероцитів.

Всмоктування продуктів перетравлення ліпідів

Складна суміш продуктів гідролізу ліпідів, зазначена вище, утворює ліпідні міцели, які можуть абсорбуватися слизовою оболонкою кишечника, і практично всі жири харчових продуктів надходять до грудної лімфатичної протоки завдяки всмоктуванню цих міцел. Проникнення ліпідних міцел всередину ентероцитів відбувається шляхом піноцитозу або дифузії окремих ліпідних молекул через апікальну мембрану клітин.

Порушення процесів перетравлення ліпідів

Порушення гідролізу та всмоктування харчових ліпідів у кишечнику супроводжуються розвитком *стеатореї* — наявності збільшеної кількості жирів у фекальних масах.

Розрізняють такі види порушень перетравлення ліпідів у кишечнику людини (А.Ш.Бышевский, О.А.Терсенов, 1994):

- 1) дефіцит панкреатичної ліпази, що спричинений захворюваннями підшлункової залози — *панкреатична стеаторея*;
- 2) дефіцит жовчі в кишечнику, пов'язаний з захворюваннями печінки або жовчних шляхів — *гепатогенна стеаторея*;
- 3) пригнічення ферментних систем ліполізу та ресинтезу триацилгліцеролів у кишечнику при його захворюваннях — *ентерогенна стеаторея*.

ГЛАВА 27. БІОХІМІЯ ХАРЧУВАННЯ ЛЮДИНИ

II. ВІТАМІНИ ЯК КОМПОНЕНТИ ХАРЧУВАННЯ

27.1. ВІТАМІНИ ЯК КОМПОНЕНТИ ХАРЧУВАННЯ ЛЮДИНИ; ХВОРОБИ ВІТАМІННОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Вітаміни — біоорганічні сполуки, що є життєво необхідними компонентами обміну речовин; на відміну від інших біомолекул, вітаміни не синтезуються в організмі людини, а надходять з компонентами харчування. На відзнаку від таких поживних речовин, як вуглеводи, ліпіди та білки, вітаміни належать до *мікрокомпонентів* харчування, їх добові потреби для людини складають міліграмові або мікрограмові кількості.

Відкриття вітамінів пов'язано з розробками багатьох дослідників — лікарів, біохіміків, фізіологів, які встановили наявність у продуктах харчування певних сполук, що необхідні для нормальної життєдіяльності — “додаткових факторів харчування”. Специфічні хвороби, пов'язані з порушеннями в харчуванні — *цинга* (скорбут), *бері-бері*, *пелагра*, *рахіт* (“англійська хвороба”), *гемералопія* (“курча сліпота”) були відомі людству протягом століть. Першим вітаміном, щодо якого було доведено значення як необхідного фактора харчування, був *тіамін* (вітамін B₁), отриманий у 1911 р. польським дослідником К.Функом з рисових висівків. Сполука, виділена К.Функом, попереджала розвиток *бері-бері* (поліневрит, спричиненого тривалим споживанням полірованого рису) і містила в своїй структурі аміногрупу, що стало основою запропонованого для всіх додаткових факторів харчування терміна “вітаміни” (vitaminum — амін життя; лат.).



Рис. 27.1. **Функ (Funk) Казимеж** (1884-1967), польський біохімік, працював в різних країнах Європи, США. Один із засновників вчення про вітаміни.

Класифікація вітамінів

Враховуючи, що відкриття перших препаратів вітамінів значно передувало розшифровці їх хімічної структури, історично склалися емпіричні назви (номенклатура) вітамінів, що містять велику літеру латинського алфавіту з цифровим індексом; у сучасних назвах вітамінів вказують також їх хімічну природу та, в деяких випадках, — основний біологічний ефект із префіксом “анти-”.

Залежно від фізико-хімічних властивостей (розчинності у воді або в ліпідах) вітаміни поділяють на дві великі групи: водорозчинні та жиророзчинні.

Водорозчинні вітаміни

Вітамін B₁ (тіамін; антиневритний вітамін).

Вітамін B₂ (рибофлавін).

Вітамін PP (вітамін B₃; ніацин; антипелагричний вітамін).

Вітамін B₆ (піридоксин; антидерматитний вітамін).

Вітамін B₁₂ (кобаламін; антианемічний вітамін).

Фолієва кислота (птероїлглутамат; антианемічний вітамін).

Вітамін H (біотин; антисеборейний вітамін).

Пантотенова кислота (вітамін B₃; антидерматитний вітамін).

Вітамін C (аскорбінова кислота).

Вітамін P (вітамін проникності).

Жиророзчинні вітаміни

Вітамін A (ретинол; аксерофтол; вітамін росту).

Вітамін K (філохінон; антигеморагічний вітамін).

Вітамін E (α -токоферол; вітамін розмноження).

Вітамін F (комплекс поліненасичених жирних кислот).

Вітамін D (кальциферол; антирахітний вітамін).

Вітамінна недостатність — стан, що розвивається внаслідок зменшення (або відсутності) певного вітаміну в організмі. Вітамінна недостатність супроводжується важкими розладами біохімічних і фізіологічних процесів і виникненням специфічної патології.

Розрізняють *гіповітамінози* та *авітамінози* — патологічні стани, для яких властивими є, відповідно, відносна або повна недостатність вітаміну в тканинах. Основними причинами виникнення станів вітамінної недостатності (гіпо- та авітамінозів) є:

1. Зменшення (або відсутність) надходження певного вітаміну в організм у складі продуктів харчування (внаслідок нераціональної дієти або неправильної кулінарної обробки харчових продуктів); такі стани отримали назву *екзогенних гіпо-(а-)вітамінозів*.

2. Порушення засвоєння певних вітамінів клітинами організму (внаслідок розладів їх всмоктування в травному тракті або неспроможності біохімічних систем організму включати вітамін в обмінні процеси, зокрема внаслідок наявності їх структурних конкурентів — *антивітамінів*) — *ендогенні гіпо-(а-)вітамінози*.

3. Збільшене виведення вітамінів в організму або підвищена його утилізація в біохімічних та фізіологічних процесах (ситуації, що можуть мати місце при лактації, вагітності, виснажливій фізичній праці, знаходженні людини в екстремальних температурних умовах, при тяжких інфекційних хворобах тощо).

В умовах гіпо- та авітамінозів виникають глибокі порушення певних метаболічних процесів та клітинних функцій, в яких беруть участь вітаміни як специфічні біомолекули. За механізмом дії вітаміни є коферментами складних ферментів (або беруть участь у синтезі коферментів як їх складові компоненти), входять до складу біомембран, виконують певні регуляторні функції на рівні окремих клітинних структур та цілого організму.

27.2. КОФЕРМЕНТНІ ВІТАМІНИ. АСКОРБІНОВА КИСЛОТА ТА БІОФЛАВОНІДИ

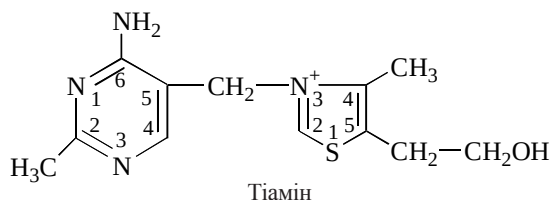
Вітаміни, що належать до цього класу, є кристалічними сполуками, добре розчинними у воді та інших полярних розчинниках. Механізми біохімічної дії більшості водорозчинних вітамінів (за виключенням вітамінів C та P) полягають у їх

використанні в побудові коферментів, які каталізують у складі ферментних білків важливі метаболічні реакції — *коферментна функція* вітамінів.

Вітамін В₁

Хімічна будова

Вітамін В₁ (*тіамін*) за хімічною будовою є продуктом конденсації двох гетероциклічних сполук — похідного піримідину (2-метил-5-гідроксиметил-6-амінопіримідину) та тіазолу (4-метил-5-гідроксietилтіазолу):



Біологічні властивості та механізм дії

Біологічна активність вітаміну В₁ полягає в участі в енергетичному, зокрема вуглеводному, обміні. Біохімічний механізм дії вітаміну зумовлений його *коферментною формою* — тіаміндифосфатом (ТДФ) (“кокарбоксилазою”), який утворюється в результаті фосфорилування вільного тіаміну за участю ферменту *тіамінфосфокінази*:



Коферментні функції ТДФ пов’язані з каталізом таких біохімічних реакцій:

- окислювальне декарбоксилювання пірувату (як компонент мультиензимного піруватдегідрогеназного комплексу);
- окислювальне декарбоксилювання α -кетоглутарату в циклі Кребса (як компонент α -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу);
- транскетотазні реакції пентозофосфатного шляху окислення глюкози (як кофермент транскетотлази).

Згідно із вищевизначеною роллю в перебігу ключових реакцій аеробного обміну вуглеводів, характерним біохімічним проявом недостатності вітаміну В₁ є накопичення в крові та внутрішніх тканинах надлишкового (неокисленого) пірувату. Клінічно недостатність тіаміну проявляється розвитком уражень периферичної нервової системи (поліневропатії, поліневрити аж до розвитку атрофічного паралічу кінцівок), виражених порушень з боку міокарда, секреторної та моторної функцій шлунка. Класична форма авітамінозу В₁ — захворювання *бери-бери* — спостерігалася у населення Південно-Східної Азії в умовах тривалого харчування полірованим рисом, позбавленим тіаміну, що міститься в зовнішній оболонці зернини.

Джерела та добова потреба

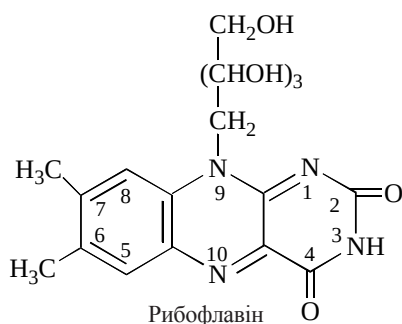
Основними джерелами вітаміну В₁ у харчуванні людини є продукти рослинного походження, зокрема хліб (переважно житній, з борошна грубого помолу), крупи (гречана, вівсяна); багаті на тіамін (та інші вітаміни групи В) пивні дріжджі.

Добова потреба в тіаміні складає 1,5-2,0 мг* [1,5 мг]**.

Зірочки тут і далі в главі 27 означають:

* за рекомендаціями Інституту харчування АМН СРСР (80-ті роки);

** за рекомендаціями Ради з харчових продуктів та харчування і Національної ради з наукових досліджень США, 1989 р. (норми для чоловіків віком 25-50 років).

Вітамін B₂**Хімічна будова**

За хімічною будовою вітамін B₂ (*рибофлавін*) є похідним трициклічної сполуки ізоалоксазину та спирту рибітолу — 6,7-диметил-9-рибітилізоалоксазин:

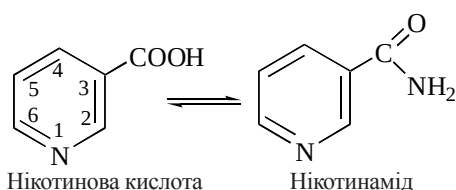
Біологічні властивості та механізм дії

Біологічні функції вітаміну B₂ полягають у його участі в окислювально-відновлювальних реакціях. *Коферментними формами* рибофлавіну є ФАД (флавінаденіндинуклеотид) та ФМН (флавінмононуклеотид) — простетичні групи багатьох анаеробних та аеробних дегідрогеназ та оксидаз, що беруть участь в окисленні численних інтермедіатів вуглеводного, ліпідного та амінокислотного обміну.

Джерела та добова потреба

Рибофлавін міститься в багатьох продуктах рослинного та тваринного походження, тому в умовах звичайного мішаного харчування людина отримує необхідну для нормальної життєдіяльності кількість вітаміну.

Добова потреба в рибофлавіні складає 2,0-2,5 мг* [1,7 мг]**.

Вітамін PP (вітамін B₃)**Хімічна будова**

Властивості вітаміну PP (*ніацину*) мають нікотинова кислота (піридин-3-карбонова кислота) та її амід, які є в організмі взаємно перетворюваними молекулярними формами:

Біологічні властивості та механізм дії

Вітамін PP є необхідним фактором для перебігу багатьох біохімічних реакцій, пов'язаних із окисненням субстратів вуглеводного, ліпідного, амінокислотного та інших видів метаболізму.

Коферментними формами вітаміну PP є коферменти анаеробних дегідрогеназ НАД (нікотинамідаденіндинуклеотид) та НАДФ (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат), до складу яких входить амід нікотинової кислоти.

Недостатність вітаміну PP проявляється характерними патологічними змінами шкіри, особливо вираженими в умовах її сонячного опромінення. *Дерматит*, специфічний для цього гіпо- (а-) вітамінозу, отримав назву “пелагри” (pelle agra — шершава шкіра; італ.); для пелагри властиві також патологічні зміни слизової оболонки ротової порожнини та кишечника з наявністю важкої *діареї*; при тривалому перебігу захворювання (починаючи з раннього дитячого віку) можливий розвиток розумового відставання (*деменції*). Введення препаратів нікотинової кислоти або нікотинаміду протидіє симптомам авітамінозу (звідси назва — **Pellagra Preventing vitamin**; англ.). Вперше хвороба була виявлена у жителів країн

Середньоземноморського узбережжя в умовах харчування продуктами з кукурудзи, які містять недостатню кількість як вільного ніацину, так і триптофану, з якого може синтезуватися певна кількість нікотинаміду. Випадки пелагри спостерігалися внаслідок недостатнього харчування в'язнів в умовах концентраційних таборів.

Джерела та добова потреба

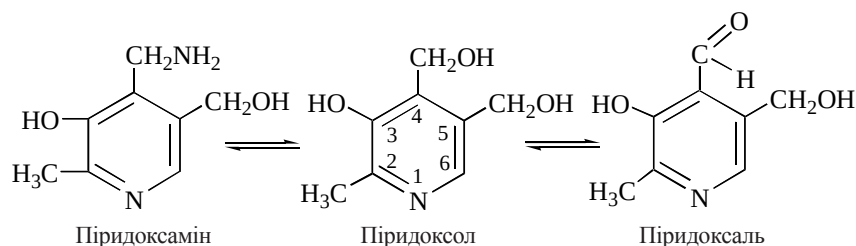
Нікотинова кислота та нікотинамід містяться в достатній кількості у складі поширених продуктів харчування рослинного та тваринного походження (хлібові, круп'яних виробах, овочах, м'ясних продуктах).

Добова потреба у вітаміні РР складає 15-25 мг* [19 мг]**; еквівалентними 1 мг ніацину є 60 мг триптофану.

Вітамін В₆

Хімічна будова

Терміном *піридоксин* об'єднують три близькі за дією та взаємно перетворювані в біологічних тканинах сполуки: піридоксол (2-метил-3-окси-4,5-діоксиметил-піридин), піридоксаль та піридоксамін:



Біологічні властивості та механізм дії

Біологічна дія вітаміну В₆ пов'язана з участю в реакціях амінокислотного обміну. Його *коферментними формами* є піридоксальфосфат (ПАЛФ) та піридоксамінфосфат (ПАМФ), що беруть участь у каталітичних циклах таких ферментних реакцій:

- реакцій трансамінування у складі ферментів *аміотрансфераз* (коферментну функцію виконують ПАЛФ та ПАМФ, що взаємно перетворюються в ході акту каталізу);
- реакцій декарбоксилювання у складі ферментів *декарбоксилаз* амінокислот (коферментну функцію виконує ПАЛФ);
- перетворення триптофану кінуреніновим шляхом з утворенням нікотинаміду НАД (в метаболічному шляху бере участь ПАЛФ-залежний фермент *кінуреніназа*);
- біосинтезі гему (ПАЛФ є коферментом *δ-амінолевулінатсинтази* — ферменту, що каталізує утворення δ-амінолевулінату, першого метаболіту цього синтетичного шляху).

Прояви недостатності піридоксину найчастіше спостерігаються в дитячому віці за умов харчування синтетичними сумішами, не збалансованими за вмістом цього вітаміну, і проявлятися пелагроподібним дерматитом, судомами, анемією. Вважають, що розвиток судом може бути пов'язаним з дефіцитом утворення в

нервовій системі гальмівного медіатора ГАМК внаслідок недостатньої активності ПАЛФ-залежної *глутаматдекарбоксилази*.

Стан недостатності вітаміну B_6 може бути також спричиненим тривалим застосуванням протитуберкульозних засобів — похідних ізонікотинової кислоти (*Ізоніазид* тощо), що є структурними аналогами піридоксину і можуть виступати як його *антивітаміни*.

Джерела та добова потреба

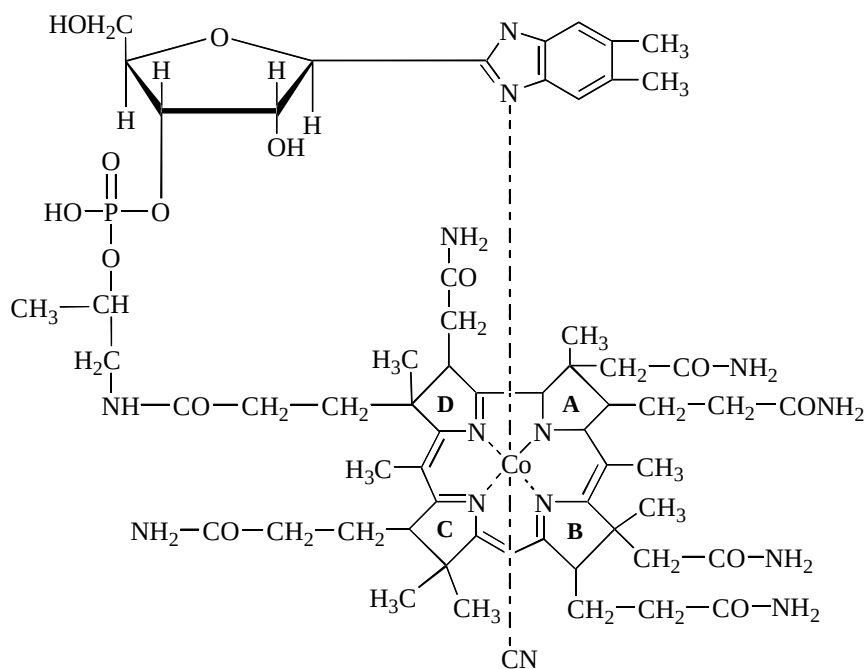
Потреби у вітаміні B_6 людина покриває за рахунок його споживання з такими поширеними продуктами харчування, як хліб, картопля, круп'яні вироби, м'ясо, печінка тощо; частково потреби в цьому вітаміні задовольняються за рахунок синтезу його мікрофлорою кишечника.

Добова потреба в піридоксині складає 2-3 мг* [2 мг]**.

Вітамін B_{12}

Хімічна будова

Вітамін B_{12} (*кобаламін*) за хімічною будовою належить до класу *коринноїдів*; його молекула складається з двох частин — кобальтвмісної порфіриноподібної (хромоворної) та нуклеотидної структур:



Вітамін B_{12} (ціанкобаламін)

Атом Co^+ , що міститься в центрі ядра хромофорної структури, в комерційних препаратах вітаміну B_{12} сполучений із ціанідною групою (*ціанкобаламін*). У разі заміщення ціаногрупи на інші радикали утворюються такі похідні вітаміну B_{12} , як *гідроксибаламін* (вітамін B_{12B}), *нітрокобаламін* (вітамін B_{12C}); в організмі

людини синтезуються *коферментні форми* вітаміну — *метилкобаламін* (міститься в цитоплазмі) і *5-дезоксиаденозилкобаламін* (мітохондріальна форма коферменту).

Біологічні властивості та механізм дії

Коферментні форми вітаміну B_{12} беруть участь в каталізі біохімічних реакцій такими ферментами:

– *метилмалоніл-КоА-мутазою* (ферментом, що каталізує реакцію перетворення метилмалоніл-КоА на сукциніл-КоА); коферментом є 5-дезоксиаденозилкобаламін (механізм реакції розглянутий у главі 18). Реакція має значення для метаболізму метилмалоніл-КоА, що утворюється при розщепленні амінокислот із розгалуженими ланцюгами — L-валіну, L-лейцину, L-ізолейцину та β -окисленні жирних кислот з непарною кількістю вуглецевих атомів;

– *гомоцистеїн-метилтрансферазою* (в реакції синтезу метіоніну з гомоцистеїну); коферментом є метилкобаламін, що переносить метильну групу на гомоцистеїн з N^5 -метилтетрагідрофолату. Біохімічне значення реакції полягає в продукуванні метіоніну, який є головним донором метильних груп у реакціях синтезу фізіологічно активних сполук, метилюванні нуклеотидів нуклеїнових кислоти тощо.

Недостатність у вітаміні B_{12} (*хвороба Адисона-Бірмера*; *злаякісна*, або *перні-зюзна анемія*) може розвиватися за механізмом *ендогенного гіпо-(а-) вітамінозу* внаслідок порушення всмоктування кобаламіну в шлунково-кишковому тракті. Патологія спричиняється відсутністю синтезу в шлунку глікопротеїну *транско-рину* (так званого “внутрішнього фактора Касла”), що є транспортером “зовнішнього фактора Касла” (тобто вітаміну B_{12}) через слизову оболонку тонкої кишки; тканинне депо вітаміну створюється в печінці.

Біохімічною основою розвитку злаякісної вітамін B_{12} -залежної анемії є порушення біосинтезу нуклеїнових кислот і білків, що проявляється насамперед у тканинах з інтенсивною клітинною проліферацією, до яких належить кровотворна тканина. Ця форма анемії характеризується значним зменшенням кількості еритроцитів (до $1,5-2 \cdot 10^{12}/л$ при нормі $5 \cdot 10^{12}/л$) при збільшенні їх об’єму і зміні форми клітин (макроцитарна, мегалобластична анемія); характерними симптомами хвороби є також порушення з боку периферичної нервової системи внаслідок демієлінізації нервових стовбурів (фунікулярний мієлоз), хейліт та глосит (“полірований” кінчик язика). Захворювання розвивається як наслідок атрофічного гастриту, раку шлунка, гастректомії, інвазії гельмінтом лентецем широким (*Diphyllobothrium latum*).

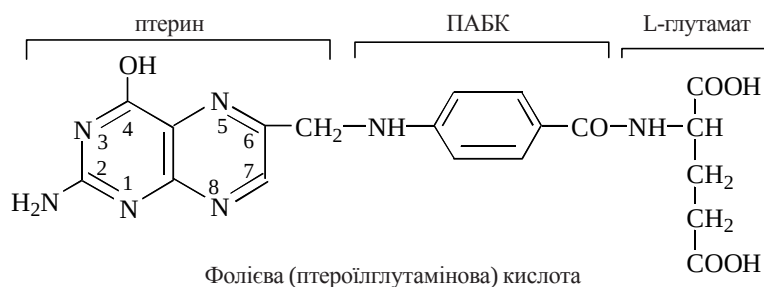
Джерела та добова потреба

Потреби організму людини у вітаміні B_{12} значною мірою забезпечуються за рахунок синтезу його мікрофлорою товстої кишки; крім того, кобаламін міститься в достатній кількості в тваринній їжі — найбільш багатим джерелом вітаміну B_{12} є печінка, яка містить до 100 мг вітаміну/100 г продукту.

Добова потреба у вітаміні B_{12} складає 2-5 мкг* [2 мкг]**.

Фолієва кислота**Хімічна будова**

Фолієва кислота (ФК; *фолацин*; інші назви: **Вітамін В_с**, **В_м**, **В₉**, **В₁₁**) є за хімічною природою похідним *птеринів* — птероїлглутаміновою кислотою, що



містить у складі молекули сполучені з похідним птеридину (птерином) фрагменти п-амінобензойної кислоти (ПАБК) та L-глутамату:

Біологічні властивості та механізм дії

Коферментною формою фолієвої кислоти є її гідроване похідне 5,6,7,8-тетрагідрофолієва кислота (ТГФК). Коферментні функції ТГФК полягають у міжмолекулярному переносі одновуглецевих фрагментів (метильного, метиленового, метенільного, оксиметильного, формільного, форміміно), що використовуються в багатьох реакціях обміну амінокислот, синтезі нуклеотидів (тимідилату ДНК, пуринових ядер ДНК та РНК), фізіологічно активних сполук (глава 18).

Фолієва кислота біохімічно пов'язана з обміном та функціями вітаміну В₁₂, а саме:

- ТГФК (у вигляді N⁵-метилтетрагідрофолату) разом із вітаміном В₁₂ (метилкобаламіном) беруть участь у реакції синтезу метіоніну (гомоцистеїнметилтрансферазна реакція — див. вище); фізіологічне значення процесу полягає в утворенні метіоніну — донора метильних груп у метилюванні нуклеотидів нуклеїнових кислот (ДНК та певних класів РНК), синтезі холіну, креатину тощо;

- хвороби недостатності обох вітамінів часто перебігають сумісно і мають близьку клінічну картину. Класичним проявом авітамінозу ФК є захворювання “спру”, що характеризується макроцитарною анемією та пінистими проносами (spruw — піна; голандськ.); захворювання розвивається внаслідок споживання раціону, збідненого білками, що призводить до порушення як синтезу мікроорганізмами фолієвої кислоти, так і (в подальшому) засвоєння вітаміну В₁₂.

Джерела та добова потреба

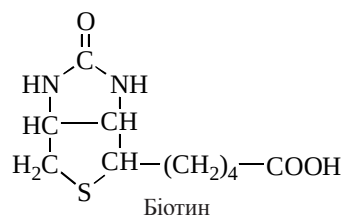
Найбільш багатими природними джерелами фолієвої кислоти є листя зелених рослин, в яких вона синтезується (звідси назва вітаміну: folium — листя; лат.). Потреби людини у вітаміні забезпечуються за рахунок синтезу його мікрофлорою кишечника, а також споживання рослинної та тваринної їжі; значна кількість ФК міститься в печінці та дріжджах. До розвитку недостатності вітаміну може призводити дисбактеріоз, спричинений тривалим прийомом сульфаніламідних препаратів, які, виступаючи структурними аналогами ПАБК (компонента молекули птероїлглутамінової кислоти), блокують утворення в бактеріальних клітинах ФК, необхідної для синтезу власних нуклеїнових кислот мікроорганізмів.

Добова потреба у фолієвій кислоті становить **200-400 мкг*** [200 мкг]**.

Вітамін Н

Хімічна будова

За будовою молекули вітамін Н (*біотин*) є продуктом конденсації сечовини та тіофенвалер'янової кислоти; його хімічна назва: 2-кето-3,4-імідазолідо-2-тетрагідротіофенвалер'янова кислота:



Біологічні властивості та механізм дії

Емпірична назва вітаміну — *біотин* — склалася історично і свідчить про його необхідність для процесів життєдіяльності (*bios* — життя; грецьк.). Коферментну функцію виконує біотин, що сполучений за типом простетичної групи (через ϵ -аміногрупу лізинового залишку білка) з ферментами карбоксилювання.

Акцептуючи діоксид вуглецю (CO_2) з утворенням *карбоксибіотину*, вітамін Н бере участь у таких біохімічних реакціях:

- біосинтезі жирних кислот (карбоксилювання у складі ферменту *ацетил-КоА-карбоксилази* ацетил-КоА до малоніл-КоА);
- перетворенні пірувату в оксалоацетат у ході реакцій гліюконеогенезу (у складі *піруваткарбоксилази*);
- реакціях карбоксилювання при біосинтезі ядра пуринових нуклеотидів.

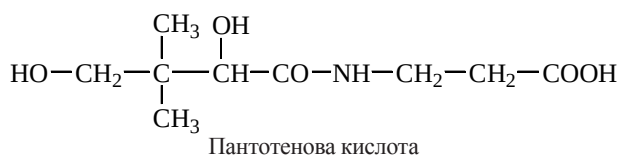
Недостатність вітаміну Н у людини проявляється рідко у зв'язку з біосинтезом біотину кишковими мікроорганізмами та його наявністю у більшості продуктів харчування рослинного та тваринного походження. Прояви вітамінної недостатності можуть розвиватися за умов порушення функціонування нормальної мікрофлори кишечника (нераціональне використання сульфаніламідів та антибіотиків) і проявляються патологічними змінами шкіри за типом *себореї*, що отримало відображення в назві вітаміну (*haut* — шкіра; нім.). В експерименті на щурах прояви авітамінозу Н спостерігаються за умов тривалого витримування тварин на раціоні з надлишком сирого яєчного білка, який містить білок *авідин*, що протидіє нормальному всмоктуванню вітаміну.

Добова потреба в біотині складає **150-300** мкг*.

Пантотенова кислота (вітамін В₃)

Хімічна будова

Молекула *пантотенової кислоти* — це сполучення β -аланіну з похідним масляної кислоти — α,γ -дигідрокси- β,β' -диметилбутирил- β -аланіном:



Біологічні властивості та механізм дії

В організмі пантотенова кислота використовується для синтезу коензиму А (CoA-SH) — *коферменту ацилювання*, що є одним із ключових коферментів у реакціях метаболізму вуглеводів (окислення піровиноградної та α -кетоглутарової кислот), окислення та синтезу жирних кислот, обміну амінокислот, використання ацильних радикалів у біосинтезі стероїдів, процесах детоксикації тощо.

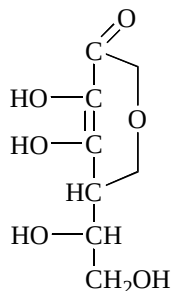
Ізольований авітаміноз у людини виникає рідко і може проявлятися численними малоспецифічними порушеннями з боку різних органів та систем (шкіри, слизових оболонок, волосся, нервової системи, внутрішніх органів). Як лікувально-профілактичний засіб пантотенат входить до складу різних косметичних виробів, шампуней.

Джерела та добова потреба

Пантотенова кислота міститься в достатній кількості в більшості продуктів рослинного та тваринного походження (борошні злакових, крупах, яйцях, молоці, дріжджах тощо); значне поширення вітаміну в біооб'єктах надійшло відображення в його назві (pantothenos — всюдисущий, розповсюджений; грецьк.). Синтез пантотенової кислоти кишечною мікрофлорою недостатній для покриття добової потреби організму людини.

Добова потреба в пантотеновій кислоті складає 5-10 мг*.

Вітамін С



L-Аскорбінова кислота

Хімічна будова

За хімічною будовою вітамін С є γ -лактоном 2,3-дигідро-L-гулонової кислоти:

Емпірична назва вітаміну — *аскорбінова кислота* вказує на його профілактичну дію щодо *цинги*, або *скорбути* (scurbut; scurvy; англ.) — специфічного патологічного процесу, спричиненого екзогенною недостатністю вітаміну.

У водних розчинах L-аскорбінова кислота (L-АК) зворотно перетворюється на дегідроформу — L-дегідроаскорбінову кислоту (L-ДАК), яка повністю зберігає біологічні властивості вітаміну С; подальші окислювальні перетворення L-ДАК є незворотними і призводять до утворення похідних, що не мають вітамінних властивостей:

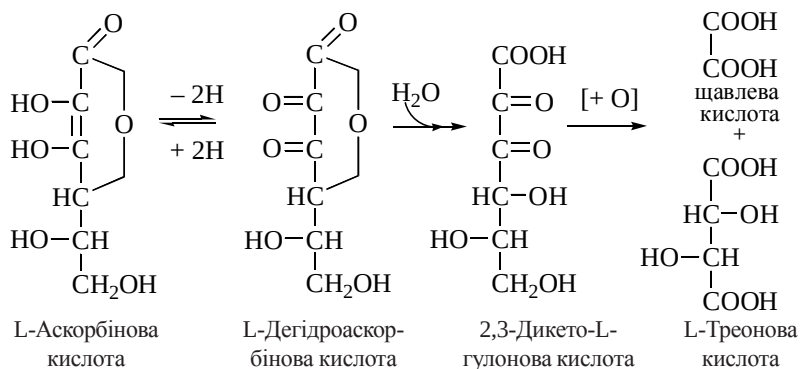


Схема перетворення L-аскорбінової кислоти.

Подібних перетворень L-АК зазнає і в організмі (in vivo).

Біологічні властивості та механізм дії

Вперше L-аскорбінова була виділена у чистому вигляді видатним біохіміком угорського походження А.Сент-Дьєрдьї з надниркових залоз бика (1928 р.), а потім

— з червоного перцю та лимонного соку. В природі існує тільки L-ізомер аскорбінової кислоти; D-форма може бути отриманою синтетичним шляхом, але вона біологічно неактивна.

L-Аскорбінова кислота синтезується в більшості рослинних та тваринних організмів і не синтезується (тобто є вітаміном) у людини, морських свинок, деяких приматів та летючих мишей, що пов'язують із мутаціями певних генів на етапах прадавньої еволюції. Найбільш яскраві клінічні прояви *цинги* стосуються системи сполучної тканини і проявляються ураженням судинних стінок і опорних тканин, що містять білок колаген: у хворих спостерігаються збільшення проникності стінок кровоносних судин із розвитком підвищеної кровоточивості (особливо ясен), виникненням “петехій” (дрібнокраплинних крововиливів) на шкірі і слизових оболонках), випадіння зубів, порушення структури і функції суглобів. Для загальних порушень в організмі при недостатності вітаміну С характерними є зниження працездатності, адаптивних можливостей організму, особливо в умовах напруженої фізичної, розумової діяльності, стресорних ситуацій, змін температури навколишнього середовища, підвищення сприйнятливості до дії інфекційних факторів.

Незважаючи на багаторічні дослідження, молекулярні механізми біологічних ефектів вітаміну С розшифровані ще в недостатній мірі. Реакціями, де участь L-AК є остаточно з'ясованою, є *гідроксилювання* біомолекул в ході таких біохімічних перетворень:

- біосинтезу *колагену*, а саме в посттрансляційній модифікації білка з утворенням зрілого колагену шляхом гідроксилювання залишків проліну та лізіну до відповідних гідроксіамінокислот; в процесі гідроксилювання проліну до 4-гідроксипроліну бере участь Fe^{2+} — аскорбатзалежний фермент *пролілгідроксилаза* — роль L-AК полягає в регенерації відновленої форми іона заліза, необхідного для каталітичного циклу;
- біосинтезу дофаміну, норадреналіну та адреналіну (етапи гідроксилювання в циклі та бічному кільці катехоламінів);
- біосинтезу стероїдів (численні реакції гідроксилювання на етапах утворення холестерину та біологічно активних стероїдних гормонів);
- біосинтезу серотоніну (реакція гідроксилювання триптофану);
- катаболізму тирозину (через стадію утворення гомогентизинової кислоти).

У більшості біокаталітичних процесів, що перебігають за участю L-AК, беруть участь також іони заліза ($\text{Fe}^{2+} \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+}$), що виступають у ролі зворотних донорів електронів і утворюють у процесі реакцій токсичну для біоструктур молекулярну форму ($\text{Fe}^{3+} - \text{O}^-$), яка може стимулювати реакції перекисного окислення

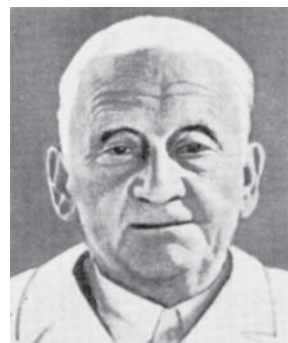


Рис. 27.2. Сент-Дьєрдьї (Szent-Gyorgyi) Альберт (1893-1986). Видатний біохімік, закінчив Будапештський ун-т, працював в різних країнах Європи, США. Значний внесок у розвиток теорії біологічного окислення, біохімії м'язів; встановив будову вітаміну С, відкрив вітамін Р. Нобелівська премія (1937).

біомолекул. Як вже зазначено для реакції гідроксилювання проліну, L-АК в цих реакціях виконує специфічну *антиоксидантну* функцію, забезпечуючи регенерацію відновленої форми заліза, тобто знешкоджуючи високоактивну молекулярну структуру ($\text{Fe}^{3+}-\text{O}^-$).

Джерела та добова потреба

Вітамін С міститься в більшості продуктів харчування, особливо рослинного походження (таблиця 27.1.), і недостатність у вітаміні розвивається, як правило, за умов нераціональної дієти (відсутність свіжих рослинних продуктів) або неправильної кулінарної підготовки харчових блюд. Особливо шкідливими для вмісту L-АК є термічна обробка продуктів в умовах високої температури, наявності кисню та металів (підігрівання продуктів у металевому посуді!).

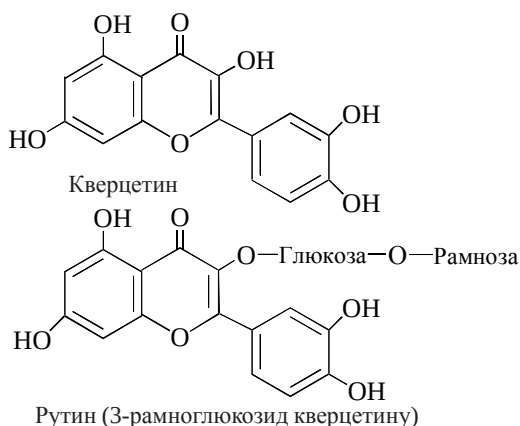
Добова потреба в L-аскорбіновій кислоті становить 50-70 мг* [60 мг]**.

Таблиця 27.1. Вміст вітаміну С у продуктах харчування

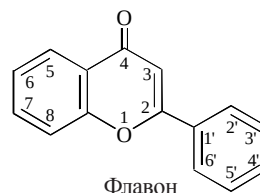
Продукт	L-АК (мг/100 г)
Шипшина (ягоди)	1000-4500
Горіх грецький	1000-1800
Перець червоний	100-400
Смородина чорна	100-400
Смородина червона	8-16
Хрін (корінь)	100-200
Картопля	6-20
Капуста білокачанна	25-66
Морква	5
Цибуля ріпчаста	20
Яблука ("Антонівка")	20-40
Лимони	40-55
Кавун	5-10
Молоко коров'яче (мг/100 мл)	1
Кумис (мг/100 мл)	20

Вітамін Р

Хімічна будова



Властивості вітаміну Р мають рослинні сполуки фенольної природи, більшість із яких належать до похідних *флавону* (2-фенілхромо-ну) — флавоноїди:



Природні флавіони є барвними пігментами рослин жовтого кольору. Представниками флавоноїдів, що мають найбільшу Р-вітамінну активність, є гідроксильований флавіон

кверцетин, глікозид кверцетину рутин та флавоноглікозид гесперидин:

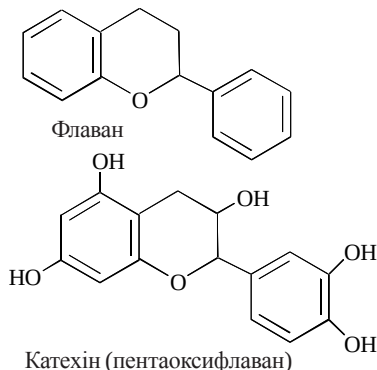
Р-Вітамінні властивості мають також похідні флавану — сполуки, що відрізняються від флавону відсутністю кетогрупи та подвійного зв'язку між 2-м та 3-м атомами вуглецю. Представниками флаванів є 3-оксифлавані — *катехіни*, що містяться в значній кількості в чайному листі.

Біологічні властивості та механізм дії

Основною біологічною ознакою вітаміну Р є здатність до зміцнення судинної стінки та зменшення її проникності ("Вітамін проникності" — *Permeability vitamin*; англ.). Недостатність вітаміну Р може розвиватися за умов відсутності в харчуванні рослинних продуктів і звичайно супроводжує недостатність L-аскорбінової кислоти, тому цингу (скорбут) можна вважати певною мірою проявом недостатності цих двох вітамінів. Механізм дії вітаміну Р пов'язують з участю у відновленні аскорбінової кислоти і збереженні її тканинних резервів.

Добова потреба

Потреба у вітаміні Р для людини не встановлена; з лікувальною метою (зміцнення кровоносних судин) вводять 100-200 мг вітаміну Р на добу (звичайно у вигляді рутину).



27.3. ЖИРОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ. БІОАНТИОКСИДАНТИ

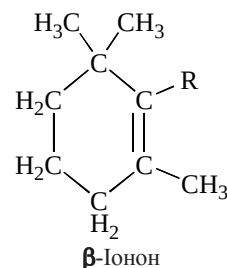
Вітаміни, що входять до цього класу, є олієподібними речовинами, які добре взаємодіють із гідрофобними розчинниками; завдяки наявності в структурі молекул довгих вуглеводневих (переважно ізопреноїдних) радикалів, більшість із цих вітамінів є компонентами біомембран, у складі яких виконують специфічні біологічні функції, зокрема є потужними *біоантиоксидантами* (вітаміни Е, А, К).

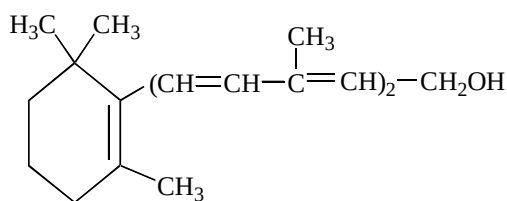
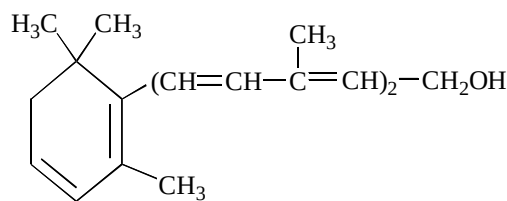
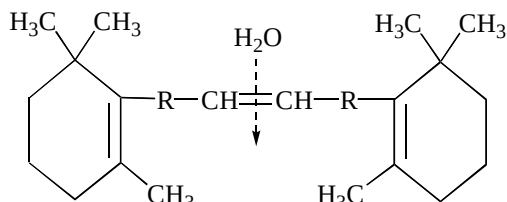
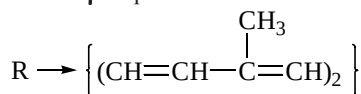
Всмоктування жиророзчинних вітамінів у кишечнику залежить від наявності поверхнево-активних компонентів жовчі і може порушуватися при обтурації жовчних проток, що супроводжується симптомами вітамінної недостатності. З іншого боку, на відміну від водорозчинних вітамінів, надлишкове (щодо фізіологічних потреб) надходження жиророзчинних вітамінів (особливо А, Д, К) є небезпечним для організму людини, оскільки ці сполуки можуть накопичуватися в тканинних депо і спричиняти токсичну дію (стан *гіпервітамінозу*).

Вітамін А

Хімічна будова та біологічні джерела

Сполуки, що мають біологічні властивості вітаміну А, є похідними β -іону із загальною формулою:



Вітамін A₁ (ретинол)Вітамін A₂ (дегідроретинол) β -Каротин β -каротиназа2 молекули вітаміну A₁Утворення вітаміну A₁ з β -каротину.

Дві молекулярні форми вітаміну А (*вітамери*) — A₁ та A₂ є циклічними ненасиченими спиртами (транс-ізомери), що мають як бічний радикал гідрофобну діізопреноїдну групу, завдяки якій ці сполуки розчиняються в ліпідному бішарі мембран:

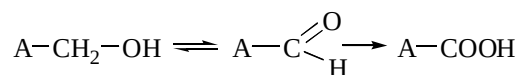
Обидві сполуки проявляють повний спектр біологічних ефектів вітаміну А, проте вітамін A₁ є дещо активнішим.

У рослинних організмах містяться *провітаміни* (біологічні попередники) вітаміну А — жовті пігменти α , β та γ -каротини (вперше були виявлені в моркві — *carota*; лат.). Найбільш активним провітаміном вітаміну А є β -каротин, при гідролізі якого за участю ферменту β -каротинази стінки тонкої кишки та печінки людини утворюються дві молекули вітаміну A₁:

Біологічні властивості

Після надходження в організм людини (з тваринною їжею або у вигляді рослинних каротинів) ретинол та дегідроретинол депонуються в тканинах (переважно в печінці) у вигляді складних

жирнокислотних ефірів, які, у міру фізіологічної потреби, утворюють активні молекулярні форми вітаміну А: спирт (*ретинол*), альдегід (*ретиаль*) та *ретиноеву* кислоту:



Біологічна активність вітаміну А полягає, переважно, в регуляції таких функцій організму:

- процесів *темного (нічного) зору* — недостатність вітаміну А супроводжується порушенням темного зору і розвитком “курячої сліпоти” (*гемералопії*);
- процесів *росту та диференціювання* клітин;
- процесів *утворення глікопротеїнів*, що є компонентами біологічних слизів організму.

1. Процеси темного зору є фізіологічною функцією спеціалізованих клітин сітківки — паличок, яка забезпечується фоторецепторним білком *родопсином*, що міститься в мембранних утвореннях зовнішніх сегментів паличок — *дисках* (вп'ячуваннях плазматичної мембрани клітини).

Родопсин — складний білок (м.м. 40 кД), що складається з білкової частини — *опсину* та хромофору (протетичної групи) — альдегідної форми вітаміну А — *11-цис-ретиналю*, яка зв'язана з ϵ -аміногрупою лізинувого залишку альдимінним зв'язком (основа Шиффа):

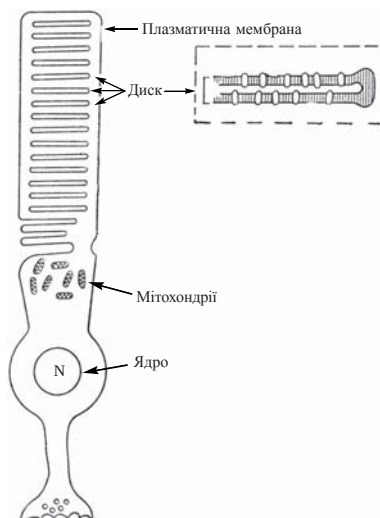
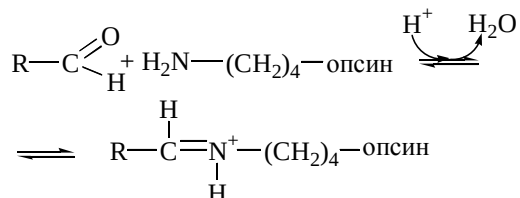


Рис. 27.3. Схема структурної організації дисків зовнішніх сегментів паличок сітківки.

Будучи інтегральним (трансмембранним) білком мембрани диска, завдяки циклічним внутрішньомолекулярним перетворенням вітаміну А родопсин сприймає квант (один фотон!) світла, трансформуючи його в гіперполяризацію мембрани, тобто запускає елементарний фізіологічний акт зору. Послідовність молекулярних подій у цьому процесі є такою:

(1) сприйняття родопсином кванта світла (максимум поглинання при 500 нм) ініціює ізомеризацію зв'язаного з опсином *11-цис-ретиналю* на повністю *транс-ретиналь*;

(2) фотоіндукована ізомеризація протетичної групи (вітаміну А) спричиняє зміни конформації білкової частини молекули і утворення декількох проміжних інтермедіатів (конформерів) родопсину: *батородопсин* — *люміродопсин* — *метародопсин I* — *метародопсин II*;

(3) останній з індукованих світлом конформерів родопсину — метародопсин II (т.з. “фотозбуджений родопсин” — R^*) індукує каскад біохімічних реакцій, що призводять до закриття Na^+ — каналів мембран дисків.

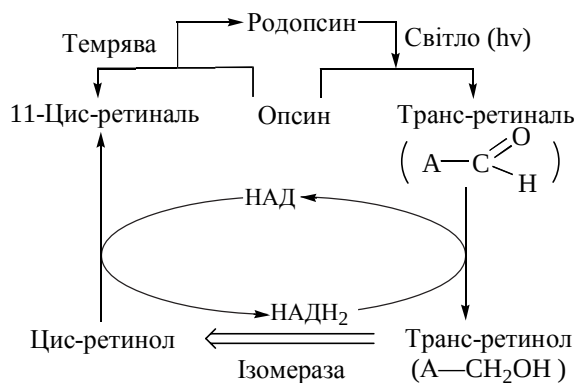
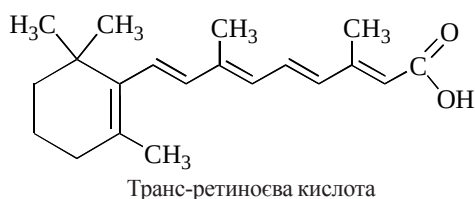


Рис. 27.4. Схема фотоіндукованих перетворень ізомерних форм вітаміну А в паличках сітківки.

Цей процес є каскадним механізмом передачі хімічного сигналу від збудженого родопсину через білок трансдуцин (аналог G-білка) на фосфодіестеразу, що гідролізує цГМФ; зменшення рівня цГМФ призводить до закриття Na^+ -каналу і гіперполяризації мембрани; гіперполяризація, що настає, є сигналом для подальшого електрохімічного реагування нейронів сітківки;

(4) транс-ретиноаль, що утворився в результаті дії світла (п.1) втрачає зв'язок з білковою частиною родопсину і підлягає (в темряві) регенерації до 11-цис-ретиноалу, який знову вступає в сполучення з лізиновим залишком білка, утворюючи функціонально активний родопсин (рис. 27.4).



2. З самого початку вивчення вітаміну А була встановлена його унікальна стимулювальна дія відносно процесів росту та диференціювання клітин ("вітамін росту"). Згідно із сучасними уявленнями, ця біологічна функція реалізується *транс-ретиноєвою кислотою*

(РК), що утворюється в організмі з альдегідної форми вітаміну А.

В основі стимулювання вітаміном А процесів росту та розвитку організмів (морфогенезу) лежить вплив транс-ретиноєвої кислоти на процеси транскрипції, молекулярні механізми яких були розглянуті в главі 23. Як впливає із зазначеного матеріалу, ядерні рецептори для РК належать до суперсімейства регуляторів транскрипції разом з рецепторами для стероїдних гормонів, вітаміну D_3 та тироксину, молекулярно-генетичні механізми функціонування яких є об'єктами сучасних досліджень.

3. Характерним проявом недостатності вітаміну А у людини та тварин є виражена *сухість слизових оболонок*, вкритих одношаровим плоским епітелієм, що вистилає шлунково-кишковий та дихальний тракт, сечовивідні та статеві шляхи, очне яблуко, слізний та слуховий канали тощо. Введення препаратів вітаміну А або продуктів, що його містять, протидіє вказаним патологічним проявам, зокрема сухості очного яблука ("антиксерофтальмічний" вітамін, "аксерофтол").

Біохімічною основою цієї групи ефектів вітаміну А є його стимулювальна дія відносно біосинтезу глікопротеїнів, які складають основу *муцинів* — слизових утворень, які вкривають зазначені епітеліальні покриви. Існують дані щодо участі вітаміну А у функціонуванні *глікозилтрансфераз* ендоплазматичного ретикулума та комплексу Гольджі, а саме коферментної функції ретинолу як ліпідного переносника олігосахаридних залишків через ліпопротеїнові мембрани до місць глікозилювання пептидної частини глікопротеїну.

Добова потреба

Вітамін А надходить в організм людини з продуктами тваринного походження (особливо у складі вершкового масла, сметани, молока, печінки, риб'ячого жиру, яєчного жовтка) та у вигляді рослинних каротинів.

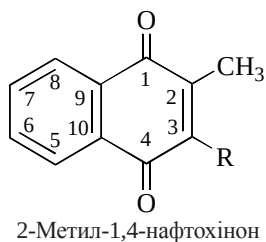
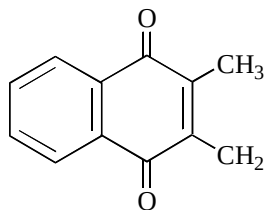
Добова потреба у вітаміні А складає 1,5-2,5 мг, або 3-5 мг каротинів* [1 мг ретинолу, або 6 мг каротинів]**.

Вітамін К**Хімічна будова**

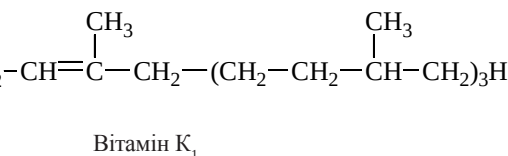
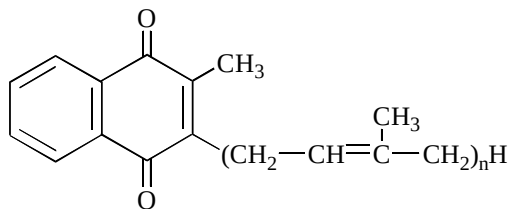
Властивості вітаміну К має група вітамерів — похідних 2-метил-1,4-нафтохінона. Розрізняють вітамін К₁ (філохінон) та вітамін К₂ (фарнохінон).

Вітамін К₁ є похідним 2-метил-1,4-нафтохінону, бічним вуглеводневим радикалом, у якому є похідне ізопрену — фітил (2-метил-3-фітил-1,4-нафтохінон). Цей вітамер був вперше виділений із люцерни і є біологічно найбільш активною формою вітаміну К.

Вітамін К₂ має довший бічний ізопреноїдний ланцюг, будучи за хімічною будовою 2-метил-3-фарнезил-1,4-нафтохіноном; вітамер був вперше виділений із рибного борошна.



2-Метил-1,4-нафтохінон

Вітамін К₁Вітамін К₂ (n=6;7;9)**Біологічні властивості**

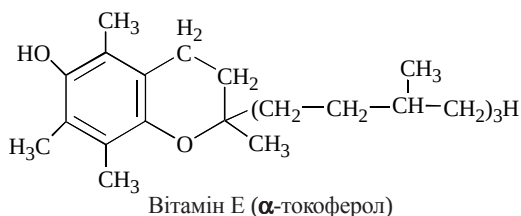
Біологічна дія вітаміну К в організмі людини і тварин полягає в його впливі на функціонування згортальної системи крові (“антигеморагічний” вітамін). Оскільки вітамін К є необхідним компонентом для утворення факторів коагуляції крові II, VII, IX, X, недостатність вітаміну супроводжується небезпечними для життя кровотечами. Біохімічні механізми прокоагулянтної дії вітаміну К розглянуті в главі 29.

Гіповітаміноз вітаміну К у людини розвивається найчастіше при захворюваннях печінки та системи жовчовивідних шляхів, які перешкоджають утворенню та/або надходженню в дванадцятипалу кишку жовчі, необхідної для всмоктування жиророзчинних речовин. При підвищеній активності згортальної системи крові нагальною проблемою клінічної практики є застосування антикоагулянтів, що за механізмом дії є *антивітамінами* вітаміну К (група похідних *кумарину*).

Джерела та добова потреба

Джерелами вітаміну К для організму людини є переважно рослинні продукти харчування (капуста, помідори, салат); певна кількість вітаміну міститься в печінці (особливо свиній), м'ясі. Значна кількість вітаміну синтезується також кишковою мікрофлорою, що може забезпечити потреби організму людини в цьому вітаміні навіть в умовах зменшеного його надходження з продуктами харчування.

Добова потреба у вітаміні К складає 200-300 мкг* [80 мкг]**.

Вітамін Е**Хімічна будова**

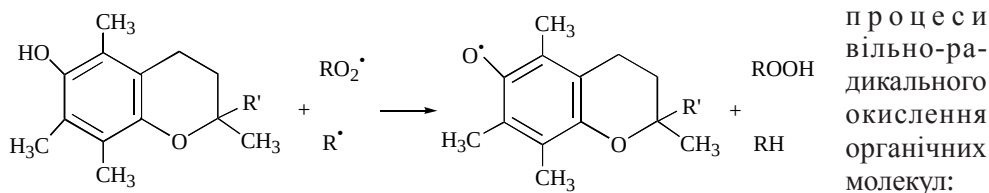
Властивості вітаміну Е має група похідних *токолу* (2-метил-2(4',8',12'-триметилтридецил)-6-хроманолу) — α , β та γ -токоферолі, що були вперше виділені з рослинних олій. Найбільшу біологічну активність має α -токоферол (5,7,8-триметилтокол):

Біологічні властивості та механізм дії

Вітамін Е має широкий спектр біологічної активності — його недостатність супроводжується численними змінами обмінних процесів та фізіологічних функцій організму. Найбільш характерними для Е-авітамінозу є глибокі порушення репродуктивної функції як у чоловіків (аномальний сперматогенез) так і жінок (неспроможність запліднення та виношування вагітності), м'язові дистрофії, некрозо-дистрофічні процеси в печінці.

Згідно з сучасними уявленнями, основні молекулярні механізми дії вітаміну Е (α -токоферолу) полягають у наступному:

(1) завдяки наявності вільного фенольного гідроксилу в ароматичному ядрі хроману α -токоферол може вступати в реакцію диспропорціонування з вільними радикалами у вигляді гасника (інгібітора) вільних радикалів InH, гальмуючи



Продукти реакції α -токоферолу з органічними радикалами (In $\cdot$) вступають в реакцію між собою, утворюючи неактивні молекулярні продукти In-In:



(2) завдяки гідрофобному бічному радикалові α -токоферол може вбудовуватися в фосфоліпідний матрикс біомембран, стабілізуючи рухомість та мікров'язкість мембранних ліпідів і білків.

Антирадикальні та мембраностабілізуючі властивості вітаміну Е є біохімічною основою його біологічної функції як найбільш потужного *біоантиоксиданта*. Протидіючи перекисному окисленню біомолекул (ліпідів, білків, нуклеїнових кислот), α -токоферол захищає клітинні структури від цитотоксичної дії вільних радикалів як ендогенного походження, так і ксенобіотиків, що потрапляють в організм із зовнішнього середовища (Ю.І.Губський, 1995).

Джерела та добова потреба

Найбільш багатими джерелами вітаміну Е в харчуванні людини є олії (соняшникова, кукурудзяна, соєва тощо), свіжі овочі та тваринні продукти (м'ясо, вершкове масло, яєчний жовток).

Добова потреба у вітаміні Е (α -токоферолі) становить 10-20 мг* [10 мг]**.

Вітамін F

Хімічна природа та властивості

Під вітамінами групи F розуміють групу поліненасичених жирних кислот рослинного походження — переважно лінолевої та ліноленової, що є попередниками у синтезі біологічно активних *ейкозаноїдів* — похідних арахідонової кислоти (простагландинів, тромбоксанів, лейкотрієнів).

Джерела та добова потреба

Джерелами поліненасичених жирних кислот є здебільшого рослинні олії, в деякій мірі — тваринні жири, вершкове масло, яйця. Добова потреба організму людини у вітаміні F складає близько 2-6 г.

Вітамін D

Хімічна будова

До вітамінів групи D належать вітамери D₃ (холекальциферол, вітамін D тваринного походження) та D₂ (ергокальциферол, вітамін D рослинного походження):

Біологічні властивості та механізм дії

Біологічною функцією вітамінів групи D є регуляція гомеостазу кальцію. Холекальциферол — вітамін D₃, що утворюється в організмі людини з 7-дегідрохолестерину, є попередником фактора гормонального типу дії *кальцитріолу* (1,25(OH)₂D₃), який індукує синтез Са-зв'язуючих білків еритроцитів і є, таким чином, основним регулятором всмоктування в кишечнику іонів Са²⁺, необхідних для кісткоутворення та контролю багатогранних Са-залежних біохімічних процесів (глава 25).

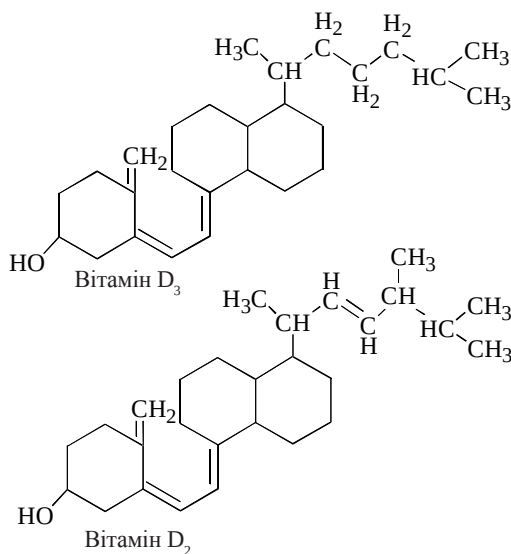
Найбільш частими причинами недостатності вітаміну D з порушенням кальцієво-фосфорного обміну, остеомаліцією і розвитком *рахіту* (rhachis — хребет; спинномозковий стовбур — грецьк.) у дітей є знижене сонячне опромінення шкіри, а також зменшене споживання тваринних продуктів, що містять холекальциферол.

Джерела та добова потреба

Найбільша кількість вітаміну D (D₃) міститься в продуктах харчування тваринного походження: вершковому маслі, жовтку яєць, печінці; особливо багатим джерелом вітаміну D₃ є риб'ячий жир, що широко використовується для профілактики і лікування рахіту.

Антирахітну активність має також *ергокальциферол* (вітамін D₂), що утворюється при ультрафіолетовому опроміненні рослинного стерину — ергостерину, який міститься в значній кількості в дріжджах та грибах.

Добова потреба в вітаміні D для дорослої людини складає 2,5-10 мкг* [5 мкг]**. Для дітей раннього віку — в середньому 12-25 мкг (Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин, 1983); за рекомендаціями Ради з харчових продуктів та харчування Національної академії наук США — 7,5-10 мкг.



ГЛАВА 28. БІОХІМІЯ І ПАТОБІОХІМІЯ КРОВІ

Кров є рідкою тканиною організму людини та вищих тварин, його внутрішнім середовищем, яке забезпечує зв'язок та інтеграцію обміну речовин різних органів і тканин.

Загальна кількість крові в організмі дорослої людини складає в середньому 7 % від маси тіла, тобто у людини масою 70 кг міститься близько 5 л крові.

При центрифугуванні кров поділяється на *формені елементи* (еритроцити, лейкоцити, тромбоцити) та рідку частину — *плазму*. Існує певне співвідношення між об'ємом плазми та форменими елементами, що встановлюється за допомогою гематокриту. У здорової людини плазма складає 55-60 % об'єму всієї крові, а формені елементи, відповідно, — 40-45 %. Плазма складається з води (90 %) та містить розчинені в ній органічні (білки, вуглеводи, ліпіди, різні метаболіти, біорегулятори та інші низькомолекулярні речовини) і неорганічні сполуки. Після видалення з кров'яного русла в плазмі крові відбувається *згортання*, тобто її розподіл на сироватку та згусток нерозчинного білка фібрину, який утворюється з розчинного фібриногену, що міститься в плазмі.

При різних патологічних станах, які супроводжуються розладами системної гемодинаміки та мікроциркуляції, загальний об'єм крові і співвідношення між плазмою та форменими елементами (гематокритне число) можуть суттєво змінюватися, що призводить до глибоких порушень фізіологічних та біохімічних функцій крові.

28.1. ФІЗІОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ФУНКЦІЇ КРОВІ

Дихальна функція — гемоглобін, що входить до складу еритроцитів, разом із плазмою крові здійснюють транспорт кисню від альвеол легень до всіх органів і тканин організму та зворотний транспорт діоксиду вуглецю. Біохімічні механізми переносу гемоглобіном O_2 та CO_2 між артеріальною та венозною кров'ю детально будуть розглянуті нижче.

Поживна (трофічна) функція — плазма крові забезпечує міжорганний перенос поживних речовин (вуглеводів, ліпідів, амінокислот, нуклеотидів, продуктів їх метаболізму, вітамінів) до клітин, де вони використовуються в катаболічних та анаболічних процесах. Таким шляхом, зокрема, відбуваються: транспорт від кишечника до печінки та інших органів продуктів травлення (моносахаридів, жирних кислот, гліцерину, амінокислот); перенос глюкози та кетонових тіл із печінки до м'язів; перенос молочної кислоти із скелетних м'язів до печінки; перенос із печінки до адипоцитів жирової тканини ліпідів у формі ліпопротеїнів; перенос жирних кислот та гліцерину з жирової тканини до клітин різних органів; надходження різних поживних метаболітів до головного мозку тощо.

Видільна (екскреторна) функція — за допомогою плазми крові забезпечується транспортування до органів виділення (нирок, легень, кишечника, шкіри) кінцевих метаболітів обміну речовин (сечовини, сечової кислоти, амонійних солей, білірубину) та продуктів біотрансформації чужорідних органічних сполук (лікарських токсичних речовин та інших ксенобіотиків).

Захисна функція — різні типи лейкоцитів та плазма крові за допомогою складної системи ферментів та специфічних білків забезпечують широкий спектр захисних реакцій, протидіючи порушенням внутрішнього гомеостазу, зокрема проникненню у внутрішнє середовище організму генетично чужорідних для нього білків та інших макромолекул. Ця *імунна функція* крові реалізується за рахунок Т-лімфоцитів, які є ефекторами клітинного імунітету, що руйнують чужорідні клітини і власні клітини із зміненими генетичними властивостями, та В-лімфоцитів, що виробляють специфічні антитіла — *імуноглобуліни*, які забезпечують гуморальну ланку імунітету. Важливе місце в системі захисту організму посідають ферменти макрофагів, що утворюються з деяких класів лейкоцитів, *білки комплементу* та інші фактори неспецифічної резистентності організму (α_2 -макроглобулін, α_1 -інгібітор трипсину, С-реактивний протеїн, фібронектин тощо).

Особливе значення серед біохімічних компонентів, які реалізують захисну функцію крові, мають білки згортальної та фібринолітичної систем, що забезпечують як захист організму від крововтрат у разі порушення цілісності судин, так і протидіють її коагуляції, тромбоутворенню всередині кров'яного русла.

Регуляторна функція — здійснюється за допомогою гормонів та інших біорегуляторів, що секретуються в кров певними ендокринними залозами, та за допомогою специфічних транспортних білків плазми крові переносяться у відповідні органи-мішені. Регуляторна функція крові виявляється також у підтриманні кислотно-лужного та водно-сольового балансу, осмотичного тиску міжклітинної рідини, участі в регуляції температури тіла.

28.2. ДИХАЛЬНА ФУНКЦІЯ ЕРИТРОЦИТІВ. БІОХІМІЯ ТА ПАТОБІОХІМІЯ ГЕМОГЛОБІНУ

Гемоглобін: структура, властивості

Дихальна функція еритроцитів здійснюється за рахунок гемопротеїну *гемоглобіну* — білка з четвертинною структурою, що складається з чотирьох субодиниць (протомерів), кожен з яких містить поліпептидний ланцюг, зв'язаний з гемом через залишок гістидину. У молекулі гемоглобіну по два з чотирьох поліпептидних ланцюгів попарно однакові, його молекулярна маса 64,5 кД.

У крові дорослої людини основним типом гемоглобіну (до 96 % усього гемоглобіну еритроцитів) є форма, що містить два α - та два β -ланцюги, які складаються, відповідно, з 141 та 146 амінокислотних залишків. Умовна формула такого *гемоглобіну дорослих* (*adult* — англ.) позначається $\text{HbA}_1 = \alpha_2\beta_2$. Крім цієї форми, в крові міститься до 2 % гемоглобіну A_2 , формула якого $\text{HbA}_2 = \alpha_2\delta_2$, та 2-3 % ембріонального, або *фетального* гемоглобіну $\text{HbF} = \alpha_2\gamma_2$.

Механізм участі гемоглобіну в транспорті кисню

Завдяки здатності приєднувати молекулу O_2 при його високому парціальному тиску і віддавати — при низькому, молекула гемоглобіну виконує свою основну фізіологічну функцію транспортера кисню, приєднуючи його в капілярах альвеол легень ($p\text{O}_2$ дорівнює 90-100 мм рт. ст.) та віддаючи тканинам у венозних капілярах, де $p\text{O}_2$ дорівнює 25-40 мм рт. ст.

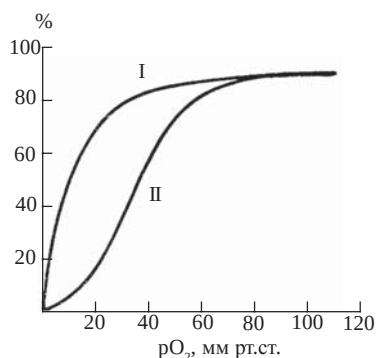


Рис. 28.1. Залежність ступеня оксигенації (% від максимальної) від парціального тиску O₂ для гемоглобіну (II) та міоглобіну (I) — кисеньзв'язуючого білка м'язів, що не має кооперативних властивостей.

Крива зв'язування гемоглобіном кисню та, відповідно, дисоціації оксигемоглобіну, має S-подібну форму, що свідчить про кооперативний характер процесу (рис. 28.1). Дійсно, приєднання молекули O₂ до першої субодиниці гемоглобіну внаслідок конформаційних змін, що відбуваються, підвищує здатність гемопротейну до взаємодії з подальшими трьома молекулами кисню. Таким чином, спорідненість гемоглобіну до четвертої молекули кисню майже в 300 разів вища, ніж до першої.

Ступінь оксигенації гемоглобіну (утворення HbO₂) залежить від таких факторів:

- парціального тиску кисню;
- значення pH;
- концентрації діоксиду вуглецю;
- концентрації 2,3-дифосфогліцерату;

S-подібна кінетика залежності ступеня утворення HbO₂ від парціального тиску кисню та (відповідно) його концентрації в крові була розглянута вище. Зазначимо також, що вивільненню кисню з оксигемоглобіну в периферичних тканинах значною мірою сприяє градієнт його парціального тиску в напрямку *альвеоли* (100 мм рт. ст.) → *артеріальна кров* (90 мм рт. ст.) → *венозна кров* (40 мм рт. ст.) → *мітохондрії клітин* (0-5 мм рт. ст.). Використання кисню в цитохромоксидазній реакції створює в мітохондріях “кисневий вакуум” (А.Я. Николаєв, 1998), завдяки якому клітини всмоктують атмосферний кисень.

Зв'язування гемоглобіном іонів H⁺ та CO₂ зменшує здатність гему до взаємодії з киснем, тобто активність утворення HbO₂. Цей негативний вплив зменшення pH та збільшення концентрації діоксиду вуглецю на утворення оксигемоглобіну має назву *ефекту Бора*. Молекулярні механізми ефекту Бора пов'язані з конформаційними змінами в молекулі гемопротейну, що відбуваються при його взаємодії із зазначеними лігандами.

2,3-Дифосфогліцерат — метаболіт, який має каталітичне значення для гліколізу, присутній в еритроцитах у концентрації 5 мМ, що наближається до еквімолекулярної концентрації з гемоглобіном. Важливою біохімічною функцією 2,3-дифосфогліцерату є його здатність зменшувати спорідненість гемоглобіну до кисню. Цей метаболіт зв'язується з молекулою гемоглобіну в деоксигенованій формі (Hb), протидіючи його взаємодії з O₂, тобто утворенню HbO₂. Таким чином, наявність в еритроцитах значної кількості 2,3-дифосфогліцерату є важливим регуляторним фактором, що сприяє вивільненню кисню з HbO₂ в тканинній ділянці кровообігу.

Механізми транспорту діоксиду вуглецю від тканин до легенів

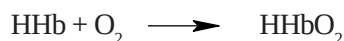
Крім транспорту молекул O₂ від легенів до капілярів периферичних тканин, гемоглобін відіграє також суттєву роль у переносі від тканин до легенів CO₂, який утворюється в клітинах у реакціях декарбоксилювання. Діоксид вуглецю,

що надходить у кров через стінки тканинних капілярів, частково безпосередньо розчиняється в плазмі, але більша його частина утворює бікарбонати, які з током крові надходять до легенів. Оскільки гемоглобін має властивості кислоти (Hb), до того ж його кислотні властивості зростають при оксигенації (HbO₂), він здатен взаємодіяти з бікарбонатами (KHCO₃) з утворенням вугільної кислоти (H₂CO₃), що і відбувається в легеневих капілярах; подальша дисоціація вугільної кислоти призводить до утворення вільного діоксиду вуглецю, який виділяється з легень у процесі зовнішнього дихання.

Процеси, що лежать в основі здатності гемоглобіну брати участь у транспорті CO₂, описуються такими рівняннями реакцій:

1. В легеневих капілярах.

Оксигенація гемоглобіну, що збільшує його кислотні властивості (тобто ступінь дисоціації кислотних груп його білкової частини):



Взаємодія кислотної форми гемоглобіну з бікарбонатом калію, що надходить всередину еритроциту з плазми крові:

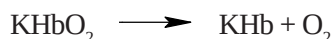


Розщеплення вугільної кислоти, що утворилась, під дією ферменту *карбоангідролази*:

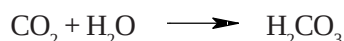


2. В капілярах периферичних тканин.

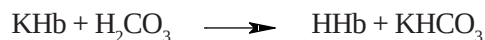
Відщеплення кисню від калієвої солі оксигемоглобіну:



Утворення всередині еритроцитів вугільної кислоти з діоксиду вуглецю, що генерується за рахунок процесів декарбоксилювання:



Утворення в еритроцитах бікарбонату при взаємодії вугільної кислоти з калієвою сіллю гемоглобіну:



Бікарбонат (HCO₃⁻), що утворився в цій реакції, надходить з еритроциту в плазму крові (за рахунок іонного обміну з аніоном Cl⁻) і транспортується в легені (п.1).

Варіанти та патологічні форми гемоглобінів

Гемоглобіни A₁, A₂ та F є представниками множинних молекулярних форм гемоглобінів (*ізобілками*), що звичайно містяться в еритроцитах усіх здорових людей. Разом з тим, в результаті мутацій у генах, що контролюють синтез α- або (частіше) β-ланцюгів, можливе виникнення різноманітних варіантів (алелей) відповідних генів та поява в еритроцитах алельних варіантів гемоглобінів. Ці ізобілки розрізняються за амінокислотним складом певних поліпептидних

ланцюгів (часто — заміною лише однієї амінокислоти в β -ланцюзі), за фізико-хімічними та функціональними властивостями, і головне — здатністю до транспорту кисню.

Патологічні стани, що розвиваються внаслідок наявності в крові варіантних або патологічних форм гемоглобінів із зміненими кисеньтранспортувальними властивостями, позначаються як **гемоглобінози**.

За механізмом виникнення молекулярного дефекту гемоглобінози поділяють на *гемоглобінопатії* та *таласемії*. При гемоглобінопатіях молекулярний дефект полягає у змінах первинної структури поліпептидних ланцюгів, що формують α - або β -субодиниці молекул гемоглобіну (амінокислотні заміни, делеції або вставки) з утворенням аномальних форм гемоглобінів. Такі аномальні гемоглобіни позначають великими літерами латинського алфавіту або за містом, де був вперше виявлений даний дефект. Таласемії — це такі уроджені дефекти синтезу гемоглобінів, при яких у мутантних формах гемоглобінів взагалі відсутні α - або β -ланцюги. Клінічно гемоглобінози проявляються різними формами анемії, іноді несумісними з життям.

HbF ($\alpha_2\gamma_2$) — фетальний гемоглобін — є основною молекулярною формою гемоглобіну людини під час внутрішньоутробного розвитку плода і зникає (замінюється на HbA) в перші 3 міс. після народження, тобто після переходу на легеневе дихання атмосферним киснем.

За своїми кисеньзв'язуючими властивостями HbF близький до міоглобіну; крива зв'язування кисню у фетального гемоглобіну є гіперболічною, тобто він не здатний до швидкої дисоціації з вивільненням O_2 при зниженні парціального тиску кисню, подібно до HbA, та не чутливий до регулюючого впливу 2,3-дифосфогліцерату. В разі спадкового персистування HbF його концентрація в крові дорослої людини може бути збільшеною в 10-20 разів, що клінічно проявляється важкою гіпоксією внаслідок нездатності такого гемоглобіну до нормального транспорту кисню між артеріальною та венозною кров'ю.

HbS — мутантний гемоглобін, у β -ланцюгах якого в положенні 6 замість залишку глутамінової кислоти присутній залишок валіну. Ця молекулярна заміна ($6_{\text{Glu}} \rightarrow 6_{\text{Val}}$), зменшуючи негативний заряд молекули гемоглобіну, супроводжується зниженням його спорідненості до O_2 та здатністю окремих молекул гемоглобіну злипатися між собою з утворенням ниткоподібних агрегатів. Такі міжмолекулярні агрегати змінюють форму еритроцитів, надаючи їм характерного серпоподібного вигляду — “серпоподібноклітинна анемія” (Sickle cell anemia — англ.). Серпоподібні еритроцити легко гемолізуються вже в судинному руслі, і клінічні прояви цієї хвороби варіюють від ледь помітних (гетерозиготна форма серпоподібноклітинної анемії) до тих, що спричиняють летальний кінець в ранньому віці (гомозиготні форми).

HbC — аномальний гемоглобін, у молекулі якого існує заміна залишку глутамінової кислоти в 6-му положенні β -ланцюга на лізин ($6_{\text{Glu}} \rightarrow 6_{\text{Lys}}$). Еритроцити, що містять такий аномальний гемоглобін, здатні до гемолізу, що також супроводжується розвитком анемії.

HbM — існує група гемоглобінів М, в поліпептидних ланцюгах яких залишок гістидину, що бере участь у зв'язуванні з залізом гему, заміщений на іншу амінокислоту. Зокрема, в гемоглобіні HbM_{Бостон} присутня заміна (α 58_{His} $\rightarrow$ 58_{Tyr}) в HbM_{Саскатон} — заміна (β 63_{His} $\rightarrow$ 63_{Tyr}).

У гемоглобінах, що містять такий молекулярний дефект, атом заліза Fe³⁺ не може відновлюватися *метгемоглобінредуктазою* до Fe²⁺, у зв'язку з чим в еритроцитах накопичується *метгемоглобін* (містить Fe³⁺ у складі гему), що не здатний до нормального транспорту кисню. Така метгемоглобінемія найбільш виражена в гомозиготному стані, внаслідок чого хворі гинуть в умовах важкої гіпоксії.

HbA_{1c} — глікозильований гемоглобін, який з'являється в еритроцитах за умов некомпенсованого цукрового діабету.

Таласемії — гемолітичні анемії, що розвиваються внаслідок утворення аномальних форм гемоглобінів, в глобіновій частині яких відсутній α - або β -поліпептидний ланцюг. Генетична основа таласемій полягає в ефекті мутацій, що зачіпають контрольні елементи (промотори або гени-регулятори), відповідальні за експресію певних структурних генів гемоглобіну.

28.3. КИСЛОТНО-ОСНОВНИЙ СТАН. БУФЕРНІ СИСТЕМИ КРОВІ

Кров відіграє значну роль у підтриманні кислотно-лужного гомеостазу, тобто певного співвідношення між концентраціями водневих та гідроксильних іонів у біологічних рідинах. У крові здорової людини підтримується стала концентрація водневих іонів, що складає в артеріальній плазмі 10^{-7,36}, або рН = 7,36, тобто реакція нормальної крові є слабколужною.

Регуляція **кислотно-основного стану (КОС)** або **кислотно-лужного балансу** в організмі здійснюється за участю буферних систем крові та функціонування легенів і нирок. Буферні системи — це суміші слабких кислот з солями цих кислот та сильних лугів, що нейтралізують, відповідно, луги та кислоти, які можуть накопичуватися в організмі під час обміну речовин, протидіючи тим самим відхиленням рН від фізіологічного рівня.

рН будь-якої буферної системи можна розрахувати за рівнянням:

$$\text{pH} = \text{pK}_{\text{кислоти}} + \lg \frac{[\text{сіль}]}{[\text{кислота}]}$$

Буферні системи крові

До буферних систем організму належать: бікарбонатна система, фосфатна система, система білків плазми крові, система гемоглобін-оксигемоглобін. Найбільше значення для підтримання кислотно-лужного балансу крові та всього організму мають бікарбонатна буферна система та система гемоглобіну.

Бікарбонатна буферна система складається з вільної вугільної кислоти (у вигляді діоксиду вуглецю), що розчинена в плазмі та еритроцитах, та розчинених бікарбонатів — натрію (в плазмі) та калію (в еритроцитах).

Кислотність у бікарбонатній системі може бути розрахована за *рівнянням Гендерсона-Хассельбаха*:

$$\text{pH} = 6,1 + \lg \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]}$$

Існує стале співвідношення між концентрацією в плазмі крові діоксиду вуглецю та бікарбонату натрію:

$$\frac{[\text{CO}_2]}{[\text{NaHCO}_3]} = 1/18 - 1/20 ,$$

тобто вміст бікарбонатів перевищує вміст вільної вуглекислоти у 18-20 разів, що і зумовлює деяку лужність крові. Запас бікарбонатів у крові (тобто хімічно зв'язана вуглекислота) отримав назву *лужного резерву крові*, що є важливим біохімічним компонентом, який протидіє зсувам рН крові в кислий бік при накопиченні в організмі кислих продуктів, наприклад, молочної кислоти за умов важкої фізичної праці.

Зниження лужного резерву крові, що відбувається за рахунок нейтралізації кислот бікарбонатами, супроводжується утворенням еквівалентної кількості H_2CO_3 , яка, проте, не накопичується в крові, а швидко розкладається на воду та діоксид вуглецю, що виділяється легеньми. Співвідношення між концентраціями вуглекислоти та бікарбонатів при цьому залишається сталим. Таким чином, включення додаткового фізіологічного механізму (легенева вентиляція, що регулює обмін газів між кров'ю та альвеолярним повітрям) сприяє утриманню рН крові на фізіологічному рівні навіть за умов накопичення кислих метаболітів та зниження лужного резерву.

Буферна система гемоглобіну

Здатність гемоглобіну та оксигемоглобіну бути компонентами відповідних буферних систем пов'язана з їх властивостями як кислот, що здатні утворювати в еритроцитах нестійкі калієві солі.

Калієва сіль гемоглобіну (КНб) в тканинних капілярах може взаємодіяти з вугільною кислотою (а також іншими кислими метаболітами), утворюючи вільний гемоглобін-кислоту (ННб) та сіль відповідної кислоти. Оксигемоглобін, що присутній в артеріальній крові, є більш сильною кислотою, ніж гемоглобін, і його калієва сіль може розкладати бікарбонати з утворенням вугільної кислоти, яка виділяється легеньми у формі CO_2 (див. вище).

Легені та нирки беруть участь у підтриманні КОС, регулюючи екскрецію або затримку в організмі надлишку кислих або основних продуктів метаболізму. Зокрема, виділення легеньми діоксиду вуглецю під час дихання протидіє накопиченню в крові кислих еквівалентів. Нирки здатні як до екскреції кислих (кислі фосфати тощо) або лужних продуктів (Na_2HPO_4 , іонів амонію), так і до затримання лужних еквівалентів шляхом реабсорбції бікарбонатів.

Порушення кислотно-лужного балансу — патологічні стани, що характеризуються надмірним накопиченням в організмі кислих (*ацидоз*) або лужних (*алкалоз*) сполук.

Залежно від біохімічних та патофізіологічних механізмів розвитку, розрізняють такі форми порушень кислотно-лужного балансу:

- *метаболічний ацидоз* — характеризується зменшенням концентрації HCO_3^- внаслідок накопичення в організмі кислот або втрати лугів;
- *метаболічний алкалоз* — характеризується підвищенням концентрації HCO_3^- внаслідок втрат організмом кислот або, рідше, накопиченням лугів;
- *респіраторний ацидоз* — є результатом зростання концентрації вугільної кислоти внаслідок порушення виділення CO_2 легеньми;
- *респіраторний алкалоз* — характеризується зниженням вмісту в крові вугільної кислоти внаслідок легеневої гіпервентиляції та підвищеного виділення CO_2 .

28.4. БІОХІМІЧНИЙ СКЛАД КРОВІ В НОРМІ ТА ПАТОЛОГІЇ

Біохімічний склад крові у здорової людини є відносно постійним, що пояснюється наявністю в організмі потужних гомеостатичних систем (центральної нервової, ендокринної систем), які забезпечують сталість внутрішнього середовища за рахунок регуляторних механізмів, що протидіють суттєвим змінам у концентраціях основних метаболітів та зсувам у фізико-хімічних параметрах плазми й інших біологічних рідин. Разом з тим, склад біохімічних компонентів плазми крові в певний момент віддзеркалює будь-які зміни в метаболізмі клітин окремих органів та надходження біоорганічних сполук з навколишнього середовища, зокрема поживних речовин після їжі, що відразу призводить до включення зазначених регуляторних механізмів.

Яскравим прикладом фізіологічної регуляції концентрації в плазмі крові глюкози, амінокислот та жирних кислот є *постпрандіальне* (після їжі) виділення β -клітинами підшлункової залози інсуліну та пригнічення секреції його антагоністів — контрінсулярних гормонів глюкагону, катехоламінів, гормону росту. Інсулін забезпечує підвищення проникності плазматичних мембран, зокрема м'язової та жирової тканини, для глюкози та певних амінокислот і стимулює анаболічні процеси, що призводять до активної внутрішньоклітинної утилізації зазначених біомолекул: індукцію ферментів синтезу глікогену у печінці та м'язах, синтезу тригліцеридів у печінці та адипоцитах, синтезу білків в печінці, м'язах та інших тканинах. Сукупність зазначених біохімічних перетворень призводить до нормалізації рівня глюкози та інших поживних метаболітів у плазмі крові до рівня, який спостерігався до прийняття їжі.

Хімічні компоненти, що входять до складу плазми крові, можна поділити на такі групи: білки плазми; небілкові органічні компоненти плазми (проміжні та кінцеві продукти метаболізму); неорганічні компоненти плазми.

Білки плазми крові

У плазмі крові міститься декілька десятків різних білків, що відрізняються за фізико-хімічними та функціональними властивостями: транспортні білки, ферменти, проферменти, інгібітори ферментів, гормони, антитіла, антитоксини, фактори коагуляції та антикоагулянти тощо. Загальна концентрація білків плазми крові людини складає 65–85 г/л, ця величина може змінюватися в бік зменшення

(*гіпопротеїнемія*) у людей старечого віку та за умов патологічних станів, що супроводжуються пригніченням білкового синтезу та активацією розпаду тканинних білків (голодування; виснажливі інфекційні хвороби; стан після тяжких травм, оперативних втручань; кахексія при злоякісних новоутвореннях).

Кількість окремих фракцій білків, що виявляються в плазмі крові, залежить від методу їх поділу (паперовий, гелевий електрофорез, зокрема електрофорез у поліакриламідному гелі, імуноелектрофорез тощо). За умов поширеного в клінічній практиці паперового електрофорезу білки плазми поділяються на п'ять фракцій: альбуміни (сироваткові альбуміни), α_1 -глобуліни, α_2 -глобуліни, β -глобуліни та γ -глобуліни. Біохімічні характеристики основних білків плазми крові людини подано в таблиці 28.1.

Т а б л и ц я 28.1. Основні фракції білків плазми крові людини

Білки	Концентрація, г/л	Молекулярна маса
Сироваткові альбуміни	40-50	66-69 кД
Глобуліни (загальна кількість)	20-40	
α_1 -глобуліни	3-6	40-60 кД
α_2 -глобуліни	4-9	100-400 кД
β -глобуліни	6-11	110-120 кД
γ -глобуліни	7-15	150-200 кД
Фібриноген	1,5-3,5	1340 кД
Протромбін	0,1	69-70 кД

Альбуміни (сироваткові альбуміни) — багатодисперсна фракція білків плазми, які характеризуються високою електрофоретичною рухомістю та легкою розчинністю у воді та сольових розчинах. Завдяки високій гідрофільності альбуміни зв'язують значну кількість води, і об'єм їх молекули за умов гідратації збільшується вдвічі. Гідратаційний шар, який утворюється навкруги молекул сироваткових альбумінів, забезпечує до 70-80 % онкотичного тиску білків плазми крові, що може застосовуватися в клінічній практиці при переливанні хворим із тканинними набряками розчинів альбуміну. В свою чергу, зменшення концентрації альбумінів сироватки, наприклад за умов порушення їх синтезу в гепатоцитах при печінковій недостатності, може спричиняти перехід води із судинного русла до тканин і розвиток онкотичних набряків.

Альбуміни виконують також важливу фізіологічну функцію як транспортери багатьох метаболітів та інших низькомолекулярних сполук. Молекули альбумінів мають декілька доменів з центрами зв'язування для молекул органічних лігандів, що приєднуються за рахунок електростатичних та гідрофобних зв'язків. За рахунок таких взаємодій сироваткові альбуміни можуть приєднувати та транспортувати жирні кислоти, холестерин, жовчні пігменти (білірубін тощо), вітаміни, гормони, деякі амінокислоти, фенол та інші токсичні та лікарські сполуки.

Глобуліни — гетерогенна фракція білків крові, що виконують транспортні (α_1 -глобуліни — транспорт ліпідів, тироксину, кортикостероїдних гормонів; α_2 -глобуліни — транспорт ліпідів, іонів міді; β -глобуліни — транспорт ліпідів, вільного та гемового заліза) та захисні (участь β -глобулінів в імунних реакціях як антиоксинів; γ -глобуліни як фракція імуноглобулінів) функції.

У клінічній практиці застосовується визначення співвідношення між концентраціями альбумінів та глобулінів у плазмі крові (так званого “білкового коефіцієнта”), що складає в середньому 1,5-2,0.

Імуноглобуліни крові. Імуноглобуліни (IgA, IgG, IgE, IgM) — білки γ -глобулінової фракції плазми крові, що виконують функцію *антитіл*, основних ефektorів гуморального імунітету. Структура та функції імуноглобулінів будуть докладно розглянуті в главі 30.

Значний клінічний інтерес викликають окремі білки плазми крові глікопротеїнової природи, зокрема компоненти системи неспецифічної резистентності організму — С-реактивний протеїн, кріоглобулін, сироваткові інгібітори протеїназ, фібрoneктин, білки системи комплементу, а також транспортні білки — гаптоглобін, трансферин, церулоплазмін.

С-реактивний білок (С-реактивний протеїн — СРП) — білок, що отримав свою назву внаслідок здатності реагувати з С-полісахаридом пневмокока, утворюючи при цьому преципітати. За хімічною природою є глікопротеїном.

У сироватці крові здорової людини С-реактивний білок відсутній, та з’являється при патологічних станах, що супроводжуються запаленням та некрозом тканин, зокрема він був вперше виявлений при крупозній пневмонії. Наявність СРП характерна для гострого періоду захворювань — “білок гострої фази”. Визначення СРП має діагностичне значення в гострій фазі ревматизму, при інфаркті міокарда, пневмококових, стрептококових, стафілококових інфекціях.

Кріоглобулін — білок γ -глобулінової фракції, що, подібно до С-реактивного протеїну, відсутній у плазмі крові здорових людей і з’являється в ній при лейкозах, лімфосаркомі, мієломі, ревматизмі, цирозі печінки, нефрозах. Характерною фізико-хімічною ознакою кріоглобуліну є його розчинність при нормальній температурі тіла (37 °С) та здатність утворювати желеподібні осадки при охолодженні плазми крові до 4 °С.

α_2 -Макроглобулін — білок α_2 -глобулінової фракції, універсальний сироватковий інгібітор протеїназ, вміст якого в крові найвищий, порівняно з іншими протеїназними інгібіторами, складаючи в середньому 2,5 г/л. α_2 -Макроглобулін є глікопротеїном з молекулярною масою 725 кД.

Інгібіторна активність α_2 -макроглобуліну виявляється відносно більшості природних протеїназ усіх чотирьох каталітичних класів: серинових, тіолових, карбокси- та металопротеїназ. У комплексі з цим інгібітором протеїнази втрачають каталітичну активність щодо високомолекулярних білків, але зберігають здатність гідролізувати низькомолекулярні пептиди. Біологічна роль α_2 -макроглобуліну полягає в регуляції систем тканинного протеолізу, які мають важливе значення в таких фізіологічних та патологічних процесах, як згортання крові, фібриноліз, процеси імунітету, функціонування системи комплементу, реакції запалення, регуляція судинного тону (кінінова та ренін-ангіотензинова системи).

α_1 -Антитрипсин (α_1 -протеїназний інгібітор) — глікопротеїн з молекулярною масою 55 кД, концентрація якого в плазмі крові складає 2-3 г/л. Основною біологічною властивістю цього інгібітора є його здатність утворювати комплекси з протеїназами, пригнічуючи при цьому протеолітичну активність таких

ферментів, як трипсин, хімотрипсин, плазмін, тромбін та протеаз, що вивільняються при руйнуванні лейкоцитів або чужорідних клітин у вогнищах запалення.

В умовах запального процесу вміст α_1 -антитрипсину в крові значно збільшується за рахунок стимуляції його синтезу в гепатоцитах. Велике значення має інгібіторна активність α_1 -антитрипсину також за умов некрозу підшлункової залози при гострих панкреатитах, що супроводжуються надходженням у тканини та біологічні рідини активних панкреатичних протеїназ. Уроджена недостатність α_1 -антитрипсину проявляється розвитком уже в молодому віці емфіземи легень внаслідок розщеплення тканинним трипсином міжальвеолярних перетинок.

Фібронектин — глікопротеїн плазми крові, який синтезується та секретується в міжклітинний простір багатьма клітинами. Фібронектин присутній на поверхні клітин, на базальних мембранах, у сполучній тканині та в крові. Фібронектин має властивості “липкого” білка, що зв’язується з вуглеводними угрупованнями сіалогліколідів (гангліозидів) на поверхні плазматичних мембран, виконуючи інтегруючу функцію у міжклітинній взаємодії. Крім того, за рахунок утворення комплексів з колагеновими фібрилами, фібронектин відіграє значну роль в організації перичелюлярного матриксу.

Гаптоглобін — білок α_2 -глобулінової фракції плазми крові. Гаптоглобін має здатність зв’язувати вільний гемоглобін, утворюючи комплекс, що входить до електрофоретичної фракції β -глобулінів. Нормальна концентрація в плазмі крові — 0,10-0,35 г/л.

У складі гаптоглобін-гемоглобінового комплексу гемоглобін поглинається клітинами ретикуло-ендотеліальної системи, зокрема в печінці, та підлягає окисленню до жовчних пігментів. Така функція гаптоглобіну сприяє збереженню в організмі за умов фізіологічного та патологічного розпаду еритроцитів іонів заліза, що входять до складу гемоглобіну. Надходження гемоглобіну до сечі (гематурія) спостерігається лише при значних кровотечах.

Трансферин (сидерофілін) — глікопротеїн β -глобулінової фракції, його молекулярна маса — 80 кД. Трансферин зв’язує в плазмі крові іони заліза (Fe^{3+}). Білок має на своїй поверхні два центри зв’язування заліза, яке вступає в комплекс із трансферином разом з аніоном гідрокарбонату.

Трансферин — це транспортна форма заліза, що доставляє його до місць депонування та використання. Зокрема, трансферин акцептує іони Fe^{3+} , що надходять у кров після їх всмоктування в кишечнику, та передає залізо на тканинний *феритин*, у складі якого залізо депонується в печінці, селезінці, кістковому мозку та інших органах. Концентрація трансферину в плазмі крові — близько 4 г/л.

Церулоплазмін — глікопротеїн α_2 -глобулінової фракції, що зв’язує в плазмі крові іони міді. Молекула церулоплазміну містить 8 іонів Cu^+ та 8 іонів Cu^{2+} , його молекулярна маса — близько 150 кД.

До складу церулоплазміну входить до 3 % усього вмісту міді в організмі та більше 90 % міді плазми. Церулоплазмін має властивості мідьвмісної *фероксидази*, окислюючи залізо з ферро- (Fe^{2+}) до ферри- (Fe^{3+}) форми. Ця реакція є необхідною для перетворення заліза в іонну форму, яка може зв’язуватися феритином і таким чином використовуватися для синтезу залізовмісних білків (гемоглобіну, цитохромів). Зниження вмісту церулоплазміну в плазмі крові (*хвороба Вільсона*)

призводить до виходу іонів міді з судинного русла і його накопичення протеогліканами сполучної тканини, що проявляється патологічними змінами в печінці, головному мозку (гепатоцеребральна дегенерація), рогівці тощо.

Ферменти плазми крові

У крові присутня значна кількість ферментних білків, які поділяють на власні ферменти крові та ферменти, що потрапляють до плазми крові з клітин інших органів, тканин або біологічних секретів.

До власних ферментів плазми крові належать різні протеази, фосфатази, естерази, зокрема компоненти згортальної та антизгортальної систем крові, ферменти, що беруть участь в імунних процесах, активації системи комплементу та інших реакціях неспецифічної резистентності організму тощо. До другої групи належать ферменти, що надходять у кров в результаті всмоктування соку підшлункової залози, слини (трипсин, амілаза, ліпаза) та ферменти, які проникають у кров за рахунок підвищення проникності плазматичних мембран різних органів — печінки, міокарда, нирок, хребцевої мускулатури тощо. Ця група ферментів, що отримала назву *індикаторних*, має суттєве клініко-діагностичне значення, засвідчуючи про патологічні uszkodження мембран гепатоцитів (аланін-амінотрансфераза), міокарда (аспартат-амінотрансфераза, креатинфосфокіназа) тощо.

Калікреїн-кінінова система

Кініни — низькомолекулярні пептиди, що містяться в крові та інших біологічних рідин та тканинах, беручи участь у регуляції судинного тону (розширення судин), процесів мікроциркуляції, запаленні, алергічних реакціях.

Основними кінінами крові є нонапептид *брадикінін* та декапептид *калідін*:

Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg

Брадикінін

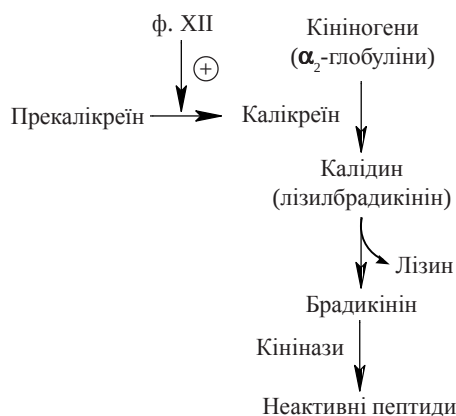
Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg

Калідін (лізилбрадикінін)

Кініни синтезуються з білків *кініногенів* за участю протеїназ *калікреїнів*, що вирізають у молекулах кініногенів специфічні нона- або декапептидні фрагменти. В свою чергу, калікреїн плазми крові знаходиться в неактивному стані у формі *прекалікреїну*, який перетворюється в активний фермент за участю серинової протеїнази — фактора XII згортальної системи крові.

Період напівжиття кінінів плазми крові незначний (20-30 с). Руйнування кінінів здійснюється за рахунок дії ферментів *кініназ*, що розщеплюють пептидні зв'язки у молекулах кінінів, спричиняючи втрату їх біологічної активності.

Схему утворення та розщеплення кінінів плазми крові подано на рис. 28.2: Рис. 28.2. **Кінінова система плазми крові.**



Кініни розслаблюють гладенькі м'язи кровоносних судин, спричиняючи зниження кров'яного тиску, а також розширення судин мікроциркуляторного русла в ділянках запалення. Брадикінін є найбільш потужною судинодилатуючою речовиною в організмі. Крім того, внутрішньотканинне утворення кінінів у зоні запалення спричиняє підвищення проникності судинних стінок, почуття болю.

У зв'язку із значною роллю кінінів у патогенезі запальних процесів, у клінічній практиці широко застосовуються лікарські засоби, що є інгібіторами кініноутворення (*Контрикал, Гордокс* тощо).

Небілкові органічні сполуки плазми крові

Азотовмісні сполуки

Органічний азот біохімічних сполук, що його можна визначити в надосадовій рідині після осадження білків плазми або сироватки крові, отримав у клінічній біохімії назву *залишкового*, або *рест-азоту* (RN). Цей небілковий азот складається з азоту таких кінцевих продуктів білкового та нуклеїнового катаболізму, як сечовина, амінокислоти, вільні нуклеотиди, сечова кислота, креатин, креатинін та деякі інші сполуки. Концентрацію в плазмі крові основних азотовмісних небілкових сполук плазми крові подано в таблиці. 28.2.

Т а б л и ц я 28.2. Небілкові азотовмісні компоненти плазми крові

Компонент	Концентрація, г/л
Сечовина	0,2-0,3
Амінокислоти	3,5-6,5
Сечова кислота	2-6
Креатинін	1-2

Загальна концентрація залишкового (рест-азоту) в плазмі крові здорових людей складає 20-40 мг % (0,2-0,4 г/л). Різка збільшення цього показника — *гіперазотемія*, зокрема за рахунок зростання азоту сечовини, спостерігається найбільш часто за умов порушення азотовидільної функції нирок, що має місце при гострій або хронічній нирковій недостатності.

Безазотисті сполуки

До безазотистих хімічних компонентів плазми крові належать вуглеводи, ліпіди, органічні кислоти, що є метаболітами обміну речовин (молочна, піровиноградна, ацетооцтова кислоти, метаболіти трикарбонового циклу).

Вуглеводи плазми крові. У плазмі крові містяться, переважно, моносахариди, головним чином глюкоза (в концентрації натщесерце — 65-119 мг %, або 3,58-6,05 ммоль/л) та фруктоза, галактоза і деякі пентози (рибоза, дезоксирибоза). Основні продукти гліколізу містяться в плазмі крові у концентраціях: молочна кислота — 8-17 мг %, піровиноградна кислота — 0,4-2,5 мг %.

Ліпіди плазми крові. Загальна концентрація ліпідів у плазмі крові людини коливається залежно від режиму і якості харчування та конституційних особливостей організму (віку, статі), складаючи в середньому 5-7 г/л. У фізіологічних умовах загальна кількість ліпідів крові може збільшуватися до 10-15 г/л після вживання їжі, багатой на жири (*аліментарна гіперліпемія*).

Найбільшу кількість серед ліпідів плазми крові становлять сполуки таких класів (А.Н.Клімов, 1980):

- тригліцериди — 0,5-1,9 г/л;
- фосфоліпіди — 1,1-2,75 г/л;
- холестерин загальний — 1,5-2,6 г/л;
- холестерин етерифікований — 1,0-2,1 г/л;
- жирні кислоти (неетерифіковані) — 0,08-0,2 г/л.

Ліпіди як гідрофобні сполуки не здатні знаходитися у вільному (розчинному) стані в плазмі крові, яка з фізико-хімічної точки зору є водно-сольовим розчином. Стабілізаторами ліпідів плазми є спеціальні білки (*апопротеїни*, або *аполіпопротеїни*), що сприяють утворенню ліпопротеїнових міцел, у складі яких різні класи ліпідів можуть транспортуватися кров'ю. Існує п'ять класів апопротеїнів (А,В,С,Д,Е), що в певних кількісних співвідношеннях входять до складу різних ліпопротеїнів (глава 16).

Розрізняють такі транспортні форми ліпопротеїнів плазми:

– *хіломікрони* (1-2,5 г/л) — основна транспортна форма триацилгліцеролів;

– *ліпопротеїни дуже низької щільності* (ЛПДНЩ), або *пре-β-ліпопротеїни* (1,3-2,0 г/л) — містять значну кількість триацилгліцеролів, а також фосфоліпіди та холестерин;

– *ліпопротеїни низької щільності* (ЛПНЩ), або *β-ліпопротеїни* (2,1-4,0 г/л) — основна транспортна форма холестерину; зростання концентрації в крові ЛПНЩ сприяє проникненню холестерину в ендотелій і утворенню атеросклеротичної бляшки, що є фактором ризику розвитку атеросклерозу;

– *ліпопротеїни високої щільності* (ЛПВЩ), або *α-ліпопротеїни* (0,2-0,25 г/л) — містять значну кількість фосфоліпідів, а також холестерин та триацилгліцероли; ЛПВЩ розглядаються як “антиатерогенні” ліпопротеїни, що сприяють виходу холестерину із судинної стінки.

Підвищення концентрації в плазмі крові різних класів ліпопротеїнів (*гіперліпопротеїнемія*) свідчить про серйозні зміни ліпідного обміну, найчастіше пов'язані з певними генетичними порушеннями. Відомо п'ять основних типів гіперліпопротеїнемій, що залежать від дефектів у ферментних системах розщеплення або перетворення певних ліпопротеїнів (типи I, II, III, IV, V) та можуть проявлятися раннім розвитком атеросклерозу, ожирінням, ксантоматозом, захворюваннями печінки, нирок, зниженням толерантності до глюкози.

Неорганічні компоненти плазми

Основними неорганічними компонентами плазми крові є катіони електролітів — кальцію (2,5 ммоль/л), натрію (140 ммоль/л), калію (5 ммоль/л), інших мінеральних елементів (переважно заліза, міді), мікроелементів — та аніони бікарбонатів, хлоридів, фосфатів, сульфатів, йодидів.

ГЛАВА 29. БІОХІМІЯ ЗГОРТАЛЬНОЇ І ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ СИСТЕМ КРОВІ

Згортання крові (коагуляція) — фізіолого-біохімічний процес, завдяки якому кров втрачає свою текучість і утворює *тромби* (кров'яні згустки). Здатність крові згортатися (коагулювати) з утворенням тромбів забезпечується функціонуванням *згортальної (гемокоагуляційної) системи*, або системи *гемостазу*.

29.1. ФУНКЦІОНАЛЬНІ ТА БІОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ

Система гемостазу складається з ферментів та додаткових біохімічних факторів плазми крові, тромбоцитів та іншими кровоносних судин. В умовах нормальної життєдіяльності утворення тромбів відбувається за умов пошкодження судинної стінки і має захисне значення, протидіючи витіканню рідкої крові з гемоциркуляторного русла. Внутрішньосудинне утворення тромбів (*тромбоз*) є патологічним процесом і має місце при тяжких порушеннях у регуляції системи гемостазу.

За своєю структурою тромб — це утворення, що складається із сітки ниток нерозчинного білка *фібрину* та іммобілізованих у фібриновій сітці формених елементів крові. Розрізняють: *білі тромби*, утворені, переважно, скупченнями тромбоцитів; *червоні тромби*, до складу яких входить значна кількість еритроцитів.

Підтримання рідкого стану крові всередині кровоносних судин та протидія внутрішньосудинному згортанню крові забезпечуються *антизгортальною системою* крові, що складається з численних *антикоагулянтів*. Фібринові згустки, що можуть утворюватися в судинах, руйнуються ферментами *фібринолітичної системи*.

Із фізіологічної точки зору розрізняють:

1. Судинно-тромбоцитарний гемостаз, який є первинною реакцією на пошкодження судин мікроциркуляторного русла, що забезпечується судинною стінкою та тромбоцитами. Судинно-тромбоцитарному гемостазу належить провідна роль на початкових етапах зупинки кровотечі в зоні мікроциркуляторних судин. Цей тип гемостазу включає в себе:

- рефлекторний спазм судин, що стимулюється судинозвужувальними сполуками, які виділяються з тромбоцитів (серотонін, адреналін, норадреналін);
- адгезію тромбоцитів у зоні ушкодження судини. Поверхнею, до якої прикріплюються тромбоцити, є колагенова сітка ендотелію та субендотеліальної базальної мембрани. Відбувається взаємодія негативних ділянок на поверхні тромбоцитів з $\epsilon\text{-NH}_3^+$ -групами лізильових залишків колагенових фібрил;
- агрегацію тромбоцитів, що призводить до утворення тромбоцитарного тромбу. Розрізняють фазу зворотної агрегації, яка стимулюється АДФ, та фазу незворотної агрегації, індукторами якої є тромбін, колаген та Ca^{2+} . Протидіють агрегації тромбоцитів та, відповідно, утворенню тромбу цАМФ та інгібітори циклооксигенази (ацетилсаліцилова кислота й інші нестероїдні протизапальні засоби).

2. Коагуляційний гемостаз, кінцевим результатом активації якого є утворення фібринового згустка, який іммобілізує формені елементи та утворює міцний тромб на поверхні ендотелію. Цей процес є основним типом гемостазу при кровотечах і реалізується складним ферментативним механізмом згортальної системи крові.

29.2. ЗГОРТАЛЬНА СИСТЕМА КРОВІ: КОМПОНЕНТИ, МЕХАНІЗМИ АКТИВАЦІЇ

До складу згортальної системи крові входять ферментативні та неферментативні білки плазми, тканин, надмолекулярні комплекси, іони кальцію.

Процес згортання крові та утворення кров'яного згустка становлять каскад послідовних ферментативних реакцій, що каталізуються спеціалізованими білками — факторами згортання. У каскадній системі згортання крові кожний білковий фактор спричиняє активації наступного компонента каскаду за принципом *профермент (неактивний) —> фермент (активний)*, що забезпечує послідовне лавиноподібне посилення процесу та реалізує швидку захисну реакцію на травму судини.

Номенклатура (нумерація та тривіальні позначення) факторів згортання крові (згідно з рекомендаціями Міжнародного номенклатурного комітету):

- Фактор I (фібриноген).*
- Фактор II (протромбін).*
- Фактор III (тканинний тромбoplastин).*
- Фактор IV (іони кальцію).*
- Фактор V (проакцелерин).*
- Фактор VII (проконвертин).*
- Фактор VIII (антигемофільний глобулін A, фактор Віллебранда).*
- Фактор IX (антигемофільний глобулін B, фактор Кристмаса).*
- Фактор X (фактор Стюарта-Провера).*
- Фактор XI (фактор Розенталя, або плазмовий попередник тромбoplastину).*
- Фактор XII (фактор Хагемана).*
- Фактор XIII (фібринстабілізуючий фактор).*

Поряд із зазначеними основними факторами коагуляції, що містяться переважно в плазмі крові, існують **тромбоцитарні фактори коагуляції**, які беруть участь на різних етапах судинно-тромбоцитарного, коагуляційного гемостазу та фібринолізу. Тромбоцитарні фактори коагуляції звичайно позначають латинською літерою P (від англ. platelets — пластинки (кров'яні)) із цифровими індексами: P₁-P₁₁.

Механізми активації та функціонування каскадної системи згортання крові

Каскадний ланцюг згортання крові може включатися за рахунок активації двох альтернативних механізмів: *внутрішнього та зовнішнього шляхів (механізмів) коагуляції*, що розрізняються початковими реакціями та конвергують в єдиний загальний шлях коагуляції, який починається з активації фактора X.

Центральною молекулярною подією в реалізації процесу коагуляції крові є утворення активного фактора X (фактора Стюарта-Провера).

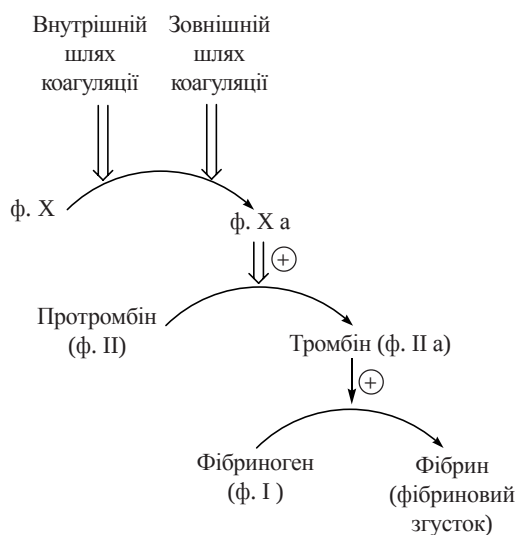


Рис. 29.1. Схема взаємовідносин між внутрішнім, зовнішнім та загальним кінцевим шляхами коагуляції.

Внутрішній шлях коагуляції активується при взаємодії крові з “чужою” поверхнею (поверхнею, що змочується), якою в організмі є поверхня ендотелію (за умов зменшення швидкості кровотоку в зоні аномальної судинної стінки) або адгезованих тромбоцитів. В умовах *in vitro* такою змочуваною поверхнею є стінки скляного посуду, з якими контактує кров.

Коагуляція крові за внутрішнім шляхом складається з таких послідовних етапів:

1. **Активація фактора XII (ф. Хагемана)** — відбувається при взаємодії крові з поверхнею за умов протеолітичної дії *калікрейну*, який відщеплює від ф. XII пептидний фрагмент із молекулярною масою 28 кД, утворюючи активний фактор XII_a.

2. **Активація фактора XI** — відбувається під впливом фактора XII_a, який утворює з фактора XI фактор XI_a (активний тромбопластин плазми).

3. **Активація фактора IX (ф. Кристмаса)** — відбувається під впливом фактора XI_a, який відщеплює від фактора IX пептидний фрагмент із м.м. 9 кД, утворюючи активну серинову протеїназу — фактор IX_a. Процес потребує присутності іонів Ca²⁺.

4. **Активація фактора X** — при функціонуванні “внутрішнього шляху” коагуляції активація фактора X відбувається за рахунок протеолітичної дії фактора IX_a, який відщеплює від фактора X пептидні фрагменти з утворенням активних форм серинової протеїнази — фактора X_a, — яка складається з двох молекулярних форм (X_a-α та X_a-β). Процес перебігає при участі білка-модифікатора — фактора VIII (антигемофільного глобуліну A) — та іонів Ca²⁺.

5. **Активація фактора II (протромбіну)** — перетворення протромбіну в тромбін (фактор II_a) відбувається під впливом протеїнази X_a за умов присутності іонів Ca²⁺ та активної форми проакцелерину (фактора V_a). Активація протромбіну відбувається на поверхні тромбоцитів за участю фосфоліпідів тромбоцитарних мембран; присутність акцелерину (фактора V_a) тромбоцитів необхідна для зв’язування

Фактор X — це Ca²⁺-залежний глікопротеїн, що синтезується в печінці при участі вітаміну K. Він складається з легких та важких поліпептидних ланцюгів, що з’єднані дисульфідними місточками, й активується шляхом обмеженого протеолізу. Активованний фактор X (ф. X_a) є сериною протеїназою, що перетворює протромбін (ф. II) в активний тромбін (ф. II_a), необхідний для трансформації фібриногену (ф. I) в фібрин — основу фібринового згустка або тромбу.

Взаємозв’язок між внутрішнім, зовнішнім та загальним кінцевим шляхами в процесі згортання крові подано на рис. 29.1.

фактора X_a , вона збільшує швидкість реакції в десятки тисяч разів. Результатом процесу є утворення тромбіну — основного ферменту згортальної системи крові, який є сериною протеїназою з м.м. 34 кД, що має трипсиноподібну активність. Протромбін людини складається з двох ланцюгів — легкого та важкого (36 та 264 амінокислотних залишків, відповідно); пептидні ланцюги в молекулі тромбіну зв'язані з глюкозаміном та сіловою кислотою.

6. *Перетворення фібриногену в фібрин* — заключний етап коагуляційного каскаду. Фібриноген — це глікопротеїн із м.м. 340 кД, що складається з шести поліпептидних ланцюгів (два $A\alpha$ -ланцюги, два $B\beta$ -ланцюги та два γ -ланцюги; структура молекули фібриногену — $(A\alpha)_2(B\beta)_2\gamma_2$). Тромбін розщеплює чотири пептидні зв'язки типу $-Arg-Gly-$ в молекулі фібриногену, що призводить до утворення вільних пептидів *фібрину-мономера*.

Молекули фібрину-мономера спонтанно агрегують, утворюючи довгі нерозчинні нитки фібрилярного фібрину, тобто фібринові згустки. У подальшому під

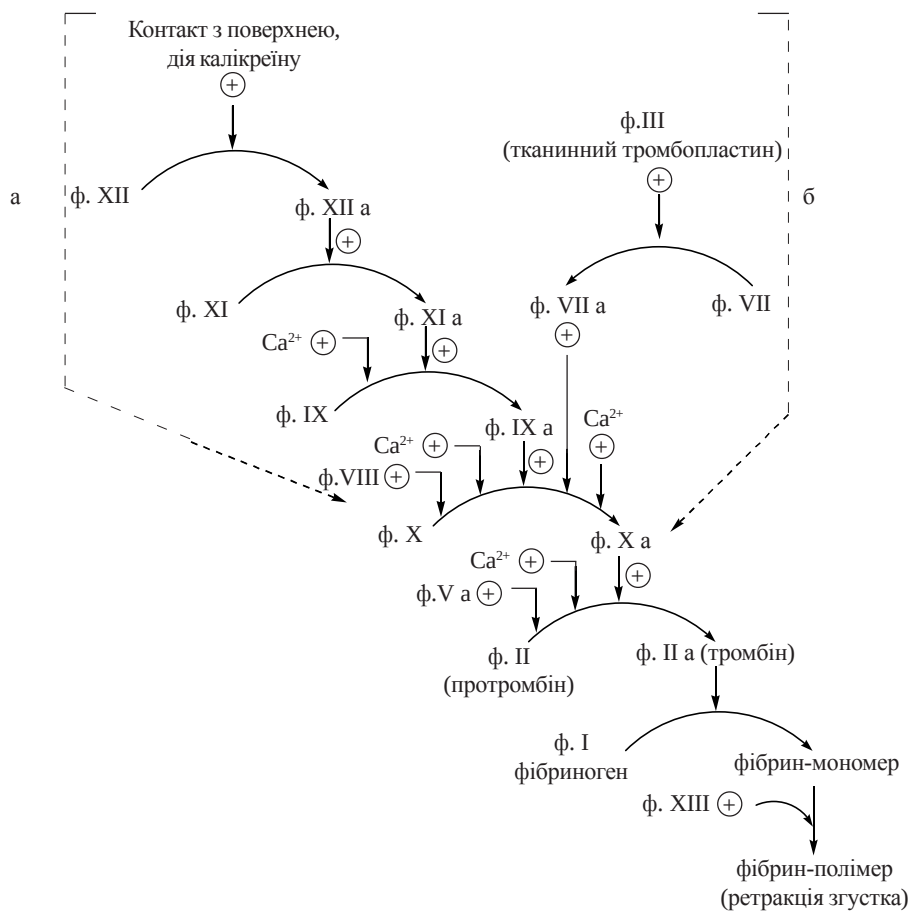
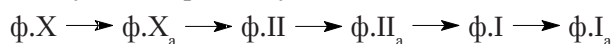


Рис. 29.2. Каскад реакцій згортання (коагуляції) крові за внутрішнім — а (активація фактора XII) та зовнішнім — б (утворення тканинного тромбопластину — фактора III) шляхами.

дією ферменту *трансглютамінази* (фактора XIII) відбувається зшивання окремих молекул фібрину-мономера з утворенням *фібрину-полімеру*. Така стабілізація фібринової сітки отримала назву *ретракції згустка крові*.

Зовнішній шлях коагуляції активується за умов пошкодження кровоносних судин та оточуючих тканин і надходження в кров ліпопротеїнового тканинного фактора, який у сучасній літературі позначається як *фактор III (тканинний тромбопластин)*.

Фактор III, що діє як білок-модифікатор, спричиняє активацію фактора VII (проконвертину), перетворюючи останній в активну протеїназу — фактор VII_a (конвертин). Конвертин разом з іонами Ca²⁺ активує фактор X, тобто запускає загальний шлях коагуляції за розглянутою вище схемою:

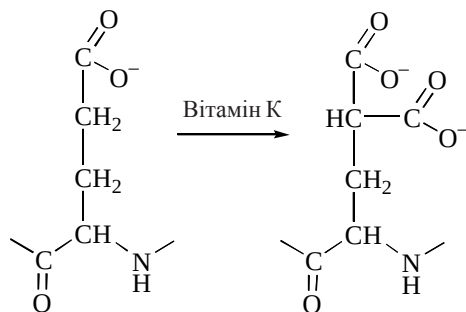


Після утворення тканинного тромбoplastину, що є швидкість-лімітуючим фактором згортання крові за механізмом зовнішнього шляху, подальша коагуляція відбувається надзвичайно швидко і кров'яний згусток утворюється протягом декількох секунд.

Загальну схему каскаду коагуляції крові за внутрішнім та зовнішнім шляхами подано на рисунку 29.2.

Роль вітаміну К у реакціях каскаду коагуляції

Вітамін К — жиророзчинний вітамін, що існує у вигляді двох вітамерів (K₁ та K₂), є необхідним кофактором реакцій коагуляції. При його відсутності порушується формування функціонально активних факторів згортальної системи —



ф.ф. II, VII, IX та X. Біохімічний механізм дії вітаміну К полягає в його участі у функціонуванні ферментної системи, яка перетворює *глутамінову кислоту* пептидних ланцюгів зазначених факторів коагуляцію в *γ-карбоксиглутамінову кислоту*. Зокрема, в молекулі протромбіну відбувається *γ-карбоксилювання* глутамату в положеннях 7, 8, 15, 17, 20, 21, 26, 27, 30 та 33.

γ-Карбоксилювання білкових факторів коагуляції збільшує спорідненість їх молекул з іонами Ca²⁺, які необхідні для зв'язування білків із мембранними фосфоліпідами та запуску каскаду коагуляції. Авітаміноз К супроводжується підвищеною кровоточивістю; декальцинована кров не згортається.

Спадкові порушення процесу згортання крові

Порушення у функціонуванні системи згортання крові — *коагулопатії* можуть розвиватися внаслідок генетичного дефекту в синтезі плазмових чи тромбоцитарних факторів коагуляції і клінічно характеризуються зниженням згортальної активності крові, схильністю до кровотеч. Найбільш поширеними спадковими коагулопатіями є:

1. Гемофілії — коагулопатії, що виникають внаслідок спадкової відсутності одного або декількох факторів згортальної системи плазми. Гемофілії проявляються значними кровотечами, які з'являються навіть при незначних пошкодженнях кровоносних судин і є небезпечними для життя. Виділяють:

– *гемофілію А* (хворобу Віллебранда) — розвивається за умов нестачі фактора VIII, синтез якого пов'язаний із X-хромосомою; наслідується за рецесивним типом, проявляючись в осіб чоловічої статі;

– *гемофілію В* (хворобу Кристмаса) — розвивається за умов порушення синтезу фактора IX;

– *гемофілію С* — розвивається при порушенні синтезу фактора XI, клінічно характеризується менш вираженими кровотечами, ніж гемофілії А та В.

2. А-(гіпо-)фібриногенемії — характеризуються повною або частковою відсутністю в плазмі фібриногену. Патологія наслідується як автосомна рецесивна хвороба, при якій спостерігаються тяжкі кровотечі внаслідок повної відсутності здатності крові до коагуляції.

3. Дисфібриногенемії — коагулопатії, які виникають при амінокислотних замінах у первинній структурі молекул фібриногену. Аномальні молекули фібриногену мають змінену конформацію, що утруднює нормальний процес перетворення фібриногену у фібрин.

29.3. АНТИЗГОРТАЛЬНА СИСТЕМА КРОВІ

Існування в нормальних фізіологічних умовах рідкого стану крові зумовлене наявністю антизгортальної системи, що складається з антикоагулянтів — сполук, які протидіють внутрішньосудинній активації системи коагуляції.

Антикоагулянти виконують функції інгібіторів певних білкових факторів згортання крові. Зниження вмісту цих інгібіторів у плазмі крові людини спричиняє підвищення схильності крові до згортання і може призводити до тромбозу.

Антитромбіни — білки крові, що гальмують каталітичну активність тромбіну. Найбільш потужним інгібітором тромбіну є *антитромбін III* — білок, антикоагулянтна активність якого значно зростає в присутності *гепарину*. Антитромбін III здатний зв'язуватися із сериновими протеїназами ферментного каскаду коагуляції крові, блокуючи, крім тромбіну, активність таких факторів, як IX_a, X_a, XI_a, XII_a.

α_1 — інгібітор протеїназ (α_1 — інгібітор трипсину) — глікопротеїн α_1 -глобулінової фракції плазми крові. Інгібітор має широкий спектр антипротеїназної дії, гальмуючи активність багатьох серинових протеїназ, зокрема, тромбіну, факторів X_a та XI_a системи згортання крові.

α_2 — макроглобулін — глікопротеїн α_2 -глобулінової фракції плазми крові, що є інгібітором протеїназ із широкою субстратною специфічністю, блокуючи серинові, тіолові, карбокси- та металопротеїнази. Концентрація α_2 -макроглобуліну в плазмі крові людини (до 2,5 г/л) найвища, порівняно з іншими протеїназними інгібіторами. α_2 -Макроглобулін є інгібітором тромбіну, активність якого, на

відміну від антитромбіну III, не залежить від дії гепарину. На долю цього інгібітора припадає до 25 % антитромбінової активності плазми крові.

Гепарин — гетерополісахарид (глікозамінглікан), що є потужним природним антикоагулянтом. Його молекула побудована з дисахаридних фрагментів, що повторюються і складаються із залишків сульфатованої D-глюкуронової або L-ідурунової кислоти та N-ацетилглюкозаміну; гепарин існує у формі поодиноких полісахаридних ланцюгів або у вигляді протеогліканів, тобто білків, які зв'язані з декількома глікозамінглікановими ланцюгами.

Гепарин синтезується тучними клітинами (гепариноцитами), що розташовані в печінці, легенях та впродовж стінок кровоносних судин. Механізм антикоагулянтної дії гепарину полягає в активації антитромбіну III: взаємодія з гепарином спричиняє конформаційну перебудову антитромбіну III, в результаті якої в останнього з'являється можливість зв'язуватися із сериновими протеїназами коагуляційного каскаду, блокуючи їх каталітичні активності.

Кумарини — антикоагулянти природного (рослинного) та синтетичного походження, антагоністи вітаміну К. Вони є антикоагулянтами непрямой дії, протидіють утворенню біохімічно активних (γ -карбоксиглутамінованих) факторів коагуляції — II, VII, IX, X. У лікарській практиці для профілактики та лікування тромбозів застосовують такі похідні 4-оксикумарину, як *Неодикумарин*, *Синкумар*.

29.4. ФІБРИНОЛІТИЧНА СИСТЕМА КРОВІ

Фібриноліз — процес ферментативного розщеплення фібрину кров'яного згустка, що супроводжується руйнуванням тромбу. Завдяки функціонуванню фібринолітичної системи відбувається постійне розчинення внутрішньосудинних тромбів, що можуть утворюватися на стінках кровоносних судин внаслідок дії факторів, які активують згортальну систему крові.

Фібриноліз складається з двох послідовних етапів:

I етап — утворення з неактивного проферменту *плазміногену* (*профібринолізину*) активного ферменту — протеїнази *плазміну* (*фібринолізину*), яка розщеплює фібрин тромбу.

Плазміноген — глікопротеїн із класу β -глобулінів із м.м. приблизно 80 кД, складається з одного поліпептидного ланцюга.

Активация плазміногену з утворенням активного плазміну здійснюється за рахунок розщеплення протеїназами внутрішнього пептидного зв'язку $\text{Arg}_{560} \rightarrow \text{Val}_{561}$. Фізіологічними активаторами цього глікопротеїну є фактор XII_a, численні тканинні та судинні активатори плазміногену. Важливим активатором плазміногену є *урокиназа*, що синтезується в нирках. Здатність активувати глікопротеїн без розщеплення внутрішньомолекулярного пептидного зв'язку має *стрептокиназа* — білок, що міститься в β -гемолітичного стрептокока.

Плазмін — фермент, що за механізмом ферментативної дії є сериновою протеїназою трипсиноподібної дії. Він є глікопротеїном із м.м. 80 кД, складається з

двох поліпептидних ланцюгів: важкого (А) та легкого (В). Фізіологічним субстратом плазміну є фібрин, проте фермент в умовах *in vitro* має широку субстратну специфічність, розщеплюючи різні білкові субстрати: фібриноген, білкові фактори комплементу, казеїн.

II етап — розщеплення фібрину, що є основою фібринового згустка, до пептидних продуктів протеолізу. Процес каталізується активним плазміном, що утворився на I етапі фібринолізу.

Розчинні продукти деградації фібрину екскретуються із сечею. Підвищення вмісту в сечі продуктів розщеплення фібрину свідчить про надмірне посилення внутрішньосудинного згортання крові.

Утворення плазміну з плазміногену, що постійно відбувається в крові, є фізіологічним механізмом, який протидіє внутрішньосудинному тромбоутворенню. З іншого боку, надмірному посиленню фібринолізу перешкоджає природний антагоніст плазміну — білковий інгібітор глікопротеїн α_2 -антиплазмін. Спадкове зниження концентрації α_2 -антиплазміну в крові супроводжується підвищеною кровоточивістю.

У медичній практиці з метою лізису тромбів та профілактики тромбозів застосовують такі фармакологічні препарати компонентів фібринолітичної системи:

1. *Фібринолізин (плазмін)* — препарат, який отримують із профібринолізину (плазміногену) крові людини шляхом активації плазміногену трипсином.
2. *Урокіназу* — препарат, який виділяють із клітин нирок людини.
3. *Стрептокіназу* — препарат, який отримують із культури β -гемолітичного стрептокока групи С.
4. *Тканинний активатор плазміногена (ТАП)* — препарат, який синтезують біотехнологічним методом за допомогою генної інженерії.

ГЛАВА 30. БІОХІМІЯ ІМУННИХ ПРОЦЕСІВ

Імунна система — анатомо-функціональна система організму вищих тварин та людини, що виконує захисні функції щодо підтримання внутрішнього *антигенного гомеостазу*. Антигени — це високомолекулярні сполуки, які є генетично чужорідними для даного організму і викликають специфічну імунну реакцію, спрямовану на їх відторгнення та елімінацію. Антигенні властивості мають переважно біомакромолекули — білки, нуклеїнові кислоти, деякі полісахариди та, в ряді випадків, синтетичні полімери. Імунна система за допомогою клітинних та гуморальних механізмів забезпечує розпізнавання, зв'язування та руйнацію антигенів як інфекційного, так і неінфекційного походження.

30.1. КЛІТИННА І БІОХІМІЧНА ОРГАНІЗАЦІЯ ІМУННОЇ СИСТЕМИ

Морфологічним синонімом імунної системи є *лімфоїдна система*. Вона складається з виличкової залози (тимуса), селезінки, лімфатичних вузлів, лімфатичних фолікулів, лімфоцитів кісткового мозку та крові; загальна кількість лімфоїдних клітин в організмі складає близько 10^{12} (Р.В.Петров, 1987). Крім лімфоцитів, у реакціях імунітету беруть участь численні білки та пептиди, що є ефекторами імунних процесів, — імуноглобуліни, компоненти системи комплементу, гормони та медіатори імунітету.

Попередником лімфоцитів є ембріональні стовбурові клітини кісткового мозку, що утворюються на ранніх етапах внутрішньоутробного розвитку. Розрізняють такі основні класи лімфоцитів:

1. Т-лімфоцити, що є основними ефекторами клітинного імунітету. Біохімічною основою реакцій клітинного імунітету є цитотоксична дія відносно чужорідних клітин, що здійснюється за допомогою лізосомальних гідролаз Т-лімфоцитів. Крім того, Т-лімфоцити беруть участь у комплексі складних реакцій регуляції функціональної активності В-лімфоцитів.

Серед Т-лімфоцитів виділяють декілька типів (субпопуляцій):

а) Т-кілери (T_K), або Т-ефектори (T_e) — лімфоцити-”вбивці”, що зумовлюють процеси клітинного імунітету. Т-лімфоцити руйнують чужорідні клітини-мішені (клітини мікроорганізмів, трансплантатів) або клітини власного організму, що внаслідок змін генотипу придбали властивості антигенів і викликають відповідну реакцію відторгнення: клітини злоякісних пухлин та клітини з патологічними мутаціями;

б) Т-хелпери (T_x), або Т-помічники — клітини, допоміжні для В-лімфоцитів. Вони індукують проліферацію, трансформацію В-лімфоцитів та їх диференціювання до плазматичних клітин, що є продуцентами антитіл — імуноглобулінів;

в) Т-супресори (T_c) — лімфоцити, що пригнічують розвиток реакцій гуморального та клітинного імунітету, сприяючи формуванню стану імунологічної толерантності.

2. В-лімфоцити, що є ефektорами гуморального імунітету, попередниками антитілоутворюючих плазматичних клітин, — основних продуцентів антитіл (імуноглобулінів). Рецепторами для антигенів на поверхні В-лімфоцитів є специфічні поверхневі імуноглобуліни. Взаємодія цих поверхневих рецепторів з антигеном супроводжується диференціацією В-лімфоцитів у плазматичні клітини та генними транслокаціями (див. главу 25), що призводять до формування ділянок ДНК, відповідальних за транскрипцію відповідних антитіл.

3. Нульові лімфоцити — клітини, що відрізняються від Т- і В-лімфоцитів; до них належать цитотоксичні клітини та певна частина лімфоцитів-кілерів, так званих “натуральних кілерів” (NK-клітин).

Розглянута система імунного захисту, що складається з лімфоцитів різних класів, є специфічною відносно хімічної природи антигенів і формується протягом взаємодії організму з чужорідними макромолекулами, тобто в процесі “імунологічного навчання”. Розрізняють також уроджену систему неспецифічного імунітету, або *систему неспецифічних факторів захисту* організму, яка зумовлює однотипні клітинні та біохімічні реакції на будь-які чужорідні антигени. До неспецифічних факторів захисту належать фагоцити (макрофаги тканин, нейтрофіли та моноцити крові), система комплементу і численні білки крові: білки “гострої фази” запалення, ті, що мають бактерицидні властивості, виступають у ролі інгібіторів бактеріальних протеїназ (лізоцим, пропердин, α_2 -макроглобулін, α_1 -інгібітор протеїназ тощо), беруть участь у реалізації реакцій фагоцитозу.

30.2. ІМУНОГЛОБУЛІНИ: СТРУКТУРА, БІОЛОГІЧНІ ФУНКЦІЇ

Імуноглобуліни — клас білків, що є ефektорами гуморального імунітету, які виконують функцію *антитіл*, взаємодіючи з генетично чужорідними макромолекулами — *антигенами*. У крові людини імуноглобуліни мають електрофоретичні властивості γ -глобулінів, становлячи до 20 % маси всіх білків плазми.

Імуноглобуліни синтезуються плазматичними клітинами, які є продуктами трансформації В-лімфоцитів, що відбувається при стимуляції імунної реакції організму на надходження чужорідних білків, клітин (мікроорганізмів, найпростіших), при інфекційних захворюваннях, за умов вакцинації, пересадки органів та тканин, переливання крові, злоякісного перетворення клітин власного організму.

Молекули імуноглобулінів — глікопротеїни, білкова частина яких є тетрамером, що складається з чотирьох поліпептидних ланцюгів: двох важких H-ланцюгів (від англ. heavy — важкий), та двох легких L-ланцюгів (від англ. light — легкий). У кожній окремій молекулі імуноглобуліну два важких та два легких ланцюги попарно однакові, тобто умовна формула будь-якого імуноглобуліну має такий вигляд — H_2L_2 .

H-ланцюги імуноглобулінів складаються з близько 220 амінокислотних залишків, їх молекулярна маса становить 50–70 кД; L-ланцюги — із 110 амінокислотних залишків, їх молекулярна маса — 20–25 кД. Окремі поліпептидні ланцюги в молекулах імуноглобулінів сполучаються між собою дисульфідними S–S-зв’язками

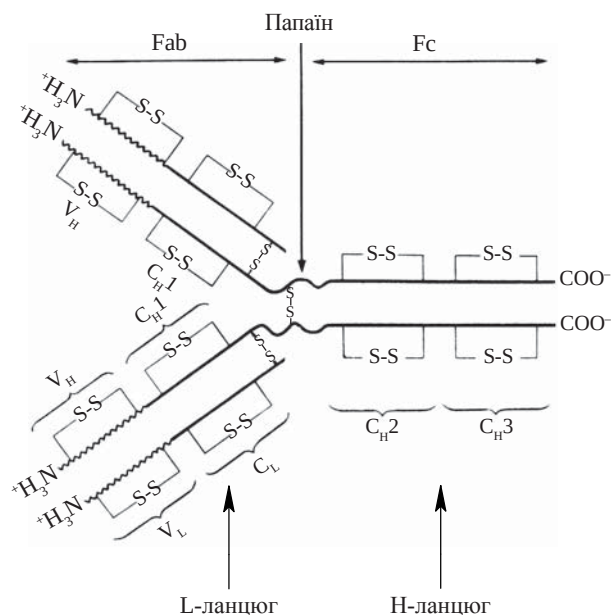


Рис. 30.1. Структурні компоненти молекул імуноглобулінів.

(рис. 30.1). Олігосахаридні залишки, що складаються з залишків манози та N-ацетилглюкозаміну, зв'язані з Н-ланцюгами з боку С-кінців.

У кожному з Н- або L-ланцюгів молекул імуноглобулінів можна виділити окремі домени, що відрізняються за структурою та мають певне функціональне значення.

Константні ділянки (С-ділянки) — домени, що характеризуються сталістю амінокислотного складу в різних класів імуноглобулінів. Вони розміщуються із С-кінців L- та Н-ланцюгів, займаючи 1/2 довжини L-ланцюга (C_L) та 3/4 довжини Н-ланцюга (ділянки C_{H1} , C_{H2} , C_{H3}).

Варіабельні ділянки (V-ділянки) — розміщуються з N-кінців L- та Н-ланцюгів. Варіабельні ділянки займають приблизно 1/2 довжини L-ланцюга (V_L) та 1/4 довжини Н-ланцюга (V_H). V-ділянки характеризуються мінливістю амінокислотного складу. За допомогою амінокислотних залишків своїх *гіперваріабельних* кінцевих ділянок вони беруть участь у формуванні активного центру молекули імуноглобуліну (*паратопу*), який за своєю конформацією комплементарний детермінантним групам антигену і забезпечує зв'язування з ним, тобто специфічність імуноглобуліну.

За умов розщеплення імуноглобулінів папаїном, яке відбувається в *шарнірній* частині молекули, утворюються два антигензв'язуючі фрагменти F_{ab} (antigen binding fragment) та фрагмент, що кристалізується, — F_c .

Різні типи важких та легких ланцюгів у молекулах імуноглобулінів позначають літерами грецького алфавіту. Відповідно до такої номенклатури, розрізняють п'ять типів Н-ланцюгів (α , γ , μ , δ , ϵ) та два типи L-ланцюгів (κ , λ). Залежно від типу важкого ланцюга, виділяють п'ять класів імуноглобулінів (IgA, IgD, IgE, IgG, IgM), у складі кожного з яких певний тип Н-ланцюга сполучається з одним із двох типів L-ланцюга. У біологічних об'єктах (сироватці крові, інших біологічних рідинах, тканинах) окремі класи імуноглобулінів утворюють надмолекулярні комплекси ($n = 2 - 5$).

Основними класами імуноглобулінів крові людини, що реалізують гуморальну імунну відповідь на вторгнення чужорідного антигену, є імуноглобуліни G та M. Імуноглобуліни A відіграють роль антитіл у складі інших біологічних рідин та секретів (молока, слізної рідини, секретів слизових оболонок легень, кишечника

тощо). Імуноглобуліни класів D та E є мінорними компонентами сироватки крові, що виконують додаткові спеціалізовані функції в комплексі імунних та алергічних реакцій.

Властивості імуноглобулінів крові людини подано в табл. 30.1.

Таблиця 30.1. Біохімічні характеристики окремих класів імуноглобулінів людини

Клас імуноглобулінів	Молекулярна структура	Молекулярна маса, кД	Концентрація в сироватці крові, г/л
Ig G	$\chi_2\gamma_2$ або $\lambda_2\gamma_2$	150	10-15
Ig M	$(\chi_2\mu_2)_5$ або $(\lambda_2\mu_2)_5$	800-960	1,5-3,5
Ig A	$(\chi_2\alpha_2)_{1-4}$ або $(\lambda_2\alpha_2)_{1-4}$	180-720	1-5
Ig D	$\chi_2\delta_2$ або $\lambda_2\delta_2$	160-180	0,03
Ig E	$\chi_2\epsilon_2$ або $\lambda_2\epsilon_2$	185-190	0,0005

30.3. МЕДІАТОРИ І ГОРМОНИ ІМУННОЇ СИСТЕМИ

Існує значна кількість фізіологічно активних сполук, що синтезуються в імунній системі та відіграють роль міжклітинних хімічних сигналів, регулюючи її активність та реалізуючи процеси міжклітинних комунікацій. Ці речовини отримали загальну назву *цитокинів*, або *лімфокінів*.

Цитокіни продукуються активованими лімфоцитами та іншими імунокомпетентними клітинами і контролюють процеси дозрівання, функціонування та взаємодії між лімфоцитами та іншими клітинними ефektорами імунітету. Специфічними мішенями для лімфокінів є лімфоцити та макрофаги, що мають на своїй поверхні чутливі рецептори. Лімфокіни виділяються макрофагами, лейкоцитами, іншими клітинами крові та сполучної тканини, що беруть участь у реакціях імунітету та неспецифічній резистентності організму в процесі запалення.

Гормональну внутрішньосистемну функцію виконує також вилочкова залоза (тимус), яка секретує біологічно активні субстанції (тимозини, тимопетини, тимостимуліни тощо), що забезпечують дозрівання Т-лімфоцитів.

За хімічною природою медіатори та гормони імунної системи є білками, глікопротеїнами, низько- та високомолекулярними пептидами, що присутні в плазмі крові людини і здійснюють свої регуляторні функції в пікомолярних (10^{-12}) концентраціях. Значна кількість речовин, що виконують функції лімфокінів, до цього часу недостатньо охарактеризовані як індивідуальні хімічні сполуки.

Основні класи цитокинів

Інтерлейкіни (IL) — ростові фактори імунної системи: білки, що продукуються Т-лімфоцитами та макрофагами і стимулюють проліферацію лімфоцитів і деяких інших клітин організму. На даний час виділено більше десяти окремих типів інтерлейкінів (IL-1 — IL-16), що розрізняються за структурою, фізико-хімічними властивостями та спектром біологічної активності.

Інтерлейкін-1, або фактор, що активує лімфоцити — медіатор, який продукується стимульованими макрофагами, а також поліморфноядерними лейкоцитами,

епітеліальними клітинами шкіри, трансформованими клітинами хворих моноцитарною формою лейкемії. Головним ефектом дії IL-1 є стимуляція проліферації Т-хелперів та індукція секреції Т-хелперами інтерлейкіну-2. IL-1 є також активатором запалення як захисної реакції організму. Ця функція IL-1 пов'язана з його здатністю бути індуктором експресії генів фосфоліпази A_2 та циклооксигенази, що є біохімічною передумовою стимульованого синтезу у вогнищах запалення простагландинів та лейкотрієнів; крім того, інтерлейкін стимулює проліферацію фібробластів, синтез “білків гострої фази запалення” в гепатоцитах, колагенази в синовіальних оболонках суглобів.

В організмі людини охарактеризовано два типи інтерлейкінів-1, що є білками, які складаються з 159 (IL-1 α) та 153 (IL-1 β) амінокислотних залишків. Молекулярна маса інтерлейкінів-1 дорівнює 12 кД.

Інтерлейкін-2 — фактор, що продукується зрілими Т-хелперами в результаті їх стимуляції антигеном. IL-2 посідає центральне місце в системі інтерлейкінової регуляції імунітету, посилюючи процеси як клітинного, так і гуморального імунітету. Під впливом IL-2 відбувається диференціація Т-лімфоцитів в Т-кілери, що вбивають пухлинні та заражені мікробами клітини, а також активується продукція γ -інтерферону Т- та НК-клітинами. Інтерлейкін-2 є глікопротеїном, що містить залишки сілової кислоти; молекулярна маса IL-2 організму людини близько 13,5 кД.

Інтерлейкін-3, або колонієстимулюючий фактор (CSF), синтезується активованими Т-хелперами. Основна мішень біологічної дії IL-3 — стовбурові гемопоетичні клітини — попередники лімфоцитів, ріст яких стимулює цей інтерлейкін. За хімічною природою інтерлейкін-3 є глікопротеїном, що складається з 134 амінокислотних залишків.

Інтерферони — білкові фактори, що синтезуються лімфоцитами та іншими клітинами тваринного організму при взаємодії з вірусами. Інтерферони є універсальними противірусними агентами, які активні відносно будь-яких вірусів, але мають видову специфічність, тобто кожному виду тварин притаманний свій клас інтерферонів.

Розрізняють три типи інтерферонів, що продукуються різними клітинами і позначаються, як IFN- α , IFN- β та IFN- γ . IFN- α синтезуються переважно лейкоцитами крові (“лейкоцитарні інтерферони”), IFN- β — фібробластами (“фібробластні інтерферони”), IFN- γ — Т- та В-лімфоцитами (“імунні інтерферони”).

Молекулярна маса різних інтерферонів коливається від 16 до 20-25 кД. IFN- α та IFN- β є одноланцюговими пептидами, що складаються з 166 амінокислотних залишків; IFN- γ містить 143 амінокислотні залишки. Інтерферони типу α мають неглікозильовані пептидні ланцюги, інтерферони типів β та γ є глікопротеїнами. Гени, що кодують IFN- α та IFN- β локалізовані на 10-й хромосомі каріотипу людини, ген IFN- γ — на 12-й хромосомі.

Взаємодіючи з клітинами, що інфіковані вірусними частинками, інтерферони інгібують синтез вірусних білків, що призводить до блокування розмноження вірусу в зараженій клітині.

Молекулярні механізми противірусної дії інтерферонів

1. *Зв'язування інтерферонів із рецепторами клітин-мішеней.* Інтерферони, які секретуються в зовнішньоклітинне середовище клітинами-продуцентами, взаємодіють із специфічними рецепторами на мембранах чутливих клітин, що є умовою генерування хімічного сигналу та його трансмембранної передачі.

2. *Активація внутрішньоклітинної 2',5'-олігоаденілатсинтетази.* Хімічний сигнал за допомогою внутрішньоклітинних месенджерів досягає геному зараженої вірусом клітини й індукує синтез ферменту, який утворює з молекул АТФ 2',5'-олігоаденілову кислоту (2',5'-оліго-А-синтетази). 2',5'-олігоаденілат є активатором РНКаз I, яка розщеплює односпіральні вірусні РНК (мРНК) та рибосомальні РНК, які необхідні для трансляції вірусних білків.

3. *Активація внутрішньоклітинних протеїнкіназ.* Трансмембранний хімічний сигнал, генерований інтерфероном, спричиняє також активацію протеїнкінази, що фосфорилує білковий фактор ініціації трансляції IF-2. Фосфорилування фактора ініціації IF-2 призводить до його інактивації та блоку рибосомального синтезу вірусних білків.

Фактори некрозу пухлин (TNF). Розрізняють TNF- α та TNF- β .

TNF- α (*кахектин*) — білок із м.м. 17 кД, продукується моноцитами та макрофагами. Його головними біологічними ефектами є індукція синтезу IL-1 та IFN- γ , цитотоксична та цитостатична дія.

TNF- β (*лімфотоксин*) — білок із м.м. 25 кД, продукується Т-лімфоцитами, спричиняє цитотоксичний ефект.

При введенні в організм TNF спричиняють лізис деяких типів пухлинних клітин організму людини, їх розглядають як перспективні протиракові засоби.

Колонієстимулюючі фактори (КСФ) — цитокіни, що стимулюють ріст кровотворних клітин (гранулоцитів, моноцитів, попередників еритроїдних клітин). Вони продукуються Т-лімфоцитами, макрофагами, моноцитами, ендотеліальними клітинами (див. IL-3).

Трансформуючі фактори росту (ТФР) — білки, що продукуються різними класами лімфоцитів, тромбоцитами, плацентою, деякими пухлинами. Вони стимулюють процеси проліферації фібробластів, синтезу колагену та фібронектину, беруть участь в ангіогенезі, загоюванні ран. Разом із тим, ТФР пригнічують проліферацію Т та В-лімфоцитів, активність цитотоксичних та кілерних клітин.

Слід зазначити, що активовані лімфоцити та інші імунокомпетентні клітини синтезують пептидні фактори росту, зокрема епідермальний (ЕФР), нервовий (ФРН), а також соматомедини (інсуліноподібні фактори росту ІФР-1 та ІФР-2), і різні білково-поліпептидні гормони, що свідчить про надзвичайно важливу роль імунної системи в регуляції процесів росту, проліферації та клітинного диференціювання.

30.4. БІОХІМІЧНІ КОМПОНЕНТИ СИСТЕМИ КОМПЛЕМЕНТУ

Комплемент — ферментна система, необхідна для здійснення лізису чужорідних клітин (бактеріальних, тваринних) після їх взаємодії із специфічними антитілами. За біохімічною природою білки комплементу є каскадною системою

протеаз, що послідовно активуються після утворення комплексу антиген-антитіло і спричиняють розщеплення мембранних структур клітин, які підлягають руйнації в процесі імунної реакції.

Існує дев'ять основних компонентів (білкових субодиниць) системи комплементу, які позначають C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9. Субодиниця C1 є комплексом, що складається з трьох білків: C1q, C1r, C1s. У фізіологічних умовах білкові компоненти системи комплементу знаходяться в плазмі крові в неактивному стані. Активовані форми білків комплементу позначаються рискою над відповідною латинською цифрою: C₁, C₂ тощо. Біохімічні характеристики білків системи комплементу людини подано в таблиці 30.2.

Т а б л и ц я 30.2. Білки системи комплементу людини

Білок комплементу	Молекулярна маса, кД	Фракція глобулінів крові	Концентрація в плазмі крові*, г/л $\times 10^{-3}$
C1	900	α_2, β, γ	
C1q	400	γ	60
C1r	168	β	50
C1s	79	α_2	40
C4	230	β_1	600
C2	117	β_2	25
C3	185	β_1	1300
C5	170	β_1	80
C6	125	β_2	80
C7	130	β_2	60
C8	150	γ	60
C9	79	α_2	60

* Э.Н., 1985 Шляхов, Л.П. Андриеш

Активація системи комплементу реалізується за одним із механізмів — класичним або альтернативним (рис. 30.2). За умов дії будь-якого з означених механізмів ключовою подією в активації системи комплементу є активація компоненту C3, який має аутокаталітичні властивості, запускаючи каскад ферментативних реакцій за участю термінальних компонентів C7, C8 та C9.

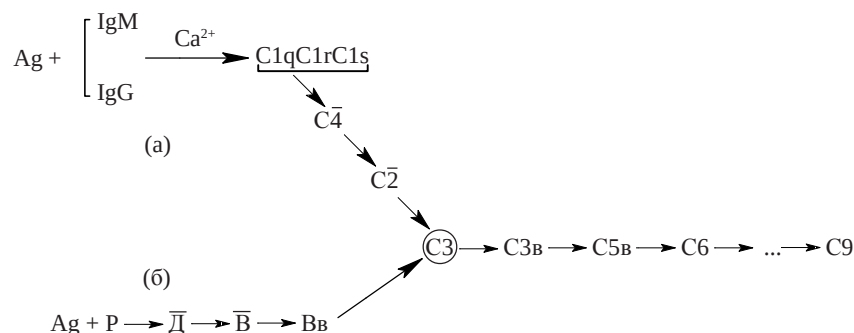


Рис. 30.2. Активація комплементу за класичним (а) та альтернативним — пропердиновим (б) механізмами (Ag — антиген).

Класичний шлях активації комплементу — послідовність ферментативних реакцій, що запускається при взаємодії першого компонента комплементу C1 з комплементзв'язуючими ділянками антитіл (IgG, IgM), які утворили комплекс антиген-антитіло на поверхні клітини.

Зв'язування компонента C1 з імуноглобулінами, що фіксуються на поверхні клітини, відбувається з участю білка C1q, який отримав назву *фактора розпізнавання*. Взаємодія C1q з антитілом призводить до активації субодиниці C1r, яка розщеплює молекулу C1s, перетворюючи останню в активну серинову протеїназу. Таким чином реалізується *пусковий механізм* активації системи комплементу.

Субстратами активного протеолітичного ферменту C1s є компоненти C4 та C2, які послідовно розщеплюються на відповідні молекулярні фрагменти: активний C4b і неактивний C4a та активний C2a і неактивний C2b. Активний комплекс C4bC2a позначають так: *C3-конвертаза*. Вона відщеплює від компонента C3 активну протеазу C3b (*C5-конвертазу*), яка активує систему термінальних компонентів комплементу (C5—C9).

Активовані термінальні компоненти утворюють на поверхні клітинної мембрани надмолекулярний білковий комплекс (C5b, C6, C7, C8, C9), що спричиняє лізис мембрани, тобто розщеплення її білково-ліпідного бішару. Під впливом літичного комплексу в мембрані виникають каналці діаметром до 10 нм, через які відбувається вільне надходження всередину клітини Ca^{2+} та Na^{+} і втрата K^{+} , що і зумовлює остаточне руйнування клітини.

Альтернативний (пропердиновий) шлях активації комплементу не потребує участі імуноглобулінів і має біологічне значення, ймовірно, на ранніх етапах боротьби макроорганізму з інфекційним агентом, тобто до продукування необхідної кількості антитіл.

Як і в класичному шляху, в умовах альтернативного шляху також відбувається активація C3-компонента комплементу з утворенням C5-конвертази, але без участі компонентів C1, C2 та C4. Первинним етапом тут є взаємодія бактеріальних антигенів (полісахаридів, ліпополісахаридів клітинної стінки грамнегативних бактерій тощо) з білками системи пропердину.

Система пропердину складається з трьох білків: білка P — власне *пропердину*; білка B та білка D (серинової протеази). Під впливом антигенів бактеріальної стінки відбувається послідовна активація факторів P, D та B. Активований фактор B (Bb) розщеплює основний компонент системи комплементу — C3, — утворюючи C5-конвертазу C3bBb, яка активує компонент C5, що відповідає за формування літичного мембранного комплексу.

30.5. БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ІМУНОДЕФІЦИТНИХ СТАНІВ

Порушення у функціонуванні імунної системи людини — **імунодефіцитні стани** — розвиваються за умов пошкоджень окремих ланок клітинного або гуморального імунітету. За механізмом походження виділяють *первинні* та *вторинні імунодефіцити*.

Первинні імунodefіцити — патологічні стани, що виникають при спадковій нездатності організму людини реагувати на антигенне подразнення синтезом відповідних класів антитіл (імуноглобулінів) або формуванням клітинної імунної реакції. Вони розвиваються внаслідок молекулярних порушень у певних ділянках геному, що відповідають за фенотипічні прояви Т- та В-систем імунітету. Перші прояви первинних імунodefіцитів спостерігають у ранньому дитячому віці.

Розрізняють чотири класи первинних імунodefіцитів, що характеризують неповноцінність окремих основних компонентів імунної системи:

1. В-клітинна недостатність (дефіцит антитіл).
2. Т-клітинна недостатність.
3. Патологія клітин, що фагоцитують.
4. Патологія системи комплементу.

Розглянемо приклади деяких найбільш поширених первинних імунodefіцитів людини.

Хвороба Брутона — агаммаглобулінемія, зчеплена з Х-хромосою. Імунodefіцит характеризується різким зниженням активності антибактеріального імунітету, що проявляється тяжким перебігом бактеріальних інфекцій. У сироватці крові хворих спостерігають значне зменшення концентрації IgG (приблизно в 10 разів, порівняно з нормою), IgA й IgM (приблизно в 100 разів), відсутність В-лімфоцитів та плазматичних клітин.

Швейцарський тип агаммаглобулінемії — хвороба, при якій наявний дефіцит як клітинного (Т-лімфоцити), так і гуморального (В-лімфоцити) імунітету. Імунodefіцит спадкується за автосомно-рецесивним типом, проявляючись, переважно, в осіб чоловічої статі.

Дисімуноглобулінемії — група первинних імунodefіцитів, що характеризуються різними варіантами порушень синтезу та секреції окремих класів імуноглобулінів (здебільшого IgG, IgM та IgA).

Синдром Луї-Бар — імунологічна недостатність, що проявляється неврологічними порушеннями (атаксія мозочкового типу) та патологічним розширенням кровоносних судин кон'юнктиви і шкіри (телеангіектазії). У крові хворих спостерігають зниження активності реакцій клітинного імунітету, відсутність IgA та низький рівень IgG.

Синдром Ди-Джорджи — уроджена гіоплазія тимуса; захворювання характеризується порушенням Т-системи імунітету в дитячому віці.

Вторинні імунodefіцити — патологічні стани, що розвиваються внаслідок ушкодження окремих ланок клітинного або гуморального імунітету патогенними факторами біологічного, хімічного або фізичного походження. Найчастіше вони розвиваються при дії на організм людини лімфотропної вірусної інфекції (СНІД, або *синдром набутого імунodefіциту* людини), токсичних факторів, іонізуючої радіації.

ГЛАВА 31. БІОХІМІЧНІ ФУНКЦІЇ ПЕЧІНКИ. ПРОЦЕСИ ДЕТОКСИКАЦІЇ

Захворювання печінки займають одне з найпоширеніших місць у патології людини. Гострі та хронічні гепатити, цирози печінки розвиваються внаслідок пошкоджувальної дії на гепатоцити багатьох інфекційних факторів (вірусної, бактеріальної природи), екзогенних хімічних сполук — *ксенобіотиків*, внаслідок радіаційного ураження, гемодинамічних розладів (серцево-судинної недостатності, шоку різного походження), аліментарного дефіциту білків, незамінних амінокислот, “ліпотропних факторів” (амінокислоти L-метіоніну, антиоксиданту α -токоферолу).

31.1. СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНА ОРГАНІЗАЦІЯ ПЕЧІНКИ. БІОХІМІЧНІ ФУНКЦІЇ ГЕПАТОЦИТІВ

Печінка посідає центральне місце в регуляції та інтеграції міжорганного обміну речовин і є “центральною біохімічною лабораторією організму”.

Таке унікальне значення печінки в регуляції біохімічного гомеостазу цілісного організму зумовлене, насамперед, її анатомо-фізіологічним розташуванням між кров’ю системи ворітної вени (v.porta) та загальним колом кровообігу (рис. 31.1).

Кров, що проходить через печінку, на 70 % надходить з v.porta (решта — з печінкової артерії), завдяки чому **всі сполуки, які всмоктуються в шлунково-кишковому тракті, обов’язково проходять через печінку**. Виходячи з цього, печінка (за рахунок біохімічних функцій *гепатоцитів* як головних структурно-функціональних клітин органа) виконує дві основні фізіологічні функції, що є життєво необхідними для існування організмів вищих тварин:

1. Печінка є *первинним регулятором* вмісту в крові моносахаридів, амінокислот, жирних кислот та гліцеролу, які утворюються внаслідок травлення поживних сполук продуктів харчування. Більше того, завдяки здатності до біосинтезу і секреції в кров багатьох класів вуглеводів, ліпідів та білків крові, печінка є **основним центром розподілу поживних сполук в організмі** людини і тварин.

Оскільки надходження поживних сполук із кишечника відбувається непомітно, рівні глюкози, амінокислот та жирів у крові v.porta підлягають значним коливанням протягом доби, і підтримання їх сталої концентрації в загальному кровообігу визначається саме регулюючою функцією печінки, що згладжує (“демпфірує”) ці коливання метаболітів.

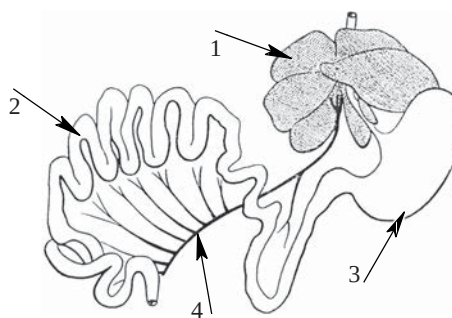


Рис. 31.1. Анатомо-фізіологічні взаємовідносини між печінкою, шлунково-кишковим трактом і ворітною веною; 1 — печінка; 2 — кишечник; 3 — шлунок; 4 — v.porta (за Э.Ньюсхолмом, К.Стартом, 1977).

2. Через печінку проходять після їх всмоктування в травному каналі не тільки поживні сполуки, а й численні чужорідні хімічні речовини, що всмоктуються в кишечнику (лікарські засоби, токсини тощо), і деякі кінцеві метаболіти токсичної дії (продукти обміну жовчних пігментів, катаболізму гормонів; сполуки, які утворюються внаслідок гниття білків у товстій кишці). Завдяки наявності в гепатоцитах складних ферментних систем *біотрансформації*, знешкодження зазначених класів сполук, печінка відіграє біологічно важливу *бар'єрну функцію*, оберігаючи інші органи та тканини від несприятливої дії токсичних речовин.

Особливості морфологічної організації печінки

Маса печінки у здорової дорослої людини складає близько 1500-2000 г (в середньому 20-25 г/кг маси тіла).

Основою гістологічної будови та функціональними одиницями печінки є *печінкові часточки*, що складаються з паренхіматозних клітин печінки — *гепатоцитів*, які у вигляді клітинних трабекул (*балочок*) конвергують у напрямку до *v.centralis* (рис. 31.2). Гепатоцити складають до 80 % клітинного складу печінки і забезпечують виконання основних біохімічних функцій, притаманних цьому органу.

Між окремими печінковими балками розміщуються *синусоїди* (судини, що є кінцевими розгалуженнями ворітної вени), кров з яких через *v.centralis* надходить до печінкових вен і, відповідно, — в загальний кровообіг. Стінки синусоїдів утворені витягнутими ретикулоендотеліальними ("купферовськими") клітинами. Між стінками цих клітин та трабекулами (плазматичними мембранами гепатоцитів) утворюються щілиноподібні простори — *простори Дісе*, через які і відбувається обмін речовин між кров'ю синусоїдів та паренхіматозними клітинами печінки. Протилежні синусоїдам латеральні поверхні гепатоцитів (плазматичні мембрани) утворюють *жовчні капіляри*, через які відповідні біохімічні компоненти секретуються в жовч.

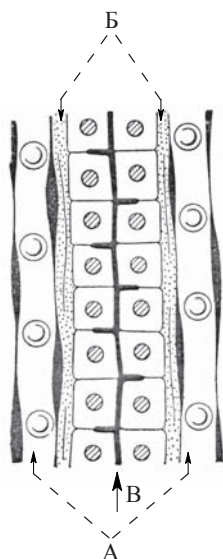


Рис. 31.2. Схема будови печінкової часточки (А — синусоїди; Б — простори Дісе; В — жовчний капіляр).

Біохімічні функції печінки в організмі

Крім характеру анатомо-фізіологічного розташування, кровообігу та структурної будови, функціональна роль печінки в організмі людини та вищих тварин визначається особливостями ферментного складу гепатоцитів, що дозволяють органу виконувати ряд властивих йому біохімічних функцій. Порушення цих функцій за умов *печінково-клітинної недостатності*, що може відбуватися при різних ураженнях гепатоцитів, супроводжується важкими розладами у функціонуванні організму, зокрема центральної нервової системи (*печінкова кома*) і є станом, несумісним із життям.

1. Вуглеводна (глікогенна) функція печінки

Ця функція полягає в здатності гепатоцитів утворювати лабільні резерви вуглеводів, що використовуються для підтримання необхідних концентрацій глюкози в крові та постачання цього цукру в інші органи (насамперед, головний мозок) у періоди між прийомами їжі.

Утворення й утилізація глюкозо-6-фосфату

Ініціюючим етапом включення глюкози в метаболічні перетворення є її фосфорилування до глюкозо-6-фосфату (Г-6-Ф):



Ця ключова реакція вуглеводного метаболізму може каталізуватися в печінці двома ферментами: специфічною *глюкокіназою* та неспецифічною *гексокіназою*, що розрізняються за своєю спорідненістю до субстрату. K_m для цих ферментів дорівнюють 0,01-0,1 мМ для *гексокінази* та 10 мМ для *глюкокінази*. Звідси зрозуміло, що при фізіологічних концентраціях глюкози (3,3-5,5 ммоль/л) каталітично активною є *гексокіназа*, а ферментативна дія *глюкокінази* включається лише за умов значного збільшення надходження в гепатоцити глюкози після споживання збагаченого на вуглеводи раціону (рис. 31.3).

Активация після прийому їжі *глюкокіназної* реакції створює кінетичні умови для утворення значної кількості внутрішньоклітинного глюкозо-6-фосфату, який, в свою чергу, може включатися в метаболічні процеси за одним з шляхів, зазначених на схемі (рис. 31.4).

Біосинтез та розщеплення глікогену

Завдяки функціонуванню активної *глікогенсинтази*, гепатоцити постійно утворюють і акумулюють у своєму складі значну кількість глікогену у вигляді нерозчинних цитозольних гранул: 3-5 % (г/100 г маси органа), що дозволяє печінці виконувати фізіологічно важливу функцію депо глюкози в організмі.

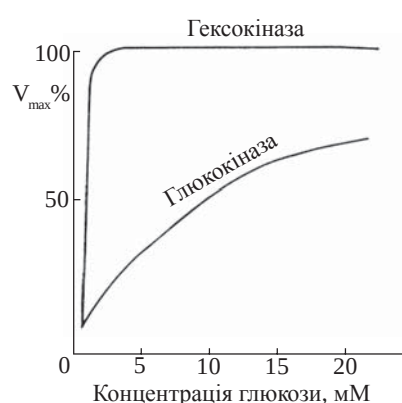


Рис. 31.3. Кінетичні криві залежності швидкості фосфорилування глюкози (V_{max}) від концентрацій вуглеводу за умов дії ферментів гексокінази та глюкокінази.

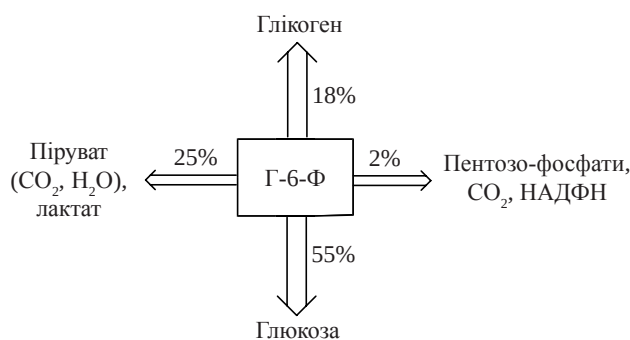


Рис. 31.4. Схема перетворень Г-6-Ф у гепатоцитах та орієнтовні кількісні взаємовідносини між окремими метаболічними шляхами.

Ця метаболічна функція може здійснюватися печінкою завдяки системі *фосфолізу глікогену*, включення якої стимулюється глюкагоном (в умовах зменшення концентрації глюкози в крові), а також існування в мембранах ендоплазматичного ретикулума активної *глюкозо-6-фосфатази*:



Порушення *глікогенної функції* печінки, тобто її здатності до створення метаболічних запасів глікогену та/або їх використання як енергетичного палива для функціонування інших органів, залежать від дії різноманітних етіологічних факторів, основними з яких є:

(а) зменшення резервів глікогену в гепатоцитах внаслідок дії пошкоджуючих агентів різного генезу, що порушують функціонування анаболічних реакцій у клітині (вірусні, токсичні гепатити, клітинна гіпоксія);

(б) порушення здатності гепатоцитів до синтезу глікогену з глюкози внаслідок уроджених ензимопатій (*аглікогенози*);

(в) порушення здатності гепатоцитів до використання резервів глікогену (*глікогенози*), зокрема внаслідок дефіциту печінкової *глікогенфосфорилази* (хвороба Херса) або *глюкозо-6-фосфатази*, що перетворює глюкозо-6-фосфат на вільну глюкозу (*хвороба Гірке*).

Глюконеогенез

Печінка є основним органом глюконеогенезу, тобто синтезу глюкози з неуглеводних метаболітів (лактату, глюкогенних амінокислот, гліцеролу), який активується в умовах вичерпання глікогенних резервів печінки (180-350 г глікогену) та зменшення (або відсутності) надходження цукрів із їжею.

В організмі людини запаси вуглеводів використовуються приблизно за 12 год, разом з тим людина може витримати голодування протягом декількох місяців. У цих умовах забезпечення глюкозою тканин, енергетичний обмін яких значною мірою залежить від цього моносахариду (головний мозок, інші нервові тканини, еритроцити, мозковий шар нирок, сім'яники), відбувається саме за рахунок глюконеогенезу в печінці та, частково, в нирках.

Перетворення на глюкозу інших моносахаридів

При змішаному харчуванні в кров людини з травного каналу, крім глюкози, всмоктується багато інших моносахаридів, зокрема D-фруктоза (надходить у складі сахарози), D-галактоза (у складі лактози молока) та D-маноза (у складі рослинних продуктів). Включення цих цукрів у загальний метаболізм відбувається завдяки наявності в гепатоцитах ферментних систем, що перетворюють вказані моносахариди на фосфорильовані ефіри глюкози та інтермедіати гліколізу.

2. Функція регуляції ліпідного складу крові

У печінці активно відбуваються більшість ферментативних реакцій синтезу та розщеплення різних класів ліпідів — жирних кислот, ацилгліцеролів, холестерину, фосfolіпідів (гліцеро- та сфінгофосfolіпідів), гліколіпідів.

Крім використання ліпідів для власних енергетичних та структурних потреб, **печінці належить визначальна роль у регуляції окислення жирів іншими тканинами** — функція, що реалізується шляхом утворення в гепатоцитах і

секреції в кров триацилгліцеролів (у формі *ліпопротеїнів дуже низької щільності* — ЛПДНЩ) та кетонових тіл. У печінці утворюється також основна частина холестерину, що використовується в периферичних тканинах для синтезу фізіологічно активних стероїдів.

(1) Синтез та секреція триацилгліцеролів

В організмі людини основним місцем депонування високоенергетичних триацилгліцеролів є *жирова тканина*. Разом з тим, біосинтез триацилгліцеролів із вищих жирних кислот та гліцеролу відбувається переважно в гепатоцитах за рахунок використання метаболітів, що утворюються при окисленні глюкози (ацетил-КоА, інтермедіати гліколізу).

Виходячи з цього, в організмі повинен існувати транспортний механізм, який реалізує доставку водонерозчинних триацилгліцеролів через кров в адипоцити. Таким механізмом є утворення в гепатоцитах ЛПДНЩ, що секретуються в кров та утилізуються адипоцитами за рахунок наявності в ендотелії капілярів жирової тканини активної *ліпопротеїніпази*. Біосинтез та секреція в кров гепатоцитами ЛПДНЩ зростає при збільшенні потоку жирних кислот, спрямованого з кишечника в печінку на висоті процесу травлення нейтральних жирів, а також в умовах дієти з високим вмістом вуглеводів, коли зростає ендогенний синтез у клітинах печінки довголанцюгових жирних кислот.

Порушення синтезу ЛПДНЩ у гепатоцитах за умов вірусного або токсичного ураження печінки призводить до аномального накопичення в органі триацилгліцеролів — так званого “жирового переродження печінки”.

(2) Синтез та утилізація кетонових тіл

Клітини печінки не секретують у кров вільних жирних кислот, які використовуються в самому цьому органі шляхом β -окислення або включенням до складу триацилгліцеролів (див. вище). Енергетичним субстратом (“жировим паливом”), що його гепатоцити спрямовують в інші тканини, є *кетонові тіла* (переважно ацетоацетат), які активно утворюються в печінці в результаті спеціального біосинтетичного процесу, що включає конденсацію окремих молекул ацетил-КоА.

У нормальному організмі утилізація кетонових тіл, синтезованих у печінці, відбувається в більшості позапечінкових тканин, зокрема в скелетних м’язах, міокарді, нирках та (в умовах тривалого голодування) в головному мозку.

(3) Синтез та біотрансформація холестерину

Печінка є основним місцем біосинтезу холестерину з ацетил-КоА (в середньому 250-500 мг/добу).

Використання холестерину включає в себе внутрішньопечінковий синтез жовчних кислот та позапечінкові реакції утворення біологічно активних стероїдів: вітаміну D₃ та його похідних, кортикостероїдів кори наднирникових залоз, чоловічих та жіночих статевих гормонів.

3. Білоксинтезуюча функція печінки

Роль печінки в білковому обміні цілісного організму полягає в утворенні більшості білків плазми крові, які виконують важливі біохімічні та фізіологічні функції, регуляції розподілу амінокислот між окремими органами та тканинами, та синтезі сечовини як кінцевого продукту азотистого катаболізму.

(1) В гепатоцитах синтезуються всі альбуміни плазми крові (13-18 г/добу), які беруть участь у підтриманні нормального онкотичного тиску плазми, транспорті багатьох метаболітів та інших біомолекул; *гіпоальбумінемія* є інформативною клініко-діагностичною ознакою гострої та хронічної недостатності печінки.

(2) В печінці синтезується більша частина (близько 80 %) глобулінів плазми: гепатоцити беруть участь у біосинтезі певної частини α -глобулінів, ретикулоендотеліальні клітини продукують β -глобуліни та частину γ -глобулінів (імуноглобулінів); захворювання печінки, при яких наявні важкі порушення структури та функцій органа, супроводжуються зниженням концентрацій у крові α_1 -, α_2 - та β -глобулінів; з іншого боку, патологічні процеси, які перебігають з активацією імуноткомпетентних клітин печінки, призводять до збільшення рівня γ -глобулінів.

(3) В клітинах печінки синтезується багато білкових факторів, що входять до складу згортальної, антизгортальної та фібринолітичної систем крові: V, XI, XII, XIII фактори згортання, компоненти протромбінового комплексу (II, VII, IX, X фактори), фібриноген, антитромбін, антиплазмін, гепарин.

(4) Завдяки активному перебігу реакцій обміну амінокислот (трансамінування, дезамінування, декарбоксилювання), печінка бере участь у підтриманні відносної біохімічної сталості амінокислотного складу крові; порушення білоксинтезуючої функції гепатоцитів (зокрема, при дії хімічних та біологічних пошкоджуючих факторів на рибосомальну систему трансляції) супроводжується значним збільшенням концентрації вільних амінокислот у плазмі крові; рівень аміноазоту плазми (в нормі 2,9-4,3 ммоль/л) може у хворих з важкою печінковою недостатністю збільшуватися до 21 ммоль/л, що супроводжується вираженою *аміноацидурією*.

4. Сечовиноутворювальна функція печінки

Печінка є єдиним органом, що містить повний набір ферментів утворення сечовини з продуктів азотистого (переважно білкового) катаболізму. Порушення функціонування циклу сечовиноутворення, що спричиняються екзогенними ушкоджуючими факторами, або спадковими *ензимопатіями* (генетичними дефектами в синтезі окремих ферментів біосинтезу сечовини) призводять до накопичення в крові та тканинах вільного аміаку.

Найчутливішими до такої патобіохімічної ситуації є нейрони головного мозку, в яких надлишковий аміак здатний до пригнічення функціонування циклу трикарбонових кислот за рахунок взаємодії NH_4^+ з α -кетоглутаратом у реакції відновлювального амінування. Гальмування реакцій ЦТК та відповідне зниження рівня АТФ в нервовій тканині спричиняють деполяризацію мембран нейронів, порушення синаптичної передачі, що клінічно проявляється розвитком *печінкової енцефалопатії* та коматозного стану.

5. Жовчоутворювальна та пігментна функції печінки

Важливою для фізіології та патології організму людини є роль, яку печінка відіграє в катаболізмі гемоглобіну та інших гемовмісних білків, при розщепленні яких утворюються *жовчні пігменти* — *білірубін і білівердин*, що екскретуються через кишечник (див. розділ 31.3). Ці сполуки разом з іншими органічними речовинами (жовчними кислотами, холестерином, фосфоліпідами), які продукуються гепатоцитами, входять до складу *жовчі*, надаючи їй специфічного золотисто-жовтуватого кольору.

Біохімічний склад жовчі

Жовч — це рідкий секрет клітин печінки, що служить як для надходження в дванадцятипалу кишку поверхнево активних сполук (жовчних кислот, фосфоліпідів), необхідних для перетравлювання і всмоктування нейтральних жирів, так і для екскреції з організму кінцевих продуктів катаболізму біомолекул і ксенобіотиків. За добу в дорослої людини утворюється 500-700 мл жовчі; вміст основних біоорганічних сполук в печінковій та міхуровій жовчі подано в табл. 31.1.

Таблиця 31.1. Біохімічний склад жовчі людини (г/л)

<i>Компоненти жовчі</i>	<i>Печінкова жовч</i>	<i>Міхурова жовч</i>
Білки	1,5-2,5	4,5-5,0
Жовчні кислоти	7-14	90-120
Фосфоліпіди	1,0-5,8	30-40
Жирні кислоти	1,6-3,4	20-25
Холестерин	1-2	3-10
Жовчні пігменти (білірубін, білівердин)	0,3-0,6	1,2-1,5

6. Детоксикаційна функція печінки

Однією з найважливіших біологічних функцій печінки є знешкодження — *детоксикація* хімічних сполук, що не є нормальними метаболітами організму і можуть спричиняти несприятливу дію, здійснюючи загальнотоксичні, некрозогенні, мутагенні, канцерогенні ефекти. Біохімічна сутність процесу детоксикації, що відбувається в гепатоцитах, полягає в переведенні (*біотрансформації*) хімічної сполуки в результаті певних ферментативних реакцій в молекулярну форму з менш вираженими токсичними властивостями; продукти біотрансформації токсинів у печінці є, як правило, більш водорозчинними (гідрофільними) речовинами, що можуть виводитися з організму різними системами екскреції (нирками, кишечником, легеньми, шкірою).

Ця функція, у зв'язку з її надзвичайною важливістю для збереження хімічного гомеостазу внутрішнього середовища організмів людини та тварин, детально розглядатиметься нижче.

31.2. БІОТРАНСФОРМАЦІЯ КСЕНОБІОТИКІВ ТА ЕНДОГЕННИХ ТОКСИНІВ. МІКРОСОМАЛЬНЕ ОКИСЛЕННЯ

До сполук, що справляють несприятливі, токсичні ефекти як щодо окремих клітин, так і вищого організму в цілому, належать:

(1) чужорідні хімічні сполуки, які потрапляють в організм людини та тварин в процесі життєдіяльності; це фармацевтичні препарати, засоби побутової хімії, косметичні засоби, харчові добавки (антиоксиданти, консерванти, барвники), пестициди, промислові отрути тощо. Ці речовини отримали назву *ксенобіотиків* (xenos — чужий; bios — життя; грецьк.) і в останні роки є об'єктом детального дослідження *ксенобіохімії* — напрямку досліджень, що вивчає закономірності перетворення (*ксенобіокінетики* — Ю.І.Губський, 1989) та молекулярних механізмів фізіологічних ефектів зазначених сполук;

(2) кінцеві продукти метаболізму, що мають потенційно токсичні властивості (жовчні пігменти та продукти їх перетворення в кишечнику; продукти окислення стероїдних гормонів та катехоламінів, які підлягають у печінці процесам кон'югації як етапу, що передує їх екскреції). Слід зазначити, що мікросомальні оксигенази (див. нижче) та амінооксидази печінки реалізують інактивацію самих фізіологічно активних гормональних сполук, протидіючи їх надмірному накопиченню в організмі;

(3) продукти мікробної деградації (гниття) білків (амінокислот) в товстій кишці (заміщені феноли, індоли, біогенні аміни).

Типи реакцій біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних токсинів

Як уже зазначено, **знешкодження токсичних речовин у гепатоцитах — це перетворення їх у молекулярну форму із зміненими біологічними властивостями (як правило, менш токсичну), що може бути виведеною з організму з сечею або жовчю.**

Зазначені процеси біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних токсичних сполук складаються із двох фаз.

1-ша фаза — окислювально-відновлювальні та гідролітичні реакції, що каталізуються мембранозв'язаними ферментами ендоплазматичного ретикулу гепатоцитів (“мікросомальними ферментами”). У результаті реакцій першої фази у складі субстратів біотрансформації утворюються функціональні групи –ОН, –COOH, –SH, –NH₂; таким чином, ці реакції (*функціоналізації, або прекон'югації*) призводять до збільшення полярності молекули ксенобіотика або ендогенного субстрату (стероїду).

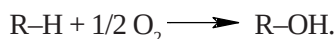
2-га фаза — реакції синтезу, або кон'югації, що ґрунтуються на приєднанні до молекулярних продуктів 1-ї фази (або вихідних субстратів, що вже мали в своєму складі полярні функціональні групи) залишків глюкуронової, сірчаної кислот, гліцину, глутаміну, глутатіону, метильного або ацетильного радикалів.

У деяких випадках детоксикація хімічних речовин включає тільки одну із зазначених фаз біотрансформації — першу або другу.

Реакції мікросомального окислення

Головна роль серед реакцій першої фази біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних сполук належить ферментним системам мембран ендоплазматичного ретикулу, що функціонують за участю цитохрому Р-450. У зв'язку з тим, що біохімічним еквівалентом мембран ендоплазматичного ретикулу клітин печінки є отримувана методом диференційного центрифугування *мікросомальна фракція*, тип реакцій, який розглядається, отримав у науковій літературі назву “реакції *мікросомального окислення*”, а відповідні ферменти — “мікросомальних оксигеназ” (А.И.Арчаков, 1975).

Реакції, що каталізуються цими ферментами, належать до типу *монооксигеназних*, тобто таких, що каталізують включення атома одного кисню безпосередньо в молекулу субстрату, який окислюється (глава 9):



Така реакція (окислювальне гідроксилювання) є основною в метаболізмі гідрофобних сполук у мембранах ендоплазматичного ретикулума гепатоцитів і вимагає участі в ролі донора електронів НАДФН:



Оскільки в розглянутому процесі один із атомів молекули кисню включається в молекулу води, а другий — в молекулу субстрату, що гідроксилюється, ферментні системи, які каталізують ці реакції, отримали також назву “мікросомальних оксигеназ *мішаної функції*”.

Цитохром Р-450

Ферментні системи, що каталізують реакції мікросомального окислення гідрофобних субстратів, є електронотранспортними ланцюгами, локалізованими в мембранах ендоплазматичного ретикулума гепатоцитів (та клітин деяких інших органів, що також беруть участь у реакціях детоксикації). Компонентами цих ферментних ланцюгів є ФАД-вмісний флавопротеїн, цитохром b_5 та кінцева монооксигеназа — цитохром Р-450:



Подібний цитохром Р-450-залежний електронотранспортний ланцюг каталізує реакції окислювального гідроксилювання стероїдів (синтезу та біотрансформації), що наявні в мітохондріях кори наднирникових та статевих залоз.

Цитохром Р-450 — фермент, вперше відкритий у 1958 р. американськими дослідниками Д.Гарфінкелем та М.Клінгенбергом (D.Garfinkel, M.Klingenberg). Це сімейство гемопротеїнів з молекулярною масою близько 50 кД; у різних біологічних об'єктах та тканинах виявлено більше 300 ізоформ цитохрому Р-450, що розрізняються за своєю субстратною специфічністю та особливостями первинної структури. Фізіологічне значення ізоформ цитохрому Р-450 полягає в захисті тваринного організму від численних низькомолекулярних ксенобіотиків, що надходять у внутрішнє середовище; ця система є додатковою до системи *імунного захисту* (“друга імунна система”), яка протидіє надходженню в організм чужорідних високомолекулярних сполук біологічного походження.

Біосинтез різних ізоформ цитохрому Р-450 кодується декількома сімействами генів, які у ссавців позначаються як CYP—гени (CYTOCHROME P-450; англ.). У геномі людини за синтез цього гемопротеїну відповідають більше 100 генів, експресія яких призводить до продукції ізоформ із різною субстратною специфічністю (CYP1, CYP2, CYP3 тощо), що додатково поділяються на ензимні субсімейства.

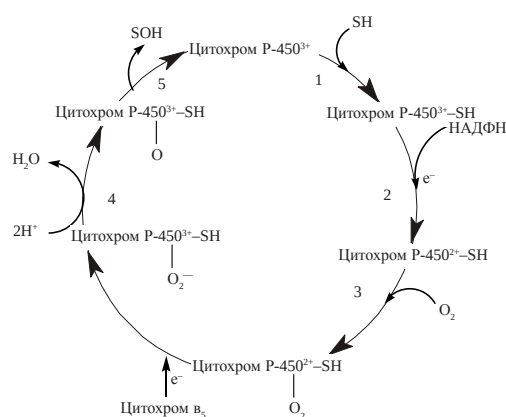


Рис. 31.5. Каталітичний цикл функціонування цитохрому Р-450.

Клінічний інтерес становлять індивідуальні ізоформи, що каталізують реакції метаболізму (біотрансформації) багатьох поширених фармакологічних препаратів (CYP1A2, CYP2C8-10, CYP2C-19, CYP2D6, CYP2E, CYP3A4).

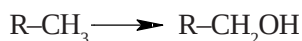
Каталітичний цикл, що реалізує реакції окислювального гідроксилювання субстратів (SH) за участю цитохрому Р-450, складається з декількох парціальних реакцій, поданих на рис. 31.5.

Типи реакцій мікросомального окислення

Розглянута схема окислювально-відновлювальної біотрансформації ксенобіотиків за участю цитохрому Р-450 реалізується, залежно від хімічної природи субстрату та умов процесу, у вигляді декількох типів реакцій мікросомального окислення, до яких належать:

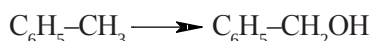
1) окислювальне гідроксилювання аліфатичних сполук:

1а — алканів та алкенів:



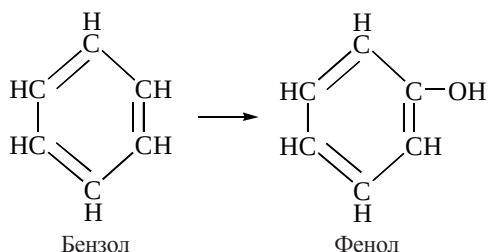
(субстратами реакції є вуглеводні, що можуть потрапляти в організм людини у процесі професійної діяльності);

1б — алкільних бічних ланцюгів циклічних сполук, наприклад:



(подібні реакції наявні, зокрема, при біотрансформації численних лікарських засобів з класу барбітуратів — гексобарбіталу, фенобарбіталу, пентобарбіталу);

2) окислювальне гідроксилювання циклічних сполук за типом гідроксилювання бензолу:



За таким типом відбувається біотрансформація моноциклічних вуглеводнів (аніліну, ацетаніліду), хлорованих циклічних вуглеводнів (зокрема, пестицидів гептахлору, альдрину тощо), поліциклічних вуглеводнів, що мають канцерогенні властивості (бензпірену, диметилбензантрацену);

3) окислювальне дезалкілювання, зокрема:

– N-дезалкілювання:



(субстратами реакції є такі поширені лікарські засоби, як амінопірин (амідопірин), аміназин, ефедрин, іміпрамін тощо);

– O-дезалкілювання:

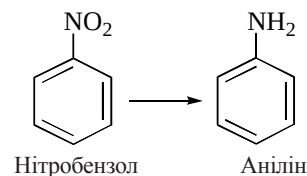
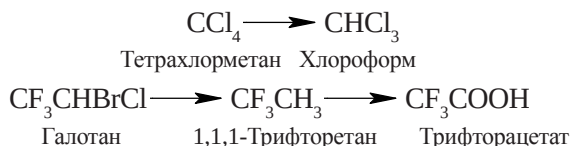


(субстратами реакції є, зокрема: наркотичний засіб кодеїн — продуктом реакції є морфін; фенацетин тощо);

4) реакції відновлення (перебігають без участі кисню), зокрема:

– відновлення нітросполук та азосполук, наприклад:

– відновлювальне дегалогенування, наприклад:



Проміжними метаболітами в реакціях відновлювального дегалогенування промислових отрут (тетрахлорметану) або летючих анестетиків (галотану, метоксифлюрану тощо) можуть бути вільні радикали ($R^\bullet$), що спричиняють активацію вільнорадикальних реакцій перекисного окислення біомолекул (ліпідів, білків, нуклеїнових кислот) і призводять до важких некрозо-дистрофічних уражень печінки, нирок, міокарда.

Індукція мікросомальних монооксигеназ

Біологічно важливою особливістю цитохрому Р-450 є його здатність до активованого синтезу (*ферментної індукції*) в умовах надходження в тваринний організм низькомолекулярних гідрофобних сполук — субстратів мікросомального окислення. На даний час відомо декілька сотен хімічних речовин, що є індукторами цитохрому Р-450; введення цих сполук в організм спричиняє активацію окремих генів, які відповідають за синтез певних ізоформ гемопротейну, специфічних для даного субстрату або групи хімічно близьких субстратів.

Фізіологічне значення феномена індукції цитохрому Р-450 полягає у збільшенні здатності клітин печінки до біотрансформації чужорідних хімічних сполук, тобто значному підвищенні її детоксикаційної функції; цей же механізм є відповідальним за зменшення або втрату специфічних фармакологічних ефектів багатьох лікарських засобів при їх тривалому застосуванні (розвиток “толерантності” до фізіологічно активних сполук). Широко відомим і таким, що застосовується в медичній практиці індуктором мікросомального окислення, є засіб седативної та протисудомної дії — *Фенобарбітал* (5-феніл-5-етилбарбітурова кислота).

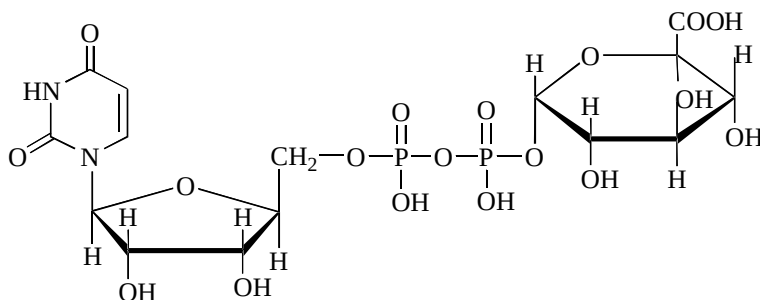
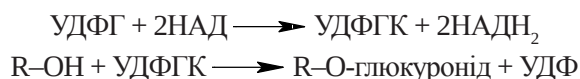
Реакції кон’югації в гепатоцитах

Реакції кон’югації з утворенням “парних” сполук — шлях детоксикації більшості ксенобіотиків, що мають функціональні групи $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$ (або утворюють їх у реакціях 1-ї фази біотрансформації). Цей же механізм використовується для утворення молекулярних форм, що підлягають екскреції з організму, з таких ендогенних субстратів, як жовчний пігмент білірубін, продукти бактеріального розщеплення в кишечнику циклічних амінокислот (фенолу, крезолу, індоксили), стероїдні гормони та продукти їх гідроксилювання, продукти моноамінооксидазного розщеплення катехоламінів, серотоніну та інших біогенних амінів.

Найбільш поширеними реакціями кон’югації є:

1. *Реакції глюкуронування* (основний тип кон’югації в організмі людини та тварин як ксенобіотиків, так і ендогенних субстратів), у яких бере участь активна форма

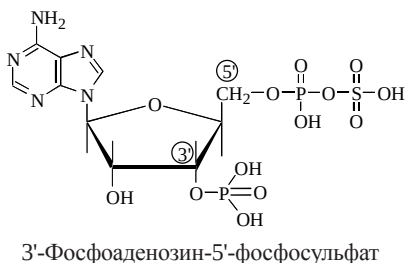
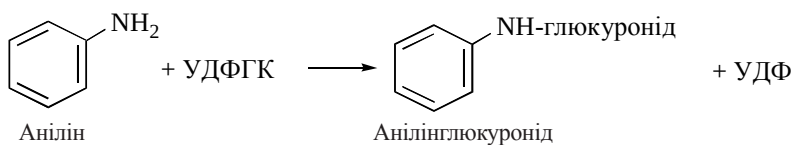
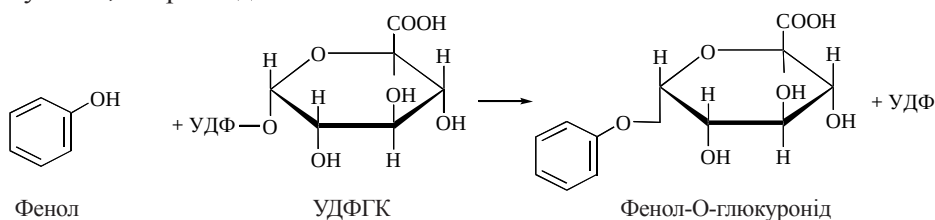
глюкуронату — УДФ-глюкуронова кислота (УДФГК), яка утворюється шляхом окислення УДФ-глюкози (УДФГ) НАД-залежною *УДФГ-дегідрогеназою*:



Уридиндифосфоглюкуронова кислота

Фермент, що каталізує реакції глюкуронування — *УДФ-глюкуронілтрансфераза*, локалізований в мембранах ендоплазматичного ретикулула гепатоцитів та деяких інших органів і тканин, що також беруть участь в реакціях детоксикації (шлунково-кишкового тракту, нирок, шкіри).

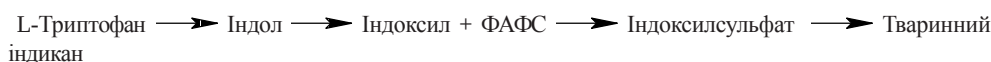
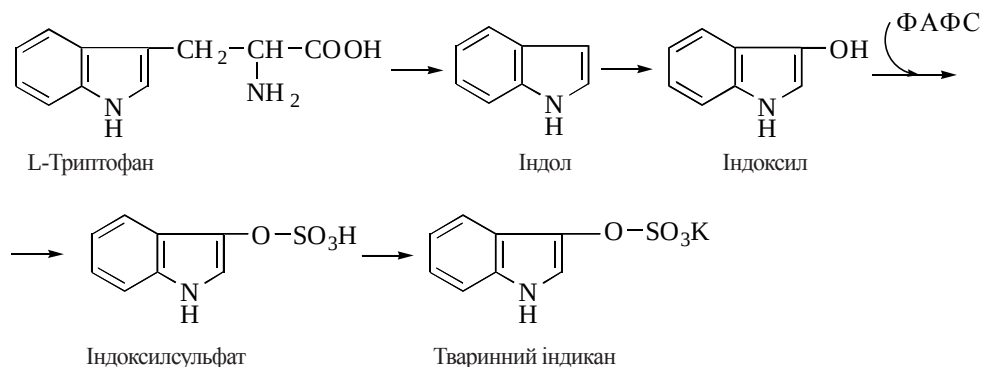
Залежно від хімічної природи субстрату, розрізняють реакції О-, N- та S-глюкуронування, наприклад:



2. Реакції сульфування, донором сульфатних радикалів у яких є біологічно активна форма сірчаної кислоти — 3'-фосфаденозин-5'-фосфосульфат (ФАФС).

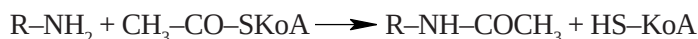
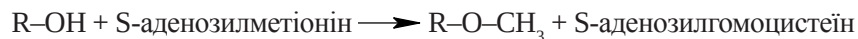
Прикладом реакції сульфування є утворення в печінці кон'югату на основі індоксилу — продукту мікробного розщеплення в товстій кишці амінокислоти L-триптофану. Вільний

індол утворюється в результаті дії ферментів мікроорганізмів на L-триптофан (одна з реакцій “гниття білків у кишечнику”); подальше окислення індолу до індоксилу постачає субстрат для взаємодії з ФАФС. Индоксилсульфат, що утворився, виводиться із сечею у вигляді калієвої солі, яка отримала назву “тваринного індикану”:



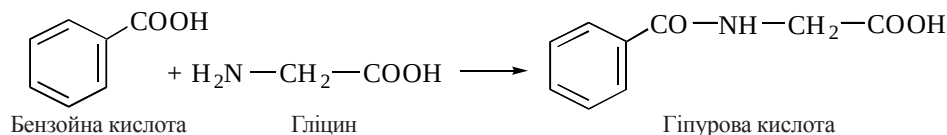
Величина екскреції тваринного індикану розглядається в клінічній практиці як індикатор активності гниття білків у кишечнику та функціонального стану печінки.

3. Реакції метилювання та ацетилювання — поширений тип кон'югації, в яких беруть участь як ксенобіотики, так і ендогенні субстрати; в цих реакціях беруть участь S-аденозилметіонін (О-метилювання) та ацетил-КоА (N-ацетилювання):



Важливим прикладом N-ацетилювання є ацетилювання сульфаніламідів — поширених хімотерапевтичних препаратів; інтенсивність цієї реакції виступає показником активності біотрансформації лікарських засобів в організмі людини.

4. Реакції кон'югації з гліцином; клінічно важливим прикладом реакції є утворення гіпурової кислоти при взаємодії ендогенного гліцину з введеною в організм



бензойною кислотою:

Визначення інтенсивності реакції (кількості екскретованої з сечею гіпурової кислоти після введення певної стандартної дози бензоату) лежить в основі дослі-

дження антитоксичної функції печінки (*проба Квіка*).

31.3. ОБМІН ЖОВЧНИХ ПІГМЕНТІВ. БІОХІМІЯ ЖОВТЯНИЦЬ

В організмі людини йде постійне руйнування зрілих еритроцитів, швидкість якого складає $(1-2) \cdot 10^8$ /год; середня тривалість життя еритроцитів — 100-120 днів.

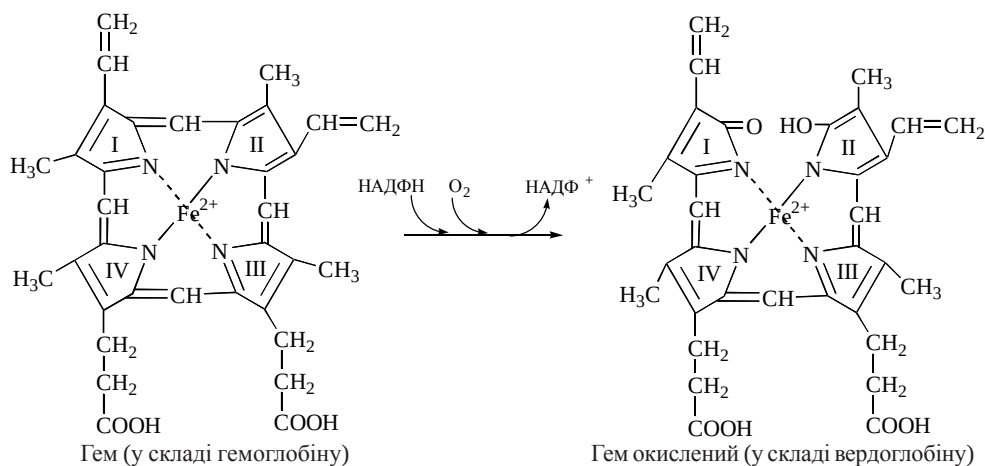
Жовчні пігменти (*білірубін*, *білівердин*) є продуктами катаболізму гемоглобіну еритроцитів та частково — інших гемовмісних білків. Руйнування еритроцитів та розщеплення гемоглобіну, який складає 90-95 % сухого залишку еритроцитів, відбувається в клітинах ретикулоендотеліальної системи органів та тканин людини — селезінці (переважно), купферовських клітинах печінки, кістковому мозку, гістіocyтах сполучної тканини.

Катаболізм гемоглобіну та обмін жовчних пігментів

Гем, що входить до складу гемоглобіну, складає близько 80 % всього пулу гему організму. Протягом доби у людини масою 70 кг обмінюється (розщеплюється та синтезується знову) близько 6 г гемоглобіну. В процесі деградації гемопротеїну відбувається протеоліз його білкової частини, вивільнення іонів заліза, що реутилізуються для синтезу залізовмісних білків, та незворотний катаболізм порфіринового циклу гему, що призводить до утворення *білірубину* (жовто-червоного пігменту жовчі) і *білівердину* (зеленого пігменту), які виводяться з організму.

Процес катаболізму гемоглобіну та його порфіринової простетичної групи гему складається з наступних етапів.

1. Розрив тетрапірольного кільця гему (у складі гемоглобіну) шляхом окислювального розщеплення метинового містка між I та II кільцями протопорфіринового циклу; в результаті реакції червоний пігмент еритроцитів гемоглобін перетво-



рюється на зелений кров'яний пігмент *вердоглобін* (*хемоглобін*) (див. с.464):

Реакція каталізується ферментом НАДФН-залежною *гемоксигеназою*, що є

за хімічною будовою однією з ізоформ цитохрому Р-450, і супроводжується виділенням монооксиду вуглецю.

Перетворення гемоглобіну на вердоглобін внаслідок окислення гему спричиняє послідовну зміну забарвлення в ділянках гематом, що утворюють “синці”.

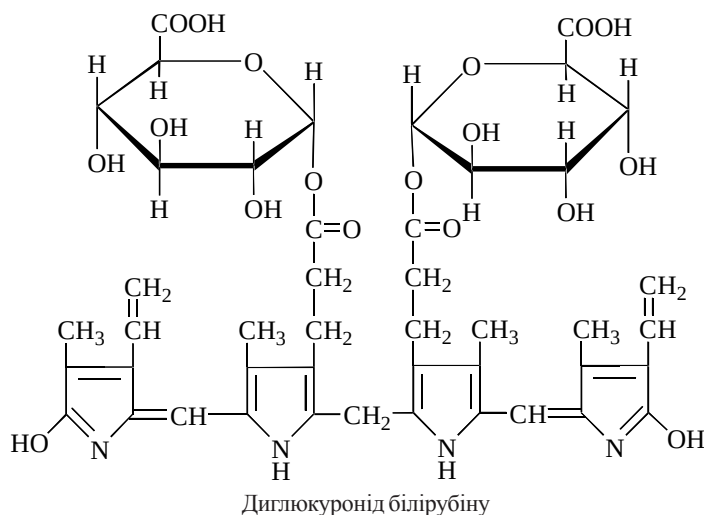
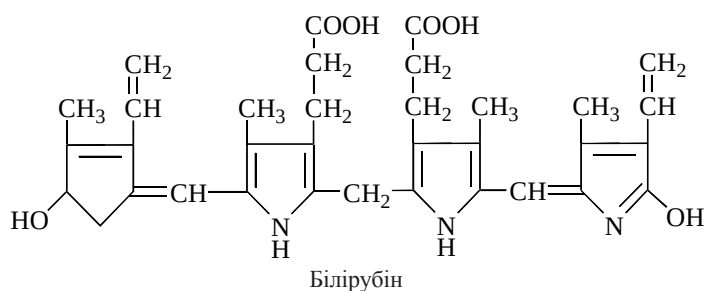
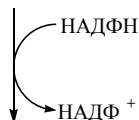
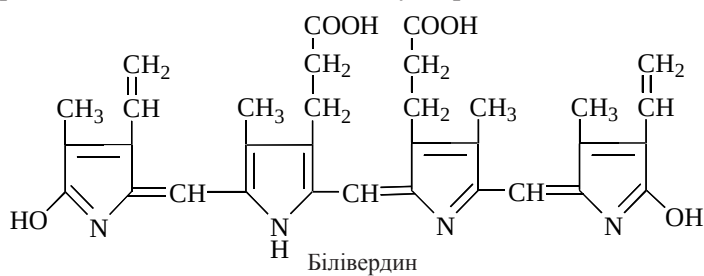
2. Розпад вердоглобіну з відщепленням білкової частини, вивільненням іона заліза та утворенням тетрапірольної молекули *білівердину*.

3. Перетворення білівердину на *білірубін* шляхом відновлення метинового зв'язку (між піролами III, IV). Реакція каталізується ферментом НАДФН-залежною *білівердинредуктазою*:

4. Зазначені етапи утворення жовчних пігментів (1-3) відбуваються в клітинах ретикулоендотеліальної системи, з яких білірубін надходить у кров, де адсорбується молекулами сироваткового альбуміну.

Комплекс сироватковий альбумін — *білірубін* транспортується в печінку, де пігмент поглинається гепатоцитами і підлягає подальшим перетворенням.

5. Білірубін є ліпідорозчинною речовиною і у високих концентраціях проявляє мембранотоксичність, особливо



для клітин головного мозку. Детоксикація білірубину, яка полягає в перетворенні пігменту у водорозчинну (і менш токсичну) форму — глюкуронід білірубину, відбувається в мембранах ендоплазматичного ретикулу гепатоцитів. У процесі взаємодії білірубину з УДФ-глюкуроною кислотою (УДФГК) утворюються моно- та диглюкуроніди білірубину:



Реакція каталізується *УДФ-глюкуронілтрансферазою*. Основна частина білірубину екскретується в жовч у формі диглюкуронідів; при порушеннях ферментативних властивостей гепатоцитів (*паренхіматозні жовтяниці* — див. нижче) в крові хворих накопичуються переважно моноглюкуроніди білірубину.

У сироватці крові здорової людини концентрація білірубину низька, з межами коливань 0,1-1,0 мг % (1-10 мг/л, або 1,7-17 мкмоль/л). Цей білірубін ("загальний білірубін" сироватки крові) складається з двох фракцій ("форм"):

(1) *вільний білірубін* (складає близько 75% від загального білірубину) — такий, що не пройшов кон'югації з глюкуроною кислотою (*некон'югований білірубін*); цей білірубін знаходиться в крові у комплексі з сироватковим альбуміном;

(2) *зв'язаний білірубін* (складає відповідно до 25% від загального білірубину) — такий, що пройшов кон'югацію з глюкуроною кислотою (*кон'югований білірубін*); ця форма секретується нормальними гепатоцитами в жовч, і лише частково, в незначній кількості надходить у кров.

Для визначення вмісту в сироватці крові людини загального білірубину та його фракцій застосовується метод Ван ден Берга, який ґрунтується на використанні діазосульфанилової кислоти (*діазореактив Ерліха*), що при взаємодії з білірубіном утворює діазосполуку рожевого забарвлення. Оскільки *вільний білірубін* знаходиться в комплексі з альбуміном, він дає позитивну реакцію з діазореактивом Ерліха лише після осадження білків етанолом ("непряма реакція з діазореактивом") і тому отримав назву *непрямого білірубину*. *Зв'язаний (кон'югований) білірубін* дає безпосередню ("прямую") реакцію з діазореактивом і позначається в клініко-біохімічній практиці як *прямий білірубін*. Зміни кількісних взаємовідношень між фракціями *непрямого* та *прямого білірубину* плазми є важливою диференціально-діагностичною ознакою різних типів *жовтяниць*.

6. Глюкуроніди білірубину ("кон'югований білірубін") екскретуються гепатоцитами в жовч і у її складі надходять у кишечник, де підлягають біотрансформації ферментами мікроорганізмів, частковому повторному всмоктуванню та виведенню з фекальними масами ("ентерогепатична циркуляція" жовчних пігментів).

Біотрансформація білірубін-глюкуронідів у кишечнику полягає у відщепленні глюкуронові кислоти

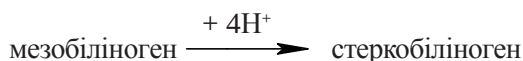
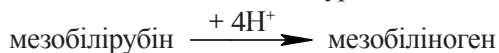
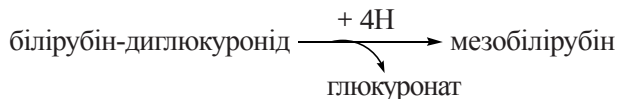
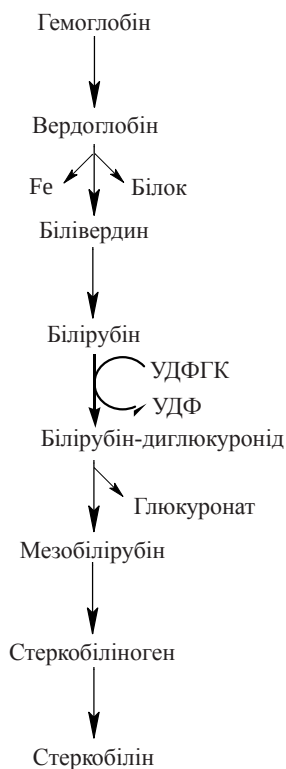


Рис. 31.6. Схема катаболізму гемоглобіну та біотрансформації жовчних пігментів.



(при дії мікробної β -глюкуронідази) і послідовному утворенні таких тетрапірольних сполук, як *мезобілірубін* і *мезобіліноген* (в тонкій кишці) та *стеркобіліноген* (продукт, що утворюється в товстому кишечнику та виводиться з фекаліями):

Деяка кількість мезобіліногену утворюється вже в печінці і надходить у жовчний міхур разом із глюкуронідами білірубину. Уробіліноген та стеркобіліноген є безбарвними сполуками, що, потрапляючи в кал та сечу, окислюються до жовтих пігментів — *уробіліну* та *стеркобіліну*.

Загальний метаболічний шлях розщеплення гемоглобіну та перетворення жовчних пігментів подано на схемі (рис. 31.6).

Всмоктування тетрапіролів у кишечнику

Основна кількість продуктів перетворення білірубину в кишечнику — 200-300 мг/добу (близько 95% усіх тетрапірольних сполук) виводиться з організму людини у складі калових мас. Разом з тим, деяка частина жовчних пігментів та продуктів їх біотрансформації всмоктується з кишечника в кров і підлягає подальшим перетворенням (рис. 31.7):

(а) *стеркобіліноген* (основна маса якого виводиться з калом у вигляді *стеркобіліну*) частково всмоктується в нижніх відділах товстої кишки, звідки потрапляє в загальний кровообіг через судини *pl. haemorrhoidalis*, тобто минаючи печінку. З крові цей водорозчинний стеркобіліноген екскретується в сечу у вигляді *уробіліну* (0-4 мг/добу); ці слідові концентрації пігменту можуть не визначатися в сечі звичайними клініко-біохімічними методами дослідження, і тому вважають, що в сечі здорової людини “уробілін”, як правило, відсутній;

(б) *мезобіліноген* (*уробіліноген*) резорбується слизовою оболонкою тонкої кишки і через судини системи *v. porta* надходить у печінку, де розщеплюється ферментами гепатоцитів до дипірольних сполук, які остаточно екскретуються з організму через жовч. За умов порушення бар’єрної функції печінки (*паренхіматозні жовтяниці* — див. нижче) розщеплення мезобіліногену в печінці не відбувається, внаслідок чого цей пігмент надходить у кров і виділяється нирками також під назвою *уробіліну* сечі, що додається до уробіліну, який є продуктом всмоктування *стеркобіліногену* — п. (а).

Патобіохімія жовтяниць

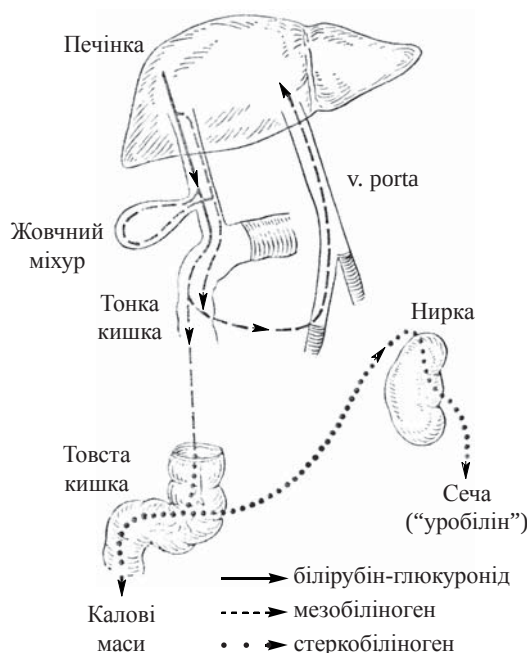


Рис. 31.7. Всмоктування в кишечнику та подальша біотрансформація продуктів перетворення жовчних пігментів (Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин, 1983; модифіковано).

Перевищення концентрації загального білірубіну сироватки крові людини понад 2-4 мг % проявляється характерною жовтуватістю шкіри та слизових оболонок (особливо склер очного яблука) і позначається як *жовтяниця* (*icterus* — лат.).

Причинами виникнення *гіпербілірубінемії* і розвитку жовтяниць є надмірне утворення білірубіну в організмі, пошкодження печінки з порушенням її детоксикаційної та екскреторної функцій або наявність механічних перешкод в системі жовчовивідних шляхів, що протидіють нормальному виведенню жовчі в кишечник. Відповідно розрізняють декілька типів жовтяниць.

Передпечінкова (гемолітична) жовтяниця — розвивається внаслідок патологічно підсиленого руйнування (гемолізу) еритроцитів та розщеплення гемоглобіну і надмірного накопичення в крові білірубіну. Причинами такого стану можуть бути резус-конфлікт у новонароджених, переливання несумісної крові, радіаційне ураження, дія гемотоксичних отрут тощо.

Для передпечінкової жовтяниці характерним є збільшення концентрації в крові загального білірубіну, переважно за рахунок *непрямої* фракції, тобто вільного білірубіну, який не встигає бути кон'югованим у печінці в умовах його надмірного утворення.

Надходження в цих умовах значних кількостей білірубіну в кишечник призводить до посиленого утворення стеркобіліногену (в деяких випадках — до 10 г), що в збільшеній кількості виділяється з калом (*стеркобілін*) та (після всмоктування в товстій кишці) з сечею (*уробілін* сечі).

Печінкова (паренхіматозна) жовтяниця — розвивається внаслідок порушення структури та ферментативних властивостей гепатоцитів в результаті дії пошкоджувальних факторів вірусного, бактеріального, хімічного походження (вірусні, інфекційні, токсичні гепатити). При цьому типі жовтяниць спостерігається значна гіпербілірубінемія (збільшення концентрації загального білірубіну) внаслідок таких причин:

а) порушення кон'югації білірубіну як результат пошкодження мембран ендоплазматичного ретикулу гепатоцитів і зменшення активності *УДФ-глюкуронілтрансферази*; дія цього фактора призводить до зростання рівня в крові *непрямого білірубіну*;

б) порушення секреторної функції гепатоцитів, тобто їх здатності транспортувати білірубін-глюкуронід у жовч (транспорт проти градієнта концентрації); ця обставина, а також некроз печінкових клітин призводять до надходження в сироватку крові надмірної кількості *прямого білірубіну*.

Зростання в крові *прямого білірубіну* (білірубін-глюкуроніду), що здатен проходити через ниркові мембрани, супроводжується (у важких випадках захворювання) появою білірубін-глюкуроніду в сечі (лабораторні проби на наявність жовчних пігментів у сечі стають позитивними). Внаслідок порушення здатності гепатоцитів до розщеплення тетрапіролів (що всмоктуються у вигляді мезобіліногену), ці сполуки також надходять у сечу (підвищена реакція на “уробілін” сечі).

Післяпечінкова (обтураційна) жовтяниця — спричиняється неможливістю надходження жовчі в дванадцятипалу кишку внаслідок закупорки жовчних шляхів

(наявність пухлин, жовчнокам'яної хвороби). Цей тип жовтяниць характеризується знебарвленням калових мас внаслідок відсутності в них стеркобіліногену ("ахолічний" кал) та цілковитою відсутністю уробіліну в сечі. Внаслідок утрудненого надходження білірубін-глюкуроніду в жовч (зростання гідростатичного тиску в жовчних шляхах), кон'югований пігмент у збільшеній кількості всмоктується в кров, що призводить до зростання рівня *прямого білірубину*; в цих умовах можлива поява жовчних пігментів у сечі, як при паренхіматозній жовтяниці.

Ферментативні (спадкові) жовтяниці — виникають внаслідок генетичних ензимопатій, що спричинені порушеннями експресії генів, які відповідають за синтез у гепатоцитах ферментів кон'югації білірубину (*УДФ-глюкуронілтрансферази* та/або *УДФГ-дегідрогенази* — ферменту, що утворює УДФГК з УДФ-глюкози), його абсорбції з крові або екскреції в жовч. Некон'югований білірубін, що накопичується в сироватці крові в надмірній кількості, за цих типів жовтяниць може проникати через гематоенцефалічний бар'єр в головний мозок і відкладатися в базальних гангліях та ядрах стовбура мозку, спричиняючи важкі неврологічні зрушення ("ядерні жовтяниці").

Синдром Криглера-Найяра — жовтяниця, що спричинена недостатністю синтезу *УДФ-глюкуронілтрансферази* ("кон'югаційна жовтяниця").

Хвороба Жильбера — патологічний стан, який є гетерогенною групою порушень, спричинених як блоком синтезу *УДФ-глюкуронілтрансферази*, так і порушенням здатності гепатоцитів до поглинання білірубину з крові ("абсорбційна жовтяниця").

Синдром Дабіна-Джонсона — жовтяниця, пов'язана з порушенням транспорту білірубін-глюкуроніду з гепатоцитів у жовч ("екскреційна жовтяниця").

Ферментативні жовтяниці можуть також бути у новонароджених як тимчасовий стан, спричинений запізнитим включенням генів, що кодують *УДФ-глюкуронілтрансферазу*. Терапевтичний ефект може досягатися призначенням дітям *Фенобарбіталу*, який є універсальним індуктором печінкових ферментів детоксикації — як мікросомального окислення, так і глюкуронування субстратів.

Основні механізми виникнення *гіпербілірубінемій* при жовтяницях різного генезу подано на рис. 31.8.

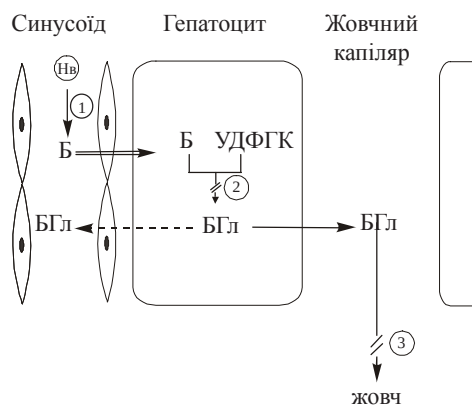


Рис. 31.8. Схема обміну білірубину (Б) та білірубін-глюкуроніду (БГл) між кров'ю, гепатоцитами та жовчними капілярами і їх порушення при різних типах жовтяниць: (1) гемолітичні жовтяниці — збільшене розщеплення гемоглобіну; (2) паренхіматозні та ферментативні жовтяниці — порушення кон'югації білірубину з УДФГК; (3) обтураційні жовтяниці — порушення нормального витоку жовчі.

ГЛАВА 32. БІОХІМІЯ М'ЯЗІВ І М'ЯЗОВОГО СКОРОЧЕННЯ

М'язи є молекулярною системою, в якій відбувається трансформація хімічної енергії АТФ у механічну енергію скорочення та руху. За особливостями структурної організації м'язи людини і тварин поділяють на скелетні (смугасті), гладенькі та серцевий м'яз.

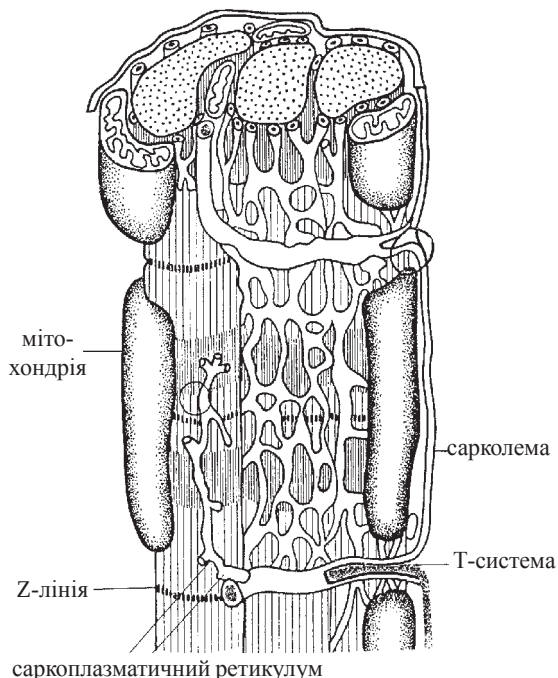
В основі всіх видів клітинного руху в еукаріотів (від дріжджів до людини) знаходиться взаємодія і взаємне переміщення філаментів, що сформовані з білків *актину* й *міозину*. До нем'язових рухів належать амебоподібні пересування лейкоцитів, макрофагів, фібробластів, сперматозоїдів та інших клітин, внутрішньоклітинні рухи, зокрема розходження хромосом, ендоцитоз та екзоцитоз. Рухливість війок і джгутиків зумовлюється взаємодією іншої пари білків — *динейну* й *тубуліну*.

Найбільш вивченими є біохімічні процеси, що складають основу скорочення скелетних м'язів.

32.1. УЛЬТРАСТРУКТУРА І ХІМІЧНИЙ СКЛАД М'ЯЗІВ

Структурною одиницею скелетного м'яза є багатоядерна клітина — *міоцит* — м'язове волокно, довжина якого у людини може досягати 10-12 см, а діаметр — 0,01-0,1 мм.

Ультраструктурні компоненти міоцитів



Міоцити оточені електрично збудливою плазматичною мембраною, що отримала назву *сарколеми*, містять у собі цитозольну частину — *саркоплазму*, скорочувальні елементи — *міофібрили*, високодиференційовану ендоплазматичну сітку — *саркоплазматичний ретикулум*, розвинену систему мітохондрій — *саркосом* (рис. 32.1).

В активнофункціонуючих скелетних м'язах людини мітохондрії дуже чисельні; вони розміщуються впродовж міофібрил, у безпосередній близькості від них, що забезпечує мінімальну відстань для дифузії макроергічних фосфатів до скорочувальних елементів.

Скелетні м'язи мають розвинену систему мембран і

каналців саркоплазматичного ретикулума (СР), які відіграють роль головного резервуара внутрішньоклітинного Ca^{2+} , контролюючи активну концентрацію іонів кальцію в цитозолі. Зміни концентрації цитозольного Ca^{2+} є біохімічним регулятором включення процесу м'язового скорочення. З елементами СР контактує система поперечних трубочок — *Т-система*, упродовж елементів якої відбувається поширення електричного потенціалу від сарколеми до мембран СР, спричиняючи вивільнення з СР іонів кальцію.

Значну частину об'єму м'язових клітин займають скорочувальні елементи — *міофібрили*, що спакзовані в паралельні пучки. Молекулярною основою міофібрил є організовані у вигляді ниток (філаментів) скорочувальні білки — *актин* і *міозин*.

Саркомери — структурно-функціональні елементи скорочувального апарату скелетних м'язів. Саркомери утворені пучками міофібрил, які відокремлені один від одного перпендикулярними смугами — *З-лініями*.

Електронно-мікроскопічне вивчення саркомерів дозволило виявити в них упорядковані елементи, які створюють характерну для скелетних м'язів поперечну смугастість (рис. 32.2), а саме:

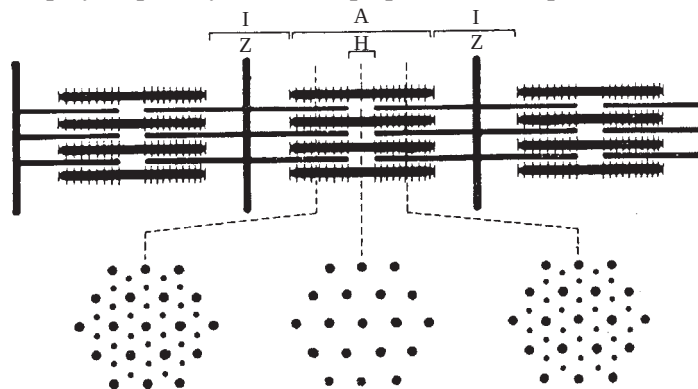


Рис. 32.2. Структурна організація саркомерів міофібрил.

І-диски (ізотропні), що утворені “тонкими” філаментами (діаметром близько 6 нм) міофібрил;

А-диски (анізотропні), що утворені “товстими” філаментами (діаметром 15-17 нм) міофібрил, які перекриваються з “тонкими” філаментами;

Н-зона — частина А-диска, в якій “товсті” філаменти не перекриваються з “тонкими”.

Біохімічний склад м'язів

Скелетні м'язи ссавців містять у своєму складі: 72-80 % води; 16-20 % білків; 0,9-2,2 % небілкових азотистих сполук (креатин, креатинфосфат, АТФ, АДФ, амінокислоти тощо); безазотисті органічні сполуки (глікоген — 0,3-3,0 %; фосфоліпіди — 0,4-1,0 %; холестерин — 0,06-0,2 %); мінеральні елементи (K^+ , Ca^{2+} , Na^+ тощо).

Білки м'язів

Білки скелетних м'язів складаються з водонерозчинних білків міофібрил (становлять 75-80 % загального вмісту білків м'язів) і водорозчинних білків саркоплазми — так званого міогену.

До складу фракції *міогену* входять переважно ферменти, що каталізують катаболічні реакції, які забезпечують біоенергетику м'язового скорочення —

глікогенфосфорилаза, ферменти гліколізу, креатинфосфокіназа, аденілаткіназа, кисеньдепонуючий білок міоглобін. В саркосомах містяться ферменти циклу трикарбонових кислот, біологічного окислення й окисного фосфорилювання.

Білки міофібрил

До складу міофібрил входять такі білки:

- 1) до складу товстих ниток — білок міозин;
- 2) до складу тонких ниток — білки актин, тропоміозин, тропоніновий комплекс (тропонін Т, тропонін І, тропонін С);
- 3) білок α -актинін — компонент Z-лінії саркомерів; з цим білком сполучені кінці F-актинових молекул тонких філаментів.

Т а б л и ц я 32.1. Білковий склад скелетного м'яза (за J.Musil та співавт., 1980, із змінами)

Білок	М.м., кД	Вміст, %
Міозин	460	55 – 60
Актин (G)	46	20 – 25
Тропоміозин	70	4 – 6
Комплекс тропоніну	76	4 – 6
TnT	37	
TnI	24	
TnC	18	
α -Актинін	180	1 – 2
Інші (міоген)	Суміш	5 – 10

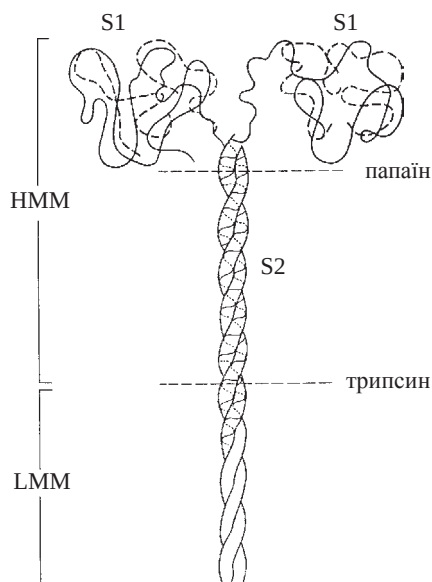


Рис. 32.3. Будова молекули міозину.

Міозин — фібрилярний білок, що утворює товсті філаменти міофібрил. Молекула міозину асиметрична, складається з двох важких поліпептидних ланцюгів, що мають конформацію α -спіралі й закручені один відносно одного; довжина молекули — 160 нм. N-кінці важких ланцюгів утворюють глобулярні “голівки”, які нековалентними зв’язками сполучені з додатковими чотирма легкими поліпептидними ланцюгами.

В умовах триптичного гідролізу міозин розщеплюється на два фрагменти — мероміозини: легкий мероміозин — LMM (light meromyosin — англ.) та важкий мероміозин — HMM (heavy meromyosin — англ.). Подальший гідроліз HMM папаїном спричиняє утворення двох ідентичних глобулярних субфрагментів S1 (голівок міозину) і паличкоподібного субфрагмента S2 (рис. 32.3).

До складу голівок S1 входять каталітичні центри з АТФ-азною активністю і центри для зв’язування з актином (при відсутності АТФ).

Фібрилярні “хвости” молекул міозину контактують між собою в поздовжньому напрямку, утворюючи товсті філаменти саркомерів, до складу кожного з яких входять близько 400 молекул міозину. Глобулярні голівки виступають із зовнішньої поверхні філамента (рис. 32.4).

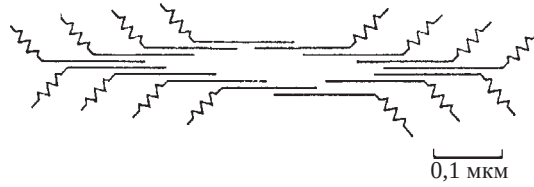


Рис. 32.4. Молекулярна організація товстого (міозинового) філамента.

Актин — білок, що існує в двох формах: G- та F-актин. G-актин — глобулярний білок, що має вигляд кулеподібних молекул діаметром близько 5 нм. Молекули G-актину (субодиниці) нековалентно сполучаються між собою, утворюючи намистоподібні утворення — ланцюги фібрилярного F-актину.

У м'язових клітинах F-актин представлений фібрилярними структурами, що складаються з двох ланцюгів, переплетених один навколо одного (рис. 32.5):

F-актин складає основу будови тонких ниток саркомерів. У складі тонких ниток ланцюги F-актину сполучені з *тропоміозином* і *тропонінами*.

Тропоміозин — білкові молекули витягнутої форми, що складаються з двох поліпептидних ланцюгів (α та β), які утворюють подвійну спіраль. Паличкоподібні молекули тропоміозину (довжиною 40 нм і товщиною 2 нм) розміщуються в борозенках між двома ланцюгами F-актину таким чином, що кожна молекула тропоміозину контактує із сімома молекулами (субодиницями) G-актину.

Тропонін — білок тонких філаментів, що складається з трьох субодиниць: TnT, TnI, TnC. Тропонінові комплекси мають глобулярну форму і розміщуються впродовж актинового філамента з інтервалами в 38,5 нм, контактуючи з кінцями молекул тропоміозину (рис. 32.6).

Найбільш вивченим компонентом тропонінового комплексу є TnC — кальцій-зв'язуючий білок, близький за структурою і властивостями до *кальмодуліну* —

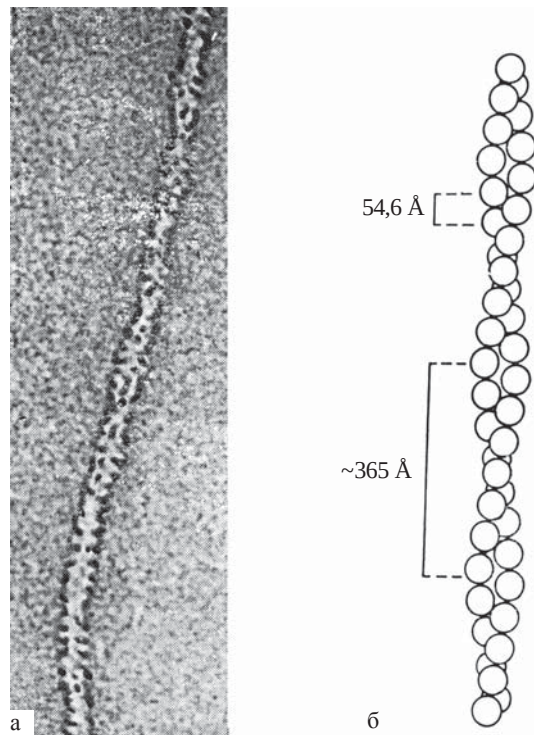


Рис. 32.5. Актиновий філамент: а — електронна мікрофотографія; б — схема утворення двоспіральних ланцюгів F-актину з G-актину.

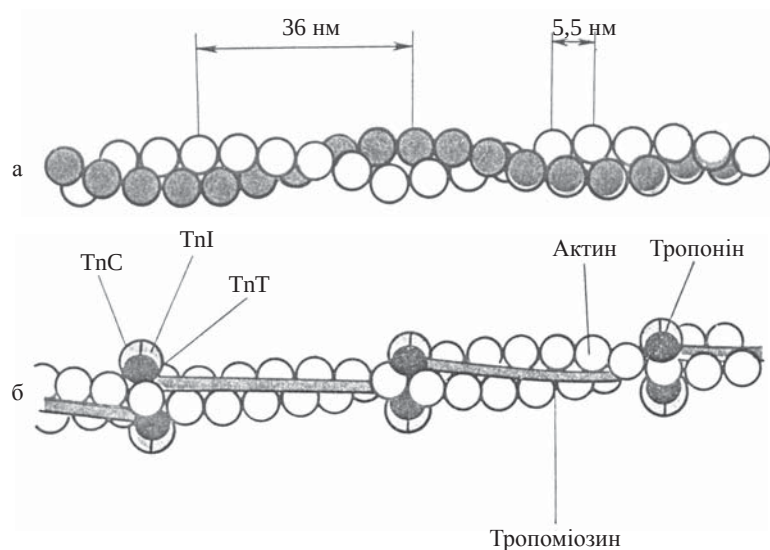


Рис. 32.6. Схема взаємодії тропоміозину (Tm) і тропонінів з актином: а — спіраль F-актину; б — взаємодія Tm та тропонінів із субодиницями G-актину.

універсального трансдуктора кальцієвих сигналів у біохімічних системах. Білок TnI взаємодіє з актином, TnT — забезпечує взаємодію тропонінового комплексу з тропоміозином.

32.2. МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ М'ЯЗОВОГО СКОРОЧЕННЯ

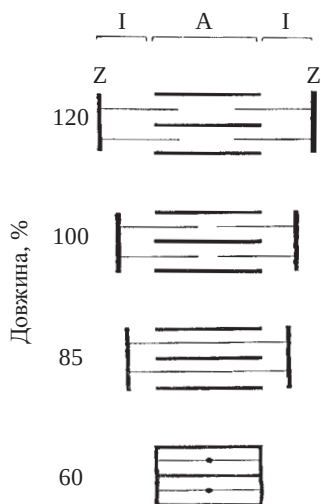


Рис. 32.7. Модель взаємного переміщення філаментів у саркомері (за Н.Е.Хукслі та ін.).

В основу сучасного уявлення про механізми м'язового скорочення покладено запропоновану Г.Хакслі та іншими дослідниками **модель ниток (філаментів), що плавно переміщуються (slide — англ.) впродовж одна одної** (Н.Е.Хукслі, J.Hanson, A.F.Huxley, R.Niedergerke, 1954). Головні постулати цієї моделі, що були підтверджені біохімічними, біофізичними й електронно-мікроскопічними дослідженнями:

– товсті (міозинові) та тонкі (актинові) філаменти міофібрил не змінюють своєї довжини протягом м'язового скорочення;

– протягом м'язового скорочення зменшується довжина всього саркомера внаслідок зустрічного руху та перекривання товстих і тонких філаментів;

– скорочувальна сила генерується внаслідок активної взаємодії одного типу філаментів з іншим, сусіднім типом філаментів.

Схема, що ілюструє взаємний рух товстих і тонких філаментів саркомера в процесі м'язового скорочення, подана на рис. 32.7.

Було також встановлено, що м'язове скорочення, в основі якого лежить переміщення товстих і тонких філаментів, потребує участі АТФ; циклічне перетворення АТФ в АДФ є необхідною передумовою як скорочення, так і розслаблення м'язів. Гідроліз АТФ до АДФ та P_i здійснюється завдяки АТФ-азній активності глобулярних голівок S1 міозину. Вперше наявність АТФ-азної активності в міозині була виявлена в 1939 р. російськими вченими В.О. Енгельгардтом і М.М. Любимовою.

Залежна від АТФ взаємодія актину з міозином, що призводить до взаємного переміщення тонких і товстих філаментів саркомера, відбувається наступним чином (рис. 32.8):

А. У м'язі, що перебуває в стані спокою, S1-голівки міозину не сполучені з актиновими філаментами. Продукти гідролізу АТФ (АДФ та P_i) зв'язані з міозином.

В. При збудженні м'яза S1-голівки зсуваються в напрямку тонких філаментів і сполучаються з нитками актину (G-субодинамиці). P_i вивільняється з комплексу з міозином.

С. Вивільнення АДФ з комплексу з міозином супроводжується конформаційним зсувом у просторовому розташуванні голівки S1, що зв'язана з актином (зміщенням кута між голівкою і віссю міофібрили з 90° на 45°). **Зміна просторової орієнтації S1-голівки міозину відносно нитки актину призводить до розвитку напруги і пересування тонкого філамента відносно товстого приблизно на $100 \text{ \AA}$ (10 нм) у напрямку середини саркомера.**

Д. Взаємодія з актином молекули АТФ супроводжується розривом зв'язку між актином і міозином. S1-голівка знову віддаляється від тонкого філамента.

Е. АТФ, що вивільнився, гідролізується до АДФ та P_i , завдяки АТФ-азній активності вільних голівок міозину. Продукти гідролізу знову сполучаються з актином. Актинові та міозинові філаменти готові до нового циклу взаємодії та пересування.

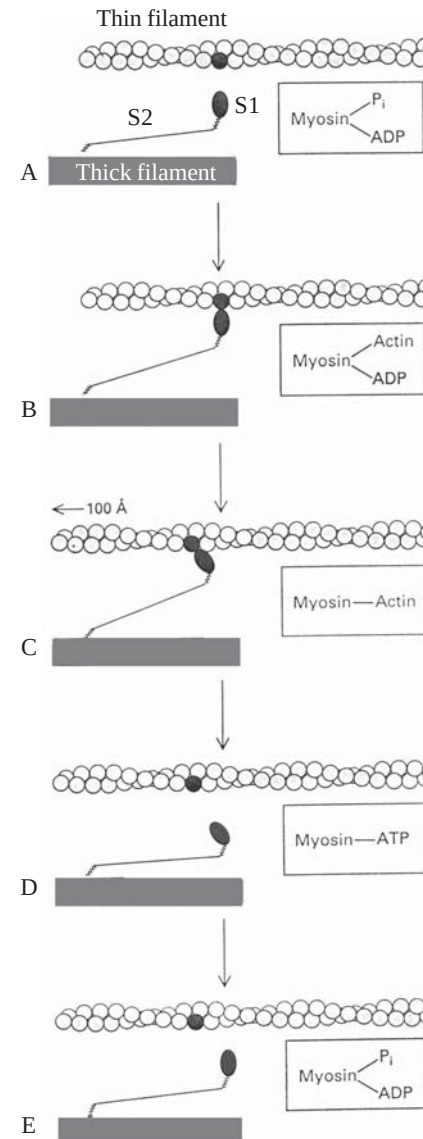


Рис. 32.8. Схема молекулярних механізмів м'язового скорочення (за L.Stryer, 1995, із змінами).

Регуляція скорочення скелетних м'язів

Загальна схема м'язового скорочення, що полягає у взаємному переміщенні актинових і міозинових філаментів, стосується усіх типів м'язів. Разом з тим, біохімічні механізми включення процесу та регуляція скорочення і розслаблення суттєво відрізняються в скелетному і серцевому м'язах (з одного боку) та гладенькому — з іншого.

Ініціація м'язового скорочення — процес, що включається генерацією потенціалу дії на сарколемі внаслідок хімічного сигналу, який надходить із нервово-м'язового синапсу (наприклад, при вивільненні холінергічним нейроном ацетилхоліну і взаємодії медіатора з локалізованим у сарколемі холіновим рецептором).

Головним біохімічним регулятором скорочення та розслаблення м'язів є зміни цитозольної концентрації іонів Ca^{2+} , яка в стані спокою (розслаблення) становить близько 10^{-8} - 10^{-7} моль/л. Поширення потенціалу дії з сарколеми на трубочки Т-системи, що контактують із мембранами саркоплазматичного ретикулула, спричиняє вихід Ca^{2+} з каналців СР, які відіграють роль депо Ca^{2+} в міоцитах (у комплексі з білком *секвестрином*). Внаслідок цих процесів концентрація Ca^{2+} в саркоплазмі досягає 10^{-5} моль/л, що ініціює молекулярні процеси, які є м'язовим скороченням.

Тропоміозин-тропонінова система як регулятор скорочення

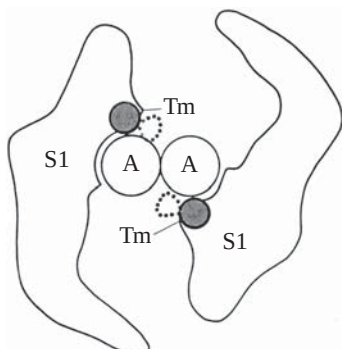


Рис. 32.9. Просторове зміщення молекул тропоміозину (Tm), що впливає на можливість взаємодії S1-голівок міозину з актином (A) (вигляд у розрізі).

Взаємодія між голівками міозину й актином залежить від просторового розташування в тонких (актинових) філаментах тропоміозину. Просторове переміщення молекул тропоміозину, що стерично вивільняє або закриває сайти зв'язування S1-голівок міозину з G-субодинами актину, може відбуватися за механізмом, схематично зображеним на рис. 32.9.

У свою чергу, просторові (конформаційні) зсуви молекул тропоміозину ініціюються конформаційними змінами в тропоніновій системі, які спричиняються змінами в концентрації Ca^{2+} .

Збільшення концентрації вільного Ca^{2+} призводить до активації Ca-залежного компонента тропонінової системи — TnC, що через зміну конформації останнього передає хімічний сигнал на інші компоненти тропонінової системи — TnI та TnT, який контролює просторове розташування тропоміозину. Внаслідок цих молекулярних подій тропоміозин звільняє ділянки взаємодії між актином і S1-голівками міозину, що включає цикл скорочення міофібрил.

Послідовність потоку хімічної інформації, що призводить до скорочення скелетних м'язів, можна подати як:



Зменшення концентрації Ca^{2+} у саркоплазмі відбувається внаслідок його закачування в каналці саркоплазматичного ретикулума, що відбувається внаслідок дії кальцієвого насоса — Ca^{2+} -АТФази мембран СР. В цих умовах виключається активація тропонінового комплексу, тропоміозин переходить у положення, яке блокує взаємодію міозинових голівок з актиновими філаментами. М'яз переходить у розслаблений стан.

Цикл АТФ-АДФ у регуляції скорочення

Як впливає з розглянутого вище механізму, необхідною передумовою готовності м'яза до скорочення є АТФ-азна реакція гідролізу АТФ, що постачає АДФ і P_i . Тільки в комплексі з АДФ та P_i S1-голівки міозину готові до скорочення (стан А та Е на рис. 32.8) і “чекають” хімічного сигналу для взаємодії з актиновими філаментами.

З іншого боку, дисоціація зв'язку між міозиновими й актиновими філаментами (тобто повернення м'яза в стан розслаблення) залежить від наявності АТФ, який взаємодіє з S1-голівками міозину, переводячи м'яз у стан розслаблення (етап С–D). В умовах зменшення концентрації АТФ у міоцитах (пошкодження біоенергетичних процесів, гіпоксія) переважна більшість S1-голівок міозину залишаються сполученими з актином — розвивається ригідність м'язів, крайнім проявом якої є трупне задубіння.

Скорочення гладеньких м'язів

Включення процесу скорочення в гладеньких м'язах також ініціюється кальцієм, проте механізми його впливу на функціонування актин-міозинової системи суттєво відрізняються від розглянутих.

Регуляція циклу скорочення-розслаблення в гладеньких м'язах реалізується за рахунок зворотного фосфорилування-дефосфорилування легких ланцюгів молекул міозину.

Фосфорилування міозину в гладеньких м'язах відбувається при дії Са-залежного ферменту *кінази легких ланцюгів (КЛЛ) міозину* (за рахунок макроергічних фосфатів АТФ), дефосфорилування — ферменту *протеїнфосфатази легких ланцюгів*.

Біохімічна послідовність реакцій:

1. Збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} (за рахунок входу з екстрацелюлярного простору та вивільнення з клітинних депо).
2. Взаємодія Ca^{2+} з кальмодуліном (КМ) (з утворенням комплексу КМ-4 Ca^{2+}).
3. Активація комплексом КМ-4 Ca^{2+} ферменту КЛЛ.
4. Фосфорилування легких ланцюгів у голівках молекул міозину (р-ланцюгів). Внаслідок фосфорилування р-ланцюгів голівки міозину стають здатними до взаємодії з актином.
5. Зв'язування міозинових голівок з молекулами актину в тонких філаментах — запуск циклу скорочення м'яза.

Розслаблення гладенького м'яза відбувається в умовах зниження концентрації Ca^{2+} , що спричиняє зупинення механізму активації КЛЛ; дефосфорилування

легких ланцюгів трансформує міозинові голівки в молекулярний стан, в якому вони неспроможні взаємодіяти з актином.

32.3. БІОЕНЕРГЕТИКА М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ

Скелетний м'яз, що працює з максимальною активністю, потребує затрат значної кількості енергії у формі АТФ, до того ж перехід від стану фізіологічного спокою до функції відбувається за долі секунд.

Ефективне перетворення енергії АТФ у механічну енергію м'язового скорочення потребує постійного забезпечення актин-міозинової системи джерелами хімічної енергії.

Джерела АТФ у м'язах

1. Глікогеноліз, який постачає глюкозо-6-фосфат, що окислюється гліколітичним шляхом за аеробним чи анаеробним механізмом.

Функціонування цього джерела АТФ особливо виражене в *білих м'язах* (див. нижче) і використовує резерви глікогену, що міститься в гранулах, які примикають до І-дисків.

2. Окислення глюкози, яка надходить у м'язи з крові.

3. Окисне фосфорилування в саркосомах — процес, що має найбільше значення у збагачених мітохондріями аеробних *червоних м'язах*.

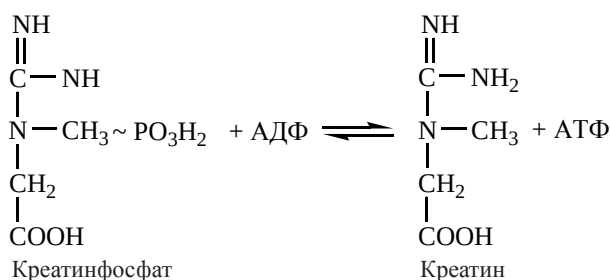
4. Аденілаткіназна реакція:



Зазначена реакція, що каталізується *аденілаткіназою*, має подвійне значення:

- служить як резервний механізм швидкого утворення АТФ;
- утворює АМФ, який є алостеричним активатором *фосфофруктокінази*, що призводить до прискорення реакцій гліколізу.

5. Креатинфосфокіназна (креатинкіназна) реакція:



Генерація АТФ із *креатинфосфату* є найбільш швидким механізмом утворення АТФ, необхідного для термінового включення процесу м'язового скорочення. За рахунок дії *креатинфосфокіназного (КФК)* механізму можливе забезпечення інтенсивної роботи м'язів протягом 2-5 с — періоду, що необхідний для підключення інших біоенергетичних механізмів.

У період розслаблення м'язів відбувається ресинтез креатинфосфату за рахунок зворотної течії креатинкіназної реакції.

При ушкодженні скелетного або серцевого м'яза (інфаркт міокарда тощо) фермент КФК виходить через плазматичні мембрани міоцитів у кров, що використовується для діагностики некротичних процесів у м'язовій тканині.

Червоні та білі м'язи

Відповідно до певних ультраструктурних і метаболічних особливостей, скелетні м'язи поділяють на два типи:

- червоні (повільні) скелетні м'язи;
- білі (швидкі) скелетні м'язи.

Червоні м'язи — тип м'язів, що добре забезпечуються кров'ю та містять багато міоглобіну — O_2 -зв'язуючого білка який утворює резерви кисню в м'язових клітинах. В червоних м'язах багато мітохондрій, і вони мають високу здатність до окислювальних процесів, використовуючи як субстрат глюкозу, жирні кислоти, кетонів тіла. Цей тип м'язів найбільш пристосований до довготривалої фізичної роботи, але включення енергетичних резервів у них відбувається повільно.

Білі м'язи — тип м'язів, що містять невелику кількість мітохондрій; завдяки високій активності *глікогенфосфорилази* та гліколітичних ферментів вони в більшій мірі пристосовані до отримання енергії при анаеробному розщепленні глікогену. За рахунок анаеробного глікогенолізу та гліколізу білі м'язи більш швидко, ніж червоні, переходять до максимальної активності з високою частотою скорочень, але швидше втомлюються.

Багато видів тварин мають окремо зазначені типи м'язів. У скелетних м'язах людини зустрічаються як червоні, так і білі м'язові волокна.

Особливості біоенергетичних процесів у міокарді

Міокард за своєю структурою та біохімічними властивостями є близьким до смугастих м'язів, зокрема до червоної скелетної мускулатури.

Особливістю енергетичного обміну в міокарді є майже повністю аеробний характер, що зумовлює його високу чутливість до порушень у постачанні кисню, зокрема за рахунок звужень у коронарних артеріях. Як субстрат біологічного окислення міокард використовує здебільшого жирні кислоти, на окислення яких витрачається близько 70 % O_2 , що споживає серцевий м'яз (А.Я. Николаєв, 1998).

Частка жирних кислот у забезпеченні міокарда АТФ дещо зменшується після споживання їжі, а також в умовах фізичного навантаження; в зазначених умовах зростає окислення глюкози та молочної кислоти, відповідно.

Регуляція м'язового скорочення в міокарді відбувається за механізмами, близькими до скелетних м'язів. Проте, на відміну від скелетних м'язів, головним джерелом Ca^{2+} для його скорочення є екстрацелюлярний кальцій, що при збудженні міокарда надходить через плазматичні мембрани.

ГЛАВА 33. БІОХІМІЯ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ. МОЛЕКУЛЯРНА ПСИХОБІОЛОГІЯ

Мозок людини є найбільш складною інформаційною системою, що існує в живій і неживій природі.

Нейрохімія як галузь науки, що вивчає хімічний склад і біохімічні процеси, які відбуваються в нервових структурах різного ступеня складності, нараховує близько ста років, починаючи з класичних розробок Тудихума (J.Thudichum) (Німеччина) та О.Я.Данілевського (Росія). Значний внесок у вивчення хімічного складу головного мозку й особливостей обміну речовин у нервовій тканині зроблено видатним українським ученим О.В. Паладіним (1885-1972) і його науковою школою.

Разом з тим, перші реальні успіхи в розумінні молекулярних механізмів функціонування нервової системи, і головного мозку зокрема, були досягнуті лише в останні 10-20 років завдяки дослідженням кращих біохімічних і нейрофізіологічних лабораторій світу. Ці досягнення стосуються, головним чином, біохімії та молекулярної біології нейромедіаторів, структури і біофізичних властивостей іонних каналів та іонних насосів, тобто процесів, які складають основу генерації електричних потенціалів та передачі інформації в нейронних сітках. Разом з тим, цілий ряд фундаментальних проблем молекулярної психобіології, а саме нейрохімічних механізмів мислення, пам'яті, емоцій, залишаються значною мірою *terra incognita*.

До **принципових труднощів** у вивченні біохімічних засад функціонування нервової тканини взагалі і головного мозку вищих організмів, зокрема, належить значна різноманітність клітинного складу морфофункціональних структур нервової системи.

За оцінками, що існують у науковій літературі, мозок людини містить близько 10^{10} - 10^{11} *нейронів*, що приблизно відповідає кількості зірок у нашій Галактиці, до того ж окремі нейрони та їх групи значною мірою відрізняються як за морфологічними ознаками, так і за складом медіаторів, які вони продукують. Враховуючи кількість контактів кожного нейрона за допомогою аксонів і дендритів, загальна кількість міжнейрональних синапсів у головному мозку людини досягає 10^{13} - 10^{14} . Крім нейронів, нервова тканина містить клітинні елементи сполучнотканинного походження, що, за існуючими уявленнями, виконують трофічну й опорну функції — *нейроглію* та *мікроглію*. Нейрони згуртовані переважно в сірій речовині головного мозку (60-65 % її клітинного складу), тоді як біла речовина складається з елементів нейроглії та *мієліну* — специфічної мембранної структури, що є похідним швановських клітин, які обгортають аксони нейронів.

33.1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОГО СКЛАДУ ТА МЕТАБОЛІЗМУ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ

Хімічний склад головного мозку

Загальний хімічний склад головного мозку позначається наявністю білків (близько 8 % загальної маси тканин), значною кількістю ліпідів (10-12 %),

вуглеводів (близько 1 %), інших низькомолекулярних біомолекул, неорганічних солей і води (77-78 %).

Ліпіди нервової тканини

Своєрідність хімічного складу нервової тканини і головного мозку полягає у надзвичайно високому вмісті ліпідів різноманітної хімічної структури. Сума ліпідів різних класів складає в середньому близько половини сухої маси тканини головного мозку.

Особливостями хімічного складу ліпідів головного мозку є переважання складних полярних ліпідів (фосфогліцеридів, сфінголіпідів, гліколіпідів) і холестерину при незначній кількості нейтральних жирів (триацилгліцеролів). До того ж вміст ліпідів у білій речовині головного мозку значно вищий, ніж у сірій речовині, що пояснюється наявністю в останній структурі значної кількості мієлінових оболонок нервів — таблиця 33.1:

Т а б л и ц я 33.1. Вміст ліпідів різних класів у головному мозку (середні значення, % від сухої маси тканини)

Фракція ліпідів	Сіра речовина	Біла речовина
Загальна кількість	35,1	61,2
Фосфоліпіди:	24,6	42,5
всього		
в тому числі:		
фосфогліцериди	18,6	22,8
сфінголіпіди(сфінгомієліни)	1,8	3,7
гліколіпіди(цереброзиди)	4,2	16,0
Холестерин	5,1	13,8

Переважає в складі різних відділів головного мозку полярних ліпідів пояснюється значною кількістю мембранних структур, що виконують спеціальні функції, пов'язані з генерацією нейронного потенціалу, проведенням нервового імпульсу та його синаптичною передачею — тобто плазматичних мембран тіл нейронів і аксонів, спеціалізованих мембран нервових закінчень і синаптичних везикул.

Білки головного мозку

Білковий склад головного мозку відзначається різноманітністю спектра, який включає білки з різними біохімічними й функціональними властивостями, зокрема білки-ферменти, регуляторні та структурні білки. Серед білків головного мозку виділяють *нейроальбуміни*, *нейроглобуліни* та *нейросклеропротейни*, що розрізняються за своїми фізико-хімічними властивостями і є фракціями, до складу яких входять десятки індивідуальних білків і поліпептидів. Пептиди нервової тканини, що виконують медіаторні функції (*нейропептиди*), будуть розглянуті нижче.

Особливістю біохімічного складу головного мозку є також наявність високої концентрації вільних амінокислот, переважну більшість яких (до 75 % загальної кількості) складають дикарбонові амінокислоти та їх похідні: аспартат, глутамат, глутамін, 4-амінобутират, N-ацетиласпартат.

Метаболізм головного мозку**Енергетичний обмін у головному мозку**

Біоенергетика мозку характеризується значною залежністю від постачання киснем, який використовується переважно на аеробне окислення глюкози. Хоча маса головного мозку становить близько 2 % маси тіла, поглинання O_2 тканиною головного мозку становить у дорослої людини в умовах спокою 20-25 % від загальних потреб організму, а в дітей до чотирьох років — до 50 %. Таким чином, газообмін у головному мозку значно вищий, ніж в інших тканинах, і перевищує газообмін, наприклад, у м'язовій тканині в 20 разів.

Основним споживачем метаболічної енергії в головному мозку, що використовується у формі АТФ, є процес генерації нервового потенціалу на мембрані нейронів, який вимагає постійного функціонування *натрієвого насоса* — мембранної Na^+ , K^+ -АТФази.

Головною особливістю енергетичного обміну головного мозку є значне переважання рівня використання глюкози над іншими субстратами енергетичного обміну. На відміну від клітин інших тканин, що здатні використовувати різні джерела метаболічного палива, нейрони в нормальних фізіологічних умовах споживають як енергетичний субстрат переважно глюкозу, що надходить із крові. Перехід клітин головного мозку на окислення ацетоацетату спостерігається лише в умовах голодування та виснажливої фізичної роботи.

Резерви глікогену в організмі є обмеженими (глава 13), і порушення споживання глюкози та O_2 головним мозком в умовах гіпоглюкоземії вже через декілька хвилин призводить до глибоких порушень обміну речовин і розвитку коматозного стану.

У тканині головного мозку в реакції гідролітичного дезамінування АМФ постійно утворюється вільний аміак, який знешкоджується шляхом взаємодії з глутаматом, утворюючи глутамін, що виходить у кров.

33.2. НЕЙРОМЕДІАТОРИ. РЕЦЕПТОРИ ДЛЯ НЕЙРОМЕДІАТОРІВ І ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК

Нейромедіатори (нейротрансмітери) — біомолекули, які забезпечують передавання імпульсів (хімічних сигналів) у нервовій системі з одного нейрона на інший, а також з нейрона на ефекторний орган.

За хімічною природою нейромедіатори поділяють на такі сполуки (F.Nucho, 1986): *ацетилхолін, біогенні аміни (катехоламіни — норадреналін, дофамін, серотонін), амінокислоти та їх похідні (γ-аміномасляна кислота — ГАМК, гліцин, глутамат, аспартат), пептиди — нейропептиди (ендорфіни, енкефаліни, сполука Р тощо)*. Медіаторні функції в нервовій системі можуть також виконувати пролін, таурин, β-аланін, аденозин, простагландини.

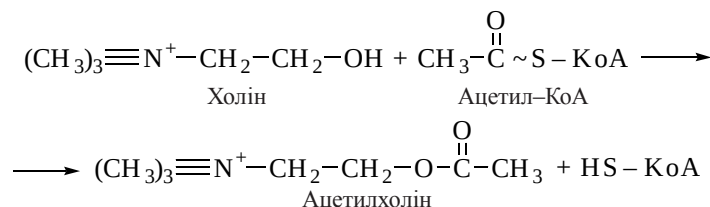
Рецептори нейромедіаторів — мембранні білки (здебільшого — глікопротеїни), що локалізовані в постсинаптичних мембранах нейронів або плазматичних мембранах клітин ефекторних органів і здатні до зв'язування фізіологічних

ефекторів (нейромедіаторів, різних ФАС, психотропних сполук) і передавання зовнішньоклітинного хімічного сигналу всередину нейрона.

За принципами молекулярної організації та функціонування, рецептори нейро-медіаторів — це, здебільшого, *іонотропні рецептори* (рецептори I класу), тобто такі, що контролюють відкриття іонних каналів на мембрані для Ca^{2+} , Na^{+} і K^{+} ; в ролі первинних ефекторів, що передають хімічний сигнал на нервову клітину, в цьому разі виступають компоненти іонних каналів (глава 23). Крім того, в фізіологічних ефектах деяких нейромедіаторів та нейромоделюляторів (зокрема, нейропептидів головного мозку, ацетилхоліну та деяких біогенних амінів) беруть участь і *метаботропні рецептори* (рецептори II класу), які активують внутрішньоклітинні біохімічні системи шляхом утворення цАМФ або цГМФ, включенням фосфоінозитидної системи та/або збільшенням цитозольної концентрації іонів Ca^{2+} . Крім нейромедіаторів, із зазначеними типами рецепторів можуть взаємодіяти численні лікарські засоби, нейротоксини, що активують (*агоністи*) або гальмують, блокують (*антагоністи*) або модулюють біохімічні, нейрофізіологічні та психологічні (поведінкові) ефекти, опосередковані збудженням специфічних рецепторів певних зон головного мозку.

Характеристика окремих нейромедіаторів

Ацетилхолін — похідне холіну й оцтової кислоти, є найбільш поширеним нейромедіатором. Його синтез і розщеплення відбуваються в *холінергічних центрах (структурах)* центральної та периферичної нервової системи. В синтезі ацетилхоліну бере участь фермент *холінацетилтрансфераза*:



Подібно до інших нейромедіаторів (зокрема, катехоламінів), синтез ацетилхоліну відбувається в нервових закінченнях, а збереження — в спеціальних *синаптичних везикулах*. Вивільнення медіатора в синаптичну щілину відбувається внаслідок збудження нейрона дискретними порціями (“квантами”) за механізмом екзоцитозу синаптичних везикул. Безпосереднім біохімічним сигналом, що активує процеси виходу ацетилхоліну через пресинаптичну

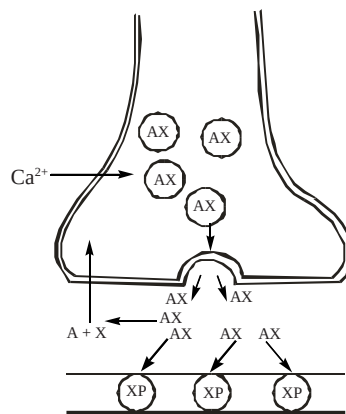
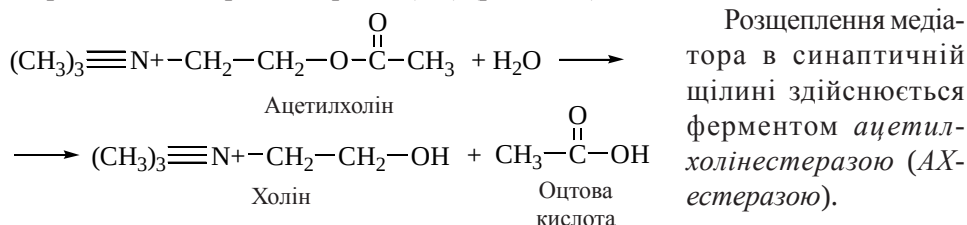


Рис. 33.1. Схема будови холінергічного синапсу.

мембрану, є підвищення всередині нервового закінчення іонів Ca^{2+} . Ацетилхолін, що вивільнився, реагує з рецепторними структурами постсинаптичної мембрани — *холінорецепторами* (ХР) (рис. 33.1).



Залежно від молекулярної будови, фізіологічних і фармакологічних властивостей, зокрема вибіркової (селективної) чутливості до специфічних агоністів і антагоністів, виділяють два основні типи (та декілька субтипів) холінергічних рецепторів:

– *м-холінорецептори* (*м-ХР*) — такі, що вибірково збуджуються токсином грибів *мускарином*;

– *н-холінорецептори* (*н-ХР*) — такі, що вибірково збуджуються алкалоїдом тютюну — *нікотин*ом.

м-ХР локалізовані в постсинаптичних мембранах клітин ефektorних органів та в ділянках закінчень парасимпатичних нервових волокон. Ці рецептори належать до *метаботропного* типу. Внутрішньоклітинні ефекти їх збудження реалізуються за рахунок підвищення цитозольної концентрації Ca^{2+} , який активує Ca^{2+} -залежну гуанілатциклазу, що призводить до генерації цГМФ, яка опосередковує дію агоністів *м-ХР* на цГМФ-залежні біохімічні системи відповідних мішеней.

н-ХР локалізовані в постсинаптичних мембранах гангліонарних клітин, що контактують із закінченнями парасимпатичних і симпатичних прегангліонарних

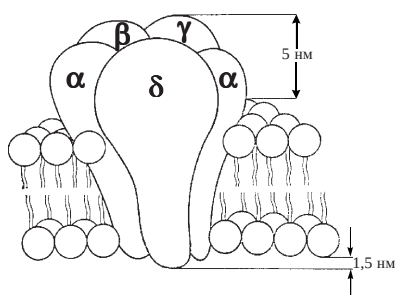


Рис. 33.2. Модель внутрішньомембранної організації *н-холіно*-рецептора.

волокон. Це рецептори *іонотропного* типу, стимуляція яких ацетилхоліном, нікотин

ом та іншими агоністами супроводжується зростанням проникності клітинних мембран (*н-холі*-нергічних синапсів нервової системи, нервово-м'язової платівки) до іонів Ca^{2+} , Na^+ та K^+ . Такий ефект активації *н-ХР* зумовлений їх внутрішньомембранною організацією, яка є надмолекулярним комплексом з п'яти білкових субодиниць (α , β , γ , δ), що оточують іонний канал, який пронизує ліпідний бішар мембрани (рис. 33.2).

Важливе фармакологічне й токсикологічне значення мають фізіологічно активні сполуки, що є інгібіторами АХ-естерази, спричиняючи значне підвищення концентрації нейромедіатора як в структурах центральної нервової системи, так і в організмі в цілому.

Зворотні інгібітори АХ-естерази — сполуки, які застосовуються в медичній практиці з метою збільшення активності холінергічної імпульсації, порушеної при певних неврологічних захворюваннях (міастенії тощо), атонії кишечника, сечового міхура. Із зазначеною метою застосовуються такі препарати: *Прозерин*, *Фізостигмін*, *Галантамін*.

Незворотні інгібітори АХ-естерази — сполуки, що є потужними нервовими отрутами, які спричиняють різке збудження нервової системи із судомами, порушенням функцій серцево-судинної, гастро-інтестинальної та інших фізіологічних систем організму. Найбільш поширеними незворотніми інгібіторами АХ-естерази є *фосфорорганічні сполуки* (ФОС), які сполучаються ковалентним зв'язком із гідроксильною групою серину в активному центрі ферменту, протидіючи таким чином його взаємодії з субстратом (глава 7).

ФОС знайшли надзвичайно широке застосування в сільському господарстві та побуті як *пестициди* для боротьби зі шкідливими комахами — *хлорофос*, *дихлофос*, *метафос*, *карбофос* тощо. Спрямований синтез ФОС, які є високотоксичними для теплокровних тварин, призвів до створення нервово-паралітичних отрут, що були прийняті на озброєння військовими силами багатьох країн як бойові отруйні речовини (БОР). Найбільш відомими БОР із класу фосфорорганічних сполук є такі речовини, як *табун*, *зарин*, *зоман*.

Норадреналін — біогенний амін, що разом із адреналіном і дофаміном належить до *катехоламінів*. На відміну від адреналіну, який проявляє, в основному, гормональну активність, норадреналін є медіатором, що відіграє трансмітерну роль в *адренергічних* синапсах центральної та периферичної нервової системи.

У головному мозку людини норадренергічні нейрони знаходяться, переважно, в зонах блакитної плями (*Locus coeruleus*), гіпокампу та значній частині кори мозку. Функціональну роль норадреналіну як одного з основних медіаторів центральної нервової системи пов'язують із підтриманням рівня активності нервово-психічних реакцій, формуванням когнітивних та адаптивних процесів.

Адренорецептори широко розповсюджені як у нервовій системі, так і в інших органах і тканинах. Існують декілька підтипів адренорецепторів: α_1 , α_2 , β_1 та β_2 , що розрізняються за своїми біохімічними, фізіологічними та фармакологічними властивостями.

Взаємодія лігандів (норадреналіну, адреналіну тощо) із β -адренорецепторами (β_1 - та β_2 -) супроводжується активацією аденілатциклази, збільшенням внутрішньоклітинної концентрації цАМФ і через систему цАМФ-залежних протеїніназ — стимуляцією відповідних метаболічних процесів та фізіологічних функцій клітини; прикладом таких реакцій є стимуляція адреналіном глікогенолізу в печінці та м'язах і ліполізу в жировій тканині.

На відміну від β -адренорецепторів, стимуляція різних підтипів α -адренорецепторів включає принципово інші молекулярні механізми:

– стимуляція α_1 -адренорецепторів підвищує цитозольну концентрацію іонів Ca^{2+} за рахунок його транспорту всередину клітин і вивільнення з внутрішніх депо, що призводить до активації Са-залежних реакцій клітини;

– стимуляція α_2 -адренорецепторів шляхом взаємодії ліганд-рецепторного комплексу з трансдукуючим інгібіторним білком мембрани (N_i) супроводжується гальмуванням активності аденілатциклази і відповідною перебудовою цАМФ-залежних біохімічних процесів.

У центральній нервовій системі адренорецептори локалізовані як на *постсинаптичних мембранах* (α_1 -адренорецептори), забезпечуючи передачу нервового сигналу на нейрон або ефекторний орган, так і на *пресинаптичних мембранах* (переважно α_2 -адренорецептори), гальмуючи за негативним зворотним зв'язком вивільнення норадреналіну в синаптичну щілину.

Норадреналін має складні біохімічні та функціональні зв'язки на пре- та постсинаптичному рівнях з іншими нейромедіаторами та модуляторами функцій центральної нервової системи — ацетилхоліном, серотоніном, дофаміном, нейропептидами тощо.

Дофамін — катехоламін із медіаторними властивостями, що виконує ряд важливих фізіологічних функцій у центральній і периферичній нервовій системі. Дофамін має слабку симпатоміметичну активність і бере участь у регуляції поведінки, рухової сфери, діяльності серцево-судинної системи, кишечника, нирок.

Дофамінові рецептори

Розрізняють декілька типів (D_1 , D_2 , D_3 , D_4) та субтипів дофамінових рецепторів, що розрізняються чутливістю до лігандів та характером біохімічних і фізіологічних реакцій клітин, які настають після їх активації.

Активация D_1 -рецепторів супроводжується збільшенням активності дофамін-чутливої аденілатциклази з наступним включенням цАМФ-залежного каскаду біохімічних реакцій.

Активация D_2 -рецепторів призводить до зменшення активності аденілатциклази, внутрішньоклітинної концентрації кальцію та пригнічення відповідних цАМФ- і Са-залежних метаболічних і фізіологічних процесів.

Із порушенням обміну дофаміну та функцій дофамінових рецепторів пов'язані розвиток шизофренії, алкоголізму, депресивних станів, хвороби Паркінсона та інших екстрапірамідних порушень. На функціонування дофамінергічних структур головного мозку людини впливають численні психотропні та нейротропні лікарські засоби, що отримали широке застосування в клінічній практиці.

Серотонін — біогенний амін, що є похідним триптофану (5-окситриптамін, 5-hydroxytryptamine — 5-HT). Серотонін має надзвичайно широкий спектр біологічної активності відносно до центральної, периферичної нервової системи, інших органів і тканин.

У центральній нервовій системі людини серотонін виконує функції медіатора для спеціальних *серотонінергічних* нейронів і модулятора дії інших нейротрансмітерів. Рецептори серотоніну розподіляються на окремі типи: 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄ та підтипи (зокрема, 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C}), які диференціюються за чутливістю до агоністів і антагоністів. Серотонінові рецептори належать до II класу (*метаботропних*), але розрізняються за характером біохімічних реакцій, що супроводжують їх стимуляцію:

– збудження 5-HT₁-рецепторів призводить (через GTP-зв'язуючий N-білок трансдуктор) до активації серотонін-чутливої аденілатциклази і зростання рівня цАМФ;

– збудження 5-HT₂-рецепторів супроводжується зростанням у цитозолі концентрації іонів кальцію (за рахунок їх вивільнення з внутрішньоклітинних депо) та активацією Са-залежних біохімічних процесів.

Фізіологічна роль серотоніну в головному мозку людини розглядається в зв'язку з регуляцією таких психоемоційних реакцій, як тривога, неспокій, агресивність, імпульсивні потяги, сексуальна поведінка, контролем циклів фізіологічного сну тощо, що дозволило визначити серотонін як “нейромедіатор гарного самопочуття”.

Порушення обміну серотоніну та функцій серотонінових рецепторів впливають на патогенез депресивних і неспокійних станів, шизофренії, алкоголізму, наркоманій. Так, зокрема, дефіцит серотоніну в головному мозку та спинномозковій рідині виявлений у хворих із важкими станами депресії, що здійснювали суїцидальні акти (самогубства) (H.I.Kaplan, B.J.Sadock, 1994). Потяг до етилового алкоголю в експериментальних шурів залежить від функції серотонінових рецепторів, локалізованих у лімбічній системі. ФАС, що впливають на серотонінергічну передачу імпульсів, зокрема інгібітори зворотного синаптичного захоплення (*реантейку* — *reuptake*, англ.) 5-HT зменшують споживання експериментальними тваринами алкоголю (W.Kostowski, 1995). Відповідно до зазначеного, модуляція фізіологічних і біохімічних ефектів серотоніну є основою фармакологічних ефектів багатьох психотропних і нейротропних препаратів.

Нейромедіатори — амінокислоти та їх похідні

Амінокислотні нейромедіатори поділяють на два класи:

- 1) *збуджувальні кислі амінокислоти*;
- 2) *гальмівні нейтральні амінокислоти*.

Збуджувальні амінокислоти

До амінокислот із властивостями нейромедіаторів належать “збуджувальні амінокислоти” — L-глутамат і L-аспартат, обміну яких надається серйозна увага в патології нервової системи, патопсихології та психофармакології. Встановлена наявність у клітинах головного мозку як іонотропних, так і метаботропних рецепторів збуджувальних амінокислот.

Іонотропні рецептори збуджувальних амінокислот поділяють на такі підкласи:

- рецептори, що активуються, крім глутамату й аспартату, також NMDA (N-метил-D-аспартатом) — *NMDA-рецептори*;
- рецептори, що активуються глутаматом, а також AMPA (DL- α -аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксалонопропіоною кислотою) та каїнатом — *AMPA/каїнатні рецептори*.

Активация *NMDA-рецепторів* призводить до надходження в клітину екстрацелюлярного кальцію шляхом відкриття кальцієвих каналів.

Активация *AMPA/каїнатних рецепторів* супроводжується деполяризацією мембран нейронів за рахунок відкриття Na⁺-каналів; ця деполяризація, в свою

чергу, призводить до відкриття потенціал-залежних Ca^{2+} -каналів і збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} .

Метаботропні рецептори збуджувальних амінокислот активуються глутаматом. Активація рецепторів цього типу призводить через G-білок-трансдуктор до стимуляції обміну фосфоінозитидів та утворення інозитолтрифосфату (Ca^{2+}) і діацилгліцеролу — внутрішньоклітинних месенджерів, що призводять до росту концентрації Ca^{2+} і за рахунок його мобілізації з внутрішньоклітинних депо.

Надходження в постсинаптичний нейрон Ca^{2+} внаслідок збудження іонотропних (NMDA- або AMPA/каїнатних) рецепторів спричиняє довготривалу потенціацію міжнейронної передачі, що створює нейрофізіологічні передумови для процесів навчання, пам'яті, становлення індивідуальних форм поведінки.

Модуляції системи рецепторів збуджувальних амінокислот надається значна роль у розумінні біохімічних механізмів дії антипаркінсонічних, антиепілептичних, міорелаксантних лікарських засобів.

Гальмівні амінокислоти

До цього класу нейромедіаторів належать γ -аміномасляна кислота — ГАМК (γ -амінобутират; 4-амінобутират), гліцин, таурин, β -аланін.

Найбільш вивченим гальмівним нейромедіатором є ГАМК. Ця амінокислота, взаємодіючи з відповідними селективними рецепторами (ГАМК-рецепторами), пригнічує міжнейронну передачу нервових імпульсів. Біохімічний механізм гальмівної дії ГАМК полягає в активації входу через мембрану нейронів іонів Cl^- , що відбувається внаслідок взаємодії ГАМК із *хлорними каналами* мембрани.

Відповідно до зазначених нейрофізіологічних властивостей ГАМК, агоністи ГАМК-рецепторів та сполуки, що потенціюють гальмівні ефекти ГАМК, виявляють протисудомні, заспокоювальні (транквілізуючі) та седативні ефекти. Навпаки, антагоністи ГАМК, які зменшують гальмівну активність ГАМК-ергічних нейронів (*пикротоксин*, *бікукулін*), є потужними конвульсантами. Судомна активність препарату *стрихніну* зумовлена його антагоністичною дією відносно гліцинових рецепторів спинного мозку, які також сполучені з хлорними каналами мембран.

Нейропептиди — широкий клас сполук пептидної природи, що синтезуються переважно в клітинах центральної нервової системи, складаючи її *пептидергічну систему*, і здатні суттєво впливати на біохімічні та нейрофізіологічні процеси в головному мозку.

Опіїдні пептиди

Найбільшу увагу в молекулярній психобіології та фармакології привертають нейропептиди, що є ендогенними лігандами морфінових (опіатних) рецепторів мозку — *опіїдні пептиди*. Опіїдні пептиди, подібно до наркотичного анальгетика *морфіну* і близьких до нього сполук, мають найбільш сильно виражену знеболювальну (анальгетичну) активність і специфічну дію на головний мозок людини, що проявляється розвитком складного психоемоційного стану ейфорії з покращанням настрою, відчуттям душевного комфорту, позитивним сприйняттям довкілля (Д.А.Харкевич, 1993).

Основними представниками опіоїдних нейропептидів є: *метіонін (мет)-енкефалін*, *лейцин (лей)-енкефалін*, α -, β -, γ - та δ -ендорфіни (“ендогенні морфіни”), α - та β -неоендорфіни, *динорфіни А та В*.

Мет-енкефалін

¹ Tyr-Gly-Gly-Phe-Met ⁵

Лей-енкефалін

Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu

α -Ендорфінф

1 Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr 16

β -Ендорфінф

1
Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-
31
-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys-Asn-Ala-His-Lys-Lys-Gly-Gln

γ-Ендорфінф

1 16 17
Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu

δ -Ендорфін

1 16 19
Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys

Як очевидно з наведених первинних структур, опіюїдні нейропептиди мають гомологічні послідовності амінокислотних залишків (1-4(5) в енкефалінах і ендорфінах та 1-16 у всіх ендорфінах). Це свідчить про єдність у структурі генів (послідовностей нуклеотидів ДНК), що кодують ці пептиди. Безпосереднім попередником енкефалінів та ендорфінів є білок *проопіомеланокортин*, шляхом часткового гідролізу якого утворюються не тільки нейропептиди, а й такі гормональні сполуки, як кортикотропін та β -ліпотропін (глава 24).

Рецептори опіюїдних пептидів

Подібно до інших мембранних рецепторів для нейромедіаторів, опіатні рецептори поділяють на декілька субтипів: μ -(мю)-рецептори, δ -(дельта)-рецептори, κ -(каппа)-рецептори, σ -(сигма)-рецептори, ϵ -(епсilon)-рецептори. Найбільш високу щільність опіатних рецепторів виявлено в лімбічній зоні головного мозку — еволюційно прадавній структурі, що відповідає за процеси емоційного збудження, прояви ейфоричних та емоційно-позитивних компонентів дії як нейропептидів, так і опіатних наркотиків із класу морфіну.

Біохімічні механізми функціонування опіатних рецепторів включають у себе вплив утвореної ліганд-рецепторної системи на обмін внутрішньоклітинних месенджерів — цАМФ та іонів Ca^{2+} , що визначає безпосередні фізіологічні ефекти дії того чи іншого нейропептиду.

33.3. НЕЙРОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ ПСИХОТРОПНИХ ЗАСОБІВ

Психотропні (психоактивні) засоби — фармакологічні препарати, що застосовуються при порушеннях психічної діяльності людини.

Принципова можливість застосування як лікарських засобів ФАС, які впливають на синаптичну передачу в центральній нервовій системі, зумовлена тією обставиною, що певні психічні захворювання та психоемоційні розлади значною мірою (або повністю для деяких патологій) детерміновані порушеннями у функціонуванні окремих медіаторно-рецепторних систем головного мозку людини. Так, наприклад, патогенез шизофренії та близьких до неї шизоактивних психозів пов'язані з гіперфункцією дофамінергічних ядер, стани психоемоційної напруги, тривоги, страху — із стимуляцією адренергічних структур, порушення циклів сну — з дисфункцією серотонінергічної системи, больовий синдром — із станом антиноцицептивної системи опіатних рецепторів та опіїодних нейропептидів тощо.

Аналіз загальних молекулярно-клітинних механізмів впливу на організм фізіологічно активних сполук, зокрема лікарських препаратів, а також будови і молекулярної організації медіаторних та рецепторних структур міжнейронних синапсів, дозволяє виділити такі ланки синаптичної передачі в головному мозку, на які діють регулюючим і коригуючим чином психотропні препарати різної спрямованості (Ю.І.Губський, 1997):

- 1) ферментативний синтез та розщеплення нейромедіатора;
- 2) депонування нейромедіатора у везикулах пресинаптичних закінчень;
- 3) вивільнення нейромедіатора в синаптичну щілину;
- 4) взаємодія нейромедіатора із постсинаптичними іонотропними та/або метаботропними рецепторами та включення відповідної послідовності біохімічних і біофізичних реакцій у мембрані, цитоплазмі й органелах чутливого нейрону;
- 5) взаємодія нейромедіатора із структурами пресинаптичної мембрани, що відповідають за його зворотний захват (реаптейк) та ферментативну деградацію.

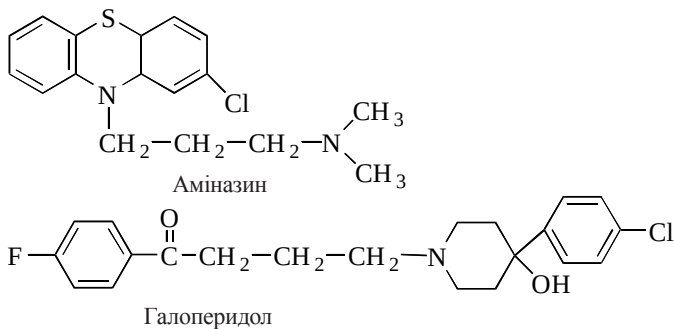
Найбільш поширеними є такі групи психотропних препаратів: *нейролептики (антипсихотики), антидепресанти, анксіолітики*.

Нейролептики (антипсихотичні препарати, антипсихотики) — лікарські засоби, які використовуються для лікування психозів, головним чином шизофренії, а також інших ендогенних (органічних) та екзогенних (психогенних) психічних розладів, що проявляються важкими психо-емоційними порушеннями з явищами маячення, галюцинацій, збудження.

У зв'язку з соціальною значимістю шизофренії — захворювання, що вражає, за даними сучасних дослідників, до 1 % населення (Н.І.Kaplan, В.І.Sadock, 1994), вивченню нейротрансмітерних порушень при цій групі психічних розладів присвячена значна наукова література. Вважають, **що найбільше значення в патогенезі шизофренії має генетично детермінована гіперактивність дофамінових систем мезокортикального і мезолімбічного трактів, тіла нейронів яких**

локалізовані в чорній речовині (substantia nigra) та у вентральній зоні покритишки (ventral tegmental area).

Згідно з викладеним, в основі нейрохімічних механізмів терапевтичних ефектів нейролептиків є їх антагоністична дія відносно дофамінових рецепторів субтипу D_2 (за новішими даними, також D_3 і D_4), що локалізовані переважно в лімбічній системі головного мозку. Найбільший позитивний ефект при шизофренії мають сполуки, що є похідними *фенотіазину* (препарати *Аміназин* тощо) та *бутирофенону* (препарат *Галоперидол*).



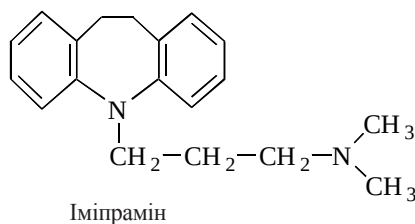
Антидепресанти — психофармакологічні засоби, що застосовують для лікування депресій різного генезу. Ця група препаратів отримала також назву *тимолептиків*, тобто “засобів, що покращують настрій”.

Нейрохімічною основою впливу на центральну нервову систему антидепресантів різної хімічної будови є їх здатність стимулювати моноаміноергічну передачу в головному мозку, що досягається за рахунок збільшення синаптичної концентрації норадреналіну та/або серотоніну.

За механізмами нейрохімічної та фармакологічної дії антидепресанти поділяються на дві підгрупи:

- засоби, що є інгібіторами реаптейку моноамінів;
- інгібітори моноамінооксидази (МАО).

Інгібітори реаптейку моноамінів блокують систему зворотного захвату норадреналіну, серотоніну або дофаміну пресинаптичними нервовими закінченнями, що сприяє їх накопиченню в синапсах і стимуляції нейротрансмітерного моноамінергічного сигналу. До засобів цієї групи належать *гетероциклічні антидепресанти*, які за



молекулярною будовою є сполуками, що складаються з декількох (трьох або чотирьох) гетероциклічних кілець (препарати *Іміпрамін*, *Амітриптилін* тощо).

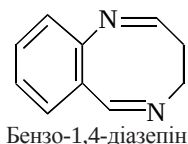
Залежно від переважаючого впливу на реаптейк та перетворення в синапсах того або іншого моноаміну, гетероциклічні антидепресанти поділяють на класи сполук з спрямованою норадренергічною, серотонінергічною або дофамінергічною дією.

Інгібітори МАО — сполуки, що з різним ступенем селективності та зворотності блокують активність *моноамінооксидази* — ферменту, який каталізує

окислювальне дезамінування моноамінів — переважно норадреналіну та серотоніну в мітохондріях нейронів головного мозку.

Більшість антидепресантів є неселективними інгібіторами монооксидаз А і В, що збільшують вміст у головному мозку моноамінів різної будови та фізіологічної активності: норадреналіну, адреналіну, дофаміну, серотоніну, тираміну, фенілетиламіну. Розрізняють інгібітори MAO незворотної (*Іпроніазид*) та зворотної дії (*Піразидол*).

Анксиолітики — препарати, що мають заспокійливу дію, послаблюючи стан психічної та емоційної напруги, тривоги (anxiety — тривога, неспокій; англ.). Дана група препаратів має також назву *транквілізаторів* (tranquillium — спокій, лат.) або *атарактиків* (ataraxia — спокій, незворушність — грецьк.).



Бензо-1,4-діазепін

У наш час найбільш широке застосування як анксиолітики, або транквілізатори, дістали похідні *бензо-1,4-діазепіну* (*бензодіазепіни* — БД), які у зв'язку з їх протитривожною та стрес-протекторною дією є одними з найбільш широко вживаних у світі лікарських засобів.

Першим лікарським засобом із класу бензодіазепінів був *Хлордіазепоксид*, запроваджений у клінічну практику в 1960 р. Пізніше фармацевтичними фірмами було синтезовано кілька тисяч похідних БД, з яких застосовується кілька десятків препаратів, найбільш поширеними з них є *Альпразолам*, *Лоразепам*, *Оксазепам*, *Діазепам* тощо.

Нейрохімічні механізми центральних фармакологічних ефектів бензодіазепінів пов'язані з їх взаємодією з ГАМК-рецепторами (субтипом ГАМК_A) постсинаптичних мембран ГАМК-ергічних нейронів головного мозку, що потенціює гальмівні ефекти γ -аміномасляної кислоти.

Взаємодія бензодіазепінів з БД-зв'язуючими рецепторними ділянками мембранного комплексу "ГАМК_A-рецептор — хлорний канал" алостеричним шляхом активує власне ГАМК_A-рецептори, що, в свою чергу, призводить до відкриття хлорних каналів і гіперполяризації постсинаптичної мембрани, тобто реалізує гальмівні ефекти бензодіазепінів.

Встановлена наявність у головному мозку людини ендogenousного ліганду БД-рецепторів, яким виявився низькомолекулярний (м.м. 15 кД) нейропептид ДВІ ("diazepam binding inhibitor"), що має анксиогенну активність. Виявлено високу концентрацію ДВІ в ділянках головного мозку людини, які відповідають за контроль поведінкових реакцій на емоційні, стресові стимули, що дозволяє розглядати цей білок як ендogenousний модулятор реакцій, пов'язаних із регуляцією станів неспокою, страху й агресії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Арчаков А.И. Микросомальное окисление. – М.: Наука, 1975. – 327 с.
2. Балаболкин М.И. Эндокринология. – М.: Универсум паблишинг, 1998. – 582 с.
3. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1983. – 752 с.
4. Боєчко Л.Ф., Боєчко Л.О. Основні біохімічні поняття, визначення та терміни: Навч. посібник. – К.: Вища шк., 1993. – 528 с.
5. Болдырев А.А. Введение в биохимию мембран: Учеб.пособие. – М.: Высш. шк., 1986. – 112 с.
6. Бышевский А.Ш., Терсенов О.А. Биохимия для врача. – Екатеринбург: Уральский рабочий, 1994. – 384 с.
7. Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени. – К.: Здоров'я, 1989. – 168 с.
8. Губский Ю.И., Долго-Сабуров В.Б., Храпак В.В. Химические катастрофы и экология. – Киев: Здоров'я, 1993. – 224 с.
9. Губський Ю.І., Хмелевський Ю.В., Сударикова Л.Г., Усатенко О.К. Біоорганічна хімія. – К.: Вища шк., 1997. – 285 с.
10. Дильман В.М. Четыре модели медицины. – Л.: Медицина, 1987. – 288 с.
11. Збарский Б.И., Иванов И.И., Мардашев С.Р. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1972. – 582 с.
12. Зилва Дж.Ф., Пэннел П.Р. Клиническая химия в диагностике и лечении. – М.: Медицина, 1988. – 528 с.
13. Кресюн В.И., Бажора Ю.И., Рыбалова С.С. Клинические аспекты иммунофармакологии. – Одесса, 1993. – 208 с.
14. Кучеренко Н.Е., Бабенюк Ю.Д., Васильев А.Н. и др. Биохимия. – К.: Вища шк: Изд-во при КГУ, 1988. – 432 с.
15. Ленинджер А. Биохимия. – М.: Мир, 1974. – 957 с.
16. Ленинджер А. Основы биохимии: в 3-х т. – М.: Мир, 1985. – 1056 с.
17. Лопухин Ю.М., Арчаков А.И., Владимиров Ю.А., Коган Э.М. Холестериноз. – М.: Медицина, 1983. – 352 с.
18. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека. – М.: Мир, 1980. – 368 с.
19. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: в 2-х т. – М.: Мир, 1993. – Т. 1 – 381 с., Т.2 – 414 с.
20. Мецицен І.Ф., Пішак В.П., Григор'єва Н.П. Біомолекули: структура та функції. – Чернівці: Медик, 1999. – 149 с.
21. Мусил Я. Основы биохимии патологических процессов: Пер. с чешск. – М.: Медицина, 1985. – 432 с.
22. Николаев А.Я. Биологическая химия. – М.: Медицинское информационное агентство, 1998. – 496 с.
23. Николс Д.Дж. Биоэнергетика. Введение в хемиосмотическую теорию. – М.: Мир, 1985. – 190 с.
24. Ньюсхолм Э., Спарт К. Регуляция метаболизма. – М.: Мир, 1977. – 407 с.
25. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. – М.: Просвещение, 1987. – 815 с.
26. Парк Д. Биохимия чужеродных соединений. – М.: Медицина, 1973. – 288 с.
27. Покровский А.А. Роль биохимии в развитии науки о питании. – М.: Наука, 1974. – 127 с.
28. Рапопорт С.М. Медицинская биохимия. – М.: Медицина, 1966. – 892 с.
29. Розен В.Б. Основы эндокринологии. – М.: Высшая школа, 1984. – 336 с.
30. Стент Г., Кэлиндар Р. Молекулярная генетика. – М.: Мир, 1981. – 646 с.
31. Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. – М.: Мир, 1989. – 656 с.
32. Уотсон Дж.Д. Двойная спираль. – М.: Мир, 1969. – 152 с.
33. Хухо Ф. Нейрохимия: основы и принципы. – М.: Мир, 1990. – 384 с.
34. Halkerston I.D.K. Biochemistry: 2nd edition. The National medical series for independent study. – 1988. – 522 p.
35. Stryer L. Biochemistry. - W.H.Freeman and Company. New York. – 1995. – 1064 p.

ПРЕДМЕТНИЙ ПОКАЖЧИК

- Авідин 407
Авітамінози 400
Аглікогенози 184,452
Аденілаткіназа 476
Аденілатциклаза 113,114,335-337
Аденілова кислота (див. Аденозин-5'-монофосфат)
Аденілова система 44
Аденін 41,43,49,275
Аденінфосфорибозилтрансфераза 275
S-Аденозилметіонін 213,253,254,461
Аденозин 43,281
Аденозиндезаміназа 281
Аденозиндифосфат (АДФ) 117,118,130,132,134
Аденозин-5'-монофосфат (АМФ) 43,270-275
Аденозинтрифосфат (АТФ) 44,115-118,121,130-132,135,273
Аденозин-3',5'-монофосфат циклічний (3',5'-АМФ, цАМФ) 113,192,193,335-337
Адиопцити 162,191,193
Адреналін 172,173,181,183,192,193,261,363,364,483
Адренокортикотропний гормон (АКТГ) 351-352,371
Адренорецептори 483
АДФ (див. Аденозиндифосфат)
АДФ-рибозилтрансфераза 309
АДФ-рибозилування 111
Аеробні дегідрогенази 124,127
Азотемія 175
Азотиста рівновага 235,390
Азотурія 175
Аконітаза 138
Акромегалія 348
АКТГ (див. Адренокортикотропний гормон)
Актин 468,471
Актиноміцин D 294
Аланін 21,89,237,171,247
 β -Аланін 283,480,486
 β -Аміноізобутират 283
Алкалоз 424,425
Алкаптонурия 261
Алкілюючі агенти 108,323
Алкогольдегідрогеназа 89
Аланінаміотрансфераза 89,237
Алолактоза 312
Алостеричні ферменти 109-111
Альбінізм 262
Альбуміни (див. Сироваткові альбуміни)
Альдозоредуктаза 164
Альдолаза (див. Фруктозо-1,6-дифосфат-альдолаза та Фруктозо-1-фосфатальдолаза)
Альдонові кислоти 60
Альдостерон 368,369,371,372
Альдостеронізм 372
 α -Аманітин 298
Аміак 242,243
Амілази 395
Аміло-1,6-глікозидаза 179,184
Аміло(1,4-1,6)трансглікозилаза 178
Амілоза 73
Амілопектин 73
Аміназин 489
Аміноацидурія 454
Аміноацил-тРНК 304
Аміноацил-тРНК-синтетази 303
 β -Аміноізобутират 283
 Δ -Амінолевулінова кислота (ДАЛК) 264,265
 Δ -Амінолевулінатсинтаза (ДАЛК-синтаза) 264,268
Амінопептидази 394,395
Аміноптерин 280
Амінотрансферази 88,236-237,257,370,403
Аміноцукри 59
Аміцетин 308
Амобарбітал (Амітал) 135
Ампліфікація генів 319
АМФ (див. Аденозин-5'-монофосфат)
3',5'-АМФ (див. Аденозин-3',5'-монофосфат циклічний, цАМФ)
Амфіболічні шляхи (реакції) 116,142
Анаболізм 115,116
Анаеробні дегідрогенази 124,126
Анаплеротичні реакції 142
Ангіотензиноген 372
Ангіотензин I 372
Ангіотензин II 337,372
Ангіотензинперетворюючий фермент (АПФ) 372
Андрогени 222,223,367,368,374-376
Андростан 367,375
Анксиолітики 490
Антагоністи H_1 -рецепторів 366
Антагоністи H_2 -рецепторів 366
Антибіотики 107,288,294,307-309
Антивітаміни 107,400,404
Антигемофільний глобулін А 112,433

- Антигемофільний глобулін В 433
Антиметаболіти 107
Антидепресанти 489,490
Антидіуретичний гормон, АДГ (див. Вазопресин)
Антикоагулянти 432,437-438
Антикодон 54,303
Антиміцин А 135,136
Антиоксиданти 257
 α_1 -Антитрипсин (див. α_1 -Протеїназний інгібітор)
Антитромбіни 437
Аполіпопротеїни 227,431
Апопротеїни (див. Аполіпопротеїни)
Апофермент 92,125
Арабіноза 58
Арахідонова кислота 73,209,340,381-383
Аргіназа 106,245
Аргінін 22,99,244-246
Аргініносукцинат 245,246
Аргініно-сукцинатсинтетаза 245
Аргініно-сукцинатліаза 245
Арилсульфатази 188
Аскорбінова кислота 60,144,221,257,260,400,408-410
Аспарагін 22,69,186,249,390
Аспарагінова кислота (Аспартат) 22,153,245, 246,270-273,275,277,480,485
Аспартам 389
Аспаратамінотрансфераза 237,429
Аспаргатакарбамоїлтрансфераза 110,111,275,277
Аспірин 385
Атеросклероз 224,230,231,233,431
АТФ (див. Аденозинтрифосфат)
АТФ-синтетаза 133,134
 H^+ -АТФаза (див. Протонна АТФаза)
 Ca^{2+} -АТФаза 337,475
 Na^+ , K^+ -АТФаза 85,480
Аутотрофи (аутотрофні клітини, організми) 16,118
Аутофосфорилування 358
Афідиколін 288
N-Ацетилгалактозамін 59,68,185
 β -D-Ацетилгексоамінідаза 188
N-Ацетилглюкозамін 59,67,68,438,442
Ацетил-КоА 120,121,137-139,142,144,145,68,195, 197-203,206,208,217,219,248,461
Ацетил-КоА-карбоксилаза 203,206,207,407
N-Ацетилнейрамінова кислота 59,60,68,185,215
Ацетилхолін 102,333,337,474,480-482
Ацетилхолінестераза 101-103,108,482,483
Ацетоацетат 198-200,217,249,261,480
Ацетоацетатдекарбоксилаза 199
Ацетоацетил-КоА 198-199,217,219,248,249
Ацетон 198,199
Ацетонові тіла (див. Кетонові тіла)
Ацидоз 247,424,425
Ацилгліцероли (ацилгліцериди) 73,74,452
1-Ацилгліцерол-3-фосфат (Лізофосфатидат) 210
1-Ацилгліцерол-3-фосфат-ацилтрансфераза 210
Ацилкарнітин 196
Ацил-КоА-дегідрогеназа 126,194
Ацил-КоА-синтетази (Тіокінази) 194
Ацил-КоА-холестерин-ацилтрансфераза (АХАТ) 220
N-Ацилсфінгозини (див. Цераміди)
Ацилтранспортуючий протеїн 203
Базедова хвороба 362
Бензодіазепіни 490
Бери-бери 399,401
Білівердин 454,462-464
Білівердинредуктаза 463
Білірубін 454,462-467
Білірубіндіглюкуронід 464
Білки
- рівні структурної організації 26-33
- фізико-хімічні властивості 33-36
- методи виділення та аналізу 36-40
- в харчуванні людини 390-391
- перетравлення 392-395
Білки системи комплементу 446
Білки-трансдуктори 333-334,486
G-Білки (див. Білки-трансдуктори)
Біоантиоксиданти 411,416
Біогенні аміни 240-242,345,363-366,480
Біоенергетичні процеси 122-136
Біологічна цінність білків 390,391
Біологічне окислення 122-125
Біологічний код (див. Генетичний код)
Біологічні мембрани (Біомембрани) 78-85
Біорегулятори 330,331
Біотин (вітамін Н) 93,142,167,203,407
Блок Прибнова 294,298,320
Брадикінін 429,430
Вазопресин 352,353,372
Валін 21,248,249,257-259,422
Вердоглобін 462-464
Відновлювальне амінування 239,243
Відновлювальний синтез 126,156,162
Відновлювальні еквіваленти 122
Вітамери 412
Вітаміни 14,399-417
Вітамін А 411-414
Вітамін В₁ 93,401

- Вітамін B₂ 92,402
Вітамін B₃ (див. Пантотенова кислота)
Вітамін B₅ (див. Вітамін PP)
Вітамін B₆ 237,403,404
Вітамін B₁₂ 97,254,259,404-405
Вітамін B_C (див. Фолієва кислота)
Вітамін C 60,221,261,408-410
Вітамін D 417
Вітамін D₂ 417
Вітамін D₃ 223,378,380,417
Вітамін E 257,416
Вітамін F 417
Вітамін H (див. Біотин)
Вітамін K 415,436
Вітамін P 410,411
Вітамін PP 92,402,403
Водневі зв'язки 26,35,49
Вторинні месенджери (вторинні посередники) 333-335,349
Вуглеводи
- будова, властивості 57-70
- метаболізм 143-189
- в харчуванні людини 387-389
- перетравлення 395,396

Галактоза 57,58,68,143,164,165,185,310,349
Галактозамін 59,349
Галактоземія 165
β-Галактозидаза 89,163,188,216,310,311,395
Галактозо-1-фосфат-уридилтрансфераза 164,165
Галактозилцерамід 81,214,215
Галактозиллактозилцерамід 76
Галактозо-1-фосфат 164,165
Галактокіназа 164,165
Галактуронова кислота 60
Галоперидол 489
Гальмівні амінокислоти 485,486
Гамма-аміномасляна кислота (ГАМК) 241,486
Гангліозиди 76,77,214,216
Гангліозидози 77,216
Гаптоглобін 428
Гастрин 359,360
Гастрономи 360
Гастроінтестинальні гормони (див. Гормони шлунково-кишкового тракту)
Гексокіназа 147 154 163 355,451
Гексозаміни 59
Гексозамінідаза A 216
Гексози 57,147
Гексозомонофосфатний шунт (див. Пентозо-фосфатний цикл)

Гем 30,265-268,307,308,403,419,420,423,462,463
Гемералопія 399,412
Гемінові ферменти 91
Гемоглобін 32,123,263-266,268,307,308,419-424, 462-464,466
Гемоглобінози 422
Гемоглобінопатії 422
Гемоксигеназа 462
Гемопротейни 127,263,457
Гемофілії 112,437
Генетичний код 13,300,301
Генетичні рекомбінації 310,316
Генна інженерія 326-329
Гепарансульфати 65,66,188,189
Гепарансульфатсульфатаза 189
Гепарин 65-67,438
Геранілпірофосфат 219
Гесперидин 411
Гетерогенна ядерна РНК 55,298
Гетерополісахариди 65-67,69,188
Гетеротрофи (Гетеротрофні клітини, організми) 16,118
Гетерохроматин 315
Гіалуронідаза 188
Гіалуронова кислота 65-67,188
Гігантизм 348
Гідрокортизон (див. Кортизол)
β-Гідроксибутират 198-200
β-Аідроксибутиратдегідрогеназа 198
7-α-Гідроксилаза 221
β-Гідрокси-β-метилглутарил-КоА 198,217-219
17-α-Гідроксипрогестерон 223,374
4-Гідроксипролін 20,409
Гідролази 88,101,120
Гіперазотемія 430
Гіперамоніємія 243
Гіпербілірубінемія 466
Гіперглюкоземія 232,347,355
Гіперліпопротеїнемії 229,230,431
Гіперпаратиреоз 381
Гіпертиреоз 362
Гіперурикемія 282
Гіперхолестеринемія 224,230,231
Гіпоальбумінемія 454
Гіповітамінози 400
Гіпоглюкоземія 173
Гіпоксантин 275,281
Гіпоксантингуанінфосфорибозилтранс-фераза 275,282
Гіпопротеїнемія 426
Гіпотиреоз 362

- Гіпурова кислота 461
Гістамін 241,331,334,366,385
Гістидин 22,99,101,102,235,248-250,419
Гістогормони 331,345
Гістони 34,50,55,56,315,316
Глікани 61
Глікарові (цукрові) кислоти 60
Глікоген 63,64,176-184,451,452,469
Глікогенез 176-180,183
Глікогеноліз 178-180,183,476
Глікогенози 184,452
Глікогенсинтаза 177,180,182,183,355,451
Глікогенфосфорилаза 179,180-183,452,470
Глікозамінглікани 65-67,185,188,189
Глікозидази 88,188,395
Глікозидози 188,216
Глікозилгліцероли 74,76
Глікозилтрансферази 88,179,185-187,214
Глікокон'югати 176,185-188
Гліколіз 146-155,163,200,355,420,470,477
 - аеробний гліколіз 146-151
 - анаеробний гліколіз 146,151,152
Гліколіпіди 76,77,82,176,186,187,189,214,215
Гліколіпідози 189
Гліколітична оксидоредукція 147,149,152
Глікопротеїни 35,68,69,82,176,185-187,331,349,441
Глікопротеїн-глікозилтрансферази 185
Глікосфінголіпіди 76-77,187,214,215
Глікофорин 85,187
Глікохолева кислота 222,397
Глікоціамін 255
Гліцеральдегід 163
Гліцеральдегід-3-фосфат 147-149,159-161,163,197
Гліцеральдегід-3-фосфат-дегідрогеназа 149
Гліцерол (гліцерин) 120,121,191,197,210,213,397
Гліцерол-3-фосфат 127,153,197,210,211,213
Гліцерол-3-фосфатацилтрансфераза 210
Гліцерол-3-фосфатдегідрогеназа 127,210
Гліцеролфосфокіназа 197,210,211
 α -Гліцерофосфат (див. Гліцерол-3-фосфат)
 α -Гліцерофосфатдегідрогеназа (див. Гліцерол-3-фосфатдегідрогеназа)
Гліцерофосфатна човникова система 153
Гліцерофосфоліпіди (див. Фосфогліцериди)
Гліцин 21,222,235,249-251,255,264,265,270-272,461,480,486
Гліцинамідинотрансфераза 255
Глобін 266,307,308
Глобозиди 76,214
Глобуліни 34,113,226,462,429,454
Глобулярні білки 19,30,31
Глутамінова кислота (Глутамат) 22,153,235,243,422,436,480,485
Глутаматдегідрогеназа 239
Глутамат-піруваттрансаміназа (див. Аланін-аміотрансфераза)
Глутамат-оксалоацетаттрансаміназа (див. Аспаратаміотрансфераза)
Глутамін 243,246,247,249,270-273,456,479,480
Глутаміназа 247
Глутамінсинтетаза 246
Глутатіон 256
Глутатіонпероксидаза 256
Глутатіонредуктаза 256,257
Глюкагон 172,173,183,192,193,358,389,452
Глюкогенні амінокислоти 171,249
Глюкоза
 - будова 57,58
 - основні шляхи метаболізму 143-162
Глюкозамін (Хітозамін) 59,67,349
Глюкоземія 173
Глюкозо-аланіновий цикл 171,239,247
Глюкозо-лактатний цикл 170,171
Глюкозо-1-фосфат 164,165,176-179
Глюкозо-6-фосфат 147,157,158,160,161,169,177,179,451
Глюкозо-6-фосфатаза 169,172,173,452
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа 158,162,257
Глюкозурія 175
Глюкокіназа 147,451
Глюкокортикоїди 172,173,220,331,367,370,371
Глюконеогенез 142,166-172,235,370,452
Глюконеогенні тканини 170
Глюконова кислота 60
 β -Глюкуронідаза 464
Глюкуронова кислота 60
ГМФ (див. Гуанозин-5'-монофосфат)
3',5'-ГМФ (див. Гуанозин-3',5'-монофосфат циклічний, цГМФ)
Гниття білків 241,450,461
Голодування 184,200,452,480
Гомеостаз кальцію 377
 β -ГОМК (див. β -Гідрокси- β -метилглутарил-КоА)
 β -ГОМК-ліаза 198,217
 β -ГОМК-редуктаза 217-220
 β -ГОМК-синтетаза 198
Гомогентизинова кислота 260-262,409
Гомополісахариди 61,63-65
Гомоцистеїн 253,254,405
Гонадоліберин 346,350
Гонадотропні гормони 346,349,350
Гормон росту (див. Соматотропний гормон)

- Гормони (визначення, класифікація) 330-332
 Гормони шлунково-кишкового тракту 359,360
 Грамнегативні мікроорганізми 71
 Грампозитивні мікроорганізми 71
 Групи крові 187
 Гуанідинацетат (див. Глікоціамін)
 Гуанілатциклаза 113,335,366,482
 Гуанілова кислота (див. Гуанозин-5'-фосфат)
 Гуанін 41,275,281
 Гуанозин 43,281
 Гуаніндезаміназа 281
 Гуанозин-5'-монофосфат (ГМФ) 43,270,273,274
 Гуанозин-3',5'-монофосфат циклічний (3',5'-ГМФ, цГМФ) 113,335
- ДАГ (див. 1,2-Діацилгліцерол)
 дАМФ (див. Дезоксиаденозин-5'-монофосфат)
 Дансил-хлорид 39
 Дварфізм (див. Карликовість)
 дГМФ (див. Дезоксигуанозин-5'-монофосфат)
 Дегідроаскорбінова кислота 408
 Дегідрогеназа розгалуження α -кетокислот 257,258
 Дегідрогенази 88,124-127
 7-Дегідрохолестерин 379,417
 Дегідрування 124
 Дезамінування амінокислот 239,240
 Дезоксиаденоїлова кислота (див. Дезоксиаденозин-5'-монофосфат)
 Дезоксиаденозилкобаламін 93,97,259,405
 Дезоксиаденозин 43
 Дезоксиаденозин-5'-монофосфат (дАМФ) 43
 Дезоксигуанілова кислота (див. Дезоксигуанозин-5'-монофосфат)
 Дезоксигуанозин 43
 Дезоксигуанозин-5'-монофосфат (дГМФ) 43
 11-Дезоксикортикостерон 371
 Дезоксирибоза (2-Дезокси-D-рибоза) 58
 Дезоксирибонуклеїнова кислота (див. ДНК)
 Дезоксирибонуклеопротейни 34,36
 Дезоксирибонуклеотиди 277-280
 Дезоксихолева кислота 221,222
 Дезоксцитидилова кислота (див. Дезоксцитидин-5'-монофосфат)
 Дезоксцитидин 43
 Дезоксцитидин-5'-монофосфат (дЦМФ) 43
 Декарбоксилази амінокислот 240,241
 Декарбоксилювання амінокислот 240,241
 Декстран 64
 Денатурація 34,51,52
- Дерматансульфати 65,188,189
 Дерозгалужуючий фермент (Аміло-1,6-глікозидаза) 179
 Дигідроліпоїлацетилтрансфераза 90,145
 Дигідроліпоїлдегідрогеназа 90,126,144,145
 Дигідрооротаза 276
 Дигідрооротатдегідрогеназа 276
 Дигідрооротова кислота (Дигідрооротат) 276
 Дигідросфінгозин 214
 Дигідротестостерон 375,376
 7,8-Дигідрофолієва кислота (Дигідрофолат) 252,279,280
 Дигідрофолатредуктаза 252,253,279,280,319
 Дигліцерид (див. 1,2-Діацилгліцерол)
 Дигліцеридліпаза 192
 Динеїн 18,468
 2,4-Динітрофенол 135
 2,4-Динітрофторбензол 39
 Динорфіни 487
 Дипептидази 395
 Дисахаридази 395
 Дисахариди 61,62
 1,3-Дифосфогліцерат (1,3-диФГК) 149,150
 2,3-Дифосфогліцерат (2,3-диФГК) 420
 Дифталамід 307
 Дифтерійний токсин 309
 Дихальний ланцюг 121,127-130,141
 Діазореактив Ерліха 464
 1,2-Діацилгліцерол (ДАГ) 191,210,211,213, 225,338-340
 1,2-Діацилгліцерол-3-фосфат (див. Фосфатидна кислота)
 Діоксигеназні реакції 125,256
 3,4-Діоксифенілаланін (ДОФА) 261,363
 Діоксіацетонфосфат 147-153,160,163,193,210
 Діізопропілфторфосфат 108 ДНК
 - будова, властивості, функції 45-52
 - біосинтез (реплікація) 46,284-292
 - кДНК 327,328 ДНКazi 281
 ДНК-гіраза 289
 ДНК-діагностика 319
 ДНК-залежні РНК-полімерази (див. РНК-полімерази)
 ДНК-лігаза 291
 ДНК-полімерази 286-288
 Доліхол 186
 Доліхолкіназа 186
 Доліхолфосфат 186
 Домени 32
 Доменні білки 32
 ДОФА (див. 3,4-Діоксифенілаланін)

- Дофамін 261,364,365,484
Дофамінові рецептори 484,489
дЦМФ (див. Дезоксицитидин-5'-моно-
фосфат)
- Ейкозаноїди 209,331,381-385,417
Екзергонічні реакції 116-118
Екзони 299,314
Екзопептидази 394
Експресія генів 310-329
Еластаза 40,101,394
Еластин 31
Електрофорез 34,426
Елонгація транскрипції 293,295,296
Елонгація трансляції 304,305
Еміцитоз 354
Ендемічний зоб 362
Ендергонічні реакції 116-118
Ендопептидази 393,394
Ендорфіни 351,352,487
Ензими (див. Ферменти)
Ензимопатії 108,114
Енкефаліни 487
Еноіл-КоА-гідратаза 195
Еноіл-АСР-редуктаза 205
Енолаза 150
Ентерогормони (див. Гормони шлунково-
кишкового тракту)
Ентерокіназа 394
Енхансери 320
Епінефрин (див. Адреналін)
Ергокальциферол (Вітамін D₂) 417
Еритрозо-4-фосфат 159,160
Еритроміцин 308,309
Еритропоетична порфірія (див. Хвороба
Гюнтера)
Есенціальні жирні кислоти 208
Естрадіол 223,373,374
Естран 367,373
Естріол 373
Естрогени 223,342,343,367,368,373,374
Естрон 223,373,374
Етаноламін 75,211-213
Етіохоланолон 376
Ефект Бора 420
Ефект Пастера 154
Еухроматин 315
- Жири** (див. Нейтральні жири)
Жирні кислоти
- будова, властивості 72-73
- окислення 194-197
- біосинтез 201-209
- Жирова тканина 191,201,209-211
Жовтяниця 465-467
Жовч 454,455
Жовчні кислоти 221,222,397
Жовчні пігменти 454,462-465
- Залізо 127,266-268,409,423,428
Заліzosіркові білки 128
Заміни нуклеотидів 323
Замінні амінокислоти 235,250,390,391
Збуджувальні амінокислоти 485,486
Злоякісна анемія (див. Хвороба Адисона-
Бірмера)
- α -L-Ідуронідаза 188,189
Ідуринова кислота 60,66,67,188
Ідуриносультасульфатаза 189
Ізоелектрична точка 34
Ізолейцин 21,249,257,258
Ізомальтаза 395
Ізомеразы 89
Ізоніазид 404
Ізопентенілпірофосфат 218,219
Ізоферменти 90-91
Ізоцитрат 138,139
Ізоцитратдегідрогеназа 91,138,139,162,206
Іміпрамін 489
ІМФ (див. Інозин-5'-монофосфат)
Імунодефіцитні стани 447-448
Імуноглобуліни 317-319,427,441-443,448
Інгібітори АПФ 372
Інгібітори ферментів 103,106-108
Індикан 461
Індукція Лас-оперону 312-313
Індукція мікросомальних монооксигеназ 459
Ініціація транскрипції 294
Ініціація трансляції 304,305
Ініціюючий кодон 395
Інозин-5'-монофосфат (ІМФ) 242,270-275
Інозинова кислота (див. Інозин-5'-монофосфат)
Інозитол-1,4,5-трифосфат (ІФ₃) 338-340
Інсулін 172-174,183,193,194,232,233,353-358
Інсуліноподібні фактори росту (див. Сомато-
медини)
Інтеркаляція 294
Інтерлейкіни 443,444
Інтермедини 331
Інтерферони 308,309,444,445
Інтрони 299,314

- Інулін 64
Інформаційні РНК (див. Матричні РНК, мРНК)
Іприти 323
- Й**одацетамід 198
Йодидпероксидаза 360
- К**адаверин 242
Калідин 429
Калікреїни 429,434,435
Калікреїн-кінінова система 429,430
Кальмодулін 112,182,338,475
Кальцидіол 379,380
Кальцитонін 378,380
Кальцитріол 223,378-380,417
Кальцій (Ca^{2+}) 112,182,333,335,337-341,376-381, 417,433-436,469,474,475,481,482,486,487
Кальціол (див. Вітамін D_3)
Кальційзв'язуючі білки 379
Каптопріл 372
Карбамойлфосфат 244,246,275
Карбамойлфосфатсинтетаза 244,246,277
Карбоангідраза 91,100,421
Карбоксибіотин 93,95,96,142,167,203,407
 γ -Карбоксиглутамінова кислота 436
Карбоксипептидази 39,91,394,395
Кардіолілін 211
Карликовість (нанізм, дварфізм) 348
Карнітин 196
Карнітин-ацилкарнітин-транслоказа 196
Карнітин-ацилтрансфераза 196
Каротиназа 412
Каротини 412,414
Катаболізм 115,120,121
Катал 87
Каталаза 91,99,240,263
Катехіни 411
Катехоламіни 193,260,261,363,364,483
Кверцетин 411
Кератансульфати 65,66,189
 α -Кератини 31,32
 β -Кератини 29
 β -Кетоацил-КоА-тіолаза 195
Кетоацидоз 174,200,233,356
3-Кетоацил-АСР-редуктаза 204
3-Кетоацил-АСР-синтетаза 204
Кетогенні амінокислоти 171,249,250
 α -Кетоглутарова кислота (α -Кетоглутарат) 131,138,139,141,142,153,168,236, 237,239,2 40,243,248,249
 α -Кетоглутаратдегідрогеназний комплекс 139,491
- Кетонемія 174,175,200,233
Кетонові тіла 197-200,233,249
Кетонурія 175,200,233
17-Кетостероїди 376
Кефаліни (див. Фосфатидилетаноламіни)
Кислотно-лужний баланс 423-425
Кіназа А 336
Кіназа cdc2 321
Кіназа легких ланцюгів міозину 112,475
Кіназа фосфорилази β 181,182
Кінінази 429
Кініни 429,430
Кінуренін 262,263
Кінуреніназа 263
Клітинний цикл 47,280,315,321
Клітковина (див. Целюлоза)
Клонування генів 326-329
Кобаламін 93,404,405
Кобамідні коферменти 93,97,259,404,405
Кодони (Триплетти) 13,300,301
Коензим ацилювання (КоА) 93,96,137,144, 145,194,407
Коензим B_{12} 93,97,259
Коензими (див. Коферменти)
Коензим Q 92,128-130
Колаген 28,29,31,234,409
Колонієстимулюючий фактор 444
Комплемент (Система комплементу) 445-447
Контрикал 430
Копропорфірини 264
Копростанол 224
Кортизол 223,351,368-371
Кортиколиберин 346,352
Кортикостероїди 341,367-373
Кортикостерон 223,369,370
Кортикотропін (див. Адренокортикотропний гормон)
Кофактори 91,92
Коферменти 89,91-97
Креатин 255,476
Креатинін 255,256
Креатинфосфат 255,476,477
Креатинфосфатфосфокіназа 255,429,476
Кріоглобулін 427
Крохмаль 63,143,388,391,395
Ксантин 281
Ксантинооксидаза 91,127,281,282
Ксантозин-5'-монофосфат 272-274
Ксенобіотики 257,324,418,455-461
Ксилоза 58
Ксилулоза 58

- Ксилулозо-5-фосфат 159-161
Кумарини 415,438
- Лактаза (β -Галактозидаза) 163,310,311,395,396
Лактат (Молочна кислота) 146,147,151,152, 166,169-171,179,430
Лактатдегідрогеназа 91,151,170
Лактогенний гормон (див. Пролактин)
Лактоза 61,62,165,395,396
Лактоназа 158
Ланостерин (Ланостерол) 219
Ланцюгова полімеразна реакція 319
Лейкотрієни 331,381,383,385
Лейцин 21,257,258
Лейциноз (див. Хвороба кленового сиропу)
Лецитини (див. Фосфатидилхоліни)
Лецитин(фосфатидил)-холестерин-ацил-трансфераза (ЛХАТ) 220
Лимонна кислота (див. Цитрат)
Ліази 89
Ліберини 345
Лігази 89
Лізін 22,242
Лізосомальні гідролази 215
Лізофосфатидат (Ацилгліцерол-3-фосфат) 210
Лізоцим 71,392
Лімфокіни 443
Лімфоцити 440,441,443,444
Лінкоцин 308
Лінолева кислота 73,208,209,389
Ліноленова кислота 73,208,209,389
Ліпази адипоцитів 191,192
Ліпаза підшлункової залози 224,396
Ліпіди
- будова, властивості 72,77
- метаболізм 190-233
- в харчуванні людини 389
- перетравлення 396-398
Ліпідози 216
Ліпогенез 201,206,207
Ліпоева кислота 93,96,144,145
Ліпоксигеназа 383
Ліполіз 190-184
Ліпопротеїни 36,77
 α -Ліпопротеїни 226,431
 β -Ліпопротеїни 226,431
Ліпопротеїни плазми крові 224-230
Ліпопротеїни високої щільності (ЛПВЩ) 226-229,231,233,431
Ліпопротеїни дуже низької щільності (ЛПДНЩ) 226-228,232,431
- Ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ) 219,226-228,231,431
Ліпопротеїни проміжної щільності (ЛППЩ) 226-228
Ліпопротеїніліпаза 227,228,453
Ліпотропний гормон 352
Ліпоцити (див. Адипоцити)
Літохолева кислота 221,222
Лужний резерв крові 424
Люліберин (Гонадоліберин) 346
Лютеїнізуючий гормон 350,375
- α_2 -Макроглобулін 112,427,437
Макрокомпоненти харчування 386
Макроергічні сполуки (зв'язки) 117
Малат 140,153,168,206
Малат-аспартатна човникова система 153
Малатдегідрогеназа 140,153,168,206
Малатна човникова система 168
Малатний шунт (див. Малатна човникова система)
Малікензим 206
Малоніл-КоА 202,203,208
Маленова кислота 107,202
Мальтаза 392,395
Мальтоза 61
Маноза 57,58,68,187,349,442
Матричні (інформаційні) РНК (мРНК) 52-54, 298,302,305,306
Меваленова кислота 217-219
Мезобіліноген 464,465
Мезобілірубін 464
Меланіни 260,261,352
Меланоцитостимулюючий гормон 352
Мелатонін 363,365,366
Менструальний цикл 375
Мероміозини 470
Метаболізм 15,115
Метаболічні шляхи 116
Металопорфірини 92,263
Металопротеїни 36
Металотіонеїн 319,344
Металоферменти 91
Метахроматична лейкодистрофія 76
Метгемоглобін 423
Метгемоглобінредуктаза 423
Метилкобаламін 93,97,254,259,405
Метилмалоніл-КоА 259,405
Метилмалоніл-КоА-мутаза 259,405
Метіонін 21,213,253,254
Метіонінаденозилтрансфераза 254

- Метод Ван ден Берга 464
Метотрексат 280,319
Мікрокомпоненти харчування 386,399
Мікросомальна елонгаційна система 208
Мікросомальне окислення 125,221,456,457
Мікросомальні оксигенази мішаної функції 124, 125,208,219,457
Мікседема 362
Мінералокортикоїди 367,371,372
Міnorні нуклеотиди 43
Міоген 469
Міоглобін 30,263,477
Міозин 468,470,471
Міофібрили 468-470
Мітоз 47,280,315,321,322
Мішені гормональної дії 332
Мобілізація жирних кислот 191
Молочна кислота (див. Лактат)
Монелін 389
Моноамінооксидази 242,364,365,489,490
Моногліцериди (2-Моноацилгліцероли) 191, 224,225
Моногліцеридліпаза 192
Мононенасичені жирні кислоти 208
Монооксигенази (монооксигеназні реакції) 124, 219,221,456
Моносахариди 57,58
Морфін 486
Муколіпідози 189
Мукополісахариди 65
Мукополісахаридози 189
Мурамін 69
Мурамінідаза 71
Мурамова кислота 69
Муреїн 70
Мускарин 482
Мутагени 323
Мутації 322-325
Муцини 65,68,185,392,414
М'язове скорочення 472-476
- НАД** (див. Нікотинамідаденіндинуклеотид)
НАД-залежні дегідрогенази 126
НАДФ-залежні дегідрогенази 126
НАДН-дегідрогеназа 126,127
НАДН-коензим Q-редуктаза 127,129
НАДФ (див. Нікотинамідаденіндинуклеотид-фосфат)
Нанізм (див. Карликовість)
Насичені жирні кислоти 72,73,207,208
Натрійуретична система 372,373
- Негістонові білки (НГБ) 56,315,316
Недостатність лактази 396
Недостатність сахарази 396
Неестерифіковані жирні кислоти (НЕЖК) 72, 192,193,233
Незамінні амінокислоти 235,250,390,391
Нейрамінідаза 215
Нейрамінова кислота 59
Нейроальбуміни 479
Нейроглобуліни 479
Нейролептики 488,489
Нейромедіатори 331,480-487
Нейропептиди 479,486,487
Нейрофізин 352
Нейтральні жири 74,190,191,209,231,389
Ненасичені жирні кислоти 72,73,208,209
Непереносимість фруктози 164
Нервова кислота 209
Нецукровий діабет 353
Ніацин (див. Вітамін РР)
Нікотин 482
Нікотинамід 402
Нікотинамідаденіндинуклеотид (НАД) 92,94, 124,125,402
Нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ) 92,94,124,125,402
Нікотинова кислота 402
Нінгідрин 25
Нітрозаміни 323
Норадреналін 193,261,363,364,483
Норепінефрин (див. Норадреналін)
Нуклеїнові кислоти
- будова, властивості 41-56
- біосинтез ДНК 286-292
- біосинтез РНК 292-299
Нуклеозидаза 281
Нуклеозиди 42,43
Нуклеозидифосфокінази 276,279
Нуклеозидмонофосфокінази 276
Нуклеопротейни 36
Нуклеосоми 55,56
5'-Нуклеотидаза 281
Нуклеотиди
- будова, властивості 41-44
- біосинтез, катаболізм 270-283
Нуклеотидцукри 176,185
- Ожиріння** 174,230-232
Окислення жирних кислот (β-Окислення) 194-197
Окислювальне гідроксилювання 125,221,457
Окислювальне дезамінування 239

- Окислювальне декарбоксилювання пірувату 144-145
Окислювально-відновлювальні потенціали 122,123
Окисне фосфорилування 121,122,130-136
Оксалоацетат 137,138,140,142,153,167,168, 201,202,206
Оксалосукцинат 139
Оксигенази 124
Оксидаза гомогентизинової кислоти 261
Оксид азоту 260
Оксидази 88,124
Оксидази амінокислот 240
Оксидоредуктази 88,124
Окситоцин 352,353
3-Оксіантранілова кислота 262,263
3-Оксіацил-КоА-дегідрогеназа 195
5-Оксііндолоцтова кислота 365
2-Оксоглутарат (див. α -Кетоглутарат)
Олеїнова кислота 72,73,208,209
2',5'-Олігоаденілат 445
2',5'-Олігоаденілатсинтетаза 445
Олігоміцин 135,136
Олігосахариди 395
Олігосахариди 61,62,186,187
Онкобілки 358
Оперон 311-313
Оператор 311
Опійодні пептиди 331,352,486,487
Опсин 413
Органічні пероксиди 256
Орнітин 241,244-246,255
Орнітин-карбамоїлтрансфераза 244,246
Орнітиновий цикл Кребса-Хензелейта 244
Оротидилова кислота (див. Оротидин-5'-монофосфат)
Оротидин-5'-монофосфат (ОМФ) 276
Оротова кислота (Оротат) 276
Остеопороз 380,381
- Паліндроми 296,327,343
Пальмітинова кислота (пальмітат)
- будова 72,73
- окислення 194
- біосинтез 201
Пальмітоолеїнова кислота 73,208
Пантотенова кислота (Вітамін В₃) 93,96,203, 407,408
Паратгормон 378
Пектини 64,388
Пелагра 399,402
- Пеніциліни 71
Пентозофосфатний шлях 143,156-162
Пентозофосфатний цикл 157,160,161
Пентози 58
Пепсин 112,393
Пепсиноген 393
Пептидилтрансферазна реакція 305,306
Пептидна група 24
Пептидні фактори росту (див. Фактори росту)
Пептидоглікани 69,70
Перекисне окислення 125,162,256,409,416
Пернізозна анемія (див. Хвороба Адисона-Бірмера)
Пероксидази 91,263
Пігментна ксеродерма 325
Піридоксаль 403
Піридоксальфосфат (ПАЛФ) 93,214,237,238, 240,403
Піридоксамін 403
Піридоксамінфосфат (ПАМФ) 93,237,238,403
Піридоксин (див. Вітамін В₆)
Піридоксол 403
Піримідини 41,42,275-277
Піровіноградна кислота (див. Піруват)
Пірофосфатаза 177
Пірофосфомевалонова кислота 218
Піруват 142,144,146,147,152,166,167,170, 171,179,202,206
Піруватдегідрогеназа 90,111,144
Піруватдегідрогеназний комплекс 90,144,401
Піруваткарбоксилаза 142,167,172,338,407
Піруваткіназа 151,154
Плазмід 327,328
Плазмін 438,439
Плазміноген 438
Подагра 282
Поживні сполуки 386-392
Поліаміни 50
Поліненасичені жирні кислоти 208,209,389,417
Полісахариди 57,61-67
Порфін 263,264
Порфірини 263-268
Порфіриногени 264
Порфірії 268,269
Порфобіліноген 265,266
Прегнан 367,373
Прегнандіол 374
Прегненолон 223
Преднізолон 370
Проакцелерин 433
Проба Квіка 461

- Проба Штауб-Трауготта 175
Прогестагени 223,374
Прогестерон 223,374
Прозерін 483
Проконвертин 433
Пролактин 348
Пролактостатин 346
Проліггідроксилаза 409
Пролін 21,29,409
Промотори 293,294,311,320
Проопіомеланокортин (ПОМК) 346,350,351
Пропердин 447
Пропіоніл-КоА 259
Пропіоніл-КоА-карбоксілаза 259
Простагландини 209,381-385
Простагландинсинтазний комплекс 383
Простаноїди 382
Простацикліни 209,381-385
Протетичні групи 35
Протаміни 50
 α_1 -Протеїназний інгібітор 112,427,437
Протеїназні інгібітори 112
Протеїногенні амінокислоти 20
Протеїнказа С 339,340,358
Протеїнкази 111,114,181,182,192,321,335, 336,445
Протеїнфосфатази 111,180,192
Протеоглікани 35,65,67,68,188,189
Протонна АТФаза (див. АТФ-синтетаза)
Протопорфірини 264
Протопорфірин ІХ (ІІІ) 264,266-268
Протромбін 433,434
Профермент 112
Процесинг пептидів 307,332
Процесинг РНК 299
Псевдоуридин 43
Птероїдглутамінова кислота (див. Фолієва кислота)
Птомаїни 241
Пурини 41,270-275
Пуроміцин 308,309
Путресцин 241

Рахіт 379,399,417
С-Реактивний протеїн 427
Реакції глюкуроонування 459,460
Реакції кон'югації 459-461
Реакції метилювання 254,461
Реакції сульфування 460,461
Регуляторні ферменти 109
Редокс-система 122

Рекомбінантні ДНК 326-329
Рекомбінації (див. Генетичні рекомбінації)
Ремнантні ліпопротеїни 228
Реннін 394
Репарація ДНК 324,325
Реплікація ДНК 284-292
Репресор 311,312
Рест-азот 430
Рестриктази 327,328
Ретиналь 412-414
Ретиноєва кислота 342,
Ретинол (Вітамін А) 412
Рецептори (гормонів та інших ФАС)
- іонотропні рецептори 333
- метаботропні рецептори 333,334
- цитозольні рецептори 341-344
Рецептори нейромедіаторів 480,481
Рецепторні тирозин-кінази 357,358
Рибоза 58
Рибозо-5-фосфат 158,159,270-276
Рибонуклеопротейни 36
Рибонуклеотиди 270-278
Рибонуклеотидредуктаза 278
Рибосоми 56,302,303
Рибосомні РНК (рРНК) 52,55
Рибофлавін (див. Вітамін В₂)
Рибулоза 58
Рибулозо-5-фосфат 156-159,270-274
Рилізінг-гормони 345
Рифаміцин 294
Рифампіцин 294
Рівняння Гендерсона-Хассельбаха 424
Рівняння Лайнуївера-Берка 105
Рівняння Міхаеліса-Ментен 104
РНК (рибонуклеїнова кислота)
- будова, властивості 52-55
- мРНК (див. матричні РНК)
- тРНК (див. транспортні РНК)
- рРНК (див. рибосомні РНК)
РНКазы 281,299
РНК-полімерази 293-298
РНК-праймер 291
Родопсин 413,414
Розгалужуючий фермент (див. Аміло(1,4-1,6)трансглікозилаза)
Ротенон 135,136
Рутин 411

Сайленсери 320
Саркомери 469
Сахараза 163,395,396

- Сахарин 389
Сахароза 61,62,163,395
Седогептулозо-7-фосфат 159
Секретин 330,359,360
Сексагени (сексгормони) 373-376
Селен 256
Серин 21,251
Серотонін 263,365,484,485
Серпоподібноклітинна анемія 422
Сечова кислота 281,282
Сечовина 242-247
Сидерофілін (див. Трансферин)
Синдром Гурлера 189
Синдром Гунтера 189
Синдром Дабіна-Джонсона 467
Синдром Ди-Джорджи 448
Синдром Кона 372
Синдром Криглера-Найяра 467
Синдром Леша-Ніхана 282
Синдром Луї-Бар 448
Синдром Марото-Ламі 189
Синдром Моркіо 189
Синдром Санфіліппо 189
Синдром Шейє 189
НО-Синтаза 260
Синтетаза жирних кислот 203,206,207
Синтетази (див. Лігази)
Сироваткові альбуміни (альбуміни) 18,34, 426,463
Система десатурації жирних кислот 208
Система елонгації жирних кислот 207
Система ренін-ангіотензин 372
Сіалова кислота (N-ацетилнейрамінова кислота) 59,68,77,185
Сіалоглікопротеїни 185
Сквален 218,219
Скорбут (див. Цинга)
Соматоліберин 346,347
Соматомедини 347
Соматостатин 346,347
Соматотропін (див. Соматотропний гормон)
Соматотропний гормон (СТГ) 173,194,346-348
Сорбітол 164
Сорбітолдегідрогеназа 164
Спектрин 85
Спермідин 50
Спермін 50
Сплайсинг 299
Сполука Р 340,359,480
Спру 406
Статеві гормони 373-376
Статини 345
СТГ (див. Соматотропний гормон)
Стеаринова кислота 73,208,209
Стеаторея 398
Стеран 74,367
Стериди 74
Стерини 74
Стероїди 74,217,224,341
Стероїдні гормони 222,223,367-376
Стеркобілін 464-466
Стеркобіліноген 464-466
Стрептокіназа 439
Стрептоміцин 308,309
Субстратне фосфорилювання 141,154
Сукцинат 107,139,199
Сукцинатдегідрогеназа 107,126,128,140
Сукциніл-КоА 139,142,199,248,259,264
Сукцинілтіокіназа 139
Сульфаніламід 107
Сульфатази 188
Сульфатиди 76,214
Супероксиддисмутаза 91
Сфінгозин 75,213-215
Сфінголіпіди 208,213-216
Сфінголіпідози 189,213,216
Сфінгомієліни 75,76,213-216
Сфінгофосфоліпіди 75
Таласемії 422,423
Таурин 222,257,486
Таурохолева кислота 222,397
Термінація транскрипції 295,296
Термінація трансляції 306,307
Термінуючі кодони 306
Тестостерон 223,375,376
Тета-структури 289
5,6,7,8-Тетрагідрофолієва кислота (ТГФК, H₄-фолат) 93,95,96,251-253,279, 280,406
Тетрагідрофолат (див. 5,6,7,8-Тетрагідрофолієва кислота)
3,5,3',5'-Тетрайодтиронін (див. Тироксин)
Тетрациклін 308,309
Технологія рекомбінантних ДНК 326
Тимін 42,45
Тимідилат 279
Тимідилатсинтаза 279,280
Тимідилова кислота (див. Тимідин-5'-монофосфат)
Тимідилові нуклеотиди 279
Тимідин 43

- Тимідин-5'-монофосфат (ТМФ) 43,279
Тиреоглобулін 360,361
Тиреоїдні гормони 360-362
Тиреотоксикоз 349,362
Тиреотропний гормон (ТТГ) 349
Тирозин 22,260,261
Тирозиназа 261,262,352
Тирозинамінотрансфераза 237
Тирозинкінази (див. Рецепторні тирозинкінази)
Тироксин 135,360
Тироліберин 346,349
Тиротропін (див. Тиреотропний гормон)
Тіамін (Вітамін В₁)
Тіаміндифосфат (ТДФ) 90,93,95,96,144,145,401
Тіамінфосфокіназа 401
Тіокінази (Ацил-КоА-синтетази) 194
Тіолаза 199
Тіоредоксин 278
Тіоредоксинредуктаза 278
Тканинне дихання 123
Тканинний тромбoplastин 433,436
ТМФ (див. Тимідин-5'-монофосфат)
α-Токоферол 257,416
Топоізомерази 289
Трансальдолаза 156,157,159
Трансамінази (див. Амінотрансферази)
Трансамінування амінокислот 236-239
Трансглутаміназа (Фібрин-стабілізуєчий фактор) 436
Трансдуктори (Білки-трансдуктори) 334,335
Транскетолаза 156,157,159,160,401
Транскрипція РНК 46,292-298
Трансляція 46,304-307
Транспозони 316
Транспортні ліпопротеїни 77
Транспортні РНК (тРНК) 52,54,55,302
Трансферази 88
Трансферин 268,428
Трансформація 46,317
Трансформуючі фактори росту 445
Треонін 22
Триацилгліцероли (див. Тригліцериди)
3,5,3'-Трийодтиронін 360
Тригліцериди
- будова 74
- катаболізм 190,192
- біосинтез 209-211
Тригліцеридліпаза 192
Триплет (Кодони) 13,300,301
Трипсин 101,112,394
Трипсиноген 394
Триптофан 21,262,263
Триптофанпіролаза 263,269
Тріозокіназа 163
Тріозофосфатізомераза 149,163
Тромбін 432-435
Тромбоксани 209,381-385
Тромбоцитарні фактори коагуляції 433
Тропні гормони гіпофіза 349,350
Тропоміозин 471,472,474,475
Тропонін 471,472,474,475
ТТГ (див. Тиреотропний гормон)
Тубулін 468
Убаїн 61
Убіквітин 322
Убіхінон (див. Коензим Q)
УДФ-1-Галактоза 164,165,185
УДФ-Галактозо-4-епімераза 165
УДФ-1-Гексоза 164
УДФГ-дегідрогеназа 460,467
УДФ-глікогентрансфераза (Глікогенсинтаза) 177
УДФ-1-Глюкоза 164,165,176,177
УДФ-глюкозопірофосфорилаза 177
УДФ-Глюкуронілтрансфераза 460,464,466,467
УДФ-Глюкуронова кислота 460
УМФ (див. Уридин-5'-фосфат)
Урати 257,282
Урацил 42,45
Уреїдосукцинат 275,276
Уриділова кислота (див. Уридин-5'-фосфат)
Уридин 43
Уридиндифосфат (УДФ) 44,276
Уридин-5'-монофосфат (УМФ) 43,276
Уридинтрифосфат (УТФ) 44,176,276
Уробіліноген 465
Уробілін 465,466
Урокіназа 439
Уронові кислоти 60
Уропорфірини 264
Уропорфіриноген I 266,269
Уропорфіриноген III 265-268
Уропорфіриноген-синтаза 266
УТФ (див. Уридинтрифосфат)

Фавізм 162
ФАД (див. Флавінаденіндинуклеотид)
Фактор Віллебранда (Антигемофільний глобулін А) 433
Фактори згортання крові 433-436
Фактор ініціації трансляції eIF-2 305,307, 308,321

- Фактор Касла 405
Фактор Кристмаса (Антигемофільний глобулін В) 433
Фактор Розенталя 433
Фактор Стюарта-Провера 433
Фактор Хагемана 433
Фактори ініціації 305
Фактори некрозу пухлин 445
Фактори росту 331,336,356,358
Фарнезилпірофосфат 219
Фарнохінон 415
Фенілаланін 21,260-262
Фенілаланінгідроксилаза 260,261
Фенілацетат 261,262
Фенілізотіоціанат 40
Фенілкетонурія 261
Фенілпіруват 261
Фенобарбітал 459
Ферредоксин 380
Феритин 268,428
Ферменти
- будова, властивості 86-97
- механізми дії 98-103
- кінетика реакцій 103-108
- регуляція 108-114
Ферохелатаза 266
Фетальний гемоглобін 419,422
Фібрилярні білки 31
Фібрин 432,435-437,439
Фібриноген 433-435
Фібриноліз 438,439
Фібринолізин (див. Плазмін)
Фібринстабілізуючий фактор 433
Фіброїн 29
Фібронектин 428
Філохінон 415
Флавінаденіндинуклеотид (ФАД) 92,94,124, 126,402
Флавінзалежні дегідрогенази 126,127
Флавінмононуклеотид (ФМН) 92,94,124,126,402
Флавоноїди 410
Флавопротеїни 126,127
Флуорескамін 25
ФМН (див. Флавінмононуклеотид)
Фолат (див. Фолієва кислота)
Н₄-Фолат (див. 5,6,7,8-Тетрагідрофолієва кислота)
Фолатредуктаза 252
Фолацин (див. Фолієва кислота)
Фолієва кислота (Вітамін В₉) 93,95,252,406
Фолікулостимулюючий гормон (ФСГ) 350,375
Фолітропін (див. Фолікулостимулюючий гормон)
Формілметіонін 305
Формілметіонін-тРНК 305
Фосфатаза 181,182,192
Фосфатидилетаноламіни 75,211,213
Фосфатидилінозитол-4,5-дифосфат (ФІФ₂) 338,339
Фосфатидилсерини 75,213
Фосфатидилхоліни 75,211-213
Фосфатидна кислота 75,210,211,339
3'-Фосфоаденозин-5'-фосфосульфат (ФАФС) 460
Фосфогексоізомераза 148,160
2-Фосфогліцерат 150
3-Фосфогліцерат 149,150
Фосфогліцераткіназа 33,150
Фосфогліцериди (див. Гліцерофосфоліпіди)
Фосфогліцеромутаза 150
Фосфоглюкомутаза 165,177,179
6-Фосфоглюконат 158
6-Фосфоглюконатдегідрогеназа 158
Фосфоглюконатний шлях (див. Пентозо-фосфатний шлях)
6-Фосфоглюконолактон 158
Фосфодіестераза циклічних нуклеотидів 112, 113,183,193,336,338
Фосфоенолпіруват 142,150,151,166,167
Фосфоенолпіруваткарбоксикіназа 142,167
Фосфоінозитидна система 337-341
Фосфоліпаза А₂ 338,370,383,396,397
Фосфоліпаза С 335,338-340,358,397
Фосфоліпіди
- будова 75,76
- у складі біомембран 79-81
- метаболізм 211-215
4-Фосфопантетеїн 203-205
Фосфопентоепімераза 159
Фосфопентоізомераза 159
Фосфопротейни 36
5-Фосфорибозиламін 271-272
5-Фосфорибозил-1-пірофосфат (ФРПФ) 272, 274,275
Фосфорилаза а 180
Фосфорилаза b 180,182
Фосфорорганічні сполуки 108,483
Фосфофруктокіназа 151,154,476,478
Фосфохолін 211-213,
Фотосинтез 57,118
Фрагменти Оказаки 290-292
Фруктокіназа 163,164

- Фруктоза 57,143,163,164
Фруктоземія 164
Фруктозо-1,6-дифосфат 148,149,166-168
Фруктозо-1,6-дифосфатальдолаза 148
Фруктозо-1,6-дифосфатаза 168,172
Фруктозо-1-фосфат 163,164
Фруктозо-6-фосфат 148,154,157,159-161,163, 166-168
Фруктозо-1-фосфатальдолаза 163,164
Фруктоліз 164
Фруктозурія 164
ФСГ (див. Фолікулостимулюючий гормон)
Фторафур 280
5-Фторурацил 280
Фукоза 57,68,349
Фумараза 140
Фумарат 140,245,248
Фумаратгідратаза (див. Фумараза)
Фумарилацетоацетат 261
- Харчові волокна 388
Хвороба Адисона-Бірмера 405
Хвороба Брутона 448
Хвороба Віллебранда 437
Хвороба Гірке 184,452
Хвороба Грейвса 362
Хвороба Гоше 76,216
Хвороба Гюнтера (Еритропоетична порфірія) 269
Хвороба Жильбера 467
Хвороба Зандхоффа 188
Хвороба Іценко-Кушинга 371
Хвороба кленового сиропу (Лейциноз) 258
Хвороба Вільсона 428
Хвороба Кристмаса 437
Хвороба Мак-Ардля 184
Хвороба Німана-Піка 216
Хвороба Помпе 184
Хвороба Таруї 184
Хвороба Тей-Сакса 77,188,216
Хвороба Форбса 184
Хвороба Херса 184,452
Хвороби накопичення глікогену 184
Хеліази 289
Хеміосмотична теорія 132-134
Хенодзоксихолева кислота 221-223
Хіломікрони 225-227,431
Хімозин (див. Реннін)
Хімотрипсин 99,101,102,112,394
Хімотрипсиноген 394
Хінолінова кислота 262,263
- Хітин 64
Хітозамін (див. Глюкозамін)
Хлорамфенікол 398,309
Хлорофіл 118,263
Хлорофос 483
Холанова кислота 221
Холева кислота 221-223
Холеглобін (Вердоглобін) 462
Холекальциферол (Вітамін D₃) 378,379,417
Холестерин (холестерол)
- будова, властивості 74,80,82
- біосинтез 217-220
- біотрансформація 220,224
Холестериноз 224
Холестеролестераза 224,396,397
Холецистокінін 359,360
Холін 75,211-213,481,482
Холінацетилтрансфераза 481
Холінорецептори 482
Холофермент 89
Хондрозамін (див. Галактозамін)
Хондротинсульфати 65,66,188
Хоріонічний гонадотропін 69,350
Хоріонічний соматоматотропін 348
Хромопротеїни 36
Хромосоми 47,314,315
- цАМФ (див. Аденозин-3', 5'-монофосфат циклічний)
цАМФ-залежні протеїнкінази 114,335,336
цГМФ (див. Гуанозин-3', 5'-монофосфат циклічний)
цГМФ-залежні протеїнкінази 335
ЦДФ (див. Цитидиндифосфат)
ЦДФ-холін 212-214
ЦДФ-етаноламін 213
Целюлоза (клітковина) 64,388
Цераміди (N-Ацилсфінгозини) 75,76,187, 214-216
Цереброзиди 76,214
Цериди (воски) 74
Церулоплазмін 428,429
Цикл активного метилу 254
Цикл Корі (Глюкозо-лактатний цикл) 170,171
Цикл Кребса (див. Цикл трикарбонових кислот)
Цикл лимонної кислоти (див. Цикл трикарбонових кислот)
Цикл Лінена 203,207
Цикл трикарбонових кислот (ЦТК) 120,121, 137-142,145
Цикл Шеміна-Рітенберга 265

Циклін 321,322
Циклічні нуклеотиди 113,114,335,336
Циклогексимід 308,309
Циклооксигеназа 383
Цинга 399,409
Цинкові пальці 343,362
Цис-аконітат 138
Цистеїн 22,256
Цитидилова кислота (див. Цитидин-5'-
монофосфат)
Цитидин 43
Цитидиндифосфат (ЦДФ) 44,212
Цитидин-5'-монофосфат (ЦМФ) 43
Цитидинтрифосфат (ЦТФ) 44,212,276,277
Цитозин 42,45
Цитокіни (див. Лімфокіни)
Цитомедини 331
Цитохроми 36,88,96,124,127,263,264
Цитохром с-оксидаза 129
Цитохром Р-450 125,219-221,264,370,380,456-458
Цитрат 137,138,168,201,202
Цитратліаза 168
Цитратна човникова система 168
Цитратний цикл (див. Цикл трикарбонових
кислот)
Цитратсинтаза 168
Цитрулін 244-246
Ціаніди 135,136
Ціанокобаламін 404
ЦМФ (див. Цитидин-5'-монофосфат)
ЦТФ (див. Цитидинтрифосфат)
Цукровий діабет 164,174,194,199,232,233,
355,356
Цукрові кислоти 60
Цукрові криві 175
Човникові механізми 152,153,167,201,202
Човникові системи (див. Човникові
механізми)
Човникові шунти (див. Човникові механізми)
Шлях Ембдена-Мейергофа 146
Щавлевооцтова кислота (див. Оксалоацетат)
Янтарна кислота (див. Сукцинат)
Яблучна кислота (див. Малат)
Ядерний хроматин 47,55,315

Підручник

Губський Юрій Іванович

БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ

Літературний редактор **Л.В. Наліжита**

Технічні редактори **Л.В. Кравчук, С.Т. Сисюк**

Коректор **Л.П. Лабівська**

Комп'ютерна верстка **С.В. Левченко**

Художнє оформлення обкладинки **П.С. Кушик**

Підписано до друку 16.02.2000. Формат 70×100/16. Гарнітура Times New Roman.
Друк офсетний. Ум. др. арк. 40,96. Обл.-вид. арк. 37,68. Наклад 5000. Зам. № 10.

Оригінал-макет підготовлений у відділі комп'ютерної верстки
видавництва “Укрмедкнига”

Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001, Україна.

Надруковано у друкарні видавництва “Укрмедкнига”.
Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001, Україна.